

UNIVERSITE DE OUAGADOUGOU

N° d'ordre:

UNITE DE FORMATION ET DE
RECHERCHE EN SCIENCES DE LA
VIE ET DE LA TERRE (UFR / SVT)

LABORATOIRE DE PHYTOPATHOLOGIE



THESE

Présentée à l'U F R / Sciences de la Vie et de la Terre
Pour obtenir le titre de

Docteur de l'Université de Ouagadougou
Spécialité: Sciences Biologiques Appliquées
Option: Phytopathologie

Par

James Bouma NEYA

Thème :

**SEROLOGIE, PATHOGENIE, EPIDEMIOLOGIE ET CONTRÔLE DE
LA MOSAÏQUE *Cowpea aphid-borne mosaic virus (CABMV)* DU NIEBE (*Vigna
unguiculata* (L.) WALP.) TRANSMISE PAR DES PUCERONS
(*Aphis craccivora*, *A.gossypii*) AU BURKINA FASO**

Soutenue le 20 Mai 2011, devant le jury:

Président: M. GUMEDZOE Y.M. Dieudonné, Professeur Titulaire, Université de Lomé , Togo

**Membres: M. TRAORE S. Alfred, Professeur Titulaire, Université de Ouagadougou, Burkina Faso
M. SANKARA Philippe, Professeur Titulaire, Université de Ouagadougou, Burkina Faso
M. TRAORE Oumar, Maître de Recherches, Institut de l'Environnement et de
Recherches Agricoles/ CNRST/ Burkina Faso**

Remerciements

Ce travail a été réalisé à l'Institut de l'Environnement et de Recherches Agricoles (INERA) au sein du laboratoire de Virologie et de Biotechnologies Végétales situé au Centre de Recherches Environnementales, Agricoles et de Formation (CREAF) de Kamboinsé.

Tout d'abord, je tiens à exprimer mes remerciements aux autorités administratives de l'INERA et du CNRSF pour avoir autorisé cette formation.

J'exprime ma profonde gratitude au professeur Sita GUINKO, responsable à l'époque du 3ème cycle en sciences biologiques appliquées, qui n'a ménagé aucun effort pour mon inscription à l'UNIVERSITE DE OUAGADOUGOU (UFR/SVS) en biologie et écologie végétales.

J'exprime ma profonde gratitude au professeur Philippe SANKARA phytopathologiste qui, après l'admission du professeur Sita GUINKO à la retraite, a accepté de prendre la direction de cette thèse et a apporté les différentes corrections nécessaires pour la finition.

J'exprime sincèrement mes remerciements au professeur Gnissa KONATE, Directeur de Recherches, Directeur de l'INERA, chef du Laboratoire de Virologie et de Biotechnologies Végétales et Codirecteur de Thèse pour la qualité de l'encadrement que j'ai reçu.

Je suis particulièrement reconnaissant et heureux de remercier indéfiniment professeur Oumar TRAORE, Maître de recherches et responsable adjoint du Laboratoire pour sa contribution inestimable : ses précieux conseils et la correction des articles et de cette thèse.

Au professeur Nicolas BARRÉ, Maître de conférences à l'UFR/SVS (Université de Ouagadougou), je dis merci pour les corrections de cette thèse et ses encouragements.

J'exprime mes remerciements et ma profonde gratitude au président et aux membres du jury qui ont bien voulu me faire l'honneur de juger ce travail.

Je remercie sincèrement le projet SHIP (Seed Health Improvement Programme) dont les appuis financier et matériel m'ont permis de boucler les travaux de laboratoire.

Je suis heureux d'exprimer ma gratitude à l'équipe de ce projet à savoir Adama NEYA, Irénée SOMDA et Elisabeth ZIDA pour leur franche collaboration.

Mes remerciements vont à Omar KABORE qui m'a aidé à réaliser les cartes de distribution du CABMV au Burkina Faso.

Merci à mes collègues du Laboratoire de Virologie et de Biotechnologies Végétales (Edgar TRAORE, Mamadou KOUFOU, Moumouni KONATE et Diane SCALA) pour l'ambiance de travail. Je suis particulièrement reconnaissant à monsieur Jean ZABRE pour son implication inestimable dans la mise en place des essais et le comptage des plants.

Mes remerciements vont également à tous ceux qui ont participé d'une manière ou d'une autre à la réalisation de ce document. Que chacun trouve ici l'expression de ma sympathie et de ma reconnaissance.

Je suis affecté par les nombreux sacrifices consentis par mon épouse Marcelline et mes enfants Elodie Thècle, Arnaud Innocent, Brice Prosper et Mariette Ida durant mon absence lors de la collecte des données.

Sommaire

Liste des tableaux	v
Liste des figures	vii
Liste des abréviations	ix
Liste des publications	xi
Résumé	xii
Summary	xiii
INTRODUCTION GENERALE	1
PREMIERE PARTIE : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE	
1. L'historique et l'origine du niébé.....	5
2. La classification botanique du niébé	5
3. La description sommaire du niébé	5
4. L'importance de la culture du niébé	6
5. Les contraintes à la production du niébé	8
5.1. Les contraintes agro climatiques.....	8
5.2. Les contraintes biotiques	8
5.2.1. Les mauvaises herbes du niébé	8
5.2.2. Les insectes ravageurs	9
5.2.3. Les maladies bactériennes et fongiques du niébé	9
5.2.4. Les maladies virales du niébé	11
6. L'importance de la transmission des virus par les graines	13
7. La maladie de la mosaïque du niébé transmise par les pucerons.....	14
7.1. Les symptômes de la maladie	14
7.2. L'effet de la maladie sur les pertes de récolte	16
7.3. La distribution géographique	16
7.4. Le virus de la mosaïque du niébé transmis par pucerons.....	18
7.4.1. Les caractéristiques biologiques et biophysiques du CABMV	18
7.4.2. La caractérisation moléculaire du CABMV.....	20
7.4.3. Les plantes hôtes du CABMV	21
7.4.4. Les propriétés sérologiques du CABMV et relations avec les autres potyvirus	23
7.4.5. Les méthodes de diagnostic du CABMV	24
7.4.6. La variabilité sérologique du CABMV	25
8. Les modes de transmission du CABMV.....	25
8.1. La transmission mécanique	25
8.2. La transmission par les vecteurs	26
8.3. La transmission par les graines de niébé.....	27
8.3.1. Les principaux facteurs influençant la transmission par les graines	27
8.3.2. La localisation du CABMV dans la graine	28
9. L'épidémiologie de la mosaïque du niébé transmise par pucerons	28
10. Les méthodes de lutte contre le CABMV	29
10.1. Les méthodes de lutte culturale	29
10.2. La lutte chimique contre les pucerons vecteurs	30
10.3. Les moyens de lutte génétique	31
10.3.1. La résistance contre les pucerons vecteurs	31
10.3.2. La résistance à l'infection virale	32
10.3.3. La résistance à la transmission du virus par les graines.....	33

DEUXIEME PARTIE : ECOLOGIE ET BIODIVERSITE DU CABMV

CHAPITRE 1. IDENTIFICATION DES SOURCES D'INFECTION DU CABMV

1.1. Introduction	34
1.2. Matériel et méthodes.....	35
1.2.1. La prospection et collecte des échantillons végétaux.....	35
1.2.2. La détection sérologique du CABMV par ELISA.....	35
1.2.3. La technique de transmission par inoculation mécanique	36
1.2.4. La technique de détection du CABMV dans les graines entières	37
1.2.5. La méthode de mise en évidence de la graine malade et sa plantule	37
1.2.6. La technique de la recherche de la localisation du virus dans la graine.....	37
1.2.7. L'étude des caractéristiques de transmission du CABMV par les graines.....	37
1.2.8. La méthode de recherche du CABMV dans les échantillons de plantes sauvages naturellement infectées	38
1.2.9. Les analyses statistiques des résultats.....	38
1.3. Résultats.....	39
1.3.1. Les observations des symptômes lors des prospections au champ	39
1.3.2. La détection biologique du CABMV dans les échantillons collectés	39
1.3.3. La détection sérologique du CABMV dans les échantillons collectés.....	43
1.3.4. La détection sérologique du CABMV dans les graines	46
1.3.5. La recherche de la localisation du virus dans la graine	46
1.3.6. La mise en évidence de la graine malade et sa plantule.....	47
1.3.7. L'étude des caractéristiques de transmission du CABMV par les graines.....	49
1.3.7.1. Le délai de passage du virus dans les graines immatures.....	49
1.3.7.2. L'évolution du taux de contamination des graines au cours de la formation et la maturation des gousses.....	49
1.3.7.3. La relation entre le rang de la graine dans la gousse et sont état sanitaire.....	51
1.4. Discussion	52

CHAPITRE 2 : BIODIVERSITE DU CABMV

2.1. Introduction	56
2.2. Matériel et méthodes.....	58
2.2.1. Le matériel végétal.....	58
2.2.2. La technique de caractérisation des variants sérologiques.....	58
2.2.3. La caractérisation des variants pathologiques	59
2.2.4. Les analyses statistiques.....	59
2.3 Résultats.....	60
2.3.1. L'étude des isolats et identification des sérotypes du CABMV.....	60
2.3.2. La distribution géographique des sérotypes du CABMV à travers le Pays.....	62
2.3.3. La caractérisation pathogénique des isolats de CABMV.....	64
2.3.3.1. La diversité des symptômes induits par le CABMV.....	64
2.3.3.2. La réactivité des plants hôtes sauvages vis-à-vis des isolats du CABMV....	68
2.5.2. La réactivité de variétés de niébé résistantes vis-à-vis des isolats du CABMV	68
2.4. Discussion	70
2.5. Conclusion partielle	72

TROISIEME PARTIE : PROPAGATION ET CONTRÔLE DU CABMV

CHAPITRE 1 : RÔLE DES GRAINES CONTAMINEES DE NIEBE ET DES PUCERONS DANS LA PROPAGATION DU CABMV

1.1. Introduction	74
1.2. Matériel et méthodes.....	75
1.2.1. La recherche des graines contaminées par le CABMV.....	75
1.2.2. L'étude du développement des épidémies en station (Kamboinsé).....	75
1.2.3. Les paramètres observés au cours de l'étude	76
1.2.4. Les analyses statistiques	76
1.3. Résultats.....	76
1.3.1. L'évaluation de la population des pucerons 30 jours après le semis	76
1.3.2. L'effet du taux de contamination des semences sur l'incidence de la maladie 31 et 59 jours après le semis	78
1.3.3. L'étude de l'évolution de l'incidence de la maladie dans les parcelles	81
1.3.3.1. Cinétique de propagation du CABMV à partir de chaque taux initial de contamination des semences chez les variétés à fort pouvoir de transmission du virus par les graines.....	81
1.3.3.2. Cinétique de propagation du CABMV à partir de chaque taux initial de contamination des semences chez les variétés à faible pouvoir de transmission du virus par les graines	86
3.4. Discussion	92

CHAPITRE 2 : EFFET DES ZONES AGRO ECOLOGIQUES SUR LA PROPAGATION DU CABMV

2.1. Introduction	96
2.2. Matériel et méthodes	97
2.2.1. L'étude du développement des épidémies à Somnawaye, Sapouy et Niangoloko	97
2.2.2. Les paramètres observés au cours de l'étude	97
2.2.3. Les analyses statistiques	98
2.3. Résultats.....	98
2.3.1. L'évaluation de la population des pucerons 30 jours après le semis	98
2.3.2. L'incidence du CABMV à 31 et 59 jours après le semis selon les taux de contamination initiale des semences.....	100
2.3.3. La propagation de la mosaïque du niébé causée par le CABMV	104
2.3.3.1. Chez la variété Gorom local	104
2.3.3.2. Chez la variété K VX 61-1.....	104
2.4. Discussion	108

CHAPITRE 3: GESTION INTEGREE DU CABMV

3.1. Introduction	112
3.2. Matériel et méthodes.....	114
3.2.1. L'étude du traitement insecticide sur l'évolution du CABMV.....	114
3.3. Résultats	114

3.3.1. L'effet du traitement insecticide sur la dissémination du CABMV chez les variétés à fort pouvoir de transmission du virus par les graines.....	114
3.3.2. L'effet du traitement insecticide sur la dissémination du CABMV chez les variétés à faible pouvoir de transmission du virus par les graines.....	119
3.3.3. Le développement de la mosaïque du niébé avant et après le traitement insecticide	123
3.4. Discussion	125
DISCUSSION GENERALE	128
CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES.....	134
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	136
ANNEXES	153

Liste des tableaux

Tableau 1 :	Principaux virus infectant le niébé dans le monde (Hampton et Tottappilly, 2003)	12
Tableau 2 :	Espèces de plantes sensibles à l'infection par le CABMV	21
Tableau 2 suite	Espèces de plantes sensibles à l'infection par le CABMV	22
Tableau 3 :	Réactions des variétés de niébé Gorom local et TVU2657 à l'inoculation mécanique d'extraits bruts de feuille de plantes collectées.....	40
Tableau 4 :	Détection sérologique du CABMV dans les échantillons collectés	44
Tableau 5 :	Détection sérologique du CABMV par ELISA dans les graines entières ou disséquées chez quatre variétés de niébé	47
Tableau 6 :	Détection sérologique et biologique du CABMV dans les fragments de cotylédons et les plantules issues de graines correspondantes chez quatre variétés de niébé.....	48
Tableau 7 :	Anticorps monoclonaux et dilutions de travail utilisés.....	58
Tableau 8 :	Caractéristiques pathogéniques d'isolats viraux collectés chez le niébé dans différentes localités et appartenant aux divers sérotypes du CABMV.....	65
Tableau 9 :	Caractéristiques pathogéniques d'isolats viraux collectés chez le voandzou dans différentes localités et appartenant aux divers sérotypes du CABMV.....	66
Tableau 10 :	Réaction de quelques espèces trois semaines après l'inoculation mécanique.....	69
Tableau 11:	La réactivité de sérotypes du CABMV chez sept variétés de niébé en comparaison avec le témoin sensible Gorom local....	70
Tableau 12 :	Evaluation des pucerons sur les parcelles 30 jours après le semis de 2001 à 2004.....	77
Tableau 13:	Valeurs de l'aire sous la courbe de progression de la maladie (AUDPC) chez les variétés à fort pouvoir de transmission du virus par graine.....	85
Tableau 14:	Valeurs de l'aire sous la courbe de progression de la maladie (AUDPC) chez les variétés à faible pouvoir de transmission du virus par graine	89
Tableau 15:	Corrélations entre le taux de contamination des semences par le CABMV et l'incidence moyenne de la maladie de 2001 à 2004.....	91
Tableau 16 :	Evaluation des populations de pucerons sur les plants de Gorom local, 30 jours après le semis dans les différentes localités.....	99
Tableau 17 :	Evaluation des populations de pucerons sur les plants de KVX 61-1, 30 jours après le semis dans les différentes localités.....	99
Tableau 18 :	Corrélations entre le taux de contamination des semences et l'incidence moyenne du CABMV dans les différentes localités à 31 et 59 jours après le semis.....	103

Tableau 19 :	Valeurs AUDPC (aire sous la courbe de progression de la maladie) chez Gorom local..	106
Tableau 20 :	Valeurs AUDPC (aire sous la courbe de progression de la maladie) chez KVX61-1.....	106
Tableau 21 :	Intensité de la mosaïque du niébé (valeurs AUDPC) chez les variétés à forte capacité de transmission du CABMV par graines de 2002 à 2004 dans les parcelles non traités (NT) ou traités (T) avec l'insecticide	118
Tableau 22 :	Intensité de la mosaïque du niébé (valeurs AUDPC) chez les variétés à faible capacité de transmission du CABMV par graines de 2002 à 2004 dans les parcelles non traités (NT) ou traités (T) avec l'insecticide	122

Liste des figures

Figure 1 :	Carte du Burkina Faso indiquant les trois zones agro écologiques.....	9
Figure 2 :	<i>Symptômes de mosaïque causés par le CABMV</i>	15
Figure 3 :	Distribution géographique de la mosaïque du niébé transmise par pucerons sur le continent africain	17
Figure 4 :	Particules de CABMV observées en microscopie électronique	19
Figure 5 :	Les symptômes observés au cours des prospections.....	41
Figure 6 :	Les symptômes observés au cours des prospections suite	42
Figure 7 :	Distribution géographique du CABMV au Burkina Faso.....	45
Figure 8 :	Evolution du taux de graines contaminées par le CABMV au cours de la formation et la maturation des gousses chez huit variétés de niébé	50
Figure 9 :	Relation entre la fréquence des graines contaminées par le CABMV et le rang de la graine dans la gousse (numéroté à partir du pédoncule vers l'extrémité des gousses).....	51
Figure 10 :	Profils de réaction des isolats du CABMV vis-à-vis des anticorps monoclonaux	60
Figure 11 :	Fréquences des sérotypes du CABMV identifiés chez l'ensemble des isolats viraux niébé et voandzou.....	61
Figure 12 :	Fréquences des sérotypes du CABMV chez les isolats viraux infectant le niébé et le voandzou	62
Figure 13 :	Distribution géographique des sérotypes du CABMV au Burkina Faso..	63
Figure 14 :	Types de symptômes induits chez la variété de niébé Gorom local par les différents sérotypes du CABMV	67
Figure 15 :	Incidence du CABMV à 31 jours après le semis dans les parcelles ensemencées avec des lots de graines à différents niveaux de contamination par le CABMV pour les variétés de niébé à forte aptitude (A) et à faible aptitude (B) de transmission du virus par graines.....	79
Figure 16 :	Incidence du CABMV à 59 jours après le semis dans les parcelles ensemencées avec des lots de graines à différents niveaux de contamination par le CABMV pour les variétés de niébé à forte aptitude (A) et à faible aptitude (B) de transmission du virus par graines.....	80
Figure 17 :	Propagation de la mosaïque du niébé transmise par pucerons de 2001 à 2004 à partir de semences indemnes de virus (A) et de semences contaminées à 0,05% (B) chez les variétés à fort pouvoir de transmission du virus par graines.....	82
Figure 18 :	Propagation de la mosaïque du niébé transmise par pucerons de 2001 à 2004 à partir de semences contaminées à 0,25% (A) et 0,5% (B) chez les variétés à fort pouvoir de transmission du virus par graines.....	84
Figure 19 :	Propagation de la mosaïque du niébé transmise par pucerons de 2001 à 2004 à partir de semences indemnes de virus (A) et de semences contaminées à 0,25% (B) chez les variétés à faible pouvoir de transmission du virus par graines.....	87

Figure 20 :	Propagation de la mosaïque du niébé transmise par pucerons de 2001 à 2004 à partir de semences contaminées à 1% (A) et 5% (B) chez les variétés à faible pouvoir de transmission du virus par graines.....	88
Figure 21 :	Incidence du CABMV chez la variété de niébé Gorom local dans trois localités à 31 jours après le semis (A) et 59 jours après le semis (B)...	101
Figure 22 :	Incidence du CABMV chez la variété de niébé KVX 61-1 dans trois localités à 31 jours après le semis (A) et 59 jours après le semis (B)...	102
Figure 23:	Propagation de la mosaïque du niébé au champ chez la variété Gorom local à partir de semences contaminées par le CABMV à 0% (A), 0,05% (B), 0,25% (C) et 0,5% (D).....	105
Figure 24 :	Propagation de la mosaïque du niébé au champ chez la variété KVX61-1 à partir de semences infectées par le CABMV à 0% (A), 0,25% (B), 1% (C) et 5% (D).....	107
Figure 25 :	Propagation de la mosaïque du niébé dans les parcelles ayant subi un traitement insecticide (—) ou non (---) de 2002 à 2004 Les parcelles ont étéensemencées avec des graines de différentes variétés de niébé, indemnes de virus (A) ou contaminées à 0,05% (B).....	116
Figure 26 :	Propagation de la mosaïque du niébé dans les parcelles ayant subi un traitement insecticide (—) ou non (---) de 2002 à 2004 Les parcelles ont étéensemencées avec des graines de différentes variétés de niébé, contaminées à 0,25% (A) ou 0,5% (B).....	117
Figure 27 :	Propagation de la mosaïque du niébé chez les variétés à faible capacité de transmission du CABMV par les graines de 2002 à 2004. Les parcelles ont étéensemencées avec des graines indemnes de virus (A) ou contaminées à 0,25% (B) et ont subi un traitement insecticide (—) ou non (---).....	120
Figure 28 :	Propagation de la mosaïque du niébé chez les variétés à faible capacité de transmission du CABMV par les graines de 2002 à 2004. Les parcelles ont étéensemencées avec des graines contaminées par le virus à 1% (A) ou 5% (B) et ont subi un traitement insecticide (—) ou non (---).....	121
Figure 29 :	Intensité de la mosaïque du niébé causé par le CABMV avant et après le traitement insecticide chez les variétés de niébé à fort (A) et à faible (B) pouvoir de transmission du virus par les graines	124

LISTE DES ABREVIATIONS

a) Les institutions

CNRST	Centre National de la Recherche Scientifique et Technologique
CREAF	Centre de Recherches Environnementales, Agricoles et de Formation
DGPSA	Direction Générale de la Prévention et des Statistiques Agricoles
ICTV	International Committee on Taxonomy of Viruses (Comité international de taxonomie des virus)
IITA	International Institut for Tropical Agriculture (Institut international d'Agriculture tropicale)
INERA	Institut de l'Environnement et de Recherches Agricoles
UFR/SVT	Unité de Formation et de Recherche/Sciences de la Vie et de la Terre

b) Acronymes viraux

AMV	<i>Alfalfa mosaic virus</i>
BCMV-BIC	<i>Bean common mosaic virus</i> – Blackeye cowpea strain
BICMV	<i>Blackeye cowpea mosaic virus</i>
BSMV	<i>Barley stripe mosaic virus</i>
CABMV	<i>Cowpea aphid-borne mosaic virus</i>
CCMoV	<i>Cowpea chlorotic mottle virus</i>
CGMV	<i>Cowpea golden mosaic virus</i>
CMMoV	<i>Cowpea mild mottle virus</i>
CMV	<i>Cowpea mosaic virus</i>
CMoV	<i>Cowpea mottle virus</i>
CuMV	<i>Cucumber mosaic virus</i>
CSMV	<i>Cowpea severe mosaic virus</i>
LMV	<i>Lettuce mosaic virus</i>
MCMV	<i>Maize chlorotic mosaic virus</i>
PSBMV	<i>Pea seed borne mosaic virus</i>
PVY	<i>Potato virus Y</i>
SBMV	<i>Southern bean mosaic virus</i>
SMV	<i>Soybean mosaic virus</i>
TMV	<i>Tobacco mosaic virus</i>
TMVCS	<i>Tobacco mosaic virus cowpea specific</i>
TBRV	<i>Tomato black ring virus</i>

c) Autres abréviations

A _{405 nm}	Absorbance à 405 nanomètres
ADN	Acide DésoxyriboNucléique
ADN _C	ADN complémentaire
ARN	Acide Ribonucléique
AUDPC	Area Under Disease Progress Curve
BSA	Sérum Albumine Bovine
DASI	Double Anticorps Sandwich Indirecte
dNTP	Desoxynucleotide triphosphate (dATP,dGTP,dCTP,dTTP)
DO	Densité optique
DTT	Dithiothréitol
ELISA	Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay (Test immunoenzymatique)
HC-Pro	Helper component Proteinase
IgG	Immunoglobuline G
JAS	Jours après semis
Kb	Kilo base
KDa	Kilo Dalton
Kg	Kilogramme
m	Mètre
MABbiot	Monoclonal antivirus couplé à la biotine
mm	Millimètre
nm	Nanomètre
NPK	Azote Phosphate Potassium
ORF	Open Reading Frame (cadre de lecture ouverte)
p/ v	poids/volume
PBS-T	Tampon Phosphate Salin-Tween
PCR	polymerase Chain Reaction (Réaction de la polymérisation en chaîne)
pH	Potentiel hydrogène
pNPP	Para-nitrophenyl phosphate
rpm	Rotation par minute
RT	Transcription reverse
t/ha	tonne/hectare
VPg	Viral protein genome-linked (protéine virale liée au génome)

LISTE DES PUBLICATIONS

ARTICLES PUBLIES

1. KONATE G. et NEYA B. J., 1996. Rapid detection of *Cowpea aphid-borne mosaic virus* in cowpea seeds. *Annals of Applied Biology*, **129**, 261-266.
2. B. J. NEYA, J. ZABRE, R.J. MILLOGO, S. GUINKO et G. KONATE, 2007. Effect of Cowpea Seeds Contamination Rate by the *Cowpea aphid borne mosaic virus* on Epidemics Development. *Pakistan Journal of Biological Sciences* 10 (24): 4365-4374.
3. B. J. NEYA, J. ZABRE, R.J. MILLOGO, S. GUINKO et G. KONATE, 2008. Propagation of the *CABMV* from Infected Seeds in Three Zones of Burkina. *Plant Pathology Journal* 7 (1): 75-84.

ARTICLES SOUMIS

NEYA B. J., ZABRE J., KONATE G., et SANKARA P., 2010. L'effet d'un traitement insecticide sur le développement des épidémies suivant le taux de contamination des semences de niébé par le *CABMV*. Soumis à la Revue Etudes et Recherches sahéliennes.

LISTE DES FICHES TECHNIQUES

1. B.J. Néya, E.V.S. Traoré, O. Traoré et G. Konaté, 2006. La mosaïque du niébé transmise par pucerons au Burkina Faso
2. B.J. Néya, E.V.S. Traoré, O. Traoré et G. Konaté, 2006. La graine de niébé, principal maillon de la lutte contre le virus de la mosaïque du niébé transmis par pucerons.

RESUME

La mosaïque du niébé transmise par des pucerons est la principale maladie virale du niébé (*Vigna unguiculata* (L.) WALP.) en Afrique. Elle est causée par le *Cowpea aphid-borne mosaic virus* (CABMV) ou virus de la mosaïque du niébé transmise par des pucerons. Les principales caractéristiques de l'épidémiologie de la maladie ont été étudiées dans le cas du Burkina Faso.

La détection sérologique du CABMV par le test immunoenzymatique ELISA (Enzyme-linked immunosorbent assay) et les tests de transmission ont permis d'identifier les principales sources d'infection du virus. Trois espèces de plantes cultivées dont le niébé, le voandzou (*Vigna subterranea* (L.) Verdc.) et le sésame (*Sesamum indicum* L.) ont été identifiées comme hôtes naturels du CABMV. Douze nouvelles espèces de plantes sauvages (*Amaranthus spinosus* L. ; *Brachiaria distichophylla* (Trin.) Stap ; *Corchorus olitorius* L. ; *Corchorus tridens* L. ; *Crotalaria retusa* L. ; *Daniellia oliveri* (Rolf) Hutch et Dalz ; *Diodia sarmentosa* Sw. ; *Hyptis suaveolens* Poit. ; *Indigofera hirsuta* L. ; *Leucas martinicensis* (Jacq.) R.Br. ; *Mitracarpus villosus* (Sw.) Dc. ; *Tephrosia* sp.) ont aussi été identifiées par la gamme d'hôtes naturelles du virus. Cependant, la transmission du virus par les graines de niébé est la plus importante source d'infection primaire responsable de l'apparition des premiers plants infectés au champ. La détection sérologique du virus dans les graines est une méthode rapide mais moins fiable que les tests biologiques de germination.

L'utilisation d'anticorps monoclonaux anti-CABMV pour déterminer la diversité sérologique du virus a permis d'identifier quatre sérotypes nommés respectivement sérotypes I, II, III et IV, les sérotypes I et IV ayant été identifiés pour la première fois dans le pays. L'espèce *Ficus exasperata* Vahl. a été identifiée comme hôte différentiel du sérotype II.

La propagation de la maladie dépend étroitement du génotype de niébé cultivé, du taux d'infection des semences par le CABMV et de l'année de culture. Ainsi, en années de fortes épidémies comme 2001 et 2004, la propagation de la maladie est précoce et rapide chez les variétés de niébé à forte capacité de transmission du virus par les graines. A l'inverse, chez les variétés de niébé à faible aptitude de transmission du virus par les graines les épidémies sont beaucoup moins sévères même lorsque les semences fortement contaminées (5%) sont utilisées. La propagation de la maladie dépend aussi de la zone agro écologique. Elle est plus forte en zone sud-soudanienne avec des conditions agro climatiques plus favorables aux facteurs épidémiques tels que les populations de pucerons vecteurs.

L'utilisation de semences peu ou pas contaminées provenant de variétés de niébé à faible capacité de transmission du CABMV par les graines, en association avec des traitements insecticides bien ciblés peut constituer une stratégie efficace de gestion intégrée de la maladie.

Mots-clés : mosaïque du niébé, CABMV, biodiversité, épidémiologie, contrôle.

SUMMARY

Cowpea aphid-borne mosaic disease caused by *Cowpea aphid-borne mosaic virus* (CABMV) is the most important viral disease of cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) WALP.) in Africa. The main features of the disease epidemiology were studied in Burkina Faso. The main sources of infection were identified by serological detection of CABMV by Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) and biological tests. Three crops i.e. cowpea, Bambara groundnut (*Vigna subterranea* (L.) Verdc.) and sesame (*Sesamum indicum* L.) were identified as natural hosts of CABMV. Twelve wild host species (*Amaranthus spinosus* L. ; *Brachiaria disticophylla* (Trin.) Stap ; *Corchorus olitorius* L. ; *Corchorus tridens* L. ; *Crotalaria retusa* L. ; *Daniellia oliveri* (Rolf) Hutch et Dalz ; *Diodia sarmentosa* Sw. ; *Hyptis suaveolens* Poit. ; *Indigofera hirsuta* L. ; *Leucas martinicensis* (Jacq.) R.Br. ; *Mitracarpus villosus* (Sw.) Dc. ; *Tephrosia* sp.) were also identified for the first time within the natural host range of the virus. However, seed-transmission of the virus is the most important primary infection source which is responsible for the first infected plants in the field. Serological detection of CABMV is an easier and faster seed testing method but less reliable than germination rate or sprouting rate growth-out tests.

Anti-CABMV monoclonal antibodies were used to assess the serological diversity of the virus. Four serotypes namely serotypes I, II, III and IV, respectively were identified. Serotypes I and IV were reported for the first time in the country. A perennial host species (*Ficus exasperate* Vahl.) was identified as a differential host for CABMV serotype II.

The spread of the disease was found to be closely dependant on cowpea genotypes grown, seed sanitary quality with regard to CABMV contamination and the year. In years of severe epidemics such as 2001 and 2004, the disease spread earlier and faster when cowpea varieties with high seed-transmission rates were used. By contrast, when varieties of low virus transmission through the seeds were used, epidemics were mild even if plants were grown from highly contaminates seeds (5% of seed contamination). The disease spread was also found to be dependent on the agro ecological zone. Epidemics are more likely in the south soudanian zone where agro climatic conditions may be more favorable to epidemic factors such as aphid vector populations.

The use of virus-free or low contaminated seeds from cowpea varieties of low virus transmission rates through the seeds associated to targeted insecticides treatments are likely an efficient integrated control strategy to combat the disease.

Keywords : Cowpea mosaic disease, CABMV, biodiversity, epidemiology, control

INTRODUCTION GENERALE

INTRODUCTION GENERALE

Le niébé (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) est l'une des légumineuses à graines les plus importantes cultivées dans le monde, en particulier dans les zones tropicales semi-aride de basse altitude. La production mondiale de niébé a été évaluée en 1999 à 3 319 375 tonnes sur une superficie de 8 767 847 hectares environ (Fao stat, 2000) dont 75% pour l'Afrique soit 3 142 475 tonnes. En plus du Burkina Faso, les principaux pays africains producteurs de niébé sont le Bénin, le Malawi, le Mali, le Nigeria, le Niger et le Togo. Selon la FAO (2006), le Burkina Faso est classé parmi les grands producteurs mondiaux avec 456 600 de tonnes après le Nigeria (2 228 000 tonnes), le Brésil (700 000 tonnes) et le Niger (549 035 tonnes). Malgré la part importante des pays africains dans la production mondiale du niébé, les rendements restent faibles sur le continent et sont en moyenne de 250-300 kg/ha (Singh *et al.*, 1997). La faiblesse des rendements est due au système de culture traditionnelle dominée par une agriculture de subsistance et aux contraintes abiotiques (insuffisance et mauvaise répartition des pluies, pauvreté des sols) et biotiques (insectes, mauvaises herbes, maladies fongiques bactériennes et virales).

Au Burkina Faso, l'ensemble des régions agricoles du pays se prête bien à la culture du niébé. La recherche agricole a mis au point et vulgarisé de nombreuses variétés adaptées aux conditions pédoclimatiques du pays. Il s'agit notamment des variétés K VX396-4-5-2D, K VX396-4-4, K VX61-1, K VX30-309-6G, K VX414-22-72, K VX414-22-2, Gorom local, IAR7/180-4-5-1, Moussa local, TVX3236 etc. Malgré les potentialités offertes par l'ensemble du pays, seules les régions de l'ouest et du centre sont les plus grandes productrices du niébé. Ouédraogo *et al.*, (1996) estiment que cette culture pourrait jouer le rôle de culture de rente dans le plateau central et celui de moyen de diversification du système de production de la région Ouest. Selon la direction générale de la prévention et des statistiques agricoles (DGPSA, 2004), la production nationale de niébé a évolué de seulement 6 000 tonnes en 1984 à 460 000 tonnes en 2003. Cette augmentation de la production du niébé concurrence des cultures de base dont le sorgho et représente environ 95% de la production totale.

Le niébé est largement utilisé en alimentation humaine au Burkina Faso cependant, une partie de la production est commercialisée et fait de plus en plus

l'objet d'exportation vers la Côte d'Ivoire, le Ghana, le Togo et le Bénin, constituant ainsi une source importante de revenus pour le pays. Pour satisfaire les besoins intérieurs et faire face aux besoins d'exportation, il est indispensable d'accroître davantage la production. Dans le but d'accroître la production de niébé de façon stable, il est indispensable de lever plusieurs contraintes à la culture de cette légumineuse. Les plus importantes d'entre elles sont : la pauvreté des sols qui empêche le bon développement des plants ; la mauvaise organisation de la filière de commercialisation du niébé, ce qui peut à terme décourager la production ; l'action de nombreux ravageurs et maladies provoquant d'importantes pertes de récolte. La majeure partie des ravageurs du niébé appartient à la classe des insectes dont les effets sont observés aux différents stades de production du niébé. Au cours de son cycle végétatif, le niébé subit particulièrement l'attaque d'insectes nuisibles comme les pucerons de la famille des *Aphideae* (*Aphis craccivora*, *A. gossypii*, *A. fabae*), les thrips de la famille des *Tingideae* (*Megalurothrips sjostedti*), la foreuse des gousses de la famille des *Pyralideae* (*Maruca testulalis*) et les punaises suceuses de gousses (Vidano et Conti, 1965 ; Atiri, 1982 ; Atiri et al., 1984 . En plus des dégâts directs causés sur l'appareil végétatif, certains de ces insectes à l'exemple des pucerons, sont aussi responsables de la propagation de maladies à effet dévastateur sur les récoltes. Au cours de la conservation des récoltes, les graines de niébé sont régulièrement perforées par les bruches (*Callosobruchus maculatus*) appartenant à la famille des *Bruchideae* et d'autres insectes de stocks.

Une deuxième catégorie de ravageurs est constituée par les plantes parasites qui peuvent compromettre la culture du niébé. Il s'agit essentiellement du *Striga* dont les espèces identifiées chez le niébé sont *S. gesnerioides* et *Alectra vogelii*. Chez les variétés de niébé sensibles, *S. gesnerioides* et *A. vogelii* occasionnent des pertes de rendement variant entre 30 et 50% au Burkina Faso (Tignegré, 1988 ; Aggarwal et Ouédraogo, 1989 ; Muleba et al., 1997) et peuvent dans certains cas atteindre 100% (Alonge et al., 2001). Il n'existe aucun moyen de contrôle efficace contre le stiga.

Parmi les maladies de plantes affectant la production de niébé, on distingue principalement celles d'origines bactériennes, fongiques et virales. Les maladies d'origine virale sont généralement les plus dévastatrices et les plus difficiles à gérer en raison de la survenue d'épidémies fréquentes et de l'absence de

méthodes de lutte curatives applicables à ce type de maladies. Trois maladies virales du niébé ont été identifiées au Burkina Faso. Il s'agit de la mosaïque du niébé propagée par les pucerons, la mosaïque dorée du niébé et la maladie de la marbrure du niébé (Somé, 1989 ; Konaté et Néya, 1996). Cependant, la mosaïque du niébé propagée par pucerons a de loin été considérée comme la plus importante maladie virale du niébé dans le pays. C'est une maladie dont l'agent pathogène est connu sous le nom de *Cowpea aphid-borne mosaic virus* (CABMV) ou virus de mosaïque du niébé transmis par les pucerons. Le CABMV est responsable d'importantes pertes de récolte pouvant atteindre 15 et 87 % selon les variétés de niébé et l'âge des plantes au moment de l'infection virale (Aboul Ata et *al.*, 1982 ; Thottappilly et Rossel, 1992).

En dépit des effets néfastes du CABMV sur les pertes de récolte, très peu d'études permettant le choix de stratégies appropriées pour la mise au point de méthodes de lutte durable ont été consacrées au virus et à la maladie dont il est l'agent pathogène. Certes, la distribution géographique de la maladie sur le continent africain est assez bien connue avec une présence dans plus de 23 pays (Thottappilly et Rossel, 1992). Cependant, comme c'est le cas du Burkina Faso, la situation à l'intérieur des différents pays est très peu connue.

Par ailleurs, le CABMV fait partie du groupe des virus de plantes transmis par semences. La possibilité de transmission par les semences est une propriété qui tient un rôle essentiel dans la mise au point des stratégies de lutte contre ce type de virus. Or cette propriété dépend de différents facteurs dont la variété de plante cultivée, la souche virale, l'âge des plants au moment de l'infection etc. (Aboul Ata *et al.*, 1982 ; Johansen *et al.*, 1994 ; Tignégré, 2000).

Un autre paramètre jouant un rôle important dans la lutte contre les maladies virales est la connaissance de leurs caractéristiques épidémiologiques. Dans le cas du CABMV, les données épidémiologiques sont fragmentaires même si les propriétés de transmission sont assez bien connues. Par exemple, peu d'attention a été accordée à l'identification des plantes hôtes alternatives et à l'étude de leur rôle dans le maintien et la dissémination du virus en dépit du fait que ce rôle soit au moins en partie assurée par les semences de niébé infectées par le virus.

L'ensemble des acquis sur le CABMV met en évidence une insuffisance des données écologiques et épidémiologiques. C'est pourquoi les travaux de ce

mémoire ont été engagés afin de contribuer à combler ces lacunes. L'objectif principal était d'obtenir une meilleure compréhension des caractéristiques écologiques et épidémiologiques de la mosaïque du niébé transmise par pucerons dans le cas du Burkina Faso, dans la perspective d'une mise au point de méthodes de lutte appropriées contre la maladie.

Le travail présenté dans cette thèse est structuré en trois parties. Dans la première partie, nous avons procédé à la synthèse des travaux antérieurs afin de dégager les principaux axes de notre étude. Il en est ressorti que la résistance du niébé à la transmission du CABMV par les graines n'a pas toujours été étudiée de façon systématique. Cependant, de nombreux auteurs ont rapporté des différences importantes (0-55%) de transmission du virus par les graines en fonction des variétés de niébé (Phatak, 1974; Kaiser et Mossahebi, 1975; Ladipo, 1977; Mali *et al.*, 1983; Bashir et Hampton, 1994; Gillaspie *et al.*, 1993 ; 1994 ; Hampton *et al.*, 1997). La deuxième partie écologie et biodiversité du CABMV est composée de deux chapitres. Le chapitre identification des sources d'infection a permis la détermination de la gamme d'hôtes du CABMV en condition d'inoculations artificielle et naturelle. Le deuxième chapitre de cette partie a conduit à l'étude des sérotypes du CABMV au Burkina faso. La troisième partie propagation et contrôle du CABMV est constituée de trois chapitres dont le premier a étudié le rôle des semences contaminées à des taux connus et celui des pucerons dans la propagation du CABMV selon les années. Le second chapitre a, en plus des paramètres de dissémination du premier, étudié la propagation de cette maladie suivant les localités et les zones agro écologiques. Au troisième chapitre, l'étude de l'effet du traitement insecticide sur la propagation du virus de la mosaïque du niébé au champ chez huit variétés en éliminant les pucerons vecteurs a été conduite à Kamboinsé au Burkina Faso. Enfin, la discussion générale et la conclusion générale des principaux résultats acquis au cours de nos travaux ont été présentées avant de donner les principales perspectives qui sont le séquençage du génome de ce virus et la mise en place d'une méthode de lutte intégrée.

PREMIERE PARTIE

SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

1. Historique et origine du niébé

Selon Vavilov (1951), une zone présentant une diversité maximale pour une plante cultivée donnée est également susceptible de devenir le centre de domestication de l'espèce. La grande diversité et la large distribution des espèces sauvages de niébé en Afrique constitueraient donc une des preuves les plus sérieuses quant au fait que le niébé soit originaire du continent africain (Padulosi et Ng, 1997). Certains auteurs ont situé cette origine en Ethiopie (Vavilov, 1951 ; Steele, 1972) tandis que d'autres la situent en Afrique de l'Ouest (Piper, 1913 ; Rachie et Roberts, 1974). Cependant, les travaux de Rawal (1975) indiquant une abondance d'espèces sauvages à la fois dans les écologies de savanes et de forêts au Nigeria sont en faveur d'une origine ouest africaine et plus vraisemblablement Nigériane.

2. Classification botanique du niébé

Le niébé appartient à l'ordre des *Fabales*, à la famille des *Leguminosae* (ou encore *Fabaceae*), et à la sous-famille des *Papilionaceae* (ou encore *Faboideae*). Il est issu de la tribu des *Phaseoleae* et de la sous tribu des *Phaseolineae* (Padulosi et Ng, 1997). Il y a une confusion sur la classification et la nomenclature des taxa intra spécifiques. Toutefois, les points de vue s'accordent sur le fait que le niébé relève du genre *Vigna* et de l'espèce *unguiculata*. Selon Ng et Maréchal (1985), il existe plusieurs sous-espèces de *Vigna unguiculata* dont cinq sont bien identifiées : *V. unguiculata*; *V. cylindrica*; *V. sesquipedalis*; *V. dekindtiana* et *V. mensensis*. Trois d'entre elles sont cultivées (*V. unguiculata*; *V. cylindrica* ; *V. sesquipedalis*) alors que les deux autres vivent à l'état sauvage.

3. Description sommaire du niébé

Le plant de niébé a une tige cylindrique légèrement striée hélicoïdale quelquefois creuse et glabre. Elle peut être pigmentée ou non. Les feuilles sont alternes, trifoliées et de couleur vert foncé ou vert clair. Leur forme est globuleuse à effilée avec des formes intermédiaires. Le système racinaire est pivotant avec une abondante ramification, ce qui confère au niébé une certaine tolérance à la

sécheresse. Les racines portent des nodosités de bactéries fixatrices d'azote. Le niébé peut fixer efficacement jusqu'à 240 kg/ha d'azote (IITA, 1989). La culture suivante peut ainsi bénéficier d'un arrière effet de près de 70 kg/ha d'azote (Singh, 1985).

L'inflorescence est un racème axillaire non ramifié portant plusieurs fleurs. Le rachis est contracté et le pédoncule a une longueur variable. L'inflorescence peut se situer au dessus du feuillage ou à différents niveaux de la frondaison. La coloration des fleurs varie du blanc au violet avec des formes intermédiaires. La floraison du niébé peut être étalée ou groupée. Le cycle des variétés est déterminé au stade 50% de floraison (Drabo, 1981). On distingue des variétés à cycle court (60-65 jours), à cycle intermédiaire (65-85 jours) et les variétés tardives (85-110 jours) (Pandey, 1987).

Les gousses sont rattachées à l'axe du racème, elles sont de forme linéaire, spiralée, enroulée ou recourbée. A maturité, elles renferment des graines dont la couleur, la taille et la forme sont variables. Le poids moyen de 100 graines peut atteindre 25 grammes. Les caractéristiques de la graine de niébé ciblées par les programmes d'amélioration variétale sont en général les qualités organoleptiques, la couleur, la grosseur, la texture, l'aptitude au stockage, et la richesse en protéines. Chez le niébé, le potentiel de rendement en grain varie de 1,5 à 2 tonnes à l'hectare.

4. Importance de la culture du niébé

Le niébé se cultive entre les isohyètes 300 et 1500 mm sur des sols sableux à argileux en pluvial, en irrigué, en décrue (Drabo, 1981). Il ne supporte pas l'engorgement des sols et est considéré comme culture résistante à la sécheresse (Singh, 1985). En général, le niébé apparaît comme une culture de subsistance souvent associée au mil, au sorgho, au maïs ou au coton. Cependant, compte tenu de son importance et de la demande de plus en plus croissante le niébé est aussi produit en culture pure. En association avec le mil ou le sorgho, certaines variétés de niébé permettent de lutter contre le *Striga hermonthica* qui parasite ces céréales. Dans ce cas, le niébé sert de piège pour la germination mais ne permet pas le développement des plants de *Striga hermonthica*.

L'importance du niébé réside dans le fait qu'il est utilisé en nutrition humaine et en alimentation animale et constitue une source importante de revenus pour les producteurs, grâce à la commercialisation des graines et des fanes. Le niébé est d'un apport très appréciable en alimentation humaine. Il est consommé sous forme de feuilles vertes, gousses vertes, grains secs. Comme la plupart des légumineuses, c'est une plante riche en protéines (24%), en hydrates de carbone (62%) et qui contient en plus quelques autres éléments nutritifs comme la thiamine, la niacine et la riboflavine. Un des aspects les plus importants de l'apport du niébé dans l'alimentation humaine est la teneur de ses protéines en acides aminés essentiels comme la lysine, le tryptophane, la phénylalanine, la valine, la thréonine, la méthionine etc.(USDA , 2004). En cela, le niébé est un supplément important pour les aliments à base de céréales généralement pauvres en ces éléments nutritifs. Son association avec les céréales est aussi bénéfique en raison du fait que même s'il est riche en hydrates de carbone, ces carbohydrates ont une faible digestibilité compensée par les céréales (Srinivasa, 1976). Selon Srinivasa (1976), la digestibilité des hydrates de carbone du niébé peut être améliorée par les opérations de cuisson. L'alimentation animale bénéficie aussi des qualités nutritionnelles du niébé mais seulement dans une moindre mesure. En effet, le niébé est généralement utilisé sous forme de fanes ce qui joue une part importante dans l'alimentation animale notamment pendant la saison sèche en l'absence de pâturage. Cette utilisation du niébé a encouragé la sélection de variétés fourragères comme IAR/ 180-4-5-1 et K VX 147-11P permettant d'obtenir 3 à 4 tonnes de fanes par hectare. En raison de son utilisation dans l'alimentation humaine et animale, le niébé fait l'objet d'échanges commerciaux tant à l'intérieur des pays producteurs qu'à l'exportation. Selon Langyintuo *et al.*, (2003) le volume moyen annuel de niébé commercialisé ou exporté au Burkina Faso est de 140 000 tonnes générant des revenus de 20 milliards de francs CFA.

5. Les contraintes à la production du niébé

5.1. Les contraintes agro climatiques

L'accroissement de la production de niébé notamment par l'amélioration des rendements se heurte à plusieurs contraintes qui limitent ou même anéantissent les récoltes. Malgré sa plasticité, le niébé est rarement cultivé sous des conditions édaphiques et climatiques optimales permettant d'obtenir les rendements potentiels liés aux variétés utilisées. Dans le cas particulier du Burkina Faso, de forts contrastes climatiques liés principalement à la pluviométrie, sont distingués selon un axe nord-sud (Anonyme, 1993). Le pays comporte ainsi trois grandes zones agro-écologiques (figure 1) caractérisées par les conditions pluviométriques suivantes :

- Une zone sahéenne au nord avec 400 à 600 mm de pluies par an;
- Une zone nord-soudanienne au centre (600 à 900 mm par an);
- une zone sud-soudanienne au sud-ouest (900 à 1200 mm par an).

Certes, des variétés améliorées de niébé adaptées aux différentes zones agro-climatiques sont disponibles mais elles sont encore peu nombreuses et pas suffisamment adoptées par insuffisance de vulgarisation. Dans certains pays comme le Sénégal, plus de 93% des superficies de production du niébé sont occupées par des variétés locales (Kouakou *et al.*, 2007).

5.2. Les contraintes biotiques

A cause de son adaptation aux zones tropicales, le niébé subit les attaques de différents insectes ravageurs. Sa production est aussi handicapée par les mauvaises herbes et il est de plus sensible à plusieurs maladies. Ces facteurs biotiques sont classés parmi les plus importantes contraintes à la production du niébé dans le monde (IITA, 1989).

5.2.1. Les mauvaises herbes du niébé

Plusieurs espèces de plantes agissant comme mauvaises herbes ont été recensées dans les cultures de niébé (Poku et Akobundu, 1985). Il s'agit notamment de *Acanthospermum hispidum* Dc., *Alectra vogelii*, *Amaranthus* spp, *Cynodon dactylon* (L) Pers., *Digitaria* spp, *Euphorbia heterophylla* L., *Synedrella nodiflora* Gaertn.,

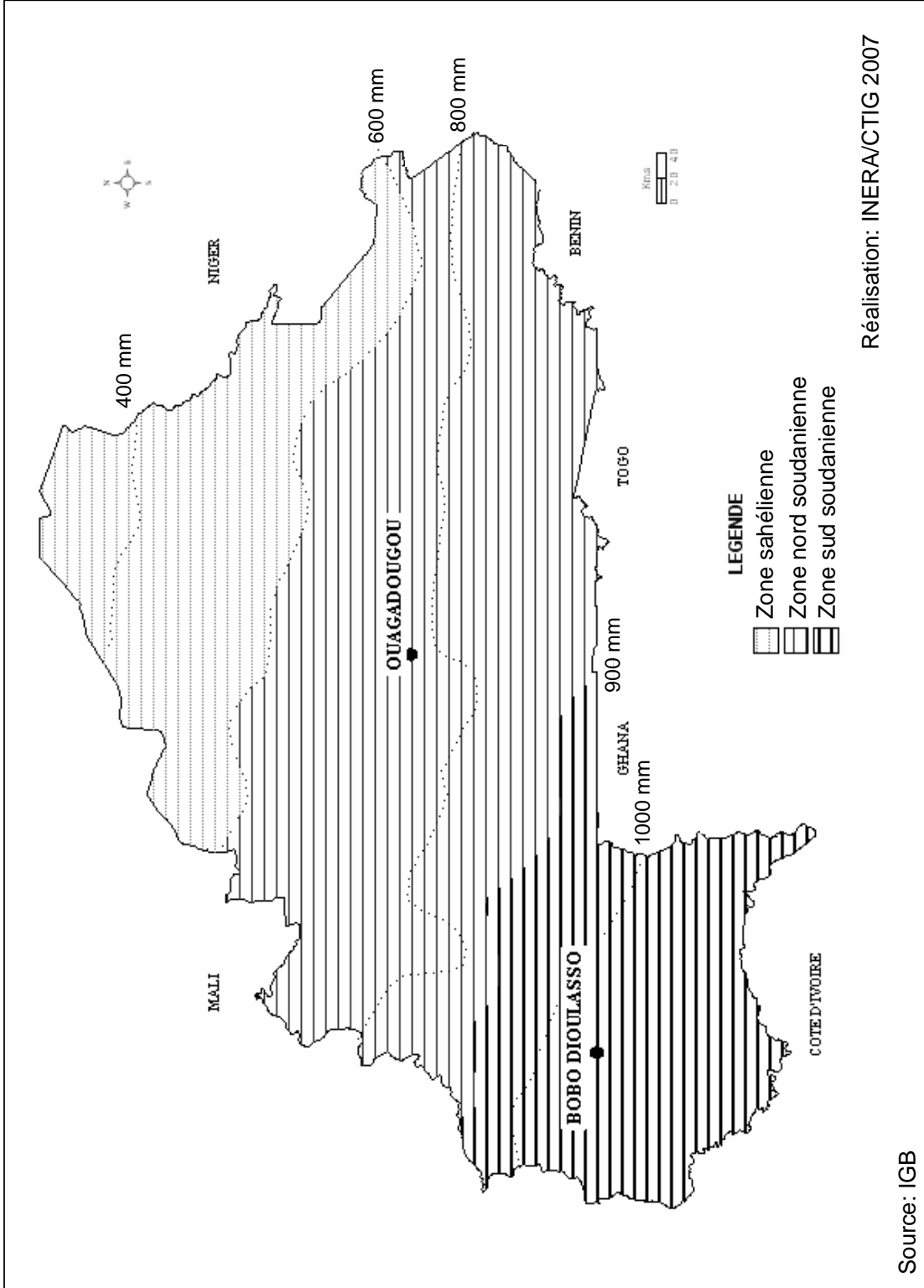


Figure 1 : Carte du Burkina Faso indiquant les trois zones agro écologiques du pays

Talinum triangulare, *Vernonia galamensis* (Cass.) Less. et *Striga gesneroides*. Cependant, ces espèces n'ont pas le même degré de nuisance pour la culture du niébé et celles qui sont particulièrement nuisibles peuvent être rangées dans deux catégories : espèces difficiles à éliminer des champs de niébé (*E. heterophylla* et *V. galamensis*) et espèces qui interfèrent directement avec les plants de niébé en les parasitant (*S. gesneroides* et *A. vogelii*).

5.2.2. Les insectes ravageurs

Trois principaux groupes d'insectes ravageurs peuvent être distingués en fonction des organes servant de cibles d'attaque chez le niébé (Singh et Jackai, 1985). Un premier groupe est constitué par les insectes qui s'alimentent sur l'appareil végétatif de la plante. Parmi les espèces d'insectes de ce groupe on peut citer la cicadelle *Empoasca signata*, et les coléoptères (*Ootheca mutabilis*, *O. bennigseni*). Dans un deuxième groupe, les insectes s'alimentent principalement sur l'appareil reproducteur. Il s'agit notamment de coléoptères du genre *Mylabris*, de foreur de gousse (*Maruca testulalis*), des larves de *Spodoptera littoralis* et des thrips (*Megalurothrips sjostedti*). Certains insectes comme les pucerons (*Aphis craccivora*, *A. fabae*) s'alimentent à la fois sur l'appareil végétatif et l'appareil reproducteur. Le troisième groupe comprend les insectes dits de stocks qui s'attaquent aux graines de niébé. Il est essentiellement représenté par les bruches (*Callosobruchus maculatus* et *C. chinensis*).

Certains insectes ravageurs du niébé jouent aussi un rôle important de vecteurs de maladies. Il s'agit par exemple des pucerons et des coléoptères fréquemment impliqués dans la transmission de virus.

5.2.3. Les maladies bactériennes et fongiques du niébé

Plus de 35 maladies bactériennes et fongiques ont été identifiées chez le niébé en Afrique (Emechebe et Shoyinka, 1985 ; Emechebe et Florini, 1997). Les maladies bactériennes les plus importantes par leurs dommages sur les récoltes sont la rouille bactérienne causée par *Xanthomonas vignicola* (2,7 à 92% de pertes selon les variétés de niébé) et la pustule bactérienne causée par des espèces de

Xanthomonas non encore suffisamment caractérisées. Elle peut provoquer des pertes de récolte atteignant 27% à 77% chez les variétés sensibles de niébé (Ekpo, 1978 ; Omotunde, 1987).

Environ 11 maladies majeures d'origine fongique ont été répertoriées chez le niébé (Sohi et Rawal, 1984 ; Emechebe et Shoyinka, 1985 ; Lin et Rios, 1985 ; Alabi, 1994). Parmi elles on peut citer l'antracnose causée par *Colletotricum lindemuthianum* qui induit des pertes de récolte de 40 à 50%, la maladie des taches brunes causée par *Colletotricum capsici* (46-75% de pertes de récolte) et la Cercosporiose rouge causée par *Cercospora canescens* et *Pseudocercospora cruenta* avec des pertes comprises entre 18 et 42%.

Au Burkina Faso, les maladies bactériennes et fongiques majeures qui affectent particulièrement la production de niébé sont celles causées par *Macrophomina phaseoli*, *Colletotrichum capsici*, *Rhizoctonia solani* et *Xanthomonas vignicola* (Séréomé, 1985).

5.2.4. Les maladies virales du niébé

La culture du niébé est affectée par une trentaine de virus ayant de larges distributions géographiques (Tottappilly et Rossel, 1985). Cependant, neuf de ces virus sont considérés comme les plus importants (Tableau 1). Même si deux d'entre eux appartiennent au genre *Potyvirus*, ils ont en général une classification taxonomique assez diversifiée. Excepté le virus de la mosaïque dorée du niébé (*Cowpea golden mosaic virus*, CGMV), ils sont tous transmissibles par inoculation mécanique. En condition naturelle, l'ensemble des neuf virus sont disséminés par trois groupes d'insectes vecteurs: les pucerons, les coléoptères et les mouches blanches. Un autre moyen important de dissémination naturelle pour la plupart de ces virus est leur capacité de transmission par les graines.

La possibilité pour plusieurs virus du niébé d'être transmis par un même groupe ou voire une même espèce d'insectes vecteurs est souvent à l'origine d'infections mixtes dans les plantes et aussi les graines de niébé (Anderson *et al.*, 1994). Comme c'est le cas pour la plupart des virus végétaux et plus généralement

Tableau 1 : Principaux virus infectant le niébé dans le monde (Hampton et Tottappilly, 2003)

Virus	Acronyme	Genre	Transmission	
			mécanique	graines
<i>Blackeye cowpea mosaic virus</i>	BICMV	<i>Potyvirus</i>	oui	oui
<i>Cowpea aphid-borne mosaic virus</i>	CABMV	<i>Potyvirus</i>	oui	oui
<i>Cowpea chlorotic mottle virus</i>	CCMV	<i>Bromovirus</i>	oui	non
<i>Cowpea golden mosaic virus</i>	CGMV	<i>Begomovirus</i>	non	non
<i>Cowpea mosaic virus</i>	CPMV	<i>Comovirus</i>	oui	oui
<i>Cowpea severe mosaic virus</i>	CPSMV	<i>Comovirus</i>	oui	oui
<i>Cowpea mottle virus</i>	CPMoV	<i>Carmovirus</i>	oui	oui
<i>Cucumber mosaic virus</i>	CMV	<i>Cucumovirus</i>	oui	oui
<i>Southern bean mosaic virus</i>	SBMV	<i>Sobemovirus</i>	oui	oui

des autres agents pathogènes, de telles infections mixtes conduisent souvent à des symptômes et des pertes de récoltes plus sévères, Diallo *et al.*, 2008. Bien que l'identification des virus du niébé au Burkina Faso et plus généralement dans les différents pays sahéliens apparaisse incomplète, plusieurs auteurs ont montré que le CABMV était le plus important (Aboul Ata *et al.*, 1982 ; Somé, 1989 ; Thottappilly et Rossel, 1992 ; Néya, 2002 ; Kouakou *et al.*, 2007). Au Burkina Faso, deux autres virus du niébé, le *Cowpea golden mosaic virus* (CGMV) et le *Cowpea mottle virus* (CPMoV) ont été signalés mais semblent avoir une importance très mineure (Somé, 1989). Au Sénégal, Ndiaye *et al.*, 1993 ont indiqué que le *Cowpea mosaic virus* (CPMV) et le *Cowpea yellow mosaic virus* (CYMV) sont deux virus économiquement importants après le CABMV.

6. L'importance de la transmission des virus par les graines

Selon Johansen *et al.*, 1994, 21 groupes de virus représentant environ 18% de l'ensemble des virus végétaux sont capables d'être transmis par les graines des plantes qu'ils infectent. Les espèces de plantes hôtes sont très variées et peuvent être des céréales (cas du *Maize chlorotic mosaic* (MCMV) chez le maïs et du *Barley stripe mosaic* (BSMV) chez l'orge) mais de nombreux cas de transmission de virus par graines sont fréquemment rencontrés chez les plantes maraîchères et les légumineuses (Lister et Thresh, 1955 ; Chant, 1959 ; Robertson, 1966 ; Gumedzoé, 1993).

La transmission des virus par graines est une propriété dont les mécanismes sont complexes (Johansen *et al.*, 1994 ; Maule et Wang, 1996 ; de Assis Filho et Sherwood, 2000). Cependant, la capacité de transmission d'un virus par graine semble dépendre particulièrement du couple virus/plante hôte. Ainsi, parmi les hôtes d'un même virus, la transmission par les graines peut être très efficace pour certains hôtes mais impossible pour d'autres. Comme indiqué dans le tableau 1, le niébé apparaît comme un hôte offrant des conditions favorables à la transmission des virus qui l'infectent.

La possibilité pour un virus d'être transmis par graines ou par d'autres types de

semences comme les tubercules et les boutures, a une triple importance épidémiologique. En premier lieu, c'est un moyen efficace de maintien du virus en l'absence des plants de l'hôte. Dans un deuxième temps, la présence des virus dans les graines est un facteur favorable à leur dissémination notamment à longue distance en raison des mouvements transnationaux de semences. C'est ce qui explique sans doute la distribution souvent pantropicale des virus transmis par graines (Frison, 1988). La troisième importance épidémiologique de la transmissibilité des virus par graines réside dans le fait que si les graines infectées sont utilisées comme semences, elles constituent directement la source d'inoculum primaire pour les virus impliqués. Or même si les taux de semences infectés sont faibles, de graves épidémies peuvent néanmoins survenir si la transmission secondaire des virus se fait de façon efficace (Ryder, 1973 ; Dinant et Lot, 1992).

7. La maladie de la mosaïque du niébé transmise par les pucerons

7.1. Les symptômes de la maladie

La mosaïque du niébé transmise par les pucerons tient son nom des symptômes de mosaïque qui se manifestent par la présence de zones vert-sombre et vert-clair sur le limbe des feuilles de plants malades (figure 2). La mosaïque peut se présenter sous des formes très diversifiées en fonction de la sévérité de l'infection, de la souche virale ou des variétés de niébé affectées (Ladipo, 1976 ; Singh et Rachie, 1985; Tottappilly et Rossel, 1992). Ainsi, la coloration vert-sombre peut être localisée seulement le long des nervures. Dans certains cas, les symptômes de mosaïque s'accompagnent de marbrure, de déformations foliaires et de chlorose (Singh et Allen, 1979). Les plants affectés subissent en général une réduction de taille et peuvent être atteints de rabougrissement ou de nanisme. En conséquence, la floraison est retardée ou carrément inhibée.

Chez *Nicotiana benthamiana* L., une plante test que la maladie peut aussi affecter, on observe des symptômes de mosaïque comme chez le niébé mais avec quelques particularités. Les plants infectés présentent des symptômes de mosaïque mais les feuilles deviennent très réduites, généralement effilées et parfois enroulées.

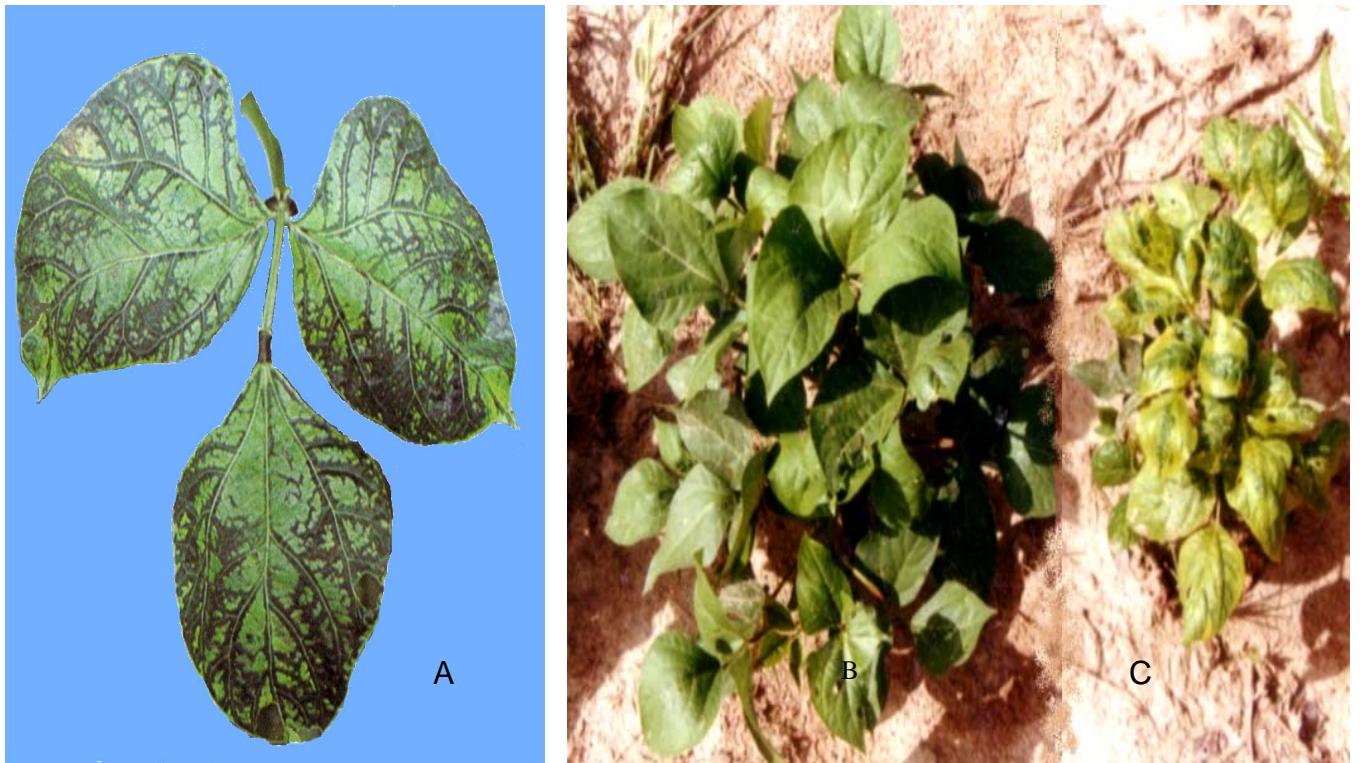


Figure 2 : *Symptômes de mosaïque causés par le CABMV (photos Néya, 2004) :*
A: *feuille malade*; B: *plant sain*; C: *plant malade rabougri*

Plusieurs maladies virales du niébé se caractérisent par l'observation de symptômes de mosaïque (tableau 1). Par conséquent, les symptômes de la maladie de la mosaïque du niébé propagée par les pucerons ne sont pas suffisants pour l'identification formelle de la maladie.

7.2. L'effet de la maladie sur les pertes de récolte

Parallèlement, à la diversité des symptômes, les pertes de récolte causées par la mosaïque du niébé transmise par pucerons sont très variables. Deux facteurs principaux semblent déterminants dans l'importance des pertes de récolte. Il s'agit du génotype de niébé et de la souche de virus. Ainsi, Selon Raheja et Leleji (1974) cités par Frison (1988) des pertes de 100% ont été attribuées à cette maladie au Nigéria. Des pertes similaires ont été rapportées dans le pays par Singh et Rachie (1985). Des pertes de rendement de 15 à 87% ont été signalées en Iran (Kaiser et Mossahebi, 1975). Au Burkina Faso, l'évaluation de dix variétés de niébé vis-à-vis de la maladie a conduit à des pertes situées entre 7% et 60% (Somé, 1989). Aucune relation significative n'a pu être mise en évidence entre les taux d'infection et les pertes de récolte. Récemment, Kareem et Taiwo (2007) ont obtenu des pertes totales de récolte chez trois variétés très sensibles de niébé (IT86D-719, Olo-II et Olloyin) lorsque les plants étaient infectés à l'âge de 10 ou 30 jours.

7.3. La distribution géographique

La mosaïque du niébé transmise par pucerons est la maladie virale du niébé la plus répandue dans le monde. Elle a été signalée sur l'ensemble des cinq continents. Ainsi, elle a été rapportée dans le sud de l'Europe en Italie (Vidano et Conti, 1965 ; Lovisolo et Conti, 1966). Elle a aussi été signalée aux Etats Unis par Bock et Conti en 1974 puis par Lima *et al.*, (1979), en Océanie par Singh et Allen (1979), en Australie (Behncken et Maleevski, 1977), en Asie (Mali *et al.*, 1981) et enfin dans plusieurs pays d'Afrique tropicale (Bock , 1973; Fisher et Lockhart, 1976; Rossel, 1977 ; Thottappilly et Rossel, 1992). La distribution de la maladie en Afrique se caractérise globalement par la présence de trois principaux blocs (figure 3). La plupart des pays à l'ouest du continent sont affectés par la maladie. De même, la

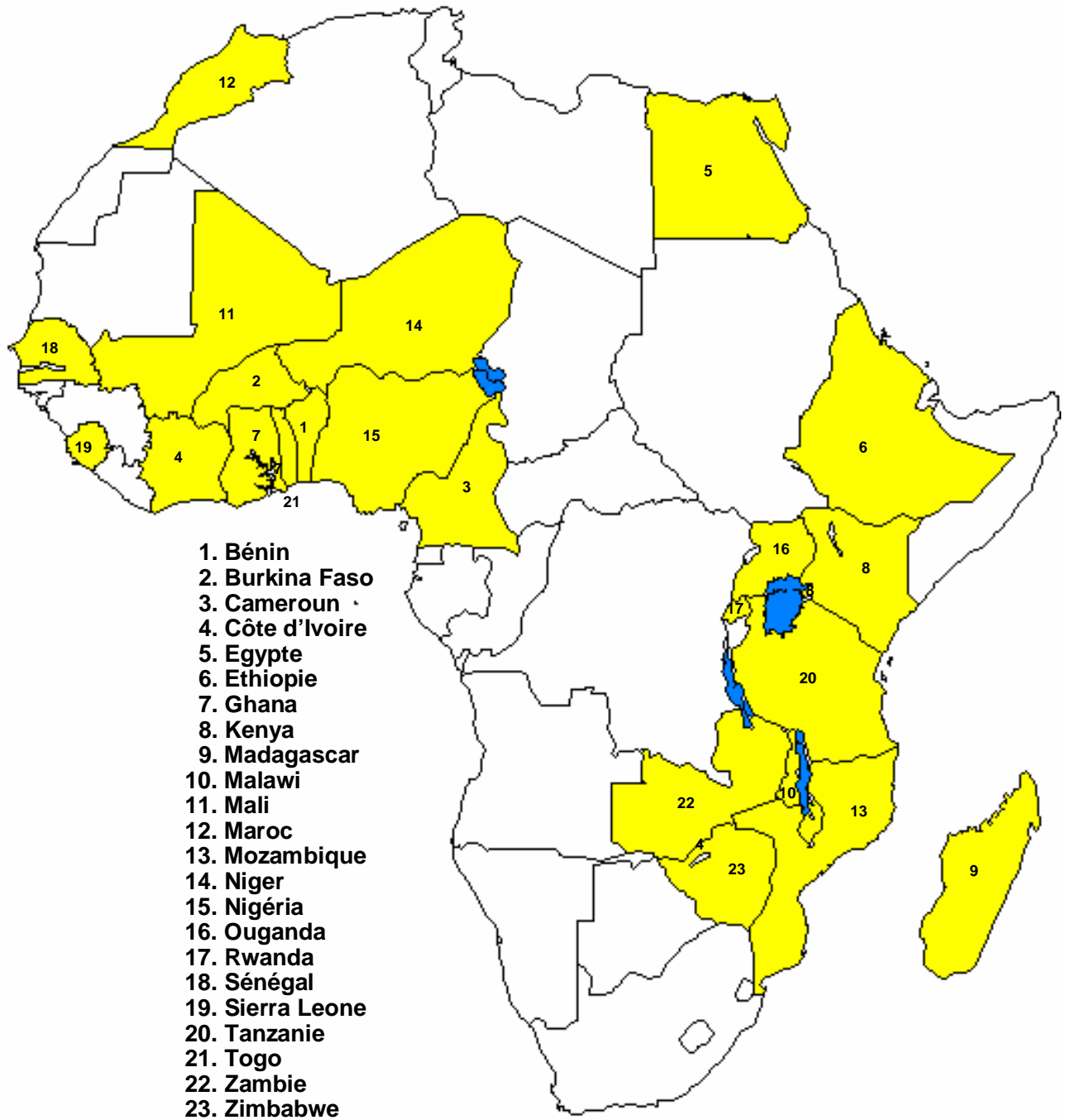


Figure 3 : Distribution géographique de la mosaïque du niébé transmise par pucerons en Afrique (source : Thottappilly et Rossel, 1992)

maladie a été signalée dans un grand nombre de pays formant le bloc oriental y compris Madagascar. Dans la partie nord du continent elle a été signalée seulement au Maroc et en Egypte. La maladie n'a pas encore été rapportée dans quelques pays dans les différents blocs et dans la plupart des pays situés sur l'axe nord-sud allant de la Libye et du Soudan à la Namibie et l'Afrique du Sud. Cela est probablement dû à un manque d'investigations plutôt qu'à une absence réelle d'occurrence, au regard des mouvements trans-frontaliers des semences par lesquelles la maladie peut se propager.

7.4. Le virus de la mosaïque du niébé transmis par pucerons

Le virus responsable de la mosaïque du niébé transmise par pucerons est connu sous le nom de *Cowpea aphid-borne mosaic virus* (acronyme : CABMV) par le Comité International de Taxonomie des Virus (ICTV). Le CABMV a été décrit pour la première fois en Italie par Lovisolo et Conti (1966). En Afrique, il a d'abord été rapporté au Kenya (Bock, 1973) avant que sa présence ne soit signalée dans les autres pays du continent. Il appartient à la famille des *Potyviridae*. La famille des *Potyviridae* comprend six genres (Fauquet *et al.*, 2005). Il s'agit des genres *Potyvirus* ayant pour virus type le *Potato virus Y* (PVY), *Ipomovirus* (avec pour virus type le *Sweet potato mild mottle virus*), *Macluravirus* (virus type : *Maclura mosaic virus*), *Rymovirus* (virus type : *Ryegrass mosaic virus*), *Tritimovirus* (virus type : *Wheat streak mosaic virus*) et *Bymovirus* (virus type : *Barley yellow mosaic virus*). Le genre *Potyvirus* est le plus important groupe dans la famille des *Potyviridae* avec une centaine de membres (Fauquet *et al.*, 2005). Ces membres ont des particules virales à structure filamenteuse.

7.4.1. Les caractéristiques biologiques et biophysiques du CABMV

La particule virale du CABMV a 727-765 nm de long et 11 nm de large (figure 4; Pio-Ribeiro *et al.*, 1978 ; Lima *et al.*, 1979).

La température d'inactivation de la particule virale est de 58°C. La longévité *in vitro* est de 3 jours à 20°C et de 4 semaines à -12°C (Bock, 1973). La congélation

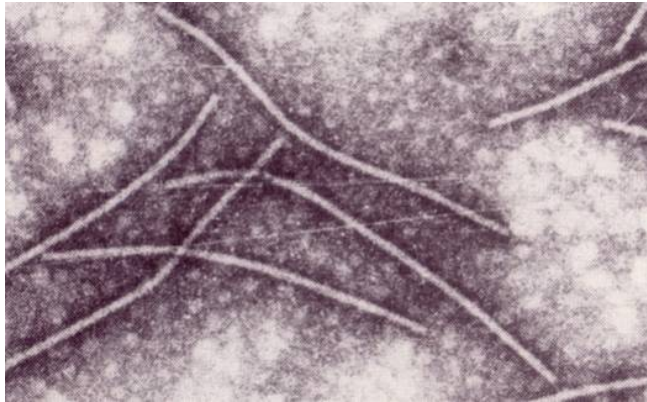


Figure 4 : Particules de CABMV observées en microscopie électronique (source: Rossel et Thotappilly, 1985)

conduit donc à une perte totale du pouvoir infectieux du virus après 4 semaines, ce qui rend fastidieux la conservation de ce virus *in vitro*. En général, le CABMV est moyennement concentré dans la plante infectée mais suffisamment pour être prélevé et transmis. Son point de dilution limite est de 10^{-3} .

Les particules virales du CABMV peuvent se présenter sous forme libre ou sous forme agrégée. Le coefficient de sédimentation est de 150 S pour les particules libres et de 175 S pour les particules agrégées (Bock, 1973). Les particules virales du CABMV sont très sensibles au traitement par le tétrachlorure de carbone utilisé en combinaison avec le chloroforme comme agents de clarification (Bashir et Hampton, 1995).

7.4.2. La caractérisation moléculaire du CABMV

Faisant partie de la famille des *Potyviridae*, le CABMV est un virus à ARN monocaténaire de polarité positive c'est-à-dire de type messenger. Depuis une dizaine d'années, une séquence partielle du génome viral réalisée dans la région 3'-terminal a été obtenue à partir d'un isolat originaire du Zimbabwe (Sithole-Niang *et al.*, 1996). Elle comporte une région non codante de 231 nucléotides suivie d'une queue polyA. Récemment, la séquence complète du génome du CABMV a été déterminée toujours à partir d'un isolat originaire du Zimbabwe (Mlotshwa *et al.*, 2002). Cette séquence comporte 9465 nucléotides non compris la queue polyA. Elle est entièrement couverte par un seul cadre ouvert de lecture (open reading frame, ORF) de 9159 nucléotides et codant pour une large polyprotéine de 3053 acides aminés avec une taille évaluée à 348 kDa. Cette polyprotéine sert de précurseur pour dix protéines matures qui y sont issues par clivages protéolytiques assurée par trois enzymes codés par le virus. L'une des dix protéines est la protéine de capsid composée de 275 acides aminés avec un poids moléculaire estimé à 30,5 kDa sur la base de sa séquence (Sithole-Niang *et al.*, 1996). Néanmoins, par immunoblotting, Huguenot *et al.*, (1997) ont rapporté une taille de 32 kDa.

7.4.3. Les plantes hôtes du CABMV

Le tableau 2 donne le résumé des espèces testées.

Tableau 2 : Espèces de plantes sensibles à l'infection par le CABMV

Espèce	Famille	Type de symptômes ^a
<i>Aeschynomene indica</i> L.	<i>Fabaceae</i>	S
<i>Amaranthus caudatus</i> L.	<i>Fabaceae</i>	S
<i>Antirrhinum majus</i> Snapdragon	<i>Fabaceae</i>	S
<i>Arachis hypogaea</i> L.	<i>Fabaceae</i>	S
<i>Astragalus sinicus</i> L.	<i>Fabaceae</i>	S
<i>Calopogonium gladiata</i> DC.	<i>Fabaceae</i>	S
<i>Canavalia ensiformis</i> (L.) DC.	<i>Fabaceae</i>	S
<i>Cassia occidentalis</i> L.	<i>Fabaceae</i>	S
<i>Cassia tora</i> L.	<i>Fabaceae</i>	S
<i>Centrosema brasilianum</i> Benth.	<i>Fabaceae</i>	S
<i>Centrosema pubescens</i> Benth.	<i>Fabaceae</i>	S
<i>Chenopodium album</i> L.	<i>Chenopodiaceae</i>	LL
<i>Chenopodium amaranticolor</i> Cost.	<i>Chenopodiaceae</i>	LL
<i>Chenopodium foetidum</i> Schrad.	<i>Chenopodiaceae</i>	S
<i>Chenopodium quinoa</i> Willd.	<i>Chenopodiaceae</i>	LL
<i>Chenopodium vulgaria</i> L.	<i>Chenopodiaceae</i>	LL
<i>Cicer arietinum</i> L.	<i>Fabaceae</i>	S
<i>Crotalaria spectabilis</i> Roth.	<i>Fabaceae</i>	S
<i>Crotalaria usaramoensis</i> Backer	<i>Fabaceae</i>	S
<i>Cucumis sativus</i> L.	<i>Cucurbitaceae</i>	S
<i>Cucumis pepo</i> (L.) Dumort.	<i>Cucurbitaceae</i>	S
<i>Cyamopsis tetragonoloba</i> Taub.	<i>Fabaceae</i>	S
<i>Datura stramonium</i> L.	<i>Solanaceae</i>	S
<i>Desmodium tortuosum</i> (Sw.) DC.	<i>Fabaceae</i>	S
<i>Dolichos lablab</i> L.	<i>Fabaceae</i>	S
<i>Dolichos uniflorus</i> Lam.	<i>Fabaceae</i>	S
<i>Fagopyrum esculentum</i> Moench	<i>Polygonaceae</i>	S
<i>Gladiolus</i> sp.	<i>Iridaceae</i>	S
<i>Glycine javanica</i> L.	<i>Fabaceae</i>	S
<i>Glycine max</i> (L.) Merr.	<i>Fabaceae</i>	S
<i>Gomphrena globosa</i> L.	<i>Amaranthaceae</i>	LL
<i>Hippocrepis multisiliquosa</i> L.	<i>Fabaceae</i>	S
<i>Lathyrus odoratus</i> L.	<i>Fabaceae</i>	S
<i>Lotus tetragonolobus</i> L.	<i>Fabaceae</i>	S
<i>Lupinus albus</i> L.	<i>Fabaceae</i>	S
<i>Lupinus luteus</i> L.	<i>Fabaceae</i>	S
<i>Macroptilum atropurpureum</i> L.	<i>Fabaceae</i>	S
<i>Macrotyloma uniflorum</i> Verdc.	<i>Fabaceae</i>	S
<i>Medicago lupulina</i> L.	<i>Fabaceae</i>	S

Tableau 2 (suite)	Famille	Type de symptômes
<i>Medicago sativa</i> L.	Fabaceae	S
<i>Medicago scutellata</i> (L.) Mill.	Fabaceae	S
<i>Melilotus albus</i> Medik.	Fabaceae	S
<i>Melilotus messanensis</i> (L.) All.	Fabaceae	S
<i>Nicandra physalodes</i> (L.) Gaertn.	Solanaceae	S
<i>Nicotiana benthamiana</i>	Solanaceae	S
<i>Nicotiana clevelandi</i> Gray	Solanaceae	S
<i>Nicotiana glutinosa</i>	Solanaceae	S
<i>Nicotiana rustica</i>	Solanaceae	S
<i>Nicotiana sylvestris</i>	Solanaceae	S
<i>Nicotiana tabacum</i> L.	Solanaceae	LL
<i>Ocimum basilicum</i>	Lamiaceae	LL
<i>Petunia hybrida</i>	Solanaceae	S
<i>Phacelia tanacetifolia</i>	Hydrophyllaceae	S
<i>Phaseolus angularis</i>	Fabaceae	LL
<i>Phaseolus aureus</i>	Fabaceae	S
<i>Phaseolus lathyoides</i>	Fabaceae	S
<i>Phaseolus lunatus</i>	Fabaceae	S
<i>Phaseolus (Vigna) mungo</i>	Fabaceae	S
<i>Phaseolus (Vigna) radiata</i>	Fabaceae	S
<i>Phaseolus vulgaris</i>	Fabaceae	S
<i>Physalis alkekengi</i>	Solanaceae	S
<i>Physalis floridana</i>	Solanaceae	S
<i>Pisum sativum</i>	Fabaceae	L
<i>Sesamum indicum</i> Linn.	Pedaliaceae	S
<i>Sesbania speciosa</i>	Fabaceae	S
<i>Spinacia oleracea</i>	Chenopodiaceae	S
<i>Tetragonia expansa</i>	Aizoaceae	S
<i>Trifolium incarnatum</i> Gibelli	Fabaceae	S
<i>Trifolium pratense</i> L.	Fabaceae	S
<i>Trifolium repens</i> L.	Fabaceae	S
<i>Trigonella foenum-graecum</i>	Fabaceae	S
<i>Vicia faba</i> L.	Fabaceae	S
<i>Vigna gracilis</i> (Gill.& Perr.) Hook	Fabaceae	S
<i>Vigna luteola</i> Jacq. Benth.	Fabaceae	S
<i>Vigna membranacea</i>	Fabaceae	S
<i>Vigna mungo</i> (L.) Hepper	Fabaceae	S
<i>Vigna sesquipedalis</i> (L.) verdc.	Fabaceae	S
<i>Vigna sinensis</i> (L.) Savi	Fabaceae	S
<i>Vigna triloba</i> (L.) verdc.	Fabaceae	S
<i>Vigna umbellata</i> (Thunb.) Ohwi	Fabaceae	S
<i>Vigna unguiculata</i> L. Walp.	Fabaceae	S
<i>Vigna vexillata</i> (L.) A. Rich.	Fabaceae	S

^a Infection systémique (S), sous forme de lésions locales (LL) ou latente (L). (Source : Bashir *et al.*, 2002)

De nombreuses espèces de plantes ont été trouvées sensibles à l'infection par le CABMV (tableau 2 : Lovisolo and Conti, 1966 ; Bos, 1970 ; Bock 1973). Elles

appartiennent essentiellement aux familles suivantes : *Fabaceae*, *Amaranthaceae*, *Chenopodiaceae*, *Cucurbitaceae*, *Lamiaceae* et *Solanaceae*). La majorité des espèces présentent des infections de type systémique. Chez quelques espèces comme *Gomphrena globosa*, *Nicotiana tabacum*, *Ocinum basilicum* et la plupart des chénopodiacées, les infections se manifestent par des lésions locales. Le virus est aussi capable d'induire des infections latentes comme c'est le cas chez *Pisum sativum*.

Contrairement à la multitude d'espèces sensibles au CABMV, les hôtes naturels du CABMV sont encore insuffisamment connus notamment parmi les plantes sauvages. Les hôtes naturels cultivés sont principalement le niébé, le fruit de la passion, le voandzou et le haricot-riz (Somé, 1989; Bashir *et al.*, 2002 ; Nasciemento *et al.*, 2004). Parmi les espèces sauvages, on peut citer *Centrosema pubescens*, *Nauclea latifolia* (Gumedzoé, 1993) ; *Crotalaria* spp. (Freitas *et al.*, 2002) et *Canavalia rosea* (Kitajima *et al.*, 2008).

7.4.4. Les propriétés sérologiques du CABMV et relations avec les autres potyvirus

Le CABMV a des propriétés immunogènes satisfaisantes, ce qui a permis de préparer des anticorps polyclonaux et monoclonaux contre plusieurs isolats du virus (Huguenot *et al.*, 1993; 1994 ; 1996). Rossel et Thottappilly (1985) ont obtenu un sérum avec un titre de 1/1024 permettant de détecter le virus dans les extraits bruts de feuilles jusqu'à la dilution 1/625.

Le CABMV partage des relations sérologiques avec très peu de phytovirus. Au sein même du genre *Potyvirus*, ces relations se limitent à celles avec le *Blackeye cowpea mosaic virus* (BICMV), le Bean common mosaic virus (BCMV) et le *Peanut stripe virus* (PStV) (Zettler et Evans, 1972 ; Bock, 1973; Lima *et al.*, 1979 ; Behncken et Maleevsky 1977 ; Taiwo *et al.*, 1982 ; Huguenot *et al.*, 1993; 1994 ; 1996 ; Mink et Silbernagel, 1992). D'ailleurs, le BICMV est maintenant reconnu comme une souche

du BCMV sous le nom de BCMV-BIC (Huguenot *et al.*, 1997) . Toutefois, les relations entre CABMV et BCMV ne sont pas absolues car aucune relation sérologique n'a pu être mise en évidence entre certaines souches du CABMV et le BCMV (Kaiser et Mossahebi, 1975; Fisher et Lockhart, 1976). Cette situation a été clarifiée avec l'utilisation d'anticorps monoclonaux (Mabs) dirigés contre les différents virus (Mink et Silbernagel, 1992). Sur un lot de 13 Mabs, seuls quatre ont pu détecter à la fois le CABMV, le BCMV et le BCMV-BIC.

Sur la base de comparaison de séquences partielles de génomes viraux, des liens étroits de parenté ont été mis en évidence entre un isolat CABMV originaire du Maroc et l'isolat sésame détecté en Georgie (USA), de même qu'avec le virus de passiflore isolé en Afrique du sud (McKern *et al.*, 1994 ; Pappu *et al.*, 1997).

Parmi les potyvirus avec lesquels le CABMV n'a montré aucune relation, on distingue le *Bean yellow mosaic virus* (BYMV), le *Pea seedborne mosaic virus* (PsbMV), le *Clover yellow vein virus* (CYMV), le *Soybean mosaic virus* (SbMV), le *Potato virus Y* (PVY), le *Tobacco severe etch virus* (TSEV), le *Sugarcane mosaic virus* (SuMV) et l'*Iris mosaic virus* (IrMV) (Bock, 1973 ; Taiwo et Gonzalves, 1982).

7.4.5. Les méthodes de diagnostic du CABMV

Plusieurs techniques ont été utilisées pour détecter la présence du CABMV dans les échantillons végétaux. Les techniques les moins utilisées à l'heure actuelle sont entre autres l'immunodiffusion en gel d'agar en présence de sodium dodecyl sulfate (SDS), l'immunomicroscopie électronique et les tests d'agglutination. D'autres techniques sont maintenant couramment utilisées à cause de leur performance ou de leur rapidité. Il s'agit notamment des tests dits de « blotting », la chromatographie liquide à haute performance, le test immunoenzymatique ELISA (Enzyme linked immunosorbent assay) et les tests moléculaires (essentiellement l'amplification par RT-PCR et le séquençage de fragments du génome viral). L'ELISA reste la technique la plus employée pour diagnostiquer le CABMV de façon routinière dans les tissus végétaux ou les graines (Konaté et Néya, 1996).

Les techniques de laboratoire décrites ci-dessus sont souvent associées à des tests d'inoculation réalisés sur les plantules de niébé ou de plants tests (Tottappilly et

Rossel, 1992). Par exemple, des variétés de niébé permettant de distinguer clairement le CABMV et le BCMV-BIC ont été identifiées à l'Institut International d'Agriculture Tropicale (IITA, Ibadan, Nigeria). Il s'agit notamment de la variété TVU 2657 (immune au BCMV-BIC) pour le CABMV et de TVU 1582 (immune au CABMV) pour le BCMV-BIC.

7.4.6. La variabilité sérologique du CABMV

La variabilité sérologique du CABMV a été étudiée surtout à l'aide du test immunoenzymatique ELISA. L'utilisation de la variante triple anticorps sandwich (ou TAS-ELISA) du test avec les anticorps monoclonaux couplés ou non à la biotine a permis de distinguer plusieurs sérotypes à la fois du CABMV et du BCMV-BIC. Il s'agit des sérotypes I, II, III, IV, V et VI pour le CABMV et des sérotypes I et II pour le BCMV-BIC (Huguenot *et al.*, 1996). Sur le continent africain, les sérotypes du CABMV semblent être repartis au hasard dans les différents pays, chaque pays regroupant au plus trois variants différents. Au Burkina Faso, seuls les sérotypes I et II du CABMV ont été identifiés (Huguenot *et al.*, 1996).

8. Les modes de transmission du CABMV

8.1. La transmission mécanique

Chez le niébé et les autres plantes hôtes, le CABMV est transmissible par inoculation mécanique artificielle (Bock, 1973). L'inoculation du virus s'effectue en appliquant par frottement, l'inoculum (virus purifié ou extraits bruts de plantes infectées) à la surface des feuilles. Les frottements permettent de faciliter la mise en contact des particules virales avec les cellules foliaires des plantes inoculées. En général, l'inoculation est réalisée en présence d'une substance abrasive (célite ou carborundum) additionnée à l'inoculum viral.

8.2. La transmission par les vecteurs

En conditions naturelles, la propagation du CABMV est surtout assurée par les pucerons ou aphides (*Aphideae, Homoptera*) (Vidano et Conti, 1965; Bock et Conti, 1974; Atiri, 1982, Atiri *et al.*, 1984). Les pucerons appartiennent à la famille des *Aphideae* et forment un groupe extrêmement répandu dans le monde. Ils existent sous tous les climats et sont phytophages. Leur reproduction se fait par voie sexuée ou asexuée. Cela leur permet une adaptation large et un élevage facile. Les espèces de pucerons qui ont été identifiées comme vecteurs du CABMV sont: *Aphis craccivora*, *A. gossypii*, *A. medicagenis*, *A. fabae*, *Macrosiphum euphorbiae* et *Myzus persicae* (Vidano et Conti, 1965; Bock, 1973; Bock et Conti, 1974 ; Fischer et Lockhart, 1976; Atiri, 1982 ; Atiri *et al.*, 1984.)

Les virus transmis par insectes vecteurs peuvent être classés en deux grandes catégories (Semal et Vanderveken, 1989). Dans le cas des virus dits "circulants", les virus sont ingérés par l'insecte et passent dans l'hémolymphe en traversant les parois de l'appareil digestif pour se retrouver dans les glandes salivaires d'où ils peuvent être retransmis à une plante. La transmission du virus à une nouvelle plante ne peut se faire qu'après une période de latence plus ou moins longue. L'insecte peut retenir le virus pendant plusieurs semaines ou toute sa vie. Le virus est alors "persistant" et il y a parfois la possibilité de multiplication dans le cas de virus dits "propagatifs". Pour les virus "non circulants", ils sont portés par les pièces buccales de l'insecte et leur retransmission se fait sans période de latence. Ils peuvent être retenus pour seulement quelques heures (virus "non persistants") ou quelques jours ("virus semi persistants") ,Semal et Vanderveken, 1989

Le CABMV fait partie de la catégorie des virus transmis selon le mode non persistant. Il peut être prélevé par les pucerons au cours de période d'alimentation brève d'une minute.

Chez les virus transmis par pucerons, des tests d'inoculation à partir de plantes infectées ont été réalisés. Aussi, des techniques permettant aux pucerons de prélever des préparations virales purifiées en suspension dans des solutions de saccharose ont été réalisées. Celles-ci ont mis en évidence que certains virus purifiés

n'étaient pas transmissibles en l'absence d'une protéine de faible poids moléculaire présente dans les extraits des plantes infectées. Cette protéine nommée HC-Pro (Helper component Proteinase) serait un facteur commun aux potyvirus comme le CABMV, pour leur transmission non persistante par pucerons (Ng et Perry, 2004). Ce processus implique aussi la protéine de capsid des différents potyvirus. Selon Stenger *et al.*, 2005, la protéinase HC-Pro est aussi indispensable à la transmission de *Tritimovirus (Potyviridae)* comme le *Wheat streak mosaic virus (WSMV)* par l'acarien *Aceria tosichella*.

8.3. La transmission par les graines de niébé

8.3.1. Les principaux facteurs influençant la transmission par les graines

Comme indiqué dans le tableau 1 le CABMV est aussi transmissible par les graines de niébé. Comme dans le cas de la plupart des virus transmis par graines, les mécanismes de cette transmission ne sont pas encore complètement élucidés. Il a été établi que la transmissibilité du CABMV par graine dépend en grande partie du cultivar de niébé (Aboul-Ata *et al.*, 1982). En effet, des taux de transmission par graines d'environ 6% pour les cultivars TVU 22 ou TVU 37 et 18% pour TVU 54 ou Tvx 309-1G ont été rapportés. D'autres auteurs ont également rapporté des taux variant entre 0 à 40% selon les cultivars (Phatak, 1974; Kaiser et Mossahebi, 1975; Ladipo, 1977; Gillaspie *et al.*, 1993, 1994 ; Johansen *et al.*, 1994 ; Hampton *et al.*, 1997 ; Tignégré, 2000).

Le deuxième facteur important ayant une influence sur la transmission du CABMV par graines est l'isolat viral. Ainsi, la transmission de 12 isolats du virus par les graines de trois génotypes de niébé a été étudiée (Bashir et Hampton, 1994). Tandis que l'un des isolats utilisés était transmis à des taux atteignant 55%, trois autres isolats ont été incapables d'être transmis par les graines pour les trois génotypes de niébé testés. Par ailleurs, Aboul-Ata *et al.*, (1982) ont indiqué qu'il y avait une corrélation positive entre la sévérité des symptômes et le taux de transmission du virus par les graines. Or la sévérité des symptômes est une résultante de l'interaction entre l'isolat viral et le génotype de plante infecté.

8.3.2. La localisation du CABMV dans la graine

La localisation des virus dans les graines est souvent un aspect important pour leur capacité à être transmis par ces graines. Chez la plupart des virus transmissibles par les graines, les particules virales sont localisées dans l'embryon (Bowers et Goodman, 1979; Johansen *et al.*, 1994). Le CABMV a pu être détecté dans les plumules de graines infectées en germination et parfois dans les cotylédons mais pas dans l'enveloppe des graines (Phatak, 1974). Tsuchizaki *et al.*, (1970) ont aussi pu détecter le virus dans les anthères chez les plants infectés à condition que ces plants aient été infectés au moins 17 jours avant la floraison. Selon ces auteurs, pour que la transmission du virus par graines soit possible, il est nécessaire que les plants dont proviendront les graines soient infectés au moins 20 jours avant la floraison.

9. L'épidémiologie de la mosaïque du niébé transmise par les pucerons

L'épidémiologie des phytovirus étudie les conditions de développement des maladies à travers les interactions virus-plante hôte-environnement au cours du temps (Browning *et al.*, 1977). La bonne connaissance de chacun de ces éléments peut permettre d'influencer la propagation des maladies par l'application de mesures adéquates.

Dans le cas du CABMV, quelques informations sont disponibles mais plusieurs aspects de l'épidémiologie restent à élucider. Le niébé est le principal hôte du CABMV. Du fait que c'est une plante annuelle, l'inoculum présent dans les plants disparaît à la récolte. Par ailleurs, l'insuffisance des connaissances sur les réservoirs sauvages du CABMV ne permet pas de déterminer leur rôle dans la propagation de la mosaïque du niébé transmise par pucerons. Certains réservoirs connus semblent avoir un rôle mineur de source d'inoculum primaire pour la contamination des cultures de niébé en raison de leur isolement (Kitajima *et al.*, 2008). Par conséquent, la principale source d'inoculum du CABMV est constituée par les graines infectées. Elles assurent le maintien du virus d'une culture à l'autre et servent de sources d'inoculum primaire lors de l'établissement de nouvelles cultures (Allen, 1983; Rossel

et Thottappilly, 1990). Si les conditions de transmission secondaire du virus par les pucerons sont réunies, cela peut être à l'origine de fortes épidémies (Frison, 1988). De plus, à cause des échanges internationaux de semences, les graines de niébé sont souvent responsables de la dissémination à longue distance du CABMV ce qui est certainement à la base de la grande distribution géographique du virus (Hampton *et al.*, 1992).

Les fluctuations de populations des pucerons vecteurs du CABMV ont été étudiées dans les conditions du nord du Nigeria (Bottenberg *et al.*, 1997). Elles se caractérisent par deux principaux pics, l'un en saison humide de juillet à septembre et l'autre en mars (saison sèche). L'influence de ces fluctuations de populations de pucerons sur l'incidence de la mosaïque du niébé transmise par pucerons n'a pas été établie. Il est cependant probable que les pics formés en saison pluvieuse soient plus à l'origine d'une importante propagation de la maladie à cause de la grande disponibilité des cultures de niébé à cette période.

Bien que différents sérotypes du CABMV aient été identifiés, le rôle de la variabilité du virus dans l'épidémiologie de la mosaïque du niébé transmise par pucerons n'a pas été étudié. Les principaux variants du virus impliqués dans les épidémies et les interactions entre variants viraux et transmission par pucerons ne sont donc pas connus.

10. Les méthodes de lutte contre le CABMV

En vue de lutter contre les maladies virales du niébé, Thothappilly et Rossel (1992) ont proposé des mesures tendant à la réduction des sources d'infection. Il s'agit notamment de méthodes de lutte culturale, de la lutte chimique contre le vecteur et de l'utilisation des variétés résistantes, ce dernier cas étant considéré comme l'une des meilleures méthodes de lutte, notamment dans le cas des virus de plantes (Leung *et al.*, 2003).

10.1. Les méthodes de lutte culturale

L'incidence de la maladie peut être réduite par l'utilisation de méthodes de lutte culturale comme les semis précoces, l'association du niébé à d'autres plantes comme les céréales et l'utilisation de semences non infectées par le CABMV (Zettler et

Evans, 1972; Kannaiyan et Haciwa, 1993). L'utilisation de semences indemnes de virus apparaît cruciale au regard du rôle néfaste des graines dans la survie du virus. De plus, aucun traitement n'est disponible pour éliminer le virus dans les graines infectées sans endommager leur pouvoir germinatif (Bashir *et al.*, 2002).

La production de semences indemnes de virus peut se faire dans des zones non affectées ou peu affectées par la maladie. Il est nécessaire d'adjoindre au besoin l'éradication des plants malades afin de maintenir une population de plantes saines devant produire les graines. Cette technique n'est cependant pas d'une efficacité absolue, car des cas de transmissions occasionnelles du virus par graines chez des plants sans symptômes ont été rapportés (Aboul-Ata *Tet al.*, 1982). Pour ces raisons, il est indispensable d'utiliser des méthodes d'indexage permettant de certifier que les semences sont indemnes du virus. Mais de telles méthodes doivent être rapides tout en étant fiables et de coût relativement bas pour une utilisation de routine.

10.2. La lutte chimique contre les pucerons vecteurs

L'utilisation des insecticides contre les pucerons vecteurs du CABMV à des moments appropriés afin de maintenir un niveau bas des populations d'insectes peut permettre d'éviter ou de réduire significativement les infections secondaires (Bashir *et al.*, 2002). Néanmoins, cette lutte chimique reste onéreuse et la manipulation des insecticides représente un danger à la fois pour l'homme et l'environnement.

Parce qu'ils se nourrissent de sève, les pucerons constituent eux-mêmes une menace pour la production du niébé. Ces insectes s'attaquent surtout aux plantules et aux gousses. Leur contrôle s'est donc vite imposé dans les systèmes de culture du niébé par l'utilisation de variétés résistantes mais surtout d'insecticides (Singh, 1985). Par la même occasion, la lutte contre le CABMV a bénéficié de celle contre les pucerons.

Plusieurs familles d'insecticides sont utilisées pour contrôler les populations de pucerons. On distingue ainsi les composés à base de chlore, les esters phosphoriques, les carbamates et les pyréthrinoïdes. Cependant, les insecticides à base de pyréthrinoïdes comme la deltaméthrine apparaissent comme les plus adaptés pour limiter la propagation du CABMV par les pucerons. En effet, ils créent

par contact un effet de choc chez l'insecte qui reste inactif et meurt assez rapidement avec un minimum de déplacements. Il a été observé dans le cas d'autres *Potyvirus* transmis de façon non persistante par les pucerons que certains traitements insecticides sans effet de choc se sont avérés inopérants ou accroissaient même parfois l'extension des épidémies (Semal et Vanderveken, 1989). Dans ce cas, les insectes étaient plutôt perturbés, suite à l'application des insecticides, ce qui accentuait alors leurs mouvements de plante à plante. De ce fait, les virus étaient prélevés et transmis dans des délais courts par suite de plusieurs piqûres infectieuses avant la mort des insectes.

10.3. Les moyens de lutte génétique

La lutte génétique contre le CABMV s'est orientée vers trois principaux axes. Il s'agit de l'utilisation de résistances contre les pucerons, l'infection virale et la transmission du virus par les graines.

10.3.1. La résistance contre les pucerons vecteurs

L'utilisation de plantes résistantes aux insectes est une stratégie efficace de gestion à la fois saine, économique et respectueuse de l'environnement. Elle constitue ainsi un des aspects importants des programmes d'amélioration variétale dirigés vers la lutte contre les ennemis des cultures (Pedigo, 1989). Trois principaux mécanismes sont à la base de la résistance des plantes aux insectes: (i) la non préférence qui se manifeste par la possession par une plante d'attributs la rendant moins attrayante; (ii) l'antibiose par laquelle une plante affecte négativement les insectes en interférant avec leur processus métaboliques; c'est le type de résistance qui est le plus recherché dans la gestion des insectes de plantes; (iii) la tolérance par laquelle une plante arrive à se développer en dépit d'une population d'insectes suffisamment nombreuse et qui pourrait endommager une variété sensible.

Plusieurs variétés de niébé résistantes à différents insectes sont disponibles avec généralement l'antibiose comme mécanisme de résistance (IITA, 1983; Marfo, 1985; Ombakho *et al.*, 1987; Alabi *et al.*, 2004). Dans le cas précis des pucerons, les

variétés produites contre ces insectes sont principalement TVU 36, TVU 62, TVU 310, TVU 408, TVU 410, TVU 2740, TVU 3509, et ICV 11. L'étude de l'hérédité de la résistance aux pucerons chez TVU 310 et ICV 11 a mis en évidence l'implication de gènes uniques et dominants.

10.3.2. La résistance à l'infection virale

La plupart des variétés cultivées de niébé sont sensibles au CABMV mais quelques sources de résistance ont été identifiées. Les principales variétés de niébé présentant de la résistance au CABMV appartiennent aux lignées IT générées par l'IITA comme IT 82E-16, IT 82E-18, etc. et aux écotypes TVU (TVU 401, TVU 612 etc.) (Singh et Rachie, 1985). Les variétés telles que TVU 401 et TVU 1582 ont été identifiées comme résistantes au CABMV seul.

Dans certains cas, les variétés de niébé présentent des résistances à plusieurs virus du niébé (Singh *et al.*, 1987; Hampton *et al.*, 1997). Ainsi, Cissé *et al.*, (1997) ont identifié de la résistance au CABMV, aux aphides et au flétrissement bactérien chez une lignée de niébé nommée PI 596353. La double résistance au CABMV et aux pucerons a aussi été rapportée chez certaines variétés de niébé par Ladipo et Allen (1979). Par ailleurs, il a été montré qu'en plus de la résistance au CABMV, les variétés TVU 408 et TVU 410 d'une part et TVU 612 d'autre part, possèdent aussi la résistance respectivement au BCMV-BIC et au CPSMV (Hampton *et al.*, 1997).

La résistance du niébé au CABMV est gouvernée par un seul gène rapporté souvent comme dominant (Taiwo *et al.*, 1981; Fisher et Kyle, 1994 ; 1996) et parfois associée à des gènes mineurs (Patel *et al.*, 1982). Un gène dominant de résistance au CABMV et nommé Cam2 a été identifié chez le haricot commun *Phaseolus vulgaris*. Il a été rapporté qu'un autre gène (Cam3) pourrait être impliqué dans le processus de résistance de cette plante vis-à-vis du CABMV (Fisher et Kyle, 1996).

Malgré l'existence de variétés résistantes au CABMV, un problème de stabilité des résistances identifiées est posé en relation avec l'insuffisance des connaissances sur la variabilité du CABMV. Certains auteurs soulignent la nécessité de recourir au développement de variétés transgéniques résistantes, compte tenu du nombre limité de sources naturelles de résistance et des problèmes de stabilité de cette résistance

(Van Boxtel *et al.*, 2000; Hampton et Thottappilly, 2003). Cette approche pourra tirer profit des possibilités offertes par la détermination de la séquence complète du génome du CABMV (Mlotshwa *et al.*, 2002).

10.3.3. La résistance à la transmission du virus par les graines

L'utilisation de semences infectées par les virus même à des taux faibles peut conduire à des situations d'épidémies, notamment si de bonnes conditions de transmissions secondaires y sont associées (Ryder, 1973; Dinant et Lot, 1992). Les tests d'indexation permettant d'identifier des lots de semences indemnes de virus constituent un moyen important pour réduire l'inoculum primaire issu de l'utilisation des semences contaminées. Mais, l'obtention de variétés de niébé ayant une résistance à la transmission du virus par les graines est un maillon important du processus en amont.

La résistance du niébé à la transmission du CABMV par les graines n'a pas toujours été étudiée de façon systématique. Cependant, de nombreux auteurs ont rapporté des différences importantes (0-55%) de transmission du virus par les graines en fonction des variétés de niébé (Phatak, 1974; Kaiser et Mossahebi, 1975; Ladipo, 1977; Mali *et al.*, 1983; Bashir et Hampton, 1994; Gillaspie *et al.*, 1993 ; 1994 ; Hampton *et al.*, 1997). Même si la variation du taux de transmission du CABMV par les graines tient très peu compte de la variabilité du virus, elle dénote au moins en partie le fait que certaines variétés de niébé présentent une certaine résistance à ce mode de transmission du virus. Cette hypothèse a été vérifiée par l'inoculation de plus de 400 variétés de niébé avec un même isolat viral (Tignégré, 2000). Les variétés de niébé ont été rangés dans plusieurs groupes avec pour extrêmes celles à très faibles taux de transmission du virus par les graines (< 0,9%) et celles à fort taux de transmission (>20%).

DEUXIEME PARTIE
**ECOLOGIE ET BIODIVERSITE DU
CABMV**

CHAPITRE 1 :

**IDENTIFICATION DES SOURCES
D'INFECTION DU CABMV**

1.1. Introduction

A l'échelle du champ, deux sources d'infection virales peuvent être distinguées : les sources primaires à partir desquelles les premiers plants sont infectés, et les sources secondaires à partir desquelles les infections intra parcelles sont réalisées. Pour une culture donnée, les sources d'infection primaires peuvent provenir de cultures identiques ou d'autres espèces de plantes hôtes du virus (Bos, 1981 ; Thresh, 1981). Dans le cas du virus de la mosaïque du niébé transmis par pucerons (CABMV), l'infection primaire peut être assurée directement par les pucerons vecteurs à partir de plants malades. Du fait que le virus est transmissible par graine (Lovisol et Conti, 1966), l'infection primaire peut aussi être assurée par l'intermédiaire de graines infectées.

Au Burkina Faso, des travaux préliminaires ont permis d'identifier le CABMV chez le niébé et le voandzou (Somé, 1989; Konaté, 1991). Le virus a ainsi été rapporté dans quelques localités seulement du pays. Par ailleurs, aucune investigation n'a été faite sur l'identification des hôtes alternatifs du virus, la transmission par graines étant considérée comme assurant le maintien du virus entre deux cultures successives. Dans le cas de certains virus transmis par graines, il a été montré que les plantes hôtes réservoirs jouent un rôle important de sources d'infection à côté de la transmission par graines (Bos, 1981).

L'objectif principal des travaux exposés dans ce chapitre était de rechercher les sources d'infection du CABMV. Il s'agissait en l'occurrence de dresser l'inventaire des espèces réservoirs du virus et d'en établir la distribution géographique au Burkina Faso. Les caractéristiques de la transmission du virus par les graines de niébé ont aussi été étudiées au regard de l'importance des graines comme sources d'infection. La connaissance de telles caractéristiques est nécessaire pour une meilleure gestion du virus, notamment pour ce qui concerne le contrôle de l'inoculum primaire.

1.2. Matériel et méthodes

1.2.1. La prospection et collecte des échantillons végétaux

Les prospections ont été effectuées en fonction des trois zones agro écologiques du Burkina Faso suivant 6 axes. Sur chaque axe, des échantillons de feuilles présentant des symptômes de mosaïque ont été prélevés tous les 50 km environ dans les champs de niébé ou de voandzou. Ces échantillons ont été placés dans des sachets plastiques auto-scellables et conservés dans la glace avant leur acheminement au laboratoire.

L'itinéraire des prospections et de collecte des échantillons a été faite de la façon suivante:

- . **Axe1**: Ouagadougou, Léo, Gaoua, Banfora, Niangoloko, Bobo-Dioulasso, Boromo, Koudougou, Ouagadougou. Echantillons collectés : 56 de niébé ; 36 de voandzou ; 2 sésames et 6 espèces sauvages.
- . **Axe 2**: Ouagadougou, Koupéla, Fada N’Gourma, Diapaga, Koupéla, Tenkodogo, Zabré, Pô, Ouagadougou : 8 échantillons de niébé et 7 de voandzou ont été collectés.
- . **Axe 3**: Ouagadougou, Koudougou, Dédougou, Nouna, Djibasso, Tougan, Ouagadougou : 31 échantillons de niébé et 30 de voandzou ont été collectés.
- . **Axe 4**: Ouagadougou, Kaya, Dori, Gorom-Gorom, Ouagadougou. Echantillons collectés : 21 de niébé et 10 de voandzou.
- . **Axe 5**: Ouagadougou, Koupéla, Bogandé, Boulsa, Ouagadougou : 14 échantillons de niébé et 9 de voandzou ont été récoltés.
- . **Axe 6**: Ouagadougou, Kongoussi, Djibo, Ouahigouya, Yako, Ouagadougou : 14 échantillons de niébé et 17 de voandzou ont été collectés.
- . **Kamboiné** : 12 échantillons d’espèces sauvages et 1 sésame sont récoltés

1.2.2. La détection sérologique du CABMV par ELISA

Une partie de chaque échantillon collecté a été testée par la méthode ELISA double anticorps sandwich indirect. Le test ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay) double anticorps sandwich indirect (DASI-ELISA) a été utilisé pour la détection du CABMV dans les échantillons collectés et pour la recherche des graines

contaminées. C'est une technique d'analyse rapide et fiable. Elle comprend 6 principales étapes:

1- La fixation des immunoglobulines G (IgGs) anti-CABMV (5H5) dilué 1/1000 ou Ab^RH4 à la dilution de 1/500 (Huguenot et *al.*, 1993) dans les puits de la plaque de microtitration pendant 2h à 37°C ;

2- La saturation des sites de fixation de la plaque à l'aide d'une préparation de BSA (Bovin Serum Albumin) à 1% ou de lait écrémé à 3% pendant 30 min à 37°C ;

3- L'incubation des extraits 2h à 37°C ; Ces extraits ont été obtenus par le broyage de 1 g de feuilles à analyser dans 10 ml de PBS-Tween et centrifugés à 5000 rpm (rotation par minute) pendant 5 min ou décantés pendant 1h au réfrigérateur.

4- L'incubation de l'anti-corps 5H5 couplé à la biotine (5H5biot) à la dilution 1/10 000 (2h à 37°C) ou toute la nuit à 4°C ;

5- Incubation de la streptavidine conjugué à la phosphatase alcaline (dilution 1/10 000) pendant 2h à 37°C ou 4°C toute la nuit ;

6- L'incubation du substrat ou para-nitrophenyl phosphate (pNPP) à 1mg /ml dans le tampon diéthanolamine pH 9,8 contenant 3 mM de NaN₃ et lecture des densités optiques à 405 nm après 1h d'incubation à 37°C à l'aide d'un lecteur automatique de plaque METERTECH Σ960.

Entre deux étapes successives, les puits de la plaque de microtitration sont rincés trois fois avec la solution tampon PBS-Tween (PBS-T). Les produits ont été fournis par l'IITA dans le cadre d'un projet collaboratif régional.

Les résultats sont exprimés en densité optique (DO) ou absorbance (A405 nm).

1.2.3. La technique de transmission par inoculation mécanique

Une partie de chaque échantillon collecté a été homogénéisée dans du tampon phosphate de sodium 0,01 M, PH 7,4 selon un rapport de broyage de 1/10 (p/v). L'extrait a été filtré sur une compresse puis placé dans de la glace fondante. Avant l'inoculation, les feuilles de jeunes plants de niébé âgés d'une semaine ont été saupoudrées avec du carborundum 600 mesh. A l'aide d'un bâtonnet ouaté trempé dans l'extrait, la surface supérieure des feuilles a été frottée délicatement. Les feuilles ont été ensuite rincées avec de l'eau distillée. Chaque isolat a été inoculé à deux variétés (Gorom local et TVX2657). Le nombre de plants variait entre 3 et 5 par pot. Les plants inoculés ont été rangés en serre à l'abri des insectes et conservés pour l'observation des symptômes pendant quatre semaines.

1.2.4. La technique de détection du CABMV dans les graines entières

Les graines provenant de plants infectés par le virus des cultivars de niébé KVVU 150, Suivita-2, KVVX 30-309-6G et Ouahigouya local ont été trempées dans du PBS-T (phosphate buffered saline – tween) pendant 1h à température ambiante (25-30°C). Elles ont été ensuite broyées individuellement dans 1 ml de PBS-T. L'ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay) a été utilisé pour rechercher le CABMV dans le surnageant.

1.2.5. La méthode de mise en évidence de la graine malade et sa plantule

Un fragment de 60mg environ a été prélevé au scalpel sur chaque graine du côté opposé à l'embryon sans affecter celui-ci et broyé dans 150µl de tampon d'extraction puis testé en ELISA. Ainsi, le virus a été recherché dans le surnageant par l'ELISA. Le reste de la graine a été étiqueté et semé dans un pot contenant de la terre étuvée et placé dans une cage. Chaque fragment contenait le même numéro que la graine dont il était issu. Après germination, les plantules ont été quotidiennement examinées pendant quatre semaines pour l'apparition des symptômes de la maladie. Le virus a été recherché dans les extraits de feuilles de chaque plantule par test ELISA.

1.2.6. La technique de la recherche de la localisation du virus dans la graine

Deux cent cinquante (250) graines de chacune des variétés de niébé de KVVU150, Gorom local, Ouahigouya local et KVVX30-309-6G ont été trempées dans de l'eau distillée pendant une heure. Elles ont ensuite été disséquées pour séparer la membrane, l'embryon et les cotylédons. La membrane d'un poids moyen de 10 mg, l'embryon (10 mg) et les cotylédons (300 mg) ont été broyés selon un rapport 1/30 poids sur volume (p/v), 1/30 (p/v) et 1/10 (p/v) respectivement dans un tampon phosphate buffered saline – tween (PBS- T). Les surnageants des broyats ont été utilisés pour rechercher le virus par l'ELISA après 1h de décantation au réfrigérateur.

1.2.7. L'étude des caractéristiques de transmission du CABMV par les graines

Les variétés de niébé Gorom local, KVVX61-1, KVVX65-114, KVVX396-4-5-2D, KN1, KVVX30-309-6G, KVVX414-22-72 et TVX3236 ont été utilisées pour étudier les caractéristiques de la transmission du virus par les graines. Des graines indemnes de virus de ces variétés ont été semées et les plantules ont été mécaniquement inoculées une semaine après le semis avec des extraits contenant du CABMV. A la floraison, des fleurs ouvertes le même jour ont été marquées pour l'ensemble

des variétés. Des lots de 12 gousses formées à partir de ces fleurs marquées ont été collectés pour chaque variété successivement à 4, 6, 8, 10, 14, 18 et 22 jours après le marquage. Les graines issues de ces gousses ont été analysées en sérologie par ELISA pour rechercher le virus.

1.2.8. La méthode de recherche du CABMV dans les échantillons de plantes sauvages naturellement infectées

Dans les champs de niébé fortement contaminés par le CABMV, des échantillons ont été prélevés sur des espèces sauvages présentant des symptômes. Ces échantillons ont également été divisés en deux parties. Une a été testée en ELISA - DASI (5H5-Ag-5H5.Biot-Ste.PAL) et l'autre a été inoculée à des jeunes plants de Gorom local et TVX2657 âgés d'une semaine. La variété de niébé TVX2657 est un hôte différentiel du CABMV. Les plants inoculés ont été observés quotidiennement pendant 4 semaines. Ensuite les feuilles des plants présentant des symptômes et celles des plants ne présentant pas des symptômes ont été prélevées puis analysées par test ELISA pour confirmer ou infirmer la présence du CABMV.

1.2.9. Les analyses statistiques des résultats

L'analyse de variance a été utilisée pour comparer les taux d'infection. Les différences entre les taux d'infection (proportions d'échantillons infectés) ont été testées en utilisant le test Z lorsqu'il s'agissait de comparer deux proportions ou le test du khi carré (χ^2) lorsqu'il s'agissait de plus de deux proportions (Stanton, 1996 ; Zar, 1999). La relation entre la fréquence des graines infectés et leur rang dans la gousse a été testée par régression linéaire. Toutes les analyses statistiques ont été réalisées à l'aide du logiciel STATISTICA version 6.0/2002.

1.3. Résultats

1.3.1 Les observations des symptômes lors des prospections au champ

Les observations dans les champs au cours de la prospection sont groupées dans le tableau 1. On note au total 274 échantillons de feuilles présentant des symptômes dont 144 échantillons chez le niébé, le voandzou (109 échantillons), le sésame (3 échantillons) et 12 espèces sauvages de plantes appartenant à sept familles (18 échantillons). Les symptômes observés ont été essentiellement de type mosaïque jaune ou verte et de sévérité variable avec généralement des déformations foliaires (Figures 5 et 6). Dans certains cas, les symptômes de mosaïque ont été accompagnés de rabougrissement plus ou moins sévère chez les plants de niébé. Chez le voandzou, les plants malades ont souvent présenté une réduction du nombre de tiges secondaires en plus des symptômes de mosaïque et de rabougrissement. La proportion de plants de niébé a varié en moyenne entre 9,12% et 37,56% et celle du voandzou entre 18,14% et 62,31% selon la région.

1.3.2 La détection biologique du CABMV dans les échantillons collectés

L'inoculation mécanique d'extraits bruts préparés à partir des échantillons de feuilles collectés à la variété de niébé Gorom local a permis d'obtenir les résultats consignés dans le tableau 3. Les plants inoculés ont été infectés à 100% dans chaque cas, quelque soit l'espèce de plante utilisée comme source d'inoculum. Les plants de cette variété de niébé ont été facilement infectés à partir de chacun des extraits.

L'inoculation des extraits à la variété de niébé TVX2657 a conduit à différents résultats (tableau 3). On remarque que lorsque les inocula ont été préparés à partir d'échantillons de niébé et de voandzou, les plants de TVX2657 ont été infectés dans 85,42% et 74,56% des cas, respectivement pour le niébé et voandzou. Ainsi, aucune infection n'a été obtenue à partir de certains extraits (21/144 pour le niébé et 31/109 pour le voandzou). A l'exception de *Indigofera hirsuta* (2/4) et *Tephrosia* sp. (1/2), tous les extraits de sésame et des autres plantes adventices ont infecté les plants de TVX2657. Dans les cas de *Tephrosia* sp., et de *I. hirsuta* les infections ont été obtenues à partir d'un et de deux échantillons, respectivement (Tableau 3).

La variété de niébé TVX2657 est un hôte différentiel du CABMV. Les échantillons dont les inocula n'ont pas pu infecter cette variété pourraient abriter d'autre virus causant les mêmes symptômes que le CABMV.

Tableau 3: Réactions des variétés de niébé Gorom local et TVX2657 à l'inoculation mécanique d'extraits bruts de feuilles de plantes collectées.

Plante	Famille	Nombre d'échantillons	Taux d'infection*	
			Gorom local	TVX2657
Espèces cultivées				
<i>Vigna unguiculata</i> (L.) (Walp.)	<i>Leguminosae</i>	123	5/5	5/5
<i>Vigna unguiculata</i> (L.) (Walp.)	<i>Leguminosae</i>	21	5/5	0/5
<i>Vigna subterranea</i> Verdc.	<i>Leguminosae</i>	78	5/5	5/5
<i>Vigna subterranea</i> Verdc.	<i>Leguminosae</i>	31	5/5	0/5
<i>Sesamum indicum</i> L.	<i>Pedaliaceae</i>	3	4/4	4/4
Espèces sauvages				
<i>Amaranthus spinosus</i> L.	<i>Amaranthaceae</i>	1	5/5	4/4
<i>Brachiaria disticophylla</i> (Trin.) Stapf	<i>Poaceae</i>	1	4/4	5/5
<i>Corchorus olitorius</i> L.	<i>Tiliaceae</i>	1	3/3	4/4
<i>Corchorus tridens</i> L.	<i>Tiliaceae</i>	1	4/4	4/4
<i>Crotalaria retusa</i> L.	<i>Leguminosae</i>	2	6/6	4/4
<i>Daniellia oliveri</i> (Rolf) Hutch et Dalz	<i>Leguminosae</i>	1	5 /5	4/5
<i>Diodia sarmentosa</i> Sw.	<i>Rubiaceae</i>	1	5/5	5/5
<i>Hyptis suaveolens</i> Poit.	<i>Lamiaceae</i>	1	6/6	5/5
<i>Indigofera hirsuta</i> L.	<i>Leguminosae</i>	4	6/6	5/5
<i>Indigofera hirsuta</i> L.	<i>Leguminosae</i>	2	5/5	0/5
<i>Leucas martinicensis</i> (Jacq.) R.Br.	<i>Lamiaceae</i>	1	6/6	5/5
<i>Mitracarpus villosus</i> (Sw.) Dc.	<i>Rubiaceae</i>	2	4/4	3/3
<i>Tephrosia</i> sp.	<i>Leguminosae</i>	2	5/5	4/5
<i>Tephrosia</i> sp.	<i>Leguminosae</i>	1	5/5	0/5

* Nombre de plants infectés/nombre de plants inoculés



Symptômes du CABMV sur niébé photo NEYA



Symptômes du CABMV sur niébé photo NEYA

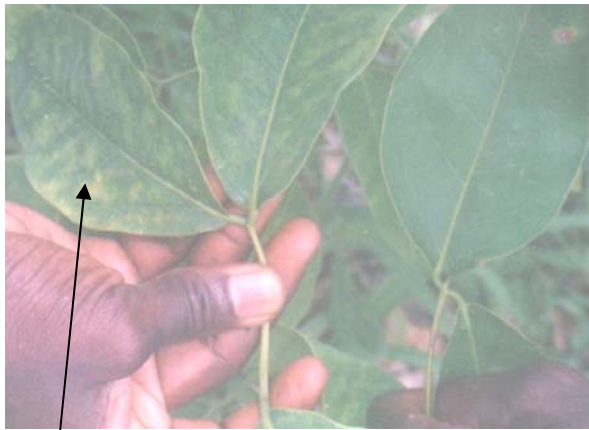


Symptômes du CABMV sur voandzou photo NEYA

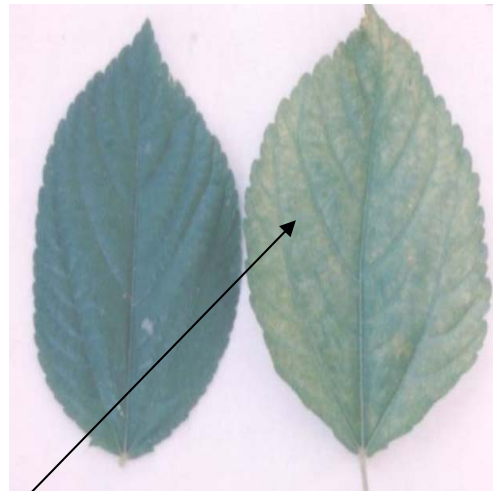


Symptômes du CABMV sur *Leucas martinicensis* photo NEYA

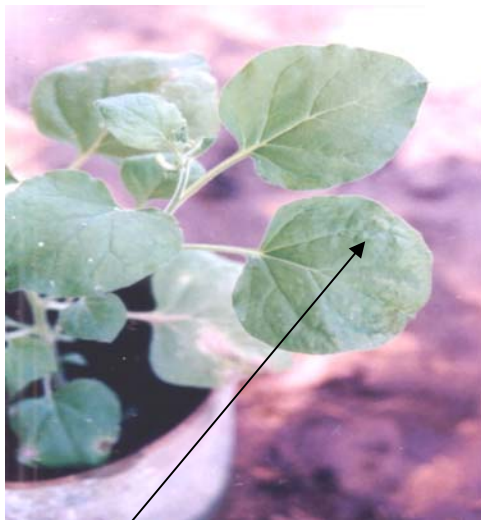
Figure 5 : Quelques échantillons de symptômes observés au cours des prospections sur des plants de niébé, de Voandzou et de *Leucas martinicensis* (Jacq.) R.Br.à Kamboinsé



Symptômes du CABMV sur *Daniellia oliveri*
Photo NEYA, NIANGOLOKO 2004



Symptômes du CABMV sur *Corchorus olitarius* à droite
Photo NEYA Kamboinsé 2004



Symptômes du CABMV sur *N. benthamiana*
Photo NEYA, Kamboinsé , 2004



Symptômes du CABMV sur *Crotalaria retusa*
Photo NEYA, NIANGOLOKO 2004

Figure 6 : Quelques échantillons de symptômes observés sur *Daniellia oliveri*,
Corchorus olitarius, *Crotalaria retusa* et *N. benthamiana*

1.3.3. La détection sérologique du CABMV dans les échantillons collectés

Les résultats de l'analyse sérologique des échantillons collectés sont regroupés dans le tableau 4. On constate que l'utilisation du test ELISA (Enzyme-linked immunosorbent assay) pour détecter le CABMV dans les échantillons de feuilles de niébé et de voandzou a conduit à deux types de réactions pour chacune des deux plantes. Pour un premier type, les données d'absorbance (A405 nm) ont varié entre 0,021 et 0,070 (échantillons de niébé) et entre 0,015 à 0,042 (échantillons de voandzou). Ces valeurs ont toutes été inférieures aux valeurs seuils de détection du virus (0,082 et 0,061 respectivement pour le niébé et le voandzou). En conséquence, pour chacune des deux plantes, le CABMV n'a pas pu être détecté dans les échantillons du premier type. A l'inverse, les analyses d'un deuxième type d'échantillons chez chacune des plantes, les absorbances ont varié entre 0,977 à 2,500 pour le niébé et entre 0,825 à 2,365 pour le voandzou. Ces valeurs étant toutes largement supérieures aux seuils de détection, les résultats obtenus indiquent la détection du CABMV dans les échantillons du deuxième type à la fois pour le niébé et le voandzou. Cependant, la comparaison à l'aide du test z, des proportions d'échantillons positifs au test de détection sérologique a montré que le taux de détection chez le niébé (123/144) a été significativement supérieur ($z = 2,544$; $P=0,01$) à celui obtenu dans le cas du voandzou (78/109).

Les résultats de l'analyse des échantillons de sésame et de plantes sauvages sont résumés dans le tableau 4. On note que des réactions fortement positives ont été obtenues de l'ensemble des espèces testées. Bien que variables, les valeurs d'absorbance A405 nm ont été de 11 à 41 fois supérieures aux seuils de détection pour les échantillons ayant réagi positivement. Malgré la présence de symptômes, l'analyse de certains échantillons chez deux espèces de plantes (*Indigofera hirsuta* et *Tephrosia* sp.) a conduit à des valeurs d'absorbance inférieures aux seuils de détection, indiquant ainsi l'absence de détection du virus.

La figure 7 illustre la localisation d'échantillons de plantes ayant réagi positivement au test de détection du CABMV. Au total, le virus a pu être identifié dans les échantillons de plantes collectés dans 25 localités principales réparties sur l'ensemble du pays. La présence de symptômes et l'absence de détection du CABMV indiquent que d'autres virus sont responsables de la mosaïque observée.

Tableau 4: Détection sérologique du CABMV dans les échantillons collectés

Plante	Absorbance à 405 nm ^a		Détection du CABMV	Taux de détection ^b
	Echantillon	Témoin sain		
<i>Vigna unguiculata</i> (L.) (Walp.)	2,734	0,082	+	123/144
<i>Vigna unguiculata</i> (L.) (Walp.)	0,045	0,082	-	0/21
<i>Vigna subterranea</i> Verdc.	1,600	0,061	+	78/109
<i>Vigna subterranea</i> Verdc.	0,029	0,061	-	0/31
<i>Sesamum indicum</i>	1,520		+	
<i>Sesamum indicum</i>	1,200	0,072	+	3/3
<i>Sesamum indicum</i>	0,988		+	
<i>Amaranthus spinosus</i>	1,771	0,055	+	1/1
<i>Leucas martinicensis</i>	1,026	0,091	+	1/1
<i>Hyptis suaveolens</i>	1,320	0,068	+	1/1
<i>Daniellia oliveri</i>	0,896	0,051	+	1/1
<i>Cassia obsitufolia</i>	0,900	0,061	+	1/1
<i>Blumea aurita</i>	1,630	0,080	+	1/1
<i>Ficus exasperata</i>	1,460	0,056	+	1/1
<i>Phyllanthus amarus</i>	1,523	0,070	+	1/1
<i>Crotalaria retusa</i>	1,902	0,046	+	2/2
<i>Crotalaria retusa</i>	1,885			
<i>Indigofera hirsuta</i>	1,720		+	
<i>Indigofera hirsuta</i>	0,041	0,059	-	2/4
<i>Indigofera hirsuta</i>	0,034		-	
<i>Indigofera hirsuta</i>	1,664		+	
<i>Tephrosia</i> sp.	1,235		+	1/2
<i>Tephrosia</i> sp.	0,052	0,070	-	
<i>Brachiaria disticophylla</i>	0,796	0,033	+	1/1
<i>Diodia sarmentosa</i>	1,695	0,101	+	1/1
<i>Mitracarpus villosus</i>	1,429		+	
<i>Mitracarpus villosus</i>	1,523	0,093	+	2/2
<i>Corchorus olitirius</i>	1,275	0,080	+	1/1
<i>Corchorus tridens</i>	1,144	0,076	+	1/1
<i>Vigna unguiculata</i> (témoin positif)	2,038	0,082	+	-

^avaleurs moyennes de trois répétitions pour les échantillons de feuilles testés ; valeurs seuils de détection pour les témoins négatifs.

^b nombre d'échantillons positifs/nombre total d'échantillons

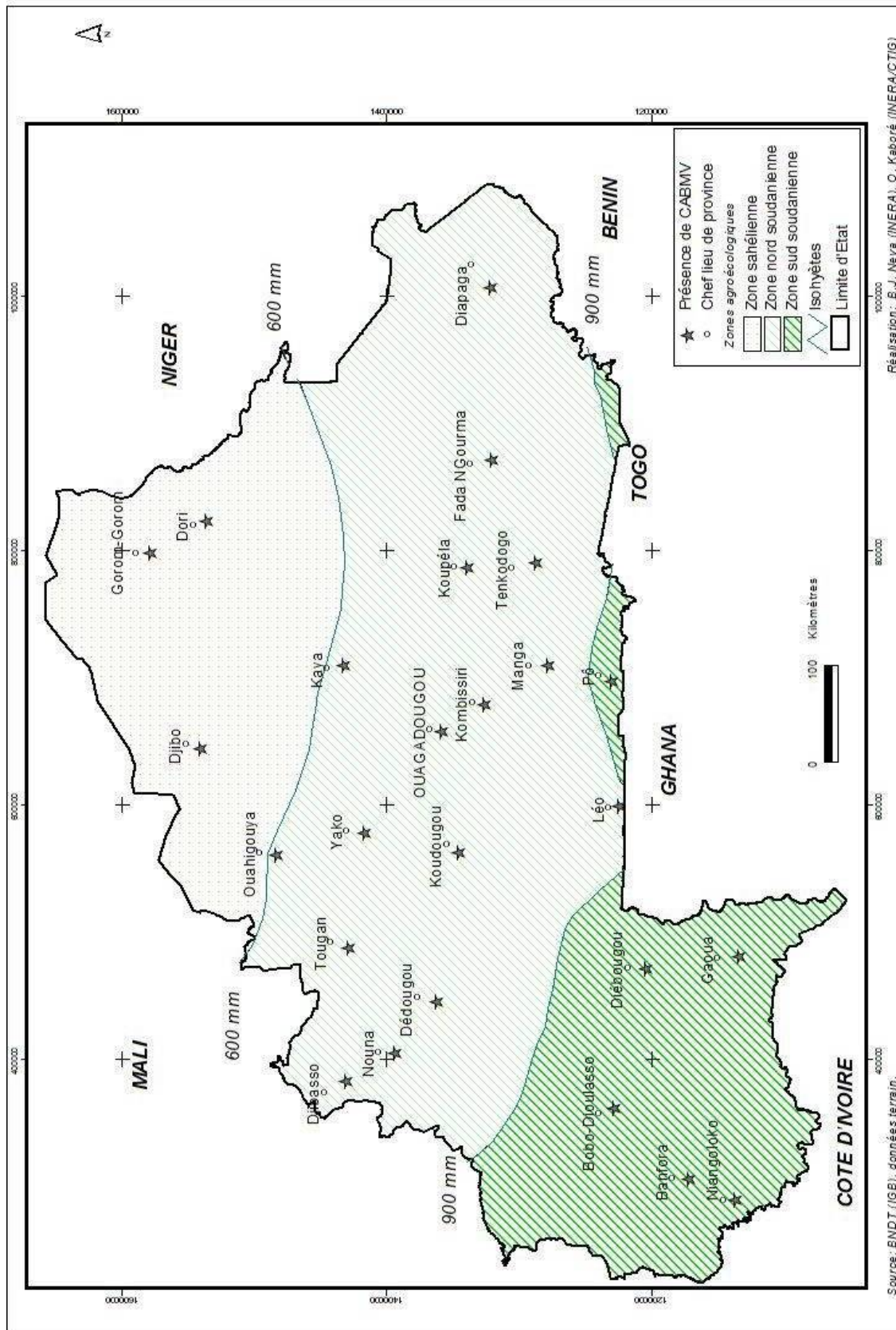


Figure 7 : Distribution géographique du CABMV suivant les zones agro écologiques du Burkina Faso

1.3.4. La détection sérologique du CABMV dans les graines entières

Les résultats des tests de détection du virus dans les graines entières provenant de plants de niébé (KVV 150, Gorom local, KVV 30-309-6G et Ouahigouya local) préalablement infectés par le CABMV ont abouti à deux types de réponse. Dans le premier cas, les extraits de graines ont conduit à l'obtention de valeurs d'absorbance A405 nm similaires à celles obtenues à partir d'extraits de graines saines ayant servi de témoins négatifs. En effet, les valeurs A405 nm ont toutes été comprises entre 0,05 et 0,06 unités, largement inférieures au seuil de détection (0,071) calculé à partir des données de graines saines témoins, indiquant l'absence de détection du virus.

Dans le deuxième cas, les valeurs A405 nm obtenues à partir des extraits de graines testées ont varié entre 0,2 et 2,5 unités. Malgré les différences importantes de niveau de réaction, les absorbances obtenues ont toutes été au moins deux fois supérieures au seuil de détection. Pour certaines graines, la détection du virus a même été de niveaux comparables au cas de feuilles infectées (A405 nm > 1,8).

L'analyse par le test du χ^2 des proportions de graines infectées par le virus a révélé des différences hautement significatives ($\chi^2=156,7$; ddl=3 ; P<0,001) entre les variétés de niébé. En effet, le taux d'infection le plus élevé (45%) a été obtenu chez Ouahigouya local. Des taux moyens de 25% et de 30% ont été observés respectivement pour les graines de Gorom local et KVV 30-309-6G tandis que chez KVV 150 l'infection a été seulement de 10%.

Le taux de transmission du virus par les graines varie selon la variété du niébé.

1.3.5. La recherche de la localisation du virus dans la graine

La recherche de localisation du virus dans la graine a donné les résultats consignés dans le tableau 5. On remarque que tous les téguments de graines disséquées ont réagi négativement au test de détection sérologique du CABMV. A l'inverse, des réactions positives ont été obtenues pour les deux autres parties de graines analysées (cotylédons et embryons). Dans la majorité des cas de détection simultanée du virus dans les deux parties de graines (90% des cas), les valeurs d'absorbance A405 nm obtenues à partir des embryons ont été 3 à 10 fois supérieures à celles des cotylédons. A l'instar de la détection du virus dans les graines entières, des différences significatives ont été mises en évidence chez les

quatre variétés de niébé aussi bien pour les cotylédons ($\chi^2=57,3$; $P<0,001$; $ddl=3$) que pour les embryons ($\chi^2=71,7$; $P<0,001$; $ddl=3$). Indépendamment de la partie de la graine testée, les taux d'infection les plus élevés ont été observés chez Ouahigouya local tandis que KVV150 a présenté les plus faibles niveaux d'infection.

Les taux d'infection obtenus avec les embryons ont été significativement supérieurs à ceux des cotylédons pour la variété KVX309-6G ($z=2,12$; $P=0,034$). Chez toutes les autres variétés, les deux parties de graines ont présenté des niveaux d'infection similaires ($P>0,19$). Par ailleurs, les taux d'infection dans les embryons de graines et dans les graines entières, toutes provenant d'un même lot de semences ont été comparés à l'aide du test z. Les analyses n'ont révélé aucune différence significative ($P>0,83$) de niveau d'infection quelque soit la variété de niébé.

Ces résultats indiquent d'abord que les membranes des graines de niébé ne contiennent pas de virus ensuite l'existence d'une bonne corrélation entre la détection du CABMV dans les graines entières d'une part et dans les embryons d'autre part.

Tableau 5. Détection sérologique du CABMV par ELISA dans les graines entières ou disséquées chez quatre variétés de niébé

Variété	Taux d'infection (%)*			
	Graines entières	Cotylédons	Embryons	Téguments
KVV 150	11,0	9,3	10,0	0
Gorom local	27,6	23,5	26,6	0
Ouahigouya local	44,5	37,5	43,6	0
KVX 30-309-6G	31,2	21,5	30,2	0

*250 graines ont été testées dans chaque cas

1.3.6. La mise en évidence de la graine malade et sa plantule

L'analyse non destructive des graines a permis de tester dans une même graine la présence du CABMV par deux techniques complémentaires : la sérologie à

partir d'un fragment de cotylédons et l'expression des symptômes après germination du fragment complémentaire contenant l'embryon. Les résultats sont regroupés dans le tableau 6. On constate que toutes les graines dont les fragments de cotylédons ont été identifiés par ELISA comme contenant des particules virales ont donné naissance à des plantules ayant présenté les symptômes de mosaïque. Subséquemment, les tests de détection sérologique du CABMV dans les extraits de feuilles préparés à partir de ces plantules ont confirmé la présence du virus dans tous les extraits.

Comme les résultats du tableau 6 le montrent, des différences ont été observées entre proportions de fragments cotylédonaires séropositifs et la détection biologique du virus dans les plantules. En effet, pour l'ensemble des variétés de niébé, les proportions de plantules infectées par le CABMV ont été supérieures à celles des fragments de cotylédons identifiés positifs au test ELISA. Cela indique que certaines graines séronégatives étaient en réalité infectées par le virus. Néanmoins bien qu'en nombre variable suivant les variétés de niébé, ce type de graines n'a représenté que 1% du total de graines testées chez KVVU150, 3% chez Gorom local, 2,5% chez Ouahigouya local et 7% chez KVVX 30-309-6G. Le test biologique se révèle plus sensible que le test ELISA qui a besoin d'une quantité seuil de virus pour être détecté.

Tableau 6. Détection sérologique et biologique du CABMV dans les fragments de cotylédons et les plantules issues de graines correspondantes chez quatre variétés de niébé

Variété	Fragment de cotylédon (ELISA)	Plantule	
		Symptôme	ELISA
KVVU 150	9,6%	10,4%	10,4%
Gorom local	26,8%	29,6%	29,6%
Ouahigouya local	41,6%	44,4%	44,4%
KVVX 30-309-6G	18,4%	26,4%	26,4%

1.3.7. L'étude des caractéristiques de transmission du CABMV par les graines

1.3.7.1. Le délai de passage du virus dans les graines immatures

Les résultats de cette étude ont montré qu'à 50 jours après le semis (JAS), l'ensemble des huit variétés de niébé ont présenté des gousses issues de fleurs marquées quatre jours auparavant. L'analyse sérologique des graines formées à cette date a permis de détecter le CABMV chez six variétés de niébé. Les taux d'infection des graines ont varié entre 2% et 11% suivant les variétés : K VX30-309-6G (10,8%), K VX414-22-72 (8,6%), K VX65-11 (5,4%), K VX396-4-5-2D (4,3%), KN1 (4,3%) et Gorom local (2,2%). Aucune détection de virus n'a pu être faite dans les graines de K VX61-1 et TVX3236 à cette date. La détection du virus dans les graines chez ces deux variétés n'a été possible que respectivement six et dix jours après le marquage des fleurs. Le passage du virus des plants infectés aux graines immatures se fait à différents délais selon la variété du niébé.

1.3.7.2. L'évolution du taux de contamination des graines au cours de la formation et la maturation des gousses

L'évolution du taux de contamination des graines dans les gousses en formation et en maturation a été suivie pendant 18 jours après le marquage des fleurs. Les résultats sont illustrés à la figure 8. Ils ont permis de classer les variétés de niébé en deux principaux groupes. Chez le premier groupe composé de trois variétés (K VX30-309-6G, K VX414-22-72 et Gorom local) les proportions de graines contaminées ont augmenté de façon régulière depuis la formation des premières gousses. Malgré des taux de contamination variables des graines dans les premières gousses formées, les proportions de contamination des graines à la récolte ont atteint des niveaux similaires supérieurs à 30%.

Dans le second groupe de variétés de niébé (K VX65-11, K VX396-4-5-2D, KN1, K VX61-1 et TVX3236), les taux de contamination des graines sont restés à des niveaux inférieurs à 10% pendant toute la durée du processus de formation et de maturation des gousses. Hormis TVX3236, les taux de contamination des graines chez les autres variétés ont légèrement augmenté à 52 JAS, quatre jours après le marquage des fleurs. Chez l'ensemble de ces variétés, le taux de graines contaminées a ensuite progressivement diminué et n'a été que de 1% environ à la récolte. Cette baisse du taux de graines contaminées serait liée à une dégradation du virus dont le mécanisme reste à élucider.

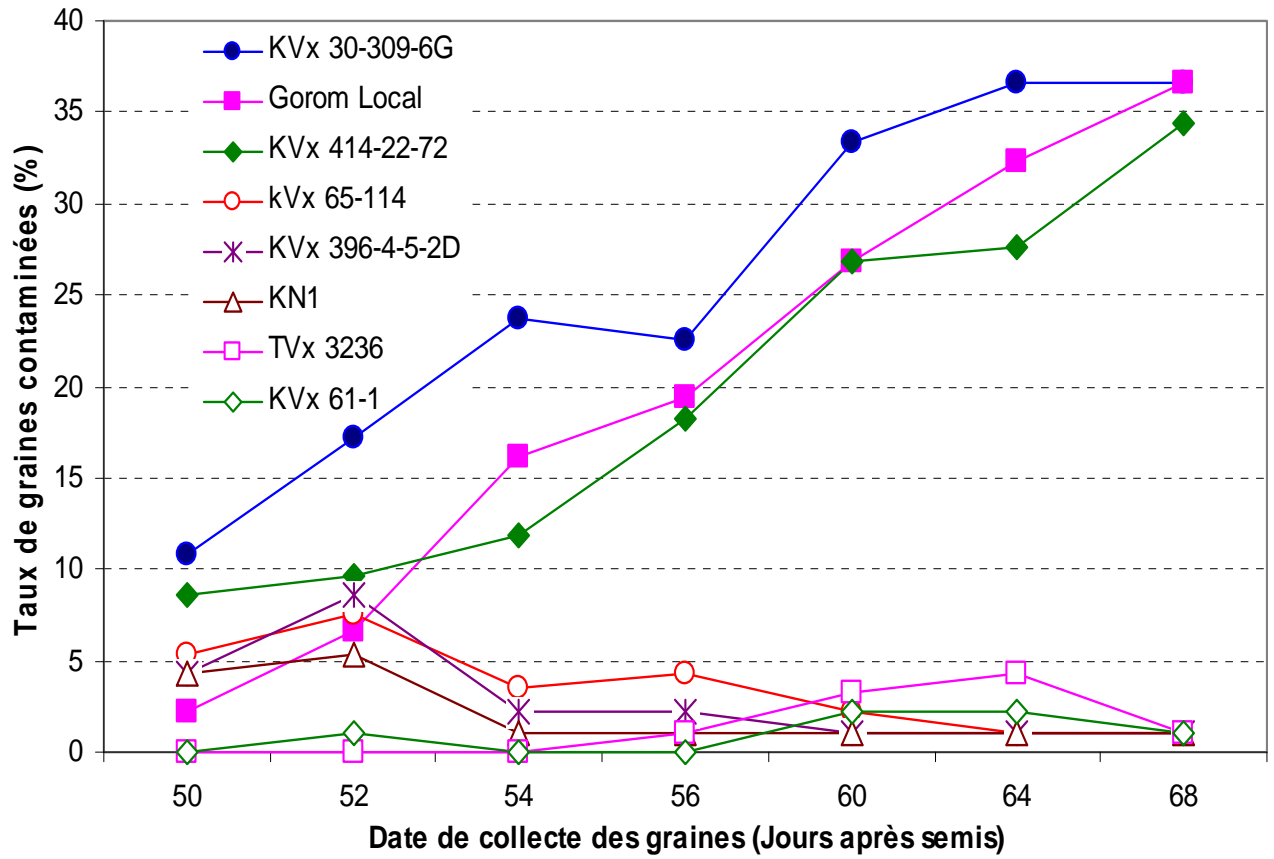


Figure 8 : Evolution du taux de graines contaminées par le CABMV au cours de la formation et de la maturation des gousses chez huit variétés de niébé

1.3.7.3. Relation entre le rang de la graine dans la gousse et son état sanitaire

La détection sérologique du CABMV a été effectuée chez les graines de la variété Gorom local. Les résultats sont illustrés par la figure 9. On remarque que la fréquence de contamination des graines par le virus est en relation avec leurs rangs dans les gousses. Inversement à l'ordre croissant du rang des graines (du pédoncule vers l'extrémité de la gousse), la fréquence des graines contaminées a progressivement diminué de façon linéaire ($r = -0,96$; $ddl = 8$; $P < 0,001$). Pour les graines situées au dixième rang à l'extrémité des gousses, le taux des graines contaminées n'a été que 3%. Pour les premières graines situées du côté du pédoncule, le taux de contamination des graines a atteint 60%. Ce phénomène pourrait sans doute être lié au fait que ces graines sont plus en contact direct avec le flux de sève arrivant de l'appareil végétatif.

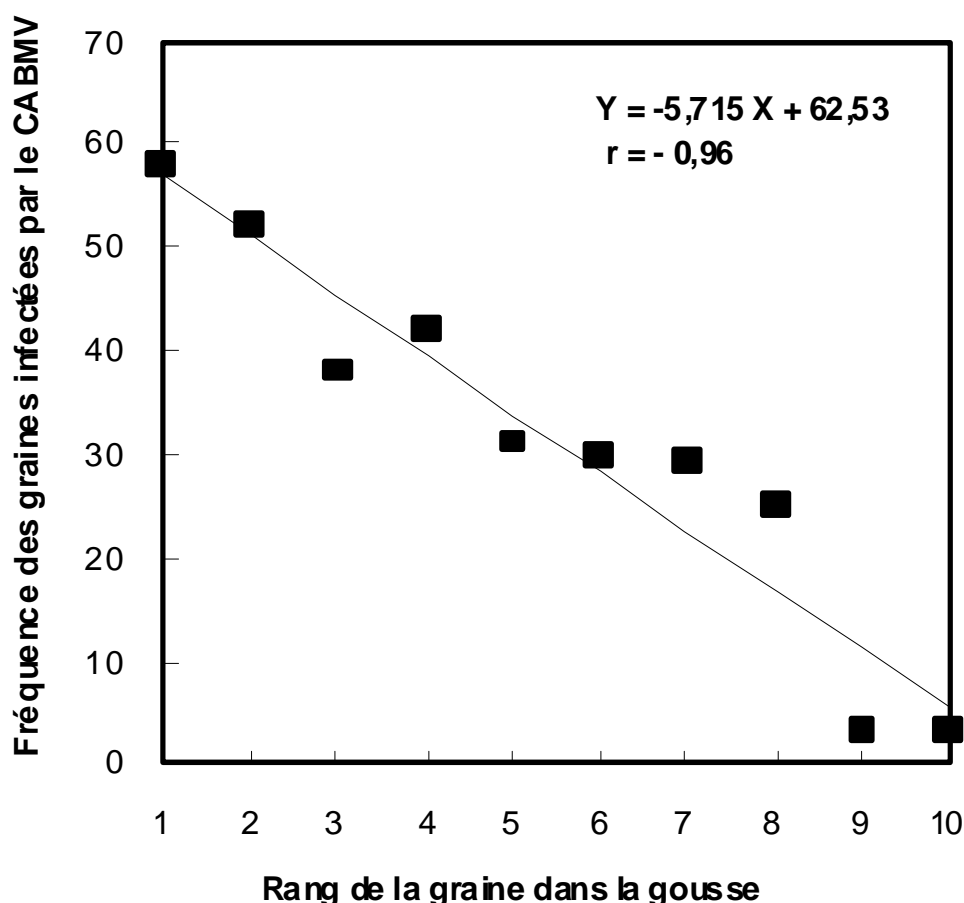


Figure 9 : Relation entre la fréquence des graines contaminées par le CABMV et le rang de la graine dans la gousse (numéroté à partir du pédoncule vers l'extrémité des gousses).

1.4. Discussion

Au total, 21 espèces de plantes ont été collectées sur la base des symptômes de mosaïque dans le but de rechercher les sources d'infection du CABMV: le niébé, principal hôte du virus, le voandzou et le sésame, et 18 espèces sauvages de plantes. Le virus a été identifié chez plusieurs espèces (219/274). Plus de 80 espèces de plantes ont été rapportés comme hôtes du CABMV (Bashir *et al.*, 2002). Seuls douze hôtes naturels dont la moitié constituée d'espèces cultivées ont été répertoriés (Gumedzoé, 1993 ; Konaté et Néya, 1996 ; Pappu *et al.*, 1997 ; Pio-Ribeiro *et al.*, 2000 ; Kitajima *et al.*, 2008 ; Odedara *et al.*, 2008). Nos travaux ont confirmé l'identification du niébé, du voandzou, et du sésame parmi les plantes cultivées. Chez les plantes sauvages, 12 nouvelles espèces hôtes naturels du virus ont été identifiées. Comme pour les hôtes déjà signalés, les espèces de la famille des *Leguminosae* ont été les plus nombreuses. Par ailleurs, l'espèce *D. oliveri* bien qu'appartenant à la famille des *Leguminosae* est la première espèce ligneuse identifiée comme hôte du CABMV. De même, l'espèce *B. disticophylla* (famille des *Poaceae*) s'est distinguée des autres hôtes connus du virus et qui sont de type herbacée mais appartenant à la classe des dicotylédones (Lovisol and Conti, 1966 ; Bos, 1970 ; Bock, 1973, Bashir *et al.*, 2002)

Le CABMV a été identifié dans de nombreuses localités disséminées à travers l'ensemble du Burkina Faso, indépendamment de la zone écologique. En majorité, les plantes chez lesquelles le virus a été identifié sont le niébé et le voandzou. La grande distribution du virus dans le pays et probablement dans d'autres pays de la sous-région est sans doute liée aux grandes aires de production de ces deux plantes en zone soudano-sahélienne (Hampton et Thottappilly, 2003).

Les tests de diagnostic biologique (inoculation à la variété de niébé TVX2657) et sérologique (utilisation d'anticorps monoclonaux anti-CABMV) ont chacun permis une bonne détection du CABMV. L'identification sérologique par le test ELISA a l'avantage d'être rapide et moins fastidieux et plus spécifique (Bar-Joseph et Garnsey, 1981). De plus, le test ELISA a permis de mettre en évidence une grande variation des niveaux de réaction (valeur d'absorbance A405 nm) entre échantillons séropositifs. Du fait du caractère quantitatif du test ELISA, cette variation d'absorbance suggère des différences de concentration virale dans les échantillons.

Elle peut aussi traduire une variabilité du CABMV entre échantillon, les différences d'absorbance reflétant les réactivités plus ou moins fortes entre les variants viraux et les anticorps utilisés (Mattews, 1991). Contrairement au test sérologique, la mise en œuvre du test biologique ne nécessite que peu d'équipement et de technicité. Toutefois, dans le cas particulier du CABMV, sa fiabilité a été due à l'utilisation d'un hôte (la variété de niébé TVX2657) réagissant spécifiquement avec le virus (Huguenot *et al.*, 1993 ; Bashir *et al.*, 1996).

L'inoculation d'extraits à partir de certains échantillons collectés a conduit à l'induction de symptômes de mosaïque chez la variété de niébé Gorom local mais pas chez TVX2657. De plus ces échantillons ont tous réagi négativement en sérologie. Cela indique que contrairement à TVX2657, Gorom Local n'est pas un hôte du CABMV qui est spécifique au virus. Son infection en l'absence de détection du CABMV indique que certains échantillons collectés renfermaient d'autres agents pathogènes capables d'infecter aussi le niébé, le voandzou ainsi que quelques plantes sauvages. Plusieurs virus différents du CABMV et qui induisent aussi des symptômes de mosaïque chez le niébé ont été rapportés (Hampton et Thottappilly, 2003).

Le rôle des plantes hôtes sauvages du CABMV dans le maintien et la dissémination du virus est resté peu connu sans doute en raison du faible nombre d'espèces identifiées en conditions d'infection naturelle. L'identification de nouveaux hôtes au cours de cette étude contribue à combler cette lacune. Cependant, la majorité de ces nouveaux hôtes du virus sont des espèces annuelles. De ce fait, elles peuvent jouer un rôle important de source d'inoculum pour la dissémination du virus dans les cultures de niébé, voandzou et sésame en saison humide. Par contre, elles ont un effet limité sur la conservation de l'inoculum viral notamment en saison sèche. Seule l'espèce pérenne *D. oliveri* pourrait servir de source virale permettant à la fois la conservation et la dissémination du CABMV.

La transmission du virus à travers les semences des hôtes sauvages identifiés au cours de ce travail reste à étudier, au regard de l'importance de ce facteur dans l'épidémiologie de la mosaïque du niébé transmis par pucerons. Aucune relation de cause à effet n'a été mise en évidence entre la sensibilité d'une espèce vis-à-vis du CABMV et la capacité de cette espèce à transmettre le virus par ses semences. En effet, aucune transmission par semences n'a été obtenue chez le sésame (Pappu *et al.*, 1997). Par ailleurs (Gillapsie *et al.*, 2000) ont rapporté des taux de transmission

par graines de 0,2% et 6% chez l'arachide et le niébé alors que les taux d'infection au niveau des plants étaient respectivement de 80% et 41%. La détermination de la capacité du CABMV à être transmis par graines doit donc être étudiée dans le cas de chaque espèce de plante hôte. Ce type de test doit d'ailleurs être aussi appliqué aux variétés de plantes au sein d'une même espèce. En effet, nos résultats ont révélé des différences importantes de taux de contamination des graines suivant les variétés de niébé (en exemple 44,5% chez Ouahigouya local contre 11% chez KVV 150). Des différences similaires ont été obtenues pour le CABMV (Bashir et al., 2002) ou plusieurs autres virus transmis par graines (Johansen et al., 1994).

Les résultats de la détection du CABMV dans les graines de niébé ont montré que tout comme dans les feuilles, le diagnostic viral dans les graines par ELISA était facile et très efficace. En effet, les réactions dites « bruits de fond » obtenues avec les témoins sains ont été très faibles. Cela a permis d'identifier sans ambiguïté les réactions séropositives. A cause de son efficacité (fiabilité et mise en œuvre assez facile), le test ELISA est la technique sérologique de routine pour la détection du CABMV dans les différentes organes de plantes (Bashir et al., 2002). Parmi les techniques sérologiques ayant été aussi employées pour le diagnostic du CABMV mais qui sont maintenant peu utilisées on peut citer l'immunodiffusion en gel d'agar, l'immunomicroscopie électronique et les tests d'agglutination et d'immunoempreintes (Taiwo et al., 1992 ; Huguenot et al., 1994, 1996 ; Bashir et Hassan, 1998)

La fiabilité de la détection sérologique du virus a été confirmée par les tests biologiques consistant à faire germer les graines et à observer la présence des symptômes chez les plantules. Les tests d'analyse en conditions non destructives des graines ont ainsi montré que toutes les graines ayant donné des réactions séropositives ont aussi été à l'origine de plantules infectées. Cependant, le test sérologique a montré des limites dans quelques cas où des graines séronégatives ont été à l'origine de plantules infectées par le CABMV. Ce résultat traduit sans doute une très faible concentration virale dans les graines et qui soit en deçà du seuil de détection sérologique, comme c'est le cas pour la plupart des virus (Bar-Joseph et Garnsey, 1981). Il traduit aussi la plus grande sensibilité du test biologique, l'infection pouvant en principe être obtenue à partir d'une seule particule virale (Matthews, 1991). Le diagnostic du CABMV dans diverses parties de la graine de niébé a révélé des différences importantes dans la distribution du virus. Aucune détection n'a été possible dans les téguments. Bowers et Goodman (1979) ont rapporté des cas

similaires pour le couple soja-virus de la mosaïque du soja. Dans ces cas, le virus clairement détectable dans les téguments de graines immatures était dégradé lors de la maturation des graines selon un mécanisme non élucidé. Cela pourrait expliquer l'absence de détection du CABMV dans les téguments de graines de niébé. Le CABMV a été détecté dans les cotylédons et les embryons de graines chez toutes les variétés de niébé. Cependant, les taux d'infection plus faibles des cotylédons, particulièrement chez les variétés Ouahigouya local et K VX-30-309-6G indiquent une meilleure présence du virus dans les embryons. L'infection des embryons a souvent été rapportée comme un facteur indispensable à la transmission de nombreux virus par graines (Johansen et *al.*, 1994).

A l'instar de la capacité du CABMV à être transmis par graine de niébé, un effet variété a aussi été mis en évidence pour le passage et la dynamique du virus dans les graines de plants infectés. Chez la majorité des variétés de niébé étudiées, le passage du virus dans les graines a été très précoce (dès la formation des gousses). L'effet variété a ensuite été plus marqué sur l'évolution de nombre de graines contaminées ce qui a conduit au moment de la récolte à la distinction de variétés à fort taux (Gorom local, K VX414-22-72) et à faible taux de contamination (K VX 61-1, TVX3236). La résistance du niébé à la transmission du CABMV par les graines a été mis en évidence par plusieurs auteurs (Ladipo, 1977 ; Mali et *al.*, 1983). Nos résultats ont montré que les variétés K VX 61-1, TVX3236, K VX 396-4-5-2D et K VX 65-114 possèdent ce type de résistance. Le déterminisme génétique de cette résistance n'est pas encore élucidé. Son mécanisme pourrait résulter d'un blocage du passage ou d'une dégradation du virus dans les graines au cours de leur maturation, les deux processus pouvant aussi agir concomitamment. En effet, nos résultats ont révélé un bas niveau du taux de contamination (<10%) et une baisse de ce taux entre la formation et la maturation des graines.

Chez une variété de niébé sensible à la transmission du CABMV par les graines comme Gorom local, la contamination des graines dans les gousses a été fortement influencée par leurs rangs. Le mécanisme sous-jacent de ce phénomène n'est pas encore connu. Cependant, il pourrait s'agir d'une faible fréquence de translocation du virus à travers la sève dans les graines situées à l'extrémité des gousses.

CHAPITRE 2

BIODIVERSITE DU CABMV

2.1. Introduction

Les travaux réalisés sur la biodiversité du CABMV ont été essentiellement dirigés sur la variabilité sérologique du virus et sa diversité pathogénique. Au niveau moléculaire, seuls des tests de digestion trypsique et d'immunoempreinte ont été utilisés pour comparer les protéines de capsides de quelques isolats.

La préparation d'anticorps monoclonaux (Mabs) anti-CABMV au début des années 1990 (Huguenot *et al.*, 1993) a été d'un apport précieux dans l'étude de la variabilité sérologique du CABMV. Une gamme de sept anticorps monoclonaux ont été produits et ont permis de distinguer six sérotypes du virus (sérotypes I à VI). Au cours des premiers travaux réalisés sur la variabilité du virus au Burkina Faso à partir de quelques isolats viraux, seuls les sérotypes II et III du CABMV ont été identifiés. A l'échelle du continent africain, la variabilité sérologique du virus reste assez peu connue. En effet, les travaux sur le sujet ont été réalisés dans une quinzaine de pays seulement (Huguenot *et al.*, 1996).

L'existence d'une diversité pathogénique du CABMV a été montrée par certains auteurs sur la base de tests d'inoculation mécanique (Bashir et Hampton, 1996). En effet, ces auteurs ont signalé de grandes variations dans l'expression des symptômes et la capacité d'isolats du virus à infecter ou non certaines variétés de niébé. Par exemple, Bashir et Hampton (1996) ont distingué quatre types d'interaction virus-plante pour le couple CABMV-niébé :

- l'immunité se manifestant sous forme d'absence de symptômes et de détection sérologique du virus
- la résistance au cours de laquelle très peu de symptômes sont exprimés et les concentrations virales détectées faibles
- la tolérance caractérisée par une faible expression des symptômes mais avec des concentrations virales élevées
- la sensibilité avec une forte expression des symptômes et la détection du virus en forte concentration.

Certes, ces types d'interactions résultent en partie du génotype de niébé. Mais ils reflètent aussi une variabilité biologique du virus en raison du fait que la résistance ou l'immunité peuvent être effectives seulement contre un isolat viral particulier (Bashir *et al.*, 2002). Il résulte de ces interactions hôte-virus que des variétés de

niébé identifiées comme résistantes contre des variants du CABMV présents par exemple dans une région peuvent s'avérer moins résistantes ou clairement sensibles à d'autres variants viraux.

La variabilité moléculaire du CABMV a été étudiée au niveau de la CP (protéine de capsid) (Huguenot *et al.*, 1994 ; 1997). La comparaison des tailles de la CP de plusieurs isolats viraux par hybridation de type « western blot » n'a pas permis de mettre en évidence des différences de poids moléculaire. Par contre, une variabilité entre isolats a pu être mise en évidence par l'analyse de peptides issus de la digestion trypsique des CP d'isolats viraux appartenant à différents sérotypes du CABMV. En effet, 24 pics majeurs ont été obtenus en chromatographie liquide de haute performance (HPLC). En revanche, aucune relation directe n'a pu être établie entre la présence des pics en HPLC et la variabilité sérologique du CABMV. Plus récemment, l'amplification par RT-PCR (reverse transcriptase polymerase chain reaction) suivie de la séquence du gène de la CP a mis en évidence des taux de similarité compris entre 85% et 98% (Nascimento *et al.*, 2004 ; 2006). La déduction de la composition de la CP en acides aminés (aa) à partir des séquences nucléotidiques a montré que la CP comprend 275 résidus d'acides aminés chez la majorité des isolats du CABMV. Un isolat dont la CP comportait 276 aa a été identifié chez le fruit de la passion (Nascimento *et al.*, 2006).

Au cours des travaux présentés dans ce chapitre, la diversité du CABMV a été étudiée au double plan sérologique et pathogénique. Dans le but d'affiner les premiers résultats de la variation sérologique (Huguenot *et al.*, 1996), un plus grand nombre d'isolats viraux ont été utilisés. De plus, en plus du niébé, des isolats provenant aussi de voandzou ont été analysés.

2.2. Matériel et méthodes

2.2.1. Le matériel végétal

Le matériel végétal est constitué des isolats collectés lors de la prospection sur les différents axes dont les détails sont indiqués dans le paragraphe matériel et méthode du chapitre 1 et résumés ci-dessous :

- . **Axe1.** 56 échantillons de niébé et 36 de voandzou, 2 sésames et 6 espèces sauvages ont été collectés.
- . **Axe 2 :** Sur cet axe, 8 échantillons de niébé et 7 de voandzou ont été collectés.
- . **Axe 3 :** 31 échantillons de niébé et 30 de voandzou ont été prélevés.
- . **Axe 4:** Nous avons pu collecter 21 échantillons de niébé et 10 de voandzou.
- . **Axe 5 :** 14 échantillons de niébé et 9 de voandzou ont été prélevés.
- . **Axe 6:** 14 échantillons de niébé et 17 de voandzou ont été enregistrés
- . **Kamboiné :** nous avons identifié 12 échantillons d'espèces sauvages et 1 sésame

2.2.2. La technique de caractérisation des variants sérologiques

Les anticorps monoclonaux constituent un matériel très précieux dans l'identification des variants sérologiques ou sérotypes du virus. Ils sont dirigés chacun contre un déterminant antigénique précis. Par conséquent, toute modification de ce déterminant antigénique peut entraîner la perte partielle ou totale de la reconnaissance par l'anticorps. Dans la méthode ELISA-DASI cinq anticorps monoclonaux (MAB) simples et couplés à la biotine (MABbiot) fournis par le Dr C. Huguenot (Agriculture Canada, Vancouver), dans le cadre d'un projet collaboratif ont été utilisés (tableau 7).

Tableau 7 : Anticorps monoclonaux et dilutions de travail utilisés dans l'identification des variants sérologiques du CABMV.

MAB* (coating)	Dilution	MAB-biot [#] (détection)	Dilution	Sérotype détecté	Virus
5H5	5/1000	5H5 biot	1/10000	I+II+III+IV	
1F5	1/10000	1F 5 biot	1/10000	I	
5H5	5/1000	7D9 biot	1/10000	II	CABMV
12F9	1/10000	6C10 biot	1/1000	III	
2D11	1/10000	2D11 biot	1/10000	IV	

* MAB : anticorps monoclonal

[#] Mab-biot : Anticorps monoclonal couplé à la biotine

2.2.3. La caractérisation des variants pathogéniques

Les sérotypes ou groupes de sérotypes obtenus du test ELISA à partir des échantillons collectés ont été inoculés artificiellement à de jeunes plants de Gorom local âgés d'une semaine, à des plantes sauvages et à sept variétés de niébé dites résistantes reçues de l'IITA: IT93K-452-1, IT93K-509-16, Kananado, IT91K-93-10, TVU11426, IT83S-2049, 524B suivant la technique de transmission mécanique. Suivant la même technique, le sérotype II a été inoculé aux variétés K VX61-1, K VX396-4-5-2D, K VX445-11P et Moussa Local. Les plants inoculés ont été observés quotidiennement quatre semaines durant. Les dates de délai d'apparition des symptômes, les types de symptômes et leur sévérité ont été notés. Un test ELISA a été réalisé sur ces plants pour confirmer ou infirmer la présence ou l'absence du CABMV.

2.2.4. Les analyses statistiques

Les résultats du test ELISA sont exprimés en densité (DO à 405 nm) et analysés par le test χ^2 . Les proportions des plants infectés par les différents sérotypes sont exprimées en pourcentage.

2.3. Résultats

2.3.1. L'étude des isolats et Identification des sérotypes du CABMV

Les résultats de l'analyse des 274 isolats avec les anticorps monoclonaux pour déterminer la variabilité sérologique du virus sont illustrés par la figure 10. Les résultats indiquent que quatre sérotypes du virus ont été identifiés. Il s'agit des sérotypes I, II, III et IV. Ces sérotypes ont été détectés non seulement en infection unique mais aussi pour la plupart en co-infection double (I+II et II+III) ou triple (I+II+III). De façon inattendue, le sérotype IV a toujours été trouvé en infection unique. De même, aucun profil révélant une infection double I+III n'a été obtenu alors que les deux sérotypes ont été retrouvés en triple infection avec le sérotype II.

MAB – MABbiot					Sérotype
5H5 <i>6F9biot</i>	1F5 <i>1F5biot</i>	5H5 <i>7D9biot</i>	12F9 <i>6C10biot</i>	2 D11 <i>2D11biot</i>	
■	□	□	□	□	I
■	□	■	□	□	II
■	□	□	■	□	III
■	□	□	□	■	IV
■	■	■	□	□	I+II
■	□	□	■	□	II+III
■	■	■	■	□	I+II+III

Figure 10 : Profils de réaction des isolats du CABMV vis-à-vis des anticorps monoclonaux. Les anticorps monoclonaux (MAB) ont été utilisés comme anticorps de coating. Les anticorps biotinilés (MABbiot) utilisés comme anticorps de détection sont indiqués en italique. Les réactions des isolats viraux vis-à-vis des MABs ont été enregistrées comme positives (■) ou négatives (□).

Le résultat de l'analyse par le test χ^2 est illustré par la figure 11. On remarque que l'analyse par le test χ^2 des proportions des quatre sérotypes pour l'ensemble des isolats CABMV collectés chez le niébé et le voandzou a révélé des différences hautement significatives ($\chi^2 = 419,67$; ddl = 3 ; $P < 0,001$). Le sérotype le plus répandu a été le sérotype II avec un taux de 64,3%. Le deuxième sérotype le plus répandu a été le sérotype III (28,4%) tandis que les sérotypes I et IV ont été assez faiblement représentés (5,7% et 1,6% respectivement).

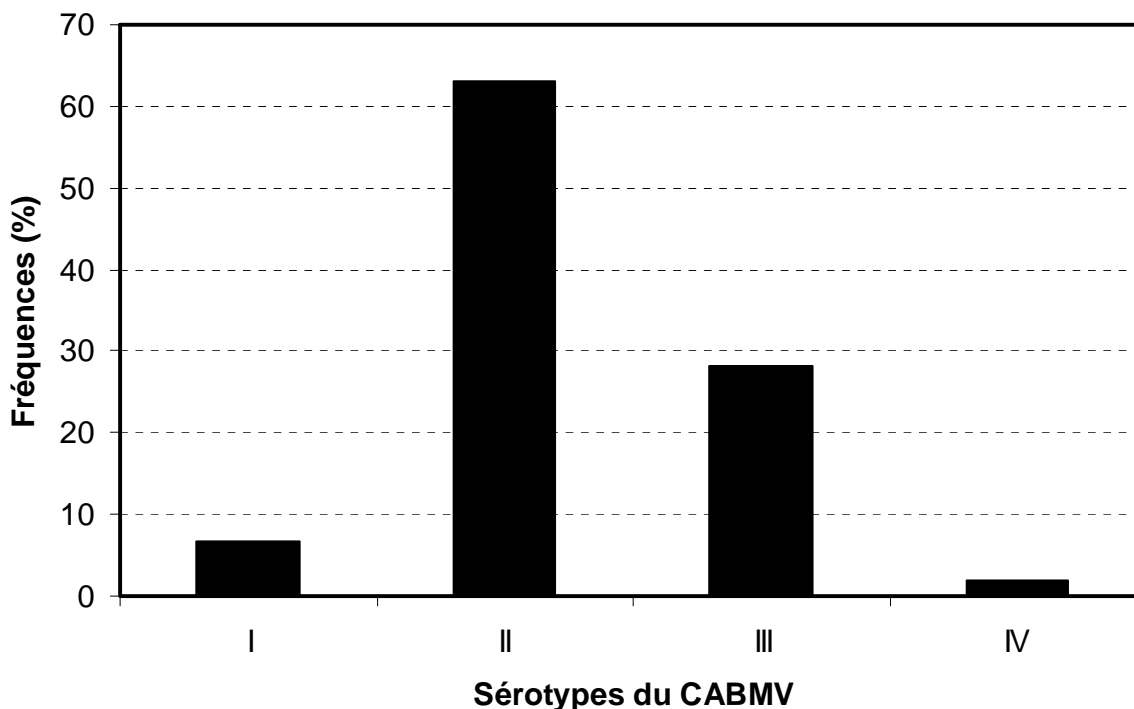


Figure 11. Fréquences des sérotypes du CABMV identifiés chez l'ensemble des isolats viraux du niébé et du voandzou

Le résultat de la comparaison des fréquences des sérotypes est résumé par la figure 12. On note qu'en général, les fréquences des divers sérotypes du CABMV observées chez le niébé et le voandzou ont été similaires. En effet, aucune différence significative ($P > 0.38$) n'a été mise en évidence entre les fréquences de la plupart des sérotypes chez le niébé et le voandzou. Ainsi, indépendamment de la plante hôte, les infections simples les plus répandues ont été celles causées par le sérotype II suivi par les sérotypes III et I. Les fréquences plus élevées des sérotypes II et III ont sans doute été à l'origine des proportions plus élevées d'infection mixtes II+III aussi bien chez le niébé que chez le voandzou. Contrairement au cas des sérotypes II, I et III, les résultats ont révélé un effet de la plante hôte sur la distribution du sérotype IV ($z = 2,379$; $P = 0,017$). En effet, ce sérotype n'a pu être retrouvé que chez le voandzou. La présence de ce sérotype uniquement dans les échantillons de voandzou suggère que cette plante pourrait être un hôte différentiel.

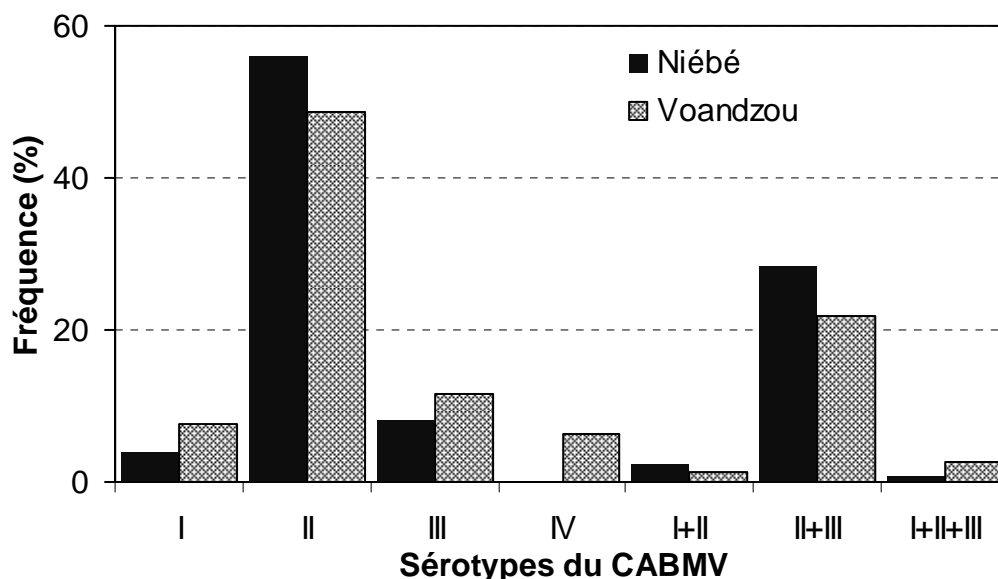
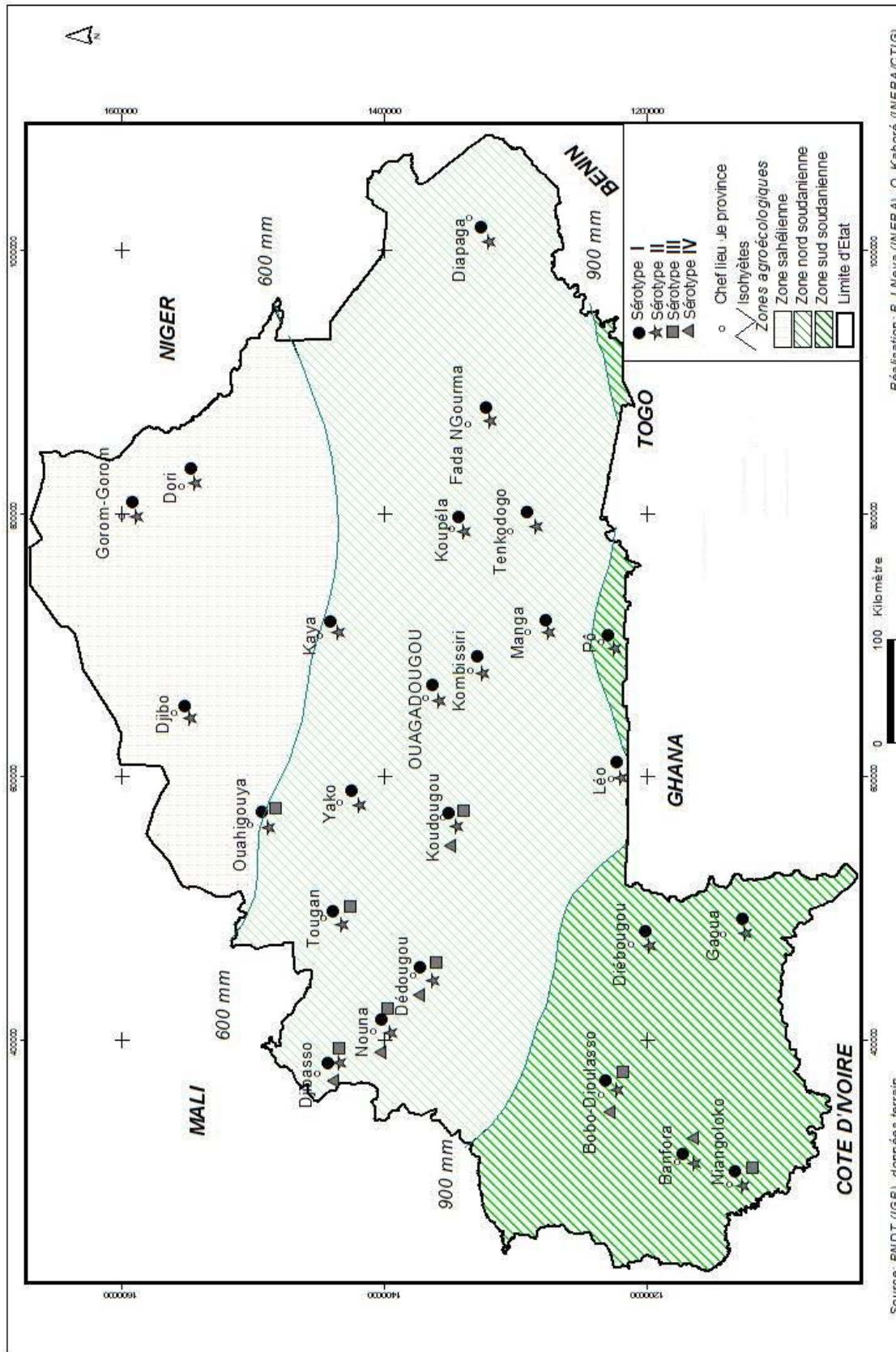


Figure 12 : Fréquences des sérotypes du CABMV chez les isolats viraux infectant le niébé et le voandzou

2.3.2. La distribution géographique des sérotypes du CABMV à travers le pays

Les résultats de distribution des sérotypes à travers le territoire burkinabé sont matérialisés par la figure 13. On constate que parmi les trois sérotypes du CABMV identifiés chez le niébé, seuls les sérotypes II et I ont été trouvés dans l'ensemble des principales localités de prospectées. Bien que la fréquence du sérotype III ait été supérieure à celle du sérotype I dans les isolats du CABMV, la répartition géographique du sérotype III a été beaucoup plus restreinte. En effet, le sérotype III a été trouvé principalement dans la moitié ouest du pays. Hormis cette particularité, aucune relation significative n'a pu être mise en évidence entre la répartition géographique des sérotypes et la zone agro-écologique. En effet, les trois sérotypes identifiés chez le niébé ont été trouvés aussi bien en zone sud soudanienne dans les localités comme Niangoloko, Banfora et Bobo-Dioulasso, qu'en zone nord soudanienne (localités de Nouna, Djibasso, Koudougou etc.) et sahélienne dans la localité de Ouahigouya.

La distribution géographique du sérotype IV identifié uniquement chez le voandzou a été presque similaire à celle du sérotype III. Ainsi, le sérotype IV a été trouvé particulièrement dans la partie ouest du pays en plus de la localité de Koudougou plus au centre. Tout comme le sérotype III, il n'a pas pu être identifié dans les parties Nord, Est et Sud malgré le nombre important de localités prospectées.



Source: BNDT (IGB), données terrain
Réalisation: B.J.Naya (INERA), O. Kaboré (INERA/CTIG)

Figure 13: Distribution géographique des sérotypes du CABMV à travers le territoire du Burkina Faso

2.3.3. La caractérisation pathogénique des isolats du CABMV

2.3.3.1. La diversité des symptômes induits par le CABMV

Les résultats d'inoculation des isolats du CABMV appartenant à différents sérotypes à la variété de niébé Gorom local sont regroupés dans les tableaux 8 et 9. On note que différents types de symptômes induits ont été obtenus aussi bien avec les isolats collectés chez le niébé (tableau 8) que chez le voandzou (tableau 9). Dans les deux cas, les délais d'apparition des symptômes ont varié entre cinq jours et deux semaines. Par ailleurs, les taux d'infection des plants de la variété Gorom local inoculés ont été élevés dans tous les cas (100% en majorité).

Malgré l'inoculation d'une quarantaine d'isolats représentant différents sérotypes et provenant de diverses origines géographiques, aucune différence notable de pathogénicité (sévérité ou délai des symptômes, taux d'infection) n'a pu être mise en évidence entre les sérotypes du CABMV. Ainsi, par exemple, deux isolats collectés chez le niébé à Djibasso et à Titao (distants d'environ 200 km) et appartenant respectivement aux sérotypes I et II ont induit des symptômes similaires de mosaïque jaune avec déformation foliaire. A l'inverse, des isolats de même sérotype II collectés chez le niébé à Yasso et Zabré ou chez le voandzou à Badala et Dédougou ont induit des symptômes très différents de mosaïque sévère avec déformation foliaire et de mosaïque verte atténuée.

L'inoculation du sérotype II du CABMV aux variétés K VX61-1, K VX3966-4-5-2D, K VX445-11P et moussa local a donné les résultats illustrés par la figure 14. On remarque que cette inoculation a conduit à l'induction de quatre principaux types de symptômes: (A) des symptômes de mosaïque jaune avec des déformations locales du limbe sous forme de cloques chez K VX61-1; (B) une mosaïque verte bien visible mais sans déformation des feuilles chez K VX396-4-5-2D; (C) une mosaïque jaune avec déformation foliaire se présentant sous forme de gaufrage des feuilles chez K VX445-11P; (D) une mosaïque jaune marquée par un éclaircissement des nervures chez Moussa local. Dans certains cas, des symptômes plus complexes (mosaïque jaune ou verte sévère ou atténuée et avec présence simultanée de cloques foliaires et de déformation des feuilles) ont été observés.

Tableau 8 : Caractéristiques pathogéniques d'isolats viraux collectés chez le niébé dans différentes localités et appartenant aux divers sérotypes du CABMV.

Localités	Sérotypes du CABMV	Incidence*	Type de symptôme
Djibasso	I	6/6	Mosaïque jaune, déformation foliaire
Pâ	"	6/6	Mosaïque verte atténuée
Titao	II	5/5	Mosaïque, déformation foliaire sévère
Konancoira	"	4/4	Mosaïque jaune, cloques foliaires
Djibasso	"	7/7	Mosaïque, déformation foliaire
Yasso	"	6/6	Mosaïque sévère, déformation foliaire
Boussé	"	5/5	Mosaïque verte atténuée
Kayao	"	7/8	Mosaïque, éclaircissement de nervures
Dédougou	"	9/9	Mosaïque jaune, déformation foliaire
Zabré	"	6/8	Mosaïque verte atténuée
Badala	I+II	7/8	Mosaïque jaune, cloques foliaires
Bobo-Dioulasso	III	6/6	Mosaïque jaune sévère, cloques foliaires
Tiémé	"	6/6	Mosaïque avec nervures vert clair
Dougoumato	"	7/7	Mosaïque verte atténuée
Soin	"	7/7	Mosaïque jaune, cloques foliaires
Noumoudara	"	6/6	Mosaïque jaune sévère, cloques foliaires
Konancoira	II+III	7/9	Mosaïque verte atténuée, déformation foliaire
Yasso	"	7/7	Mosaïque, éclaircissement de nervures
Dédougou	"	5/5	Mosaïque jaune, cloques foliaires
Péni	"	7/7	Mosaïque jaune, cloques foliaires
Tita Naponé	"	5/5	Mosaïque jaune sévère

* nombre de plants infectés/nombre de plants inoculés

Tableau 9 : Caractéristiques pathogéniques d'isolats viraux collectés chez le voandzou dans différentes localités et appartenant aux divers sérotypes du CABMV.

Localités	Sérotypes du CABMV	Incidence*	Type de symptôme
Niangoloko	I	7/7	Mosaïque, déformation foliaire sévère
Sao	I+II+III	8/10	Mosaïque jaune, déformation foliaire
Koutoura	"	6/6	Mosaïque jaune fine, cloques foliaires
Soin	"	7/7	Mosaïque jaune, cloques foliaires
Badala	II	8/8	Mosaïque verte atténuée
Kamboinsé	"	4/4	Mosaïque jaune, cloques foliaires
Soin	"	6/7	Mosaïque jaune, cloques foliaires
Djibasso	"	7/7	Mosaïque, déformation foliaire
Yasso	"	8/9	Mosaïque jaune atténuée
Poa	"	6/6	Mosaïque verte atténuée
Niangoloko	"	9/9	Mosaïque jaune, déformation foliaire
Dédougou	"	8/9	Mosaïque, déformation foliaire
Villy	II+III	5/5	Mosaïque jaune sévère, cloques foliaires
Dédougou	"	5/5	Mosaïque jaune, cloques foliaires
Banfora	"	5/6	Mosaïque jaune sévère, cloques foliaires
Yasso	III	7/7	Mosaïque, éclaircissement de nervures
Poundou	"	6/6	Mosaïque verte atténuée
Soin	IV	5/7	Mosaïque jaune fine, cloques foliaires

* nombre de plants infectés/nombre de plants inoculés

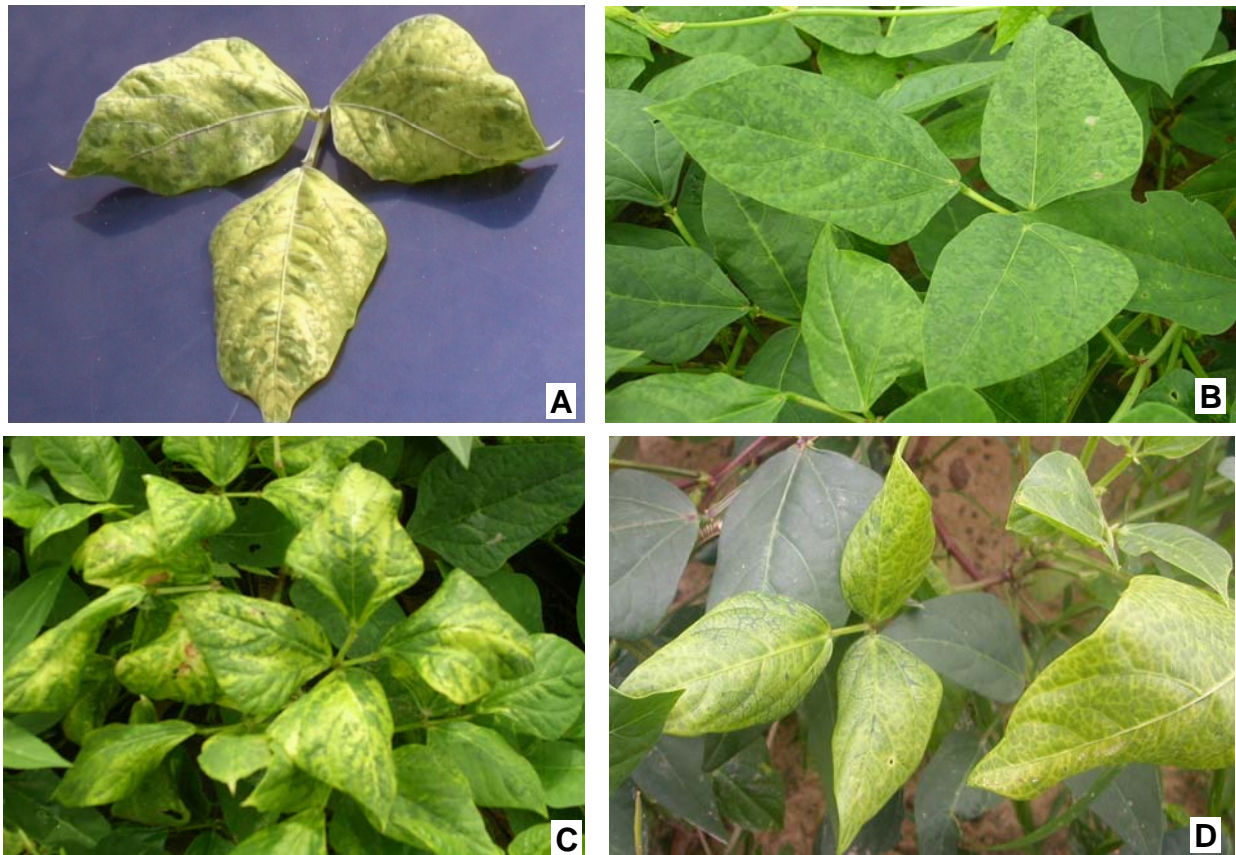


Figure 14 : Types de symptômes induits chez les variétés de niébé par le sérotype II du CABMV. A : mosaïque jaune avec cloques foliaires (KVX61-1); B: mosaïque verte sans déformation foliaire (KVX396-4-5-2D); C: mosaïque jaune avec déformation foliaire (KVX445-11P); D: mosaïque jaune avec éclaircissement des nervures (Moussa local).

2.3.3.2. La réactivité de plantes hôtes sauvages vis-à-vis des isolats du CABMV

Les résultats de l'inoculation d'isolats du CABMV représentant les divers sérotypes identifiés à une gamme d'hôtes sauvages du virus sont regroupés dans le tableau 10. On retient que les quatre sérotypes du CABMV ont pu induire simultanément des symptômes chez la majorité des plantes hôtes testées (7/13). Par contre aucun d'entre eux n'a pu infecter la casse puante (*Cassia occidentalis*). Trois sérotypes (I, II et IV) ont infecté les espèces *Corchorus olitorius* et *Corchorus tridens* appartenant toutes deux à la famille des *Tiliaceae*. Seuls les sérotypes I et II ont pu infecter *Blumea aurita* et *Phyllanthus amarus*. De façon intéressante, l'espèce *Ficus exasperata* n'a pu être infectée que par le sérotype II. La réaction des plantes hôtes vis-à-vis des sérotypes du CABMV a conduit à des résultats assez contrastés.

2.3.3.3. La réactivité de variétés de niébé résistantes vis-à-vis des isolats du CABMV

Le criblage de sept variétés de niébé identifiées comme résistantes au CABMV au Nigéria (Singh *et al.*, 1987) vis-à-vis des sérotypes du virus a permis d'obtenir les résultats résumés dans le tableau 11. On distingue trois groupes de variétés en fonction du délai moyen d'apparition des symptômes : a) chez le premier groupe comprenant Gorom local, Kananado et 524B, les symptômes ont été les plus précoces et sont apparus à 6 - 7 jours après inoculation (JAI) ; b) chez la variété IT83S-2049, unique représentant du deuxième groupe, les symptômes ont été observés avec un retard de trois jours par rapport au cas des variétés du premier groupe; pour le troisième groupe comportant le reste des variétés testées, les délais d'apparition des symptômes ont été de 15-16 JAI, deux fois supérieurs aux délais obtenus avec les variétés du premier groupe.

A trois semaines après inoculation, les taux d'infection des différentes variétés de niébé ont été très élevés (égaux ou proches de 100%) quel que soit le sérotype du CABMV. Deux groupes de sévérité des symptômes ont été observés. Chez IT93K-452-1 et la variété sensible Gorom local, les symptômes ont été très sévères pour tous les sérotypes du virus. Par contre chez le reste des variétés, les symptômes ont été de type atténué.

Tableau 10 : Réaction de quelques espèces trois semaines après l'inoculation mécanique

Plantes hôtes	Induction de symptômes ^a			
	I	II	III	IV
Caesalpiniaceae				
<i>Cassia occidentalis</i> (L) Link	-	-	-	-
<i>Cassia obtusifolia</i> (L) Ir.et Ba.	+	+	+	+
Papillioaceae				
<i>Phaseolus latiroides</i> (L.)	+	+	+	+
<i>Desmodium tortuosum</i> (Sw.) Dc.	+	+	+	+
Tiliaceae				
<i>Corchorus olitorius</i> L.	+	+	-	+
<i>Corchorus tridens</i> L.	+	+	-	+
Asteraceae				
<i>Blumea aurita</i> (L.) Dc.	+	+	-	-
Chenopodiaceae				
<i>Chenopodium amaranticolor</i> L.	+	+	+	+
Moraceae				
<i>Ficus exasperata</i> Vahl	-	+	-	-
Amaranthaceae				
<i>Amaranthus spinosus</i> L.	+	+	+	+
Euphorbiaceae				
<i>Phyllanthus amarus</i> Sch. et Thon.	+	+	-	-
Solanaceae				
<i>Nicotiana benthamiana</i> L.	+	+	+	+
<i>Nicotiana tabacum</i> L.	+	+	+	+

^a la présence (+) ou l'absence (-) des symptômes ont été notées trois semaines après inoculation. L'absence de symptômes a été confirmée dans chaque cas par la non détection du CABMV par le test immunoenzymatique ELISA.

Tableau 11: La réactivité de sérotypes du CABMV chez sept variétés de niébé en comparaison avec le témoin sensible Gorom local

Variétés de niébé	Réactivité des sérotypes ^a			
	I	II	III	IV
Gorom local	6 (10/10)	6 (13/13)	6 (11/11)	6 (14/14)
Kananado	6 (13/13)	6 (11/13)	6 (12/13)	6 (14/14)
524B	7 (13/13)	7 (13/13)	7 (5/15)	7 (4/14)
IT83S-2049	11 (15/15)	11 (12/12)	11 (14/14)	11 (13/13)
IT93K-452-1	15 (13/13)	15 (12/13)	15 (15/15)	15 (13/13)
IT91K-93-10	15 (14/14)	15 (12/12)	15 (13/13)	15 (14/14)
IT93K-509-16	15 (14/14)	15 (12/12)	15 (13/13)	15 (14/14)
TVU11426	16 (13/13)	16 (16/16)	16 (14/14)	16 (13/13)

^a les nombres dans le tableau indiquent les délais d'apparition des symptômes avec les incidences (nombre de plants infectés/nombre de plants inoculés) entre parenthèses. Les taux d'infection des plants ont été évalués trois semaines après inoculation

2.4. Discussion

Très peu d'études ont été consacrées à la caractérisation de la variabilité sérologique du CABMV. En effet, les investigations dans ce domaine ont sans doute été freinées par l'existence d'une forte parenté sérologique entre plusieurs potyvirus (Koenig, 1988; Matthews, 1991). Ce handicap a été surmonté avec la disponibilité des anticorps monoclonaux dont l'utilisation a permis d'identifier les sérotypes II et III du CABMV lors des premiers travaux réalisés à partir de quelques isolats du virus (Huguenot *et al.*, 1996). Au cours de ce travail, les variants sérologiques ont été recherchés à partir d'un grand nombre d'isolats, ce qui a conduit à l'identification de deux autres variants, les sérotypes I et IV. Le sérotype I avait été identifié dans quelques pays d'Afrique de l'Ouest comme le Ghana, le Nigéria et le Togo. Par contre, le sérotype IV précédemment rapporté seulement au Maroc, en Zambie et en Afrique du Sud est identifié pour la première fois en Afrique de l'Ouest. Bien qu'il soit capable d'infecter le niébé, il n'a été mis en évidence que chez le voandzou avec une proportion très faible. Malgré le nombre relativement important et la diversité d'origine géographique des isolats du CABMV analysés, les sérotypes V et VI du virus n'ont pas pu être identifiés. Ces deux sérotypes ont particulièrement été

rapportés en Afrique australe où le sérotype V semble confiné (Huguenot *et al.*, 1996). La prépondérance du sérotype II et sa large distribution géographique au Burkina Faso reflètent sans doute la situation en Afrique de l'Ouest. En effet, c'est le sérotype le plus fréquemment rapporté dans cette sous-région.

La coexistence de plusieurs sérotypes du CABMV dans le pays laissait présager de cas d'infections mixtes. Hormis le sérotype IV, très rare, des co-infections impliquant tous les autres sérotypes ont été mises en évidence aussi bien chez le niébé que chez le voandzou. Chez plusieurs virus d'animaux ou de plantes, il a été montré que l'infection d'un hôte par un premier variant peut conférer à l'hôte une immunité contre les autres souches suivant un processus dit de protection croisée (Yamaya *et al.*, 1988; Rezende *et al.*, 1992; Daddario-Dicaprio *et al.*, 2006). La présence d'infections mixtes entre variants sérologiques du CABMV suggère une absence de protection croisée entre ces variants. Dans ce cas, tous les variants sont capables d'infecter l'hôte simultanément avec souvent des effets nuisibles complémentaires (Matthews, 1991).

Bien que la mosaïque soit un élément commun d'expression des symptômes, les symptômes induits par les isolats du CABMV ont été d'une grande diversité. Comme chez la plupart des virus de plante, les déterminants moléculaires de cette diversité symptomatologique ne sont pas encore connus. Il ressort clairement que les déterminants impliqués sont distincts de ceux responsables de la variation sérologique du virus. En effet, aucune relation de correspondance n'a pu être mise en évidence entre les divers sérotypes identifiés chez le CABMV et le type de symptômes induits.

La diversité pathogénique du CABMV s'est partiellement reflétée dans les réactions de variétés de niébé identifiées comme résistantes. L'induction de symptômes atténués par les divers sérotypes du CABMV chez l'ensemble des variétés de niébé conforte le statut de variétés résistantes au virus même si les taux d'infection ont été très élevés. Néanmoins, la précocité des symptômes chez les variétés kananado et 524B a été similaire au cas du témoin sensible Gorom local, ce qui suggère une plus grande sensibilité chez ces variétés.

A l'instar de diversité de symptômes, les résultats des interactions entre sérotypes du CABMV et plusieurs plantes hôtes suggèrent des relations plutôt spécialisées pour chaque couple isolat viral – espèce de plante hôte. Ainsi, des isolats de différents sérotypes ont pu infecter une gamme variée d'hôtes appartenant

à plusieurs familles très distinctes. A l'inverse, différents sérotypes ont été incapables d'infecter *Cassia occidentalis* rapportée comme hôte (Bashir *et al.*, 2002). Cela indique que parallèlement à sa très large gamme d'hôtes, le CABMV présente également une grande variabilité pathogénique. Par ailleurs, une interaction très spécifique a été mise en évidence entre le sérotype II et *Ficus exasperata*, non sensible aux autres sérotypes. Cette plante apparaît donc comme une espèce spécifique différentielle pour l'isolement du sérotype II.

L'utilisation de la sérologie et des tests biologiques d'interactions virus-hôtes ont permis de montrer que le CABMV présente une grande variabilité. Si les tests biologiques sont toujours incontournables, les tests sérologiques ont montré plusieurs limites. En effet, ils dépendent principalement de la disponibilité d'anticorps monoclonaux capables de discriminer les différents déterminants antigéniques du virus. Or, le développement de tels anticorps est assez fastidieux et les Mabs produits ne couvrent pas toujours toute la variabilité sérologique. Par ailleurs, l'absence fréquente de relation entre variabilités sérologique et pathogénique comme cela a été mis en évidence pour le CABMV limite la portée de l'identification des sérotypes viraux.

Au cours de ces dernières années, les progrès en biologie moléculaire (amplification par RT-PCR et séquençage partiel ou total du génome viral) ont ouvert de nouvelles voies à l'exploration de la variabilité du CABMV (Gillaspie *et al.*, 2001; Mlotshwa *et al.*, 2002, Nascimento *et al.*, 2004, 2006). L'application de telles techniques à l'étude des variants du CABMV identifiés au cours de cette étude permettra d'affiner la caractérisation de la biodiversité du virus. Leur association aux tests biologiques devrait également élucider plusieurs aspects de la pathogénicité des isolats du CABMV (Nicaise *et al.*, 2003; Moury *et al.*, 2004).

2.5. Conclusion partielle de cette partie

Les résultats obtenus au cours de cette partie du travail apportent de précieuses informations. A la lumière de ces informations les principales conclusions que l'on peut tirer sont les suivantes :

- La maladie de la mosaïque du niébé est présente dans toutes les zones agro écologiques du Burkina. Elle a été observée principalement sur du niébé, souvent sur du voandzou et quelque fois sur certaines espèces sauvages.

- Deux principaux groupes de variétés de niébé ont pu être distinguées sur la base du taux de transmission du virus par les graines :
 - . Le groupe des variétés à fort pouvoir de transmission du virus par les graines où la proportion des graines contaminées peut atteindre 40%.
 - . Le groupe des variétés à faible pouvoir de transmission du virus par les graines où la proportion des graines contaminées peut atteindre 2%.
- L'aptitude des variétés à transmettre le virus aux graines ne semble pas liée à leur sensibilité à l'infection. Cela suggère que les deux caractères sont gouvernés par deux gènes différents.
- Les variants sérologiques I, II, III et IV du CABMV ont été identifiés dans plusieurs régions du pays. Les sérotypes I et IV du CABMV sont rapportés pour la première fois au Burkina Faso. Le sérotype II a été identifié comme le plus important par sa prévalence et sa distribution géographique.
- L'étude de la pathogénicité des variants du CABMV a permis de distinguer trois pathogroupes chez la variété Gorom local. Il s'agit de mosaïque avec déformation foliaire, de mosaïque sans déformation foliaire et de mosaïque fine.
- La transmission du virus par les graines contaminées de niébé est sans doute à l'origine du maintien et de la dissémination de la maladie en paysan milieu à travers les échanges ou l'acquisition des semences de niébé.

TROISIEME PARTIE

**PROPAGATION ET CONTRÔLE DU
CABMV**

CHAPITRE 1 :

**RÔLES DES GRAINES CONTAMINEES
DE NIEBE ET DES PUCERONS DANS LA
PROPAGATION DU CABMV**

1.1. Introduction

La propagation de la maladie au champ résulte d'interactions multiples entre les sources d'inoculum, l'agent pathogène et les moyens de sa dissémination, en l'occurrence les populations de vecteurs. Les sources d'inoculum du CABMV sont constituées par les plantes hôtes sauvages du virus et par les graines contaminées provenant de plants infectés par le virus. Malgré le grand nombre de plantes hôtes du virus (Bashir *et al.*, 2002), le rôle des plantes sauvages dans la dissémination primaire ou secondaire du CABMV est peu connu. Comme la plupart des virus à transmission verticale, les graines contaminées par le virus pourraient assurer l'essentiel de la source d'inoculum pour la primo-infection (Johansen *et al.*, 1994). La propagation secondaire de l'infection à partir des premiers plants malades se ferait ensuite à partir des pucerons vecteurs. En fonction des proportions de graines contaminées par le virus dans les lots de semences, l'incidence de la maladie pourrait être ainsi fortement affectée (Ryder, 1973; Dinant et Lot, 1992).

Les interactions entre les variants du CABMV et la transmission du virus par pucerons n'ont pas encore été étudiées. Cependant, la grande distribution géographique des principaux variants du CABMV suggère que les différents variants sont transmis avec efficacité par les pucerons vecteurs. La propagation de la mosaïque du niébé transmise par pucerons serait alors peu influencée par la variabilité du virus.

La propagation du CABMV au champ entre plants malades et plants sains est assurée par les populations de pucerons. Plusieurs espèces de pucerons sont impliqués mais le virus semble être transmis de façon efficiente par chacune d'entre elle (Roberts *et al.*, 1993). Ainsi, des taux de transmission variant entre 64% et 71% ont été rapportés pour *Aphis craccivora* et *A. gossypii* (Bashir et Hampton, 1994). En raison de la reproduction facile des pucerons, plusieurs individus peuvent être impliqués dans la transmission du virus à un même plant, ce qui augmenterait alors les taux de succès.

Les travaux présentés dans ce chapitre ont pour objectif de déterminer le rôle de la contamination des semences de niébé par le CABMV dans le développement des épidémies de mosaïque du niébé transmise par pucerons. La connaissance de ce paramètre épidémiologique est indispensable pour la mise au point d'une stratégie de lutte intégrée contre le CABMV.

1.2. Matériel et méthodes

1.2.1. La recherche des graines contaminées par le CABMV

La recherche de graines contaminées a été faite par la méthode de Konaté et Néya, 1996 qui est une méthode non destructive Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA). Le test a été comme conduit par Clark et Adams, 1977 en apportant de légères modifications à la composition des tampons et en modifiant légèrement les temps d'incubation. Ainsi, un fragment de 60mg environ a été prélevé au scalpel sur chaque graine du côté opposé à l'embryon sans affecter celui-ci et broyé dans 150µl de tampon d'extraction puis testé en ELISA. Un échantillon est considéré comme positif lorsque sa densité optique à 405nm est trois fois supérieure à celle obtenue avec l'extrait du témoin sain. Ainsi, les graines dont les fragments ont répondu positivement au test ont été réunies (220 graines) pour un test. Pour chaque parcelle élémentaire il faut 750 gaines au total. Par une règle de trois, une combinaison a été faite avec des semences indemnes de virus pour obtenir les taux de contamination voulus. Exemple: Pour avoir un taux de contamination de 5% on fait $750/100 \times 5 = 37,5$ soit 38 gaines malades qu'on ajoute aux 712 graines indemnes de virus =750 graines. Les graines saines sont récoltées exclusivement sur des plants sains. Ainsi, il faut 1 graine malade pour avoir un taux de 0,05% ; 2 graines pour 0,25% ; 4 graines pour 0,5% ; 8 graines pour un taux de 1% et 38 graines pour un taux de 5%.

1.2.2. L'étude expérimentale de stimulation des épidémies en station

En station (Kamboinsé), de 2001 à 2004, des lots de semences contaminés par le CABMV à 0%, 0,05%, 0,25% et 0,5% ont été constitués pour les variétés de niébé K VX30–309-6G, K VX414-22-72, Gorom local et Moussa local. D'autres lots de graines contaminées à 0%, 0,25%, 1% et 5% ont également été constitués pour quatre autres variétés: K VX61-1, K VX396-4-5-2D, KN1 et TVX3236.

Pour chaque niveau de contamination, les graines ont été semées sur une parcelle de 200 m² qui a préalablement été labourée puis billonnée après épandage d'engrais coton (NPK 14 : 23 : 14) à la dose de 100kg/ha en trois répétitions soit 96 parcelles élémentaires. Pour chaque répétition, les parcelles sont rangées dans le sens croissant du taux de contamination initiale. La densité était d'une graine par

poquet à raison de 0,20 m entre poquets et 0,80 m entre billons. Aucun traitement insecticide n'a été appliqué pendant la période d'observation.

1.2.3. Les paramètres observés au cours de l'étude

Tous les plants ont été comptés à la germination dans toutes les parcelles élémentaires une semaine après semis. Les plantules malades issues des graines contaminées ont été comptées 10 Jours après semis. Les plants malades ont été dénombrés toutes les semaines à compter du dixième jour après semis jusqu'à 59 jours. La population des pucerons a été évaluée sur chaque parcelle et par plant 30 jours après semis selon l'échelle de Jackai et Singh, (1988) graduée de 0 à 5.

1.2.4. Les analyses statistiques

Les différences entre les incidences (taux d'infection) et l'évaluation des pucerons ont été testées en utilisant le test Z lorsqu'il s'agissait de comparer deux proportions ou le test du chi-carré (χ^2) lorsqu'il s'agissait de plus de deux proportions (Stanton, 1996 ; Zar, 1999). Toutes les analyses statistiques ont été réalisées à l'aide du logiciel STATISTICA version 6.0/2002.

1.3. Les résultats

1.3.1. L'évaluation de la population des pucerons 30 jours après le semis

L'évaluation des populations de pucerons dans les parcelles ensemencées avec les lots de graines correspondants aux différents niveaux de contamination a permis d'obtenir les résultats consignés dans le tableau 12. Les notes indiquant les niveaux de populations de pucerons ont varié entre 2 et 4. L'analyse de variance du nombre moyen de pucerons en 2001 a montré des niveaux de populations similaires dans les parcelles ensemencées avec les variétés de niébé à forte capacité de transmission du CABMV par les graines ($F = 1,21$; $P = 0,35$), 2002 ($F = 0,2$; $P = 0,894$), 2003 ($F = 1,43$; $P = 2,85$), et 2004 ($F = 1,20$ et $P = 0,352$). De même, aucune différence de niveaux de populations de pucerons n'a été mise en évidence pour les variétés du deuxième groupe respectivement en 2001 ($F = 2,81$; $P = 0,085$), 2002 ($F = 1,84$; $P = 0,193$), 2003 ($F = 0,85$; $P = 0,495$) et 2004 ($F = 1,30$; $P = 0,321$). Par ailleurs, les niveaux de pullulations de pucerons dans les parcelles ensemencées avec les deux groupes de variétés ont été semblables quel que soit l'année. Les notes 2 et 4 traduisent une assez importante pullulation d'insectes.

Tableau 12 : Evaluation des populations de pucerons dans les champs, 30 jours après le semis de 2001 à 2004

Variétés de niébé	Taux de contamination des lots de graines au semis (%)															
	2001			2002			2003			2004						
	0	0,05	0,25	0,5	0	0,05	0,25	0,5	0	0,05	0,25	0,5	0	0,05	0,25	0,5
Gorom local	3 ^a	3	2	2	2	3	3	2	4	2	3	3	3	2	3	3
KVX414-22-72	2	3	2	4	3	2	3	2	4	3	4	3	3	2	4	2
KVX30-309-6G	3	3	2	4	3	3	3	2	3	4	3	4	3	3	2	3
Moussa local	3	2	2	3	2	2	3	3	2	3	3	3	3	2	2	4
Moyenne	2,75	2,5	2,25	3,25	2,5	2,5	3	2,25	3,25	3	3,25	3,25	3	1,75	2,75	3
ANOVA ^b	(ns)	(ns)	(ns)	(ns)	(ns)	(ns)	(ns)	(ns)	(ns)	(ns)	(ns)	(ns)	(ns)	(ns)	(ns)	(ns)
<hr/>																
	0	0,25	1	5	0	0,25	1	5	0	0,25	1	5	0	0,25	1	5
KVX61-1	3 ^a	3	2	4	4	3	3	2	4	3	4	3	3	3	2	4
KN1	2	3	2	3	2	3	3	2	3	4	4	4	2	3	3	2
TVX3236	4	3	3	4	3	3	3	4	4	4	3	4	3	4	3	4
KVX396-4-5-2D	4	2	3	4	3	4	4	3	3	3	4	3	4	4	2	3
Moyenne	3,25	2,75	2,5	3,75	3	3,25	3,25	2,75	3,5	3,5	3,75	3,5	3	3,5	2,5	3,25
ANOVA*	(ns)	(ns)	(ns)	(ns)	(ns)	(ns)	(ns)	(ns)	(ns)	(ns)	(ns)	(ns)	(ns)	(ns)	(ns)	(ns)

^ale nombre de pucerons a été estimé en utilisant l'échelle suivante: 0= pas de pucerons; 1=1 à 4 pucerons/plant de niébé; 2= 5 à 20 pucerons/plant; 3= 20 à 100 pucerons/plant; 4=100 à 500 pucerons/plant et 5= plus de 500 pucerons/plant

^bnon significatif au seuil de 5% selon le test de Newman-Keuls

1.3.2. L'effet du taux de contamination des semences sur l'incidence de la maladie 31 et 59 jours après le semis.

Les résultats de l'évaluation de l'incidence de la maladie à 31 jours après le semis (JAS) chez les variétés à forte capacité de transmission du virus par graine sont illustrés par la figure 15 A. On remarque qu' en 2001, l'incidence de la maladie à 31 jours après le semis (JAS) a été en général supérieure à 60% chez ces variétés et qu'au cours des années 2002 et 2003, l'incidence de la maladie à 31 JAS a été inférieure à 10% chez toutes les variétés à fort pouvoir de transmission du virus par les graines. Pour l'année 2004, l'incidence de la maladie à 31 JAS a été généralement supérieure à 50% chez les variétés à fort pouvoir de transmission du virus par les graines excepté le cas de la variété Moussa local. L'analyse de variance n'a pas montré de différence significative entre les divers taux initiaux de contamination des semences ($F = 0,23$; $P=0,874$).

Les résultats de l'évaluation de l'incidence de la maladie à 31 jours après le semis (JAS) chez les quatre variétés à faible pouvoir de transmission du virus par les graines sont regroupés à la figure 15 B. On note que le taux de plants malades est resté en dessous de 15% même avec des taux initiaux de contamination de semences de 5%. Les différences observées au niveau des incidences correspondant aux taux de contamination de 0-1% n'ont pas été significatives. Par contre, le semis de graines contaminées à 5% a conduit à une incidence significativement supérieure ($F= 6,46$; $P<0,03$) à celles issues de l'utilisation des autres lots de graines contaminées.

De même, les résultats des caractéristiques d'infection à 59 JAS chez les variétés ayant une forte aptitude de transmission du virus à la graine sont représentés par la figure 16 A. On voit que les incidences ont fortement augmenté dans tous les cas atteignant 95% à 100% en 2001 et en 2004. En 2002, les incidences ont atteint 80% contre 40% en 2003. Aucune différence n'a pu être mise en évidence entre les incidences correspondant aux divers taux de contamination. Les résultats obtenus chez les variétés à faible aptitude de transmission du virus par les semences à 59 JAS sont résumés par la figure 16 B. On remarque que les incidences ont atteint 49% en 2001 et en 2004. Ces incidences ont atteint 28% en 2002 contre 17% en 2003. Si aucune différence n'a pu être observée quelque soit le taux initial de contamination des semences.

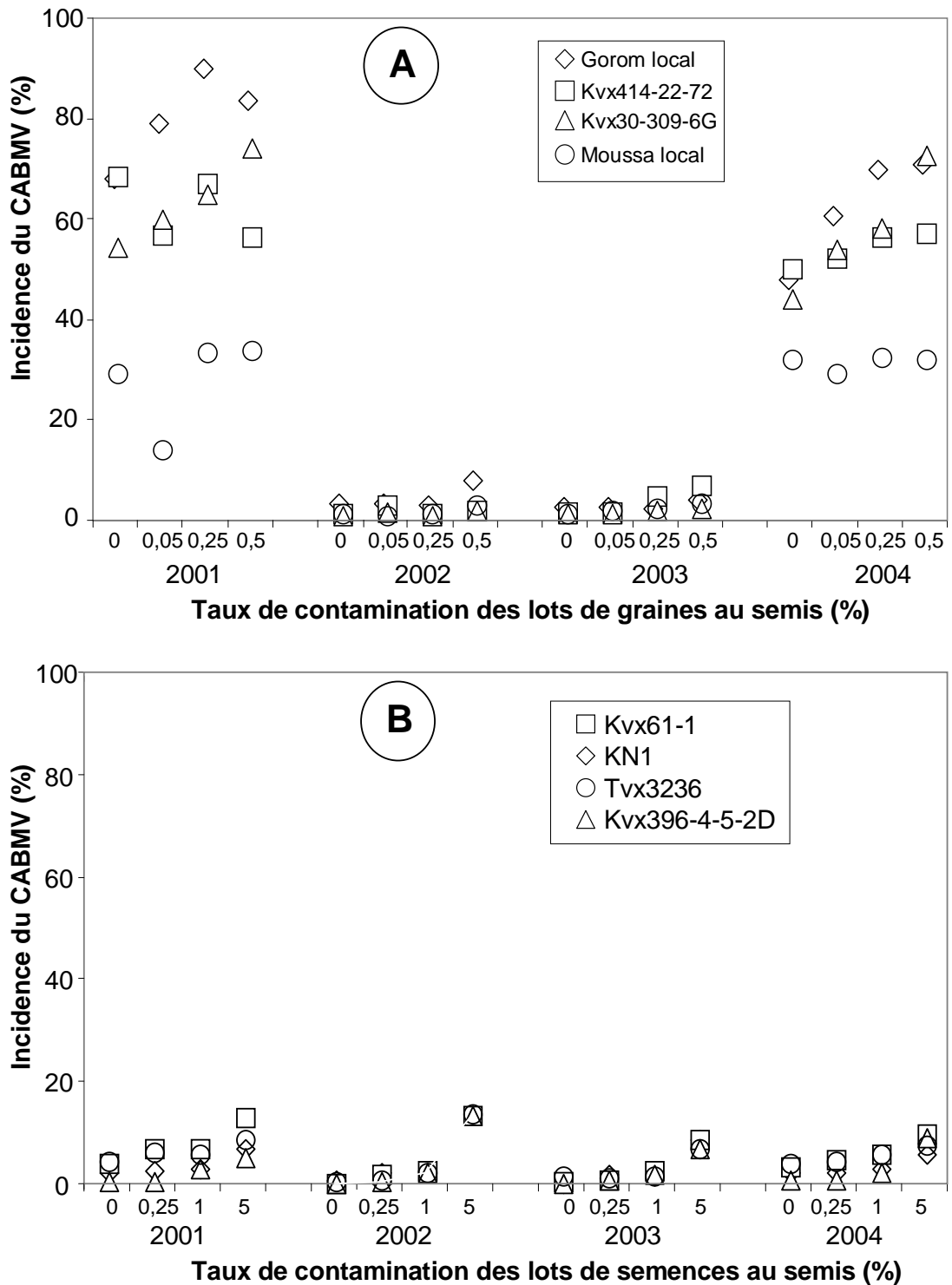


Figure 15. Incidence du CABMV à 31 jours après le semis dans les parcelles ensemencées avec des lots de graines à différents niveaux de contamination par le CABMV pour les variétés de niébé à forte aptitude (A) et à faible aptitude (B) de transmission du virus par graines

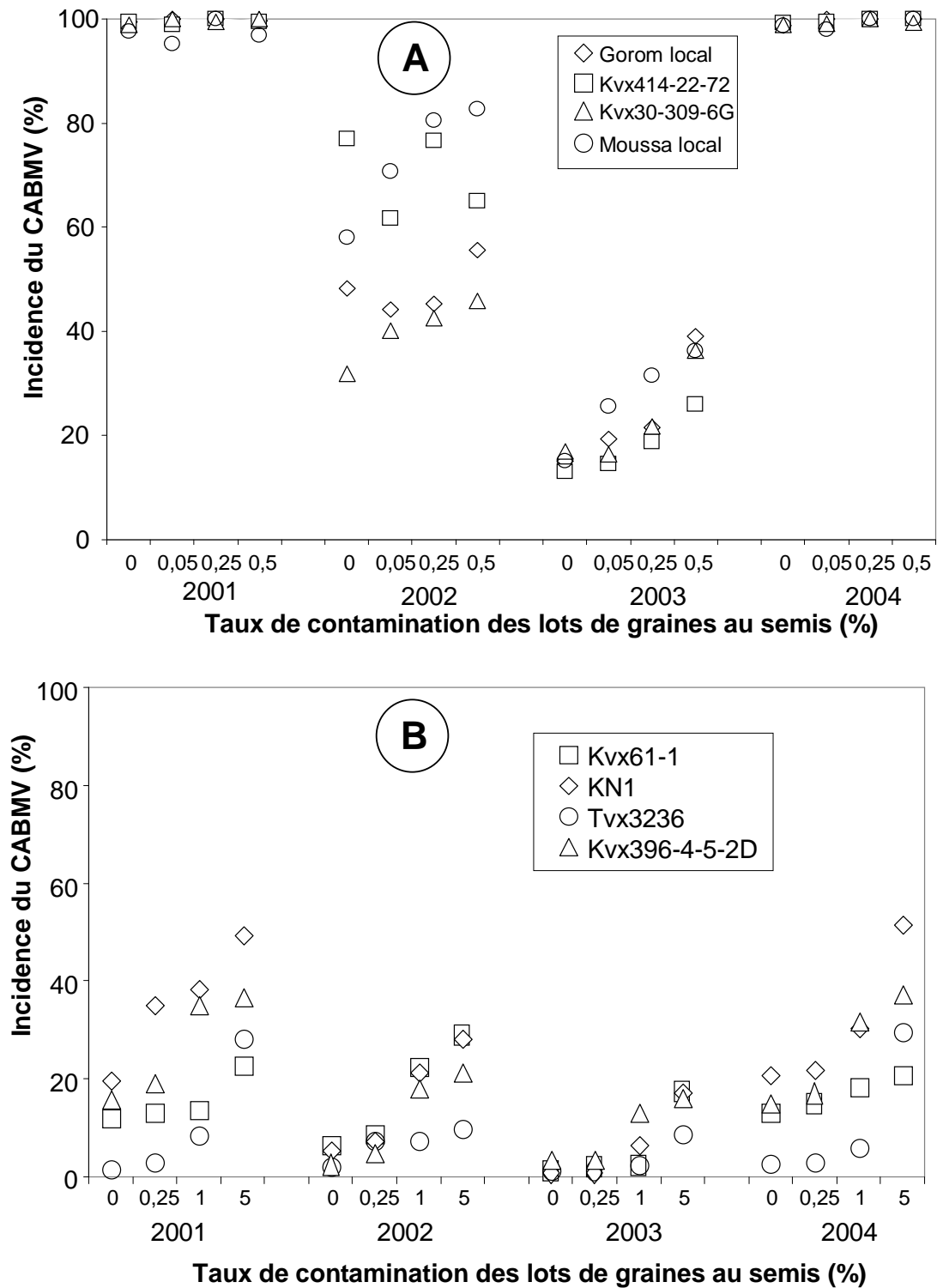


Figure 16. Incidence du CABMV à 59 jours après le semis dans les parcelles ensemencées avec des lots de graines à différents niveaux de contamination par le CABMV pour les variétés de niébé à forte aptitude (A) et à faible aptitude (B) de transmission du virus par graines

L'analyse de variance n'a pas montré de différence significative entre les divers taux initiaux de contamination des semences ($F = 4,23$; $P=0,74$). Chez les quatre variétés à faible pouvoir de transmission du virus par les graines, le taux de plants malades est resté en dessous de 9% même lorsque les semences étaient contaminées à 5%. Cependant, l'incidence dans les parcelles ensemencées avec des semences contaminées à 5% a été significativement supérieure aux cas des autres parcelles ($F=9,89$; $P=0,02$).

1.3.3. L'étude de l'évolution de l'incidence de la maladie dans les parcelles

1.3.3.1. Cinétique de propagation du CABMV à partir de chaque taux initial de contamination des semences chez les variétés à fort pouvoir de transmission du virus par graines

Les résultats de l'étude de propagation du CABMV à partir de semences indemnes de virus chez les variétés à fort pouvoir de transmission du virus par les graines sont représentés par la Figure 17 A. On retient que la propagation de la maladie a été très rapide conduisant dans certains cas à des taux d'infection proches de 100% entre 45 et 52 après semis. Ce type de propagation rapide de la maladie a été particulièrement observé en 2001 et 2004. Des propagations beaucoup plus limitées ont été obtenues en 2002 et 2003 au cours desquelles l'incidence de la maladie à 38 JAS est restée inférieure à 30% et 10%, respectivement. Même à 59 JAS, les incidences maximales ont été de 80% pour 2002 et de 20% pour 2003.

L'évolution de l'incidence du CABMV dans les parcelles ensemencées avec des lots de graines indemnes de virus a été caractérisée par des variations importantes entre années et entre variétés de niébé

Les résultats des incidences obtenus à partir de semences contaminées à 0,05% sont représentés par la figure 17 B. On constate que les incidences enregistrées en 2001 et 2004 ont atteint 100% à 45 jours JAS. En 2002 et 2003, les infections secondaires ont pratiquement commencé 31 jours après les semis. Cependant, malgré le début tardif d'une propagation active de la maladie, l'incidence a atteint 70% en 2002 contre 30% en 2003 à la maturité (59 JAS).

La figure 18 A a regroupé les résultats des incidences issues des semences contaminées à 0,25%. On retient que les incidences à 31 jours après semis ont été

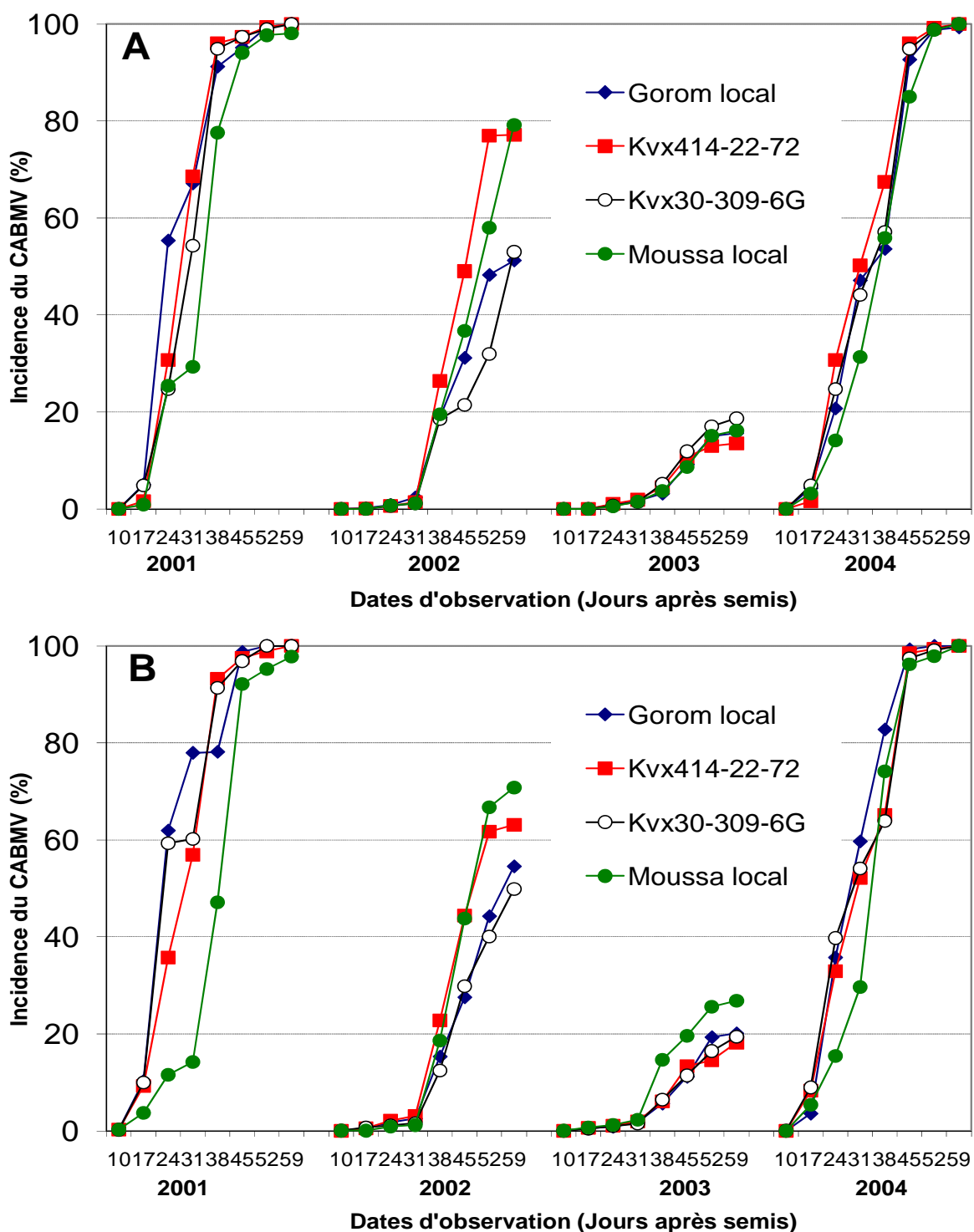


Figure 17. Propagation de la mosaïque du niébé transmise par pucerons de 2001 à 2004 à partir de semences indemnes de virus (A) et de semences contaminées à 0,05% (B) chez les quatre variétés à fort pouvoir de transmission du virus par graines.

supérieures à 60% en 2001 et 2004 à l'exception du cas de la variété Moussa local. Les incidences de 100% ont été atteintes à 38 JAS, plus précocement en comparaison avec les cas d'utilisation de semences indemnes de virus (45-52 JAS) ou contaminées seulement à 0,05% (45 JAS).

En fin, l'utilisation des semences contaminées à 0,5% a conduit aux résultats représentés par la figure 18 A et B. On voit que pendant les années 2001 et 2004, les plants ont été infectés en totalité entre 38 JAS et 45 JAS. En 2002 et 2003 les incidences maximales ont varié de 55 à 90% (2002) et 30 à 40% (2003) selon les variétés. Les infections secondaires très précoces particulièrement en 2001 et 2004 ont été observées. En effet, à 17 JAS, l'incidence de la maladie dépassait six à trente fois les taux d'infection issus des graines contaminées. Or en 2002 et 2003, l'infection n'a commencé à se propager de façon rapide qu'à partir de 31 JAS.

Les valeurs de l'aire sous les courbes de progression de la maladie ou Area Under Disease Progress Curve (AUDPC) sont présentées dans le tableau 13. On note que la progression de la maladie a été particulièrement plus forte en 2001 (AUDPC = 3014,13) et en 2004 (AUDPC = 2887,24) et aucune différence significative n'a été observée entre ces deux années ($P=0,225$). Comparativement à ces deux années, le développement de la maladie a été plus faible ($P<0,001$) en 2002 (AUDPC = 1067,61) et en 2003 (AUDPC = 464,42). Par ailleurs, une différence très hautement significative ($P=0,00011$) a été observée entre 2002 et 2003), le développement de la maladie ayant été très réduit en 2003. L'analyse de variance a révélé que le développement de la maladie a été pratiquement le même chez toutes les variétés ($F=0,137$; $dl=3$; $P=0,94$). De même aucune différence significative n'a pu être mise en évidence entre les différents taux de contamination des semences quant à leur effet sur la propagation de la maladie ($F=0,192$; $dl=3$; $P=0,90$). Par contre, le développement de la maladie a très significativement varié d'une année à l'autre ($F=309,67$; $dl=3$; $P<0,001$).

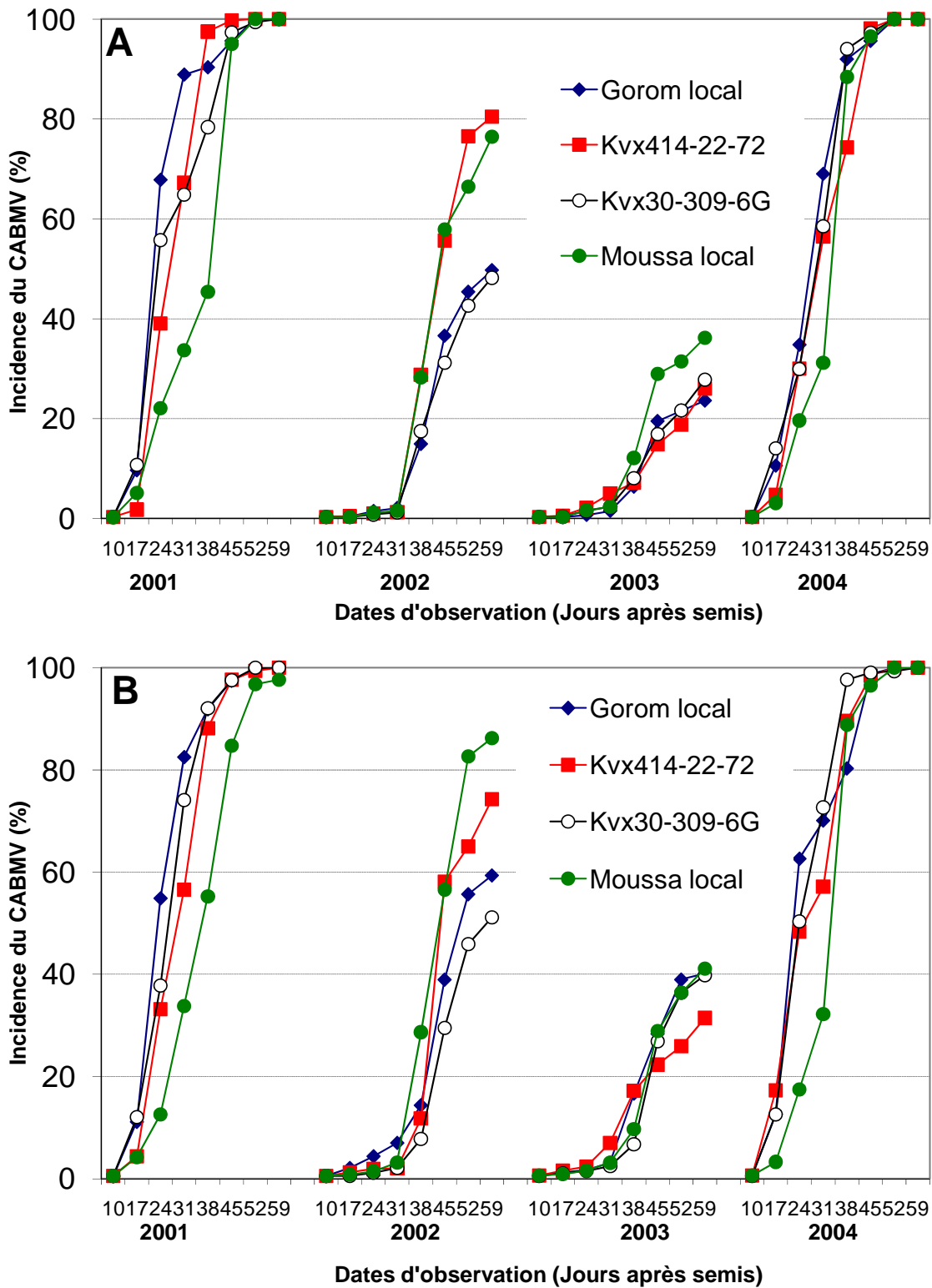


Figure 18. Propagation de la mosaïque du niébé transmise par pucerons de 2001 à 2004 à partir de semences contaminées à 0,25% (A) et 0,5% (B) chez les quatre variétés à fort pouvoir de transmission du virus par graines.

Tableau 13: Valeurs de l'aire sous la courbe de progression de la maladie (AUDPC) chez les quatre variétés à fort pouvoir de transmission du virus par graine

Taux de contamination des semences	Année	Variétés de niébé			
		Gorom local	KVX414-22-72	KVX30-309-6G	Moussa local
0%	2001	3242,26 j *	3106,25 j	2975,49 hi	2618,14 e
	2002	890,37 c	1351,56 b	702,14 d	1090,04 d
	2003	264,18 a	265,51 a	318,19 a	262,78 a
	2004	2567,25gh	2766,75 gh	2622,48 gh	2368,31 f
0,05%	2001	3341,14 j	3093,13 j	3275,52 hi	2192,44 e
	2002	836,82 c	1164,63 b	776,16 d	1167,50 d
	2003	346,85 a	327,53 a	329,32 a	542,75 a
	2004	3018,37gh	2845,89 gh	2893,38 gh	2581,43 gh
0,25%	2001	3516,59 j	3187,07 j	3195,61 hi	2459,43 e
	2002	879,17 c	1427,51 b	824,01 d	1356,50 d
	2003	431,24 a	430,96 a	453,22 a	664,34 a
	2004	3164,12gh	2896,50 gh	3106,29 gh	2722,37 e
0,5%	2001	3414,64 j	3006,50 j	3247,06 hi	2354,91 f
	2002	1067,78 c	1241,94 b	789,32 d	1516,31 d
	2003	772,91 a	646,17 a	665,28 a	709,52 a
	2004	3322,48gh	3227,91 gh	3372,95 gh	2719,36 gh

* Les valeurs suivies des mêmes lettres ne sont pas significativement différentes (P=0,05) selon le test de comparaison multiple de Newman-Keuls.

1.3.3.2. Cinétique de propagation du CABMV à partir de chaque taux initial de contamination des semences chez les variétés à faible pouvoir de transmission du virus par graines

La propagation de la maladie chez les variétés à faible pouvoir de transmission du virus par les graines à partir de semences non contaminées est illustrée à la figure 19 A. Les plus fortes incidences de la maladie observées en fin de culture (59 JAS) ont été d'environ 20%, indiquant ainsi que l'infection a été faible chez les variétés de ce groupe. Chez la variété TVX3236 en particulier, les incidences ont été toutes inférieures à 5% quelle que soit l'année.

Les résultats obtenus avec des semences contaminées par le virus à 0,25% sont illustrés par la figure 19 B. On constate que les incidences maximales atteintes à 59 JAS ont varié entre 10% et 40%. Dans la plupart des cas, seule la variété TVX3236 a été la moins affectée par la maladie. L'effet moindre de la maladie sur cette variété en comparaison avec les autres variétés a été surtout visible au cours des années 2001 et 2004.

Les caractéristiques de propagation de la maladie à partir de semences contaminées à 1% ou 5% ont été quasiment similaires (Figure 19 A et B). Les plus fortes propagations de la maladie ont été enregistrées en 2001 et 2004. Au cours de ces deux années, les incidences maximales atteintes ont été comprises entre 40% et 50% alors qu'elles ont été toutes inférieures à 40% en 2002 et 2003. Par ailleurs, les infections secondaires sont généralement survenues de façon marquée à partir de 17 JAS en 2001 et 2004.

Les valeurs de l'aire sous les courbes de progression de la maladie (AUDPC) sont présentées dans le tableau 14. Les valeurs moyennes de l'AUDPC obtenues à partir des différents taux de contamination ont été les suivantes : 143,19 pour le taux de 0%, 216,18 pour 0,25%, 360,24 pour 1% et 712,95 pour le taux de 5%. A l'exception des taux de 0% et 0,25% qui ont conduit à des développements similaires de la maladie ($P=0,302$), tous les autres taux ont été à l'origine de progressions significativement différentes de la maladie. L'effet de l'année ainsi que celui du taux de contamination de semences déjà perceptibles à travers l'observation des cinétiques de progression de la maladie ont été mis en évidence à l'aide du calcul des valeurs de l'AUDPC. En effet, l'analyse de ces valeurs a montré que le développement de la maladie a très significativement varié en fonction des années

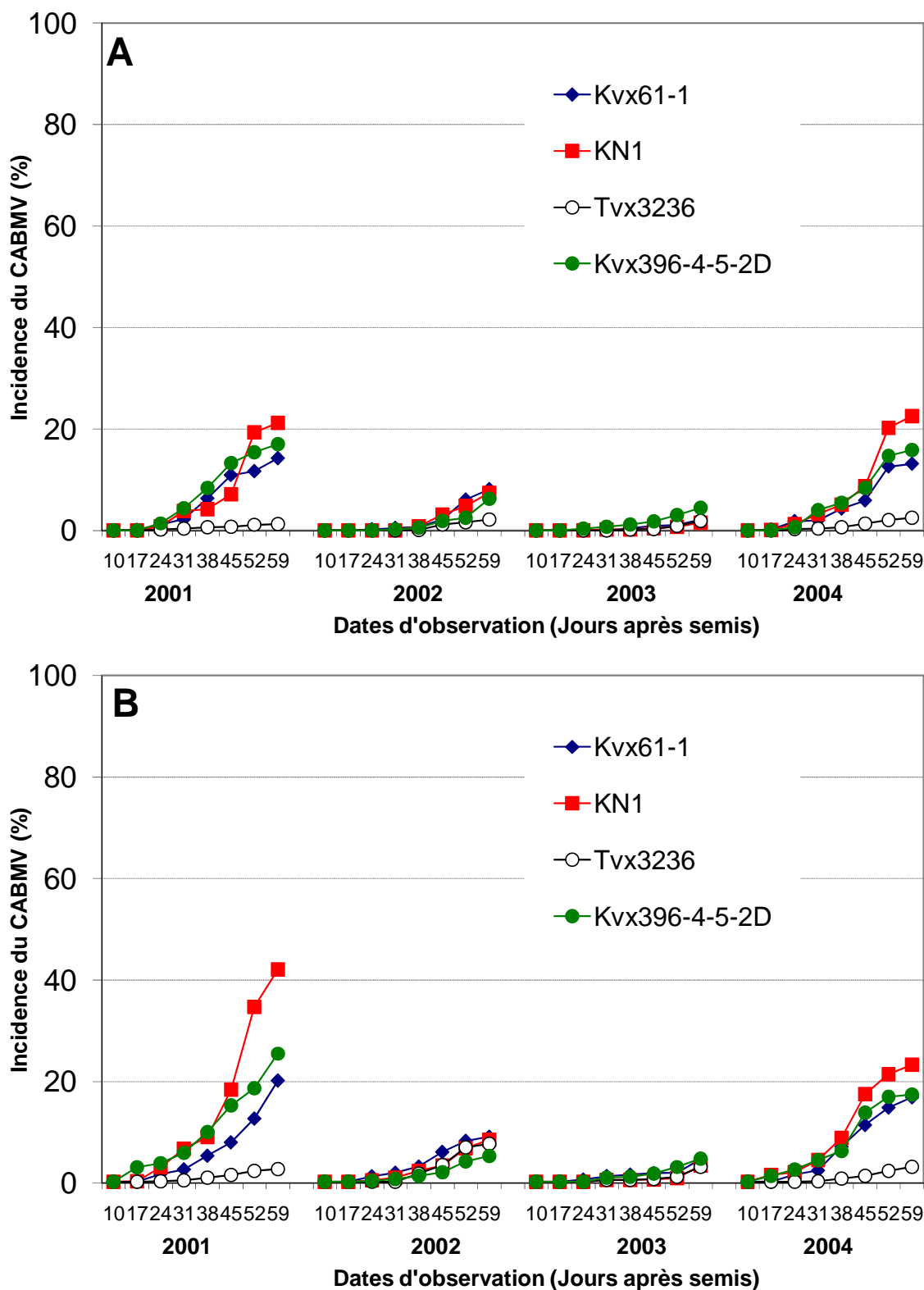


Figure 19. Propagation de la mosaïque du niébé transmise par pucerons de 2001 à 2004 à partir de semences indemnes de virus (A) et de semences contaminées à 0,25% (B) chez les quatre variétés à faible pouvoir de transmission du virus par graines.

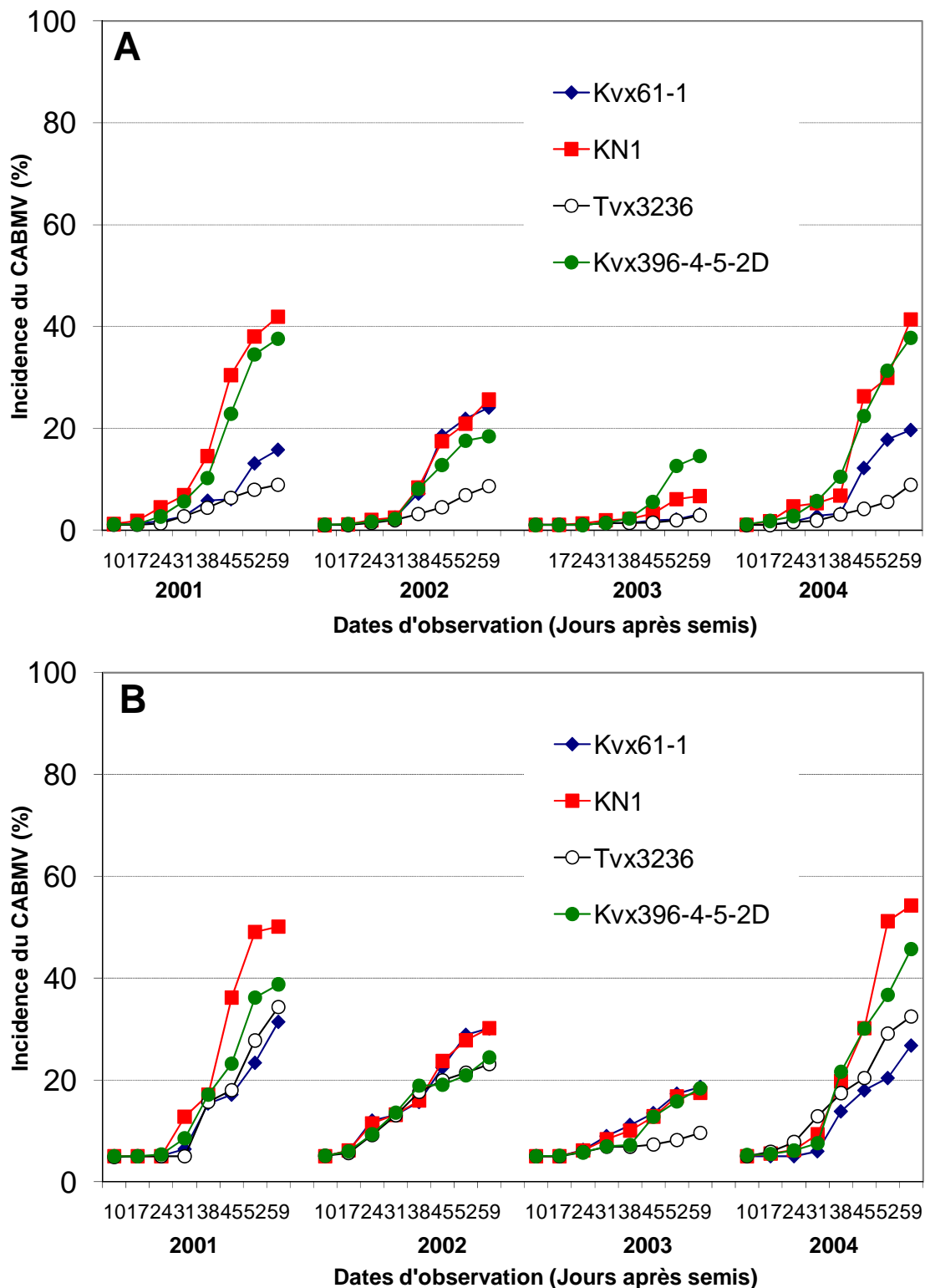


Figure 20 : Propagation de la mosaïque du niébé transmise par pucerons de 2001 à 2004 à partir de semences contaminées à 1% (A) et 5% (B) chez les quatre variétés à faible pouvoir de transmission du virus par graines.

Tableau 14: Valeurs de l'aire sous la courbe de progression de la maladie (AUDPC) chez les variétés à faible pouvoir de transmission du virus par graine

Taux de contamination des semences		Variétés de niébé			
	Année	KVX61-1	KN1	TVX3236	KVX396-4-5-2D
0%	2001	276,61 bc *	322,07 cde	26,22 a	360,01 cde
	2002	95,76 a	87,78 a	28,00 a	58,36 a
	2003	24,92 a	16,56 a	16,17 a	65,135 a
	2004	233,94 bc	349,93 cde	42,00 a	287,63 bc
0,25%	2001	287,11 bc	654,82 e	54,39 a	488,78 de
	2002	181,62 b	132,51 b	120,23 b	84,49 a
	2003	72,98 a	37,24 a	38,40 a	72,07 a
	2004	325,05 cde	474,88 de	51,73 a	382,59 cde
1%	2001	275,45 bc	823,66 f	200,62 bc	674,63 e
	2002	457,35 de	458,40 de	166,46 b	372,44 cde
	2003	76,44 a	137,46 b	72,10 a	221,31 bc
	2004	343,32 cde	671,48 e	155,51 b	657,23 e
5%	2001	634,48 e	1068,20 f	672,21e	821,70 f
	2002	810,60 f	810,67 f	706,86 f	717,22 f
	2003	517,72 e	492,28 de	331,70 cde	457,03 de
	2004	588,28 e	1062,71 f	785,89 f	930,97 f

*Les valeurs suivies des mêmes lettres ne sont pas significativement différentes (P=0,05) selon le test de comparaison multiple de Newman-Keuls.

($F=4,49$; $dl = 3$; $P=0,0066$). En particulier, la progression de la maladie a été très faible en 2003 (AUDPC = 165,55) comparé au cas de 2001 (AUDPC = 477,52), 2002 (AUDPC = 330,54) et 2004 (AUDPC = 458,94). Le taux de contamination des semences a très fortement influencé le développement de la maladie ($F=26,09$, $dl=3$; $P<0,0001$).

L'analyse de la relation entre le taux de contamination des semences et l'incidence de la maladie correspondant a permis d'obtenir les résultats consignés dans le tableau 15. On remarque que chez les variétés à fort pouvoir de transmission du CABMV par les graines, les corrélations entre les deux facteurs ont été significatives pour les variétés Gorom local et KVX414-22-72. Cela indique que l'utilisation de semences contaminées favorise le développement de la maladie. Chez les variétés KVX30-309-6G et Moussa local aucune relation significative et taux de contamination des semences par le virus et l'incidence la maladie n'a été mise en évidence.

Pour les variétés à faible pouvoir de transmission du CABMV par graines, les coefficients de corrélations ont tous été significatifs. L'effet du taux de contamination des semences a été le plus significatif chez les variétés TVX3236 et KVX 61-1.

Tableau 15. Corrélations entre le taux de contamination des semences par le CABMV et l'incidence moyenne de la maladie de 2001 à 2004.

Variété de niébé	r	P ^a
Gorom local	0,97	0,033*
KVX414-22-72	0,99	0,015*
KVX30-309-6G	0,9	0,101 (ns)
Moussa local	0,85	0,15 (ns)
KVX61-1	0,998	0,001***
KN1	0,96	0,036*
TVX3236	0,99	0,00001***
KVX396-4-5-2D	0,986	0,014*

^aProbabilité associée au coefficient de corrélation r ; ns: non significatif; * : significatif; ** : hautement significatif; *** : très hautement significatif

3.4. Discussion

La résistance aux pucerons a été signalée chez différentes variétés de niébé à l'exemple de TVu 801, TVu 3000, et TVu 36 ou de fève à cheval (*Vicia faba*) (Nkansah-Poku et Hodgson, 1995 ; Laamari *et al.*, 2008). La résistance observée a été attribuée au type antibiose au cours duquel les plantes empêchent le développement de l'insecte et en réduisent ainsi les populations. Au cours de cette étude, l'observation de populations similaires de pucerons chez l'ensemble des variétés de niébé suggère que ces variétés ne sont pas résistantes aux aphides.

L'évaluation des populations de pucerons à 30 JAS a montré des niveaux élevés de pullulation. Hormis les dégâts directs sur les plants, ce niveau important de pullulation peut être à l'origine d'épidémies causées par le CABMV. Les recommandations courantes de protection phytosanitaire du niébé préconisent des traitements insecticides à 35 JAS (Ouedraogo *et al.*, 2008). Au regard des niveaux de populations de pucerons déjà atteints à 30 JAS, ce délai apparaît trop tardif. Il est donc nécessaire d'effectuer les traitements insecticides de façon plus précoce afin de maintenir les populations d'insectes à un niveau bas. Par ailleurs les fortes pullulations de pucerons sur les plants de niébé sur l'ensemble de la période d'étude indiquent que les populations de vecteurs constituent un facteur permanent de risque d'épidémie de mosaïque du niébé transmise par pucerons.

Le niveau élevé de pullulation des pucerons vecteurs s'est reflété sur l'incidence de la maladie de la mosaïque du niébé évalué à 31 JAS. Des incidences élevées ont ainsi été obtenues en 2001 et 2004 chez les variétés de niébé à fort pouvoir de transmission du CABMV par graines. Cela traduit l'importance des transmissions secondaires en raison du fait que les taux d'infection primaires (taux de contamination des graines au semis) ne dépassaient pas 0,5%. En réalité, le virus ayant un temps d'incubation de 10 à 14 jours dans les plants de niébé (Kitajima *et al.*, 2008), les populations de pucerons étaient déjà importantes trois semaines après le semis pour assurer des épidémies à 31 JAS. En somme, l'importance des épidémies à 31 JAS confirme la nécessité d'appliquer des mesures de contrôle avant cette date afin de limiter la propagation de la maladie.

Les courbes de progression des maladies ont été considérées par certains auteurs comme étant des signatures pour les épidémies (Campbell et Madden, 1990). L'analyse de telles courbes a permis de comprendre les caractéristiques

épidémiologiques de nombreuses maladies chez l'homme, les animaux et les plantes (Van der Planck, 1963 ; Zaddock et Schein, 1979). Deux principaux modèles de progression des maladies ont été décrits en relation avec les cycles d'infection: le modèle monocyclique et le modèle polycyclique. Dans le modèle monocyclique, la maladie résulte d'un seul cycle d'infection (Zaddock et Schein, 1979). Au cours d'une même saison, la maladie se développe seulement à partir d'un inoculum primaire. A l'inverse, le modèle polycyclique implique un développement de la maladie cycle après cycle. L'inoculum produit à la fin d'un cycle est réutilisé pour le développement de la maladie au cours du cycle suivant. Ainsi, la progression de la maladie au cours de la saison est souvent beaucoup plus importante à cause de la production d'inoculum secondaire.

L'allure sigmoïde (forme en S) des courbes de progression de la mosaïque du niébé transmise par pucerons indique la nature polycyclique de la maladie. En effet, les premières infections résultent des transmissions du CABMV à partir d'inoculum primaire constitué essentiellement des semences contaminées. Les plants infectés issues de ces infections sont utilisés comme source d'inoculum secondaire pour la propagation de la maladie. L'importance du développement de la maladie dépend alors de plusieurs paramètres dont la quantité d'inoculum disponible, des populations et de l'activité du vecteur, etc.

L'implication de plusieurs paramètres dans le développement des maladies particulièrement de celles de type polycyclique rend difficile la quantification des infections. La détermination de l'aire sous la courbe de progression de la maladie (AUDPC) (Shaner et Finney, 1977) a permis d'obtenir un important descripteur permettant de résumer la courbe de progression. Ce descripteur prend en compte la variation dans le temps de l'installation de la maladie, du taux d'accroissement de la maladie, de l'incidence finale (Campbell et Madden, 1990). Il permet aussi de faire des comparaisons quantitatives des épidémies. Au regard de son importance en épidémiologie, plusieurs travaux récents ont été conduits afin de simplifier son calcul (Jeger et Viljanen-Rollinson, 2001 ; Mukherjee *et al.*, 2009). Ainsi, le calcul de l'AUDPC peut se faire à partir seulement de deux couples de données incidence-temps, ce qui est moins fastidieux et permet un gain considérable de temps.

L'utilisation de l'AUDPC a permis de comparer les effets du taux de contamination des semences et de l'année de culture sur le développement de la mosaïque du niébé transmise par pucerons. L'importance des épidémies causées

par le CABMV a été variable en fonction des années. Ainsi, 2001 et 2004 ont été des années de fortes infections tandis qu'à l'inverse, les infections ont été relativement faibles en 2002 et 2003. Ce caractère erratique des épidémies de mosaïque du niébé transmise par pucerons a aussi été rapporté dans plusieurs cas d'infections à virus chez les plantes (Efron *et al.*, 1989 ; Matthews, 1991), les animaux (Bicout et Artois, 2005) ou l'homme (Beveridge, 1991 ; Ferrari *et al.*, 2008). Il apparaît alors difficile d'appliquer certaines mesures de lutte prophylactiques si les épidémies ne sont pas prévisibles. Pour certaines maladies d'importance économique ou de santé publique, des modèles épidémiologiques ont été élaborés (Watson *et al.*, 1975). Lorsqu'ils sont fiables, ces modèles constituent des outils précieux de décision pour la gestion des maladies. Leur élaboration est cependant fastidieuse car la fiabilité des modèles nécessite la collecte de données épidémiologiques sur de nombreuses années.

Indépendamment des variations entre années, l'utilisation de deux groupes de variétés de niébé (variétés à fort pouvoir et variétés à faible pouvoir de transmission du CABMV par les graines) a eu un effet très marqué sur l'incidence de la maladie. Les taux d'infection chez les variétés du premier groupe ont toujours été largement supérieurs aux cas des variétés du second groupe même lorsque chez ces dernières les proportions de graines contaminées utilisées comme semences étaient dix fois plus élevées. Certains auteurs ont montré que la forte ou faible capacité des espèces de plantes à transmettre les virus par les graines ne permet pas nécessairement de juger de l'importance épidémiologique de la transmissibilité des virus par graine (Johansen *et al.*, 1994). Une faible transmission de virus par graine peut être compensée par une efficiente transmission par vecteur et conduire à des épidémies dévastatrices (Dinant et Lot, 1992). A l'inverse de ces auteurs, nos résultats indiquent l'existence d'une certaine corrélation entre la capacité des variétés de niébé à transmettre le virus par les semences et les risques de survenue d'épidémies importantes.

Du fait que les variétés de niébé à faible pouvoir de transmission du CABMV par les graines aient été trouvées sensibles à l'inoculation mécanique du virus (Tignégré, 2002), leur comportement pourrait s'expliquer par une résistance à la transmission du CABMV par les pucerons au champ. Bien qu'apparemment rare, ce type de résistance a été identifié chez certaines variétés de niébé (Ladipo et Allen, 1979 ; Cissé *et al.*, 1997).

En définitive, les résultats acquis dans ce chapitre indiquent que la présence de graines contaminées par le CABMV dans les lots de semences peut être à l'origine de fortes épidémies notamment chez les variétés de niébé à fort pouvoir de transmission du virus par les graines. L'utilisation de semences indemnes de virus ou peu contaminées est alors un paramètre important dans le contrôle des épidémies de la mosaïque du niébé transmise par pucerons. L'usage de semences de bonne qualité phytosanitaire a été l'une des plus anciennes méthodes de lutte contre les virus de plantes (Grogan *et al.*, 1952 ; Zink *et al.*, 1956). Si cette technique culturale est précieuse pour la lutte contre le CABMV, elle présente cependant des limites dans certains cas. En effet au cours des années de très fortes épidémies comme 2001 et 2004, l'utilisation de semences indemnes de virus n'a pas suffi à maintenir les taux d'infection à un niveau bas (figure 13). L'adjonction d'autres paramètres comme le choix des semences à faible capacité de transmission du virus par les graines a été d'un apport très hautement significatif dans la gestion de la maladie. Cependant, même avec ces variétés, des taux d'infection non négligeables (environ 20%) ont été obtenus. Cela indique la nécessité de prendre en compte des paramètres additionnels agissant sur le développement des épidémies de mosaïque du niébé transmise par pucerons.

CHAPITRE 2 :

**EFFET DES ZONES AGRO
ECOLOGIQUES SUR LA
PROPAGATION DU CABMV**

2.1. Introduction

Les résultats du chapitre précédent ont indiqué que le développement des épidémies de mosaïque du niébé causé par le CABMV résultait de l'action de plusieurs paramètres. Parmi ces paramètres, la qualité phytosanitaire des semences et la variété de niébé tiennent une place importante, respectivement comme source d'inoculum primaire et facteur favorisant ou freinant la propagation de la maladie. Cependant, ils ne permettent pas à eux seuls de comprendre de façon satisfaisante comment les épidémies se développent. L'implication d'autres facteurs agissant sur le cours des épidémies a été évoquée.

Le niébé est largement cultivé dans toutes les régions du Burkina Faso. Or, le pays présente des conditions environnementales contrastées selon un axe nord-sud. Ces conditions sont ainsi à l'origine de trois principales zones agro écologiques: la zone sahélienne au nord (pluviométrie annuelle de moins de 600 mm), la zone soudanienne centre (600 à 900 mm de pluies par an) et la zone nord guinéenne au sud (plus de 1100 mm de pluies par an). L'existence de ces zones a une grande influence sur les systèmes de production du niébé. Ainsi, pour un groupe de variétés à cycles comparables, les cultures doivent être mis en place d'autant plus tôt que la pluviométrie est faible (Ouédraogo *et al.*, 2008).

Comme pour les conditions de culture du niébé, les contrastes agro écologiques peuvent aussi avoir une influence notable sur le développement des maladies virales qu'elles soient d'origine animales (Bhattacharya *et al.*, 2005; Verma *et al.*, 2008) ou végétales (Atiri *et al.*, 2000; Konaté et Traoré, 1992). En effet, la pluviométrie, la température et les vents ont été signalés comme les trois principaux facteurs climatiques agissant sur le cours des épidémies virales à travers leurs effets à différents niveaux (Atiri *et al.*, 2000) : le déclenchement des maladies, le niveau de population, l'activité et la migration des vecteurs, l'état de développement des cultures et la disponibilité des sources d'inoculum sauvages. Dans le cas particulier du virus de la mosaïque du soja (SMV), un virus proche du CABMV, Irwin et Ruesink (1986) ont montré que les conditions climatiques ont une action déterminante sur l'importance des populations de pucerons ainsi que les caractéristiques de vols des insectes et en définitive, sur la dissémination du SMV.

L'objectif principal des travaux résumés dans ce chapitre était d'étudier l'influence des zones agro écologiques sur le développement de la mosaïque du niébé causée par le CABMV. L'incidence et les caractéristiques de propagation de la maladie ont été déterminées dans chacune des trois zones agro écologiques du Burkina Faso en tenant compte de l'effet variétal observé au chapitre 3. Ainsi, une variété de niébé à forte aptitude de transmission du CABMV par les graines et une variété à faible aptitude ont été utilisées en combinaison avec différents taux de contamination des semences. La connaissance des caractéristiques épidémiologiques plus affinées en relation avec les zones agro écologiques devraient permettre la mise en place de meilleurs moyens de lutte contre la mosaïque du niébé causée par le CABMV.

2.2. Matériel et méthodes

2.2.1. Etude du développement des épidémies à Somnawaye, Sapouy (zone soudanienne) et Niangoloko (zone nord guinéenne)

La recherche des graines contaminées a été décrite par la méthode décrite plus haut à la page 75 du chapitre précédant.

Deux variétés de niébé ont été choisies pour l'expérimentation pendant trois ans 2002 à 2004: Gorom local représentant le groupe des variétés sensibles (Tignégré, 2000 ; Néya, 2002) avec quatre niveaux de contamination des semences (0% ; 0,05% ; 0,25% et 0,5%) et Kvx61-1 représentant celui des variétés tolérantes ou résistantes (Tignégré, 2000 ; Néya, 2002) avec quatre niveaux de contamination (0% ; 0,25% ; 1 et 5%).

Chaque niveau est semé sur une parcelle de 200m² labourée puis billonnée après épandage d'engrais coton (NPK 14 : 23 : 14) à la dose de 100kg/ha en trois répétitions soit 24 par zone. Les parcelles sont isolées les unes des autres d'au moins 50m. La densité était d'une graine par poquet à raison de 0,20 m entre poquets et 0,80 m entre billons. Aucun traitement insecticide n'a été appliqué pendant la période d'observation.

2.2.2. Les paramètres observés au cours de l'étude

Le nombre de plants par parcelle élémentaire est compté à la germination. Les plantules malades issues des graines contaminées ont été comptées 10 Jours après semis. Les plants malades ont été dénombrés toutes les semaines à compter du dixième jour après semis jusqu'à 59 jours. La population des pucerons a été

évaluée sur chaque parcelle et par plant 30 jours après semis selon l'échelle de Jackai et Singh, (1988) graduée de 0 à 5.

2.2.3. Les analyses statistiques

Les différences entre les incidences (taux d'infection) et l'évaluation des pucerons ont été testées en utilisant le test Z lorsqu'il s'agissait de comparer deux proportions ou le test du chi-carré (χ^2) lorsqu'il s'agissait de plus de deux proportions (Stanton, 1996 ; Zar, 1999). Toutes les analyses statistiques ont été réalisées à l'aide du logiciel STATISTICA version 6.0/2002.

2.3. Les résultats

2.3.1. L'évaluation de la population des pucerons 30 jours après le semis

Les résultats de l'évaluation des populations de pucerons vecteurs dans les différentes localités sont regroupés dans les tableaux 16 et 17. Ces résultats montrent que l'ensemble des trois années d'expérimentation a été marqué par des pullulations de pucerons assez importantes. En effet, les notes de comptage ont été en général de 3 et 4 (20 à 500 insectes par plant de niébé). L'analyse de variance a montré que les pullulations de pucerons dans les parcelles de Gorom local ont été plus ou moins fortes selon les localités ($F= 10,95$; $P= 0,0003$). En particulier les populations de vecteurs ont été plus fortes à Niangoloko par rapport à Somnawaye ($P= 0, 005$) et Sapouy ($P= 0,006$). Par contre des niveaux similaires de pullulations ont été enregistrés à Somnawaye et Sapouy ($P= 0,70$). Par ailleurs l'analyse de variance a également mis en évidence un effet année. Il ressort ainsi que les populations d'insectes dans les parcelles de Gorom local ont été significativement plus importantes en 2004 ($F= 0,007$). Aucune différence significative n'a été observée entre les années 2002 et 2003.

Comme dans les parcelles de Gorom local, les populations de pucerons sur les plants de K VX 61-1 ont été significativement plus importantes à Niangoloko ($P < 0,001$) par rapport aux deux autres localités. Par contre, aucun effet temporel n'a été mis en évidence, ce qui indique des niveaux de populations similaires dans les parcelles de K VX 61-1 au cours des trois années d'expérimentation.

Tableau 16 : Evaluation des populations de pucerons sur les plants de Gorom local, 30 jours après le semis dans les différentes localités

Localités	Taux de contamination des graines au semis (%)											
	2002				2003				2004			
	0	0,05	0,25	0,5	0	0,05	0,25	0,5	0	0,05	0,25	0,5
Somnawaye	3 ^a	2	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
Sapouy	3	2	2	2	3	3	2	3	3	4	3	4
Niangoloko	4	3	3	3	3	4	4	3	4	4	4	4

^ale nombre de pucerons a été estimé en utilisant l'échelle suivante: 0= pas de pucerons; 1=1 à 4 pucerons/plant de niébé; 2= 5 à 20 pucerons/plant; 3= 21 à 100 pucerons/plant; 4=101 à 500 pucerons/plant et 5= plus de 500 pucerons/plant

Tableau 17 : Evaluation des populations de pucerons sur les plants de KVX 61-1, 30 jours après le semis dans les différentes localités

Localités	Taux de contamination des graines au semis (%)											
	2002				2003				2004			
	0	0,25	1	5	0	0,25	1	5	0	0,25	1	5
Somnawaye	3 ^a	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
Sapouy	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	4
Niangoloko	4	4	4	3	3	3	4	4	4	4	4	4

^ale nombre de pucerons a été estimé en utilisant l'échelle suivante: 0= pas de pucerons; 1=1 à 4 pucerons/plant de niébé; 2= 5 à 20 pucerons/plant; 3= 21 à 100 pucerons/plant; 4=101 à 500 pucerons/plant et 5= plus de 500 pucerons/plant

2.3.2. L'incidence du CABMV à 31 et 59 jours après le semis selon les taux de contamination initiale des semences

Les résultats de l'évaluation de l'incidence du CABMV chez la variété de niébé Gorom local dans les trois localités représentant les zones agro climatiques du pays sont illustrés à la figure 21. Il ressort que les niveaux d'infection ont été toujours plus élevés à Niangoloko (41,8% et 92,7%, respectivement à 31 JAS et 59 JAS) et à Sapouy (28,3% et 73,1%) par rapport à la localité de Somnawaye (19,3% et 59,1%). L'analyse de variance a révélé qu'en moyenne, l'incidence du CABMV a significativement varié en fonction des localités aussi bien à 31 JAS ($F=3,91$; $ddl = 2$; $P=0,032$) qu'à 59 JAS ($F=4,65$; $ddl = 2$; $P=0,0183$). Par contre, les différences d'incidence entre Sapouy et Niangoloko n'ont pas été significatives à 31 JAS ($P = 0,133$) et à 59 JAS ($P= 0, 071$).

En plus de l'effet de la localité, l'analyse des résultats a aussi montré que l'incidence du CABMV à 31 JAS a significativement varié d'une année à l'autre ($F= 5,74$; $ddl= 2$; $P= 0,0084$). Ainsi, l'incidence moyenne du CABMV en 2004 (60,9%) a été largement supérieure à celles de 2002 et de 2003 ($P<0,001$). Par contre, aucune différence significative n'a été observée ($P= 0,54$) entre les incidences moyennes en 2002 (15,8%) et 2003 (12,6%). Cette influence de l'année a aussi été mis en évidence à 59 JAS ($F= 5,65$; $ddl= 2$; $P= 0,0091$). A cette date, les plus fortes incidences moyennes ont été enregistrées en 2004 (85,2%) et 2002 (83,7%) alors qu'une incidence nettement inférieure (56%; $P<0,03$) a été obtenue en 2003.

Les résultats de l'évaluation des incidences chez la variété KVX61-1, sont illustrés par la figure 22. On constate qu'à 31 JAS, l'incidence moyenne à Niangoloko (8,3%) a été supérieure aux incidences obtenues à Sapouy ($P = 0,009$) et à Somnawaye ($P = 0,016$). Par ailleurs l'incidence moyenne à Sapouy (4,8%) a également été plus élevée ($P = 0,02$) que celle de Somnawaye (2,7%). A 59 JAS, l'incidence à Niangoloko a atteint 36,6%, un niveau significativement plus élevé ($P = 0,002$) que celui atteint à Sapouy (15%) ou à Somnawaye (11,19%).

Ces incidences ont été largement inférieures à celles obtenues chez Gorom local. Par contre, comme observé chez Gorom local, elles ont significativement varié d'une localité à l'autre ($F= 11,1$; $ddl = 2$; $P<0,01$) ou d'une année à l'autre ($F=4,99$; $ddl = 2$; $P= 0,013$) (Figure 22).

L'influence des années sur les variations de l'incidence du CABMV a été

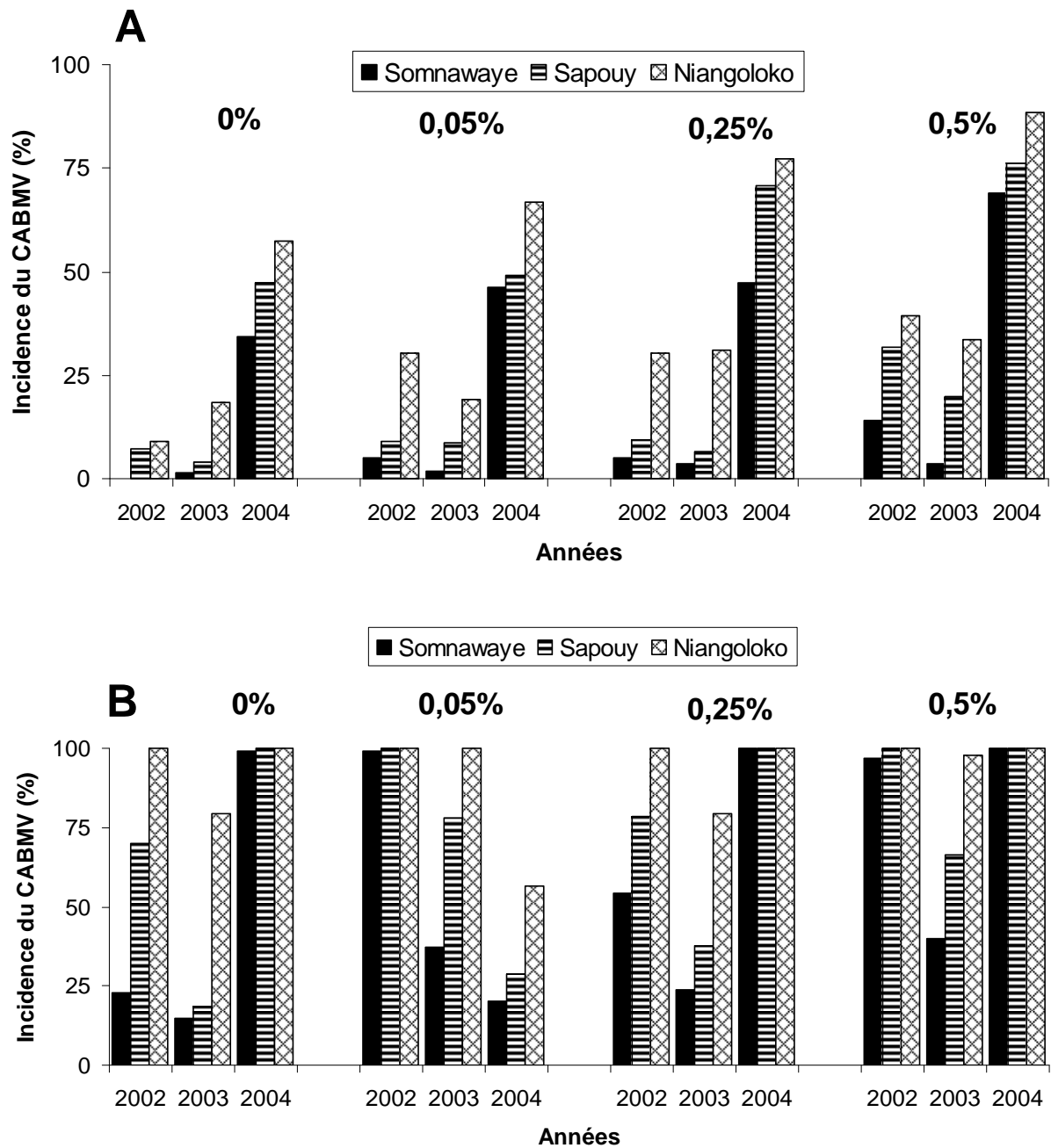


Figure 21 : Incidence du CABMV chez la variété de niébé Gorom local dans trois localités à 31 jours après le semis (A) et 59 jours après le semis (B). L'incidence a été évaluée pendant trois ans dans des parcelles ensemencées avec des graines indemnes de virus (0%) ou contaminées à différents niveaux (0,05%, 0,25% et 0,5%).

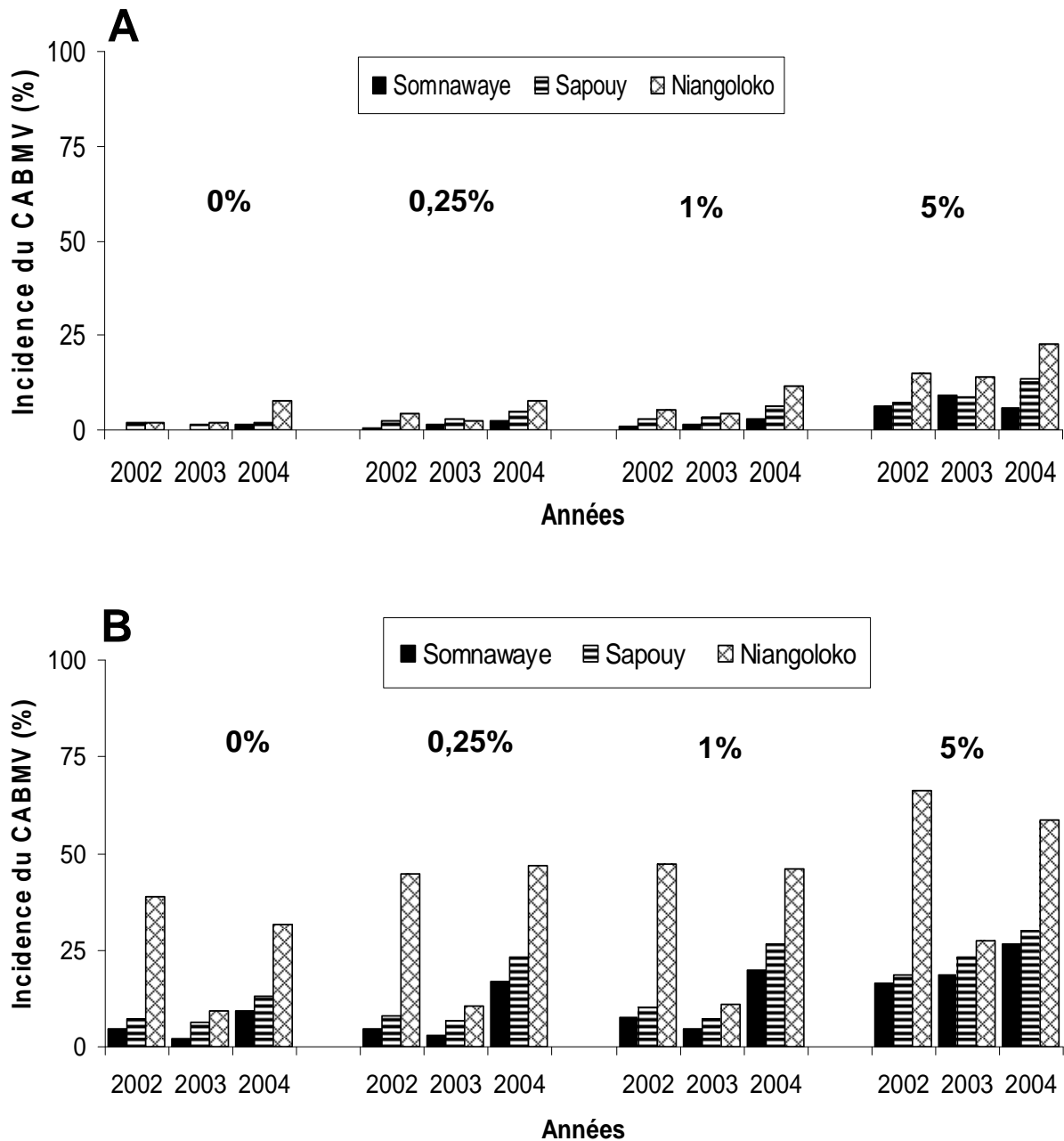


Figure 22 : Incidence du CABMV chez la variété de niébé K VX 61-1 dans trois localités à 31 jours après le semis (A) et 59 jours après le semis (B). L'incidence a été évaluée pendant trois ans dans des parcelles ensemencées avec des graines indemnes de virus (0%) ou contaminées à différents niveaux (0,05%, 0,25% et 0,5%).

moins marquée chez K VX61-1, les différences interannuelles n'ayant été significatives qu'à la date d'observation de 59 JAS ($F = 4,99$; $ddl = 2$; $P = 0,013$). En particulier, les incidences moyennes de 22,8% et 29,1% respectivement en 2002 et 2004 ont été largement supérieures à celle de 2003 (10,9%).

Les résultats de l'évaluation des incidences selon le taux de contamination initiale des semences sont regroupés dans le tableau 18. On retient que l'utilisation de différents taux de contamination des semences par le CABMV a aussi eu un effet marqué sur les niveaux d'infection chez chacune des deux variétés de niébé. En effet, chez la variété K VX61-1, l'incidence du CABMV a augmenté proportionnellement au taux initial de contamination des semences par le virus dans toutes les localités. Chez la variété Gorom local, des corrélations moins fortes mais significatives ont été mises en évidence entre les deux paramètres. Cependant, l'effet du taux de contamination des semences sur l'incidence a été complètement masqué par les niveaux d'infection élevés à 59 JAS pour la localité Niangoloko. Dans ce cas, les incidences ont été pour la plupart proches de 100%.

Tableau 18 : Corrélations entre le taux de contamination des semences et l'incidence moyenne du CABMV dans les différentes localités à 31 et 59 jours après le semis

Taux contamination des semences	Date d'observation					
	31 jours après semis			59 jours après semis		
	Somnawaye	Sapouy	Niangoloko	Somnawaye	Sapouy	Niangoloko
K VX 61-1						
0%	0,57	1,89	3,97	5,33	8,89	26,59
0,25%	1,42	3,32	4,76	8,25	12,63	34,07
1%	1,72	4,22	7,13	10,61	14,63	34,83
5%	7,03	9,72	17,22	20,57	23,82	50,81
r^a	0,995	0,991	0,999	0,985	0,973	0,965
P^b	0,005**	0,009**	0,0007***	0,015*	0,027*	0,035*
Gorom local						
0%	12	19,48	28,39	45,74	62,86	93,11
0,05%	17,65	22,22	38,74	52,24	68,82	85,48
0,25%	18,71	28,83	46,23	59,34	72,08	93,11
0,5%	28,79	42,5	53,83	78,94	88,73	99,22
r^a	0,95	0,994	0,941	0,987	0,97	0,76
P^b	0,05*	0,006**	0,05*	0,013*	0,03*	0,22 (ns)

^acoefficient de corrélation r

^bprobabilité associée à r : * significatif (seuil de 5%), ** hautement significatif (seuil de 1%), *** très hautement significatif (seuil de 01%), ns non significatif

2.3.3. La propagation de la mosaïque du niébé causé par le CABMV

2.3.3.1. Chez la variété Gorom local

Les résultats de l'évaluation des cinétiques de propagation de la mosaïque du niébé dans les trois localités à partir de semences saines ou contaminées à différents taux (0,05%, 0,25% et 0,5%) sont illustrés à la figure 23. Il ressort que quelque soit le taux initial de contamination des semences et l'année, la vitesse de propagation est très rapide à Niangoloko rapide à Sapouy et modéré à Somnawaye.

L'analyse de variance des valeurs de AUDPC (aire sous la courbe de progression de la maladie) a indiqué des différences non significatives entre taux de contamination de semences ($F=0,7$; $dl=3$; $P=0,6$). Par contre, elle a montré que le développement de la maladie n'a pas été similaire dans les localités, ni au cours des années. En effet, la comparaison des valeurs de l'AUDPC (tableau 19) a révélé que les différences entre localités sont très hautement significatives ($F=26,94$; $dl = 2$; $P<0,0001$). La progression de la maladie a été très importante à Niangoloko (AUDPC = 2469,6), largement au delà des situations observées à Sapouy (AUDPC = 1670 ; $P=0,0002$) et à Somnawaye (AUDPC = 1323,3 ; $P=0,00013$). Par ailleurs, un développement plus important de la maladie a été observé à Sapouy en comparaison avec Somnawaye ($P=0,04$).

Des différences très hautement significatives ont aussi été observées entre années dans le développement de la maladie indépendamment des taux de contamination des semences ($F=76,61$; $dl = 2$; $P<0,0001$). La comparaison des valeurs moyennes de l'AUDPC a montré que la progression de la maladie a été significativement plus importante en 2004 (AUDPC=2923,67) par rapport à 2002 (AUDPC=1625,5 ; $P=0,00014$) et à 2003 (AUDPC=913,7 ; $P=0,00013$). La comparaison des valeurs de l'AUDPC en 2002 et 2003 a indiqué que le développement de la maladie a été très peu important en 2003 ($P=0,0003$).

2.3.3.2. Chez la variété K VX 61-1

Les résultats de l'évaluation des cinétiques de propagation de la mosaïque du niébé dans les trois localités à partir de semences saines ou contaminées à différents taux (0,25%, 1% et 5%) sont illustrés à la figure 24. On se rend compte que contrairement à la variété Gorom local, le développement de la maladie a été influencé par le taux de contamination des semences. Le tableau 20 regroupe les

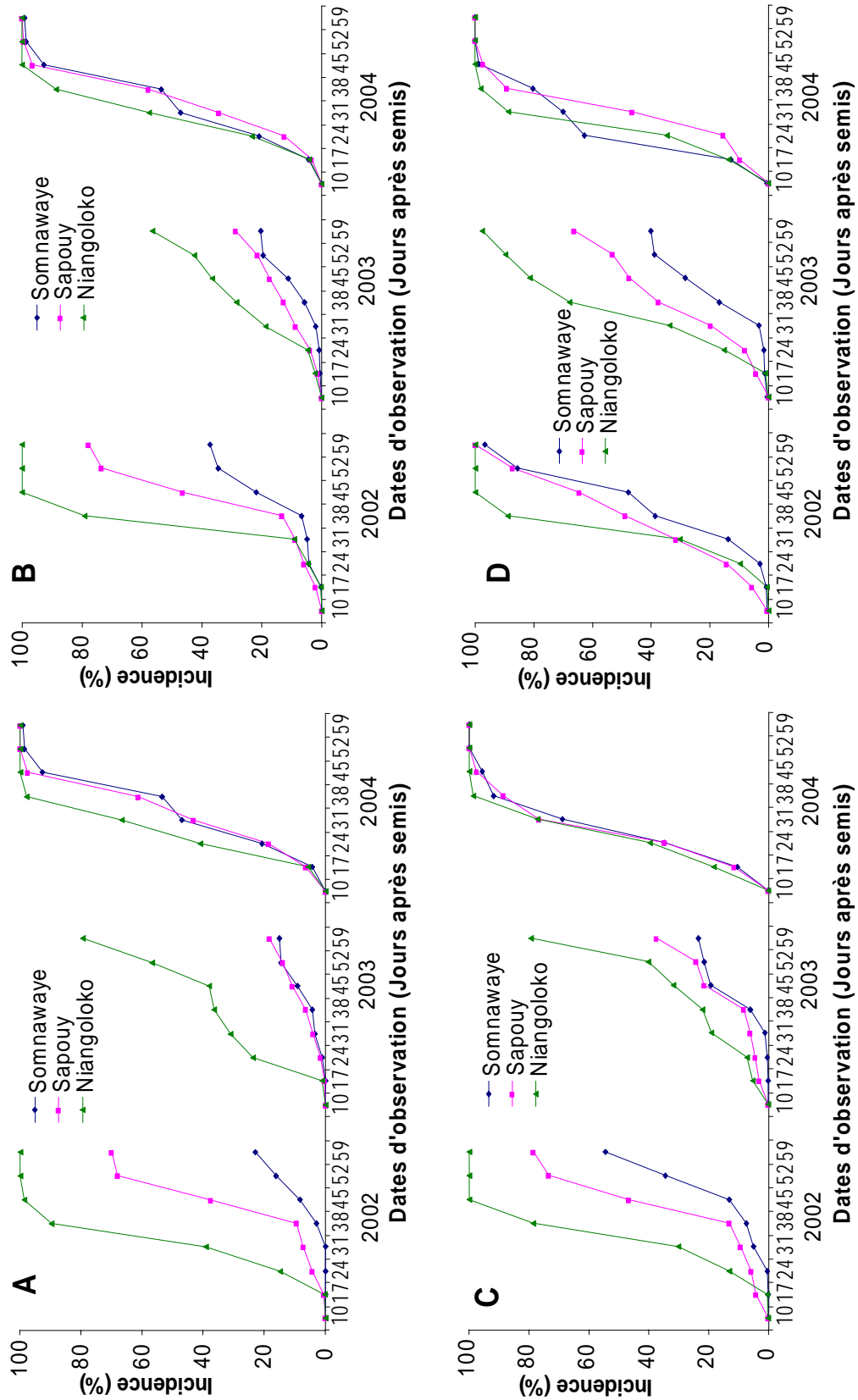


Figure 23 : Propagation de la mosaïque du niébé au champ chez la variété Gorom local à partir de semences contaminées par le CABMV à 0% (A), 0,05% (B), 0,25% (C) et 0,5% (D)

Tableau 19 : Valeurs AUDPC (aire sous la courbe de progression de la maladie) chez Gorom local

Taux de contamination des semences	Année	Localités		
		Somnawaye	Sapouy	Niangoloko
0%	2002	274	1136	2749
	2003	279	325	1590
	2004	2465	2642	3230
0,05%	2002	623	1323	2402
	2003	340	556	1126
	2004	2465	2478	2965
0,25%	2002	617	1348	2609
	2003	427	613	1161
	2004	2968	3216	3391
0,50%	2002	1651	2120	2654
	2003	757	1426	2364
	2004	3013	2857	3394

Tableau 20 : Valeurs AUDPC (aire sous la courbe de progression de la maladie) chez K VX61-1

Taux de contamination des semences	Année	Localités		
		Somnawaye	Sapouy	Niangoloko
0%	2002	48	168	712
	2003	25	126	200
	2004	177	214	820
0,25%	2002	62	247	575
	2003	63	164	253
	2004	317	443	703
1%	2002	103	286	935
	2003	68	167	276
	2004	327	463	702
5%	2002	397	416	1553
	2003	444	643	736
	2004	519	834	1250

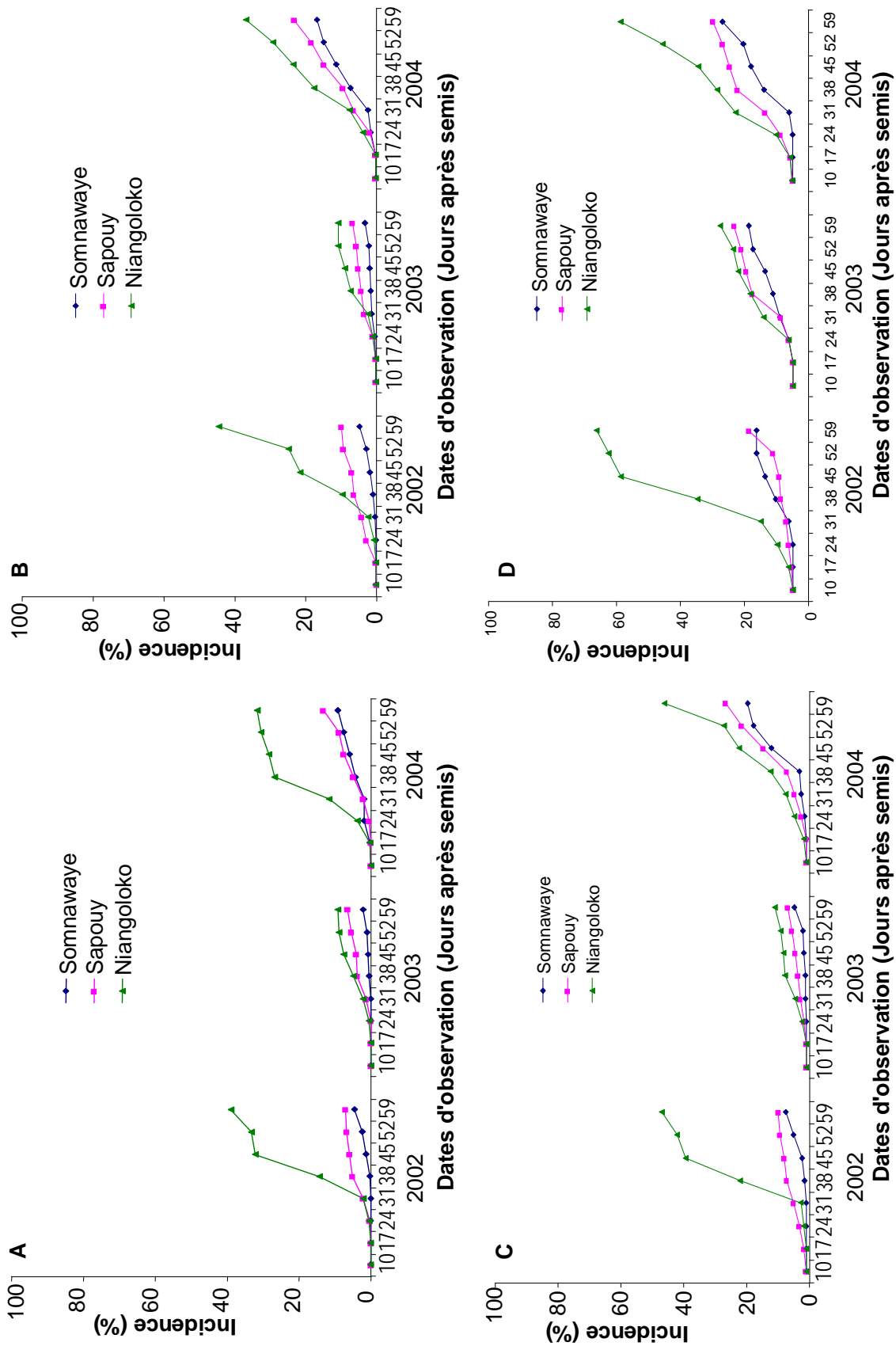


Figure 24 : Propagation de la mosaïque du niébé au champ chez la variété KVX61-1 à partir de semences infectées par le CABMV à 0% (A), 0,25% (B), 1% (C) et 5% (D)

résultats de l'analyse de variance des valeurs AUDPC. Il ont ainsi montré un effet très hautement significatif du taux de contamination des semences ($F=8,96$; $dl=3$; $P=0,0004$). Les valeurs moyennes de l'AUDPC ont été respectivement de 754,53 pour le taux de contamination de semences de 5%, 369,6 (taux de 1%), 313,94 (taux 0,25%) et 276,66 pour les semences indemnes de virus. La comparaison de ces valeurs a montré que la plus forte progression de la maladie a été obtenue avec le taux de 5% ($P=0,017$). L'analyse de régression entre les valeurs de l'AUDPC et le taux de contamination des semences a mis en évidence une très forte corrélation entre les paramètres ($r = 0,99$).

L'analyse des valeurs de l'AUDPC a aussi montré que la progression de la maladie a varié d'une localité à l'autre ($F=14,2$; $dl =2$; $P=0,00006$). Ainsi la maladie a été significativement plus importante à Niangoloko (AUDPC = 726,02) qu'à Sapouy (AUDPC =347,49 ; $P=0,0009$) et Somnawaye (AUDPC =212,84 ; $P=0,0002$). Par contre, le développement de la maladie a été similaire à Sapouy et à Somnawaye ($P=0,19$).

L'effet année sur la progression de la maladie observé dans le cas de Gorom local a aussi été observé pour K VX61-1 ($F=4,65$; $dl=2$; $P=0,02$). Les valeurs de l'AUDPC pour les trois années ont été de 458,55 pour 2002, 263,54 pour 2003 et 563,96 pour 2004. Ainsi, la progression de la maladie a été significativement plus forte en 2004 par rapport à 2003 ($P=0,015$). Cependant, aucune différence significative n'a pu être mise en évidence entre 2002 et 2004 ($P=0,3$).

2.4. Discussion

L'épidémiologie des maladies virales de plantes est marquée par quatre principaux paramètres : l'agent pathogène, la plante hôte, l'environnement et le temps (Browning *et al.*, 1977). Parmi ces paramètres, l'environnement joue un rôle de très grande importance. En effet, il se compose de plusieurs facteurs capables d'influer sur le cours des épidémies. Il s'agit par exemple des conditions de sol, d'exposition des plants et des conditions climatiques faisant intervenir la température, les précipitations, le rayonnement, la vitesse et la direction des vents, etc. (Rotem, 1978). Pour les virus transmis par vecteur, les conditions climatiques sont des facteurs prépondérants pour l'abondance et les fluctuations des populations. Au cours des travaux présentés dans ce chapitre, l'évaluation des populations de pucerons vecteurs du CABMV a mis en évidence une plus grande

pullulation de pucerons à Niangoloko dans la zone nord guinéenne. Plusieurs facteurs environnementaux (précipitations, température, saison etc.) ont été signalés comme ayant une influence sur la dynamique des populations de pucerons (Alonso-Prados *et al.*, 2003 ; Estay *et al.*, 2008). Selon Aheer *et al.*, 2007, les précipitations constituent le facteur ayant le plus prépondérant rôle. L'observation de populations plus fortes de pucerons à Niangoloko confirme ce résultat.

L'effet de la localité sur l'abondance des populations a été observé au cours des trois années d'expérimentation, confirmant ainsi la pertinence de conditions environnementales dans l'augmentation des populations de pucerons vecteurs. Par ailleurs, l'influence de la localité sur le développement des insectes a été observée aussi bien chez la variété Gorom local que chez K VX61-1. Les fortes pullulations de populations de pucerons vecteurs indépendamment de la variété de niébé ou de l'année indiquent que les épidémies de mosaïque du niébé sont à redouter si d'autres facteurs épidémiologiques sont favorables. Il est nécessaire d'appliquer ou de développer des moyens de gestion des populations de pucerons pour les maintenir à des niveaux suffisamment bas afin de minimiser leur effet sur le développement des épidémies.

Les taux d'infection du niébé par le CABMV à 31 et 59 JAS ont varié en fonction des zones agro écologiques. En effet, en dépit de variations annuelles, l'incidence de la maladie a été trouvée plus forte à Niangoloko (zone nord guinéenne) qu'à Sapouy et Somnawaye (zone soudanienne). Les niveaux d'infection enregistrés dans les différentes zones reflètent en partie l'effet des populations de pucerons vecteurs qui ont été souvent plus importantes à Niangoloko. Néanmoins dans certains cas, aucune relation n'a été trouvée entre les deux paramètres. Ainsi, des incidences significativement différentes ont été enregistrées dans les champs de K VX61-1 à Sapouy et Somnawaye alors que des niveaux similaires de populations de pucerons ont été observés dans les deux localités. De même, malgré une plus forte pullulation de pucerons à Niangoloko, l'incidence de la maladie dans cette localité a été similaire au cas de Sapouy aussi bien à 31 JAS qu'à 59 JAS. Ces résultats indiquent que d'autres paramètres interviennent également pour moduler l'effet des populations du vecteur sur les niveaux d'infections. L'un des ces facteurs pourrait être la composition des populations du vecteur (Irwin et Goodman, 1981). En effet, plusieurs espèces de pucerons sont capables de transmettre le CABMV mais elles diffèrent quant à leur aptitude génétique à transmettre le virus (Bashir *et al.*,

2002). *Aphis craccivora* est la principale espèce signalée comme étant impliquée dans la propagation de la mosaïque du niébé au Burkina Faso (Dabiré, 1990) mais le rôle d'autres espèces reste à déterminer.

Les effets localité, année et taux de contamination des semences mis en évidence lors des évaluations de l'incidence de la maladie à 31 et 59 JAS ont été confirmés par l'analyse des courbes de progression de la maladie sur l'ensemble de la période de culture. En effet, le développement de la maladie a significativement été plus important à Niangoloko et les épidémies ont été moins fortes en passant à la localité de Sapouy puis à celle de Somnawaye. Cet effet de la localité sur le développement des épidémies est sans doute le reflet de l'influence des conditions climatiques qui prévalent dans ces localités. Cependant, l'effet individuel des principaux facteurs climatiques dans chacune des localités n'a pas été étudié au cours de ces travaux. La détermination du rôle des principaux facteurs climatiques en y associant d'autres paramètres relatifs au vecteur et au taux de contamination des semences pourrait permettre de bâtir des modèles mathématiques (Watson *et al.*, 1975 ; Traoré, 1993). Si ces modèles sont validées, elles permettent de mieux appréhender les interactions entre les différents paramètres épidémiques et de mettre sur pied des méthodes de gestion de la maladie sous la forme d'intervention sur seuil (Watson *et al.*, 1975).

L'effet du taux de contamination des semences sur le développement des épidémies a été particulièrement manifeste avec la variété de niébé K VX61-1. Des corrélations positives montrant que le niveau des épidémies a varié proportionnellement au taux de contamination des semences ont ainsi été mises en évidence. Pour la variété Gorom local, de telles corrélations n'ont été obtenues qu'avec l'incidence à 31 JAS et les taux d'infection dans les localités de Sapouy et Somnawaye où les conditions de développement de la maladie étaient moins favorables. Dans les conditions favorables comme celles ayant prévalu à Niangoloko, la relation incidence de la maladie taux de contamination des semences a été complètement brouillée. Ces résultats suggèrent que la contamination des semences par le CABMV joue certes un rôle important dans la propagation de la maladie de la mosaïque du niébé mais qu'elle n'est pas toujours déterminante à elle seule.

Les caractéristiques de la dissémination du CABMV dans les champs ensemencés les uns avec Gorom local et les autres avec K VX61-1 montrent que la

combinaison variété x taux de contamination des semences peut permettre de maintenir les d'infections à un niveau bas. Cependant, même l'utilisation de semences indemne de virus chez la variété KVX61-1 ayant présenté les plus faibles épidémies a conduit à des niveaux d'infection relativement importants notamment à Niangoloko (figure 24). Dans la perspective d'une intensification de la culture du niébé sur l'ensemble du pays, il est indispensable d'adjoindre d'autres moyens de lutte contre le CABMV au choix variétal et à l'utilisation de semences peu contaminées. Du fait que le virus soit disséminé par les pucerons, le contrôle des populations du vecteur pourrait être un moyen supplémentaire de choix (Jackai *et al.*, 1985 ; Lepoive, 1989 ; Messianen *et al.*, 1991 .

CHAPITRE 3 :
GESTION INTEGREE DU CABMV

3.1. Introduction

La lutte contre de nombreux agents phytopathogènes comme les bactéries, les champignons, les nématodes, etc. bénéficie largement de l'utilisation de pesticides adaptés. A l'inverse de ces groupes d'organismes, la lutte contre les virus ne peut pas se faire par l'utilisation de substances de type "virucide" à cause du fait qu'il s'agit d'agents pathogènes parasites intracellulaires obligatoires dépourvus d'activités métaboliques propres (Rossel et Thottappilly , 1985).

La lutte contre les virus de plantes est ainsi réalisée de façon indirecte par l'intermédiaire de trois groupes de moyens ayant chacun une efficacité plus ou moins bonne suivant les maladies. On distingue ainsi:

- Les moyens de lutte culturale dont le but principal est de limiter l'infection au champ à travers la réduction de la quantité d'inoculum interne et externe. En pratique, il s'agit de l'adoption de mesures comme l'utilisation de semences indemnes de virus, le choix approprié de dates de semis ou de plantation, l'élimination des hôtes alternatifs des virus, l'éradication des plants malades au champ, etc. Pour être efficaces, ces mesures doivent souvent s'appuyer sur de bonnes connaissances de l'épidémiologie des maladies (Thresh, 1982)
- La lutte génétique qui est basée sur l'utilisation de variétés résistantes ou tolérantes. C'est le moyen le plus souhaitable à cause du fait qu'il est moins contraignant pour le producteur et respectueux de l'environnement tout en étant souvent très efficace (Leung *et al.*, 2003). Néanmoins, il est indispensable de disposer de sources de résistances aux virus et la possibilité de transfert de ces résistances dans les variétés désirées. Par ailleurs, une limite importante de la lutte génétique est l'émergence de variants viraux capables de contourner les résistances (MacDonald et Linde, 2002; Garcia-Arenal et MacDonald, 2003, Gomez *et al.*, 2009).
- La lutte chimique par l'utilisation de pesticides (insecticides, nématicides, fongicides) lorsque la dissémination du virus se fait par vecteurs de façon prépondérante.

Les insecticides ont été les pesticides les plus utilisés pour limiter soit les dégâts directs causés par les nombreuses espèces d'insectes ravageurs de végétaux, soit les dégâts indirects causés par les virus transmis par insectes, ou pour les deux objectifs à la fois. Par exemple, le cas des thrips qui font chuter les

fleurs de niébé entraînant d'importantes pertes de rendement (Singh et Allen, 1979) ou des mouches banches vecteurs des géminivirus causant d'importants dégâts sur les plantes maraîchères (Messiaen *et al.*,1991).

Dans le cas de la mosaïque du niébé et des autres virus infectant cette plante, la lutte chimique a été utilisée de façon limitée à cause de son succès seulement partiel (Rossel et Thottappilly , 1985) mais aussi des problèmes de toxicité pour l'homme et l'environnement. La faible efficacité des traitements insecticides pour lutter contre les maladies virales est très courante dans le cas des virus transmis selon le mode non persistant, à l'exemple du CABMV (Semal et Vanderveken, 1989 (Messiaen *et al.*,1991). En effet, au regard du caractère quasi instantané du prélèvement et de l'inoculation de ces virus, la plupart des traitements insecticides s'avèrent inopérants ou accroissent même l'extension des épidémies en perturbant les pucerons vecteurs et en accentuant leurs mouvements de plante en plante. Cependant, des insecticides de type pyréthrinoïdes, capables de créer un effet de choc par contact se sont révélés efficaces dans la lutte contre ce type de virus. C'est le cas de la deltaméthrine (insecticide de contact) et du systoate ou du diméthoate (insecticides systémiques) pour autant que les vecteurs n'aient pas acquis de résistance vis à vis de ces substances.

En définitive, les limites des différentes méthodes de lutte contre les virus ont conduit à l'adoption d'une approche intégrée faisant intervenir deux ou plusieurs méthodes (Anonyme, 2006, Shirshikar, 2008). Bien que cette approche ait été recommandée dans la protection du niébé contre les maladies virales (Rossel et Thottappilly, 1985), peu de travaux ont été conduits pour en définir les conditions de mise en œuvre.

Dans les chapitres précédents, deux facteurs importants du développement des épidémies de mosaïque du niébé ont été la variété de niébé et la qualité sanitaire des semences. Les recommandations sur le régime de traitements chimiques pour la protection du niébé suggèrent deux applications d'insecticides dont la première doit intervenir 35 jours après semis (Ouédraogo *et al.*,(2008). Ce régime de protection chimique du niébé a été mis au point pour lutter particulièrement contre les dégâts directs causés par les insectes. Au cours des travaux décrits dans le présent chapitre, les paramètres "gentotype de niébé" et "qualité sanitaire des semences" ont été associés à la lutte chimique contre les pucerons afin de rechercher un meilleur niveau de gestion de la maladie.

3.2. Matériel et méthodes

3.2.1. L'étude du traitement insecticide sur l'évolution du CABMV

La recherche des graines contaminées a été décrite par la méthode décrite plus haut à la page 75 du chapitre précédant.

Pendant trois années consécutives (2002-2004), des lots de semences contaminés par le CABMV à 0%, 0,05%, 0,25% et 0,5% ont été constitués pour les variétés de niébé K VX30–309-6G, K VX414-22-72, Gorom local et Moussa local. D'autres lots de graines contaminées à 0%, 0,25%, 1% et 5% ont également été constitués pour quatre autres variétés: K VX61-1, K VX396-4-5-2D, KN1 et TVX3236.

Pour chaque niveau de contamination, les graines ont été semées sur une parcelle de 200 m² qui a préalablement été labourée puis billonnée après épandage d'engrais coton à la dose de 100kg/ha en quatre répétitions soit 128 parcelles élémentaires. Deux répétitions serviront de témoins non traité. Pour chaque répétition, les parcelles sont rangées dans le sens croissant du taux de contamination. Les plants malades ont été dénombrés toutes les semaines à compter du dixième jour après semis jusqu'à 59 jours. La population des pucerons a été évaluée sur chaque parcelle 30 jours après semis. Un seul traitement de mélange de deux insecticides (deltaméthrine et systhoate) a été appliqué 31 jours après semis à la dose 2 ml par litre chacun sur deux répétitions. La deltaméthrine dont le non commercial est le décis de formule $C_{22}H_{19}Br_2NO_3$ est un pyréthroïde ou produit de contact. Le systhoate ou diméthoate $C_5H_{12}NO_3PS_2$ est un organo thiophosphate systémique dont la rémanence dure deux à trois semaines.

Site: Kamboinsé.

Les paramètres observés et les analyses statistiques sont ceux décrits à la page 76.

3.3. Les résultats

3.3.1. L'effet du traitement insecticide sur la dissémination du CABMV chez les variétés à fort pouvoir de transmission du virus par les graines

La propagation de la mosaïque du niébé causée par le CABMV a été suivie chez les variétés à forte capacité de transmission du virus par les graines (Gorom local, K VX414-22-72, K VX30-309-6G et Moussa local), dans les parcelles traitées et les parcelles non traitées. Les courbes de progression de la maladie dans les parcelles ayant reçu des semences indemnes de virus ou contaminées à différents niveaux sont illustrées aux figures 25 et 26. On voit que le traitement insecticide

effectué à 31 jours après semis a induit des effets plus ou moins marqués sur le développement de la mosaïque du niébé. Par ailleurs, la propagation de la maladie a été sujette à d'importantes variations entre années et dans une moindre mesure entre variétés de niébé ou entre taux de contamination des semences. En effet, au cours des années 2002 et 2003, l'incidence de la maladie est restée très faible jusqu'à 31 JAS puis les infections se sont produites de façon rapide. Malgré ce développement rapide de la maladie, l'effet des traitements insecticides a été clairement perçu dans la plupart des cas. Les pentes des courbes de progression de la maladie dans les parcelles non traitées ont été plus fortes que dans le cas des parcelles traitées. En conséquence, le développement de la maladie a été moins important dans les parcelles traitées.

L'effet des traitements insecticides sur la progression de la maladie a été beaucoup plus perçu au cours de l'année 2004 quelque soit le taux de contamination des semences. Dans les parcelles non traitées, la progression de la maladie est restée régulière et les incidences ont pratiquement atteint 100% à partir de 52 JAS. Par contre, dans les parcelles traitées, le développement de la maladie a été fortement ralenti à partir de la semaine ayant suivi la date du traitement.

Les valeurs de l'aire sous les courbes de progression de la maladie (AUDPC) représentant l'intensité de la mosaïque du niébé dans les parcelles traitées et les parcelles non traitées ont été calculées et consignées dans le Tableau 21. On retient que la comparaison de ces valeurs a montré des différences très hautement significatives ($P < 0,001$) de développement de la maladie dans les deux types de parcelles. En particulier, l'effet du traitement insecticide dans les parcelles en 2004 a conduit à une forte réduction des incidences dans toutes les parcelles quel que soit le taux initial de contamination des semences. La réduction de la maladie suite au traitement insecticide a été plus marquée lorsque les semences indemnes de virus ou contaminées à 0,05% ont été utilisées. En 2002 et 2003, l'effet du traitement insecticide a été significatif dans la plupart des cas. Cependant, dans quelques cas, les différences entre parcelles traitées et parcelles non traitées ont été très peu marquées. Il s'agit principalement du cas de la variété de niébé K VX30-309-6G et Gorom local traduisant ainsi les variations entre géotypes de niébé.

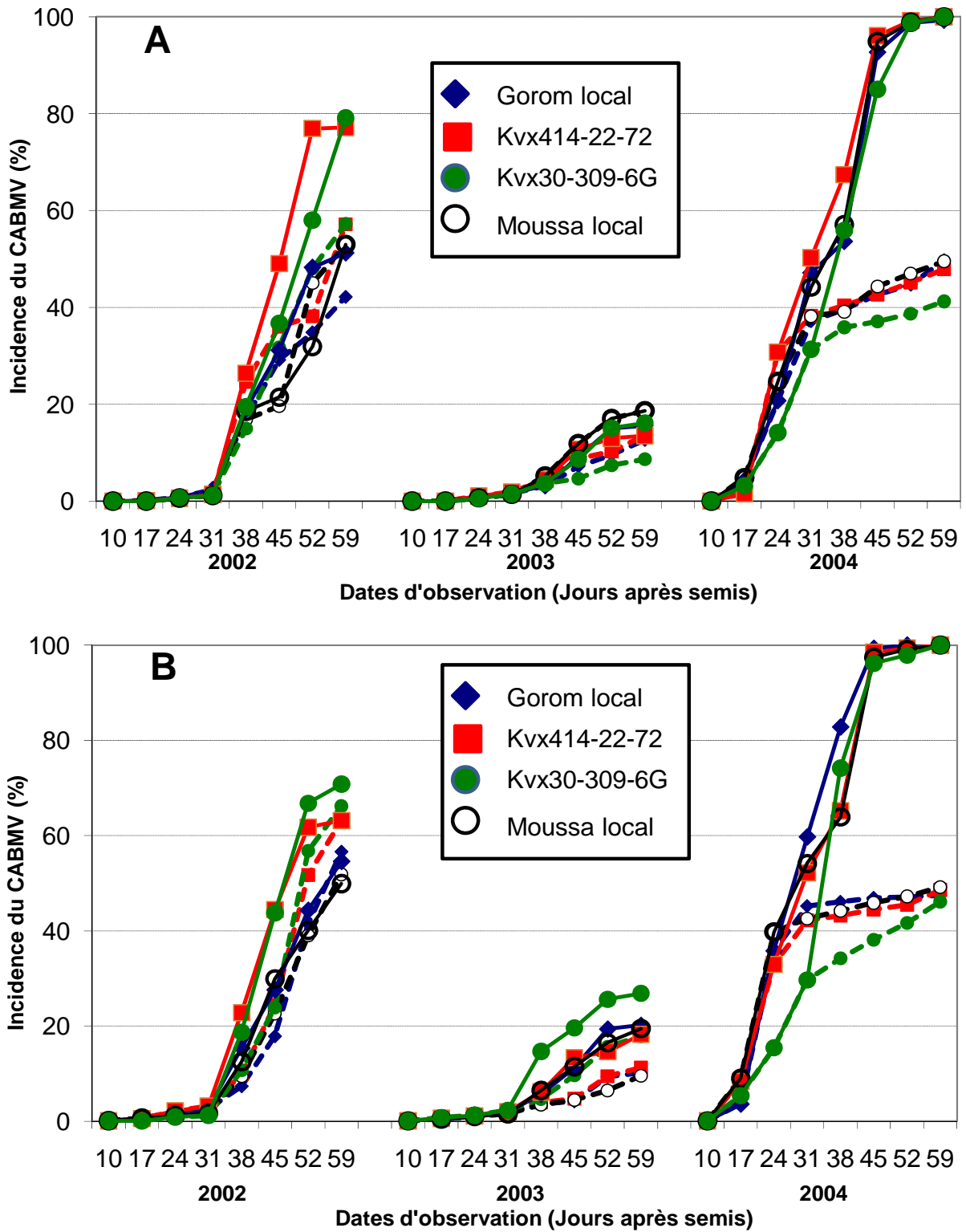


Figure 25 : Propagation de la mosaïque du niébé dans les parcelles ayant subi un traitement insecticide (—) ou non (---) de 2002 à 2004. Les parcelles ont étéensemencées avec des graines de différentes variétés de niébé, indemnes de virus (A) ou contaminées à 0,05% (B).

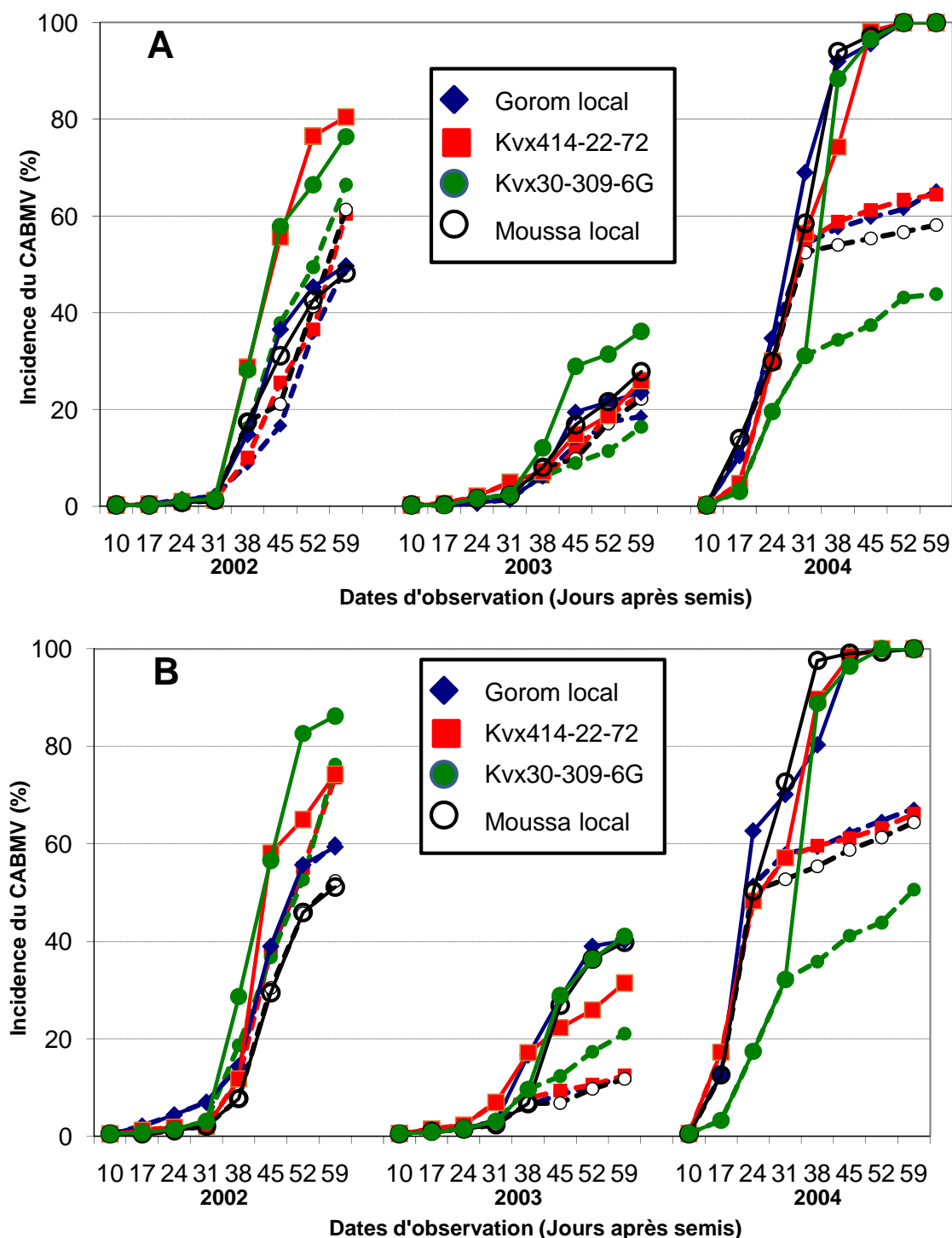


Figure 26 : Propagation de la mosaïque du niébé dans les parcelles ayant subi un traitement insecticide (—) ou non (---) de 2002 à 2004. Les parcelles ont été ensemencées avec des graines de différentes variétés de niébé, contaminées à 0,25% (A) ou 0,5% (B).

Tableau 21 : Intensité de la mosaïque du niébé (valeurs AUDPC) chez les variétés à forte capacité de transmission du CABMV par graines de 2002 à 2004 dans les parcelles non traitées (NT) ou traitées (T) avec l'insecticide

Taux contamination semences (%)	Gorom local		Kvx 414-22-72		Kvx30-309-6G		Moussa local					
	NT	T	différence	NT	T	différence	NT	T	différence			
2002												
0	891,07	739,3	151,74 ^{***}	1353	906,8	445,83 ^{***}	902,85	769,5	133,39 ^{**}	1140,16	865,18	274,98 ^{***}
0,05	837,48	700,2	137,31 ^{**}	1166	864,45	301,1 ^{***}	776,78	704,4	72,3 (NS)	1324,74	955,72	369,02 ^{***}
0,25	879,86	631,4	248,48 ^{***}	1429	737,19	691,45 ^{***}	824,66	791,2	33,4 (NS)	1480,81	1037,96	442,85 ^{***}
0,5	1068,6	1055	13,66 (NS)	1243	1030,5	212,41 ^{***}	799,93	790	9,98 (NS)	258	196,81	61,19 ^{**}
2003												
0	264,39	201,7	62,7 ^{**}	265,7	232,79	32,93 [*]	318,44	318,4	0 (NS)	664,86	155,07	509,79 ^{***}
0,05	347,13	179	168,14 ^{***}	327,8	191,04	136,75 ^{***}	329,58	154,6	174,97 ^{***}	543,18	301,69	241,49 ^{***}
0,25	431,58	336,9	94,65 ^{***}	431,3	389,54	41,76 [*]	453,57	353,1	100,45 ^{***}	664,86	273,5	391,36 ^{***}
0,5	773,52	263,8	509,73 ^{***}	646,7	316,58	330,1 ^{***}	665,81	241	424,82 ^{***}	710,08	390,98	319,1 ^{***}
2004												
0	2569,3	1498	1070,8 ^{***}	2769	1560	1208,9 ^{***}	2624,6	1561	1063,1 ^{***}	2724,53	1267,83	1456,7 ^{***}
0,05	3020,8	1740	1281,1 ^{***}	2848	1687,8	1160,4 ^{***}	2895,7	1773	1122,2 ^{***}	2583,47	1313,37	1270,1 ^{***}
0,25	3166,6	2178	988,7 ^{***}	2899	2137,9	760,9 ^{***}	3108,8	2037	1071,4 ^{***}	2724,53	1337,54	1386,9 ^{***}
0,5	3325,1	2398	926,7 ^{***}	3230	2382,6	847,9 ^{***}	3375,6	2268	1108 ^{***}	2721,52	1396,24	1325,3 ^{***}

^adifférence non significative (NS), significative à P=0.05 (*), P=0,01 (**), P=0,001 (***) selon le test de Newman-Keuls

3.3.2. L'effet du traitement insecticide sur la dissémination du CABMV chez les variétés à faible pouvoir de transmission du virus par les graines

Les résultats de l'évaluation des incidences obtenues à partir de semences indemnes et contaminées à 0,25% sont illustrés à la figure 27. On remarque que l'incidence de la maladie est restée inférieure à 10% en 2002 et 2003. Même en 2004, apparue comme l'année de plus forte épidémie, les taux d'infection maximums ont été d'environ 20% en fin de culture. Par ailleurs, la propagation secondaire de la maladie a été tardive (28 à 45 JAS) dans la plupart des cas. La propagation de la mosaïque du niébé causée par le CABMV a été faible chez les variétés à faible capacité de transmission du virus par les graines. En particulier, avec les semences indemnes de virus ou peu contaminées.

Les résultats de l'utilisation de semences contaminées par le CABMV à 1% et 5% sont illustrés par la figure 28. On retient que le développement de la maladie a été plus important. Les incidences finales ont atteint 20% en 2002 et 2003 alors qu'elles ont été proches de 60% en 2004. De plus, dans plusieurs cas, la contamination secondaire dans les parcelles a commencé avant 31 JAS.

L'effet du traitement insecticide sur la propagation de la maladie n'est pas clairement apparu dans les cas où l'incidence de la maladie est restée faible. Il s'agit des situations observées en 2002 et 2003 avec les semences peu ou pas contaminées par le CABMV. Par contre en 2004, avec des semences contaminées à 1% et 5%, il a été possible de faire une distinction claire entre d'une part les courbes de progression de la maladie dans les parcelles traitées et d'autre part, celles obtenues à partir des résultats des parcelles non traitées.

Les résultats de l'analyse des différences entre valeurs de l'AUDPC obtenues respectivement dans les parcelles traitées et les parcelles non traitées regroupés dans le tableau 22. Ils ont permis de mieux mettre en évidence l'effet des traitements insecticides. En raison de la faible propagation de la maladie intervenue en 2002 et 2003 dans les parcellesensemencées avec des graines peu ou pas contaminées (taux de 0% et de 0,25%), le traitement insecticide n'a pas eu d'effet significatif sur la variation de l'incidence de la maladie. Par contre, des différences significatives ont généralement été mises en évidence dans le cas où des semences contaminées à 1% ou 5% ont été utilisées. Les plus grandes différences entre parcelles traitées et parcelles non traitées ont été observées en 2004. Chez toutes les variétés de niébé

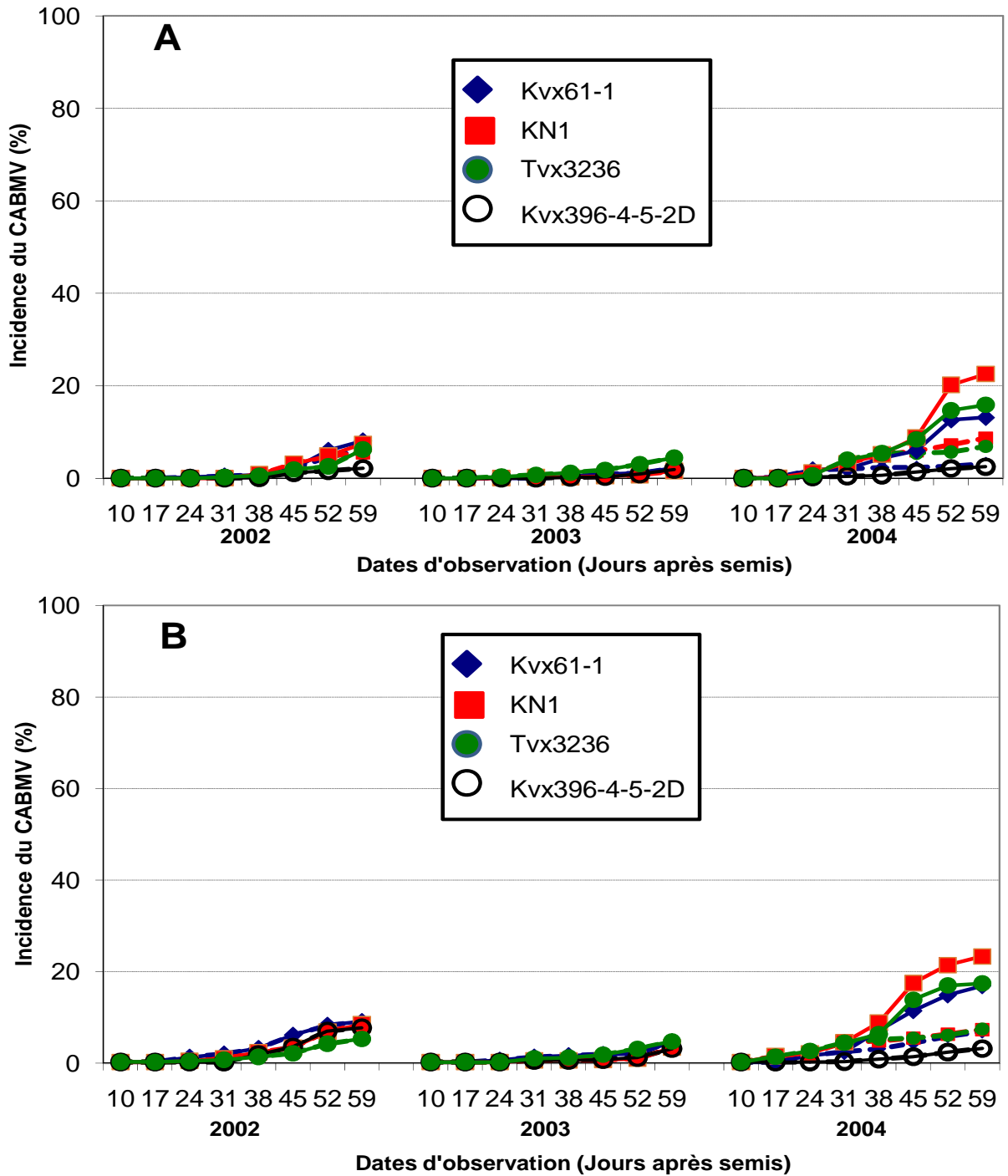


Figure 27 : Propagation de la mosaïque du niébé chez les variétés à faible capacité de transmission du CABMV par les graines de 2002 à 2004. Les parcelles ont été ensemencées avec des graines indemnes de virus (A) ou contaminées à 0,25% (B) et ont subi un traitement insecticide (—) ou non (---).

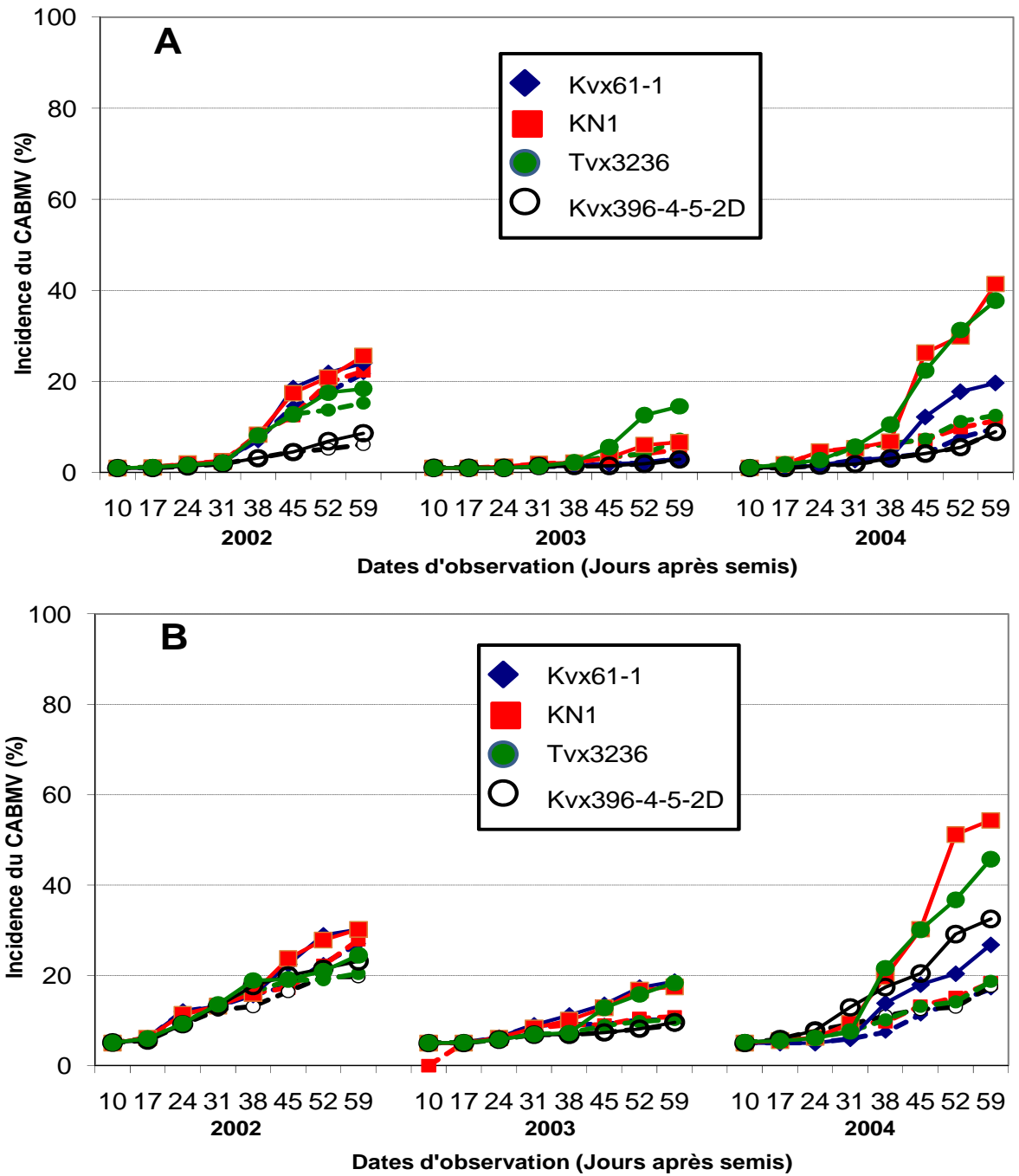


Figure 28 : Propagation de la mosaïque du niébé chez les variétés à faible capacité de transmission du CABMV par les graines de 2002 à 2004. Les parcelles ont été ensemencées avec des graines contaminées par le virus à 1% (A) ou 5% (B) et ont subi un traitement insecticide (—) ou non (---).

Tableau 22 : Intensité de la mosaïque du niébé (valeurs AUDPC) chez les variétés à faible capacité de transmission du CABMV par graines de 2002 à 2004 dans les parcelles non traitées (NT) ou traitées (T) avec l'insecticide

Taux contamination semences (%)	Kvx61-1		KN1		Tx3236		Kvx396-4-5-2D		
	NT	T	différence	NT	T	différence	NT	T	différence
	2002								
0	95,84	78,46	17,38 (NS)a	87,85	80,84	7,01 (NS)	28,02	28,02	0 (NS)
0,25	181,76	181,76	0 (NS)	132,62	132,62	0 (NS)	120,32	120,32	0 (NS)
1	457,71	392,38	65,33***	458,76	404,54	54,22***	166,59	146,07	20,52 (NS)
5	811,31	721,43	89,88***	811,31	718,11	93,2***	707,42	621,15	86,27***
	2003								
0	24,94	24,94	0 (NS)	16,57	16,57	(NS)	16,18	16,18	0 (NS)
0,25	73,03	73,03	(NS)	37,27	37,27	(NS)	38,43	38,43	0 (NS)
1	76,5	76,5	(NS)	137,56	118,11	19,45 (NS)	72,16	72,16	0 (NS)
5	518,13	393,01	125,12***	492,67	392,21	100,46***	331,33	329,23	2,1 (NS)
	2004								
0	234,13	89,81	144,32***	350,21	190,17	160,04***	42,03	42,03	(NS)
0,25	325,31	150,17	175,14***	475,26	201,41	273,85***	51,77	51,77	(NS)
1	343,59	215,84	127,75***	672,01	329,75	342,26***	255,71	186,91	68,8***
5	588,75	418,34	170,41***	1063,55	496,83	566,72***	786,51	493,89	292,62***
							287,86	172,27	115,59***
							382,89	205,02	177,87***
							657,75	337,42	320,33***
							931,7	479,92	451,78***

^a différence non significative (ns), significative à P=0.05 (*), P=0,01 (**) et P=0,001 (***) selon le test de Newman-Keuls

à l'exception de TVX3236, les valeurs de l'AUDPC ont été très significativement inférieures dans les parcelles traitées en comparaison avec celles des parcelles non traitées.

3.3.3. Le développement de la mosaïque du niébé avant et après le traitement insecticide

Afin de déterminer si le traitement insecticide à 31 JAS était approprié pour une bonne gestion de la maladie, les valeurs de l'AUDPC traduisant l'intensité de la maladie ont été calculées sur chacune des périodes d'avant et d'après traitement. Les valeurs ont été calculées en utilisant les données de l'incidence de la maladie en 2004 avec les taux de contamination des semences les plus élevés. En effet, les résultats présentés dans les paragraphes précédents ont indiqué que le développement de la maladie se faisait de façon plus importante avec l'utilisation des taux les plus élevés de contamination des semences et pour l'année 2004.

Les valeurs de l'AUDPC ont été très élevées (entre 40 et 60% de l'AUDPC total) pour la période d'avant traitement chez les variétés de niébé à forte capacité de transmission du CABMV par les graines, à l'exception de la variété Moussa local (Figure 29A). En moyenne, chez ces variétés, 43,3% de l'intensité totale de la maladie est obtenue avant le traitement insecticide à 31 JAS. Cela traduit le fait qu'en général, le développement de la maladie chez les variétés de niébé à forte capacité de transmission du CABMV par graines se fait de façon précoce. Néanmoins, la plus grande partie de l'infection (56,5%) s'est produite après le traitement insecticide. L'intensité de la maladie a été beaucoup plus faible (entre 14% et 23%) chez les variétés de niébé à faible capacité de transmission du CABMV par les graines (Figure 29B). Chez ces variétés, l'intensité moyenne de la maladie avant le traitement insecticide a été seulement de 18,3%, la plus grande partie des infections (81,7%) ayant eu lieu après le traitement.

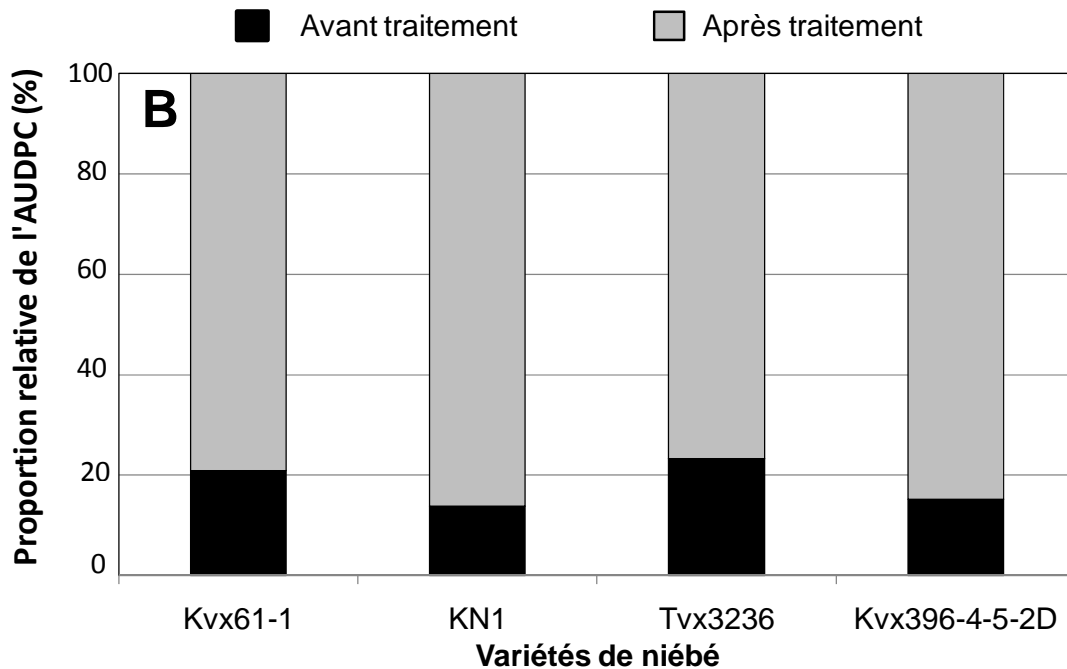
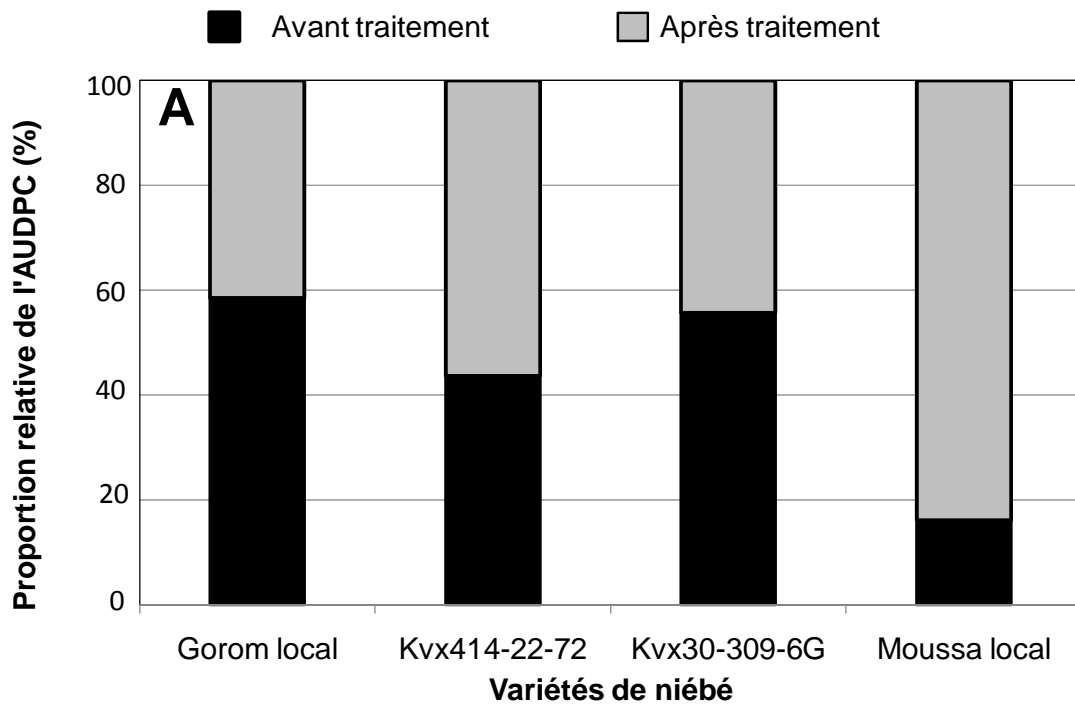


Figure 29 : Intensité de la mosaïque du niébé causé par le CABMV avant et après le traitement insecticide chez les variétés de niébé à fort (A) et à faible (B) pouvoir de transmission du virus par les graines

3.4. Discussion

La lutte chimique contre les potyvirus est souvent considérée comme inefficace même si quelques substances chimiques ont été utilisées avec succès (Bashir *et al.*, 2002). Par exemple, Atiri *et al.*, (1987) ont montré que l'utilisation de la cyperméthrine, une pyréthrianoïde de synthèse permettait de réduire l'acquisition et l'inoculation du CABMV par les pucerons. A l'inverse, d'autres groupes d'insecticides comme les carbamates et les organophosphates se sont avérés très peu efficaces. L'inefficacité de certaines substances réside dans le fait qu'ils n'ont pas une action foudroyante sur l'insecte. Dans ce cas, le traitement insecticide provoque au contraire une certaine excitation chez l'insecte et multiplie ses mouvements. Du fait de la transmission non persistante du CABMV et des autres potyvirus par les pucerons, la multiplication des mouvements du vecteur résulte en une augmentation de la contamination des plantes. En définitive, l'incidence de la maladie se trouve accrue. L'association de la deltaméthrine appartenant à la classe des pyréthrianoïdes et de diméthoate (organophosphate) au cours de ce travail, a permis de réduire l'incidence de la maladie de façon significative dans la plupart des cas. L'efficacité de l'association de ces deux substances résulte sans doute de la double action de toxicité induite par chacun des deux insecticides. En effet, tandis que la deltaméthrine agit rapidement sur les insectes par contact, le diméthoate protège les plants de façon plus persistante à cause de sa rémanence (Anonyme, 1998).

L'association du traitement insecticide à l'utilisation de différents taux de contamination des semences a permis d'obtenir un meilleur contrôle de la maladie. En particulier, pour les variétés à forte capacité de transmission du CABMV par graine, l'utilisation de semences peu ou pas contaminées (0% et 0,05% de contamination) a conduit à des infections nettement moindres par rapport aux cas des semences plus fortement contaminées (0,25% et 0,5% de contamination). Des résultats similaires ont été obtenus avec les variétés de niébé à faible capacité de transmission du virus par graines. La diminution des infections pour les faibles taux de contamination de semences peu s'expliquer par l'équation de Baker (1971) donnant la relation entre la maladie, le potentiel d'inoculum et le potentiel de la maladie: $\text{Maladie} = \text{potentiel d'inoculum} \times \text{potentiel de la maladie}$

Dans cette équation, la variable contrôlée par l'utilisation de différents taux de contamination des semences est le potentiel d'inoculum. Lorsque ce potentiel est faible (semences peu ou pas contaminées), le niveau de la maladie se trouve

amoindri. La diminution du potentiel d'inoculum en particulier par l'éradication de plants infectés a été utilisée avec succès dans la gestion de plusieurs maladies virales de plantes (Thresh, 1988). Il s'agit ainsi d'une importante pratique culturale pour lutter contre les maladies virales de plantes

Le deuxième paramètre de l'équation de Baker (1971) présentée ci-dessus est la possibilité de développement de la maladie lorsque l'inoculum est disponible. Ce paramètre est directement affecté par le niveau de sensibilité des plantes sujettes à l'infection. Les résultats présentés dans ce chapitre ont confirmé l'effet des variétés de niébé dans le développement de la mosaïque du niébé causée par le CABMV. Ainsi, les infections sont beaucoup plus fréquentes chez les variétés à forte capacité de transmission du virus par les semences. Le choix de la variété est donc un facteur important dans la gestion de la maladie. Cette pratique basée sur l'utilisation de génotypes de plantes peu sensibles est considérée comme la plus efficace dans la lutte contre les maladies virales du niébé et des plantes en général (Thresh, 1982, Thottappilly et Rossel, 1985).

L'association des trois facteurs (traitement insecticide, qualité sanitaire des semences et choix variétal) a montré que l'intensité de la maladie peut être considérablement réduite même si les conditions environnementales sont favorables à la survenue d'épidémies. En effet, la propagation de la maladie a été très faible dans les parcelles traitées chez les variétés à faible capacité de transmission du virus par les graines lorsque les semences indemnes ou peu contaminées ont été utilisées (tableau 22). Ces résultats confirment les conclusions de nombreux travaux indiquant que la lutte intégrée notamment contre les maladies virales de plantes est d'une efficacité plus grande que l'utilisation des moyens de lutte de façon isolée (Anonyme, 2006, Shirshikar, 2008).

Le traitement insecticide unique effectué à 31 JAS a montré une certaine efficacité à réduire la propagation de la maladie. Cependant, chez les variétés à forte capacité de transmission du virus par les graines, une fraction importante des infections sont survenues avant 31 JAS. Cette date n'est donc pas appropriée pour une bonne gestion de la maladie et devrait intervenir plus tôt. D'un autre côté, plus de 40% de la maladie est produite après 31 JAS malgré le traitement insecticide. Ce résultat traduit la nécessité d'un autre traitement afin de limiter la progression de la maladie. Chez les variétés à faible capacité de transmission du CABMV par les graines, la majorité des infections ont été observées après le traitement insecticide.

Bien qu'un deuxième traitement pourrait permettre de réduire l'incidence de la maladie, le niveau global de la maladie a été faible (environ 20%). Il est possible que l'efficacité du seul traitement soit accrue si les pulvérisations avaient été faites à une date antérieure. Au regard des préoccupations de toxicité pour l'homme et l'environnement, les traitements chimiques ne devraient pas être démultipliés. Dans cette optique, un traitement à une date bien ciblée intervenant avant 31 JAS serait approprié pour les variétés à faible capacité de transmission du virus par les graines. Par contre, pour les autres variétés de niébé, il est nécessaire de procéder au moins à deux traitements insecticides intervenant l'un avant et l'autre après 31 JAS.

DISCUSSION GENERALE

La compréhension des différentes composantes des maladies des plantes est une étape indispensable à la mise en place de mesures de lutte appropriées et durables. Les travaux réalisés dans ce mémoire avaient pour objectif principal d'obtenir une meilleure compréhension de la maladie de la mosaïque du niébé causée par le *Cowpea aphid-borne mosaic virus* (CABMV) ou virus de la mosaïque du niébé transmis par pucerons dans le cas du Burkina Faso. Etant situé au cœur de la zone sahélienne, le pays a des caractéristiques agro-climatiques similaires à plusieurs autres pays. Aussi, les résultats acquis au cours de ce travail peuvent dans une certaine mesure s'appliquer à d'autres pays de la sous-région. L'ensemble du travail a été orienté vers une meilleure compréhension de la mosaïque du niébé et du virus en ce qui concerne les aspects écologique, épidémiologique et méthodes de lutte.

A cause des caractéristiques de parasites intracellulaires obligatoires des virus, l'écologie des maladies virales est étroitement liée à celle des plantes hôtes. Le CABMV a été identifié pour la première fois chez des plants de niébé infectés (Lovisol et Conti, 1976). Par la suite des plantes cultivées comme le voandzou, le soja et le sésame ont été aussi signalées comme hôtes du virus (Bashir *et al.*, 2002). Au Burkina Faso, les semences de niébé contaminées par le virus ont longtemps été considérées comme la principale source d'infection (Somé, 1988; Konaté et Néya, 1996). Peu d'attention avait alors été prêtée à la présence éventuelle d'hôtes sauvages du virus.

Au cours de ce travail, le CABMV a été détecté chez le niébé, le voandzou et le sésame confirmant ainsi que plusieurs cultures sont affectées par ce virus. De plus, 12 nouvelles espèces hôtes naturels du virus appartenant en majorité à la famille des *Leguminosae* ont été identifiées. Il s'agit des espèces *Amaranthus spinosus*, *Brachiaria disticophylla*, *Corchorus olitorius*, *Corchorus tridens*, *Crotalaria retusa*, *Daniellia oliveri*, *Diodia sarmentosa*, *Hyptis suaveolens*, *Indigofera hirsuta*, *Leucas martinicensis*, *Mitracarpus villosus* et *Tephrosia sp.* Ces espèces sont pour la plupart annuelles et pourraient avoir un rôle mineur dans le maintien du virus entre les saisons de culture (Thresh, 1981), sauf si elles sont capables d'assurer la transmission du virus par les semences. Par contre, l'espèce *D. oliveri* est une plante

ligneuse pérenne et pourrait abriter le virus toute l'année. La diversité des espèces identifiées confirme la large gamme d'hôtes du CABMV (compilée par Bashir *et al.*, 2002).

La grande distribution géographique du CABMV est sans doute liée à sa capacité de transmission par les semences. Cette propriété a été considérée comme la principale cause de la distribution pantropicale ou mondiale de certains virus comme le virus de la mosaïque du concombre (Johansen *et al.*, 1994; Aramburu *et al.*, 2007). Dans ce type de situation, il n'existe généralement pas de structuration géographique des souches virales, la présence d'une ou de l'autre souche dépendant du mouvement des semences contaminées.

La détection du CABMV dans les graines de niébé par le test immuno-enzymatique ELISA est une méthode qui s'est avérée assez fiable. Le CABMV a ainsi été détecté avec succès aussi bien dans les graines entières que dans les fragments de graines (cotylédons et embryons). Toutes les graines séropositives ont conduit à l'obtention de plantules infectées avec expression des symptômes de mosaïque. Cependant, des plantules infectées ont aussi été obtenues de certaines graines sero-négatives, indiquant ainsi les limites de détection du virus par le test ELISA (Matthews, 1991). Malgré l'expression des symptômes de mosaïque obtenues de certaines graines sero-négatives (très faible taux), le test ELISA est approprié pour des analyses de certification des semences de niébé vu sa rapidité par rapport au test de germination (un jour contre environ une semaine). Dans le cas précis de ce virus des méthodes comme l'hybridation moléculaire ou l'immuno-microscopie électronique ont été utilisées avec succès (Bashir, 1995) mais ne sont pas envisageables pour des tests de grande envergure en routine.

La détection du CABMV dans les graines issues de plants infectés de niébé a permis de mettre en évidence une grande variation entre variétés de niébé. Ainsi, le taux de contamination des semences a atteint 45% chez des variétés comme Ouahigouya local alors qu'il n'a été que de 11% chez KVu 150. Ce taux a été encore plus bas (entre 0 et 10%) chez les variétés comme KN1, TVu3236, K VX65-114, K VX61-1 et K VX396-4-52D, alors considérées comme variétés de niébé à faible capacité de transmission du CABMV par les graines. Selon plusieurs auteurs, la

variation du taux de contamination des graines par le CABMV dépend de la souche virale et du génotype de niébé (Bock 1973; Ladipo 1977 ; Aboul-Ata *et al.*, 1982).

L'étude de la biodiversité du CABMV sous l'angle de la variation sérologique a mis en évidence les sérotypes I, II, III et IV du virus avec un fort taux de prévalence du sérotype II (plus de 64 %). Seuls deux autres sérotypes décrits chez le CABMV (sérotypes V et VI) par Huguenot *et al.*, (1996) n'ont pas pu être identifiés au Burkina Faso. Malgré l'identification de plusieurs sérotypes du CABMV dans le pays, le virus pourrait présenter une diversité sérologique. En effet, seulement sept anticorps monoclonaux ont été utilisés pour le typage sérologique des isolats du CABMV. Or dans le cas de certains virus comme le virus de la panachure jaune du riz, l'utilisation conjuguée d'au moins 14 anticorps monoclonaux (Konaté *et al.*, 1997; Fargette *et al.*, 2002) et d'anticorps polyclonaux (Mansour et Baillis, 1994) n'ont pas permis de couvrir toute la variation antigénique du virus. L'utilisation d'outils moléculaires comme la réaction en chaîne par polymérase associée ou non au séquençage de gènes viraux permet à l'heure actuelle de combler les lacunes du typage sérologique (Fargette *et al.*, 2002). L'utilisation de tels outils est encore à ses débuts dans le cas du CABMV (Nascimento *et al.*, 2004) mais pourrait de mieux appréhender la diversité du virus sur le continent africain.

La diversité pathogénique du CABMV a été caractérisée par l'identification de divers types de symptômes de mosaïque. Aucune relation entre cette diversité de symptômes et la variation sérologique n'a pu être mise en évidence. Cette observation est assez fréquente chez les phytovirus (Matthews, 1991). Cela résulterait du fait que les deux types de variabilité sont liés à des déterminants viraux bien distincts. Il s'agit de la protéine de capsid pour ce qui concerne la variation sérologique. Pour la variabilité pathogénique, plusieurs autres protéines sont souvent impliquées à l'exemple de la protéine virale liée au génome VPg, présente chez le CABMV et la protéine HC-Pro chez les potyvirus (Léonard *et al.*, 2000; Mlotshwa *et al.*, 2002). Dans certains cas, des mutations synonymes dans certaines régions du génome viral ont été trouvées responsables de grandes différences pathogéniques (Boulton *et al.*, 1991).

A l'inverse de l'expression des symptômes, l'infectivité du CABMV a été fonction du sérotype viral. Ainsi, certaines espèces de plantes hôtes n'ont pu être infectées que par des sérotypes donnés. Cette relation sérotype-capacité d'infection a même été très spécifique dans le cas de l'espèce *Ficus exasperata*, ayant été infecté uniquement par le sérotype II. Même si le mécanisme de cette spécificité reste peu élucidé, des espèces de plantes comme *F. exasperata* peuvent jouer un rôle très important dans la compréhension des interactions hôte-virus (Matthews, 1991 ; Konaté et Traoré, 1994).

L'ensemble des résultats sur l'épidémiologie de la mosaïque du niébé causée par le CABMV ont montré que la propagation de la maladie se faisait selon le modèle logistique matérialisé par des courbes de progression sigmoïde ou en forme de S (Vanderplank, 1963; Zadoks et Schein, 1979). En conséquence, la mosaïque du niébé appartient au groupe des maladies polycycliques pour lesquelles, l'inoculum viral est utilisé sous le "régime des intérêts composés". En effet, au cours des différents cycles d'infection, les plants infectés pendant un cycle précédent servent de sources d'inoculum pour le cycle suivant.

Les épidémies de mosaïque du niébé ont été particulièrement influencées par quatre facteurs principaux avec des effets plus ou moins marqués et combinés :

- **la variété de niébé.** L'effet de la variété a été très explicite en comparant la progression de la maladie dans une même localité, au cours d'une même année et par utilisation de semences contaminées à des taux semblables (0 et 0,25%). Ainsi, la propagation de la maladie a été très réduite chez les variétés à faible pouvoir de transmission du CABMV par les graines. Or, il n'existe pas de lien direct entre la propagation de la maladie et la capacité à transmettre le virus par graine. En revanche, la propagation de la maladie pourrait être influencée par la résistance de la variété de niébé à l'infection virale (Lima *et al.*, 1981; Taiwo *et al.*, 1982 ; Ndiaye *et al.*, 1993) ou sa résistance aux pucerons vecteurs (Chari *et al.*, 1976; Singh et Allen, 1980). L'infestation des variétés de niébé par les pucerons indique des niveaux de pullulations élevés et similaires chez l'ensemble des variétés de niébé. Cela suggère que les variétés de niébé utilisées ne présentent pas de résistance aux pucerons. Bien que la résistance à l'infection par le CABMV n'ait pas été

explicitement étudiée au cours de ce travail, il est vraisemblable que ce caractère ait été à la base des différences de niveaux de propagation de la maladie pour les différentes variétés de niébé. En effet, la variété TVX3236 a été rapportée comme résistante au CABMV (Somé, 1988). Par ailleurs, la variété KVX61-1 résulte de croisements entre la variété TVX3236 et la variété Gorom local. Nous avons montré que les variétés de niébés utilisées au cours de ce travail se repartissent en deux groupes : (i) variétés à fort pouvoir de transmission du CABMV par les graines de niébé et (ii) variétés à faible capacité de transmission du virus par les graines. Des variétés de niébé semblables à celles du second groupe ont été identifiées par plusieurs auteurs comme résistants à la transmission du CABMV par les graines (Ladipo, 1977; Mali *et al.*, 1983). En somme, les variétés de niébé à faible pouvoir de transmission du CABMV par les graines de niébé utilisées dans ce travail pourraient cumuler la résistance à l'infection virale et la résistance à la transmission du virus par les graines.

- **le taux de contamination des semences.** L'effet du taux de contamination des semences sur la propagation de la maladie a été souvent mitigé, en particulier chez les variétés de niébé à fort pouvoir de transmission du virus par les graines. En l'occurrence, l'effet a été en général d'autant plus significatif que l'écart entre les niveaux de contamination des semences était élevé. Par ailleurs, cet effet a été masqué la plupart du temps pendant les années de fortes épidémies. La difficulté d'observer une propagation de la maladie proportionnellement au taux de contamination des semences traduit sans doute le fait que les moyens de transmissions secondaires du CABMV (notamment les transmissions par pucerons) sont très efficaces (Goodman et Oard, 1980)

- **l'année de culture.** Les variations interannuelles des épidémies de maladies virales des plantes sont fréquentes et les épidémies interviennent de façon erratique (Matthews, 1991). Les résultats obtenus ont montré que cette caractéristique s'applique pleinement au cas de la mosaïque du niébé causée par le CABMV. Les prévisions de production d'une année à l'autre sont alors difficiles à faire en l'absence d'une bonne connaissance de l'épidémiologie virale. Une telle connaissance basée généralement sur l'analyse de modèles épidémiques peut permettre de prévoir les

années de faibles ou fortes épidémies et d'entreprendre des mesures de lutte préventives (Watson *et al.*, 1975).

- **la zone agro écologique.** Bien que le CABMV soit présent dans toutes les zones agro-climatiques, la propagation de la maladie a présenté des différences très significatives entre zones. Les épidémies ont été toujours plus fortes dans la localité de Niangoloko, en zone sud-soudanienne par rapport aux autres zones. Les raisons de la survenue d'épidémies de plus grande ampleur dans cette zone ne sont pas complètement connues. Cependant, les conditions agro-climatiques favorables aussi bien à la croissance des plants et à la multiplication des pucerons vecteurs constituent sans doute des facteurs clés. En effet, des paramètres environnementaux comme l'humidité, la température, la luminosité, la nutrition des plantes, le pH du sol, etc. peuvent significativement influencer le cours des infections virales (Colhoun, 1979).

L'application de traitements insecticides pour contrôler la population de pucerons vecteurs du CABMV a permis de réduire significativement la maladie dans la plupart des cas. Un contrôle plus accru de la maladie a été obtenu en associant le choix du génotype de niébé et du taux de contamination des graines par le CABMV aux traitements insecticides. Néanmoins, dans le souci de réduire les traitements chimiques, il est indispensable de rechercher les dates appropriées d'application des insecticides permettant d'obtenir le meilleur contrôle possible des pucerons au champ. La stratégie de gestion intégrée incluant le bon choix des variétés et des semences de niébé en plus des dates appropriées pour les traitements insecticides devrait permettre d'obtenir un meilleur niveau de contrôle de la maladie. Une composante essentielle de cette stratégie de gestion intégrée de la mosaïque du niébé causée par le CABMV est sans doute le transfert de gènes de résistance à partir des variétés à faible pouvoir de transmission du virus par les graines chez les autres variétés. Le déploiement des variétés issues de ces croisements parallèlement à l'utilisation des autres paramètres de lutte intégrée pourrait permettre de mettre à la disposition des producteurs un paquet technologique de choix pour la production du niébé.

**CONCLUSION GENERALE ET
PERSPECTIVES**

Les résultats obtenus au cours de ce travail apportent de précieuses informations sur divers aspects du maintien et de la dissémination du virus de la mosaïque du niébé transmis par pucerons au Burkina Faso. A la lumière de ces informations les principales conclusions que l'on peut tirer sont les suivantes :

- Le CABMV a été détecté chez le niébé, le voandzou, le sésame et 12 nouvelles espèces hôtes naturels du virus. Ces espèces sont pour la plupart annuelles et pourraient avoir un rôle mineur dans le maintien du virus entre les saisons de culture (Thresh, 1981), sauf si elles sont capables d'assurer la transmission du virus par les semences.

- Au Burkina Faso, le CABMV est présent dans toutes les zones agro-écologiques du pays et cette large distribution géographique peut compromettre la production du niébé et des cultures comme le voandzou et le sésame dans le pays. Il est donc nécessaire de déterminer l'impact du virus sur ces cultures et de rechercher des méthodes de lutte adaptées à chacune d'elles. Cela permettra de prévenir les dégâts importants pouvant subvenir en cas d'épidémies.

- L'étude de la biodiversité du CABMV sous l'angle de la variation sérologique a mis en évidence les sérotypes I, II, III et IV du virus avec une forte prépondérance du sérotype II (plus de 64 %).

- L'étude de la pathogénicité des variants du CABMV a conduit à la distinction de trois pathogroupes chez la variété Gorom local mais aucune relation entre cette diversité de symptômes et la variation sérologique n'a pu être mise en évidence.

- La détection du CABMV dans les graines issues de plants infectés de niébé a permis de mettre en évidence une grande variation de taux de contamination de semences de 0 à 45% entre variétés de niébé. Ce travail a aussi permis de distinguer le groupe des variétés à fort pouvoir de transmission du virus par les graines (Gorom local, Ouahigouya local, Moussa local, K VX414-22-72 , K VX30-309-6G) de celui des variétés à faible pouvoir de transmission du virus par les graines (KN1, TVX3236, K VX65-114, K VX61-1, K VX396-4-52D et K VX745 – 11P).

- La détection du CABMV dans les graines de niébé par ELISA est une méthode qui s'est avérée assez fiable. Le CABMV a été détecté avec succès aussi bien dans les graines entières que dans les fragments de graines et toutes les

graines séropositives ont conduit à l'obtention de plantules infectées avec expression de symptômes de mosaïque. Cependant, des plantules infectées en nombre très limité ont aussi été obtenues de certaines graines sero-négatives, indiquant ainsi des teneurs en virus en dessous du seuil de détection par le test ELISA.

- L'ensemble des résultats sur l'épidémiologie de la mosaïque du niébé causée par le CABMV a montré que la propagation de la maladie se faisait selon le modèle polycyclique et quatre facteurs principaux (Variété de niébé, taux de contamination initiale, zone agro écologique et année) ont influencé la propagation de la maladie. Le développement de la maladie est plus rapide et élevé à Niangoloko, moyen à Sapouy et faible à Somnawaye.

- L'application de traitements insecticides pour contrôler la population de pucerons vecteurs du CABMV a permis de réduire significativement la maladie dans la plupart des cas.

Dans la perspective de mieux comprendre ce virus il faut :

- Rechercher le virus dans les graines des espèces hôtes naturels et chez *D. oliveri* pendant la saison sèche.
- Etudier la variabilité moléculaire du CABMV et séquencer les différents isolats.
- Développer une stratégie de gestion intégrée qui prend en compte le bon choix des variétés et des semences de niébé en plus des dates appropriées pour les traitements insecticides pour permettre d'obtenir un meilleur niveau de contrôle de la maladie.

A partir des résultats de ces travaux, la stratégie de lutte intégrée serait le bon choix de la variété, la qualité phytosanitaire de la semence et un traitement contre les pucerons entre 17 et 24 JAS chez les variétés à fort pouvoir de transmission du virus par les graines et entre 24 et 31 JAS chez les variétés à faible pouvoir de transmission du virus par les graines.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- ABOUL-ATA A. E., ALLEN D. J., THOTTAPPILLY G. et ROSSEL H.G., 1982.** Variation in the rate of seed transmission of *Cowpea aphid-borne mosaic virus* in cowpea. *Tropical Grain Legume Bulletin* **25**, 2- 7.
- AGGARWAL V. D. et OUEDRAOGO T. J., 1989.** Estimation of cowpea yield loss from *Striga* infestation. *Tropical Agriculture*, **66** ,91-92.
- AHEER G. M., MUNIR M. et ALI A., 2007.** Impact of weather factors on aphids population in wheat. *Journal of Agricultural Research*. **45**, 61-67.
- ALABI O., 1994.** *Epidemiology of Cowpea brown blotch induced by Colletotrichum capsici and assessment crop losses due to the diseases*. PhD thesis. Ahmadu Belo University, Zaria, Nigeria , 95 p.
- ALABI O. Y., ODEBIYI J. A. et TAMO M., 2004.** Effect of host plant resistance in some cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) cultivars on growth and developmental parameters of the flower bud thrips, *Megalurothrips sjostedti* (Trybom). *Crop Protection*, **23**, 83-88.
- ALLEN D. J., 1983.** The pathology of tropical food legume. *Disease resistance in crop improvement*. John Wiley and sons , Chichester,UK, pp 413.
- ALONGE S. O., LAGOKE S.T.O., et AJAKAIYE C.O., 2001.** Cowpea reactions to *Alectra vogelii* I: Effect on growth. *Crop Protection*, **20**, 283-290.
- ALONSO-PRADOS J.L., LUIS-ARTEAGA M., ALVAREZ J.M., MORIONES E., BATILLE A., LAVINA A., GARCIA-ARENAL F. et FRAILE A., 2003.** Epidemics of aphid-transmitted viruses in melon crops in Spain. *European Journal of Plant Pathology* , **109**,129-138.
- ANDERSON E. J., KLINE A. S., KIM K. S., GOEKE S. C. et ALBRITON C. W., 1994.** Identification of *Cowpea stunt disease* in south-central Arkansas. *Arkansas Farm Research*, **43**, 14-15.
- ANONYME, 1993.** *Atlas du Burkina Faso* Edit. Jeune Afrique, Paris, 54 p.
- ANONYME, 2006.** La lutte intégrée contre les ennemis des cultures, outil de lutte contre le dépérissement du Kava. Fiche technique, secrétariat général de la communauté du pacifique (CPS), 4 p.

- ARAMBURU J., GALIPIENSO L. et LOPEZ C., 2007.** Reappearance of *Cucumber mosaic virus* Isolates Belonging to Subgroup IB in Tomato Plants in North-eastern Spain. *Journal of Phytopathology* ,**155**, 513–518.
- ATIRI G. I., 1982.** *Virus - vector-host relationship of Cowpea aphid-borne mosaic virus in cowpea (Vigna unguiculata (L.) Walp.)*. Ph.D. Thesis, University of Ibadan .
- ATIRI G.I., ERPO I. J.A. et THOTTAPPILLY G., 1984.** The effect of aphid resistance in cowpea on infestation and development of *aphis craccivora* and the transmission of *Cowpea aphid borne mosaic virus*. *Annals of Applied Biology* , **104**, 339-346.
- ATIRI G.I., NJUKENG A.P. et EKPO E.J.A., 2000.** Climate in Relation to Plant Virus Epidemiology and Sustainable Disease Management in West Africa. *Journal of Sustainable Agriculture*, **16**, 17-30.
- ATSEBEHA S., ALEMU T., AZEREFEGNE F. et ADDIS T., 2009.** Population dynamics of aphids and incidence of Ethiopian *Pepper mottle virus* in the Central Rift Valley of Ethiopia. *Crop Protection*, **28**, 443–448
- BAKER R., 1971.** Inoculum potential. Pages 137-157 in: *Plant Disease an Advanced Treatise*, Volume II: How Disease Develops in Populations. Edited by HORSFALL G. J. et COWLING B.E., Academic press New York.
- BAR- JOSEPH M. et GARNSEY S. M., 1981.** Enzyme-link immunosorbent assay (ELISA): Principles and applications for diagnosis of plant virus. Pages 35-59 in: Maramorosch K., Harris K. F. (eds). *Plant diseases and vectors ecology and epidemiology*, Academic Press Inc. New York, USA.
- BASHIR M. et HAMPTON R.O., 1994.** Seed and aphid transmission of some isolates of blackeye cowpea mosaic and cowpea aphid-borne mosaic potyviruses. *Pakistan Journal of Phytopaphology*, **6**, 140-146.
- BASHIR M. et HAMPTON R.O., 1995.** Purification and electron microscopy of some isolates of Blackeye cowpea mosaic and Cowpea aphid-borne mosaic potyviruses isolates. *Pakistan Journal of Botanic*, **27**, 243-249.
- BASHIR M. et HAMPTON R.O., 1996.** Serological and biological comparisons of blackeye cowpea mosaic and cowpea aphid-borne mosaic potyvirus isolates seed borne in (*Vigna unguiculata (L.) Walp.*) germplasm. *Journal of Phythopathology*, **144**, 257-263.

BASHIR M. et HASSAN S., 1998. *Diagnostic Methods of Plant Viruses.* Islamabad:Pakistan Agriculture Research Concl.

BASHIR M., 1995. Seed-borne viruses of legume crops: Symptomatology, epidemiology, detection and control. Pages 31- 47 in: S. I. Ahmed (ed.), *Legume Seed Health testing: Proceedings of the Training Course on Legume Seed Health Testing*, 4 ± 20 March 1995, organized in collaboration with ICARDA, Aleppo, Syria, and the Federal Seed Certification Department, Ministry of Food, Agriculture and Livestock (Islamabad: Government of Pakistan).

BASHIR M., HAMAD Z. et GHAFOR A., 2002. Cowpea aphid-borne mosaic potyvirus: a review. *International Journal of Pest Management*, **48**, 155-168.

BEHNCKEN G. M. et MALEEVSKY L., 1977. Detection of cowpea aphid-borne mosaic virus in Queensland. *Australian Journal of Experimental Agriculture and Animal Husbandry* , **17**, 674 – 678.

BEVERIDGE W. I., 1991. The chronicle of influenza epidemics. *Hist Philos Life Sci*, **13**, 223-234.

BHATTACHARYA S., BANERJEE R., GHOSH R., CHATTOPADHAYAY A.P. et CHATTERJEE A., 2005. Studies of the outbreaks of foot and mouth disease in West Bengal, India, between 1985 and 2002. *Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz.* **24**, 945-952.

BICOUT D.J., et ARTOIS M., 2005. Rage canine erratique en europe : risque d'épidémie/épizootie, *Epidémiologie et Santé Animale*, **47**, 93-101.

BOCK K. R., 1973. Est African strains of cowpea aphid-borne mosaic virus. *Annals of Applied Biology* **74**, 75-83.

BOCK K. R. et CONTI M., 1974. Cowpea aphid-borne mosaic virus. Kew, UK, CMI (Commonwealth Mycological Institute), CMI/AAB *Description of plant viruses*, 134 p.

BOS L., 1970. The identification of three new viruses isolated from vistera and pisum in the Netherlands, and the problem of variation within the potato virus y group. *Netherlands Journal of Plant Pathology*, **76**, 8-46.

BOS L., 1981. Wild plants and the ecology of virus diseases. Pages 1-13 in: Maramorosch K., Harris K. F. (eds). *Plant diseases and vectors: ecology and epidemiology.* Academic press, New York.

- BOTTENBERG H., TAMO M., ARODOKOUN D., JACKAI L.E.N., SINGH B.B. et YOUM O., 1997.** Population dynamics and migration of cowpea pests in northern Nigeria: implication for integrated pest management pages 271-284 in: *Advances in cowpea research*.
- BOULTON M.I., KING D.I., DONSON J. et DAVIES J.W., 1991.** Point substitutions in a promoter-like region and the V1 gene affect the host range and symptoms of maize streak virus. *Virology* , **183**, 114-121.
- BOWERS G. R. JR et GOODMAN R. M., 1979.** Soybean mosaic virus: infection of soybean seed parts and seed transmission. *Phytopathology* , **69**, 569-572.
- BROWNING J. A., SIMONS M. D. et TORRES E., 1977.** Managing host genes: epidemiologic and genetic concepts, pages 191-212 in: *Plant Disease an Advanced Treatise 1*. Edit. HORSFALL J. G. and COWLING E. B. Academic press New York.
- CAMPBELL C.L. et MADDEN L.V., 1990.** *Introduction to plant disease epidemiology*. John Wiley & Sons, New York, 532 p.
- CHANT S. R., 1959.** Viruses of cowpea, (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) in Nigeria. *Annals of Applied Biology*, **47**, 565 – 572.
- CISSE N., NDIAYE M., THIAW S. et HALL A. E., 1997.** Registration of a “Melakh” cowpea. *Crop Science*, **37**, 63-71.
- CLARK M. F. et ADAMS A. N., 1977.** Characteristics of the microplate method of enzyme linked immunosorbent assay for the detection of plant viruses. *Journal of General Virology*, **34**, 475-483.
- COLHOUN J., 1979.** Predisposition by the environment. Pages 75-96 in: Horsfall JG, Cowling EB (eds). *Plant disease, an advanced treatise*, volume 4: How pathogens induce diseases. Academic Press, New York .
- DABIRE B.L.C., 1990.** Contribution à l'étude des problèmes phytosanitaires du niébé au Burkina. Lutte intégrée contre les ennemis des cultures vivrières dans le sahel. INSAH. Séminaires et Colloques **1**, 295-304.
- DADDARIO-DICAPRIO K. M., GEISBERT T. W., GEISBERT J. B., STROHER U., HENSLEY L. E., GROLLA A., FRITZ E. A., FELDMANN F., FELDMANN H. et JONES S. M., 2006.** Cross-Protection against *Marburg Virus Strains* by Using a Live, Attenuated Recombinant Vaccine, 9659-9666.

DE ASSIS FILHO F. M. et SHERWOOD J. L., 2000. Evaluation of seed transmission of Turnip yellow mosaic virus and Tobacco mosaic virus in *Arabidopsis thaliana*. *Phytopathology*, **90**, 1233-1238.

Direction générale de planification et des statistiques agricoles (DGPSA), 2004. Evolution des rendements de 1984 à 2004. MAHRA. Ouagadougou Burkina Faso, 35 p.

DIALLO H. A., ANDERSON E. J. et GERGERICH R. C., 2008. Mixed infection with stunt-associated isolates of *Blackeye cowpea mosaic virus* and *Cucumber mosaic virus* cause cowpea stunt. *African Journal of Plant Science and Biotechnology*, **2**. 72-76.

DINANT S. et LOT H. , 1992. Lettuce mosaic virus. *Plant Pathology*, **41**, 528-542.

DRABO, I., 1981. *Inheritance of some seeds qualities in the cowpea (Vigna unguiculata (L.) Walp.)*. Master of Philosophy. University of Ibadan, Nigeria, 147 p.

EKPO E. J. A., 1978. Effect of *Xanthomonas vignicola* on the yield of cowpea (*Vigna unguiculata*). *African Journal of Agricultural Science*, **5**, 67-69.

EMECHEBE A. M et SHOYINKA S. A., 1985. Fungal and bacterial diseases of cowpeas in Africa. Pages 173-192 in: *Cowpea research, production and utilization*. Edit. SINGH S. R. and RACHIE K. O., JOHN WILEY and SONS Ltd.

EMECHEBE A. M. et FLORINI D. A., 1997. Shoot and pod diseases of cowpea induced by fungi and bacteria. Pages 176-192 in: *Advances in cowpea research*, edited by B. B. Singh, D. R. MOHAN RAJ, K. E. DASHIELL and L. E. N. JACKAI. Copublication of International Institute of Tropical Agriculture (IITA) and Japan International Research Center for Agricultural Sciences (JIRCAS). IITA, Ibadan, Nigeria.

ESTAY S., LIMA M. et HARRINGTON R., 2008. Climate mediated exogenous forcing and synchrony in populations of the oak aphid in the UK. *Oikos* **118**, 175-182.

FAO STA, 2000. Production végétale, quantité produite et superficies emblavées :[http:// faostat.fao.org](http://faostat.fao.org)

FAO STA, 2006. Production végétale, quantité produite et superficies emblavées :[http:// faostat.fao.org](http://faostat.fao.org)

FAUQUET C. M., MAYO M. A., MANILOFF J., DESSELBERGER U. et BALL L. A., 2005. *Virus taxonomy. Eighth Report of the International Committee on taxonomy of Viruses.* Elsevier Academic Press, San Diego, 1259 p.

FERRARI M.J., GRAIS R.F., BHARTI N., CONLAN A.J. K., BJØRNSTAD O.N., WOLFSON L. J., GUERIN P. J., DJIBO A. et GRENFELL B.T., 2008. The dynamics of measles in sub-Saharan Africa. *Nature*, **451**, 679-684

FISCHER H.U. et LOCKHART B. E. 1976. A strain of cowpea aphid-borne mosaic virus isolated from cowpeas in Morocco. *Phytopathologische Zeitschrift*, **83**, 43-48

FISHER M. L. et KYLE M. M., 1994. Inheritance of resistance to potyviruses in *Phaseolus vulgaris* L. 111. Cosegregation of phenotypically similar dominant responses to nine potyviruses. *Theoretical and Applied Genetics*, **89**, 7-8.

FISHER M. L. et KYLE M. M., 1996. Inheritance of resistance to potyviruses in *Phaseolus vulgaris* L. 1v. Inheritance, linkage and environment relation to four potyviruses. *Theoretical and Applied Genetics*, **92**, 204-212.

FREITAS D. S., MAIA I. G., ARRUDA P. et VEGA J., 2002. Molecular characterisation and evolutionary relationships of a potyvirus infecting *Crotalaria* in Brazil. *Archives of Virology*, **147**, 411-417.

FRISON E. A., 1988. Les viroses du niébé dans le sahel. *FAO Plant Protection Bulletin*, **36**, 9-18.

GARCIA-ARENAL F. et McDONALD B. A., 2003. An analysis of the durability of resistance to plant viruses. *Phytopathology*, **93**, 941-952.

GILLASPIE A. G., J R, HOPKINS M. S. et PINNOW D. L., 1993. Relationship of cowpea seedpart infection and seed transmission of blackeye cowpea mosaic potyvirus in cowpea. *Plant Disease*, **79**, 875-877

GILLASPIE A. G., J R, HOPKINS M. S., PINNOW D. L. et HAMPTON R. O., 1994. Seedborne virus in preintroduction cowpea seed lots and establishment of virus-free accessions. *Plant Disease*, **79**, 388-391.

GILLASPIE A. G., J R, PITTMAN R.N., PINNOW D. L., et CASSIDY B.G., 2000. Sensitive method for testing peanut seed lots for peanut stripe and peanut mottle viruses by immunocapture-reverse transcriptase –polymerase chain. *Plant Disease*, **84**, 559-561.

- GOMEZ P., RODRIGUEZ-HERNANDEZ A., MOURY B. et ARANDA M., 2009.** Genetic resistance for the sustainable control of plant virus diseases : breeding, mechanisms and durability. *Europe Journal Plant Pathology*, **125**, 1-22.
- GOODMAN R. M. , OARD J. H., 1980.** Seed transmission and yield losses in tropical soybean infected by soybean mosaic virus. *Plant Disease*, **64**: 913-914.
- GROGAN R. G., WELCH J. E. et BARDIN R., 1952.** Common lettuce mosaic and its control by the use of mosaic-free seed. *Phytopathology* , **42**, 573-578.
- GUMEDZOE M. Y. D., 1993.** Principaux virus du niébé (*Vigna unguiculata* (L.) Walp) au Togo. *Cahiers Agricultures*, **2**, 352-355.
- HAMPTON R. O., THOTTAPPILLY G. et ROSSEL H. W., 1997.** Viral diseases of cowpea and their control by resistance-conferring genes, pages 159-175 in: *Advances in cowpea research*. Edit. SINGH B. B., MOHAN RAJ D. R., DASHIELL K. E. and JACKAI L. E. N., IITA and JIRCAS,
- HAMPTON R.O., et THOTTAPPILLY G. 2003.** Cowpea. Pages 355-376 in: Loebenstein G; Thottappilly G. (eds). *Virus and virus-like diseases of major crops in developing countries*. Kluwer Academic Publishers.
- HUGUENOT C., FURNEAUX M. T., THOTTAPPILLY G., ROSSEL H. W. et HAMILTON R. I., 1993.** Evidence that *cowpea aphid-borne mosaic* and *blackeye cowpea mosaic virus* are two different potyviruses. *Journal of General Virology*, **74**, 335-340.
- HUGUENOT C., FURNEAUX M. T. et HAMILTON R. I., 1994.** Capsid protein properties of *Cowpea aphid-borne mosaic virus* and *blackeye cowpea mosaic virus* confirm the existence of two major subgroups of aphid-transmitted legume-infecting potyviruses. *Journal of General Virology*, **75**, 3555-3560.
- HUGUENOT C., FURNEAUX M. T., CLARE J. A. et HAMILTON R. I., 1996.** Improved diagnosis of cowpea aphid-borne mosaic virus in Africa :significance for cowpea seed indexing, breeding programs and potyvirus taxonomy. *Archives of Virology*, **141**,137-145.
- HUGUENOT C., FURNEAUX M. T. et HAMILTON R. I., 1997.** Further characterization of *Cowpea aphid-borne mosaic* and *blackeye cowpea mosaic* potyviruses. Pages 231-239 in: *Advances in cowpea research*, edited by B. B. Singh,

D. R. MOHAN RAJ, K. E. DASHIELL and L. E. N. JACKAI. Copublication of International Institute of Tropical Agriculture (IITA) and Japan International Research Center for Agricultural Sciences (JIRCAS). IITA, Ibadan, Nigeria.

IITA, 1989. Cowpea Research. International Institute of Tropical Agriculture-*Grain Legume Improvement Program* , **1**, 1-19.

Index phytosanitaire, 1998. Association de coordination technique Agricole.34^e édition, Paris, 598 p.

IRWIN M.E et GOODMAN R. M., 1981. Ecology and control of soybean mosaic virus, pages 181-220 in: *plant diseases and vectors: Ecology and Epidemiology*, edited by MARAMOROSCH K. and HARRIS K. F, Academic press New York.

IRWIN M.E. et RUESINK W.G., 1986. Vector intensity: a product of propensity and activity pages 13-33 in: *McLean G.D., Garrett R.G., Ruesink W.G. (Eds). Plant Virus epidemics: Monitoring, modelling and Predicting Outbreaks.* Academic Press, Sydney.

JACKAI L.E.N., SINGH S.R., RAHEJA A.K. et WIEDIJK F., 1985. Recent trends in the control of cowpea pests in Africa. Pages 233-243 in: *Cowpea research, production and utilization*, edited by S. R. SINGH and K.O. RACHIE. John Wiley and sons, Chichester,UK.

JACKAI L.E.N. et SINGH S.R., 1988. Screening techniques for host plant resistance to insect pests of cowpea. *Tropical Grain Legume Bulletin*, **35**, 2-18.

JOHANSEN E., MICHAEL C. E., et HAMPTON R.O., 1994. Seed transmission of viruses :Current perspectives. *Annual Reviews Phytopathology*, **32**, 363-386.

KAISER W. J. et MOSSAHEBI H., 1975. Studies with cowpea aphid-borne mosaic virus and its effect on cowpea in Iran. *FAO Plant Protection Bulletin*, **27**, 27 –30.

KANNAIYAN J. et HACIWA H. C., 1993. Diseases of food legume crops for the scope of their management in Zambia. *FAO Plant Protection Bulletin*, **41**, 73-90.

KAREEM K. T. et TAIWO M. A., 2007. Interaction of viruses in cowpea: effects on growth and yield parameters. *Virology Journal*, **4**, 15-21.

KITAJIMA E. W., DE ALÂNTARA B. K., MADUREIRA P. M., ALFENAS-ZERBINI P., REZENDE J. A. M, et ZERBINI F. M., 2008. A mosaic beach bean (*Canavalia*

rosea) caused by an isolate of cowpea aphid-borne mosaic virus in Brazil. *Archives of Virology*, **153**, 743-747.

KOENIG R. 1988. Serology and Immunochemistry. Pages 111-158 in: Milne RG (eds). *The plant viruses*, volume 4: the filamentous plant viruses. Plenum Press, New York.

KONATE G. et NEYA B. J., 1996. Rapid detection of cowpea aphid-borne mosaic virus in cowpea seeds. *Annals of Applied Biology*, **129**, 261-266.

KONATE G. et 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.

KOUAKOU K. C., ROY-MACAULEY H., GUEYE C. M., OTTO M. C., RAMI J. F., CISSE N. et PASQUET S. R., 2007. Diversité génétique des variétés traditionnelles de niébé (*Vigna unguiculata* (L) Walp.) au Sénégal: étude préliminaire. *Plant Genetic Resources Newsletter*, **152**, 33-44.

LAAMARI M., KHELFA L. et CŒUR d'ACIER A., 2008. Resistance source to cowpea aphid (*Aphis craccivora* Koch) in broad bean (*Vicia faba* L.) Algerian landrace collection. *African Journal of Biotechnology*, **14**, 2486-2490.

LADIPO J. L. et ALLEN, D. J., 1979. Identification of resistance to southern bean mosaic virus in cowpea. *Tropical Agriculture* (Trinidad), **56**, 33-40.

LADIPO J. L., 1976. A vein banding strain of cowpea aphid-borne mosaic virus in Nigeria. *Nigerian Journal of Sciences*, **10**, 77-88.

LADIPO J. L., 1977. Seed transmission of cowpea aphid-borne mosaic virus in some cowpea cultivars. *Nigerian Journal of Plant Protection*, **3**, 3-10.

LANGYINTUO A. S., LOWENBERG-DEBOER J., LAMBERT D., IBRO G., MOUSSA B., KERGNA A., KUSHWAHA S., MUSA S. et NTOUKAM G., 2003. Cowpea supply and demand in West and Central Africa. *Field Crops Research*, **82**, 215-231.

LAVIÑA A., GARCÍA-ARENAL F. et FRAILE A., 2003. Epidemics of Aphid-transmitted Viruses in Melon Crops in Spain. *European Journal of Plant Pathology* **109**, 129–138.

- LEONARD. S., PLANTE. D., WITTMANN. S., DAIGNEAULT. N., FORTIN. M. G. et LALIBERTE J. F., 2000.** Complex formation between potyvirus VPg and translation eukaryotic initiation factor 4E correlates with virus infectivity. *Journal of Virology* **74**, 7730–7737.
- LEPOIVRE P., 1989.** Epidémiologie des maladies parasitaires des végétaux. Pages 323-360 In : *Traité de pathologie végétale*. Presses Agronomique de Gembloux .
- LEUNG H., ZHU Y., REVILLA-MOLINA I., FAN J. X., CHEN H., PANGGA I., VERA-CRUZ C. et MEW TW, 2003.** Using genetic diversity to achieve sustainable rice disease management. *Plant Disease* **87**, 1156-1169.
- LIMA J. A. A., PURCIFULL D. E. et HIEBERT E., 1979.** Purification, partial characterisation and serology of blackeye cowpea mosaic virus. *Phytopathology* **69**, 1252-1258.
- LIN M., T. et RIOS G., P., 1985.** Cowpea diseases and their prevalence in Latin America. Pages 199-207 in: *Cowpea research, production and utilization*, edited by S. R. SINGH and K.O. RACHIE. John Wiley and sons, Chichester, UK.
- LISTER R. M. et THRESH J. M., 1955.** A mosaic disease of leguminous plant caused by a strain of tobacco mosaic virus. *Nature*, **115**, 1047-1053.
- LOVISOLO O. et CONTI M., 1966.** Identification of an aphid-transmitted cowpea mosaic virus. *Netherlands Journal of Plant Pathology*, **72**, 265-269.
- MALI V. R., KHALIKAR P. V. et GAUSHAL D. H., 1983.** Seed transmission of poty and cucumoviruses in cowpea in India. *Indian Phytopathology*, **36**, 345-351.
- MALI V. R., PATIL F. S. et GAUSHAL D. H., 1981.** Immunity and resistance to bean yellow mosaic, cowpea aphid-borne mosaic and tobacco ringspot viruses in cowpea. *Indian Phytopathology*, **34**, 521-522.
- MARFO K. O., 1985.** Evolving insect pest resistant cowpea varieties in Ghana. *Insect Science and its Application*, **6**, 385-388.
- MATTHEWS R.E.F., 1991.** Pages 339-422 in: *Plant Virology*. Third edition. Academic Press, San Diego.
- MAULE J. et WANG D., 1996.** Seed transmission of plant viruses: a lesson of biological complexity. *Trends in Microbiology*, **4**, 153-158.

MAYO M., 2000. The current classification of plant virus genera. On line : [http : //www.scri. sari.ac.ak/vir/ictv /ictvhome.htm](http://www.scri.sari.ac.ak/vir/ictv/ictvhome.htm).

MacDONALD B. A. et LINDE C., 2002.The population genetics of plant pathogens and breeding strategies for durable resistance. *Euphytica*, **124**, 163-183.

McKERN N. M., STRIKE P. M., BARNETT O. W., DIJKSTRA J., SHUKLA D. P. et WARD C. W., 1994. Cowpea aphid-borne mosaic virus-Morocco and South African Passiflora virus are strains of the same potyvirus. *Archives of virology*, **136**, 207-21.

MESSIAEN C. M., BLANCARD D., ROUXEL F. et LAFON R., 1991. *Les maladies des plantes maraîchères* INRA, Paris 552 p.

MINK G. I. et SIBERNAGEL M. J., 1992. Serological and biological relation ships among vviruses in the bean common mosaic virus subgroup. *Archives of virology suppl.*, **5**, 397-406.

MLOTSHWA S., VERVER J., SITHOLE-NIANG I., PRINS M., VAN KAMMEN A.B., et WELLINK J., 2002. Transgenic plants expressing HC-Pro show enhanced virus sensitivity while silencing of the transgene results in resistance. *Virus Genes* **25**, 45-57.

MLOTSHWA S., VERVER J., SITHOLE-NIANG I., VAN KAMPEN T., VAN KAMMEN A. et WELLINK J., 2002. The genomic sequence of cowpea aphid-borne mosaic virus and its similarities other potyvirus. *Archives of virology*, **147**, 1043-1052.

MOURY B., MOREL C., JOHANSEN E., GUILBAUD L., SOUCHE S., AYME V., R., CARANTA C., PALLOIX A. et JACQUEMOND M., 2004. Mutations in Potato virus Y Genome-Linked Protein Determine Virulence Toward Recessive Resistances in *Capsicum annuum* and *Lycopersicon hirsutum* , 322-329.

MULEBA N., OUEDRAOGO J.T. et DABIRE C., 1997. Improving the efficiency in breeding for adaptation in semi-arid tropics. *African Crop Science Journal*, **5**, 325-340.

NASCIMENTO A. V. S., SANTANA E. N., BRAZ A. S. K., ALFEMAS P. F., PIORIBEIRO G., ANDRADE G. P., DE CARVALHO M. G. et ZERBINI F. M., 2006. Cowpea aphid-borne mosaic virus (CABMV) is widespread in passionfruit in

Brazil and causes passionfruit woodiness disease. *Archives of Virology*, **151**, 1797-1809.

NASCIMENTO A.V.S., SOUZA A.R.R., ALFENAS P.F., ANDRADE G.P., CARVALHO M.G., PIO-RIBEIRO G. et ZERBINI F.M., 2004. Phylogenetic analysis of potyvirus isolates causing passionfruit woodiness in Brazil. *Fitopatologia Brasileira*, **29**,378-383.

NDIAYE M., BASHIR M., KELLER K.E. et HAMPTON R.O., 1993. Cowpea Virus in Senegal, West Africa : identification, distribution, seed transmission, and sources of genetic resistance. *Plant Disease*, **77**, 999-1003.

NEYA B. J., 2002. *Variabilité sérologique et aspects épidémiologiques du virus de la mosaïque du niébé (Vigna unguiculata (L.) WALP.) transmis par des pucerons au Burkina Faso.* Mémoire de D.E.A., Université de Ouagadougou, 46 p.

NG J. C. K., et PERRY K. L., 2004. Transmission of plant viruses by aphid vectors. *Molecular Plant Pathology*, **5**, 503-511.

Ng, N. Q. et MARECHAL R., 1985. Cowpea taxonomy, origin and germplasm, pages 11-21 in: *Cowpea Research, Production and Utilization.* Edit. SINGH S. R. and RACHIE K. O., JOHN WILEY and SONS Ltd.

NICAISE V., GERMAN-RETANA S., SANJUAN R., DUBRANA M-P., MAZIER M., MAISONNEUVE B., CANDRESSE T., CARANTA C. et LEGALL O., 2003. The Eukaryotic Translation Initiation Factor 4E Controls Lettuce Susceptibility to the Potyvirus Lettuce mosaic virus, 1272-1282.

NKANSAH-POKU J. et HODGSON J., 1995. Interaction between aphid resistant cowpea cultivar, three clones of cowpea aphid and the effect of two light intensity regimes on this interaction. *International Journal of Pest Management*, **41**, 161-165.

ODEDARA O. O., HUGHES d'A., ODEBODE A. C. et ODO B. O., 2008. Multiple virus infections of lablab (*Lablab purpureus* (L.) Sweet) in Nigeria. *Journal of General Plant Pathology*, **74**,322-325.

OMBAKHO G. A., TYAGI A. P. et PATHAK R. S., 1987. Inheritance of resistance to the cowpea aphid in cowpea. *Theoretical and Applied Genetics*, **74**, 817-819.

- OMOTUNDE C. T., 1987.** A note on the effect of “*Xanthomonas* sp.” On morphology and yield of cowpea (*Vigna unguiculata* (L) Walp.). *Est African Agricultural and Forestry Journal*, **52**, 298-299.
- OUEDRAOGO S., KY E. et DIALLO B., 1996.** Diagnostic sur la filière Niébé: contraintes et potentialités. INERA/CEDRES 34 p.
- OUEDRAOGO T.J., DRABO I., TIGNEGRE J.B., DABIRE C., SEREME P. et KONATE G., 2008.** Fiches techniques niébé. CNRST/INERA, Ouagadougou.
- PADULOSI S., 1993.** *Genetic diversity, taxonomy and ecogeographic survey of the wild relatives of cowpea (Vigna unguiculata (L) Walp.)*. PhD thesis. Université catholique de Louvain- la- Neuve, Belgique.
- PADULOSI S. et Ng N.Q., 1997.** Origin, taxonomy and morphology of (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.). Pages 1-12 in: *Advances in cowpea research*, edited by B. B. Singh, D. R. MOHAN RAJ, K. E. DASHIELL and L. E. N. JACKAI. Copublication of International Institute of Tropical Agriculture (IITA) and Japan International Research Center for Agricultural Sciences (JIRCAS). IITA, Ibadan, Nigeria.
- PANDEY R. K., 1987.** *A farmer's primer on growing cowpea on Riceland*. IITA (eds) 218 p.
- PAPPU H. R., PAPPU S. S. et SREENIVASULU P., 1997.** Molecular characterization and interviral homologies of a potyvirus infecting sesame (*Sesamum indicum*) in Georgia. *Archives of Virology*, **142**, 1919-1927.
- PATEL P. N., MILOGI J. K., LEYA H. K., KUWITE C. et MMBAGA E. T., 1992.** Sources of resistance inheritance and breeding of cowpea for resistance to a strain of cowpea aphid-borne mosaic virus from Tanzania. *Indian Journal of Genetics*, **42**, 221-229.
- PEDIGO L.P., 1989.** *Entomology and pest management*. Prentice-Hall, Englewoods Cliffs, New Jersey, USA, 646 p.
- PHATAK H. C., 1974.** Seed-borne plant viruses: Identification and diagnosis in seed health testing. *Seed Science and Technology*, **2**, 3-155.
- PIO-RIBEIRO G, WYATT S. D. et KUHN C. W., 1978.** Cowpea Stunt: a disease caused by a synergistic interaction of two viruses. *Phytopathology*, **68**, 1260- 1265.

- PIO-RIBEIRO G., PAPPU S. S., PAPPU H. R., ANDRADE G. P., et REDDY D. V. R., 2000.** Occurrence of Cowpea aphid-borne mosaic virus in peanut in Brazil. *Plant Disease*, **84**, 760-766.
- PIPER C. V., 1913.** The wild prototype of the cowpea. *US Bureau of plant Industry, Soils and Agricultural Engineering Circular*, **124**, 29-32.
- PURCIFULL D. et GONSALVES D., 1985.** *Black eye cowpea mosaic virus*. Kew, UK, CMI (Commonwealth mycological Institute), CMI/AAB *Descriptions of plant viruses* 305 p.
- RACHIE K. O. et ROBERTS L. M., 1974.** Grain Legumes of the Lowland Tropics. *Advanced in Agronomy*, **26**, 1-32.
- RAHEJA et LELEJI, 1974.** An aphid-borne virus disease of irrigated cowpeas in northern Nigeria. *Plant Disease*, **58**, 1080-1084.
- RAWAL K. M., 1975.** Natural hybridization among weedy and cultivated *vigna unguiculata* (L) Walp. *Euphytical*, **24**, 699-707.
- REEVES W. H., 1983.** *Le niébé*. International Institute of Tropical Agriculture. Ibadan Nigeria, 170 p
- REZENDE J.A.M., URBAN L., MELGHER U. et SHERWOOD J.L., 1992.** Host Effect on Cross Protection Between Two Strains of Tobacco Mosaic Virus. *Journal of Phytopathology*, **136**, 147-153.
- ROBERTS J. M. F., THOTTAPPILLY G. et HODGSON C. J., 1993.** The ability of aphids *craccivora*, *A. gossypii* and *A. citricola* to transmit single and mixed viruses to cowpeas. *Journal of Phytopathology*, **138**, 164-170.
- ROBERTSON D. G., 1966.** *Seed-borne virus of cowpea in Nigeria*. B. Sc. Thesis, Oxford University .
- ROSSEL H. W. et THOTTAPPILLY G., 1985.** *Virus diseases of important food crops in tropical Africa*. International Institute of Tropical Agriculture. Ibadan Nigeria, 21-39.
- ROSSEL H. W. et THOTTAPPILLY G., 1990.** Possible dependence of geographical distribution of virus diseases of cowpea in African agro ecological parameters. Pages 33-37 in: D. J. Allen (ed.), *proceedings of a working group meeting on virus diseases of beans and cowpeas in India*. CIAT, Africa Workshop Series N° 13 (Call: Centro International de Agricultura tropical).

- ROSSEL H. W., 1977.** Preliminary investigations on the identity and ecology of legume virus diseases in northern Nigeria. *Tropical Grain Legume Bulletin*, **8**, 41-46.
- ROTEM J., COHEN Y. et BASHI E., 1978.** Host and environmental influence on sporulation in vivo. *Annual Review Phytopathology*, **16**, 83-101.
- RYDER E. J., 1973.** Seed transmission of lettuce mosaic virus in mosaic resistant lettuce. *Journal of American Society of Horticultural Science*, **98**, 610-614.
- SEMAL J. et VANDERVEKEN J. 1989.** Modalités de transmission des phytovirus. Pages 303-321 In : *Traité de pathologie végétale*. Presses Agronomique de Gembloux .
- SEREME P., 1985.** *Contribution à la lutte contre Colletotrichum capsici (SYD) Butler & Bisby sur le niébé, Vigna unguiculata (L.) Walp., par l'amélioration des connaissances sur les relations hôte-parasite*. Thèse, université de Rennes 175 p .
- SHIRSHIKAR S.P., 2008.** Integrated Management of Sunflower Necrosis Disease. *Helia*, **31**, 27-34.
- SINGH B.B., MOHAN RAJ D.R., DASHILL K.E. et JACKAI L.E.N., 1997.** *Advances in cowpea research*. Co publication of International Institute of Tropical Agriculture (IITA) and Japan International Research Center Agricultural Sciences (JIRCAS), 375 p.
- SINGH B.B., THOTTAPPILLY G. et ROSSEL H. W., 1987.** Breeding for multiple virus resistance in cowpea. *Agronomy Abstracts*, 79 p.
- SINGH S. R. et JACKAI L.E.N., 1985.** Insect pests of cowpea in africa : Their life cycle, economic importance and potential of control. Pages 218-231 in: *Cowpea research, production and utilization*. Edit. SINGH S. R. and RACHIE K. O., JOHN WILEY and SONS Ltd.
- SINGH S. R. et RACHIE K. O., 1985.** *Cowpea research, production and utilization*. Edit. SINGH S. R. and RACHIE K. O., JOHN WILEY and SONS Ltd. 460 p.
- SINGH. S. R. et ALLEN D. J., 1979.** *Les insectes nuisibles et les maladies du niébé*, IITA, Ibadan, Nigeria, 113 p.

- SINGH. S. R., 1985.** Insects damaging cowpea in Asia. Pages 245-248 in: *Cowpea research, production and utilization*. Edit. SINGH S. R. and RACHIE K. O., JOHN WILEY and SONS Ltd.
- SITHOLE-NIANG I., NYATHI T., MAXWELL D. P. et CANDRESSE T., 1996.** Sequence of the 3'-terminal region of a Zimbabwe isolate of cowpea aphid-borne mosaic virus CABMV. *Archives of Virology*, **141**, 935-943.
- SOHI H. S. et RAWAL R. D., 1984.** Studies on the efficacy of various fungicides for the control of anthracnose of cowpea caused by *Colletotrichum, lindemuthianum*. *Pesticides*, **18**, 33-34.
- SOME K. K. J., 1989.** *Contribution à l'épidémiologie du virus de la mosaïque du niébé transmis par les pucerons au Burkina Faso*. Mémoire I. D. R. Université de Ouagadougou, 43 p.
- SRINIVASA RAO P., 1976.** Nature of carbohydrates in pulses. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, **24**, 958-961.
- STANTON A. G., 1996.** *Introduction aux biostatistiques*. Révision scientifique de l'édition française par : Michel Thuriaux, 4^e édition, McGraw-Hill, New York, 456 p.
- STEELE W. M., 1972.** *Cowpea in Nigeria*. Ph.D. Thesis, University of Reading, 180 p.
- STENGER D. C., FRENCH R. et GILDOW F. E., 2005.** Complete deletion of wheat streak mosaic virus HC-PRO: a null mutant is viable for systemic infection. *Journal of Virology*, 12 077- 12 080.
- SWEET J. B. et BARBARA D. J., 1979.** A yellow mosaic disease of horse chestnut (*Aesculus* spp.) caused by apple mosaic virus. *Annals of Applied Biology*, **92**, 335-341.
- TAIWO M. A. and et AKINJOGUNLA O. J., 2006.** Cowpea viruses: Quantitative and qualitative effects of single and mixed viral infections. *African Journal of Biotechnology*, **5**, 1749-1756.
- TAIWO M. A. et GARSALVES D., 1982.** Serological grouping of isolates of black eye cowpea mosaic and cowpea aphid-borne mosaic virus. *Phytopathology*, **72**, 583-589.

- TAIWO M. A., GARSALVES D., PROVVIDENTI R. et THURSTON H. D., 1982.** Partial characterization and grouping of isolates of blackeye cowpea mosaic and cowpea aphid-borne mosaic viruses. *Phytopathology*, **72**, 590-596.
- THOTTAPPILLY G . et ROSSEL H. W., 1985.** Worldwide occurrence and distribution of virus diseases. Pages 155-171 in: *Cowpea research, production and utilization*, edited by S. R. SINGH and K.O. RACHIE. John Wiley and sons, Chichester, UK.
- THOTTAPPILLY G. et ROSSEL H. W., 1992.** Virus diseases of cowpea in tropical Africa . *Tropical Pest Management*, **38**, 337-348.
- THRESH J. M., 1981.** The role of weeds and wild plants in the epidemiology of plant virus diseases. Pages 53-70 in: Thresh JM (Ed.). *Pest pathogens and vegetation*. Pitman, London.
- Thresh, J.M., 1982.** Cropping practices and virus spread, *Annu. Rev. Phytopathol.*, **20**, 193–218.
- TIGNEGRE J. B.S., 1988.** *Etude de la résistance des lignées de niébé au striga gesneriodes*. B. Sc. Institut du développement rural (IDR). Université de Ouagadougou, 47 p.
- TIGNEGRE J. B.S., 2000.** *Etude de la transmission du cowpea aphid-borne mosaic virus CABMV chez le niébé Vigna unguiculata (L.) Walp*. Mémoire de D.E.A., Université de Ouagadougou, 57 p.
- TRAORE O., 1993.** *Epidémiologie de la striure du maïs en zone soudano-sahélienne : Cas du Burkina faso*. Thèse de doctorat de spécialité Université de Ouagadougou, 116 p.
- TSUCHISAKI T., YORA K. et ASUYAMA H., 1970.** The viruses causing mosaic of cowpeas and azuki beans and their transmissibility through seeds. *Annals of the Phytopathological Society (Japan)*, **36**, 112-120.
- USDA, 2004.** USDA national nutrient database for standard reference, release 17. (Internet) U.S. Department of Agriculture, Agricultural Research Service, Nutrient Data laboratory, Beltsville Md, United States. <http://www.nal.usda.gov/fnic/foodcomp>.

- VAN BOXTEL J., LESTEY J. C. et MAULE J. A., 2000.** Phylogenetic analysis of two potyvirus pathogens of commercial cowpea lines: Implication for obtaining pathogen-derived resistance. *Virus Genes*, **20**, 71-77.
- VAN DER PLANK J., 1963.** *Plant diseases. Epidemics and control.* Academic Press, New-York and London, 349 p.
- VAVILOV N. I., 1951.** The origin, variation, immunity and breeding of cultivated plants. *Ronal Press co.* 364 p.
- VERMA A.K., PAL B.C., SINGH C.P., JAIN U., YADAV S.K. et MAHIMA K., 2008.** Studies of the Outbreaks of Foot and Mouth Disease in Uttar Pradesh, India, Between 2000 and 2006. *Asian Journal of Epidemiology*, **1**, 40-46.
- VIDANO C. et CONTI M., 1965.** Transmission con afidi d'un cowpea mosaic virus Isolato da vigna sinensis Endl. in Italia. *Annali Accademia de Science*, **99**, 1041-1050.
- WATSON M. A., HEATHCOTE G. D., LAUCKNER F. B. et SOWRAY P. A., 1975.** The use of weather data and counts of aphids in the field to predict the incidence of yellowing viruses of sugar-beet crops in England in relation to the use of insecticides. *Annals of Applied Biology*, **81**, 181-198.
- YAMAYA J., YOSHIOKA M. C., MESHU T., OKADA Y. et OHNO T., 1988.** Cross protection in transgenic tobacco plants expressing a mild strain of tobacco mosaic virus. *Molecular and General Genetics*, **215**, 173-175
- ZADOKS J.C. et SCHEIN R.D., 1979.** *Epidemiology and plant disease management.* Oxford University Press, New York, 427 p.
- ZAR J. H., 1999.** Biostatistical analysis. 4th Edition. New Jersey, Prentice Hall, 663p.
- ZETTLER F. W. et EVANS I. R., 1972.** Blackeye cowpea mosaic virus in Florida : Host range and incidence in certified cowpea seed. *Proceedings of the State Horticultural Society*, **85**, 99 - 101.
- ZINK F. W., GROGAN R. G. et WELCH J.E., 1956.** The effect of the percentage of seed transmission upon subsequent spread of lettuce mosaic virus. *Phytopathology* **46**, 662-664

ANNEXES

ANNEXE 1

Tampons utilisés

Tampons utilisés (Clark et Adams, 1977).

a - Tampon phosphate salin -Tween (PBS-T) PH 7, 4

NaCl	8g
KH ₂ PO ₄	0,2g
Na ₂ HPO ₄ -2H ₂ O	1,44g
KCL	0,2g
NaN ₃	0,2g

Compléter à 1litre avec de l'eau distillée.

PBS-T: 0,5ml de tween 20 dans 1 litre de PBS.

b - Tampon coating PH 9, 6

Na ₂ CO ₃	1,59g
NaH ₂ CO ₃	2,93g
NaN ₃	0,2g

Compléter à 1litre avec de l'eau distillée.

c - Tampon substrat PH 9, 8

Diéthanolamine	97 ml
H ₂ O	800ml
NaN ₃	0,2g

Ajuster le PH à 9,8 avec du HCL et compléter à 1litre avec de l'eau distillée

d - Tampon d'inoculation 0,01M PH 7, 4

Na ₂ HPO ₄	1,42g	dans 50ml d'eau distillée
NaH ₂ PO ₄	1,56g	dans 50ml d'eau distillée

Mélanger 40,5ml de Na₂HPO₄ + 9,5ml de NaH₂PO₄ = 50ml 0,2M

Compléter à 100ml pour avoir une molarité de 0,1M

Compléter à 1litre après ajustement du PH à 7, 4.

ANNEXE 2

KONATE G. et NEYA B. J., 1996. Rapid detection of cowpea aphid-borne mosaic virus in cowpea seeds. *Annals of Applied Biology*, **129**: 261-266.

Rapid detection of cowpea aphid-borne mosaic virus in cowpea seeds

By G KONATE and B J NEYA*

*Institut d'Etudes et de Recherches Agricoles (INERA), 03 BP 7192,
Ouagadougou 03 Burkina Faso*

(Accepted 2 September 1996)

Summary

Four cultivars of cowpea (*Vigna unguiculata* [L.] Walp.) were infected with cowpea aphid-borne mosaic virus (CABMV) by natural infection in field plots. Seeds taken from these plants were tested for the presence of the virus by ELISA and symptom observation on the plantlets grown from the seeds. A biotin/streptavidin ELISA technique was used and found to be more sensitive than a standard ELISA protocol for detecting CABMV infection in seed. There was a good correlation between the ELISA detection of CABMV in tissue taken from single cowpea seeds and subsequent development of infected plants grown from the same seeds. The ELISA technique is reliable for selecting CABMV-free stocks of cowpea seeds.

Key words: Cowpea aphid-borne mosaic virus, ELISA, seed transmission, cowpea

Introduction

In tropical and subtropical Africa, cowpea (*Vigna unguiculata* [L.] Walp.) is commonly infected by cowpea aphid-borne mosaic virus (CABMV) following natural transmission by a wide range of aphid species (Vidano & Conti, 1965; Zettler, Christie & Edwardson, 1967; Atiri, 1982; Atiri, Ekpo & Thottappilly, 1984; Atiri, Enobakhare & Thottappilly, 1986). The virus can cause a range of symptoms which depend on the cowpea cultivar and the virus isolate. Symptoms can appear as vein clearing, blistering of the leaves, mosaic or leaf distortion. Yield losses due to the disease are estimated at 17–87% (Lapido, 1976). CABMV is a member of the potyvirus family; its filamentous virions are 750 nm long and 11 nm wide (Lovisolo & Conti, 1966; Bock, 1973). It is mechanically transmissible and in the field is transmitted through seed and by several species of *Aphideae* in a non-persistent manner (Aboul Ata, Allen, Thottappilly & Rossel, 1982; Atiri *et al.*, 1984). Although CABMV has a very large experimental host range (Bock, 1973; Behncken & Maleevsky, 1977; Chang & Kuo, 1988), no natural reservoir host among wild plant species has been described. Therefore, it is assumed that the virus is maintained in infected seeds and that disease plants sprouting from infected seeds constitute the primary source of inoculum for virus spread by aphids. Consequently, the use of virus-free seeds is essential to eliminate the disease. If a virus indexing test could be developed that detected CABMV reliably in seed samples, this would

*Present address: Institut d'Etudes et de Recherches Agricoles (INERA) 03 BP 7192, Ouagadougou 03 Burkina Faso

be an invaluable aid for controlling the virus. We have investigated an ELISA technique using monoclonal antibodies (MAbs) and the use of a biotin/streptavidin system compared with a standard ELISA protocol for detecting CABMV in dormant cowpea seeds.

Materials and Methods

Virus, host, vector

A virus isolate from Burkina Faso, identified as CABMV serotype D (Huguenot *et al.*, 1993) was transmitted naturally by aphids to field-grown plants of four different lines of *Vigna unguiculata* (KVu 150, Suvita-2, Ouahigouya (local cultivar), KVx 30–309–6G) using *Aphis craccivora* (Koch) as vector and rows of infected plants as an inoculum source. All seeds tested in this study were harvested from plants infected as described.

ELISA format

Two ELISA protocols were used essentially as described by Huguenot *et al.* (1993); 'procedure 2' using polyclonal Ab^R-H4 antibody anti-CABMV for plate coating and monoclonal 5H5 antibody for detection and 'procedure 5' (5H5 for coating and biotinylated 5H5 for detection). Microtitre plates were coated for 2 h at 37°C. All other steps were ½ h at 37°C. Ab^R-H4, 5H5 and biotinylated 5H5 were supplied by Dr C Huguenot. Streptavidin-PAL conjugate was from Boehringer (Mannheim, FRG).

Leaf extracts were prepared for ELISA by grinding leaf tissue in phosphate-buffered saline containing 0.05% Tween-20, pH 7.4 (PBS-T). The homogenate was decanted after 1 h at 4°C and 100 µl supernatant per well placed in the ELISA plate. Seeds were prepared for extraction following soaking in PBS-T or distilled water for 1 h; single or pooled seeds were homogenised in PBS-T and the homogenate was decanted as described for leaf extracts. A negative control consisting of leaf extract from healthy cowpeas (line Suvita-2) and a positive control of leaf extract from CABMV-infected plants were included in each plate.

A Labsystem Uniskan II photometer was used to measure absorbance at 405 nm (A_{405}) after ½ h of substrate incubation.

Detection of CABMV in whole cowpea seeds

Single seeds (500/line) were homogenised in 1 ml of PBS-T. Decanted extracts were tested in ELISA 'procedure 5'.

Relationship between detection of CABMV in seed and production of diseased plantlets

Another 500 seeds of each of the four cowpea lines were tested in this experiment. Seeds were soaked as previously described and a fragment (approximately 60 mg) was cut from the distal end of the cotyledon of each seed. The fragment was ground in PBS-T as above (w/v of 1/10) and the supernatant was tested by ELISA. The remainder of each labelled seed was germinated in sterile soil and the appearance of symptoms in seedlings was monitored for 4 wk. The extract from a single leaf at a defined position of each plant was tested in ELISA for the presence of CABMV.

Virus location in cowpea seed

Two hundred and fifty seeds from each of the four lines were dissected into embryo, cotyledons and coat. The embryo (approximately 10 mg), cotyledons (approximately 300 mg)

Table 1. Comparison of five techniques for determining the percentage of CABMV seed transmission in four cowpea lines

Cowpea line	Virus detection techniques				
	Symptoms on plants ^a	ELISA on plants ^a	ELISA on intact seeds	ELISA on cotyledons ^b	ELISA on embryos
KVu 150	10.4	10.4	11.0	9.3	10.0
Suvita-2	29.7	29.7	27.6	23.5	26.6
Ouahigouya local	44.2	11.2	44.5	37.5	43.6
KVx 30-309-6G	25.4	25.4	31.2	21.5	30.2

^aPlants originated from either whole seeds or from seeds where a fragment of a cotyledon had been removed.

^bELISA test was performed either on extracts of a fragment from a cotyledon or on whole cotyledons.

and coat (approximately 10 mg) of each seed were ground (w/v of 1/30, 1/10 and 1/30 respectively) in PBS-T. The supernatants of each were tested in ELISA.

Detection of CABMV in pooled samples

One hundred and twenty five, 250, 500, 600, 700 and 800 seeds from known virus-free plants and one seed from an infected seed lot with 30% infection level were blended, resulting in six seed groups. Fifty replicates of each group were ground in PBS-T (w/v of 1/10), using a commercial food blender. The supernatants of each were tested in ELISA.

Comparison of biotin/streptavidin system against a standard ELISA protocol for detecting CABMV in cowpea seeds

The biotin/streptavidin ELISA system was compared with a standard ELISA protocol in which polyclonal antibody Ab^R-H4 was used for coating, monoclonal antibody 5H5 as the second antibody with a goat anti-mouse polyclonal antibody conjugated to alkaline phosphatase (GAM-PAL) for detection. Optimal concentrations of both GAM-PAL (1/5000) and streptavidin-PAL (10^{-4}) were used (manufacturers recommended 1/9000 for GAM-PAL and 1/5000–1/20 000 for streptavidin-PAL as working dilutions). PAL substrate was incubated $\frac{1}{2}$ h at 37°C. The two ELISA formats were compared in the same microtitre plate.

Results and Discussion

Detection of CABMV in whole cowpea seeds

Reactivities of infected seed extracts in ELISA could be separated in two groups. The first one ($A_{405} = 0.05-0.06$) included the virus-free leaf and virus-free seed extracts (negative controls) and was considered to be negative for the presence of the virus. The second one ($A_{405} = 0.2-2.5$) included the infected leaf (positive control) and was considered to be positive for the presence of CABMV. The percentages of positive seeds were 11%, 25%, 30% and 45% for cowpea lines KVu 150, Suvita-2, KVx 30-309-6G and Ouahigouya (local cultivar) respectively (Table 1).

The range of A_{405} values obtained by ELISA of positive seeds (0.2–2.5) reflects variation in virus concentration for the following reasons; (a) the seed extracts were prepared by grinding

tissue at a defined ratio of buffer (w/v); (b) the same incubation time was used for any seed extracts; (c) variation of A_{405} was observed between and within microtitre plates. Furthermore, such a A_{405} value variation was reported by Maury *et al.* (1987). Although the origin of this variation in virus concentration is unknown, like seed transmission rate, it is not correlated to the chronology of seed formation. For example, two groups of seeds harvested from infected cowpea plants 60 and 72 days after sowing, displayed seed transmission rates of 42.5% and 47.5% (KVu 150), 2.5% and 2.5% (KVx 65-114), 30% and 25% (Gorom, a local cultivar) respectively.

Accuracy of virus detection in ELISA

Comparison between percentages of seed-transmission estimated by ELISA on whole seeds (Table 1) and by symptomatology of plantlets (Table 1) gave a very close correlation for each of four lines. When the same comparison was made using the same individual seeds for both estimates (a fragment of cotyledon was tested by ELISA and a plantlet derived by germinating the remainder of the seed) the estimates, although similar (Table 1), were lower for the cotyledon fragment. Each seed which tested positive in ELISA developed into a diseased plant, and leaves collected from such plants were also positive when tested (Table 1). Thus, every infected seed capable of producing a diseased plant gave a positive signal in ELISA when cotyledon tissue was tested and *vice versa*. Similar correlations were reported by Falk & Purcifull (1983) for lettuce seeds infected with lettuce mosaic virus and by Maury, Duby, Bossennec & Boudazin (1985) for soybean seeds infected with soybean mosaic virus. However, in assays of whole pea seeds for pea seed-borne mosaic virus (PSbMV) estimates of seed-transmitted PSbMV were greatly exaggerated (Maury *et al.*, 1987).

Virus location in cowpea seed

Three categories of seeds could be identified from ELISA results of individual embryos or cotyledons. The first one, in which both embryo and cotyledons tested positive, 90% of the A_{405} values for embryo extracts were three to 10 times higher than those for cotyledon extracts. In the second group, embryo extracts tested positive, but those from cotyledons were negative. This result suggests that the virus infects the embryo of only a proportion of seeds. However, it is possible that there is a low concentration of virus in cotyledons which is not detectable by ELISA. No virus was detected by ELISA in embryos or cotyledons of the third group. CABMV could not be detected in seed coat tissue from any group. The percentage of embryos which tested positive was equal to the percentage of whole seeds which tested positive (Table 1).

Other seed-transmissible viruses behave differently however. For example, Sweet & Barbara (1979) reported that the high concentration of apple mosaic virus (ApMV) in embryos of chestnut seeds was not correlated with the development of diseased plantlets. In the case of CABMV, seed transmission is very efficient which may help to explain why it plays a major part in the epidemiology of the virus, since no reservoir-host of the virus has been identified among wild plant species. *Phaseolus latiroides*, an annual wild legume species that we found to be infected by CABMV near cowpea fields, is not capable of transmitting the virus through its seeds. Bambara groundnut (*Voandzeia subterranea*) is known to be identified by CABMV and the virus is transmitted through seeds. The control measure that we recommend for cowpea should be valid for bambara groundnut.

Detection of CABMV in pooled samples

Table 2 shows results of CABMV detection in homogenates of cowpea (cv. Suvita-2) seeds by ELISA. Percentage of cv. Suvita-2 seeds which tested positive using extracts from single

Table 2. Detection of CABMV in pooled cowpea seeds

Seed group size ^a	1	126	251	501	601	701	801
No. of groups giving a positive ELISA signal	15	14	15	14	10	5	3
A ₄₀₅ range	0.6-2.5	0.4-2.5	0.5-1.5	0.2-0.8	0.2-0.5	0.15-0.45	0.1-0.2

^aFifty groups per seed group size were tested.

Table 3. Detection of CABMV by two ELISA procedures^a

Assay ^b	CABMV detection (%) ^c	
	ELISA 'Procedure 2'	ELISA 'Procedure 5'
1	30.02	22.5
2	29.45	24.62
3	30.06	22.41

^aFor details of ELISA procedures, please see Materials and Methods.

^b120 cowpea seeds were tested in each assay.

^cInitial contamination level of seeds was 30%.

seeds and percentage of infection obtained using extracts from 126, 251 and 501 seeds were similar. For seed lots larger than 500 seeds (601, 701 and 801), the percentage of seeds tested positive was lower.

Comparison of the sensitivity of biotin/streptavidin ELISA against the standard ELISA

The percentage of seeds in which CABMV was detected by biotin/streptavidin ELISA and the initial contamination level of seeds were very similar (Table 3). By contrast, standard ELISA under estimated seed contamination level (Table 3). A low virus concentration in some seeds which is not detectable by this ELISA procedure, might explain such a discrepancy.

Biotin/streptavidin-ELISA used in this study is highly reliable and rapid. It is capable of detecting CABMV in one infected cowpea seed among 500 virus-free seeds. Therefore, a group size limit of 500 seeds is recommended for routine selection of CABMV-free stocks of cowpea seeds.

Acknowledgements

Much of this work was funded by the International Development Research Centre (CANADA). We are indebted to Drs C Huguenot and R I Hamilton for providing antibodies to CABMV.

References

Aboul Ata A E, Allen D J, Thottappilly G, Rossel H W. 1982. Variation in the rate of seed transmission of cowpea aphid-borne mosaic virus in cowpea. *Tropical Grain Legume Bulletin* 25:2-7.

- Atiri G I. 1982.** *Virus-vector-host relationship of cowpea aphid-borne mosaic virus in cowpea (Vigna unguiculata [L.] Walp.* Ph.D. Thesis, University of Ibadan.
- Atiri G I, Ekpo E J A, Thottappilly G. 1984.** Effect of aphid resistant cowpea lines on the performance of *Aphis craccivora* (Koch) and its transmission of cowpea aphid-borne mosaic virus. *Annals of Applied Biology* **104**:339–346.
- Atiri G I, Enobakhare D A, Thottappilly G. 1986.** The importance of colonizing and non colonizing aphid vectors in the spread of cowpea aphid-borne mosaic virus. *Plant Protection* **5**:406–410.
- Behncken G M, Maleevsky L. 1977.** Detection of cowpea aphid-borne mosaic virus in Queensland. *Australian Journal of Experimental Agriculture and Animal Husbandry* **17**:674–678.
- Bock K R. 1973.** East African strains of cowpea aphid-borne mosaic virus. *Annals of Applied Biology* **74**:75–83.
- Chang C A, Kuo Y J. 1988.** Cowpea aphid-borne mosaic virus and its effect on the yield and quality of asparagus bean. *Journal of Agricultural Research, China (Taiwan)* **32**:270–278.
- Falk B W, Purcifull D E. 1983.** Development and application of an ELISA test to index lettuce seeds for lettuce mosaic virus in Florida. *Plant Disease* **67**:413–416.
- Huguenot C, Furneaux M T, Thottappilly G, Rossel H W, Hamilton R I. 1993.** Evidence that cowpea aphid-borne mosaic and blackeye cowpea mosaic viruses are two different potyviruses. *Journal of General Virology* **74**:335–340.
- Lapido J L. 1976.** A veinbanding strain of cowpea aphid-borne mosaic virus in Nigeria. *Nigerian Journal of Sciences* **10**:77–88.
- Lovisololo O, Conti M. 1966.** Identification of an aphid-transmitted cowpea mosaic virus. *Netherlands Journal of Plant Pathology* **72**:265–269.
- Maury Y, Duby C, Bossennec J M, Boudazin G. 1985.** Group analysis using ELISA: determination of the level of transmission of soybean seed. *Agronomie* **5**:405–415.
- Maury Y, Bossennec J M, Boudazin G, Hampton R, Pietersen G, Maguire J. 1987.** Factors influencing ELISA evaluation of pea seed-borne mosaic virus in infected pea seed: seed-group size and seed decortication. *Agronomie* **4**:225–230.
- Sweet J B, Barbara D J. 1979.** A yellow mosaic disease of horse chestnut (*Aesculus* spp.) caused by apple mosaic virus. *Annals of Applied Biology* **92**:335–341.
- Vidano C, Conti M. 1965.** Transmissione con afidi d'un "Cowpea mosaic virus" isolats de *Vigna sinensis* Enal. in Italia. *Annali accademia delle scienze di Torino* **99**:1041–1050.
- Zettler G I, Christie R G, Edwardson J R. 1967.** Aphid transmission of virus from leaf sectors correlated with intracellular inclusions. *Virology* **33**:549–552.

(Received 15 January 1996)

ANNEXE 3

B. J. Néya, J. Zabré, R.J. Millogo, S. GUINKO et G. Konaté, 2007. Effect of Cowpea Seeds Contamination Rate by the *Cowpea aphid borne mosaic virus* on Epidemics Development . *Pakistan Journal of Biological Sciences* 10 (24): 4365-4374.

Effect of Cowpea Seeds Contamination Rate by the *Cowpea aphid borne mosaic virus* on Epidemics Development

¹B. J. Néya, ¹J. Zabré, ²R. J. Millogo, ²S. Ginko and ¹G. Konaté
¹Institut de l'Environnement et de Recherches Agricoles, INERA,
01 BP 476 Ouagadougou 01, Burkina Faso
²UFR/SVT, Département de Biologie et Ecologie Végétales,
Université de Ouagadougou,
03 BP 7021 Ouagadougou 03, Burkina Faso

Abstract: *Cowpea aphid borne mosaic virus* (CABMV) diseased seeds provide at seedling, virus infected plants which are the only source of primary inoculum. Secondary infections are bequeathed by aphids. The objective of this research is to study the development of the secondary infection in field. Therefore, eight cowpea varieties with different seed contamination rate (0, 0.05, 0.25, 0.5, 1, 5%) were used over consecutive four years. The infected plants were recorded every week from the tenth day after sowing and over seven weeks. In the same way, aphids' population were evaluated in plots 30 days after sowing. There was no difference for the incidence rate between the average of plots sown with virus free-seeds and those sown with infected seeds with a rate of 0, 5%. In any case, the disease progressed lowly leading to incidences less than 50% at the post-flowering period in spite of a relatively high initial contamination rate of seed. For this group of varieties, the low progression of the disease indicated a high level of resistance to the infection. The high levels of infection especially observed with the varieties with high level of virus transmission to seed, translated the need to reduce aphids' population density notably by the use of insecticides during cowpea growing cycle. The high number of aphids and inoculum availability in the neighbouring plots were undoubtedly at the source of this result. This situation laid out the problematic of the use of seeds then little or not contaminated by the virus.

Key words: *Cowpea aphid borne mosaic virus*, contaminated seeds, primary inoculum, aphids, epidemic

INTRODUCTION

Among virus infecting cowpea in Africa, the *Cowpea aphid borne mosaic virus* (CABMV) is the most expand (Aboul Ata *et al.*, 1982). Yield losses caused by this virus are between 15 and 87% (Thottappilly and Rossell, 1992; Reeves, 1983). According to these researchers, the capacity of transmission of virus by seed is related to the cowpea cultivar. In Burkina, this virus was identified with two other viruses of minor importance (Some, 1989), which are the *Cowpea golden mosaic virus* (CGMV) and the *Cowpea mottle virus* (CmoV). All these three viruses were identified on the basis of symptom and serological analysis.

The rates of transmission of CABMV by seed on cowpea vary from 0 to 40% according to varieties (Aboul Ata *et al.*, 1982; Tignegre, 2000; Neya, 2002). On the other hand, other sources or permanent reservoirs of CABMV are not known. So, the transmission of CABMV

by seed remains the privileged mean of infection from one generation to another one and constitutes sources of inoculums (Konate and Neya, 1996).

The reduction of the number of contaminated seed can be considered by acting in the choice of cowpea genotype as some genotypes posse a weak level of virus transmission contrary to others (Tignegre, 2000; Neya, 2002). The aim of this study presented was to get a better knowledge of the transmission of the mosaic of cowpea by aphids in Burkina Faso, in a prospect of an integrated pest control management against this disease. It was also to study the development of CABMV epidemic by using several level (0, 0.05, 0.25, 0.5, 1, 5%) of cowpea seed contamination by CABMV in eight varieties. This research investigation has never been performed. The different levels were following the methods of Konate and Neya (1996). The development of CABMV epidemics caused by secondary infections of aphids on eight varieties will enable the knowledge of:

- The role of seeds in the spread of CABMV.
- The role of the vector in the propagation of CABMV.
- The creation of an integrated pest management in response to CABMV epidemic.

MATERIALS AND METHODS

During four consecutive years (2001-2004), shares of seeds contaminated by the CABMV at rate of 0, 0.05, 0.25 and 0.5% were built up for the following cowpea varieties: Kvx30-309-6G, Kvx414-22-72, Gorom local and Moussa local. These varieties transmit the virus by seeds at variable rate ranging between 20 and 40% (Tignegre, 2000; Neya, 2002). Other shares of contaminated seeds at 0, 0.25, 1 and 5% have also been built up for four other varieties: Kvx61-1, Kvx396-4-5-2D, KN1 and Tvx3236. They transmit virus by seeds at a low rate (1 to 2%) (Tignegre, 2000; Neya, 2002).

The research of contaminated seeds has been achieved using the method of (Konate and Neya, 1996). Thus, the seeds whose fragments were tested positively were gathered. By a rule of three, a combination has been made with virus free seeds to get the expected contamination rates. For each level of contamination, the seeds were sown on 200 m² plots. They were previously ploughed and ridged after mineral fertilization of 100 kg ha⁻¹ in three replications that makes 96 elementary plots. The density was of two seeds by hall with 0, 40 m between hall and 0, 80 m between ridges. For each replication, the plots were ordered in the increasing sense of the contamination rate.

The diseased plants were recorded every week from the tenth day after sowing until 59 days. Thirty days after sowing, aphids' population were scored on each plot and per plant, using the entomologists scale that is as follows: 0 = no aphid; 1 = 1 to 4 aphids per cowpea plant; 2 = 5 to 20 aphids by cowpea plant; 3 = 20 to 100 aphids by cowpea plant; 4 = 100 to 500 aphids by cowpea plant; 5 = more than 500 aphids cowpea plant. No insecticide treatment was applied during the whole length of the observations.

The analytical and statistical procedures were used according to Stanton (1996).

RESULTS

Plants stand one week after sowing: On each plot of the three replications, at one week after sowing, the number of plants was counted. The averages of plant numbers within the three replications per variety and initial contamination rate are consigned in Table 1.

The assessment of aphid's population 30 days after sowing: The number of aphids in the plots corresponding to each initial contamination rate of the seeds was recorded according to the entomologists scale in order to evaluate the infestation of the plots one in relation to the other (Table 2). The notes assigned in each of the two tested cowpea variety groups were varied between 2 and 4. Within each year, the analysis of variance showed that there was no significant difference between the average number of insects per plot and per share of varieties. In 2001, for the first share of varieties, F = 1. 21; p = 0.349 while for the second group F = 2. 81; p = 0.085. In 2002, F = 0. 2; p = 0.94 for the first group and F = 1. 84; p = 0.193 for the second group. In 2003, for the first group, F = 1. 43; p = 2. 85 while for the second group F = 0. 85 and p = 0.495. Last, in 2004, the first group had F = 1. 20 and p = 0.352 and for the second group F = 1.30; p = 0.321. Therefore, we noticed a non significant difference infected plants at 5% level according to Newman-Keuls' test between 2001 and 2004. Similarly significant difference was noted between 2002 and 2003. This difference is significant at 5% level of the same test between the two groups of years.

The effect of seed contamination rate on the disease incidence 31 and 59 days after sowing: In 2001, 31 days after sowing, the disease incidence was generally superior to 60% with the varieties of high ability of virus

Table 1: Mean total number of plants per variety and per initial contamination rate

Varieties	2001				2002				2003				2004			
	0	0.05	0.25	0.5	0	0.05	0.25	0.5	0	0.05	0.25	0.5	0	0.05	0.25	0.5
Gorom local	674	678	670	678	645	599	673	547	700	678	597	669	675	723	723	728
Kvx414-22-72	682	677	675	709	634	607	680	675	678	657	608	643	680	687	740	725
Kvx30-309-6G	653	604	685	647	658	611	653	600	657	674	624	639	653	645	685	713
Moussa local	675	640	657	688	657	641	677	603	689	697	652	656	632	639	726	724
	0	0.25	1	5	0	0.25	1	5	0	0.25	1	5	0	0.25	1	5
Kvx61-1	656	673	671	695	673	681	686	617	707	679	651	678	653	736	697	699
KN1	696	656	714	639	681	689	698	692	735	689	667	687	696	659	712	738
Tvx3236	597	700	741	641	684	701	704	697	732	712	694	653	722	726	734	714
Kvx396-4-5-2D	619	655	619	613	662	672	657	651	698	653	634	659	609	729	681	722

ICR =Initial Contamination Rate

Table 2: Assessment of aphids on the plots 30 days after sowing from 2001 to 2004

Varieties	Initial contamination rate															
	2001				2002				2003				2004			
	0	0.05	0.25	0.5	0	0.05	0.25	0.5	0	0.05	0.25	0.5	0	0.05	0.25	0.5
Gorom local	3	3	3	2	2	3	3	2	4	2	3	3	3	2	3	3
Kvx414-22-72	2	3	2	4	3	2	3	2	4	3	4	3	3	2	4	2
Kvx30-309-6G	3	3	2	4	3	3	3	2	3	4	3	4	3	3	2	3
Moussa local	3	2	2	3	2	2	3	3	2	3	3	3	3	2	2	4
Average	2.75 (ns) [#]	2.5 (ns)	2.25 (ns)	3.25 (ns)	2.5 (ns)	2.5 (ns)	3 (ns)	2.25 (ns)	3.25 (ns)	3 (ns)	3.25 (ns)	3.25 (ns)	3 (ns)	1.75 (ns)	2.75 (ns)	3 (ns)
	0	0.25	1	5	0	0.25	1	5	0	0.25	1	5	0	0.25	1	5
Kvx61-1	3	3	2	4	4	3	3	2	4	3	4	3	3	3	2	4
KN1	2	3	2	3	2	3	3	2	3	4	4	4	2	3	3	2
Tvx3236	4	3	3	4	3	3	3	4	4	4	3	4	3	4	3	4
Kvx396-4-5-2D	4	2	3	4	3	4	4	3	3	3	4	3	4	4	2	3
Average	3.25 (ns) [#]	2.75 (ns)	2.5 (ns)	3.75 (ns)	3 (ns)	3.25 (ns)	3.25 (ns)	2.75 (ns)	3.5 (ns)	3.5 (ns)	3.75 (ns)	3.5 (ns)	3 (ns)	3.5 (ns)	2.5 (ns)	3.25 (ns)

#: Non significant at 5% level according to Newman Keuls' test; *: The number of aphids was estimated while using the following scale: 0 = no aphid; 1 = 1 to 4 aphids per cowpea plant; 2 = 5 to 20 aphids per cowpea plant; 3 = 20 to 100 aphids per cowpea plant; 4 = 100 to 500 aphids by cowpea plant; 5 = More than 500 aphids per cowpea plant

Table 3a: Incidence of CABMV on cowpea varieties 31 days after sowing according to the seed initial contamination rates.

Varieties	Initial contamination rate															
	2001				2002				2003				2004			
	0	0.05	0.25	0.5	0	0.05	0.25	0.5	0	0.05	0.25	0.5	0	0.05	0.25	0.5
Gorom local	67.12	77.97	88.88	82.51	2.36	2.57	2.05	7.03	1.65	1.82	1.47	3.15	47.12	59.71	68.98	70.11
Kvx414-22-72	68.60	56.98	67.21	56.56	1.39	3.13	1.25	2.05	1.90	1.94	4.96	6.96	50.23	52.18	56.46	57.14
Kvx30-309-6G	54.27	60.20	64.85	74.10	1.16	1.73	1.21	2.11	1.38	1.52	2.29	2.43	44.17	54.12	58.48	72.65
Moussa local	29.33	14.23	33.70	33.80	1.28	1.11	1.56	3.24	1.36	2.18	2.51	3.42	32.24	29.36	32.44	32.18
Average	54.83	52.35	63.66	61.73	1.55	2.14	1.47	3.61	1.57	1.87	2.81	4.00	43.44	48.84	54.09	58.02
	0	0.25	1	5	0	0.25	1	5	0	0.25	1	5	0	0.25	1	5
Kvx61-1	2.20	2.68	2.72	6.800	0.69	2.32	2.39	13.27	0.00	1.78	1.44	8.66	2.08	2.28	2.97	5.87
KN1	3.85	6.77	6.82	12.75	0.00	1.89	2.53	13.21	0.29	0.69	2.35	8.75	3.34	4.55	5.72	9.68
Tvx3236	0.39	0.34	2.71	5.030	0.00	0.42	2.07	13.18	0.00	0.81	1.83	6.87	0.61	0.71	1.98	9.06
Kvx396-4-5-2D	4.41	5.93	5.63	8.550	0.44	0.77	2.26	13.55	1.41	1.25	1.54	6.90	4.11	4.21	5.63	7.65
Average	2.71	3.93	4.47	8.280	0.28	1.35	2.31	13.30	0.42	1.13	1.79	7.80	2.53	2.94	4.08	8.07

transmission by seeds with the variety Moussa local (Table 3a). The analysis of variance did not show any significant difference between the various initial seed contamination rates, $F = 0.23$; $p = 0.874$. With the four varieties of a low ability of virus transmission by seed, the diseased plants rate remained below 15% even with seed initial contamination rates of 5%. The differences observed at the level of the incidences corresponding with the contamination rates of 0-1% were not significant. On the other hand, the corresponding impact at the contamination rate of 5% was significantly different from those corresponding with the other rates. Incidences increases were very low comparatively to the varieties with high ability of virus transmission by seed.

As at 31 days after sowing, the features of infection at 59 days after planting were similar with varieties having high ability of virus transmission to the seed. No difference was been shown between the incidences

corresponding to the various contamination rates. On the other hand, incidences greatly increased, reaching 95% to 100% (Table 3b). A lower increase was observed with varieties of low powers of virus transmission by seeds. Incidences reached this way 49% in some cases even if no difference was observed whatever the seed initial contamination rate.

In 2002 as in 2003, at 31 days after planting, the disease incidence was less than 10% with all the varieties with high ability of virus transmission by seeds. The analysis of variance did not show significant difference between the various initial seed contamination rates, $F = 4.23$; $p = 0.74$. With the four varieties of low ability of virus transmission by seed, the rate of diseased plants remained below 9% even with seed initial contamination rates of 5%. The differences observed at the level of incidences corresponding to the contamination rates of 0-1% were not significant. On the other hand, the

Table 3b: Incidence of CABMV on cowpea varieties 59 days after planting according to the seed initial contamination rates

Varieties	Initial contamination rate															
	2001				2002				2003				2004			
	0	0.05	0.25	0.5	0	0.05	0.25	0.5	0	0.05	0.25	0.5	0	0.05	0.25	0.5
Gorom local	99.37	100.00	100.00	99.7	48.24	44.29	45.35	55.68	15.05	19.35	21.54	38.97	98.76	100.00	100	100.00
Kvx414-22-72	99.36	98.92	100.00	99.4	76.94	61.74	76.56	65.00	13.00	14.60	18.76	25.95	99.21	99.40	100	100.00
Kvx30-309-6G	98.98	100.00	99.40	100.0	31.94	40.07	42.62	45.91	17.02	16.47	21.64	36.37	98.87	99.12	100	99.33
Moussa local	97.67	95.22	100.00	96.8	58.01	70.8	80.45	82.64	15.10	25.60	31.43	36.37	98.76	97.89	100	100.00
Average	98.85	98.55	99.85	99.0	53.78	54.23	61.25	62.31	15.04	19.01	23.34	34.42	98.90	99.10	100	99.83
	0	0.25	1	5	0	0.25	1	5	0	0.25	1	5	0	0.25	1	5
Kvx61-1	11.66	12.71	13.13	22.38	6.06	8.30	21.86	28.89	1.12	2.03	2.13	17.30	12.61	14.87	17.77	20.39
KN1	19.35	34.66	38.01	49.03	4.86	6.88	20.87	27.78	0.70	0.96	6.07	16.72	20.20	21.43	29.89	51.15
Tvx3236	1.130	2.41	7.91	27.75	1.64	7.00	6.89	9.45	0.87	1.23	1.93	8.170	2.100	2.43	5.56	29.14
Kvx396-4-5-2D	15.40	18.67	34.52	36.15	2.54	4.26	17.53	20.90	3.06	3.15	12.62	15.76	14.67	17.00	31.32	36.70
Average	11.89	17.11	23.39	33.83	3.76	6.61	16.79	21.76	1.44	1.84	5.69	14.99	12.40	13.93	21.14	34.35

incidence corresponding to the contamination rate of 5% was significantly different from those corresponding to the other rates. The increase of incidences was very low compared to the case of the varieties with high ability of virus transmission by seed (Table 3a).

As at 31 days after sowing, the levels of infection at 59 days after sowing were low in comparison to those got in 2001 with the varieties having high ability of virus transmission to seed. No difference was shown between incidences corresponding with the various contamination rates. The incidences increased progressively to reach 80% in 2002 against 40% in 2003. A lower increase was observed with varieties of low ability of virus transmission by seed. The incidences reached 28% in 2002 against 17% in 2003 in some cases though no difference was observed whatever the seed initial contamination rate. Final incidences indicated that the disease evolution was very low in 2003 (Table 3b).

In 2004, 31 days after planting, the disease incidence was greater than 50% with varieties of high ability of virus transmission by seed with variety Moussa local as in 2001 (Table 3a). The analysis of variance did not show a significant difference between the various seed initial contamination rates, $F = 0.77$; $p = 0.53$. With the four varieties of low ability of virus transmission by seed, the rate of diseased plants remained below 10% even with seed initial contamination rates of 5%. The differences observed at the level of the incidences corresponding to the contamination rates of 0-5% were not significant. The increase of incidences was very low compared to the case of the varieties of high ability of virus transmission by seed.

The levels of infection at 59 days after sowing were similar with varieties having high ability of virus transmission to the seed. No difference was shown between the incidences corresponding to the various contamination rates. Therefore, the levels of incidences

had greatly increased in all cases, reaching 95 to 100% (Table 3b). A lower increase was observed with varieties of low ability of virus transmission by seed. The incidences reached that way 50% in only one case though no difference was observed whatever the seed initial contamination rate.

Evolution of CABMV incidence: The number of diseased plants was scored every week from 10 days after sowing until 59 days in each seed levels of initial contamination within three replications. The averages of diseased plants were achieved every week and the incidences curves in percent were drawn according to the number of days after planting. The obtained curves were those of polycyclic epidemics where the inoculum increases with time. This situation meets the theoretical model of (Van Der Plank, 1963; Lepoivre, 1989). According to which the growth of the disease at the time t is proportional to the level of diseased plants at this moment. The number of diseased plants according to the time showed that the early infected plants became themselves infectious and contributed therefore to the inoculum growth. The speed of spreading increased with the growth of diseased plant number.

Kinetic of the CABMV spreading at field level from 0% level of initial contamination rate 2001 to 2004: The evolution of the average number of diseased plants in the plots sown with virus-free seed, during the four years differed from one year to the other with therefore some likenesses.

With the varieties of high ability of virus transmission by seed, the obtained curves were of sigmoid shape, indicating a very fast spreading speed resulting in some cases infection rates of 100% between 31 and 38 days after sowing (2001 and 2004). At these same dates, the rate of diseased plants remained lower than 30% with the same varieties in 2002 and 2003.

With the varieties of low ability of virus transmission by seed, the obtained curves showed that the speed of the disease spreading was low and also similar in evens. The results of 2001 were similar to those of 2004 and those of 2002 to 2003. For these varieties, the speed of the disease due to secondary infections between 31 and 38 days after sowing hardly passed 10%. Up to the maturity, the disease incidence was of 20% in 2001 and 2004 against 6% in 2002 and 2003 (Fig. 1a, b).

Kinetic of the CABMV spreading at field level from an initial contamination rate of 0.25% from 2001 to 2004 with the eight varieties: From an initial contamination rate of 0, 25%, the varieties of high ability of virus transmission by seed had incidences higher than 60% 31 days after planting in 2001 and 2004, except the variety Moussa local, whose incidence was of 33 and 31%. At the same dates, the same varieties had incidences lower than 5% in 2002 and 2003. The obtained curves looked like the previous, except that the 100% incidence is reached around 38 days after planting in 2001 and 2004 as to say one week earlier. In 2002 and in 2003, at the same date, these incidences remained under the standard of 50%. With the varieties of the second group, the incidence of the disease was around 40% at maturity in 2001 and 2004 against 10% in 2002 and 2003 where secondary infections were very low (Fig. 2a, b).

Kinetic of the CABMV spreading at field level from an initial contamination rate of 0.05% from 2001 to 2004 with the sensitive varieties: The initial contamination rate of 0, 05% was only been used with varieties of the first

group. This rate tallies in other words to 5 contaminated plants in a share of 10000 plants. The obtained curves from the incidences reached the 100% over the standard of infection rate around 45 days after planting in 2001 and 2004. In 2002 and 2003, the secondary infections began 31 days practically after the planting. They progressed to reach 70% of diseased plants in spite of the lateness of the secondary infections starting in 2002 against 30% in 2003 at the maturity (Fig. 3a, b).

Kinetic of the CABMV spreading at field level from an initial contamination rate of 0.5% of 2001 to 2004 with the sensitive varieties: Still with varieties of high ability of virus transmission by seed, the obtained curves from a initial contamination rate of 0. 5% which means 5 plants contaminated in a share of 1000 plants were as sigmoid and comparable in evens. Therefore, the spreading speed was greater and located between 17 and 38 days after sowing. 100% incidence was quickly reached before the maturity in 2001 and 2004. At the same period, it was of 85 and 40%, respectively in 2002 and in 2003 (Fig. 4a, b).

Kinetic of the CABMV spreading at field level from an initial contamination rate of 1% from 2001 to 2004 with tolerable varieties: With the varieties of the group two, with an initial contamination rate of 1%, the secondary infections, intervened practically 31 days after planting. They slowly progressed to reach 40% of infection rate in 2001 and 2004, these rates were between 15 and 25% in 2002 and 2003. During these four years, the varieties KN1 and Kvx396-4-5-2D had always the highest incidence rates and Kvx61-1 and TVX3236 had the lowest rates (Fig. 5a, b).

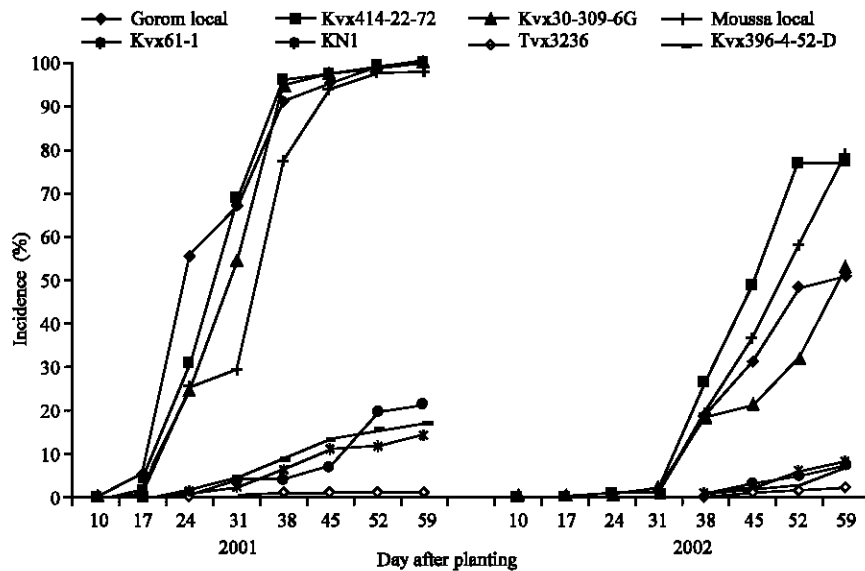


Fig. 1a: Kinetic of the CABMV spreading from an initial contamination rate of 0% of 2001 and 2002 with eight varieties

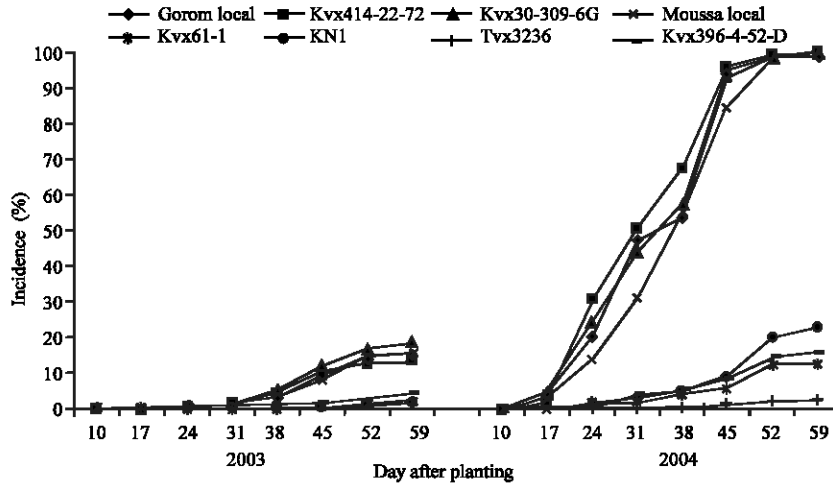


Fig. 1b: Kinetic of the CABMV spreading from an initial contamination rate of 0% of 2003 and 2004 with eight varieties.

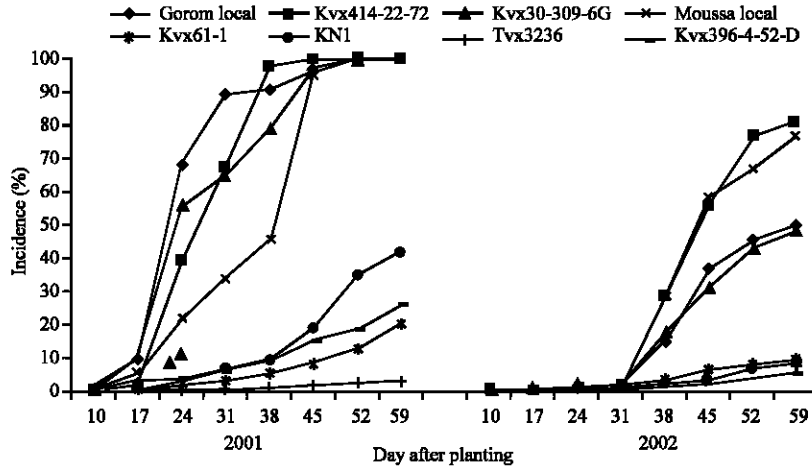


Fig. 2a: Kinetic of the CABMV spreading from an initial contamination rate of 0, 25% of 2001 and 2002 with eight varieties

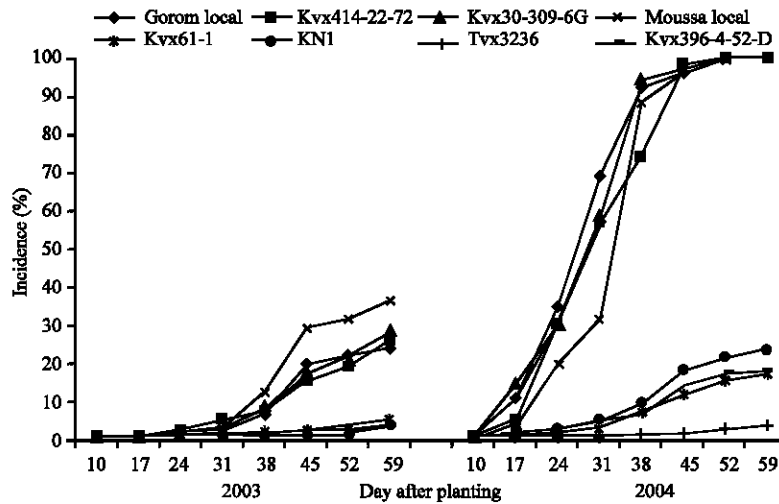


Fig. 2b: Kinetic of the CABMV spreading from an initial contamination rate of 0, 25% of 2003 and 2004 with eight varieties

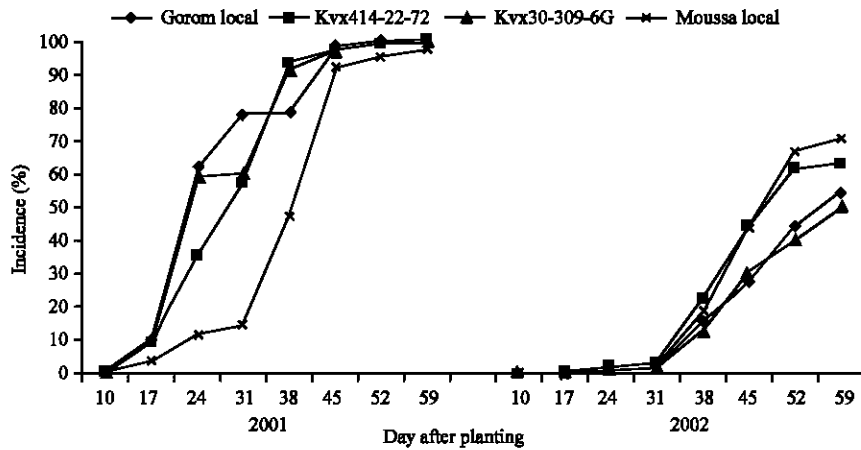


Fig. 3a: Kinetic of the CABMV spreading from an initial contamination rate of 0, 05% of 2001 and 2002 with the sensitive varieties

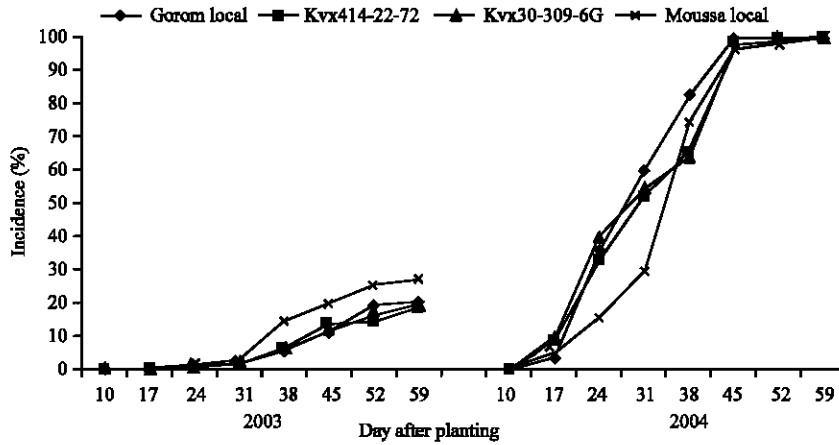


Fig. 3b: Kinetic of the CABMV spreading from an initial contamination rate of 0, 05% of 2003 and 2004 with the sensitive varieties

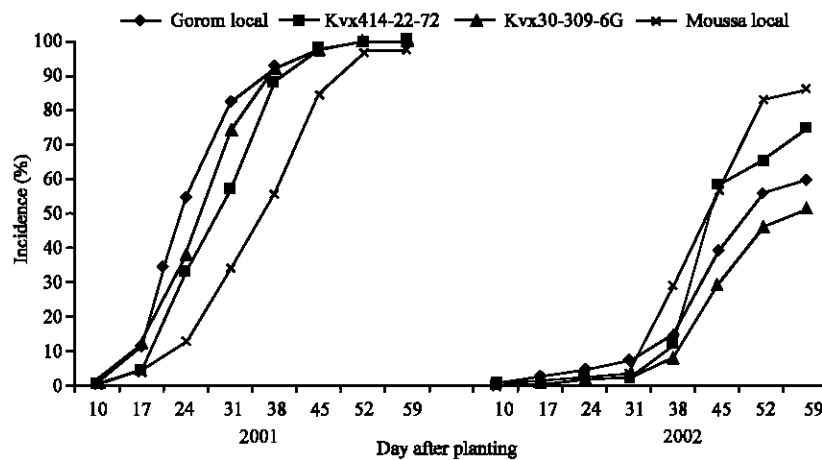


Fig. 4a: Kinetic of the CABMV spreading from an initial contamination rate of 0, 5% of 2001 and 2002 with the sensitive varieties

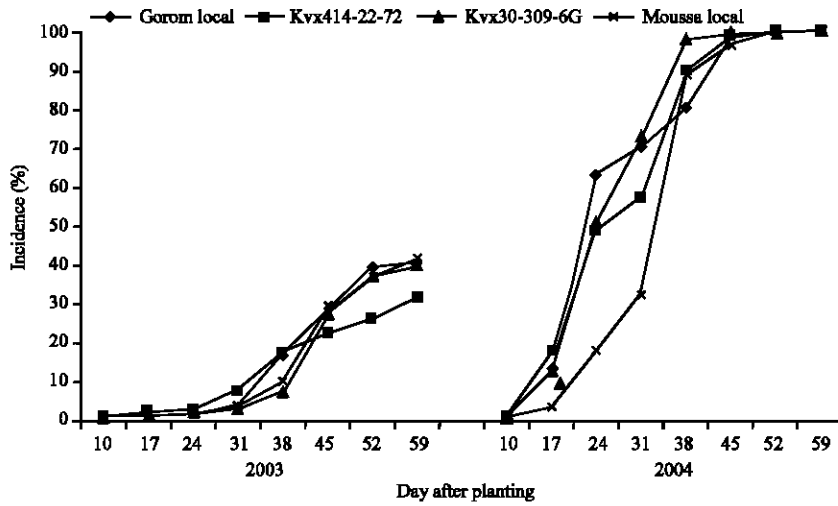


Fig. 4b: Kinetic of the CABMV spreading from an initial contamination rate of 0, 5% of 2003 and 2004 with the sensitive varieties

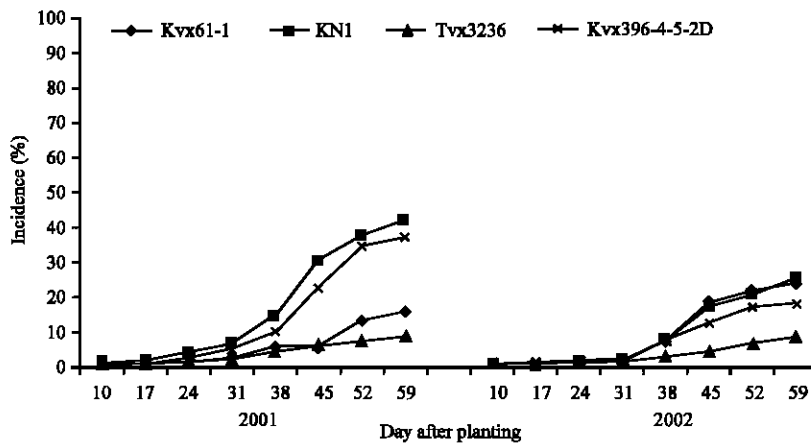


Fig. 5a: Kinetic of the CABMV spreading from an initial contamination rate of 1% of 2001 and 2002 with the tolerant varieties

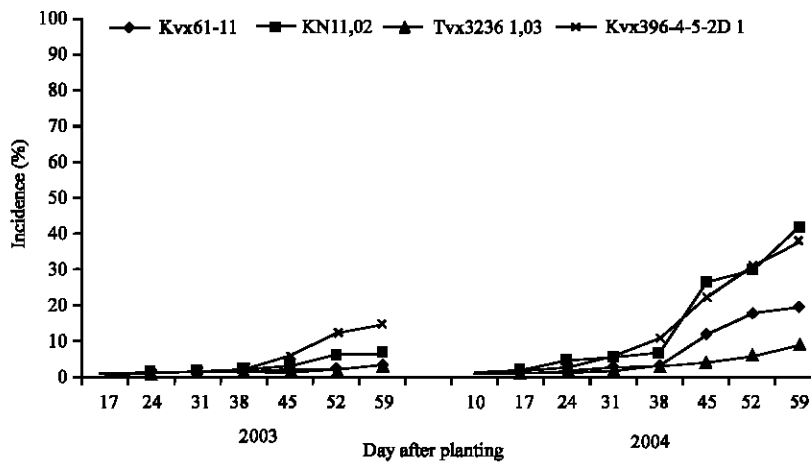


Fig. 5b: Kinetic of the CABMV spreading from an initial contamination rate of 1% of 2003 and 2004 with the tolerant varieties

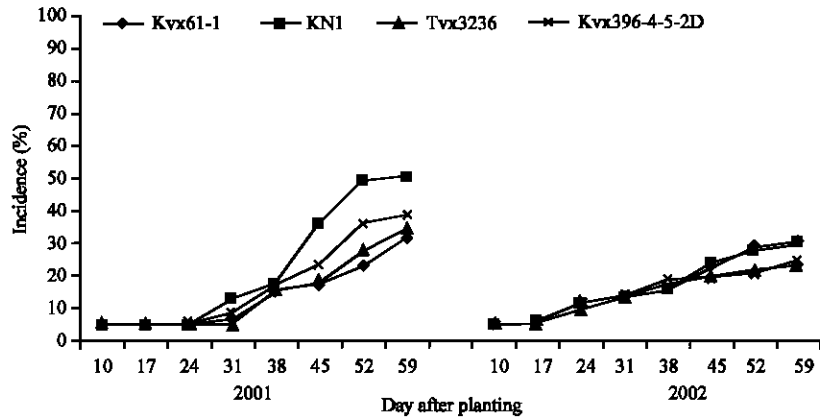


Fig. 6a: Kinetic of the CABMV spreading from an initial contamination rate of 5% of 2001 and 2002 with the tolerant varieties

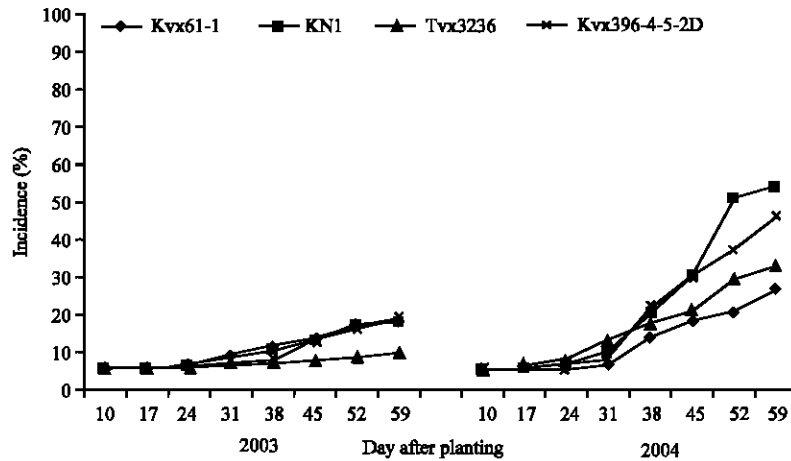


Fig. 6b: Kinetic of the CABMV spreading from an initial contamination rate of 5% of 2003 and 2004 with the tolerant varieties

Kinetic of the CABMV spreading at field level from an initial contamination rate of 5% of 2001 to 2004 with tolerable varieties: Starting from an initial contamination rate of 5%, the varieties of low ability of virus transmission by seed gave disease progression curves which were not so different from those obtained with an initial contamination rate of 1%. The starting of the secondary infections was also low as well as its progression. The greatest incidences have been observed in 2001 and in 2004. Varieties KN1 and Kvx396-4-5-2D also had the highest incidence rates (50%) at 59 days after planting and Kvx61-1 and Tvx3236 had the lowest infection rates at the same date (Fig. 6a, b).

DISCUSSION

The results showed that the development of the CABMV epidemic depends on the various and initial seed contamination rates. For varieties with high power to

transmit virus by seeds, the curves had a sigmoid pattern whatever the initial contamination rate. The secondary infections have especially been observed from the seventeenth day after sowing. They also marked the beginning of the logarithmic phase that ended since the 45th DAS because most plants had been infected, then giving impact rates of 100%. There was no impact rate difference between the average of plots sowed with virus-free seeds and those sowed with seeds with an initial rate of 0.5%. This could be due to the effect of the secondary contaminations assured by aphids (Frison, 1988) between plots corresponding to the various initial seed contamination rates. Aphid's high number and inoculum availability in the neighbouring plots were undoubtedly at the origin of this result. The impact rates of 100% have been reached in the last two weeks of the study in years with high epidemics even with virus-free seeds.

In the case of the varieties with a low faculty of the CABMV transmission by seeds such as the variety Kvx61-1, the secondary infections have been observed between 31 and 38 DAS. In any case, the disease had progressed slowly with a constant speed leading to impacts lower than 50% at the post-flowering period in spite of a relatively high and initial seed contamination rates. With Kvx61-1 variety, the CABMV propagation was low, thus giving some low impact rates even with seeds with contamination rate of 5%. For those varieties, the disease progression curves indicate a high resistance level to the infection (Tignegre, 2000; Neya, 2002). The use of seeds with low or not virus contamination can be appropriate to face the CABMV.

The high levels of infection especially observed with the variety local Gorom which represents the varieties with a high faculty of virus transmission to seed (Tignegre, 2000; Neya, 2002) suggest the necessity to reduce aphids' populations' density notably by the use of insecticides during cowpea vegetative phase. Insecticides application should be made in the third week after the sowing, most infections occurring between 17 and 24 days.

The achievement of impact rates of 100% from virus-free seeds with *Gorom local* settles the problematic of using such seeds. In that the solution would consist of setting an integrated biological control measure such as isolating the fields from important and external inoculum sources and applying suitable treatment against aphids. This research investigation has never been performed in the past.

The quality of seeds and especially the resistance of the cowpea varieties play an important role in the development and the propagation of the CABMV in the field.

REFERENCES

- About Ata, A.E., D.J. Allen, G. Thottappilly and H.G. Rossel, 1982. Variation in the rate of seed transmission of *Cowpea aphid borne mosaic virus* in cowpea. *Tropical Grain Legume Bull.*, 25: 2-7.
- Frison, E.A., 1988. Cowpea viruses in the sahel. *FAO Plant Protection Bull.*, 36: 9-18.
- Konate, G. and B.J. Neya, 1996. Rapid detection of *Cowpea aphid borne mosaic virus* in cowpea seeds. *Annal. Applied Biol.*, 129: 261-266.
- Lepoivre, P., 1989. Epidemiology of Plants Parasites Diseases. In: *Treaty Plant Pathology*. Gembloux Agron. Press, pp: 621.
- Neya, B.J., 2002. Epidemiologic aspects and serology variability of *Cowpea aphid borne mosaic virus* transmitted by aphid in Burkina Faso. M.Sc. Thesis, University of Ouagadougou, pp: 46.
- Reeves, W.H., 1983. The Cowpea. *Int. Inst. Trop. Agric. Ibadan Nig.*, pp: 170.
- Some, K.K.J., 1989. Epidemiology of *Cowpea aphid borne mosaic virus* transmitted by aphids in Burkina Faso. M.Sc. Thesis, University of Ouagadougou, pp: 46.
- Stanton, A.G., 1996. Introduction to Bio Statistical Scientific. *Scientific Revision of French. Michel, T. (Ed.)*. 4th Edn. McGraw-Hill, New York, pp: 456.
- Thottappilly, G. and H.W. Rossel, 1992. Virus diseases of cowpea in tropical Africa. *Trop. Pest Manage.*, 38: 337-348.
- Tignegre, J.B., 2000. Cowpea aphid-borne mosaic virus (CABMV) transmission to cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp). M.Sc. Thesis, University of Ouagadougou.
- Van der Plank, J., 1963. *Plant Diseases. Epidemics and Control*. Academic Press, New-York and London, pp: 349.

ANNEXE 4

B. J. Néya, J. Zabré, R.J. Millogo, S. GUINKO et G. Konaté, 2008. Propagation of the CABMV from Infected Seeds in Three Zones of Burkina. *Plant PathologyJournal* 7 (1): 75-84.

Propagation of the CABMV from Infected Seeds in Three Zones of Burkina

¹B.J. Néya, ¹J. Zabré, ²R.J. Millogo, ²S. Guinko and ¹G. Konaté

¹Institut de l'Environnement et de Recherches Agricoles (INERA), 01 BP 476 Ouagadougou 01, Burkina Faso

²UFR/SVT, Département de Biologie et Ecologie Végétales, Université de Ouagadougou, 03 BP 7021 Ouagadougou 03, Burkina Faso

Abstract: The effect of contamination of cowpea seeds by *Cowpea aphid borne mosaic virus* (CABMV) on disease development was studied in three agro-ecological zones of Burkina Faso. Seed contamination is the only source of primary infection by CABMV in the field while aphid vectors are responsible for secondary infections. Two cowpea varieties with different seed contamination rate (0, 0.05, 0.25, 0.5, 1 and 5%) were used. The infected plants were recorded every week from the tenth Day After Sowing (DAS) and over seven weeks. In the same way, populations of aphids were evaluated in plots at 30 DAS. There was a difference between the average numbers of insects from one location to another. The initial contamination rate of cowpea seeds by the CABMV played a leading important role in epidemics development according to the areas. With the variety Local Gorom, the secondary infections were early and fast in Niangoloko zone. In Sapouy area, the secondary infections were lower and belated. In the centre zone the impacts were lower than those of Sapouy. In the case of variety *Kvx61-1*, the secondary infections were medium for all initial contamination rates even in years of great epidemics. For each year, any difference of impact rate had not got between the different seeds upset contamination levels *Kvx61-1* behaved well in the three localities even the west where aphids appear precociously and densely.

Key words: *Cowpea aphid borne mosaic virus*, contaminated seeds, primary inoculum, aphids, epidemic

INTRODUCTION

The world cowpea production was estimated at three millions tons. Up to 12.5 millions hectares are under cowpea cultivation, 64% of are located in Africa (Singh *et al.*, 1997). An increased and sustained production has been recorded during the last five years in Malawi, Niger, Nigeria, Burkina Faso, Mali, Togo and Benin. In each part of the world and especially in Africa, cowpea production extension is emphasized.

Unfortunately, the increase of cowpea production is jeopardized by several biotic and abiotic constraints that limit or even annihilate cowpea yields. The point is the non availability of adapted varieties to the different zones, soil and climate combined action, harmful insects and weeds pressure, finally and especially diseases (Taiwo and Akinjogunla, 2006; Kareem and Taiwo, 2007). In the case of aphid-transmitted viruses, scabs or brown stains, susceptible cowpea varieties can suffer from yield losses between 50 and 100% in savannah zones (Reeves, 1983).

Very little monitored until a recent past on statistical grounds, the national production in Burkina Faso

increased these last five years from 309,466 t in 1999 to around 456,000 ton in 2003 (DGPSA, 2004). Climatic conditions in the country is characterised by strong contrasts going from the North to the South, which imposes the use of adapted cowpea varieties and auspicious sowing dates to every zone. Burkina Faso is part of the Sahel region which stretches from Senegal to Sudan and is enclosed by 7° and 15° North latitude and 17° West and 24° East longitude. Three agro-ecological zones are distinguished (Anonymous, 1993):

- The Sahelian zone in the North with an annual rainfall of 400 to 600 mm
- The Sudanian zone in the centre (600 to 900 mm of annual rainfall)
- North Guinean zone (900 to 1200 mm) in the South West

All agro-ecological zones are well suitable to cowpea cultivation because several varieties adapted to the different climatic conditions of the country have been developed by research institutions. However, most cowpea production is done in the centre and western part

of the country. Although CABMV has been reported in all agro-ecological zones two decades ago (Somé, 1989), the effect of climatic conditions on the development of the cowpea mosaic disease has not been investigated.

The objective of this study is to assess and to compare the impact of the agro-ecological differences on cowpea mosaic disease development in Burkina Faso. This information is necessary for the development of adequate control measures against CABMV. Results obtained in this country may also be useful for other countries of the Sahel region, since they all shared similar agro-ecological conditions.

MATERIALS AND METHODS

Plant material and seed contamination rates: Two cowpea varieties were used throughout the experiments: Local Gorom representing the group of the susceptible varieties (Tignegre, 2000; Neya, 2002) with four levels of seed contamination rate (0, 0.05, 0.25 and 0.5%) and *Kvx61-1* the one of the tolerant or resistant varieties (Tignegre, 2000; Neya, 2002) with four levels of seed contamination rate (0, 0.25, 1 and 5%).

All seed contamination levels were obtained by mixing contaminated seeds with virus-free seeds at appropriate proportions. Contaminated seeds were identified by means of the non-destructive Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) as implemented by Konate and Neya (1996). Basically, the test was conducted as described by Clark and Adams (1977), especially with regard to buffer systems and incubation times. A fragment of 60 mg was taken from the distal part (opposite to the embryo side) of each seed and hand-ground with mortars and pestles in 150 µL extraction buffer. After decantation, the supernatant was used as antigen source. Absorbance readings (A405 nm) were recorded with a Metertech Σ960 automatic ELISA plate reader. Seed extracts were considered to be positive for CABMV detection if their A405 nm readings were higher than thrice those of healthy control seeds. The remaining embryo-side parts of the positive seeds of each cowpea variety were pooled and used as virus-contaminated seed batches.

Field experiments and statistical analyses: Cowpea mosaic disease development was investigated over three consecutive years (from 2002 to 2004) in the central, the west-central and the western parts of Burkina Faso. Specific locations in each part were Somnawaye (Centre), Sapouy (West-central) and Niangoloko (West). In each location, experiments were conducted on 200 m²-plots separated one from another by at least 50 m to minimize

cross infections between plots. Treatments were composed of the different seed contamination rates and three replicates were done per treatment. In each plot, mineral fertiliser consisting of Nitrogen-Phosphate-Potassium (NPK 14-23-14) was applied at 100 kg ha⁻¹. Cowpea seeds were sown in rows with distances of 0.80 m between rows and 0.40 m between seed holes on the same row.

Proportions of infected plants were recorded in each plot once a week from 10 Days After Sowing (DAS) to 59 DAS. Populations of aphid vectors were evaluated at 30 DAS using the six-digits (0 to 5) evaluation scale of Jackai and Singh (1988) where 0 = no infestation; 1 = 1-4 aphids per plant; 2 = 5-20 aphids per plant; 3 = 21-100 aphids per plant; 4 = 101-500 aphids per plant and 5 = more than 500 aphids per plant. All disease incidence and aphid counting data were analyzed by analysis of variance (ANOVA) (Stanton, 1996).

RESULTS

Counting of the total number of plants at germination:

One week after sowing, the total number of the plants of each variety was been counted on all plots in the three zones. At the plots level, the number of plants varied between a minimum of 614 and a maximum of 737 (Table 1a, b).

Assessment of aphid populations 30 days after sowing in the three locations:

The number of aphids in the plots corresponding to each seeds initial contamination rate was appraised. The results were consigned in the Table 2a and b. The notes assigned in each of the two groups of tested cowpea varieties according to the entomologists scale varied between 2 and 4. For each year, the analysis of variance showed that there was no significant difference between the average number of insects per plot, per variety and per location. In 2002, for the Local Gorom ($F = 1.58$; $p = 0.27$) whereas for the variety *Kvx61-1* ($F = 0.33$; $p = 0.80$). In 2003, these values were ($F = 0.25$ $p = 0.86$) for the Local Gorom and ($F = 0.67$; $p = 0.59$) for *Kvx61-1*. In 2004, for Local Gorom, $F = 0.33$; $p = 0.80$ while for *Kvx61-1* ($F = 0.25$ and $p = 0.86$). Even though according to Newman-Keuls' test, the analysis of variance didn't shown any significant difference of aphids infestation in the plots, but the note four was very often been assigned in the plots of the locality of Niangoloko confirming aphids steeper pressure in this zone.

The effect of seeds contamination rate on the disease impact 31 and 59 DAS: In 2002, 31 DAS, the disease impact was as well superior in the locality of Niangoloko

Table 1a: Mean total number of plants per Initial Contamination Rate (ICR) and per zone with Local Gorom

Locality	ICR (%) 2002				ICR (%) 2003				ICR (%) 2004			
	0	0.05	0.25	0.5	0	0.05	0.25	0.5	0	0.05	0.25	0.5
Somnawaye	675	723	614	687	693	667	668	645	671	684	683	678
Sapouy	685	687	645	645	666	678	642	673	690	677	681	709
Niangoloko	657	645	677	639	659	655	675	656	648	689	657	647

Table 1b: Mean total number of plants per Initial Contamination Rate (ICR) and per zone with *Kvx61-1*

Locality	ICR (%) 2002				ICR (%) 2003				ICR (%) 2004			
	0	0.25	1	5	0	0.25	1	5	0	0.25	1	5
Somnawaye	738	696	738	734	673	701	698	709	682	715	647	699
Sapouy	736	722	729	737	681	688	675	712	688	693	688	702
Niangoloko	722	616	722	722	673	679	655	689	678	679	704	723

ICR = Initial Contamination Rate

Table 2a: Aphid's population assessment on the plots one month after sowing with Gorom local

Locality	ICR (%) 2002				ICR (%) 2003				ICR (%) 2004			
	0	0.05	0.25	0.5	0	0.05	0.25	0.5	0	0.05	0.25	0.5
Somnawaye	3	2	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
Sapouy	3	2	2	2	3	3	2	3	3	4	3	4
Niangoloko	4	3	3	3	3	4	4	3	4	4	4	4

Table 2b: Aphid's population assessment on the plots one month after sowing with *Kvx61-1*

Locality	ICR (%) 2002				ICR (%) 2003				ICR (%) 2004			
	0	0.25	1	5	0	0.25	1	5	0	0.25	1	5
Somnawaye	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
Sapouy	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	4
Niangoloko	4	4	4	3	3	3	4	4	4	4	4	4

ICR = Initial Contamination Rate, Aphids number have been appraised using the following scale, 0 = no infestation; 1 = 1-4 aphids per plant; 2 = 5-20 aphids per plant; 3 = 21-100 aphids per plant; 4 = 101-500 aphids per plant; 5 = more than 500 aphids per plant

for each initial contamination rate with Local Gorom as with *Kvx61-1* followed by Sapouy locality that had an intermediate impact. The locality of Somnawaye had the weakest some impact both the variety and the initial contamination rate. With the variety Local Gorom, the analysis of variance didn't shown a significant difference between the various seeds initial contamination rates ($F = 1.89$; $p = 0.21$) (Table 3a), on the other hand, with the variety *Kvx61-1*, there is a significant difference between the contamination rates of 1 and 5% and the rates of zero and 0.25% ($F = 4.81$; $p = 0.034$), (Table 3b).

All as at 31 DAS, the disease impact rates at 59 days after sowing reached 100% with the variety Local Gorom either the upset contamination rate in Niangoloko. In Sapouy, the rate of sick plants also reached 100% in the plots where seeds were initially contaminated at 0.5% against 70 and 78% in the other plots. There again, there was no significant difference between the various initial rates but there is a significant difference between Niangoloko zone and the one of Somnawaye ($F = 5.72$; $p = 0.025$) (Table 4a). With the *Kvx61-1* variety, the infection rates were lower in comparison with Local Gorom. For all initial contamination rates, the zone of Niangoloko had the higher impact (39 to 66%) followed by the one of Sapouy (7 to 18%). Low impacts have been

recorded in Somnawaye (5 to 16%) from the lower initial contamination rate to the higher. The analysis of variance showed a significant difference between the zone of Niangoloko and the two others ($F = 32.12$; $p = 0.001$), (Table 4b).

For the year 2003, the different seeds initial contamination rates of Local Gorom gave at 31 DAS impact rates similar to the previous year. Niangoloko had the higher impact always followed by Sapouy and before Somnawaye. In each locality, the impacts of the mosaic virus changed in the increasing sense of the upset contamination rates. Therefore, a significant difference between the Niangoloko zone and the two others have been shown ($F = 14.89$; $p = 0.001$) (Table 3a). With the variety *Kvx61-1* at this date, the number of sick plants was low in the three localities. The analysis of variance didn't shown a significant difference between the three zones ($F = 0.46$; $p = 0.666$). On the other hand, the impact corresponding to the contamination rate of 5% was significant different from those corresponding to the other rates ($F = 15.78$; $p = 0.001$) (Table 4b).

The impact rates of the disease with Gorom local 59 DAS were less elevated than those of the year before. In Niangoloko, this rate was respectively of 48.5% from virus-free seeds against 18.5 and 15% in Sapouy and in

Table 3a: Disease impact 31 DAS from the different ICR with Local Gorom in the three localities

Locality	ICR (%) 2002				ICR (%) 2003				ICR (%) 2004			
	0	0.05	0.25	0.5	0	0.05	0.25	0.5	0	0.05	0.25	0.5
Somnawaye	0.13	5.00	5.16	13.9	1.47	1.82	3.55	3.50	34.41	46.12	47.43	68.98
Sapouy	7.31	8.87	9.45	31.6	3.95	8.67	6.33	19.8	47.17	49.12	70.70	76.11
Niangoloko	9.13	30.18	30.20	39.2	18.56	19.23	31.16	33.7	57.48	66.80	77.34	88.59

Table 3b: Disease impact 31 DAS from the different ICR with *Kvx6I-1* in the three localities

Locality	ICR (%) 2002				ICR (%) 2003				ICR (%) 2004			
	0	0.25	1	5	0	0.25	1	5	0	0.25	1	5
Somnawaye	0.12	0.43	1.00	6.11	0.00	1.36	1.40	9.0	1.58	2.48	2.77	5.97
Sapouy	2.12	2.33	2.75	7.11	1.43	2.84	3.46	8.6	2.13	4.78	6.45	13.44
Niangoloko	2.14	4.28	5.24	14.80	2.13	2.43	4.48	14.2	7.64	7.56	11.66	22.67

ICR = Initial Contamination Rate

Table 4a: Disease impact 59 DAS from the different ICR with Local Gorom in the three localities

Locality	ICR (%) 2002				ICR (%) 2003				ICR (%) 2004			
	0	0.05	0.25	0.5	0	0.05	0.25	0.5	0	0.05	0.25	0.5
Somnawaye	22.93	37.30	54.47	96.7	15.02	20.14	23.56	40.13	99.28	99.28	100	100
Sapouy	70.12	77.88	78.56	100.0	18.46	28.59	37.68	66.18	100.00	100.00	100	100
Niangoloko	100.00	100.00	100.00	100.0	79.34	56.43	79.34	97.67	100.00	100.00	100	100

Table 4b: Disease impact 59 DAS from the different ICR with *Kvx6I-1* in the three localities

Locality	ICR (%) 2002				ICR (%) 2003				ICR (%) 2004			
	0	0.25	1	5	0	0.25	1	5	0	0.25	1	5
Somnawaye	4.67	4.75	7.44	16.3	2.18	3.12	4.73	18.64	9.14	16.88	19.67	26.78
Sapouy	7.12	7.87	10.11	18.5	6.42	6.68	7.13	23.19	13.14	23.34	26.65	29.77
Niangoloko	38.96	44.63	47.14	66.2	9.14	10.75	11.16	27.55	31.67	46.84	46.19	58.67

ICR = Initial Contamination Rate

Somnawaye. In each zone, the high impacts have been got with seeds with initial contamination rates of 5%. Niangoloko was in head with 97.67% followed by Sapouy with 66.18% and finally Somnawaye with 40.13% of impact rate. There wasn't a significant difference between the different contamination rates ($F = 1.59$; $p = 0.267$). On the other hand it has been between Niangoloko and the two other localities ($F = 6.43$; $p = 0.018$), (Table 4a).

At the same date, with the variety *Kvx6I-1*, impacts were very low in the three zones and for all seeds initial contamination rates. The analysis of variance showed that there didn't have a significant difference between the three sites. But, the impact corresponding to the contamination rate of 5% was significantly different from those corresponding to the other rates ($F = 14.05$; $p = 0.001$) (Table 4b).

Finally in 2004, the disease impacts with Gorom local 31 DAS were upper than 50% in Niangoloko even with virus-free seeds. The analysis of variance didn't shown a meaningful difference as well between the three zones ($F = 2.69$; $p = 0.121$) as between the different contamination rates ($F = 3.75$; $p = 0.060$), (Table 3a). At this date, the impact rates were very low in the three zones with the variety *Kvx6I-1*. With seeds with initial contamination of 5%, the impact was from 22.67% in Niangoloko, 13.44% in Sapouy and 6% in Somnawaye.

No significant difference has been shown neither between the localities ($F = 3.32$; $p = 0.083$) nor between the different initial contamination rates ($F = 2.35$; $p = 0.149$), (Table 3b).

With Local Gorom, the impact rates reached 100% in all localities 59 DAS even in the plots where virus free seeds have been used. The analysis of variance showed that there is no significant difference between localities or between the different initial contamination rates, Table 4a. With the variety *Kvx6I-1*, the impacts were at this date, lower than 50% for all initial contamination rates but the initial contamination rate of 5% in Niangoloko with an impact rate of 58.67%. There was no significant difference between the different initial contamination rates but in the other hand it had been between Niangoloko and the other localities ($F = 8.68$; $p = 0.008$), (Table 4b).

The kinetics of the CABMV in-field spreading from a virus free seeds (0%) from 2002 to 2004 with the two varieties in the three zones: The evolution of the number of sick plants in the plots sowed with virus-free seeds during the three years differs from one year to the next with however some likeness. With the variety Local Gorom representing the group of the varieties with high power of virus transmission by seeds, the obtained curves in Niangoloko zone are all of sigmoid pace. It

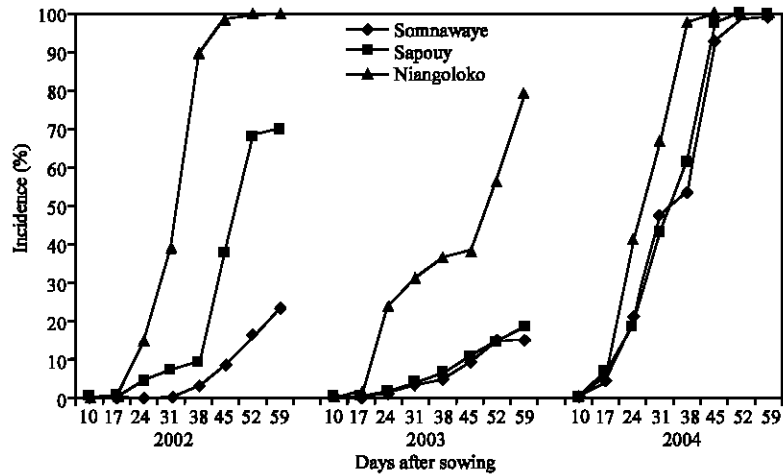


Fig. 1: Kinetic of the CABMV propagation from an initial contamination rate of 0% with Gorom local in the three localities in 2002, 2003 and 2004

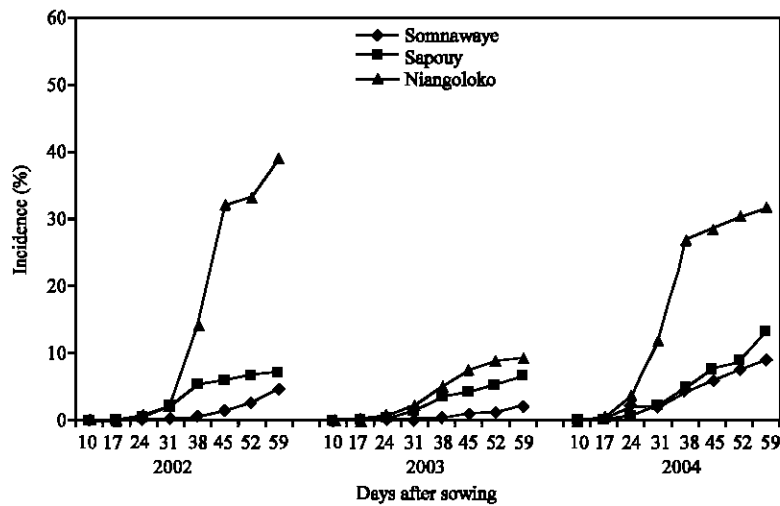


Fig. 2: Kinetic of the CABMV propagation from an initial contamination rate of 0% with *Kvx61-1* in the three localities in 2002, 2003 and 2004

indicates a very fast propagation speed permitting to reach in 2002 and in 2004 infection rates of 100% between 17 and 38 DAS. The disease impact remained lower than 80% in 2003, year of low epidemic (Fig. 1). With the variety *Kvx61-1*, the secondary infections began practically 31 DAS giving thus a low impact rate in 2002 (39%) and in 2004 (32%). In 2003, the spreading curve kinetics showed that the epidemic development speed was very low giving an impact rate of 9% at the end of the infected plants counting (Fig. 2).

In Sapouy, with the variety Local Gorom, the obtained spreading kinetics curves showed a low plants infection speed in 2002 until 38 DAS. After this date, the propagation speed increased to reach an impact rate of 70% at 59 DAS. In 2003, the disease

propagation speed was very low. The impact rate was lower than 20% at the end of the experience. On the other hand in 2004, the propagation curve kinetics gave a sigmoid pace indicating a fast speed of the epidemic development. Indeed, started 17 DAS, the secondary infections reached an impact rate of 100% 45 DAS (Fig. 1). With the variety *Kvx61-1*, the propagation speed was very low in 2002, in 2003 and in 2004 with an impact of 13% in spite of that was a year of virus high epidemic (Fig. 2).

In the locality of Somnawaye, with Local Gorom, the disease propagation speed was very low in 2002 and in 2003 giving respectively impact rates of 23 and 15%. On the other hand, this speed was high and had generated an impact rate of 100% at 52 DAS in 2004 (Fig. 1).

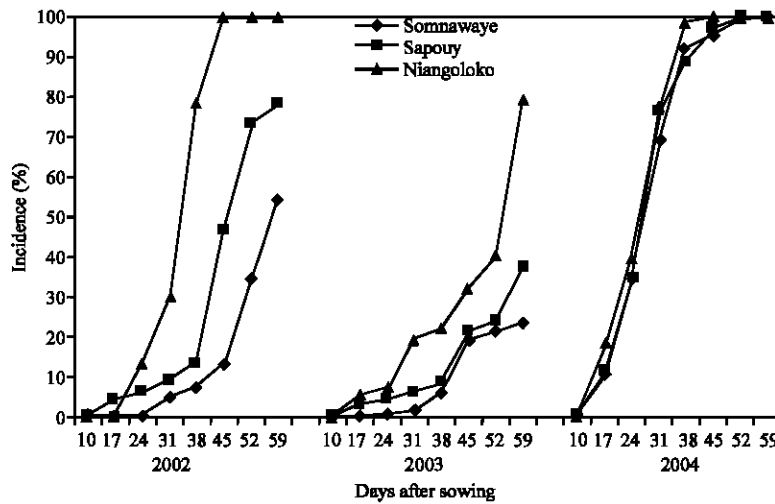


Fig. 3: Kinetic of the CABMV propagation from an initial contamination rate of 0. 25% with Gorom local in the three localities in 2002, 2003 and 2004

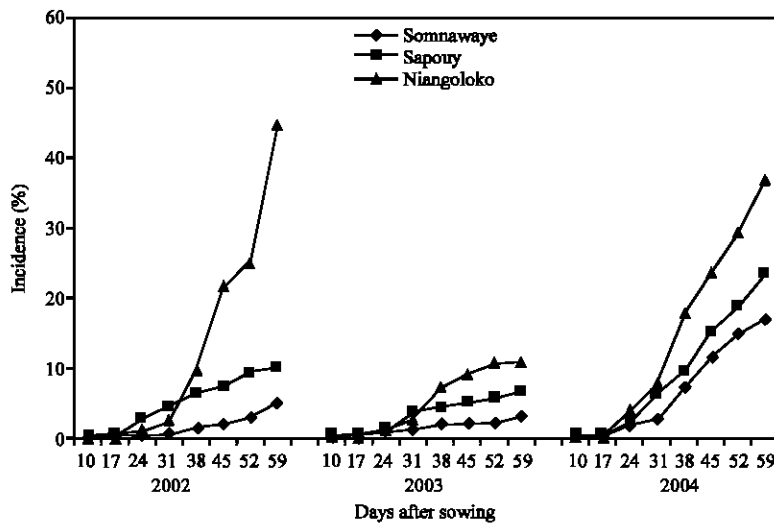


Fig. 4: Kinetic of the CABMV propagation from an initial contamination rate of 0. 25% *Kvx61-1* local in the three localities in 2002, 2003 and 2004

With the variety of low virus transmission power by seeds, the obtained curves showed that the disease propagation speed was even lower over the three years compared to those of Sapouy (Fig. 2).

The kinetics of the CABMV propagation in-field from an initial contamination rate of 0.25% from 2002 to 2004 with the two varieties: From an initial contamination rate of 0.25%, the evolution of sick plants number in the plots during the three years differs not only from one year to the next but also from one variety to the other.

The obtained curves got in Niangoloko zone with the variety Local Gorom representing the group of the

varieties with high powers of virus transmission by seeds, are all of sigmoid pace excepted the one of 2003. Started to 17 DAS, secondary infections had a very fast propagation speed allowing reaching in 2002 and in 2004 infection rates of 100% between 17 and 38 DAS. The disease impact remained lower than 50% in 2003, year of low epidemic (Fig. 3). With the variety *Kvx61-1*, secondary infections timidly began 31 DAS. This situation gave thus a mean impact rate of 45% in 2002 and in 2004. The propagation kinetics curve showed that in 2003 the epidemic development speed was very low with an impact rate of 11% (Fig. 4).

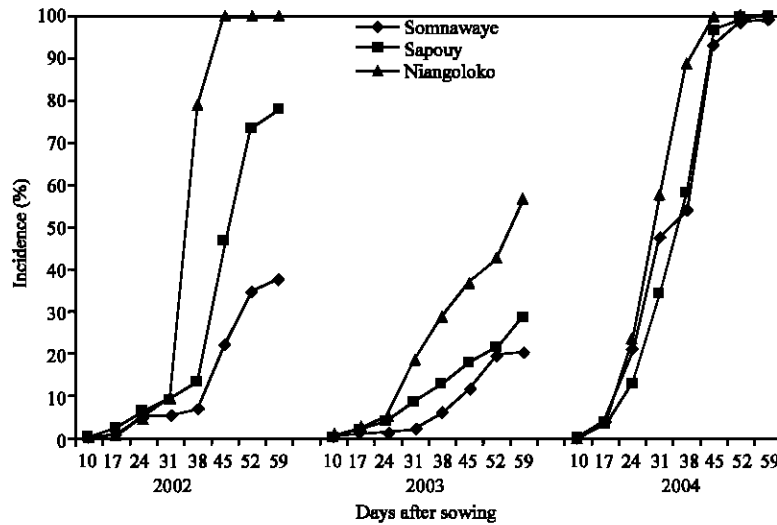


Fig. 5: Kinetic of the CABMV propagation from an initial contamination rate of 0.05% with Gorom local in the three localities in 2002, 2003 and 2004

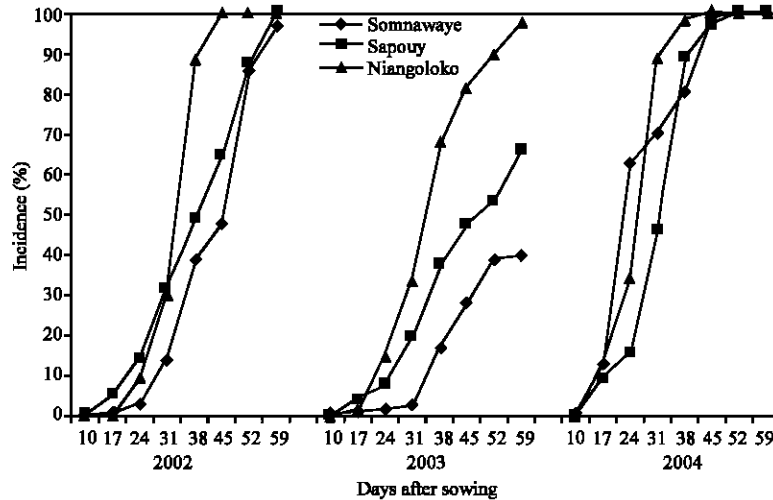


Fig. 6: Kinetic of the CABMV propagation from an initial contamination rate of 0.5% with Gorom local in the three localities in 2002, 2003 and 2004

With the variety Local Gorom in Sapouy, the propagation kinetics curves got showed a delayed infection starting until 36 DAS in 2002 and 2003. The propagation speed increased after this date to reach an impact rate of 78% in 2002 against 38% in 2003 59 DAS. The propagation kinetics curves gave on the other hand in 2004 a sigmoid pace indicating a fast speed of the epidemic development. Indeed, started 10 DAS, the secondary infections reached an impact rate of 100% 38 DAS (Fig. 3). With the variety *Kvx61-1*, the propagation speed was lower than 10% in 2002 and in 2003 and even in 2004 with an impact of 23.34% in spite of the fact that it is one year of virus high epidemic associated to a basis contamination rate of 0.25% (Fig. 4).

In the locality of Somnawaye, with Local Gorom, the disease of propagation speed was medium in 2002 and low in 2003 giving respectively impact rates of 55 and 24%. On the other hand, this speed was high and generated an impact rate of 100% 52 DAS (Fig. 3). With the variety *Kvx61-1* with low power of virus transmission by seeds, the obtained curves showed that the disease propagation speed was even lower through the three years compared to those of Sapouy (Fig. 4).

The kinetics of the CABMV propagation in-field from an initial contamination rate of 0.05 and 0.5% of 2002 to 2004 with Local Gorom: The obtained curves in the zone of Niangoloko with the variety Local Gorom from the

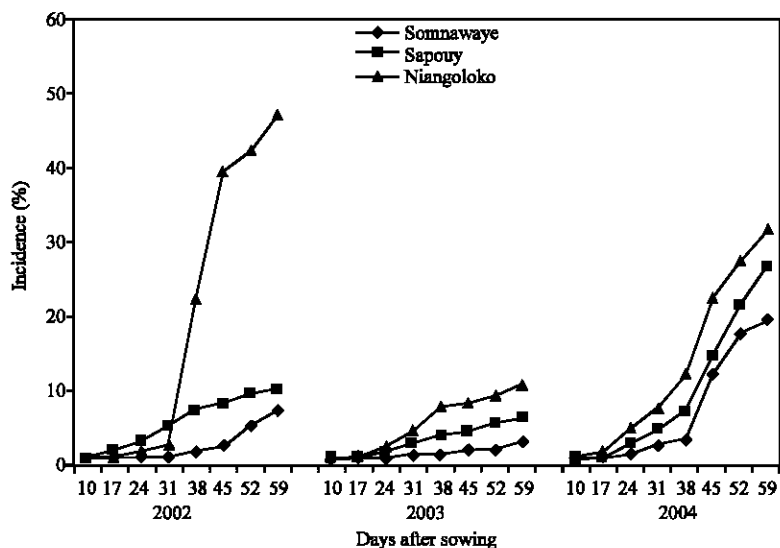


Fig. 7: Kinetic of the CABMV propagation from an initial contamination rate of 1% with *Kvx61-1* in the three localities in 2002, 2003 and 2004

initial contamination rates of 0.05 and 0.5% are all of sigmoid paces and similar, excepted the one of 2003 with 0.05% of initial contamination rate. The secondary infections had a very fast propagation speed and started between 10 and 17 DAS, they reached then infection rates of 100% 45 DAS. The disease impact remained lower than 100% in 2003 in the plots that received contaminated seeds at 0.05 and 0.5%. In spite of the fact that the second contamination rate is ten times superior to the first. The impacts rates were more or less the same (Fig. 5, 6).

The obtained kinetics of propagation curves of Sapouy locality with these two seeds contamination levels was different according to the basis contamination level. The impact rates from seeds contaminated at 0.05% have been raised in 2002 (78%), very low in 2003 (29%) and very elevated and precocious in 2004, 100% at 45 DAS (Fig. 5). With seeds contaminated at 0.5%, the disease propagation speed has been raised in 2002 and reached the impact rate of 100% 59 DAS against 66% in 2003. It has been very height and very precocious in 2004 and reached the maximum impact rate 45 DAS (Fig. 6).

In the locality of Somnawaye, from seeds contaminated at 0.05% with Local Gorom, the disease propagation speed was low in 2002, 37% 59 DAS. It was even lower in 2003 giving an impact rate of 20% at the same date. On the other hand, this speed was high and precocious in 2004 and generated an impact rate of 100% 45 DAS (Fig. 5). With an initial contamination rate of 0.5%, impacts of 100% have been obtained between 52 and 59 DAS in 2002 and in 2004 following a fast epidemic development contrary to the year 2003 where an impact of 40% has been obtained 59 DAS (Fig. 6).

The kinetics of the CABMV propagation in-field from an initial contamination rate of 1 and 5% from 2002 to 2004 with *Kvx61-1*: With the variety *Kvx61-1* and from infected seeds at 1% by virus, the secondary infections timidly began 31 DAS in 2002 in Niangoloko. Then, the propagation speed became medium and gave an impact rate of 48% 59 DAS. This propagation speed and this impact rate were similar to those obtained in 2004. The curve of propagation kinetics had a shy progression in 2003 and the epidemic development speed was very low with an impact rate of 11% (Fig. 7).

With seeds contaminated at 5%, the features of epidemics development were identical to those gotten with infected seeds at 1%. Therefore, a high increase of impact rates has been observed (Fig. 8).

In Sapouy zone, the propagation speed was low and the impact rates were of 10% in 2002 and 7% in 2003 and even in 2004 with an impact of 27% in spite of the fact that it is a year of the high epidemic associated to a contamination rate 1% (Fig. 7).

From an initial rate of 5%, the impacts were of 19% in 2002, 23% in 2003 and 30% in 2004 (Fig. 8).

In Somnawaye, with *Kvx61-1* seeds contaminated at 1%, the obtained curves showed that the disease propagation speed was lower during the three years compared to those of Sapouy and Niangoloko. The impact rates progressed between 5 and 20% (Fig. 7). With a basis rate of 5%, the disease propagation speed had the previous features (Fig. 8).

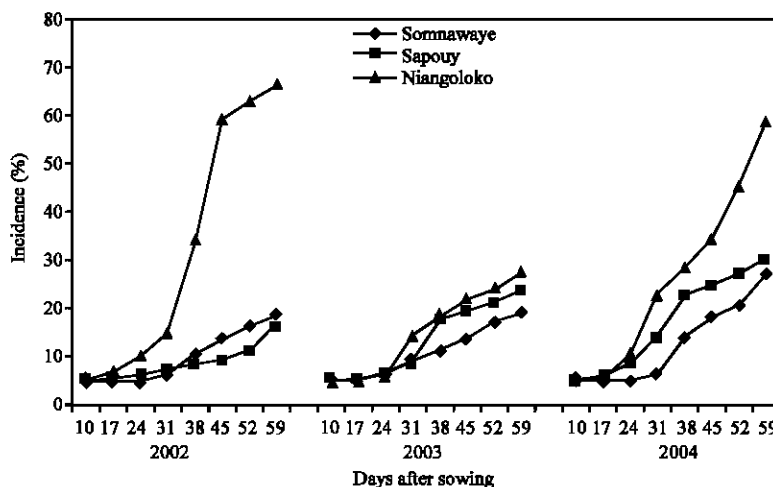


Fig. 8: Kinetic of the CABMV propagation from an initial contamination rate of 5% with *Kvx61-1* in the three localities in 2002, 2003 and 2004

DISCUSSION

To the term of this study, it came out again aphids infestation importance varies according to the seasons and is encouraged by drought pockets. These results confirm those of Dabire (1992). The results also showed that the development of the CABMV epidemic is faster and more precocious in the western area. With the varieties of high powers to transmit virus by seeds represented by the variety Local Gorom, the curves had a sigmoid pace whatever the initial contamination rate. The secondary infections have especially been observed from the seventeenth day after sowing. They also marked the beginning of the logarithmic phase that ends since the 45th DAS because most plants have been infected giving impact rates of 100%. There was no impact rate difference between the average of plots sowed with virus-free seeds and those sowed with seeds at a rate of 0.5%. It could be due to the effect of the secondary contaminations crossed assured by aphids (Frison, 1988) between plots corresponding to the various seeds initial contamination rates. Aphid's high number and inoculum availability in the plots were undoubtedly at the origin of this result. According to Dabire (1992), it is indeed, evident from her works that aphid flights are more precocious and more intense in the west and decreases from the centre to the north. This situation would explain the decrease of the impact in the same sense that wants to say from West to North.

In the case of the varieties of low power of virus transmission by seeds represented by the variety *Kvx61-1*, the secondary infections have been observed between 31 and 38 DAS generating impact rates lower than 50% in Niangoloko.

In Sapouy locality, the diseases propagation is more belated and less fast than to the west with Local Gorom. The impact rate of 100% is reached with one or two weeks of delay on the west zone.

In the case of the varieties of low faculty of the CABMV transmission by seeds as the variety *Kvx61-1*, the secondary infections have been observed between 31 and 38 DAS. In any case, the disease progressed slowly with constant speed leading to impacts lower than 30% 59 DAS in spite of relatively a high seeds initial contamination rates.

Finally, in the centre zone (Somnawaye), Local Gorom gave some lower impact rates than those of Sapouy region. The impact rates of 100% have been reached in the last two weeks of the study in year of high epidemic as 2004 or some times with contaminated seeds at 0.5%. With *Kvx61-1* variety, the CABMV propagation was low giving some low impact rates thus even with seeds with contamination rate of 5%. For this variety *Kvx61-1*, the disease progression curves in the three localities indicate a high resistance level to the infection. So, the use of seeds little or not contaminated can in this case being favourable to face the CABMV.

The high levels of infection especially observed with the variety Local Gorom representing the varieties of high faculty of virus transmission to seed translate the necessity to reduce aphids' populations' density notably by the use of insecticides during cowpea vegetative cycle. Aphids were responsible for the secondary contaminations, what bears out the results of Frison (1988). Insecticides application should be made in the third week after the sowing, most infections occurring between 17 and 24 days.

The obtaining of impact rates of 100% from virus-free seeds of virus with Gorom local settles then the problematic of these seeds use in some localities. The solution would be in the setting of an integrated biological where it is necessary to isolate the fields of inoculum external important sources and to apply a precocious treatment against aphids.

The study of epidemics development in the three zones from contaminated seeds or not showed that:

- The disease development is faster and higher in Niangoloko representative of the western area
- This development is medium in Sapouy that represents the western centre
- In Somnawaye that represents the centre zone, the disease impact is low
- In case of year of high epidemic as the case of 2004, there is no significant difference of the disease with the variety Local Gorom between the virus-free seeds and those contaminated at 0.5% in Niangoloko and Sapouy zones
- The variety *Kvx61-1* representing the group of the resistant or tolerant varieties had a good behaviour in all zone even in 2004
- Aphids infestation is more intense in the west and decrease as one goes back up northwards. It would entail the development of the epidemics presumably in the same sense. More the pressure of the vector is high, more the epidemic is fast

ACKNOWLEDGMENTS

My acknowledgments first of all go then to Dr. Oumar TRAORE for his very big contribution in the realization of this document, then to the project Seed Health Improvement Programme (SHIP) for his financial support, finally to all the team of this project to know lady Elisabeth ZOMA the national coordinator, Dr. Adama NEYA and Dr. Irénée SOMDA.

REFERENCES

Anonymous, 1993. Atlas of the Burkina Edict. Young Africa, Paris, pp: 54.
Clark, M.F. and A.N. Adams, 1977. Characteristics of a micro plate method of enzyme-linked immunosorbent assay for detection of plant viruses. *J. Genet. Virol.*, 34: 475-483.

Dabire, B.L.C., 1992. Contribution to the survey of the plant sanitary problem's of the cowpea in Burkina. Integrated struggle against the pests of the food producing crops in the sahel. INSAH. Semin. Symp., 1: 295-304
DGPSA, 2004. Evolution of the agricultural productions of 1984 to 2003 in Burkina. *Agri. R. A.*, Ouagadougou Burkina, pp: 35.
Frison, E.A., 1988. Cowpea viruses in the Sahel. *FAO Plant Protection Bulletin*, 36: 9-18.
Jackai, L.E.N. and S.R. Singh, 1988. Screening techniques for host plant resistance to insect pests of cowpea. *Trop. Grain Leg. Bull.*, 35: 2-18.
Kareem, K.T. and M.A. Taiwo, 2007. Interaction of viruses in cowpea: Effects on growth and yield parameters. *Virol. J.*, 4: 15-21.
Konate, G. and B.J. Neya, 1996. Rapid detection of cowpea aphid-borne mosaic virus in cowpea seeds. *Ann. Applied Biol.*, 129: 261-266.
Neya, B.J., 2002. Epidemiologic aspects and serology variability of *Cowpea aphid borne mosaic virus* transmitted by Aphid in Burkina Faso. M.Sc. Thesis, University of Ouagadougou.
Reeves, W. H., 1983. The Cowpea. International Institute of Tropical Agriculture, Ibadan, Nigeria, pp: 170.
Singh, B.B., D.R. Mohan Raj, K.E. Dashill and L.E.N. Jackai, 1997. Advances in cowpea research. Co-Publication of International Institute of Tropical Agriculture (IITA) and Japan International Research Centre Agricultural Sciences (JIRCAS), pp: 159-258.
Some, K.K.J., 1989. Epidemiology of *Cowpea aphid borne mosaic virus* transmitted by Aphids in Burkina Faso. M.Sc. Thesis, University of Ouagadougou.
Stanton, A.G., 1996. Introduction to Bio Statistical Scientific. In: Scientific Revision of French, Thuriaux, M. (Ed.). 4th Edn. McGraw-Hill, New York, pp: 456.
Taiwo, M.A. and O.J. Akinjogunla, 2006. Cowpea viruses: Quantitative and qualitative effects of single and mixed viral infections. *Afr. J. Biol.*, 5: 1749-1756.
Tignegre, J.B., 2000. *Cowpea aphid borne mosaic virus* (CABMV) transmission to Cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.). M.Sc. Thesis, University of Ouagadougou.

ANNEXE 5

Fiche technique 1 : B.J. Néya, E.V.S. Traoré, O. Traoré et G. Konaté, 2006. La mosaïque du niébé transmise par pucerons au Burkina Faso

La mosaïque du niébé transmise par pucerons au Burkina Faso

Neya B.J., Traoré E.V.S., Traoré O., Dicko H., Konaté G.

INERA 01 BP 476 Ouagadougou 01, Burkina Faso

Introduction

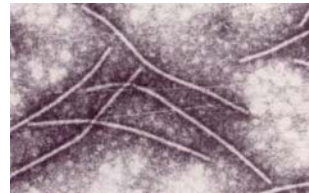
Le niébé dont le nom scientifique est *Vigna unguiculata*, est une importante plante légumineuse à graines. Il est très riche en protéines (23%) qui contiennent des acides aminés essentiels comme la lysine, la thréonine, la cystéine et le tryptophane. Il tient ainsi une place importante dans l'alimentation humaine et celle du bétail pour lequel des variétés fourragères sont disponibles. Le Burkina Faso produit plus de 450.000 tonnes de niébé par an et il existe de grandes potentialités pour augmenter cette production. Cependant, la culture du niébé est fortement affectée par plusieurs maladies d'origine virale, la plus importante étant la mosaïque du niébé transmise par pucerons. Cette maladie cause des pertes de récolte pouvant atteindre 60 à 90%.

Depuis plusieurs années, des efforts ont été déployés pour comprendre l'épidémiologie de la maladie au Burkina Faso dans le but de dégager des méthodes de lutte adaptées. L'objectif de ce travail est de faire le point sur les principaux résultats acquis.

L'agent pathogène de la mosaïque du niébé transmise par pucerons

La mosaïque du niébé transmise par pucerons est causée par un virus filamenteux appartenant au genre *Potyvirus* et à la famille des *Potyviridae*. Observé au microscope électronique, il mesure 750 nm de long et 11 nm de large. Il a été décrit pour la première fois en Italie (Lovisolo et Conti, 1966). Son nom taxonomique international est *Cowpea aphid-borne mosaic virus* (CABMV) ou virus

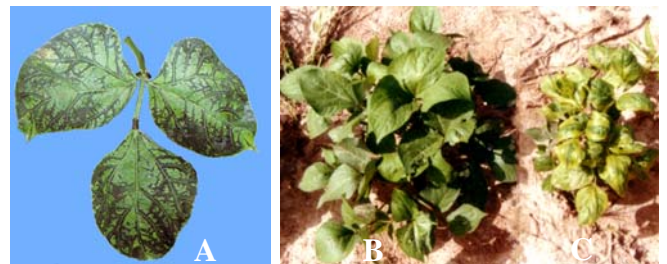
de la mosaïque du niébé transmis par pucerons.



Particules de CABMV observées en microscopie électronique (source: Rossel et Thotappilly, 1985)

Les symptômes causés par le CABMV

Les feuilles d'un plant de niébé infecté par le CABMV présentent des symptômes de mosaïque. Les feuilles deviennent vert-clair et la couleur verte normale subsiste seulement le long des nervures et dans quelques parties. La croissance des plants malades est perturbée ce qui les rend le plus souvent rabougris.



Symptômes de mosaïque causés par le CABMV :

A: feuille malade; B: plant sain; C: plant malade rabougri

Modes transmission du CABMV

Le CABMV est transmissible par inoculation mécanique. C'est le mode couramment utilisé au laboratoire. Il s'agit de frotter les feuilles d'un plant sain avec un extrait obtenu par broyage de feuilles malades.

Au champ, le CABMV est transmis par plusieurs espèces de pucerons dont le plus fréquent est *Aphis craccivora*. Ces insectes disséminent le virus d'un champ à un autre et entre plants dans un même champ.



Pucerons sur feuilles de niébé

Les premiers plants malades au champ proviennent surtout de graines contenant le virus. Le CABMV est transmissible par les semences. Cela est un moyen important de dissémination du virus d'autant plus que très peu d'hôtes alternatifs du CABMV ont été identifiés. Les plantules issues de graines malades sont alors les principales sources virales pour la propagation de la maladie.

Diagnostic du CABMV

La méthode fiable de diagnostic utilisée de façon routinière pour le CABMV est le test sérologique ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay). Cette méthode est efficacement utilisée pour détecter le virus aussi bien dans les différentes parties de la plante que dans les graines malades (Konaté et Neya, 1996).

Distribution géographique et incidence du CABMV

Le CABMV est présent dans toutes les zones agro-écologiques du Burkina Faso (Neya, 2002). Cette distribution dans l'ensemble du pays est probablement due au fait que le virus est véhiculé par les semences de niébé. Son incidence varie selon les zones et selon les années. En cas d'épidémies, l'incidence peut atteindre 80 à 100% en zone nord guinéenne au sud, 50 à 60% en zone soudanienne (au centre) et 40% en zone sahélienne au nord. La variation de l'incidence du CABMV est liée aux vols des pucerons dans les différentes zones agro-écologiques (Dabiré, 1992).

Recommandations de lutte contre le CABMV

Au regard des modes de transmission du CABMV, trois principaux moyens de lutte sont conseillés :

- 👉 l'utilisation de semences de niébé de bonne qualité phytosanitaire (graines peu ou pas infectées par le virus). Cela permet d'éviter une installation précoce de la maladie au champ.
- 👉 l'utilisation rationnelle d'insecticides pour contrôler la population de pucerons vecteurs du CABMV qui interviennent dans la propagation de la maladie dans le champ
- 👉 l'utilisation de variétés de niébé résistantes ou tolérantes au CABMV (exemples: TVx32-36, KVx 394-4-4, KVx 394-4-5-2D et KVx 61-1).

Une combinaison de ces trois moyens dans une stratégie de lutte intégrée est recommandée.

Le niébé est utilisé sous forme de feuilles et de graines dans l'alimentation de l'homme et du bétail. Toutes ces parties de la plante peuvent contenir le virus. Cependant, leur consommation n'a aucun effet sur la santé des consommateurs.

Références bibliographiques

- Dabiré C (1992).** Contribution à l'étude des problèmes phytosanitaires du niébé au Burkina. Pages 295-304 in: *Lutte intégrée contre les ennemis des cultures vivrières dans le Sahel*. INSAH, Séminaires et Colloques, John-Libbey Eurotext, Montrouge, France.
- Konaté G, Neya BJ (1996).** Rapid detection of cowpea aphid-borne mosaic virus in cowpea seeds. *Annals of Applied Biology* 129: 261-266.
- Lovisololo O, Conti M (1966).** Identification of an aphid-transmitted cowpea mosaic virus. *Netherlands Journal of Plant Pathology* 72: 265-269.
- Neya BJ (2002).** Variabilité sérologique et aspects épidémiologiques du virus de la mosaïque du niébé (*Vigna unguiculata* (L.) walp. transmis par des pucerons au Burkina Faso. Mémoire de DEA, Université de Ouagadougou, 47 p.

ANNEXE 6

Fiche technique 2 : B.J. Néya, E.V.S. Traoré, O. Traoré et G. Konaté, 2006. La graine de niébé, principal maillon de la lutte contre le virus de la mosaïque du niébé transmis par pucerons

La graine de niébé, principal maillon de la lutte contre le virus de la mosaïque du niébé transmis par pucerons

Neya B.J., Traoré O., Traoré E.V.S., Dicko H., Konaté G.

INERA 01 BP 476 Ouagadougou 01, Burkina Faso

Introduction

Cultivé parfois pour le fourrage, le niébé est surtout produit pour ses graines riches en protéines (23%). En 2003, la production de graines a été évaluée à environ 457 000 tonnes au Burkina Faso. Néanmoins, les rendements qui varient entre 0,3 à 0,8 tonne/ha sont faibles au regard du potentiel de productivité des variétés de niébé (1,5 tonne). L'une des causes majeures des pertes de rendements est le virus de la mosaïque du niébé transmis par pucerons connu aussi sous le nom de *Coupee aphid-borne mosaic virus* ou CABMV (Louisola et Conti, 1966).

Le CABMV est un virus filamenteux appartenant au genre *Potyvirus* et à la famille des *Potyviridae*. C'est le virus le plus important du niébé en Afrique où il a été rapporté dans plus de 23 pays y compris Madagascar dans l'océan indien. Il est aussi présent sur tous les autres continents et on estime qu'il cause des pertes de récolte atteignant 60 à 90%.

Le CABMV est transmis par plusieurs espèces de pucerons comme *Aphis craccivora*, *A. fabae*, *A. gossypii*, *Macrosiphum euphorbiae* et *Mygus persicae* (Boeck, 1973). Le CABMV est aussi transmis par les graines dans lesquelles le virus migre à partir de la plante malade. Ce mode de transmission est responsable de l'apparition des premiers plants malades au champ. Il assure aussi la dissémination du virus à travers les mouvements transfrontaliers de semences contaminées.

Plus du tiers des virus de plantes sont transmissibles par les graines ce qui assure ainsi facilement leur survie dans la nature (Johansen et al., 1994). La lutte contre ce type de virus chez les plantes cultivées a souvent donné des résultats satisfaisants avec l'utilisation de semences indemnes de virus.

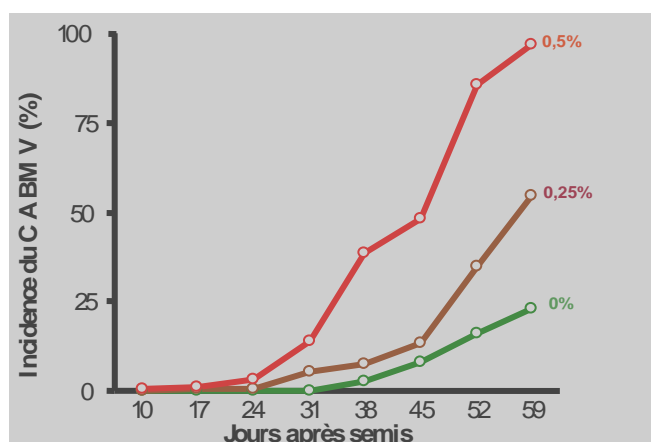
L'objectif du travail décrit ici est de montrer que la gestion du CABMV basée sur l'utilisation de semences de bonne qualité phytosanitaire peut permettre un contrôle efficace du virus.

Quasi-absence d'hôtes naturels du CABMV

Très peu d'espèces ont pu être formellement identifiées comme hôtes naturels du CABMV. En plus du niébé, le virus a été retrouvé en condition naturelle chez le voandzou (pois de terre) et le sésame qui sont tous deux des cultures annuelles. Les plantes hôtes naturels sont souvent des refuges aux virus et leur servent de sources de dissémination. Ce rôle semble mineur dans le cas du CABMV.

La propagation de la maladie au champ dépend du taux de contamination des semences par le CABMV

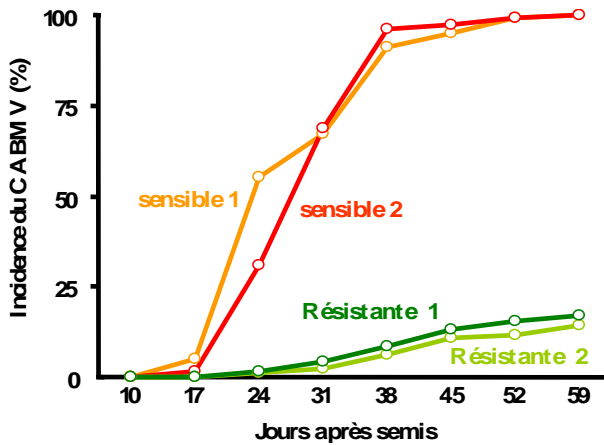
Les semences contaminées par le virus donnent naissance à des plantules infectées après la germination. Ces plantules servent de source de virus pour la propagation secondaire de la maladie par les insectes vecteurs. La figure ci-dessous montre que la dissémination du virus est d'autant plus importante que les graines semées sont contaminées.



Dissémination du CABMV au champ à partir de semences de niébé indemnes de virus ou contaminées à 0,25% et 0,5%

Faible propagation de la maladie chez les variétés de niébé résistantes au CABMV

En années de fortes épidémies, la dissémination du CABMV peut être très importante chez les variétés sensibles même si des semences indemnes de virus sont utilisées (voir figure ci-dessous). Par contre, la propagation de la maladie est toujours très largement réduite chez les variétés de niébé résistantes au virus (Neya, 2002). Ainsi, alors que la proportion de plants malades atteint rapidement 100% chez les variétés sensibles, elle ne dépasse pas 20% chez les variétés résistantes.



Dissémination du CABMV au champ à partir de semences indemnes de virus chez des variétés sensibles et des variétés résistantes en années de fortes épidémies.

Recommandations de lutte contre le CABMV

- L'utilisation de semences peu ou pas contaminées par le CABMV est un important moyen de contrôle du virus. Il est donc nécessaire de prendre les mesures suivantes pour produire des semences de bonne qualité phytosanitaire:
 - 👉 Semer des lots de graines certifiés au moins en ce qui concerne le virus
 - 👉 Procéder à l'élimination des plantules malades juste après la germination. Cela réduit les sources de virus dans le champ et permet aussi de faire des re-semis. Une bonne connaissance des symptômes est cependant indispensable.
- Du fait de la dissémination possible à partir de sources externes au champ en cas de fortes épidémies, des traitements insecticides appropriés peuvent être nécessaires pour contrôler la population d'insectes vecteurs du virus.
- Au regard de leur meilleur comportement contre le CABMV, les variétés de niébé résistantes ou tolérantes au virus devraient être utilisées autant que possible.

Détection du CABMV dans les graines de niébé

Les semences contaminées sont pour beaucoup responsables de la dissémination du CABMV dans un champ ou d'une région à l'autre. Il est donc important de s'assurer de la bonne qualité phytosanitaire des graines utilisées comme semences afin de réduire les pertes de production dues au CABMV. Une graine contaminée par le virus ne peut pas être distinguée d'une graine saine par observation visuelle.

Une méthode pour identifier le CABMV dans les graines est de semer ces graines et d'observer les symptômes causés par le virus chez les plantules peu après la germination. Cette méthode biologique nécessite une bonne connaissance des symptômes.

La méthode fiable de détection du CABMV est le test sérologique ELISA (Enzyme-linked immunosorbent assay) utilisable de façon routinière au laboratoire (Konaté et Neya, 1996). Ce test très sensible permet de détecter le virus même dans seule une graine de niébé. Plusieurs graines peuvent être testées en même temps. Une quantité importante de graines peuvent être ainsi analysée dans la journée.

La consommation de graines de niébé contaminées par le CABMV n'a aucun effet sur la santé des consommateurs.

Références bibliographiques

- Bock KR (1973). East African strains of cowpea aphid-borne mosaic virus. *Annals of Applied Biology* 74: 75-83.
- Johansen IE, Edwards MC, Hampton RD (1994). Seed transmission of viruses: current perspectives. *Annual Review of Phytopathology* 32: 363-386.
- Konaté G, Neya BI (1996). Rapid detection of cowpea aphid-borne mosaic virus in cowpea seeds. *Annals of Applied Biology* 129: 261-266.
- Louisola O, Conti M (1966). Identification of an aphid-transmitted cowpea mosaic virus. *Netherlands Journal of Plant Pathology* 72: 265-269.
- Neya BI (2002). Variabilité sérologique et aspects épidémiologiques du virus de la mosaïque du niébé (*Vigna unguiculata* (L.) walp. transmis par des pucerons au Burkina Faso. Mémoire de DEA, Université de Ouagadougou, 47 p.