

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR
ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

INSTITUT NATIONAL AGRONOMIQUE
El-Harrach (ALGER)

THESE

En vue de l'obtention du diplôme de Doctorat d'Etat en Sciences Agronomiques

Par : M^{lle} Hadjira BELKAHLA

LES VIRUS ASSOCIES A LA JAUNISSE NANISANTE DE L'ORGE (BYD), DES
GENRES *BYDV* ET *CYDV*, CHEZ LES CEREALES A PAILLE EN ALGERIE

Soutenue le 17/05/2001

Devant le jury d'examen:

Président:	M. N. Sabaou	Professeur à l'ENS
Rapporteur:	M. S.E. Doumandji	Professeur à l'INA
Co-Rapporteur:	M. H. Lapierre	Directeur de recherches INRA Versailles
Examineur:	M. Z. Bouznad	Professeur à l'INA
Examinatrice:	Mme B. Doumandji	Professeur à l'INA
Examinatrice:	Mme M. Louanchi	Maître de conférences à l'INA

Année universitaire: 2000/2001

A ma mère, en mémoire de mon père

Remerciements

Un ouvrage est le fruit de son auteur, mais aussi de ceux et de celles qui, ~~en l'aidant~~, en le critiquant, contribuent à sa réalisation.

Je tiens à exprimer ma profonde reconnaissance à mon directeur de recherche, M. Hervé Lapière, Directeur de recherches à l'INRA de Versailles, pour m'avoir accueilli dans son laboratoire. Il a toujours su me conseiller avec disponibilité et compétence. Son soutien scientifique, tout au long de mes nombreux séjours, a largement contribué à l'aboutissement de ces travaux. Je le prie d'accepter mes remerciements les plus sincères ainsi que ma profonde considération également pour l'aide précieuse qu'il a apportée pour la rédaction de mes articles et de ma thèse.

Je tiens à remercier particulièrement M. Salah-Eddine Doumandji, mon directeur de thèse, Professeur au département de zoologie agricole à l'INA, d'avoir accepté de diriger mes travaux de recherches. Sa rigueur scientifique et sa qualité humaine m'ont particulièrement touchées. Ses examens attentifs du manuscrit témoignent de son intérêt pour le sujet traité.

J'adresse mes sincères remerciements à Ms Kamel Féliachi, Directeur Général de l'ITGC, Mustapha Malki, Secrétaire Général de l'ITGC, Abdelkader Benbelkacem, Directeur de l'ITGC d'El-Khroub, Abdelhamid Khaldoun et Mme Bellah Fadhila chefs de départements recherche et amélioration à l'ITGC d'El-Harrach, pour m'avoir aidé et orienter avec disponibilité et compétence dans les prospections.

J'exprime ma gratitude à M. Nasr-Eddine Sabaou, Professeur à l'ENS qui m'a fait l'honneur de présider mon jury.

Je remercie sincèrement Mmes Bahia Doumandji, Professeur au département de zoologie agricole à l'INA, Meriem Louanchi, Maître de conférence au département de botanique à l'INA, M. Zouaoui Bouznad, Professeur au département de botanique à l'INA, pour l'honneur qu'ils m'ont témoigné en acceptant d'être examinateurs de mon jury.

Que Ms Sid-Ahmed Senoussi, Directeur de l'Institut d'Agronomie de Blida, Mustapha Nabi, Responsable de la station expérimentale de l'Institut d'Agronomie de Blida, et M. Nasr-Eddine Youbi, Responsable du parc automobile de l'Université de Blida, soient remerciés pour leur indispensable contribution.

J'exprime toute ma gratitude et tous mes remerciements à l'équipe de virologie «Jaunisse » de Versailles, en particulier, Mmes Mastari Jamila, Isabelle Lebrun et Monique Beuve pour m'avoir aidé avec gentillesse dans mes expériences de biologie moléculaire.

Je remercie l'ensemble du personnel de la station de pathologie de l'INRA de Versailles particulièrement: Mmes Hayat Prud'homme, Majira Amel, Gisèle Lacaze, Christine Guillard, Ms Djabbar Hariri et Marc Fouchard.

Enfin, je remercie le service de l'éducation de l'ambassade d'Algérie en France et le service des bourses du ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique pour leur soutien financier de cette thèse.

RESUME: La jaunisse nanisante de l'orge est une maladie qui entraîne des pertes considérables chez les céréales. Elle est associée à plusieurs virus de la famille des *Luteoviridae* (*BYDV-PAV*, *BYDV-MAV*, *CYDV-RPV*, *RMV*, *SGV*). Des prélèvements effectués dans plusieurs parcelles de blé dur, blé tendre, orge et avoine en Algérie et en Belgique et des parcelles de maïs en France; à titre comparatif; ont montré que le *BYDV-PAV*, *BYDV-MAV*, *CYDV-RPV*, *RMV*, *SGV* sont présents à des fréquences variables mais non négligeables. L'analyse en TAS-ELISA, DAS-ELISA a montré que le *BYDV-PAV* est dominant. Le *BYDV-MAV A* est absent en Algérie, en Belgique et en France. Le *CYDV-RPV*, *RMV*, *SGV* sont rares. L'analyse de la population aphidienne prélevée des régions céréalières d'Algérie [Alger (Oued-smar, El-Harrach, Blida), Guelma, Constantine, Sid-bélabès] en 1997 et 1998 a montré la présence de *Rhopalosiphum padi* (L), *Sitobion avenae* (F), *Sitobion fragariae* (Walk), *Rhopalosiphum maidis* (Fitch), *Schizaphis graminum* (Rondani). Des transmissions comparées de *BYDV-PAV*, *BYDV-MAV*, *CYDV-RPV* et *RMV* par *S. fragariae*, ont montré que seuls le *BYDV-PAV* et *BYDV-MAV* étaient transmissibles par ce puceron. Le *CYDV-RPV* et le *RMV* ne sont pas transmis par *S. fragariae*. *S. fragariae* est donc un vecteur efficace du genre *Luteovirus* et non du genre *Polerovirus*. L'efficacité de la transmission des *BYDV-PAV CpA*, *BYDV-PAV CpB* par *S. fragariae* est semblable à celle de *R. padi* et *S. avenae*. Egalement les concentrations des *BYDV-PAV CpA*, *BYDV-PAV CpB* dans des lots de 10 aptères de chaque combinaison de virus / espèce d'aphide ont montré des différences. Les concentrations du *BYDV-PAV CpA*, *BYDV-PAV CpB* sont élevées dans *S. avenae* et *R. padi*, et faibles dans *S. fragariae*. Les concentrations *BYDV-MAV B* dans *S. avenae* et *S. fragariae* sont relativement peu éloignées. La différence de concentration du *BYDV-MAV A* dans *S. avenae* et *S. fragariae* est significative. *S. fragariae* transmet efficacement le *BYDV-MAV A*, *BYDV-MAV B*, *BYDV-PAV CpA* et *BYDV-PAV CpB* jusqu'au 5^{ème} jour de transfert. Le taux de virus, détecté par ELISA, dans les lots de 10 aptères des combinaisons de virus / *S. fragariae* décroît plus rapidement que celui des combinaisons de virus / *S. avenae*, virus / *R. padi*. L'estimation relative (DO ELISA) de la présence *BYDV-MAV A*, *BYDV-MAV B* transmis par *S. fragariae*, a montré que la multiplication du *BYDV-MAV B* est sensiblement différente de celle du *BYDV-MAV A*. Les résultats de la protection croisée tendent à montrer que le *BYDV-MAV B* en position de virus prémunisant inhibe la multiplication du *BYDV-MAV A*. L'étude épidémiologique, menée sur blé tendre var HD 1220 en 1998 dans la région de Blida, a montré que l'incidence de la jaunisse nanisante de l'orge (BYD) était de 27,23%. Les résultats du test DAS et TAS-ELISA ont montré l'abondance de l'infection simple des *BYDV-PAV* (28%), *BYDV-MAV* (25%), *CYDV-RPV* (14%) et *RMV* (13%). Les infections mixtes sont représentées le plus souvent en infection double (*BYDV-PAV*+*BYDV-MAV*) 11,22%, suivi de (*BYDV-PAV*+*BYDV-CYDV-RPV*) 3,74%, (*BYDV-MAV*+*CYDV-RPV*) 1,87%, (*BYDV-MAV*+*CYDV-RPV*), (*BYDV-PAV*+*RMV*), (*BYDV-MAV*+*RMV*) et (*BYDV-PAV*+*SGV*) 0,93% chacun. L'infection triple est représentée par (*BYDV-PAV*+*BYDV-MAV*+*CYDV-RPV*) 3,74%. L'analyse de l'immunocapture-RT-PCR révèlent la présence des *BYDV-PAV* profil de type A et des *BYDV-PAV* profil de type B. L'analyse de la variabilité biologique a montré que le *BYDV-PAV CpA* est agressif sur orge cv Plaisant par rapport au *BYDV-PAV CpB*. Sur avoine cv Coast Black, le *RMV* induit des symptômes typiques de BYD.

Mots clés: virus, virus associés au BYD, céréales, épidémiologie, aphides, vecteur.

الفيروسات المشتركة اللاصفرار التقزمي للشعير (BYD), لصنف BYDV و CYDV عند المحاصيل الزراعية في الجزائر .

ملخص : الاصفرار التقزمي للشعير هو مرض يسبب خسائر معتبرة في المحاصيل الزراعية . هذا المرض راجع الى عدة فيروسات من عائلة Luteoviridae (SGV , RMV , CYDV-RPV , BYDV-MAV , BYDV- PAV) . العينات المأخوذة في عدة حقول للقمح الصلب , القمح اللين , الشعير و الشوفان في الجزائر و بلجيك و في حقول الذرى في فرنسا , اظهرت ان SGV , RMV , CYDV-MAV , BYDV-PAV موجودة بنسب معتبرة و لكن ذات اهمية نسبية . ان تحليل بالامتصاص المناعي المرتبط بالانزيم (DAS-ELISA, TAS-ELISA) بين ان BYDV-PAV سائد . BYDV-MAV غائب في الجزائر , بلجيك و فرنسا . SGV , RMV , CYDV-RPV مفقودين . تحليل عينات حشرات المن المأخوذة من مناطق محاصيل زراعية للجزائر (الجزائر) واد الصمار , الحراش (البلدية) قالمة , قسنطينة , سيدي بلعباس } في 1997 و 1998 اظهرت وجود S.graminum , R. maidis , S.fragariae , S. avenae , R.padi ان عملية الانتقال المتقابلة ب : BYDV-MAV , BYDV-PAV , CYDV-RPV , RMV -S.fragariae بينت ان BYDV-MAV , BYDV-PAV متقلبة بهذا المن . CYDV-RPV و RMV لم تنتقل ب : S.fragariae اذ ن S.fragariae ناقلا فعال لصنف Luteovirus لا لصنف Polerovirus . اذ ن فعالية انتقال ل : BYDV-PAV CpA , BYDV-PAV CpB ب S.fragariae : متشابهة ل S.avenae و R.padi . كذلك الزاكي ل : BYDV-PAV CpA , BYDV-PAV CpB لفئات 10 افراد عديمة الاجنحة من كل مجموعة فيروس / سلالة المن بينت فروق . ان تراكيز BYDV-PAV CpA , BYDV-PAV CpB مرتفعة في S.avenae و R.padi و ضئيلة في S.fragariae . تراكيز BYDV-MAV-B في S.avenae و S.fragariae متباينة نسبيا . ان فرقى التراكيز ل : BYDV-MAV عند S.avenae و S.fragariae معتبرة . S.fragariae تنقل بفعالية BYDV-MAV B , BYDV-MAV A , BYDV-PAV CpA , BYDV-PAV CpB حتى ل : يوم 5 للتحويل . ان نسبة الفيروس المنقب ب : D.O ELISA في فئات 10 افراد عديمة الاجنحة في مجموعات فيروس / S.fragariae تنقص بسرعة مقارنة مع مجموعات فيروس / R.padi تقدير النسبي لوجود BYDV-MAV-B , BYDV-MAV-A منتقل ب S.fragariae اظهر ان تضاعف BYDV-MAV مختلف قليل عن BYDV-MAV A نتائج الحماية المنعكسة بينت ان BYDV-MAV B في وضع فيروس ملقح بدانيا يبطل تضاعف : BYDV-MAV A ان دراسة انتشار العدوى المجرات على زراعة القمح اللين HD 1220 في منطقة البلدية عام 1998 , بينت ان نسبة الاصابة بمرض اصفرار التقزمي للشعير (BYD) قدرت ب % 27.23 . ان نتائج تحليل ب ELISA قد بين ان توزيع نسب هذه الفيروسات مختلف حيث لو حظ ان الاصابة الاحادية كانت السائدة ممثلة ب BYDV- PAV (28%) متبوع ب BYDV- MAV (25%) , RMV (13%) , CYDV- RPV (14%) , ان الاصابة الزوجية كانت ممثلة ب -MAV+CYDV (3.74%) BYDV- PAV+CYDV- RPV (11%) BYDV- MAV + BYDV-PAV (0.93%) . الاصابة الثلاثية تمثلت ب BYDV PAV +BYDV- RPV+BYDV- MAV (3.74%) . النتائج المتحصل عليها من اختبار PCR قد ثبتت وجود BYDV- PAV A و BYDV- PAV B . ان دراسة الاعراض ثبتت ان BYDV-PAV A اظهر اعراض قوية على الشعير (cv Plaisant) مقارنة ب BYDV- RMV . PAV B اظهر اعراض اصفرار و تقزم الشعير (BYD) على الشوفان (cv Coast Black) .

الكلمات الدالة : فيروسات اللاصفرار , محاصيل زراعية , دراسة انتشار العدوى , حشرات المن , فيروس ناقلا .

THE VIRUSES ASSOCIATED TO BARLEY YELLOW DWARF (BYD), OF GENUS *BYDV* AND *CYDV*, ON STRAW CEREALS IN ALGERIA.

SUMMARY: The barley yellow dwarf is a disease which carries considerable damages in cereals. It is associated with some viruses of *Luteoviridae* family (*BYDV-PAV*, *BYDV-MAV*, *CYDV-RPV*, *RMV*, *SGV*). Sampling carry out in many plots of durum wheat, bread wheat, barley and oat in Algeria and in Belgium and in maize plots in France, comparatively, showed that *BYDV-PAV*, *BYDV-MAV*, *CYDV-RPV*, *RMV*, *SGV* were present with variables frequencies but not negligible. TAS and DAS analysis has shown that *BYDV-PAV* was prevalent. *BYDV-MAV A* was absent in Algeria, in Belgium and in France. *CYDV-RPV*, *RMV*, *SGV* were rare. Aphids populations analysis taken from algerian cereals areas [Algiers (Oued-smar, El-Harrach, Blida), Guelma, Constantine, Sid-bélabès] in 1997 and in 1998 has showed the présence of *Rhopalosiphum padi* (L), *Sitobion avenae* (F), *Sitobion fragariae* (Walk), *Rhopalosiphum maidis* (Fitch), *Schizaphis graminum* (Rondani). Comparative transmissions of *BYDV-PAV*, *BYDV-MAV*, *CYDV-RPV* and *RMV* by *S. fragariae*, have showed that only *BYDV-PAV*, *BYDV-MAV* were transmitted by this aphid. *CYDV-RPV* and *RMV* were not transmitted by *S. fragariae*. So *S. fragariae* is an efficient vector of *Luteovirus* genus but not of *Polerovirus* genus. Efficiency transmission of *BYDV-PAV CpA* *BYDV-PAV CpB* by *S. fragariae* is similar to *R. padi* and *S. avenae*. The *BYDV-PAV CpA* *BYDV-PAV CpB* concentrations in a sbatches of 10 apterous for each combinaison of virus/ aphid species have also showed differences. *BYDV-PAV CpA* *BYDV-PAV CpB* concentrations were high in *S. avenae*, *R. padi* and low in *S. fragariae*. The concentration of *BYDV-MAV A*, *BYDV-MAV B* were relatively close to each other. Concentrations differences of *BYDV-MAV A*, *BYDV-MAV B* are significant. *S. fragariae* transmitted efficienciently *BYDV-MAV A*, *BYDV-MAV B*, *BYDV-PAV CpA* *BYDV-PAV CpB* up to the 5th transferring day. The virus rate, detected by ELISA, in the batches of 10 apterous for each combinaison of virus/ *S. fragariae* decreased too rapidly than that of the combinaison of virus/ *S. avenae*, *R. padi*. Relative estimation (ELISA OD) for the presence of *BYDV-MAV A*, *BYDV-MAV B* transmitted by *S. fragariae* has showed that the multiplication of *BYDV-MAV B* was sensibly different from that of *BYDV-MAV A*. The results of the cross protection trend to show that *BYDV-MAV B* in a position of safeguard virus inhibited the *BYDV-MAV A* multiplication. An epidemiology study conducted on bread wheat HD 1220 in the region of Blida in 1998, showed that the incidence of BYD was 27.23%. The ELISA results showed that the simple infection was prevalent particulary by *BYDV-PAV* (28%), *BYDV-MAV* (25%), *CYDV-RPV* (14%), *RMV* (13%). The mixte infections were represented often by the double infection (*BYDV-MAV+BYDV-PAV*) 11.22%, followed by (*BYDV-PAV+CYDV-RPV*) 3.74%, (*BYDV-MAV+CYDV-RPV*) 1.87%, (*BYDV-MAV+CYDV-RPV*), (*BYDV-PAV+RMV*), (*BYDV-MAV+RMV*) et (*BYDV-PAV+SGV*) 0.93%. The triple infection was represented by (*BYDV-PAV + BYDV-MAV+CYDV-RPV*) 3.74%. The immuno-RT-PCR analysis revelated the presence of *BYDV-PAV* type A and *BYDV-PAV* type B. The biology variability showed that *BYDV-PAV CpA* was severe in barley cv Plaisant than in *BYDV-PAV CpB*. In oat cv Coast Black BYD-like symptoms were observed by *RMV*

Key words: virus, virus associated to BYD, cereals, epidemiology, aphids, vector.

SOMMAIRE

SOMMAIRE

Abréviations

Introduction du sujet

Premier chapitre: Bibliographie introductive

I- Caractères et classification des phytovirus	1
II-Evolution et variabilité des génomes des virus à ARN	2
II-1-Mutations spontanées	2
II-2-Recombinaisons	3
III-Transmission et dissémination des phytovirus	4
III-1-Transmission mécanique	4
III-2-Dissémination par la semence	4
III-3-Dissémination par la multiplication végétative	5
III-4-Transmission par vecteurs biotiques	5
III-4-1-Transmission par les animaux invertébrés	5
III-4-1-1-Nématodes	6
III-4-1-2-Arthropodes	6
III-4-1-2-1-Insectes	6
III-4-1-2-1-1-Homoptères	6
III-4-1-2-1-1-1-Aphides	7
III-4-1-2-1-1-1-1-Virus non persistant	7
III-4-1-2-1-1-1-2-Virus semi persistant	7
III-4-1-2-1-1-1-3-Virus persistant	7
III-4-2-Transmission par les champignons et les plasmodiophorales	8
IV-Luteoviridae responsable du BYD	8
IV-1-Distribution de la maladie du BYD	8
IV-2-incidence économique	9
IV-3-Composantes du pathosystème du BYD	10
IV-3-1-Plante-hôte	10
IV-3-1-1-Symptomatologie	10
IV-3-1-2-Gamme d'hôtes	10
IV-3-2-Virus	11
IV-3-2-1-Généralités sur les <i>Luteoviridae</i>	11
IV-3-2-1-1-Données taxinomiques	11
IV-3-2-1-2-Biologie moléculaire associée aux virus du BYD	12
IV-3-2-1-3-Organisation des génomes des virus du BYD	12
IV-3-2-1-3-1-ORF 0	13
IV-3-2-2-3-2-ORF 1 et 2	13
IV-3-2-2-3-3-ORF 3	14
IV-3-2-2-3-4-ORF 4	14
IV-3-2-2-3-5-ORF 5	14
IV-3-2-2-3-6-ORF 6	15
IV-3-2-2-3-7-Séquences non codantes	15
IV-3-2-2-Eléments de biologie associées aux virus du BYD	16
IV-3-2-1-1-Modifications cytologiques chez les plantes hôtes	16

IV-3-2-2-1-Variabilité sérologique des <i>Luteoviridae</i>	16
IV-3-2-3-Les espèces aphidiennes vectrices	17
IV-3-2-3-1-Aspects biologiques de la transmission des virus du BYD par puce	17
IV-3-2-3-2-Spécificité de la transmission	18
IV-3-2-3-3-Transmission dépendante et encapsidation hétérologue	19
IV-3-2-3-4-Mécanisme moléculaire des interactions virus-vecteur	19
IV-4-Epidémie et prévision des risques du BYD	20
IV-4-1-Epidémie du BYD	20
IV-4-2-Prévision des risques du BYD	21
IV-5-Lutte contre la maladie du BYD	22

Deuxième chapitre: Matériels et méthodes

I-Sources des virus	24
II-Sites prospectés	24
III-Méthodes d'études	24
III-1-Méthodes d'échantillonnage	24
III-2-Collecte des isolats	24
III-3-Identification des pucerons	25
III-4- Transmission par pucerons	25
III-5-Sources des isolats et espèces d'aphides	25
III-3-6-Transmission persistante des <i>Luteovirus</i> et <i>Polerovirus</i>	25
III-7-Persistance des <i>BYDV-PAV</i> et <i>BYDV-MAV</i> dans les pucerons	26
III-8-Obtention des plantes <i>BYDV-MAV A</i> , <i>BYDV-MAV B</i> et <i>BYDV-MAV BA</i>	26
III-9-Conservation des virus	26
III-10-Méthode d'extraction du virus	27
III-11-Tests immunoenzymatiques	27
III-11-1-Anticorps utilisés	27
III-11-1-1-Anticorps polyclonaux	27
III-11-1-2-Anticorps monoclonaux	28
III-11-1-2-1-Obtention	28
III-11-1-2-2-Isotypage	28
III-11-1-2-3-Anticorps monoclonaux utilisés	28
III-11-2-Test ELISA	28
III-11-2-1-DAS-ELISA	28
III-11-2-2-TAS-ELISA	29
III-12-Test Immunocapture-RT-PCR	30
III-13-Etude épidémiologique	31
III-13-1-Terrain expérimental	31
III-13-2-Observation et prélèvement d'échantillons	31

Troisième chapitre: Résultats et discussions	
I-Résultats de la sérodétection des virus associés à la jaunisse nanisante de l'orge (BYD) sur les céréales en Algérie.	34
I-1-Distribution géographique des populations de pucerons vecteurs du BYD	34
I-2-Impact et distribution des symptômes de type BYD	34
I-3-Identification et distribution des virus associés au BYD	34
I-4-Sévérité des isolats du <i>BYDV-PAV</i> et <i>RMV</i>	35
I-5-Fréquence et caractères des sérotypes <i>BYDV-PAV</i> et <i>BYDV-MAV</i> chez l'orge en Belgique	35
I-6- Distribution périphériques dans des parcelles de maïs des sérotypes <i>BYDV-PAV</i> et <i>BYDV-MAV</i> en France	35
I-6-1-Site I	35
I-6-2-Site II	35
I-6-3-Site III	35
I-7-Discussion	36
II-Résultats de l'efficacité de la transmission des virus associés à la jaunisse nanisante de l'orge (BYD) par <i>Sitobion fragariae</i> Walk (Homoptère: <i>Aphididae</i>) en Algérie.	39
II-1-Transmission persistante des <i>Luteovirus</i> et <i>Polerovirus</i> par différents vecteurs	39
II-2-Transmission comparée des <i>BYDV-PAV</i> HD, <i>BYDV-PAV</i> M, <i>BYDV-PAV</i>	39
II-3- Persistance du <i>BYDV-PAV</i> CpA, <i>BYDV-PAV</i> CpB, <i>BYDV-MAV</i> A	39
<i>BYDV-MAV</i> B	39
II-4-Cinétique de la multiplication des <i>BYDV-MAV</i> A et <i>BYDV-MAV</i> B	40
II-5-Analyse de la protection croisée entre le <i>BYDV-MAV</i> B et <i>BYDV-MAV</i> A	40
II-6-Discussion	41
III-Résultats de l'analyse par ELISA et immuno-RT-PCR des virus associés au BYD sur blé tendre	43
III-1-Incidence des virus du BYD	43
III-2-Fréquences des sérotypes du BYD en infection simple	43
III-3-Fréquences des sérotypes du BYD en infection mixte	43
III-4-Analyse de la variabilité moléculaire	43
III-5-Analyse de la variabilité biologique	44
III-6-Discussion	44
Conclusion et perspectives	46
Références bibliographiques	51-68

ABREVIATIONS

Liste de abréviations

I- Virus

<i>BLRV</i>	<i>Bean leafroll Luteovirus</i>	Virus de l'enroulement l'haricot
<i>BaMMV</i>	<i>Barley moderate mosaic Bymovirus</i>	Virus de la mosaïque modérée de l'orge
<i>BMV</i>	<i>Beet mild yellowing Luteovirus</i>	Virus du jaunissement bénin de la betterave
<i>BSMV</i>	<i>Barley stripe mosaic Hordeivirus</i>	Virus de la mosaïque striée de l'orge
<i>BWV</i>	<i>Beet western yellow Luteovirus</i>	Virus de la jaunisse occidentale de la betterave
<i>BYDV</i>	<i>Barley yellow dwarf Luteovirus</i>	Virus de la jaunisse nanisante de l'orge
<i>CABV</i>	<i>Cucurbit aphid-borne yellow Polerovirus</i>	Virus de la jaunisse des <i>Cucurbitaceae</i> transmise par aphides
<i>CYDV</i>	<i>Cereal yellow dwarf Polerovirus</i>	Virus de la jaunisse nanisante des céréales
<i>CYDV-RPV</i>		<i>Polerovirus</i> transmis par <i>R. padi</i>
<i>DAV</i>		<i>Luteovirus</i> transmis par <i>M. dirhodum</i> et <i>S. avenae</i>
<i>GPDV</i>		<i>Luteoviridae</i> transmis par <i>S. graminum</i> , <i>R. padi</i> , <i>M. dirhodum</i> et <i>S. avenae</i>
<i>GPV</i>		<i>Polerovirus</i> transmis par <i>S. graminum</i> et <i>R. padi</i>
<i>LNV</i>	<i>Lettuce necrotic yellows Cytorhabdovirus</i>	Virus de la jaunisse nécrotique de la laitue
<i>MAV</i>		<i>Luteovirus</i> transmis par <i>S. avenae</i>
<i>PAV</i>		<i>Luteovirus</i> transmis par <i>R. padi</i> et <i>S. avenae</i>
<i>PNCV</i>	<i>Peanut clump Pecluvirus</i>	Virus de l'arachide massif
<i>PEMV</i>	<i>Pea enation mosaic Enamovirus</i>	Virus de la mosaïque à énation du pois
<i>PLRV</i>	<i>Potato leafroll Polerovirus</i>	Virus de l'enroulement de la pomme de terre
<i>PVS</i>	<i>Potato S Carlavirus</i>	Virus S de la pomme de terre
<i>PVX</i>	<i>Potato X Potexvirus</i>	Virus X de la pomme de terre
<i>PVY</i>	<i>Potato Y Potyvirus</i>	Virus Y de la pomme de terre
<i>RMV</i>		<i>Polerovirus</i> transmis par <i>R. maidis</i>
<i>SbDV</i>	<i>Soybean dwarf Luteoviridae</i>	Virus du nanisme du soja
<i>SGV</i>		<i>Luteovirus</i> transmis par <i>S. graminum</i>
<i>ScYLV</i>	<i>Sugarcane yellow leaf Polerovirus</i>	Virus de la feuille jaune de la canne à sucre
<i>TMV</i>	<i>Tobacco mosaic Tobamovirus</i>	Virus de la mosaïque du tabac
<i>TRV</i>	<i>Tobacco rattle Tobravirus</i>	Virus du brunissement du tabac
<i>WSMV</i>	<i>Wheat streak mosaic Tritimovirus</i>	Virus de la mosaïque striée du blé
<i>WSSMV</i>	<i>Wheat spindle streak mosaic Bymovirus</i>	Virus de la mosaïque striée en fuseau du blé

II- Autres abréviations

A	Adénine	
AAP	Acquisition access period	periode d'acquisition
ADN	Acide désoxyribonucléique	
ADNc	ADN complémentaire	
AcMC	Anticorps monoclonal	
AcPM	Anticorps polyclonal	
ARN	Acide ribonucléique	
ARNsg	ARN subgénomique	
C	Cytosine	
CP-RTP	Coat protein readthrough protein	protéine de translecture de la capsid
DAS	Double antibody sandwich	
dNTP	2-désoxynucléotide 5'-triphosphate	
EDTA	Ethylène diamine tétra acétique	
ELISA	Enzyme linked immunosorbent assay	
G	Guanine	
GSA	Glandes salivaires accessoires	
HC	Helper component	facteur assistant
IAP	Inoculation access period	periode d'inoculation
IC	Immunocapture	
IgG	Immunoglobuline G	
KDa	Kilodalton	
mg	Milligramme	
ml	Millilitre	
mM	Millimole	
NC	non codante	
nm	Nanomètre	
ORF	Open reading frame	cadre ouvert de lecture
PBST	Phosphate buffered saline tween	
PCR	Polymerase chain reaction	réaction de polymérisation en chaîne
PNPP	Paranitrophényl phosphate	
PVP	Polyvinylpyrrolidone	
RdRp	ARN dépendant ARN polymérase	
Rnase	Ribonucléase	
Rpm	Rotation par minute	
RT	Reverse transcriptase	transcriptase inverse
SAB	Serum albumine bovine	
T	Thymine	
TAS	Triple antibody sandwich	
TBE	Tris borate EDTA	
Tris	(hydroxyméthyl) aminoéthane	
U	Uracile	
Vpg	Virion protein genome linked	protéine liée au génome
µg	Microgramme	
µl	Microlitre	

INTRODUCTION

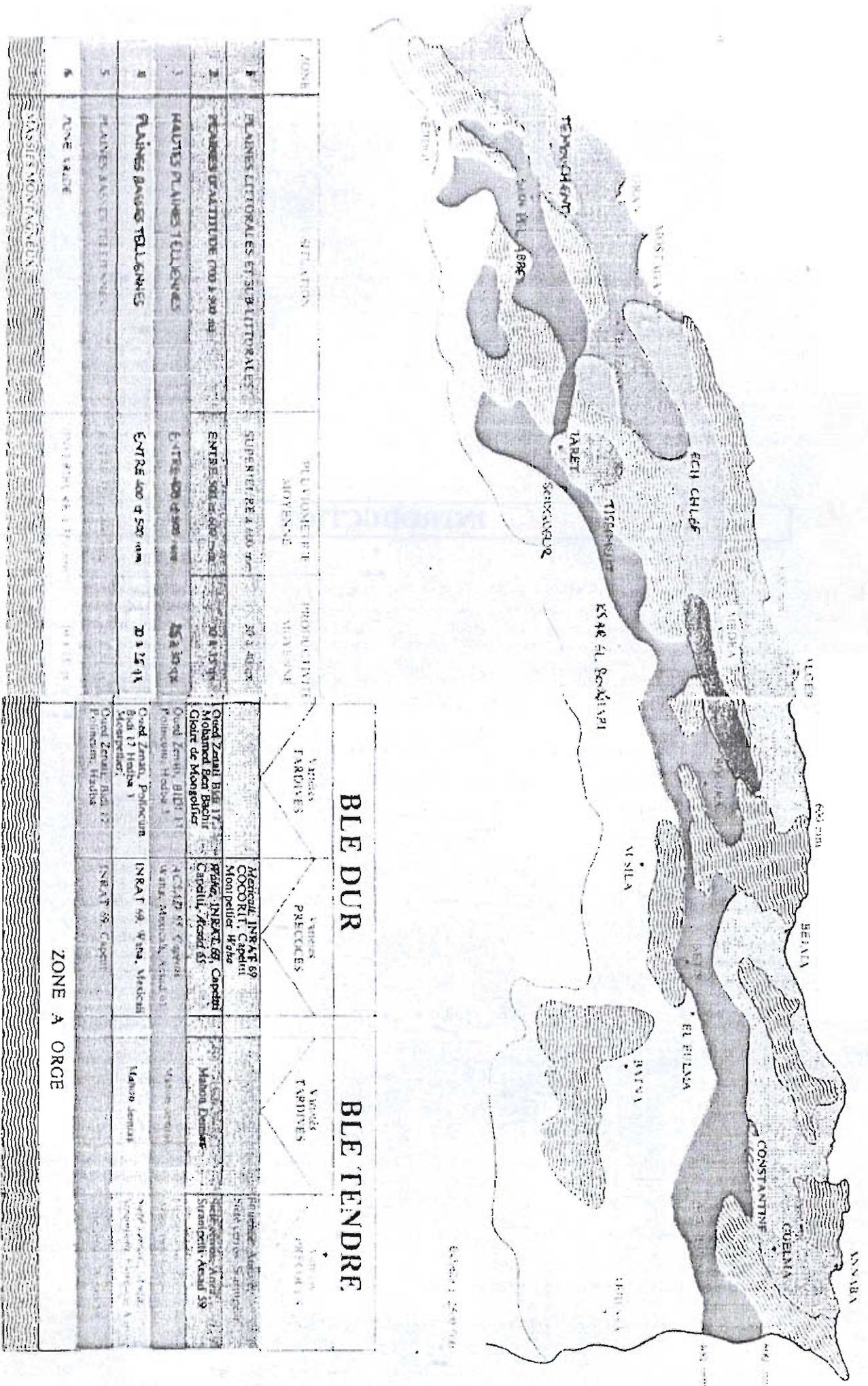


Figure 1: carte schématique représentant des zones céréalières en Algérie (Anonyme, 1987).

ZONE	SITUATION	RELATIONNEMENT MOYENNE	PRÉCIPITATION MOYENNE
1	PLAINES LITTORALES ET SUB LITTORALES	SUPÉRIEURE À 400 mm	30 à 400 mm
2	PLAINES D'ÉLEVATION (700 à 2000 m)	ENTRE 300 et 400 mm	20 à 150 mm
3	HAUTES PLAINES ET ÉLEVÉES	ENTRE 200 et 300 mm	15 à 30 mm
4	PLAINES BAISSES TOLLÉRIQUES	ENTRE 100 et 200 mm	20 à 25 mm
5	PLAINES BAISSES TELLÉNIQUES	ENTRE 100 et 200 mm	20 à 25 mm
6	ZONE VALÉE	ENTRE 100 et 200 mm	20 à 25 mm
7	MONTAGNES MONTAGNEUSES	ENTRE 100 et 200 mm	20 à 25 mm

BLE DUR		BLE TENDRE	
VARIÉTÉS FAVORISÉES	PRÉCÈDES	VARIÉTÉS FAVORISÉES	PRÉCÈDES
Oued Zennat, Bled 17 Oued Zennat, Bled 17 Mohamad Ben Bachir Oued de Mongoutier	Merguél, INRAT 69 COCORIT, Capérou Mounpeller, Haba Pradé, INRAT 68, Capérou Capérou, Acaud 68	Merguél, INRAT 69 COCORIT, Capérou Mounpeller, Haba Pradé, INRAT 68, Capérou Capérou, Acaud 68	Merguél, INRAT 69 COCORIT, Capérou Mounpeller, Haba Pradé, INRAT 68, Capérou Capérou, Acaud 68
Oued Zennat, Bled 17 Bled 17 Haba 1 Oued Zennat, Bled 17 Oued Zennat, Bled 17 Oued Zennat, Bled 17 Oued Zennat, Bled 17	INRAT 68, W. Ma, W. Ma W. Ma, W. Ma, W. Ma	Merguél, INRAT 69 COCORIT, Capérou Mounpeller, Haba Pradé, INRAT 68, Capérou Capérou, Acaud 68	Merguél, INRAT 69 COCORIT, Capérou Mounpeller, Haba Pradé, INRAT 68, Capérou Capérou, Acaud 68
ZONE A ORGE			

Introduction

Les céréales sont considérées comme une culture stratégique et économiquement importante du fait de leur richesse en protéines (7 à 12%) pour l'alimentation humaine et animale.

En Algérie le secteur céréalier souffre de problèmes spécifiques qui limitent considérablement sa productivité. Même si les superficies cérésières ont été portées de 3 millions à 3,7 millions d'hectares, la production cérésière, et particulièrement celle des blés et des orges stagne, et les rendements n'ont pas évolué (Fig.1).

Cette réduction est due à plusieurs facteurs: dépendance des conditions climatiques, faible taux de mécanisation, utilisation irrationnelle des sols, mauvais système d'assolement et de rotation des cultures, usage trop rare d'engrais et des produits phytopharmaceutiques.

L'impact des maladies comme facteur affectant les rendements est à prendre en considération. Les pertes engendrées par les champignons responsables de caries (*Tilletia caries* et *T. foetida*), l'helminthosporiose (*Pyrenespora tritici-repentis*), la septoriose (*Septoria tritici*) et la rouille brune (*Puccinia triticina*) et par les virus sont considérables (Sayoud et al., 1999).

En Algérie, 4 virus sont déjà signalés sur céréales. Il s'agit du virus de la mosaïque modérée de l'orge [*Barley moderate mosaic Bymovirus (BaMMV)*] (Belkahla et al., non publiés), du virus de la mosaïque striée en fuseau du blé [*Wheat spindle streak mosaic Bymovirus (WSSMV)*] transmis par *Polymyxa graminis* (Boubetra et al.,1999), du virus

de la mosaïque striée du blé [*Wheat streak mosaic Tritimovirus (WSMV)*] transmis par acariens et du virus de la mosaïque striée de l'orge [*Barley stripe mosaic Hordeivirus (BSMV)*] transmis par la semence (Boubetra et al., 1999).

Concernant les virus associés au barley yellow dwarf (BYD) uniquement quelques travaux d'approche ont été réalisés. Il s'agit d'études effectués dans le cadre du projet des nations unis pour le développement en 1990.

La jaunisse nanisante de l'orge est une maladie agronomiquement grave sur les céréales à l'échelle mondiale. Cette maladie a été décrite pour la première fois aux Etats-Unis par Oswald et Houston en 1951.

La jaunisse nanisante de l'orge est causée par 2 genres de virus de la famille des *Luteoviridae*. Il s'agit du genre *Luteovirus*, spécifique des *Poaceae* et du genre *Polerovirus* non spécifique des *Poaceae* (D'Arcy et al., 1999). Les virus associés au BYD sont le barley yellow dwarf virus-*padi avenae* virus (*BYDV-PAV*), *BYDV-macrosiphum avenae* virus (*BYDV-MAV*), *schizaphis graminum* virus (*SGV*), *cereal yellow dwarf virus-rhopalosiphum padi* virus (*CYDV-RPV*), *rhopalosiphum maidis* virus (*RMV*), *graminum padi* virus (*GPV*), *dirhodum avenae* virus (*DAV*) et le *graminum padi dirhodum avenae* virus (*GPDAV*) (D'Arcy et Burnett, 1995; Martelli 1997). Ces virus peuvent provoquer un jaunissement, un nanisme ou un rougissement, selon les espèces d'hôtes infectées et les conditions du milieu. Les virus associés au BYD sont transmis naturellement par puceron selon le mode persistant, circulant non propagatif. Plus de 30 espèces aphidiennes sont capables de transmettre plus ou moins spécifiquement les virus associés au BYD (Watson et Mulligan 1960). Un petit nombre de ces espèces joue un rôle majeur dans les épidémies du BYD en raison de la taille de leur population. Il s'agit de *Rhopalosiphum padi* (L.), *Rhopalosiphum maidis* (Fitch), *Sitobion avenae* (F.) et *Schizaphis graminum* (Rondani). Des populations élevées d'autres espèces *Metopolophium dirhodum* (Walk), *Sitobion miscanthi* (Tak.) peuvent être observées dans certaines régions. Des variants vécotypiques du *RMV* et *SGV* (Brumfield et al., 1992; Lei et al. 1995) ont été mis en évidence. Ce caractère peut être attribué à des variations sérotypiques (D'Arcy et Burnett 1995; Osler et al., 1992). *Sitobion fragariae* (Walk) est connue comme étant une espèce localement importante et / ou comme espèce utilisée dans des essais pour définir le spectre de vexion d'un ou des virus associés au BYD (Lister et Sward 1988; Guy 1988; Guy et al. 1987).

Les objectifs principaux de cette thèse ont été les suivants:

#Identification et caractérisation des *Luteoviridae*

Les virus associés au BYD ont d'abord été identifiés par leur vecteurs potentiels et les symptômes qu'ils induisent sur la plante hôte. La production d'anticorps dirigés contre les virus, a permis le diagnostic des infections virales ainsi que l'analyse de la variabilité intra et inter-virus. Dans le cas des *Luteoviridae*, l'utilisation d'anticorps monoclonaux (AcSMCs) a permis, d'une part, d'identifier les épitopes communs aux genres *Luteovirus* et *Polerovirus* (D'Arcy et al., 1989; Van Den Heuvel et al., 1990) et d'autre part, de différencier des isolats d'un même virus (Chay et al., 1996b; Geske et al., 1996).

Dans ce travail l'étude a été orientée sur la distribution géographique en Algérie des populations de pucerons vecteurs potentiels *R. padi* (L.), *R. maidis* (Fitch), *S. avenae* (F.), *S. fragariae* (Walk) et *S. graminum* (Rondani) et la caractérisation des virus associés au BYD et les sérotypes du *BYDV-PAV* et *BYDV-PAV* infectants les cultures céréalières.

#Connaissances des vecteurs du BYD

L'étude a porté sur la transmissibilité et la persistance des virus associés au BYD par *S. fragariae* et la cinétique de la multiplication du *BYDV-MAV A* et *BYDV-MAV B* d'une part et la compétition entre ces 2 virus apparentés d'autre part.

#Etude épidémiologique du BYD: Analyse des sérotypes du BYD

Ce travail a consisté à surveiller et identifier les contaminations primaires par les tests de détection sur des plants de blé tendre extériorisant des symptômes de type BYD et par les tests de transmission par les pucerons ailés prélevés sur ces même plants.

Avant de présenter les résultats, et après un aperçu sur les caractères des virus des plantes, leur variabilité et les vecteurs assurants leur dissémination, une introduction bibliographique est proposée.

Celle-ci portera essentiellement sur 3 points permettant d'éclairer les études que nous avons effectuées. Ces points concernent la distribution des différents virus des céréales dans le monde, les caractères des *Luteoviridae* et de leur distribution géographique en fonction des milieux et enfin une analyse synthétique sur les composantes du pathosystème de la jaunisse nanisante de l'orge.

PREMIER CHAPITRE
BIBLIOGRAPHIE INTRODUCTIVE

Tableau 1. Classification des virus des plantes adaptée de Martelli 1997

Génome	Particules	Famille	Genre
ADNdb	isométriques en bâtonnets	<i>Caulimoviridae</i>	<i>Caulimovirus</i> <i>Bathnavirus</i>
ADNsb		<i>Geminiviridae</i>	<i>Begomovirus</i> , <i>Curtovirus</i> , <i>Mastrevirus</i> <i>Nanavirus</i>
ARNdb		<i>Reoviridae</i> <i>Partitiviridae</i>	<i>Fijivirus</i> , <i>Phytoreovirus</i> , <i>Oryzavirus</i> <i>Alphacryptovirus</i> , <i>Betacryptovirus</i>
ARNsb enveloppé		<i>Rhabdoviridae</i> <i>Bunyaviridae</i>	<i>Cytorhabdovirus</i> , <i>Nucleorhabdovirus</i> <i>Tenuivirus</i> , <i>Tospovirus</i>
ARNsb non enveloppé	isométriques et monopartites	<i>Luteoviridae</i> <i>Sequiviridae</i> <i>Tombusviridae</i>	<i>Enamovirus</i> , <i>Luteovirus</i> , <i>Polerovirus</i> <i>Sequivirus</i> , <i>Waikavirus</i> <i>Aureinvirus</i> , <i>Avenavirus</i> , <i>Carmovirus</i> , <i>Dianthovirus</i> , <i>Tombusvirus</i> , <i>Necrovirus</i> , <i>Machlomovirus</i> , <i>Panicovirus</i>
	isométriques et bipartites	<i>Comoviridae</i>	<i>Comovirus</i> , <i>Fabavirus</i> , <i>Nepovirus</i>
	isométriques et tripartites	<i>Bromoviridae</i>	<i>Alfamovirus</i> , <i>Bromovirus</i> , <i>Cucumovirus</i> , <i>Ideovirus</i> , <i>Ilarvirus</i> , <i>Oleavirus</i>
	filamenteuses	<i>Potyviridae</i> <i>Closteroviridae</i>	<i>Bymovirus</i> , <i>Ipomovirus</i> , <i>Machumovirus</i> , <i>Potyvirus</i> , <i>Rymovirus</i> , <i>Tritimovirus</i> <i>Closterovirus</i> , <i>Crinivirus</i>
Genres non groupés en famille			
ARNsb.	isométriques en bâtonnets filamenteuses structure indéterminée		<i>Idaeovirus</i> , <i>Marafivirus</i> , <i>Sobemovirus</i> , <i>Tymovirus</i> <i>Berynavirus</i> , <i>Furovirus</i> , <i>Hordeivirus</i> , <i>Pechivirus</i> , <i>Pomovirus</i> , <i>Tobamovirus</i> , <i>Tobravirus</i> , <i>Allexivirus</i> , <i>Capillovirus</i> , <i>Carlavirus</i> , <i>Foveavirus</i> , <i>Potexvirus</i> , <i>Trichovirus</i> , <i>Vitivirus</i> , <i>Umbravirus</i>

ADNdb: ADN double brin; ADNsb: ADN simple brin; ARN db: ARN double brin; ARN sb: ARN simple brin

I- Caractères et classification des phytovirus:

Contrairement aux organismes cellulaires, possédant tous un génome à ADN, les virus; organismes acellulaires ont un génome composé d'ARN ou d'ADN. Ils se distinguent d'autres organismes acellulaires par la présence d'une capsidie au moins sur la plupart des souches d'un même virus. Nous n'entrerons pas ici dans les problèmes de frontières entre le monde des virus et celui d'autres organismes acellulaires (repliquons non viraux) proches des virus.

L'homme a toujours voulu différencier, classer et hiérarchiser les composants du monde qui l'entourent. Les virus n'ont pas échappé à cette règle, mais posent des problèmes spécifiques liés à leur petite taille, leur grande vitesse de réplication et leur organisation génomique rappelant «un patchwork». Ils ont longtemps été distingués en fonction des caractères biologiques, gammes d'hôtes, mode de transmission et enfin des symptômes. Une des premières tentatives de classification des virus des plantes a été introduite par Brandes et Wetter (1959). Les caractères retenus étaient la morphologie de la particule virale et les propriétés biologiques; telles que la spécificité du vecteur. Ces auteurs ont séparé les virus des plantes en 5 groupes, le virus du brunissement du tabac [*Tobacco rattle Tobravirus (TRV)*], le virus de la mosaïque du tabac [*Tobacco mosaic Tobamovirus (TMV)*], le virus S de la pomme de terre [*Potato S Carlavirus (PVS)*], le virus X de la pomme de terre [*Potato X Potexvirus (PVX)*] et le virus Y de la pomme de terre [*Potato Y Potyvirus (PVY)*]. Plusieurs propositions de classification se sont succédées concernant les phytovirus, mais aussi celles des animaux, des champignons et des bactéries. C'est avec la création de l'ICTV (International Committee of Taxinomy of Viruses), appelé précédemment ICNV (International Committee of Nomenclature of Viruses), en 1966 que la virologie comparée a permis d'aborder ce domain d'une manière globale. La classification des virus, proposée par les taxinomistes dans les années 80-90, s'articule autour de notions d'ordre, de famille, de genre et d'espèce, appliquée d'abord aux virus des animaux (Martelli, 1993). Les motifs polymérasés chez les virus à ARN ont constitué un élément taxinomique majeur (Koonin et Dolja, 1993; Ward, 1993). Les nouvelles connaissances acquises concernant les virus des plantes ont incité le sous-comité de la taxinomie des virus des plantes à adopter, des modifications dans le système de classification des phytovirus (**Tableau 1**).

Ainsi, certains groupes ont acquis le statut de famille ou de genre. Dans le tableau 1, nous avons récapitulé les données actuelles concernant la taxinomie des phytovirus.

Tableau 2. Familles et genres de virus présents chez les *Poaceae* et dans les autres familles de plantes

Famille	Genre	Espèce	Virus infectant d'autres familles de plantes
	Virus de <i>Poaceae</i>		
<i>Caulimoviridae</i>	<i>Badnavirus</i>	(<i>Rice tungro bacilliform virus</i>)	<i>Caulimovirus</i>
<i>Geminiviridae</i>	<i>Mastrevirus</i>	(<i>Maize streak virus</i>)	<i>Curtovirus</i> , <i>Begomovirus</i>
<i>Circoviridae</i>	-		<i>Nanavirus</i>
<i>Reoviridae</i>	<i>Fijivirus</i>	(<i>Maize rough dwarf virus</i>)	-
	<i>Phytoreovirus</i>	(<i>Rice dwarf virus</i>)	+
	<i>Oryzavirus</i>	(<i>Rice ragged stunt virus</i>)	-
<i>Partitiviridae</i>	-		<i>Alphacryptovirus</i>
	-		<i>Betacryptovirus</i>
<i>Rhabdoviridae</i>	<i>Cytorhabdovirus</i>	(<i>Barley yellow striate mosaic virus</i>)	-
	-		<i>Nucleorhabdovirus</i>
<i>Bunyaviridae</i>	<i>Temuvirus</i>	(<i>Maize stripe virus</i>)	<i>Tospovirus</i>
<i>Luteoviridae</i>	<i>Luteovirus</i>	(<i>Padi avenae virus</i>)	+
	<i>Polerovirus</i>	(<i>Rhopalosiphum Padi virus</i>)	+
<i>Sequiviridae</i>	-		<i>Enamovirus</i>
	-		<i>Sequivirus</i>
<i>Tombusviridae</i>	<i>Waikavirus</i>	(<i>Rice tungro spherical virus</i>)	-
	-		<i>Aureusvirus</i>
	<i>Avenavirus</i>	(<i>Oat chlorotic stunt virus</i>)	-
	-		<i>Carmovirus</i>
	-		<i>Dianthovirus</i>
	<i>Machlomovirus</i>	(<i>Maize chlorotic mottle virus</i>)	-
	<i>Necrovirus</i>	(<i>Rice necrosis virus</i>)	+
	<i>Panicovirus</i>	(<i>Panicum mosaic virus</i>)	-
<i>Comoviridae</i>	-		<i>Tombusvirus</i>
	-		<i>Comovirus</i>
	-		<i>Fabavirus</i>
	+		<i>Nepovirus</i>
<i>Bromoviridae</i>	+		<i>Alfamovirus</i>
	<i>Bromovirus</i>	(<i>Brome mosaic virus</i>)	-

Les virus des céréales appartiennent à presque toutes les familles décrites sauf les *Circoviridae* (virus encore peu nombreux). Parmi la vingtaine de genre non regroupés, près de la moitié ne sont pas présents chez les *Poaceae* (Tableau 2). Parmi les genres de virus spécifiques des *Poaceae* aucun n'appartient à une famille de virus qui soit spécifique de cette famille de plantes. Ces données supposent que seule la différenciation des genres pourrait être postérieure à la séparation des plantes en familles (Tableau 3). Dans la famille des *Luteoviridae*, cette différenciation aurait pu ainsi avoir lieu à un stade plus tardif encore, ne permettant de distinguer que des espèces virales.

II- Evolution et variabilité des génomes des virus à ARN:

Pour de nombreux virus, il est souvent décrit des variants ou souches qui se différencient par leurs propriétés biologiques ou sérologiques. Cette variabilité est très fréquente; et elle est due à 2 principaux mécanismes, bases de l'évolution des génomes viraux: les mutations spontanées et les recombinaisons.

II-1-Mutations spontanées:

Les mutations spontanées, correspondent à des phénomènes de substitutions ponctuelles ou non ponctuelles, ont lieu aux différentes positions du génome pendant la réplication. Le nombre de mutations des virus à ARN est estimé à environ 1 mutation par génome et par réplication ce qui en terme de nombre de bases et par réplication, varie de 10^{-3} à 10^{-5} (Drake 1993). Pour les virus à ADN, la fréquence de mutation varie de 10^{-7} à 10^{-10} par site et par réplication (Drake 1991). Ainsi, la fréquence de mutation chez le bactériophage *QB*, dont le génome est constitué d'une molécule d'ARN simple brin de 4,2 Kb, environ 300 fois plus élevée que celle du bactériophage *M13* dont le génome est une molécule d'ADN simple brin de 6,2 Kb (Drake 1993).

Cette fréquence de mutation, élevée chez les virus à ARN, est attribuée au nombre considérable d'erreurs que les ARN polymérases accumulent pendant la réplication (Holland et al., 1982; Steinhauer et Holland 1986). Les ARN polymérases semblent être dépourvus de fonctions de certification de lecture, contrairement aux ADN polymérases (Drake 1993). Il en résulte, qu'un virus est constitué d'une population de virions appelée «quasi-espèce» dont les génomes sont très proches mais présentent des micro-hétérogénéités (Domingo et al., 1985; Eigen et Biebricher, 1988).

Famille	Genre	Espèce	Genre
<i>Bromoviridae</i>	Virus de <i>Poaceae</i>		Virus infectant d'autres familles de plantes
	-		<i>Cucumovirus</i>
	-		<i>Ideovirus</i>
	-		<i>Ilarvirus</i>
<i>Potyviridae</i>	-		<i>Oleavirus</i>
	-	<i>Bymovirus (Barley yellow mosaic virus)</i>	-
	-		<i>Ipomovirus</i>
	-		<i>Machumovirus</i>
<i>Closteroviridae</i>	-		<i>Potyvirus</i>
	-	<i>Rymovirus (Rye mosaic virus)</i>	-
	-	<i>Tritimovirus (Wheat streak mosaic virus)</i>	-
	-	<i>Closterovirus (Wheat yellow leaf virus)</i>	+
			<i>Crinivirus</i>
			<i>Ideovirus</i>
			+
	<i>Marafivirus (Maize rayado fino virus)</i>		<i>Sobemovirus</i>
	-		<i>Tymovirus</i>
	-		<i>Bemivirus</i>
	-		-
	-		-
			<i>Pectivirus</i>
			<i>Pomovirus</i>
			<i>Tobamovirus</i>
			<i>Tobravirus</i>
			<i>Allexivirus</i>
			<i>Capillovirus</i>
			<i>Carlavirus</i>
			<i>Foveavirus</i>
			<i>Potexvirus</i>
			<i>Trichovirus</i>
			<i>Viinivirus</i>
			<i>Umbravirus</i>

Les conséquences, sur l'évolution des virus à ARN, de cette fréquence élevée de mutations sont peu connues, et on peut s'interroger sur la persistance dans le temps et dans l'espace des composantes d'une quasi-espèce.

Le fait de soumettre une quasi-espèce à de fortes pressions de sélection facilitera l'évolution du virus en sélectionnant les variants pouvant s'adapter à ces conditions. Ainsi chez les plantes, lorsque l'on met en place des variétés résistantes à un virus donné sur des surfaces agricoles importantes, il n'est pas rare de voir apparaître dans les années suivantes des variants, appelés pathotypes, surmontant cette résistance. Mais le lien « quasi-espèce » avec les variants observés reste à établir.

L'exemple du *TMV* peut illustrer l'importance des mutations ponctuelles. Ainsi, le tabac porte un gène de résistance *N* à certaines souches du *TMV*, montrant une substitution d'un seul acide aminé dans la protéine capsidique, en comparaison avec des souches n'induisant pas ce type de réaction (Knorr et Dawson, 1988).

II-2-Recombinaisons:

Les recombinaisons ARN-ARN résultent de mécanismes impliquant l'échange entre des molécules d'ARN. Ces échanges d'informations génétiques peuvent s'effectuer entre les ARN eux-mêmes ou entre les ARN viraux et ceux de la plante hôte. Ces recombinaisons constituent, avec les mutations spontanées, des facteurs majeurs de l'évolution des virus à ARN (Lai, 1992).

Les recombinaisons ARN-ARN, observées pour la première fois chez les *Poliovirus* (Hirst, 1962), sont maintenant décrites pour beaucoup de virus d'animaux et des plantes. Ces phénomènes ont été mis en évidence chez de nombreux virus à ARN infectant les plantes: *Tobamovirus* (Bujarski et Kaesberg, 1986); *Tobravirus* (Robinson et al., 1987); *Tombusvirus* (Hillman et al., 1987); *Carmovirus* (Li et al., 1989); *Alfamovirus* (Van Der Kuyl et al., 1991); *Furovirus* (Bouzouba et al., 1991); *Nepovirus* (Rott et al., 1991); *Luteovirus* (Mayo et Jolly, 1991); *Hordeivirus* (Edwards et al., 1992) et *Potyvirus* (Cervera et al., 1993).

La fréquence de ces recombinaisons est faible comparativement à celle des mutations spontanées. Des essais réalisés «*in vitro*» sur le bactériophage *QB* ont permis d'estimer la fréquence de recombinaison à 10^{-8} (Palasingam et Shakle, 1992).

Tableau 3. Nombre d'espèces de virus appartenant à différentes familles et infectant spécifiquement les *Poaceae*.
 Comparaison avec les espèces de la famille des *Luteoviridae* (D'après Lapiere, non publiés).

Genres spécifiques des <i>Poaceae</i>	Nbre sp	Nbre de virus de la famille des <i>Luteoviridae</i> appartenant à	
		un genre spécifique des <i>Poaceae</i>	un genre non spécifique des <i>Poaceae</i>
<i>Fijivirus</i>	5 à 10	<i>Luteovirus</i>	<i>Sobemovirus</i> 1
<i>Furovirus</i>	5 à 10		<i>Polerovirus</i> >5
<i>Tenuivirus</i>	5 à 10		<i>Enamovirus</i> 1
<i>Bymovirus</i>	>5		
<i>Rymovirus</i>	< 5		
<i>Tritimovirus</i>	< 5		
<i>Avenavirus</i>	1		
<i>Badnavirus</i>	1		
<i>Machlomovirus</i>	1		
<i>Mastrevirus</i>	1		
<i>Oryzavirus</i>	1		
<i>Panicovirus</i>	1		
<i>Waikavirus</i>	1		

III- Transmission et dissémination des phytovirus:

La transmission de nombreux virus animaux et de certains virus de bactéries s'effectue grâce à une reconnaissance des parois ou directement des membranes des cellules ou des tissus des hôtes qu'ils infectent. Les virus des plantes n'ayant pas accès à la membrane plasmique et ne disposant pas de système d'hydrolyse des parois doivent, dans la majorité des cas, avoir recours à l'intermédiaire d'une action mécanique ou à un vecteur biotique pour infecter de nouveaux hôtes. La seule exception concerne la famille des *Partitiviridae*, dont les virus présentent une forte transmission verticale, permettant le maintien de ces organismes.

III-1-Transmission mécanique:

Les virus transmis mécaniquement n'utilisent pas toujours un autre mode de transmission. Une matière neutre quelconque capable de provoquer une micro-lésion cellulaire du végétal est suffisante. La transmission peut ainsi être réalisée par contact direct entre 2 plantes, mais également par des animaux, l'homme ou ces outils lors des pratiques culturales. Certains virus appartenant au *Tobamovirus (TMV)* et au *Potexvirus (PVX)* sont stables et en forte concentration dans les plantes infectées. Ces virus peuvent donc être rapidement disséminés par voie mécanique (Matthews, 1991).

Le contact direct entre virus et plante est aussi réalisé après transport par l'eau des particules virales issues d'un plant malade. Ainsi, des *Carmovirus*, des *Tobamovirus* et des *Tombusvirus* peuvent être libérés des racines des plantes infectées dans l'eau disponible dans le sol, et ceci à des concentrations élevées. Les plantes saines présentant des micro-blessures résultant en particulier de la croissance des racines peuvent être infectées par des virus circulants dans les rivières, lacs et rigoles d'irrigation (Teakle et Morris, 1981; Tomlinson et al., 1984; Koenig, 1992).

III-2-Dissémination par la semence:

La dissémination des virus par la graine est la conséquence de l'infection de l'ovaire ou du pollen d'une plante malade. Ce type de transmission est observé chez 2 genres de virus des *Poaceae*. Il s'agit du genre *Hordeivirus (BSMV)* et *Tritimovirus (WSMV)*. D'après Matthews (1991), 20% des virus phytopathogènes sont transmis par la graine. Le commerce des graines est donc un moyen très important pour la dissémination des virus sur de larges zones géographiques. Les cas de transmission de ce type ont souvent

Tableau 4. Principaux genres de virus des *Poaceae* non signalés transmis par la graine (D'après Lapiere 1999, communication personnelle).

Genres de virus	Membre représentatif*	Vecteur	Transmission mécanique
<i>Closterovirus</i>	<i>WYLV</i>	puceron	difficile
<i>Luteovirus</i>	<i>PAV</i>	puceron	non
<i>Polerovirus</i>	<i>CYDV-RPV</i>	puceron	non
<i>Badnavirus</i>	<i>RTBV</i>	cicadelle	facile
<i>Fijivirus</i>	<i>FDV</i>	cicadelle	non
<i>Marafivirus</i>	<i>MRFV</i>	cicadelle	non
<i>Phytoreovirus</i>	<i>RDV</i>	cicadelle	non
<i>Temuivirus</i>	<i>MSV</i>	cicadelle	non

* *CYDV-RPV*: Cereal yellow dwarf virus-Rhopalosiphum padi virus; *FDV*: Fiji disease virus; *MRFV*: Maize rayado fino virus; *MSV*: Maize stripe virus; *PAV*: Padi avenae virus; *RDV*: Rice dwarf virus; *RTBV*: Rice tungo bacilliform virus; *WYLV*: Wheat yellow leaf virus

une incidence économique non négligeable. De plus, les infections primaires provenant de graines infectées sont très souvent accompagnées d'une dissémination par des vecteurs (Tableau 4).

III-3-Dissémination par la multiplication végétative:

La multiplication végétative est une pratique agricole courante, mais malheureusement aussi une méthode très efficace de dissémination des virus. Les maladies virales systémiques ont une importance considérable pour les plantes se multipliant par la voie végétative. Le virus de l'enroulement de la pomme de terre [*Potato leafroll Polerovirus (PLRV)*] est disséminé par les tubercules infectés (Palti, 1984). Le greffage entraîne la propagation des virus des cultures pérennes. Il en est aussi pour la maladie redoutable que constitue la Tristesa des agrumes.

III-4-Transmission par vecteurs biotiques:

III-4-1-Transmission par les animaux invertébrés:

La transmission par les invertébrés est le mode de transmission le plus fréquent chez les virus des plantes cultivées, puisque environ 320 d'entre eux sont transmis par cette catégorie de vecteurs, soit environ 90% de l'ensemble des virus connus (Harris, 1981) (Tableau 5). Environ 380 espèces d'invertébrés sont connues pour transmettre au moins un de ces virus phytopathogènes. Parmi elles, on compte environ 6% de nématodes et 94% d'arthropodes (Harris, 1981).

Se basant sur les relations biologiques entre les virus et les vecteurs, plusieurs modes de transmission ont été décrits (Tableau 6).

- Sur la base de la période de rétention du virus par les vecteurs, les virus sont qualifiés de non-persistants, semi-persistants (Sylvester, 1956) et persistants selon que l'insecte reste infectieux pendant respectivement quelques minutes, quelques heures ou plusieurs jours (Pirone et Harris, 1977).
- Sur la base de leur localisation dans le vecteur (Kennedy et al., 1962), les virus sont partagés en virus du stylet et virus circulants. Ces deux catégories correspondent respectivement aux virus non persistants et aux virus persistants.

Dans la mesure où les sites de rétention des virus dans leur vecteur ne sont pas connus avec précision, Harris (1977) a proposé une troisième classification qui différencie les

Tableau 5: Invertébrés-vecteurs de virus des plantes*

Embranchement	Classe	Ordre	Famille	Nb. espèces vectrices	Nb. de virus transmis	Références
nématelminthes	nématodes	dorylaimides	<i>Trichodoridae</i>	12	3	
			<i>Longidoridae</i>	13	20	
arthropodes	arachnides	acaréens	<i>Eriophyidae</i>	2	6	Matthews, 1991
		thysanoptères	<i>Thripidae</i>	9	5	Francki et al., 1991; Hunter et al., 1995
	insectes	hémiptères	<i>Miridae</i>	1	1	
			<i>Piesmidae</i>	2	2	
			<i>Membracidae</i>	1	1	
		homoptères	<i>Aleyrodidae</i>	3 (+ 24?)	33	Hull et al., 1991
			<i>Pseudococcidae</i>	18	5	
			<i>Delphacidae</i>	27	23	Nault et Ammar, 1989
			<i>Cicadellidae</i>	49	33	Nault et Ammar, 1989
			<i>Aphididae</i>	193	164	
		coléoptères	<i>Coccinellidae</i>	2	10	
<i>Cucurionidae</i>	11		3			
<i>Chrysomelidae</i>	60		28			

*Sauf indiqué, les chiffres présents sont proposés par Harris, 1981.

virus non circulants des virus circulants. Les bases moléculaires de cette classification utilisée sont cependant limitées.

III-4-1-1-Les nématodes:

Ces vecteurs de virus phytopathogènes appartiennent tous à l'ordre des Dorylaïmides (De Bokx, 1987). Des espèces des genres *Xiphinema* et *Longidorus* de la famille des *Longidoridae* transmettent des *Nepovirus*. Les genres *Trichodorus* et *Paratrichodorus* de la famille des *Trichodoridae* transmettent des *Tobravirus*. Dans la plupart des cas on peut définir un mode de vection persistant non multipliant.

III-4-1-2-Les arthropodes:

Parmi 14 classes de cet embranchement, deux seulement sont des vecteurs de virus des plantes: les arachnides (uniquement la famille des *Eriophyidae*) et les insectes. La classe des insectes est de loin la plus importante puisqu'elle représente environ 90% des arthropodes vecteurs de virus (Harris, 1981) (Tableau 5).

III-4-1-2-1-Les insectes:

Parmi les 10 ordres d'insectes se nourrissant sur les plantes supérieures, 8 sont considérés comme possédant des espèces vectrices de virus phytopathogènes (Matthews, 1991). Chez 4 ordres (coléoptères, hémiptères (héteroptyères), homoptères et thysanoptères) des espèces vectrices ont été caractérisées. Le troisième ordre est le plus important car il représente environ 76% des insectes vecteurs et environ 71% de l'ensemble des invertébrés vecteurs (Harris, 1981) (Tableau 4).

III-4-1-2-1-1-Les homoptères:

Les homoptères possèdent un appareil buccal de type piqueur suceur, et s'alimentent le plus souvent dans le phloème des plantes. Cet ordre très riche en espèces, a développé au cours de l'évolution des interactions nombreuses avec les plantes et les virus qu'ils véhiculent. Six familles sont reconnues comme possédant des espèces vectrices appartenant principalement aux *Delphacidae*, *Cicadellidae* et aux *Aphididae*.

Les aphides constituent de loin l'ensemble le plus important de vecteurs non seulement dans l'ordre des homoptères, mais également parmi l'ensemble des invertébrés, tant par

Tableau 6. Modes de transmission des virus de plantes par les insectes vecteurs

Ordre	Famille	Non persistant	Semi persistant	Persistant	Persistant et circulant	Persistant et multipliant	Persistant non multipliant	Références
Thysanoptères	<i>Thripidae</i>	1*				2		Francki et al., 1991
Hemiptères	<i>Piesmidae</i>						3	Miles, 1968
	<i>Miridae</i>	4						Miles, 1968
Homoptères	<i>Aleyrodidae</i>	5	6	7			8	Hull et al., 1991
	<i>Membracidae</i>			9				Muniyappa, 1980
	<i>Pseudococcidae</i>			10				Reivainen, 1980
	<i>Delphacidae</i>					11		Nault et Ammar, 1989
	<i>Cicadellidae</i>					12		Nault et Ammar, 1989
	<i>Aphididae</i>	13	14	15		16		Harris, 1981
Coléoptères	<i>Coccinellidae</i>						17	Fulton et al., 1987
	<i>Cucuritionidae</i>						18	Fulton et al., 1987
	<i>Chrysomelidae</i>						19	Fulton et al., 1987

*: on indiqué la famille ou le genre de virus transmis selon ce mode.

1: *Ilarvirus*, *Carmovirus*; 2: *Tospovirus*; 3: *Rhabdoviridae*; 4: *Sobemovirus*; 5: *Pogovirus*; 6: *Closteroviridae*; 7: *Geminiviridae*; 8: *Carlavirus*; 9: *Geminiviridae*; 10: *Badnavirus*; 11: *Rhabdoviridae*; 12: *Geminiviridae*; 13: *Cucumovirus*, *Rhabdoviridae*, *Pogovirus*; 14: *Closteroviridae*; 15: *Luteoviridae*, *Nanavirus*; 16: *Rhabdoviridae*; 17: *Sobemovirus*; 18: *Comoviridae*; 19: *Tymovirus*

le nombre d'espèces impliquées, que par le nombre de virus qu'ils sont susceptibles de transmettre.

III-4-1-2-1-1-1-Les aphides:

Environ 67% des virus transmis par homoptères et 51% des virus transmis par les invertébrés ont pour vecteurs des pucerons (Harris, 1981). Au moins 9 genres de virus de plantes, reconnus par l'ITCV, ont des représentants transmis par des pucerons (Tableau 6).

III-4-1-2-1-1-1-1-Virus non persistant:

Plusieurs centaines de virus de plantes sont transmis par puceron selon le mode non persistant. Ces virus sont acquis au cours d'une brève piqûre d'essai dans les tissus superficiels de la plante hôte (Fig. 2). Le puceron est immédiatement apte à inoculer une plante saine. La période de rétention est toujours très limitée dans le temps après l'acquisition.

Les pièces buccales sont actuellement considérées comme le lieu de rétention de ces virus dans le vecteur. L'hypothèse la plus probable permettant d'expliquer la transmission de ces virus selon le mode non persistant est le mécanisme décrit sous le nom d'ingestion/égestion (Harris, 1981).

Pour certains de ces virus (*Potyvirus*, *Caulimovirus*), la capside mais aussi une autre protéine non structurale [helper component (HC)] sont nécessaires à la vection (Matthews, 1991; Pirone, 1991).

III-4-1-2-1-1-1-1-2-Virus semi persistant:

Seulement 15 virus sont transmis par pucerons selon le mode semi persistant (Matthews, 1991). La plupart de ces virus sont des *Closterovirus* ou des *Sequivirus*. Ces virus sont acquis par le vecteur dans le mésophylle profond ou/ et dans le liber (Fig. 2), la période d'acquisition est longue (Yokomi et Garnsey, 1987). Le pouvoir infectieux des pucerons est conservé pendant un ou plusieurs jours mais pas après une mue (Dolja et al., 1994). Les sites de rétention de ces virus dans le vecteur sont localisés au niveau du pharynx ou/ et de l'œsophage ou/ et de l'intestin antérieur (Murant et al., 1976; Pirone et Harris, 1977).

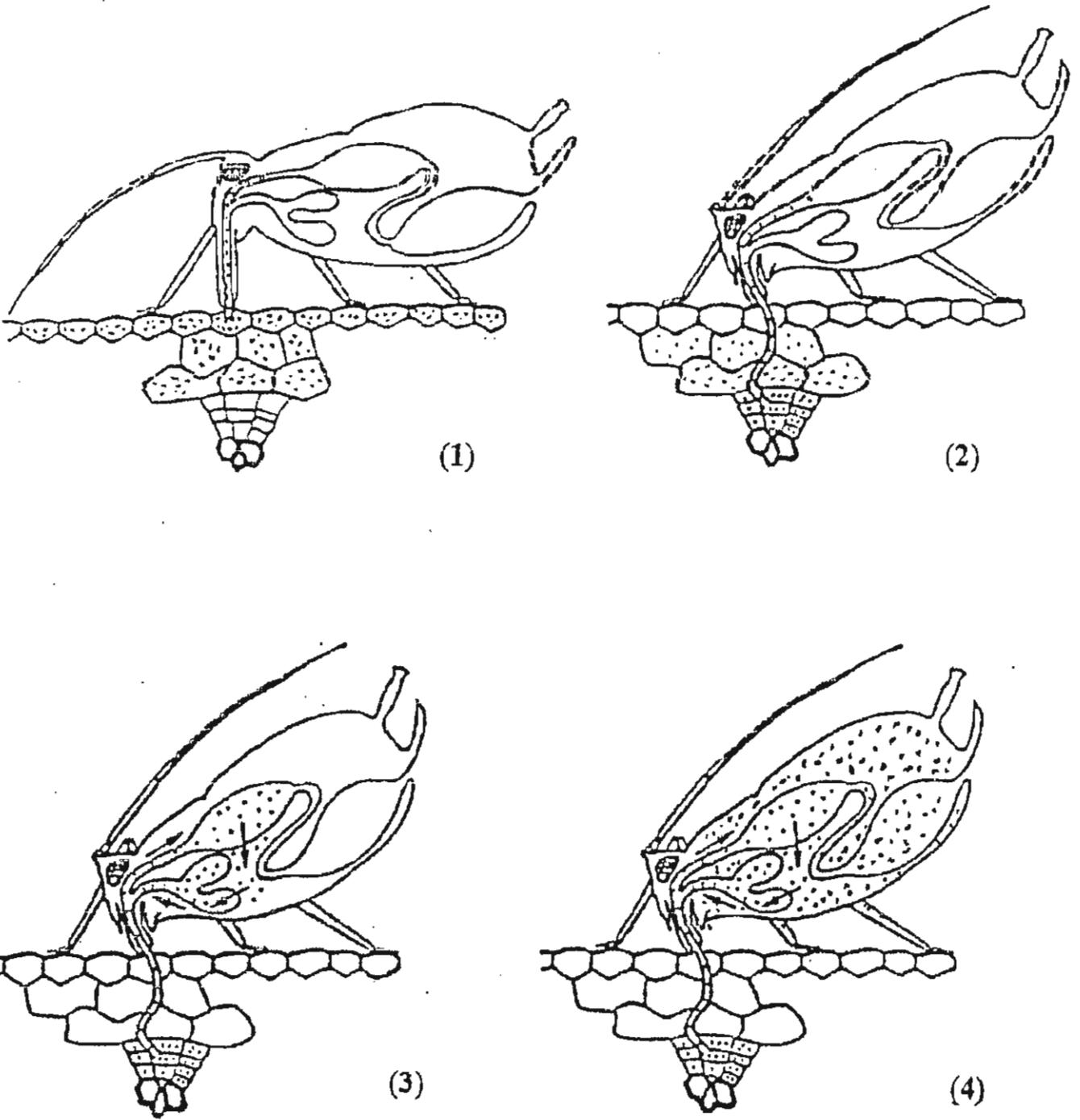


Figure 2 : Représentation schématique de cycle plante-puceron vecteur selon le mode de transmission d'un virus non persistant (1) semi persistant (2) persistant circulant (3) et persistant multipliant (4), d'après (DIXON , 1973).

III-4-1-2-1-1-1-1-2-3-Virus persistant:

Au moins cinq genres de virus, taxinomiquement très différents, sont transmis par pucerons selon le mode persistant.

Ces virus sont généralement acquis dans le tissu du phloème lors de la prise de nourriture après une période d'acquisition de quelques minutes à quelques heures (Fig. 2). Les aphides ne sont pas immédiatement infectieux. La période de latence, au moins de 24h pour les virus circulants et plusieurs jours pour les virus multipliants, correspond au temps nécessaire au virus pour circuler dans le vecteur et atteindre le canal salivaire (Watson et Plumb, 1972). Le puceron restera infectieux durant toute sa vie, et peut donc infecter successivement plusieurs plantes. Ces virus ne sont généralement pas inoculables mécaniquement et ont une spécificité de transmission étroite. Parmi ces virus, on distingue fondamentalement les circulants et les multipliants. Ces derniers se multiplient dans le vecteur et sont donc transmis à la descendance. C'est le cas de la jaunisse nécrotique de la laitue [*Lettuce necrotic yellows Cytorhabdovirus (LNyV)*] (Matthews, 1991). Par contre les virus circulants ne sont pas transmis à la descendance.

III-4-2-Transmission par les champignons et les plasmodiophorales:

Le nombre d'espèces de champignons et de plasmodiophorales vecteurs de virus est très limité. Seuls un genre de champignon (*Olpidium*) et deux genres de plasmodiophorales (*Polymyxa*, *Spongospora*) sont connus pour transmettre entre 20 à 30 virus (Brunt, 1989). Le genre *Polymyxa* transmet essentiellement les virus appartenant au genre *Bymovirus* et *Furovirus* mais aussi le virus de l'arachide massif [*Peanut clump Pecluvirus (PNCV)*] infectant des *Poaceae* et quelques dicotylédones. Ce sont les seuls virus acquis strictement «*in vivo*» par leurs vecteurs.

IV- *Luteoviridae* responsable du BYD:

IV-1-Distribution de la maladie du BYD:

Tous les travaux effectués sur la distribution des virus associés au BYD, ont montré que leur présence est mondiale. Ces virus ont été signalés dans les cinq continents et affectent partout les céréales à paille et de nombreuses *Poaceae* pérennes et annuelles (Tableau 7). D'après les enquêtes menées dans plusieurs pays, les virus associés au

Tableau 7. Différents virus des *Luteoviridae* détectés chez les *Poaceae* modifié de (Lister et Ranieri, 1995).

Continents et Pays	Sérotypes								
	PAV	MAV	SGV	RPV	RMV	GPV	DAV	GP DAV	X ³
Amérique du nord									
Canada	*	£		£					
Etats- Unis	*	£	£	£	£				
Mexique	*	*	£	£	*				
Amérique du sud									
Argentine ¹									
Bolivie ²									
Brésil	*	*	*						
Chilie	*	*							
Colombie		*							
Ecuador		*							
Paraguay	*	*	*						
Pérou		*							
Uruguay	*		*						
Océanie									
Australie	*			*					
Nouvelle Zélande	*	*							
Afrique									
Afrique du sud ²									
Algérie ²									
Burundi ²									
Egypte	*				*				
Ethiopie	*				*				
Kenya	*	*			*				
Libye ²									
Maroc	*	*							
Mozambique ²									
Tanzanie ²									
Tunisie	*								
Zimbabwe ²									
Asie									
Chine				*		*	*	*	*
Ex-Russie ²									
Inde ²									
Iran ²									
Japon	*	*		*					
Jordanie		*							
Pakistan	*								
Syrie	*								
Thaïlande ²									
Turquie	*								

Suite du Tableau 7 au verso de la page 10

BYD semblent ubiquistes. Ces virus ne montrent aucun centre d'origine, et sont présents dans toutes les zones de cultures de céréales. Ils ont été identifiés dans plus de 50 pays. Les premiers travaux signalant la présence de ces virus fût longtemps essentiellement basés sur les observations de symptômes. Dans certains cas la symptomatologie a été confirmée par des transmissions par pucerons et par des tests sérologiques. Les enquêtes, plus ou moins anciennes, menées dans plusieurs régions du monde en utilisant la sérologie et la désignation des virus en terme de sérotypes (**Tableau 7**), permettent les conclusions suivantes: Les sérotypes *PAV* et *MAV* sont les plus répandus mais leur distribution est différente. Le sérotype *CYDV-RPV* est sensiblement dominant par rapport au sérotype *RMV*. La présence du sérotype *SGV*, bien que rare, est localisée dans les régions du sud. Par contre, sa fréquence dans les cultures céréalières en Idaho est importante. Le sérotype *SGV* a été également identifié au Texas mais paraît absent dans d'autres régions des Etats-Unis. Curieusement les sérotypes *GPV*, *DAV* et *GPDV* ne sont décrits qu'en Chine dans des zones à climat tempéré.

IV-2-Incidence économique:

Chaque année les virus associés au BYD causent des pertes considérables chez les céréales cultivées: l'orge, le blé, l'avoine et occasionnellement le riz et le maïs (Lister et Ranieri, 1995). En général, les attaques sont plus sévères sur avoine et orge que sur blé. L'incidence économique de ces virus sur les céréales est fonction de plusieurs facteurs: les conditions climatiques qui favorisent ou non la reproduction et le déplacement des vecteurs, la pression de l'inoculum, le type du cultivar et le virus considéré (Irwin et Thresh, 1990). L'interaction de ces facteurs peut causer des baisses de rendements considérables. Les pertes économiques induites par ces virus varient entre 11 et 70 % (**Tableau 8**), et peuvent atteindre 86% dans certaines régions (Miller et Rasochova, 1997). Depuis l'identification de la jaunisse nanisante de l'orge comme maladie virale par Oswald et Houston (1951) en Californie et durant 40 années d'étude dans plusieurs régions du monde (Burnett, 1984; 1990; Conti et al., 1990; Comeau et Makkouk, 1992) les virus associés au BYD sont reconnus actuellement comme facteur limitant la production dans la plupart des zones céréalières, y compris la production mondiale de grains.

Europe	Sérotypes								
	<i>PAV</i>	<i>MAV</i>	<i>SGV</i>	<i>RPV</i>	<i>RMV</i>	<i>GPV</i>	<i>DAV</i>	<i>GPDV</i>	<i>X³</i>
Allemagne ²									
Belgique ²									
Espagne	*								
Finlande	*	*		*					
France	*	*		*					
Grande-Breagne	*	*		*					
Grèce ²									
Hollande ²									
Hongrie	*	*							
Irlande	*	*							
Italie	*								
Pologne ²									
Portugal	*								
Suède	*	*							
Suisse	*								
Tchécoslovaquie ²									
Yougoslavie	*	*							
Total	28	21	5	9	5	1	1	1	1

*: 1^{ère} description; £: Sérotypes dominants; 1: Divers sérotypes, 2: Sérotypes non spécifiés

X³: plus de 20% des isolats des virus associés au BYD ne réagissent pas avec les serum disponibles en Chine (Lapierre, com. pers.)

PAV: *Padi avenae virus*; *MAV*: *Macrosiphum (Sitobion avenae virus)*; *SGV*: *Schizaphis graminum virus*; *RPV*: *Rhopalosiphum padi virus*; *GPV*: *Graminum padi virus*; *DAV*: *Durhodum avenae virus*

Tableau 8: Pertes de rendements (%) causées par les virus associés au BYD chez l'orge et le blé

Pays	Blé	Orge	Références
Chili	12	19	Ramirez et al., 1992
Chine	25		Zhang et al., 1983
France	30	70	Beuve et Lapierre (résultats non publiés)
Italie	16	33	Snidaro et Delogu, 1990
Kenya	47	27	Wangai, 1990
Maroc	11	23	El-Yamani et Hill, 1991
Mexique	26	15	Burnett et Mezzalama, 1992

Ces virus affectent la hauteur des plants, le nombre de grains ainsi que leur taille, leur poids et leur qualité (Pike, 1990).

IV-3-Composantes du pathosystème du BYD:

Le pathosystème du BYD se compose, comme pour d'autres virus transmis par vecteurs, de trois facteurs biologiques: Les virus, les pucerons vecteurs et les plantes. Ce pathosystème est plus complexe que beaucoup d'autres en raison du nombre d'espèces virales en cause interagissant dans les plantes et dans les réservoirs et les cultures (Irwin et Thresh, 1990).

IV-3-1-Plante-hôte:

IV-3-1-1-Symptomatologie:

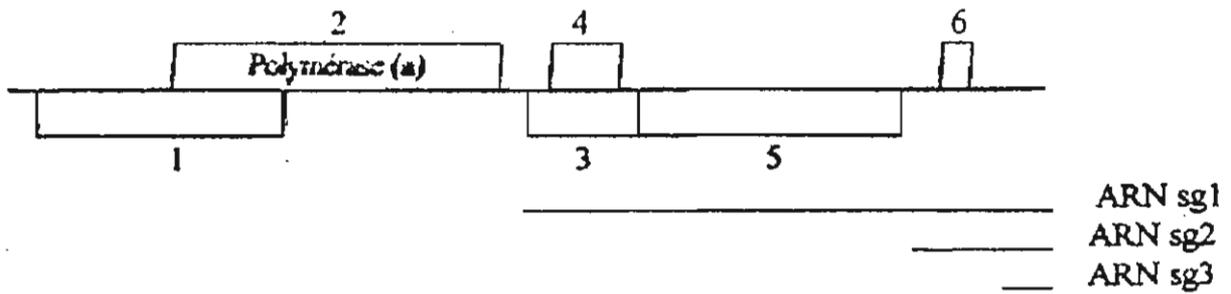
Les virus associés au BYD provoquent chez de nombreuses espèces un nanisme ou/ et jaunissement ou/ et rougissement. Le blé n'exprime, généralement, des symptômes foliaires (rougissement ou/ et jaunissement) que tardivement en saison et souvent on ne constate qu'un nanisme limité mais qui reste associé à une perte de rendement (Lister et Ranieri, 1995). Chez l'orge, les symptômes de jaunissement, de nanisme et d'enroulement des feuilles sont très spectaculaires. Quelques génotypes présentent un rougissement comme le blé. Ces symptômes, surtout le nanisme, peuvent aboutir à la mort des plantes (Chahloub, 1994a). Comme la majorité des blés, l'avoine montre un rougissement foliaire accompagné d'un nanisme en général beaucoup plus accentué que chez le blé. Ces symptômes peuvent aboutir également à la mort des plantes (Chay et al., 1996b).

IV-3-1-2-Gamme d'hôtes:

Les virus associés au BYD infectent plus de 100 espèces appartenant uniquement à la famille des *Poaceae*. Les *Poaceae* hôtes incluent aussi bien les céréales majeures: l'orge, l'avoine et le blé (Oswald et Houston 1951), le maïs, le riz et le sorgho (Allen ,1957; Watson et Mulligan, 1960a; Endo et Brown, 1964; Gill, 1970; Osler, 1984), que plusieurs autres espèces annuelles ou pluriannuelles, cultivées ou sauvages (D'Arcy, 1995). Les *Poaceae* pérennes appartenant aux genres *Bromus* (brome), *Festuca* (fétuque), *Lolium* (ray-grass) et *Dactyle* (dactyle) constituent des réservoirs naturels des

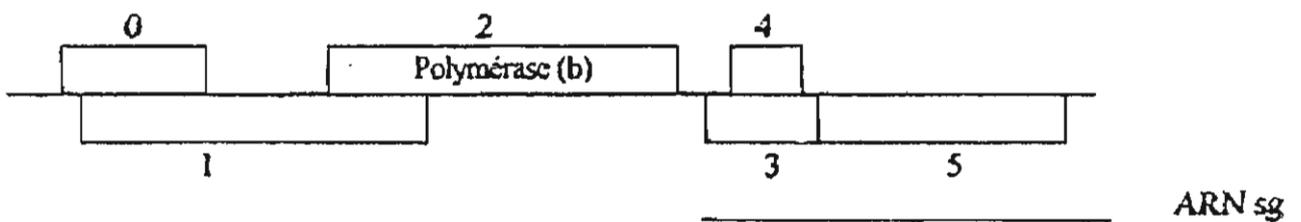
Luteovirus

BYDV-PAV



Polerovirus

CYDV-RPV



Enamovirus

PEMV

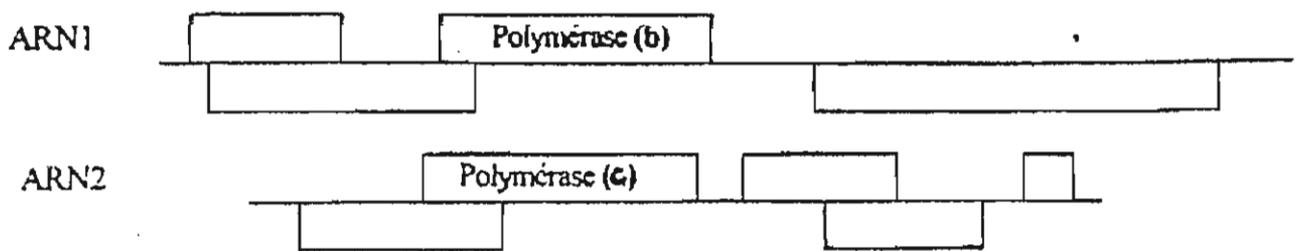


Figure 3 : Organisation génomique des trois genres de la famille des *Luteoviridae*. Chaque rectangle représente un cadre ouvert de lecture (open reading frame). (a) polymérase type *Carmovirus*. (b) polymérase type *Sobemovirus*. (c) polymérase type *Umbravirus*, d'après (Habibi and Symons, 1989).

virus associés au BYD, en dehors des périodes de végétation des céréales (Plumb, 1977; Fargette et al., 1982; Shukle et al., 1987; Guy, 1988; Eagling et al., 1989 a et b; Henry et Dedryver, 1991).

En Europe, plusieurs études tentent à montrer que les *Poaceae* pérennes constituent probablement une source importante des virus associés au BYD (Doodson, 1967; Lindsten et Gerhardson, 1969; Plumb, 1977; Garrett et M^e Lean, 1983). Alors qu'aux Etats-Unis, Clément et al., (1986), considèrent que l'apport des *Poaceae* pérennes est certainement moins important que celui des cultures locales de maïs et d'autres espèces plus distantes.

Les céréales telles que l'orge, l'avoine et le blé hébergent indifféremment, souvent les trois virus (*BYDV-PAV*, *BYDV-MAV*, *CYDV-RPV*) seuls ou en mélange. Par contre certaines espèces végétales se montrent plus sélectives. Ainsi, le maïs ne semble pas être contaminé par le *CYDV-RPV* (Beuve et Lapierre, 1993). Chez les *Poaceae* prairiales, certaines espèces du genre *Bromus* sont sensibles aux trois virus, *BYDV-PAV*, *BYDV-MAV* et *CYDV-RPV* (Beuve et Lapierre, 1992). La fétuque est préférentiellement contaminée par le *BYDV-PAV*, tandis que le *BYDV-PAV* et le *CYDV-RPV* sont décelés chez le ray-grass (Guy et al., 1987; Henry et Dedryver, 1991; Mastari, 1998a).

IV-3-2-Virus:

IV-3-2-1-Généralités sur les *Luteoviridae*:

IV-3-2-1-1-Données taxinomiques:

Les *Luteoviridae* sont actuellement divisés en 3 genres (Fig. 3) dont 2 genres (*Luteovirus*, *Polerovirus*) affectant les *Poaceae* (D'Arcy et al., 1999). L'analyse des motifs identifiés dans la séquence en acides aminés de la protéine polymérase, montre que celle du genre *Luteovirus* a de grandes similitudes avec celle du genre *Carmovirus* alors que celle du genre *Polerovirus* est proche du genre *Sobemovirus* (Koonin et Dolja, 1993; De Zanoto et al., 1996). Une telle différence entre protéines polymérases de ces virus regroupés jusque-là dans le genre *Luteovirus* a nécessité d'importantes modifications taxinomiques (Mayo et Pringle, 1997). Ce classement intègre un 3^{ème} genre appelé *Enamovirus* composé de 2 génomes l'un de type *Polerovirus* et l'autre de type *Umbravirus* plutôt proche des *Carmovirus*. Le genre *Luteovirus* proprement dit

Tableau 9. Principaux genres de virus spécifiques ou non de la famille des *Poaceae*

Genres spécifiques	Genres non spécifiques	Genres n'infectant pas les <i>Poaceae</i>
<i>Budnavirus</i>		<i>Caulimovirus</i>
<i>Mastrevirus</i>	<i>Nanavirus</i>	<i>Begomovirus, Curtovirus</i>
<i>Fijivirus, Oryzavirus</i>	<i>Phytoreovirus</i>	
	<i>Cytorhabdovirus</i>	
<i>Tenuivirus</i>		<i>Nucleorhabdovirus</i> <i>Tospovirus</i>
		<i>Alphacryptovirus, Betacryptovirus</i>
<i>Luteovirus</i>	<i>Polerovirus</i>	<i>Enamovirus</i>
<i>Machlomovirus</i> <i>Panicovirus</i>	<i>Necrovirus</i>	<i>Carmovirus, Dianthovirus, Tombusvirus</i>
	<i>Sobemovirus</i>	
<i>Avenavirus</i>		<i>Aureovirus</i>
<i>Waikavirus</i>		<i>Sequivirus</i>
	<i>Nepovirus</i>	<i>Comovirus, Fabavirus</i>
<i>Bymovirus, Rymovirus, Tritimovirus</i>	<i>Bromovirus, Cucumovirus, Potyvirus</i>	<i>Alfamovirus, Ideovirus, Ilarvirus, Oleavirus, Ipomovirus, Machumvirus</i>
	<i>Closterovirus</i>	<i>Crinivirus</i>
<i>Furovirus</i>	<i>Marafivirus, Tymovirus, Pecluvirus, Hordevirus, Tobamovirus, Tobravirus</i>	<i>Idaeovirus, Benyvirus, Pomovirus</i>
	<i>Potexvirus</i>	<i>Allexivirus, Capillovirus, Carlavirus, Foveavirus, Tricovirus, Vitivirus, Umbravirus</i>

∴ regroupe les trois genres de *Luteoviridae* et les genres qui leur sont phylogénétiquement reliés par leur type de polymérase

comprend les espèces *MAV* et *PAV*. Ce dernier virus est le virus type auquel sera rattaché le *SGV*. Le genre *Polerovirus* dont le virus type est le *PLRV* comprend de nombreux virus de dicotylédones, le *CYDV-RPV* et l'on rattachera dans l'avenir le ou les *RMV*, le *GPV* ainsi que le nouveau virus de la feuille jaune de la canne à sucre [*Sugarcane yellow leaf Polerovirus (ScYLV)*] (Moonan et al., 2000). Enfin le genre *Enamovirus* n'est représenté que par le *PEMV*.

Le virus du nanisme du soja [*Soybean dwarf Luteoviridae (SbDV)*] n'est pas assigné à un genre, du fait de sa nature particulière. Il possède une polymérase proche des *Luteovirus* mais une capsid de type *Polerovirus* (Rathgen et al., 1994). Il représente un modèle de recombinaison en cours d'étude chez les *Luteoviridae*. Ces études ainsi que celles qui sont poursuivies chez les *Bromoviridae* devraient nous apporter des éclaircissements sur les processus évolutifs propres aux virus à ARN.

La famille des *Luteoviridae* comprend donc un genre jusque-là spécifique des *Poaceae* (*Luteovirus*), un genre non spécifique des *Poaceae* (*Polerovirus*) et un genre n'infectant pas les *Poaceae* (*Enamovirus*) (Tableau 9).

IV-3-2-1-2-Biologie moléculaire associée aux virus du BYD:

Les *Luteovirus* et les *Polerovirus* sont des virus à particules isométriques de 25 à 28 µm de diamètre renfermant une seule molécule d'ARN simple brin de polarité positive d'environ 5.5 à 6.0 Kb.

L'ARN viral ne possède ni queue poly-adenosine [poly (A)] ni structure particulière à son extrémité 3'. Il a été montré la présence d'une protéine [Virion protein genome-linked (Vpg)] liée de façon covalente à l'extrémité 5' du génome des *Polerovirus* et de poids moléculaire de 7 kDa chez le *PLRV* (Mayo et al., 1982) et le *CYDV-RPV* (Murphy et al., 1989).

Les *Luteoviridae* ne possèdent pas d'enveloppe et leur capsid est constituée de deux protéines: une protéine majeure de 24 kDa, comprenant 180 unités associées à une protéine mineure d'environ 74 kDa (Waterhouse et al., 1988; 1989; Cheng et al., 1994).

IV-3-2-1-3-Organisation des génomes des virus du BYD:

Plusieurs virus des *Luteovirus* et des *Polerovirus* ont été séquencés (Mayo et Ziegler-Graff, 1996). Leur génome est organisé en deux ensembles de cadres ouverts de lecture, ou open reading frame (ORF) séparés par une région non codante (Fig. 3). Chez les

Luteovirus le bloc en 5' est constitué de deux ORF (1-2), alors qu'il est de trois ORF chez les *Polerovirus* (0-1-2). Le bloc en 3' contient 3 ORF pour les *Luteovirus* et les *Polerovirus* (3-4-5). Les *Luteovirus* contiennent un ORF (ORF6) putatif supplémentaire en aval de l'ORF5.

Plusieurs méthodes ont été utilisées pour identifier les fonctions des différentes protéines codées: homologues de séquence avec des protéines déjà identifiées, mutagenèse dirigée sur des transcrits infectieux, ainsi que des fusions avec un gène rapporteur.

IV-3-2-1-3-1-ORF 0:

Contrairement aux *Luteovirus*, les *Polerovirus* possèdent un ORF 0. La fonction précise de la protéine putative codée par cet ORF est encore indéterminée. La protéine n'est pas nécessaire à la réplication (Veidt et al., 1992), ainsi qu'à l'assemblage du virus de la jaunisse occidentale de la betterave [*Beet western yellow Luteovirus (BWYV)*] (Reutenauer et al., 1993). Elle n'est pas non plus impliquée dans l'infection, et ne semble pas jouer un rôle dans l'expression des symptômes ou la transmission par puceron de ce virus (Mayo et Ziegler Graff, 1996). Mayo et al., (1982) ainsi que Veidt et al., (1992) ont suggéré son implication dans le déterminisme de la gamme d'hôte. Chez le *PLRV*, elle présente des caractéristiques des protéines associées aux membranes (Mayo et al., 1989). L'étude de plants de pomme de terre transgéniques, exprimant cette protéine, montre qu'elle joue un rôle important dans l'expression des symptômes induits par le *PLRV* (Van Der Wilk et al., 1993).

IV-3-2-1-3-2-ORF 1 et 2:

Les ORF 1-2 formant le bloc 5' sont chevauchants (**Fig. 3**). L'ORF2 est exprimé par décalage de cadre de lecture de l'ORF1, ce qui aboutit à la production d'une protéine de fusion. De nombreux travaux ont montré que les protéines correspondantes à ces ORF sont nécessaires à la réplication du *BWYV* (Reutenauer et al., 1993; Miller et al., 1995) et ce bloc constitue donc la cassette polymérase à motifs très conservés assez similaires à ceux identifiés dans les protéines hélicases mais aucune donnée biologique ne permet de leur attribuer un rôle dans la séparation des brins d'ARN lors de la réplication (Gorbalenya et al., 1988, Gorbalenya et Koonin, 1989). Des motifs spécifiques à l'ARNd et l'ARNp (RdRp) identifiés chez d'autres *Luteovirus* (Argos et al., 1984), ont

été détecté à proximité de la région C-terminale de l'ORF2 de différents *Luteoviridae* (Mayo et Ziegler-Graff, 1996).

IV-3-2-1-3-3-ORF 3:

De nombreux travaux ont montré que l'ORF3 code pour la protéine capsidale (Mayo et Ziegler-Graff, 1996). Certains domaines exposés à la surface de la particule virale, sont impliqués dans la transmission du *PLRV* (Van Den Heuvel et al., 1993). D'après Reutenauer et al., (1993), la protéine capsidale semble être impliquée dans le passage du virus de cellule à cellule, et n'est pas nécessaire à l'infectivité. Par ailleurs, l'absence de la protéine capsidale de ce virus, réduit considérablement la synthèse de l'ARN du *BWYV* (Reutenauer et al., 1993) et *BYDV-PAV* (Mohan et al., 1995).

IV-3-2-1-3-4-ORF 4:

La protéine codée par l'ORF 4 a les propriétés biochimiques d'une protéine de mouvement de cellule à cellule (Take et al., 1991; 1993). Les protéines 17 kDa de différents *Luteovirus* et *Polerovirus* sont relativement similaires, à l'exception de celle du virus de l'enroulement de l'haricot [*Bean leafroll Luteovirus (BLRV)*] (Mayo et Ziegler-Graff, 1996). L'absence de cette protéine n'a pas d'incidence sur la transmissibilité par puceron du *BWYV* (Ziegler-Graff et al., 1996). Chez l'isolat *BYDV-PAV* n'exprimant pas l'ORF 4, la transmissibilité et la systémie de l'infection ne sont pas réalisées (Chay et al., 1996a). Récemment, Nass et al., (1998) ont montré que la protéine 17 kDa est détectée en association avec l'ARN viral dans le noyau et dans le cytoplasme, suggérant un rôle dans le transport via les membranes nucléaires ou cellulaires.

IV-3-2-1-3-5-ORF 5:

Dans la région C-terminale de la protéine de translecture, une partie importante est coupée pour donner une forme tronquée de la protéine de fusion [Coat protein-Readthrough protein (CP-RTP)] qu'on retrouve dans une préparation du virus purifié. Le produit de cet ORF présente une taille importante (354 à 459 nucléotides). Une partie de l'extrémité 3' de cette protéine est tronquée «*in vivo*» (Mayo et Ziegler-Graff, 1996). Plusieurs auteurs ont montré que cette protéine serait impliquée dans la transmission, ainsi que dans la systémie de l'infection de certains *Luteoviridae* (Brault

et Miller, 1992; Chay et al., 1996a). La suppression de l'expression de l'ORF5 n'a aucun effet sur la réplication du *BWYV* dans les protoplastes de *Chenopodium quinoa* (Reutenauer et al., 1993). Chez le *BYDV-PAV*, cet ORF n'est pas nécessaire à la réplication (Miller et al., 1995), mais reste essentiel pour l'infectivité du virus (Young et al., 1991). Chez le *BWYV* et le *BYDV-PAV*, la protéine de translecture n'est pas nécessaire à l'assemblage du virus (Reutenauer et al., 1993; Mohan et al., 1995; Bruyère et al., 1997).

La région située juste après le codon stop de l'ORF3 est très riche en proline. Cette séquence sert de lien entre la capsidite et les domaines de translecture (Bahner et al., 1990; Guilley et al., 1994). La partie N-terminale de protéine de la translecture en aval de cette tige proline est la région qui interagit avec la symbionine (Filichkin et al., 1997).

IV-3-2-1-3-6-ORF 6:

Seuls les *Luteovirus* possèdent cet ORF, qui code pour une protéine putative, de poids moléculaire allant de 4.3 kDa à 6.7 kDa (Miller et al., 1988; Ueng et al., 1992). Une grande quantité d'ARNsg correspondant à l'ORF6 a été détectée (Miller et al., 1988; Ueng et al., 1992; Kelly et al., 1994) et certaines mutations dans cette zone supprime l'infectivité du *BYDV-PAV* (Young et al., 1991). Ces résultats suggèrent donc un rôle de l'ORF6 dans la réplication virale. Néanmoins, le changement du codon UAG de l'ORF6 du *BYDV-PAV* en AUC bien qu'empêchant l'accumulation de l'ARNsg 2, n'est pas létal pour le virus (Mohan et al., 1995).

IV-3-2-1-3-7-Séquences non codantes:

Chez les *Luteovirus* la région 5' non codante (5'NC) varie peu en taille (105 à 141 nucléotides) (Ueng et al., 1992), et sa séquence est conservée (environ 93% d'identité). C'est particulièrement le cas de la séquence GTGAA que l'on retrouve à l'extrémité de l'ORF 2 constituant le point de départ de la transcription du premier ARNsg. Cette séquence observée chez le *BYDV-PAV* et le *BYDV-MAV* est retrouvée chez le *SbDV*, mais curieusement aussi chez le *PEMV* (ARN2) proche par ailleurs des *Potterovirus*. La taille de la séquence 5'NC, est plus variable chez les *Potterovirus* (21 à 174 nucléotides) (Mayo et Ziegler-Graff, 1996). La séquence présente à l'extrémité 5' et au début de l'ARNsg (ACAAA) est très conservée chez ce genre aussi bien pour les virus de

dicotylédones (Guilley et al., 1994) que de *Poaceae* (Moonan et al., 2000).

La région située entre la cassette polymérase et la cassette capsid-vection est de 112 à 113 nucléotides chez le *BYDV-PAV* et le *BYDV-MAV* et environ 200 nucléotides chez les *Polerovirus* (Mayo et Ziegler-Graff, 1996). Cette région est relativement très conservée dans la famille des *Luteoviridae* (71 à 91% d'identité), et contient des domaines impliqués probablement dans la régulation de la transcription l'ARNsg 1 (Mayo et Ziegler-Graff, 1996).

La séquence en aval de l'ORF 5 est non codante chez les *Polerovirus*, alors que chez les *Luteovirus* elle porte 2 ARN subgénomiques. A l'ARNsg 2 est associé l'ORF 6 et un ARNsg de petite taille lui correspondant a été détecté et dont la traduction «*in vivo*» n'a pu être montrée (Miller et al., 1988; Kelly et al., 1994). La taille et les niveaux d'homologie de cette région sont variables d'un *Luteoviridae* à un autre (Miller et al., 1988; Chahloub et al., 1994; Guilley et al., 1994).

IV-3-2-2-Eléments de biologie associée aux virus du BYD:

IV-3-2-2-1-Modifications cytologiques chez les plantes hôtes:

Les modifications cytologiques induites par les *Luteoviridae* sont variables suivant les genres. Ainsi, les cellules infectées par le *BYDV-PAV*, le *BYDV-MAV* et le *SGV*, ont un noyau déformé, accumulent un matériel très dense, et des particules virales ainsi que des vésicules entourées d'une simple membrane sont observées dans leur cytoplasme (Gill et Chong, 1979). Par contre, les cellules infectées par le *CYDV-RPV*, les vésicules associées à l'infection sont entourées d'une double membrane et ne sont présentes que dans le noyau non déformé (Gill et Chong, 1979). Ces différences sont certainement liées aux mécanismes distincts de répllication et de traduction de ces deux genres de *Luteoviridae*.

IV-3-2-2-2-Variabilité sérologique des *Luteoviridae*:

L'utilisation d'AcsMCx dirigés contre les protéines de structure des *Luteoviridae* a permis le développement de nombreuses études épidémiologiques (Halbert et al., 1992; Leclercq-Le Quillec, 1992; Henry et al., 1993). Très rapidement à l'aide de ces anticorps des liens entre *Luteovirus* et *Polerovirus* ont été établis (Roberts et al., 1980).

Tableau 10. Espèces de pucerons capables de transmettre trois virus associés au BYD

Puceron	Virus			Références
	BYDV-PAV	BYDV-MAI	CYDV-RPV	
<i>Anoecia corni</i> (F.)	*	*	*	El-Yamani et Hill, 1991
<i>Diuraphis noxia</i> (Mordvilko)	*	*	0	El-Yamani et Hill, 1991
<i>Forda marginata</i> (Koch)	*	*	*	El-Yamani et Hill, 1991
<i>Melanaphis pyrauris</i> (Pass.)	*	*	*	El-Yamani et Hill, 1991
<i>Metopolophium dirhodum</i> (Walker)	*	*	nt	Von Wechmar, 1990
<i>M. festucae</i> (Theobald)	*?	*?	nt	Plumb, 1974
<i>Macrosiphum euphorbiae</i> (Thomas)	*	nt	nt	Halbert et al., 1992
<i>Rhopalosiphum insertum</i> (Walker)	*	0	*	Jedlinski et Voegtlin, 1986
<i>R. maidis</i> (Fitch)	0	nt	nt	Beuve et Lapierre, 1993
<i>R. padi</i> (L.)	*	~	*	Rochow, 1969
<i>R. rufiabdominalis</i> (Sasaki)	*	0	*	Jedlinski, 1981
<i>Schizaphis graminum</i> (Rondani)	*	nt	*	Smith, 1963
<i>Siphia mydis</i> (Pass.)	*	nt	*	El-Yamani et Hill, 1991
<i>Sitobion avenae</i> (F.)	*	*	~	Rochow, 1969
<i>S. miscanthi</i> (Takahashi)	nt	*	*	Lister et Sward, 1988
<i>S. fragariae</i> (Walker)	*	*	0	Belkahlia et Lapierre, 1999

*: vecteur efficace

0 : vecteur non efficace

~: vecteur peu efficace

? : capacité vectrice à vérifier

nt: non testé

Le nombre d'AcSMCx disponibles aujourd'hui pour détecter les *Luteoviridae* est considérable.

L'AcMC WAUA6 reconnaît spécifiquement le *PLRV*, et également le *BYDV-PAV* et le *BYDV-MAV* (Van Den Heuvel et al., 1990). L'AcMC *PAV-IL1* obtenu à partir d'un isolat *BYDV-PAV* américain, détecte le virus du jaunissement bénin de la betterave [*Beet mild yellowing Luteovirus (BMV)*] connu seulement en Europe jusque-là (D'Arcy et al., 1989). Ce monoclonal a été le premier à être utilisé en routine pour caractériser le *BMV* (Stevens et al., 1994). Seule la forme *BMV-C* est reconnue par l'AcMC *PAV-IL1* (Stevens et al., 1994).

Le comportement de certains anticorps est aussi à l'origine des hypothèses émises sur les sites potentiels d'interactions virus-puceron. L'AcMC *PAV-IL 50 kDa* reconnaît le *BYDV-PAV* et le *BYDV-MAV* et ne reconnaît pas le *CYDV-RPV*. Cheng et al., (1994) ont émis l'hypothèse d'un lien entre un site aphidien et l'épitope reconnu par ce monoclonal (*BYDV-PAV* et le *BYDV-MAV* ont un vecteur (*S. avenae*) commun).

IV-3-2-3-Les espèces aphidiennes vectrices:

Un grand nombre d'espèces aphidiennes est capable de transmettre les virus associés au BYD mais avec des efficacités le plus souvent très faibles. Les espèces les plus efficaces (Tableau 10) ont permis de distinguer spécifiquement ces virus et les «initiales» de ces pucerons ont été intégrés dans les noms mêmes de ceux-ci (Gill, 1969; Rochow, 1969).

IV-3-2-3-1-Aspects biologiques de la transmission des virus du BYD par pucerons:

La transmission des virus associés au BYD par pucerons comprend trois principales étapes:

a- L'acquisition:

Lors du repas du puceron dans le phloème de la plante infectée, les particules virales sont introduites dans le canal alimentaire et gagnent l'intestin. Puis elles doivent traverser la paroi intestinale et gagner la cavité générale du puceron. A cette étape, une proportion importante des particules virales est éliminée avec le miellat.

b- La latence:

Cette étape qui suit le repas d'acquisition intègre un certain nombre de phénomènes qui débutent par la reconnaissance de la paroi intestinale jusqu'à la sortie des glandes salivaires accessoires (GSA).

c- L'inoculation:

Le temps d'inoculation est de l'ordre de 10 à 30 minutes par leur sérotype et leur vectotype et les conditions de transmission. Des auteurs ont démontré que la vection des virus associés au BYD, par des espèces *R. padi* et *S. avenae*, peut être réalisée après des périodes d'acquisition et d'inoculation de quelques minutes, mais de très faible fréquence (Rochow, 1969).

IV-3-2-3-2-Spécificité de la transmission:

La spécificité vectorielle est à l'origine de la classification des virus associés au BYD présents dans l'état de New York en vectotypes (Rochow, 1969; Johnston et Rochow, 1972). Les vectotypes *MAV*, *RPV*, *RMV* et *SGV* sont respectivement transmis efficacement par les pucerons *S. (Macrosiphum) avenae*, *R. padi*, *R. maidis*, *S. graminum*. Le vectotype *PAV* présente la particularité d'être efficacement transmis à la fois par *R. padi* et *S. avenae* et moins efficacement par d'autres espèces de pucerons. Le vectotype *GPV* est décrit uniquement en Chine et possède deux vecteurs principaux: *S. graminum* et *R. padi* (Zhou et Zhang, 1990).

Cette classification universellement adoptée, basée uniquement sur un ou deux vecteurs dominants a montré ses limites (Halbert et al., 1992). En Australie, une souche *MAV* est transmise efficacement par *R. padi* (Lister et Sward, 1988). Egalement trois souches *RMV* du Montana sont transmises avec efficacité par *R. maidis* et *S. graminum* (Brunfield et al., 1992). Creamer et Falk (1989) ont trouvé que la souche *CA-RPV* peut être transmise par *S. avenae*, mais avec une faible fréquence. Deux souches *SGV* (*TX-SGV* et *NY-SGV*) se distinguent entre elles par leurs sérotypes et leurs vectotypes. La souche *TX-SGV* est efficacement transmise par *S. graminum*, *R. padi*, *S. avenae* et *R. maidis* (Lei et al., 1995). Aucun variant des virus associés au BYD vis-à-vis de *S. fragariae* n'a été observé (Belkahla et Lapierre, 1999, soumis).

Tableau II. Encapsidation hétérologue et assistance à la transmission dans l'infection double entre les virus associés au BYD

Encapsidation hétérologue*		Rôle assistant pour la transmission				
Capside	Génome	Encapsidation hétérologue	Virus assistant	Virus dépendant	Espèce vectrice**	Références
CYDI-RPV	BYDI-MAV RMV	transencapsidation mélange phénotypique	CYDI-RPI	BYDI-MAV RMV	R. padi	Rochow, 1965; 1970 Rochow, 1982
	BYDI-PAV	transencapsidation		SGV	R. padi	Rochow, 1982
BYDI-PAV	BYDI-MAV RMV	mélange phénotypique non	BYDI-PAV	BYDI-MAV CYDI-RPV	R. padi	Rochow, 1982
	BYDI-PAV	—		RMV	S. fragariae R. padi	Guy et al., 1987 Rochow, 1982
RMV	BYDI-MAV CYDI-RPV	transencapsidation mélange phénotypique	RMV	BYDI-MAV CYDI-RPV	R. maidis R. maidis	Rochow, 1975 Rochow, 1982
BYDI-MAV	BYDI-PAV CYDI-RPV	mélange phénotypique non				

* D'après Creamer et Falk, 1990; Wen et Lister, 1991. L'encapsidation hétérologue est mise en évidence par des tests d'immunohybridation et DAS-ELISA.

Non: pas d'encapsidation hétérologue observée. -: combinaison non testée.

** : Espèce vectrice du virus assistant qui, en infection double, transmet le virus dépendant.

IV-3-2-3-3-Transmission dépendante et encapsidation hétérologue:

Une espèce de puceron ne transmettant pas un virus du BYD en particulier peut dans certains cas le transmettre, si celui-ci se trouve en infection mixte avec un autre qui est normalement transmis par cette espèce (Rochow, 1970). Ces transmissions sont rendues possibles grâce au phénomène de transencapsidation hétérologue (Hu et al., 1988).

Dans le cas d'une infection double, le génome du *Luteoviridae* dépendant, peut souvent être encapsidé partiellement (mélange phénotypique) ou totalement (transencapsidation) par la protéine capsidique du virus assistant (Wen et Lister, 1991a) (**Tableau 11**).

IV-3-2-3-4-Mécanisme moléculaire des interactions virus-vecteur:

Les interactions entre les virus associés au BYD et les aphides se localisent principalement en trois sites:

1) Le premier site de reconnaissance est localisé au niveau de l'intestin postérieur du puceron (Gildow, 1987; Gildow et Gray, 1993). Gildow (1985) a montré que le site de passage du *BYDV-PAV* est situé dans l'intestin postérieur de *R. padi* (**Fig. 4**). Le site de passage du *PLRV* depuis la lumière du canal alimentaire jusque dans l'hémocoel serait localisé au niveau de l'intestin moyen tubulaire (Garret, 1992). Après pénétration dans les cellules de cet organe, les particules virales se répartissent dans les vésicules tubulaires, des structures de type lysosome et des corps multi-vésiculaires avant d'être libérées en masse dans la cavité générale du puceron. Après étude au microscope électronique, Gildow (1985) a proposé l'existence d'un récepteur associé à un phénomène d'endocytose. Cette hypothèse a été confirmée par l'observation des particules virales adsorbées sur le plasmalemme de la paroi intestinale des pucerons (Gildow, 1993) (**Fig. 5**).

2) Le deuxième site est situé dans l'hémocoel. Le maintien des particules virales dans la cavité générale du puceron a été récemment considéré comme une autre étape (Van Den Heuvel et al., 1994). Il a été démontré que la symbionine synthétisée par des bactéries endosymbiotiques chez les pucerons détermine probablement la nature de la transmission persistante du *PLRV*. Van Den Heuvel et al., (1994) ont trouvé que les particules virales du *PLRV* ont une affinité forte avec la symbionine. L'utilisation d'aliment artificiel mélangé avec des antibiotiques (les endosymbionites), a diminué

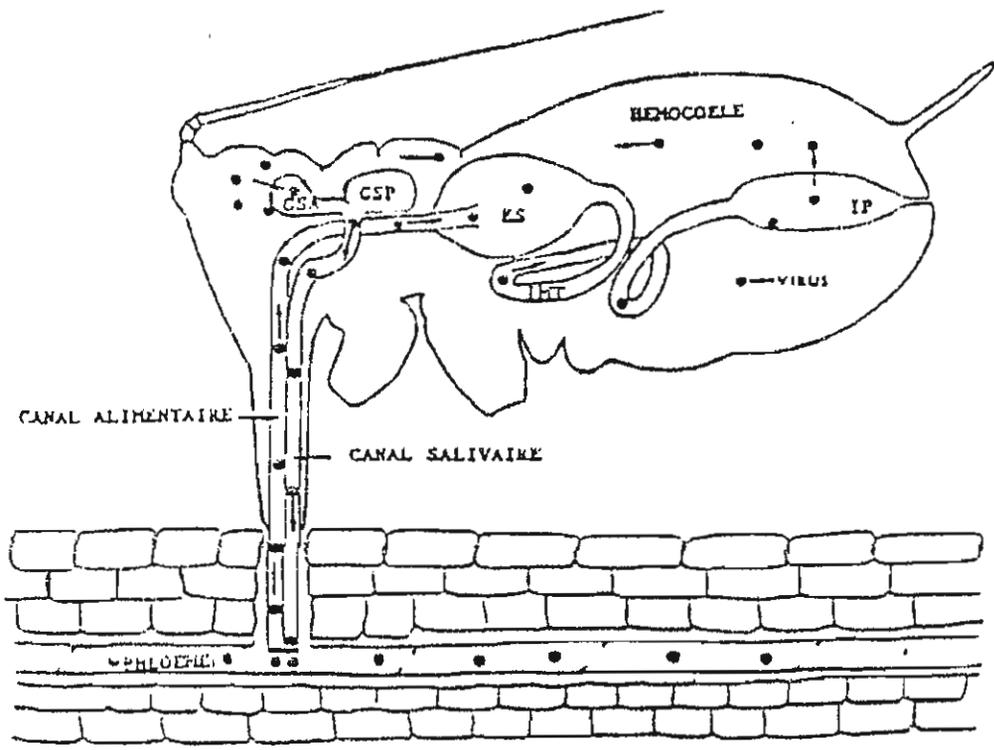


Figure 4 : Diagramme schématique de l'acquisition et de la circulation des virus associés au BYD dans leur vecteur, d'après (Gildow, 1987). ES. Estomac ; GSA : glandes salivaires accessoires ; GSP : glandes salivaires principales ; IMT : intestin moyen tubulaire ; IP : intestin postérieur.

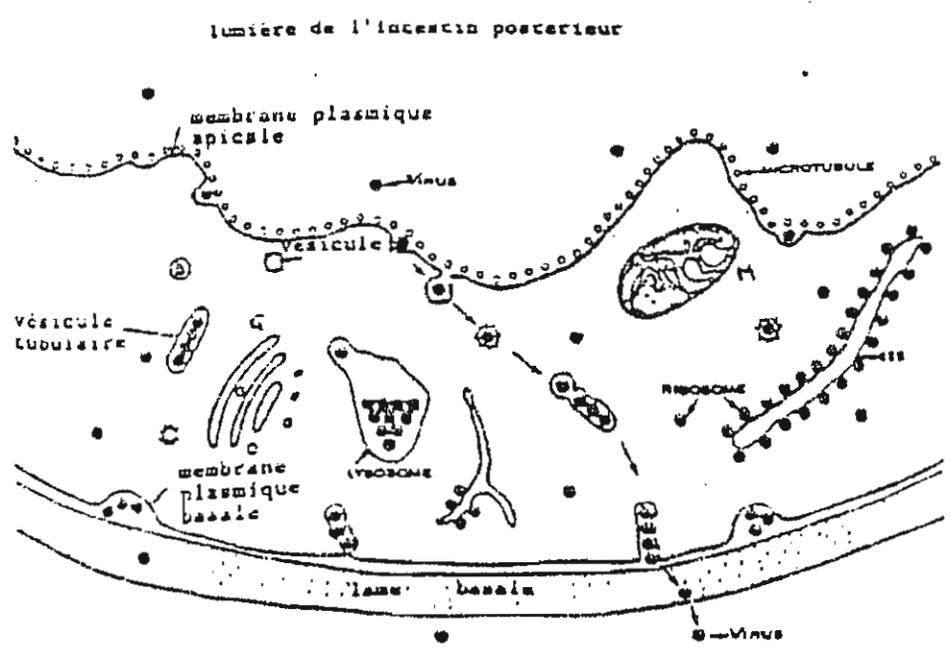


Figure 5 : Schéma hypothétique du transport des particules virales du BYD à travers la paroi de l'intestin postérieur du puccron, d'après (Gildow, 1987). G : appareil de Golgy ; M : mitochondrie ; RER : réticulum endoplasmique rugueux.

considérablement la capacité vectrice des pucerons. Ainsi, ils concluent que la symbionine est une protéine indispensable, empêchant la dégradation protéolytique des particules virales dans l'hémocoel du puceron.

3) Le troisième site de reconnaissance est localisé dans la membrane basale des GSA. La reconnaissance des particules virales par les récepteurs situés sur la membrane basale des GSA est la dernière étape et également la plus spécifique (Gildow et Rochow, 1980; 1983; Gildow et Gray, 1993). Cette étape fait intervenir les protéines structurales plus ou moins modifiées du virus et la membrane basale des GSA du puceron (Gildow, 1987) (**Fig. 6**). Le *PEMV* a été observé dans le compartiment extracellulaire situé entre la membrane plasmique et la lame basale des GSA (Harris, 1979, Harris et al., 1975). Depuis la fin des années 70, on sait que la protéine structurale mineure du *PEMV* appelée maintenant protéine de translecture de la capsid est indispensable à la transmission (Adams et al., 1979)

IV-4-Epidémie et prévision des risques du BYD:

IV-4-1-Epidémie du BYD:

Les études sur les épidémies à jaunisse ainsi que sur le rôle des plantes réservoirs ont été entreprises dans plusieurs pays: en France (Henry, 1988; Leclercq-Le Quillec, 1992), en Espagne (Pons et al., 1989), en Angleterre (Carter et Plumb, 1991), au Canada (Comeau et Dubuc, 1977; Paliwal, 1982; Paliwal et Comeau, 1984), aux Etats-Unis (Clément et al., 1986), en Australie et Nouvelle Zélande (Johnstone et al., 1990), et en Chine (Zhuo et Zhang, 1990).

Plusieurs auteurs ont entrepris l'étude de la modélisation de l'épidémiologie des virus associés au BYD (Morgan et Carter, 1988; Morgan, 1990; Kendall et Chinn, 1990; Kendall et al., 1992).

L'infection au champ par les virus associés au BYD se déroule en deux étapes.

***Première étape: les contaminations primaires**

Cette étape correspond à l'arrivée des pucerons ailés virulifères, provenant de plantes sources ou réservoirs, sur les champs de céréales à l'automne. En France les pucerons *R. padi*, ailés virulifères proviennent du maïs, des repousses de céréales ou/ et *Poaceue*

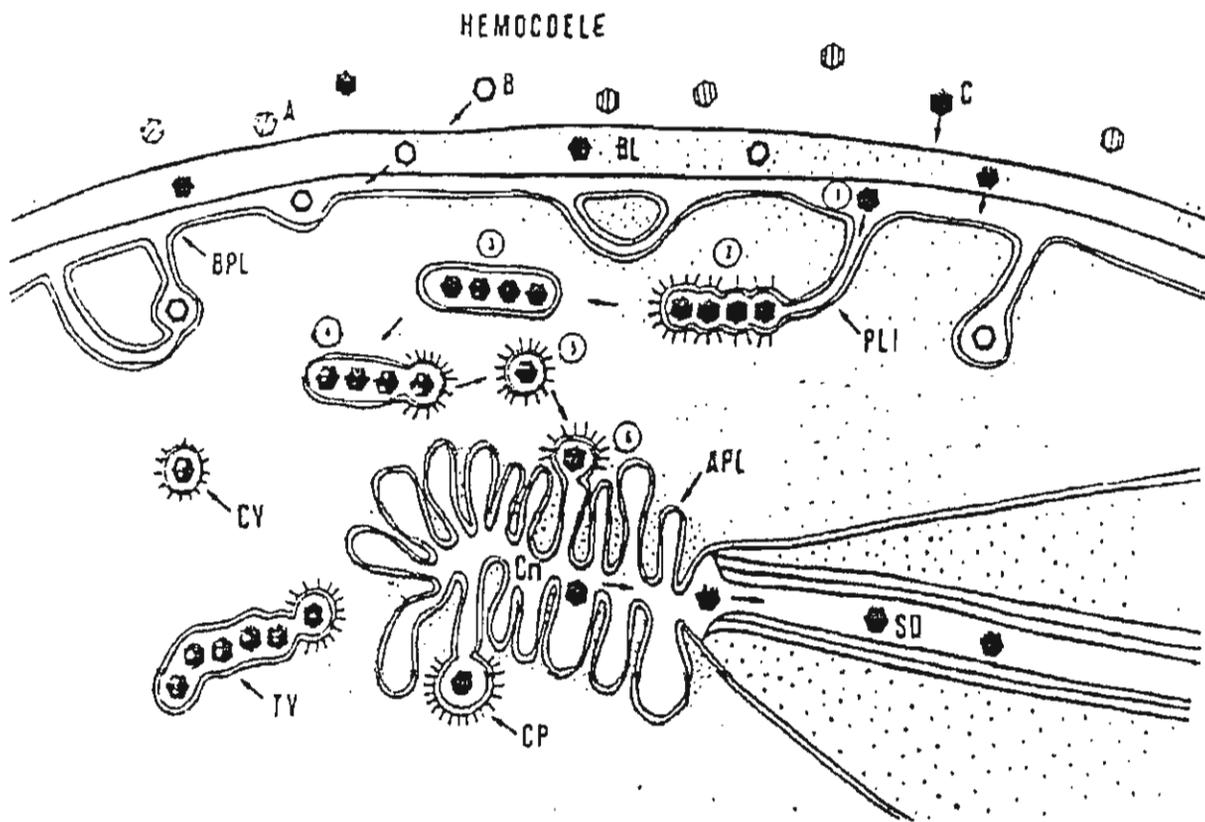


Figure 6 : Interactions des particules virales du BYDV avec la lame basale des glandes salivaires accessoires des pucerons vecteurs et non vecteurs. **A :** virions non reconnus et non transmissibles (*RMVIS. Avenae*) ; **B :** virions reconnus mais non transmissibles (*CYDV-RPVIS. Avenae*) ; **C :** virions reconnus et transmissibles (*BYDV-MAVIS. Avenae*), d'après (Gildow et Gray, 1993 ; Gildow et Rochow, 1980). BL : lame basale ; BPL : plasmalemme basal ; PLI : invagination du plasmalemme ; Cn : canal salivaire ; APL : plasmalemme apical ; SD : conduit salivaire ; TV : vésicule tubulaire ; CV : virion enveloppé ; CP : virion engagé en APL.

pérennes (Henry, 1988; Mastari 1998), et sont donc susceptibles de transmettre le *BYDV-PAV* et le *CYDV-RPV*. Au printemps, les pucerons virulifères sont issus des repousses des jachères, des céréales d'hiver et des *Poaceae* prairiales. A cette époque, les cultures sont colonisées par les deux principales espèces de pucerons potentiellement vectrices des *BYDV-PAV*, *BYDV-MAV* et le *CYDV-RPV* (Leclercq-Le Quillec, 1992).

Le niveau de ces contaminations primaires a pu être évalué par quantification des vols de pucerons ailés capturés au moyen de pièges à suction, par une estimation de leur pouvoir virulifère sur des pots pièges (A'Brook et Dewar, 1980) et par le calcul d'un indice d'infectivité (Plumb et al., 1982; 1983).

***Deuxième étape:** Les contaminations secondaires

Cette étape correspond à la dissémination du virus à l'intérieur du champ par les pucerons virulifères aptères et ailés s'étant alimentés sur des plantes déjà infectées. Le processus de l'extension des virus associés au BYD pendant cette phase est peu étudié. Morgan et Carter, (1988) ont exposé les principes d'une étude quantitative de l'épidémiologie de ces virus à cette période. Par la suite, un modèle de simulation a été développé pour décrire le processus temporel de l'épidémiologie, à partir des populations immigrantes et de la multiplication des populations aphidiennes en fonction de la température (Morgan, 1990). Des auteurs ont constaté que les contaminations secondaires s'étendent parfois très rapidement selon l'environnement cultural, les températures et la pluviométrie, l'intensité et la durée des vols de pucerons (Plumb, 1983; Mills et al., 1985). Dans certains pays cette phase a lieu en hiver. Aux Etats-Unis, dans l'état de Washington (Halbert et Pike, 1985) et en Italie (Conti et al., 1990), la douceur hivernale peut favoriser les déplacements des pucerons. Au Canada, les basses températures empêchent toute dissémination hivernale des virus associés au BYD, les contaminations secondaires se développent donc au printemps (Comeau et Dubuc, 1977).

IV-4-2-Prévision des risques du BYD:

La prévision des risques du BYD consiste à prévoir les infections primaires et à diriger l'application de traitements aphicides destinés à bloquer les disséminations secondaires. Morgan, (1990) et Kendall et al., (1992) ont essayé de construire des modèles ayant pour but de prévoir les infections primaires et bloquer leurs disséminations, mais ces

moyens ont encore beaucoup à progresser pour être mis en pratique. En Europe le réseau Agraphid apporte une contribution considérable pour enregistrer les vols de pucerons. La prévision des risques d'infections virales nécessite une pondération des résultats des captures par le pouvoir virulifère des pucerons. Ce dernier peut être évalué au moyen de transmission (Plumb, 1986; Plumb et al., 1986). Pour tenter de lier l'ensemble des captures et ainsi estimer l'impact probable de l'infection primaire sur les semis automnaux, Plumb et al., (1982; 1995) proposent le calcul hebdomadaire d'un indice d'infectivité. Torrance, (1987); Barker and Torrance, (1990) proposent la détection directe par le test ELISA des pucerons virulifères. Beuve et al., (1999) ont montré, par cette technique pendant 3 années consécutives, que la charge virale des pucerons migrants était rarement importante. En plus des considérations biologiques qui en découlent, le problème de la fiabilité de la technique ELISA sur pucerons prélevés dans la nature se trouve posé.

Bien que ces techniques améliorées soient plus rapides et sensibles pour estimer les pucerons virulifères, elles ne sont pas substituées à l'application des tests de transmissions.

IV-5-Lutte contre la maladie du BYD:

Les méthodes de lutte intégrée utilisées contre les épidémies du BYD s'articulent principalement sur la prévention de la maladie.

Certaines pratiques culturales contribuent à la lutte contre les virus associés au BYD. Elles comportent deux volets.

1) Le plus tard possible pour limiter les contaminations. Dans certains contextes, au printemps, les semis précoces permettent un décalage entre la date d'arrivée des pucerons et la période de plus grande sensibilité des plantes (Plumb et al., 1982; McGrath et Bale, 1990). Cette stratégie est cependant inadaptée aux exigences de la production agricole.

2) La destruction des repousses, afin de limiter les réservoirs des virus associés au BYD (Bayon et al., 1980).

Les traitements chimiques, qui sont difficilement accessibles aux pays en développement, sont très souvent préconisés dans les pays industrialisés. Trois

principales méthodes de lutte chimique sont actuellement utilisées.

a- Traitements foliaires sous formes de pulvérisations d'insecticides (type pyréthriinoïde) soit systématiquement en traitement d'assurance soit en suivant un certain nombre de règles et d'informations fournis par les services agricoles. Ces traitements ont pour but de réduire les populations d'ailés fraîchement arrivées et de limiter la multiplication et la durée de séjour des pucerons (M^c Grath et Bale, 1990; Plumb et Carter, 1991; Gourmet et al., 1994). Pour des raisons d'économie, l'insecticide est souvent mélangé à un herbicide. Ce dernier conditionne malheureusement la date d'application, qui n'est pas nécessairement la meilleure vis-à-vis des pucerons.

b- L'incorporation au sol d'insecticide (type aldicarde) dans la ligne de semis dans le cadre d'un traitement d'assurance.

c- L'enrobage des semences par un insecticide d'assurance (Gourmet et al., 1994). Les pratiques de type préventif à l'aide d'un produit d'enrobage des semences sont actuellement largement développées en raison des limites des méthodes d'avertissements agricoles mais aussi leur faible impact sur l'environnement en raison de leur forte localisation et de leur biodégradabilité suffisante.

**DEUXIEME CHAPITRE
MATERIELS ET METHODES**

Tableau 12. Répartition des stations expérimentales de l' ITGC (Anonyme, 1987)

Zone	Wilaya	Wilayates constituants la zone
1	Guelma	Skikda, Annaba, Taref, Guelma, Souk-Ahras
2	Constantine	El-Khroub, Khenchla, Tebessa
3	Sétif	Béjaïa, Jijel, Bordj-Bouarreridj, Sétif, Mila, Msila
4	Médéa	Médéa, Bouira
5	Alger	Alger, Tipaza, Boumerdès, Blida, Tizi-Ouzou
6	Ain-Defla	Ain-Defla, Chelf
7	Tiaret	Tiaret, Mostaganem, Relizane, Tissemslit
8	Saïda	Saïda, Mascara
9	Sidi-Bélabès	Sidi-Bélabès, Oran, Ain-Timouchent, Tlemcen

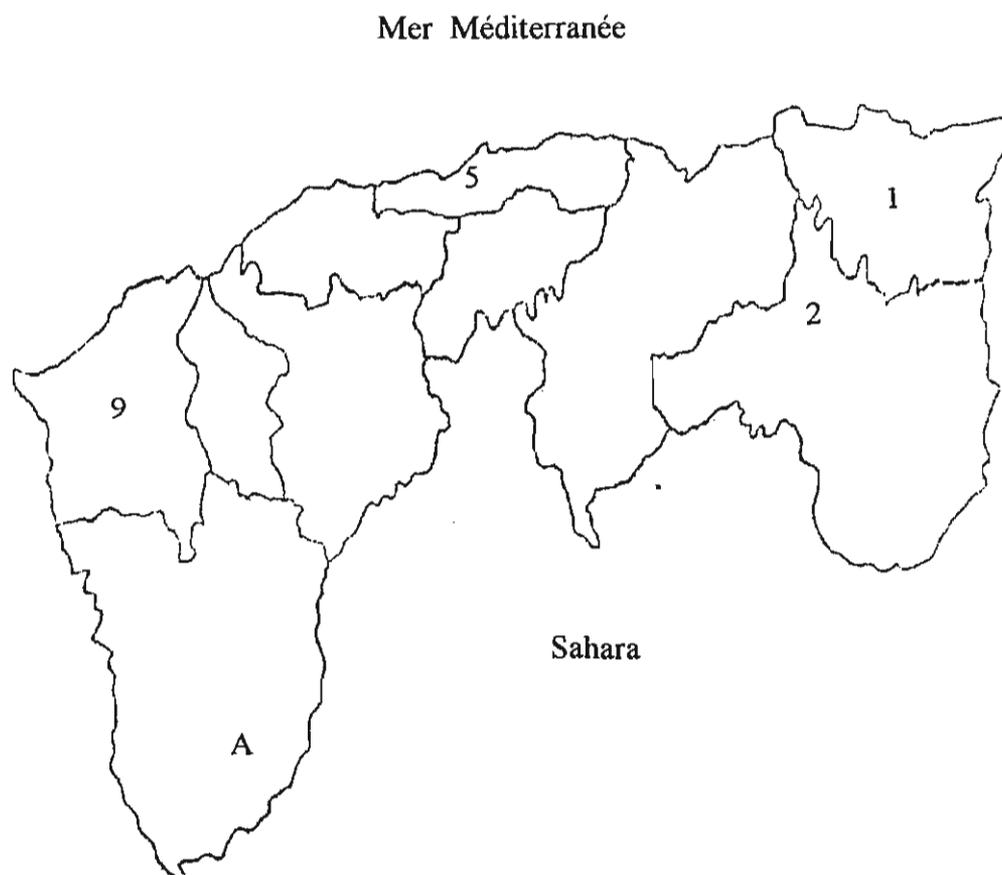


Figure 7 : Stations expérimentales prospectées.

A : Adrar

1-Sources des virus:

Les plantes sources de virus proviennent des prospections effectuées, sur céréales en 1997, 1998 en Algérie.

Seul 2 espèces végétales ont été utilisées comme source d'inoculum viral (*BYDV-PAV*, *BYDV-MAV*, *CYDV-RPV*, *RMV*): Il s'agit de l'orge *Hordeum vulgare* (cv Plaisant) et de l'avoine *Avena sativa* (cv Coast Black).

2-Sites prospectés:

Les prospections ont porté sur la station expérimentale de l'Institut National de la Recherche Agronomique (INRA) d'Adrar et dans 4 stations expérimentales de l'Institut Technique des Grandes Cultures (ITGC) (**Tableau 12, Fig. 7**).

A titre comparatif des prospections ont été effectuées sur des cultures d'orge dans la région sud de la Belgique et également sur des parcelles de maïs situées dans la station expérimentale de l'Institut National de la Recherche Agronomique (INRA) de Versailles en France.

3-Méthodes d'études :

3-1-Méthodes d'échantillonnage:

Les prélèvements ont été effectués sur 29 parcelles prospectées en 1997 (9 blé dur, 9 blé tendre, 6 orge et 5 avoine), 10 parcelles en 1998 (6 blé dur et 4 blé tendre) en Algérie:

En 1997, les prélèvements ont porté sur 21 parcelles d'orge (**Essai I**: 6 parcelles, **Essai II**: 7 parcelles, **Essai III**: 8 parcelles) en Belgique et 6 parcelles de maïs (**Site 1**: parcelles I, II, V, VI, **Site 2**: parcelle VII, **Site 3**: Desmonts-Essonne, en France).

En 1997 et 1998, l'étude a été menée de la fin novembre à la fin décembre et de la fin mars à la fin mai pour les céréales et du début septembre à la fin octobre pour les maïs.

3-2-Collecte des isolats:

Les pucerons aptères collectés sur terrain sont déposés sur des orges sains cv Plaisant pour une période d'inoculation de 2 jours (IAP) pendant 48 h puis éliminés. Les isolats sont régulièrement transférés sur jeunes plantules d'orge sain cv Plaisant en utilisant des

Tableau 13. Provenance des isolats des virus associés au BYD.

Nom des isolats	Type	Nbre d'isolats	Origine	Plante source	Année de récolte
<i>BYDI-PAI</i>	<i>PAI A</i>	1	Algérie (Blida)	Blé tendre HD 1220	1998
		1	France (Bassin parisien)	Ray-Grass	1989
<i>BYDI-PAI</i>	<i>PAI B</i>	1	Algérie (Blida)	Blé tendre HD 1220	1998
		1	France (Vendée)	Maïs	1997
<i>BYDI-MAI</i>	<i>MAI A</i>	1	Belgique	Orge	1997
<i>BYDI-MAI</i>	<i>MAI B</i>	1	France (Bassin parisien)	Maïs	1992
<i>CYDI-RPI</i>	<i>RPI</i>	1	France (Bassin parisien)	Ray-Grass	1989
<i>RMI</i>	<i>RMI</i>	1	France (Corse)	Orge	1997

clones Français des différentes espèces.

3-3-Identification des pucerons

A chaque prélèvements, on procède à l'identification des pucerons à l'aide d'une clé d'identification proposée par Halbert et al., (1990).

3-4-Transmission par pucerons:

Les pucerons virulifères sont déposés à l'aide d'un pinceau légèrement humecté sur des plants d'orge sain cv Plaisant. Ces derniers sont recouverts de bonnettes et maintenus en chambre climatique à 14°C à une photopériode de 16 h. Après 48h d'inoculation (IAP), les pucerons sont retirés et un traitement aphicide est appliqué (Pirimor 0.75g/l). Afin d'éviter l'apparition de maladies cryptogamiques au cours de notre essai, un traitement fongique (Galbène 0.75g/l) préventif est a été effectué chaque semaine.

3-5-Source des isolats et espèces d'aphides:

Huit isolats du BYD ont été utilisés pour les essais de transmission et de détection (Tableau 13). Les isolats *BYDV-PAV-RG* et *BYDV-PAV-M* (Beuve et Lapierre, 1992), *BYDV-PAV-HD* (Belkahla et al., soumis) sont transmis efficacement par *R. padi* et *S. avenae*. Les isolats *BYDV-MAV-M* (Beuve et Lapierre 1992) et *BYDV-MAV-O RG* (Beuve et Lapierre 1992) sont transmis par *S. avenae*. Les isolats *CYDV-RPV-RG* (Beuve et Lapierre 1992) et *RMV-O* (Beuve et Lapierre 1992) sont transmis respectivement par *R. padi* et *R. maidis*. Les isolats sont maintenus, séparément sur orge (*Hordeum vulgare* L.) cv Plaisant comme plantes sources, en chambre climatique à 14°C, avec 16 h de photopériode. Les plantes sources ainsi obtenues sont régulièrement contrôlées en ELISA afin d'éviter les infections mixtes.

3-6-Transmission persistante des *Luteovirus* et *Polerovirus*:

Des pucerons sains, *R. padi*, *S. avenae*, *S. fragariae* et *R. maidis*, sont déposés séparément en période d'acquisition (AAP) pendant 48 h sur les plantes sources *BYDV-PAV CpA*, *BYDV-PAV CpB*, *BYDV-MAV A*, *BYDV-MAV B*, *CYDV-RPV* et *RMV*. Puis 100 pucerons de chaque combinaison de virus / espèce d'aphide sont transférés individuellement en IAP pendant 48 h sur des orges sains à raison de 2 pucerons par plante. Pour cela 50 plants d'orge (*Hordeum vulgare* L.) cv Plaisant ont été testés pour

chaque combinaison de virus / espèce d'aphide. Les plantes sont ensuite traitées par pulvérisation d'insecticide et maintenues en chambre climatique à 14°C à une photopériode de 16 h.

3-7-Persistance des *BYDV-PAV*, *BYDV-MAV* dans les pucerons:

Afin d'évaluer la persistance et la concentration du *BYDV-PAV*, *BYDV-MAV* dans 3 espèces de pucerons, des transmissions successives pendant 5 jours à raison d'un transfert de puceron tous les deux jours ont été effectuées. Pour cela des pucerons sains *R. padi*, *S. avenae*, *S. fragariae* sont déposés séparément en AAP pendant 5 jours sur les plantes sources de *BYDV-PAV CpA*, *BYDV-PAV CpB*, *BYDV-MAV A*, *BYDV-MAV B*. Par la suite 60 aptères de chaque combinaison de virus / espèce d'aphide sont transférés successivement à raison d'un aptère par plantule saine d'orge cv Plaisant en IAP de 48h et AAP de 48 h, correspondant ainsi au 1^{er} jour, 3^{ième} jour et 5^{ième} jour de transfert. Pour chaque transfert, 10 pucerons de chaque combinaison de virus / espèce d'aphide sont prélevés et congelés à -20°C. Après le 5^{ième} jour de transfert, les pucerons sont éliminés par pulvérisation d'insecticide.

3-8-Obtention de plantes *BYDV-MAV A*, *BYDV-MAV B*, *BYDV-MAV BA*:

Des pucerons sains, *S. avenae*, *S. fragariae* sont déposés séparément en AAP pendant 48h sur les plantes sources de *BYDV-MAV A* et *BYDV-MAV B*. Concernant le mélange *BYDV-MAV BA*, des pucerons provenant de plantes sources de *BYDV-MAV A* sont déposés sur les plantes sources de *BYDV-MAV B* en AAP pendant 48h. Les pucerons sont éliminés par pulvérisation d'insecticide et les plants sont maintenus en chambre climatique à 14°C à une photopériode de 16 h.

Des pucerons sains sont déposés en AAP sur les plantes *BYDV-MAV A*, *BYDV-MAV B* et *BYDV-MAV BA* du 5^{ème}, 10^{ème}, 15^{ème} et 20^{ème} jours de leur obtention. Ensuite 10 aptères de chaque combinaison sont transférés individuellement sur des plantules saines d'orge cv Plaisant en IAP pendant 48 h à raison d'un aptère par plant.

3-9-Conservation des virus:

Les échantillons provenant du terrain sont conservés en chambre froide à 4°C pendant 2 à 4 mois dans des sacs en plastique numérotés.

3-10-Extraction des virus:

Les échantillons frais sont broyés et dilués au 1/10^{ième} dans une solution tampon Phosphate buffered saline Tween (PBS-T) pH 7.4 en présence de polyvinyl pyrrolidone 1% (PVP), de sérum albumine bovine (SAB) 0.1% à l'aide d'un broyeur à rouleaux.

Le broyage des feuilles desséchés avec de l'azote liquide a permis d'améliorer la détection des virus (Holmes, 1991; Henry et Francki 1992). Cependant, l'utilisation d'un mortier par échantillon à analyser, reste inadaptée dans le cas de l'analyse d'un très grand nombre d'échantillon. Nous avons donc appliqué le protocole suivant: Les échantillons desséchés sont trempés dans de l'azote liquide pendant quelques secondes, puis broyés mécaniquement en présence de la solution tampon (PBS-T-PVP-SAB) à une dilution de 1/10^{ième}. Les broyats obtenus sont centrifugés pendant 5 min. à 10.000 Rpm. Seuls les surnageants sont récoltés et utilisés dans nos tests (ELISA, IC-RT-PCR). Les pucerons sont séparément broyés par trituration à l'aide d'un piston dans 200µl de la solution tampon (PBS-T-PVP-SAB) en présence de 0.1% Triton X-100 (Beuve et Lapierre 1992; Ding et al. 1992).

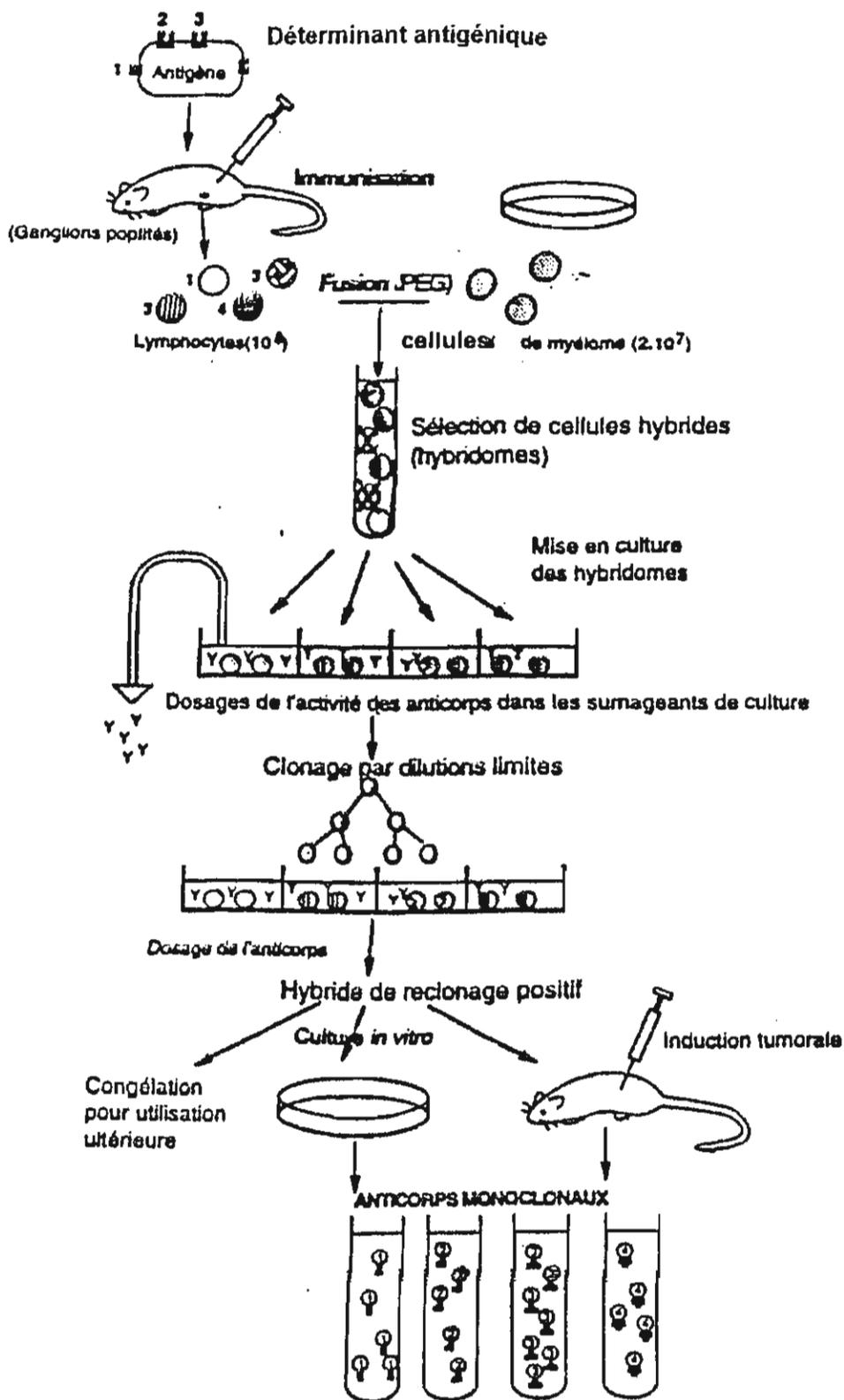
3-11-Tests immunoenzymatiques:

Pour la détection des virus associés au BYD dans les plantes prélevées sur terrain et l'estimation de la quantité du virus dans le puceron et les plantes inoculées artificiellement, nous avons utilisé la méthode directe DAS-ELISA (double antibody sandwich-enzyme linked immunosorbent assay) et TAS-ELISA (triple antibody sandwich-enzyme linked immunosorbent assay) avec des antiserum polyclonaux et monoclonaux, afin d'étudier les différents sérotypes et les relations entre les souches du BYD (Rochow and Diffus, 1981; Martin and D'Arcy, 1990).

3-11-1-Anticorps utilisés:

3-11-1-1-Anticorps polyclonaux:

Les anticorps polyclonaux (AcsPCx) de souris Anti-BYDV-PAV, BYDV-MAV, CYDV-RPV sont produits à l'INRA de Versailles. Les AcsPCx Anti-RMV et Anti-SGV ont été fournis dans le kit Sanofi (France).



Protocole 1. Obtention des anticorps monoclonaux (d'après Mirza et al, 1987).

3-11-1-2-Anticorps monoclonaux:

3-11-1-2-1-Obtention:

Des souris âgées de 10 semaines ont été immunisées par une première injection avec 10, 20 ou 50 µg de virus purifié du *BYDV-PAV* ou *BYDV-PAV+BYDV-MAV* avec l'adjuvant de Freud. Une deuxième injection avec 50 µg de virus purifié du *BYDV-PAV* ou *BYDV-PAV+ BYDV-MAV* est effectuée 15 jours plus tard, chez les souris ayant le taux le plus élevé d'anticorps spécifiques. Les spleenocystes obtenus après 5 jours sont fusionnés avec des cellules du myélome (**Protocole 1**). Les hybridomes sélectionnés par TAS-ELISA sont clonés et cultivés «*in vitro*». Les liquides d'ascites ont été clarifiés par centrifugation, puis conservés à -20°C.

3-11-1-2-2-Isotypage:

Le typage des (AcsMCx) contenus dans les liquides d'ascites a été effectué par le test ELISA selon la méthode de Delaunay et Mancouvriez (1990). La classe des immunoglobulines (Ig), ainsi que la nature des chaînes légères, ont été déterminées avec des anti-IgM, anti-IgA, anti-IgG de souris, et des anti-chaînes couplés à l'enzyme peroxydase.

3-11-1-2-3-Anticorps monoclonaux utilisés:

Le nombre d'AcsMCx de souris produits à l'INRA de Versailles et utilisés dans notre diagnostic est de 5.

L'AcMC PM63 détecte simultanément le *BYDV-PAV* et le *BYDV-MAV*. L'AcMC P2 est spécifique au *BYDV-PAV CpB*. L'AcMC P14 détecte le *BYDV-PAV CpA* et est équivalent de l'AcMC 1C2 de Chay et al. (1996b). L'AcMC M2 est spécifique au *BYDV-MAV*. L'AcMC M4 détecte uniquement le *BYDV-MAV A*, sérotype distinct du *BYDV-MAV B*. Les AcsMCx de rat, MAC 92 spécifique du *CYDV-RPV* et le MAFF2 considéré comme spécifique du *BYDV-MAV*, proviennent d'Adgen (Grande-Bretagne).

3-11-2-Test ELISA (Protocole 2):

Protocole 2: Test DAS-ELISA* et TAS-ELISA** (*Clark et Adams 1977, **Lister et Rochow 1979)

1-Activation des plaques

avec des AcsPCx de lapin (*PAV, MAV, RPV, RMV, SGV*) dilués au $1/1000^{\text{ième}}$ ou $1/500^{\text{ième}}$ (1 ou 2 $\mu\text{g/ml}$) dans un tampon « coating »
incubation 2h à 37°C
3 lavages au PBS-T

2-Fixation de l'antigène

Dépôt de l'antigène sous forme de broyât de plante dans le tampon PBS-T-PVP-SAB dilué au $1/10^{\text{ième}}$ (0,1 g/ml) ou un puceron dans 200 μl de tampon PBS-T-PVP-SAB + 0.1 %Triton X-100
Incubation une nuit à 4°C
3 lavages au PBS-T

3-Dépôt des anticorps monoclonaux

de souris (pour P2, P14, PM63, M2, M4) ou de rat (pour MAC92, MAFF2) dilués au $1/10^{\text{ième}}$ (0,1 $\mu\text{g/ml}$) dans le tampon PBS-T-PVP-SAB
incubation 2h à 37°C
3 lavages au PBS-T

4-Dépôt du conjugué (1)

Anticorps anti-gammaglobuline de souris ou de rat conjugués à l'enzyme phosphatase alcaline, dilués au $1/2000^{\text{ième}}$ (0,5 $\mu\text{g/ml}$) dans le tampon PBS-T-PVP-SAB
incubation 2h à 37°C
3 lavages au PBS-T

5-Révélation

Par le produit de dégradation du substrat (para-nitrophénylphosphate (PNPP) de la phosphatase alcaline à 1mg/ml dilué dans le tampon substrat.
incubation à température ambiante
lecture de l'absorbance à 405 nm

(1): cette étape est supprimée en DAS-ELISA, car l'anticorps utilisé après le dépôt de l'antigène, est préalablement conjugué à la phosphatase alcaline.

3-11-2-1-DAS-ELISA

Les virus présents dans l'extrait de la plante à tester ou dans un puceron réagissent avec les AcsPCx (*BYDV-PAV*, *BYDV-MAV*, *CYDV-RPV*, *RMV* et *SGV*) dilués au 1/1000^{ième} sont fixés sur la plaque de microtitration. Les virus sont ensuite mis en contact avec une préparation d'anticorps polyclonaux couplée à l'enzyme phosphatase alcaline à une dilution de 1/2000^{ième}. La double réaction sérologique est mise en évidence par la réaction du substrat de l'enzyme le paranitrophényl phosphate (1mg/ml), ce qui conduit à une réaction colorée dont l'intensité est proportionnelle à la quantité d'antigène fixée. La lecture des densités optiques s'effectue à l'aide d'un spectrophotomètre à une longueur d'onde de 405 nm. Les témoins sains utilisés sont des plants d'orge cv Plaisant et des pucerons (*S. Avenae*, *S. fragariae*, *R. padi*). Les échantillons sont considérés positifs lorsque la valeur de la densité optique (DO) est 3 fois supérieure à celle du témoin sain.

3-11-2-2-TAS-ELISA:

Le virus est capté par les AcsMCx de souris (P2, P14, PM63, M2, M4 et de rat (MAC 92, MAFF2) dilués au 1/10^{ième}. Par la suite les AcsMCx sont mis en évidence par l'anticorps anti-gamma globuline de souris dilué au 1/1000^{ième} pour le *BYDV-PAV* et le *BYDV-MAV* et l'anticorps anti-gamma globuline de rat dilué au 1/2000^{ième} pour le *CYDV-RPV* et le *BYDV-PAV-Vic*.

Composition des tampons utilisés en ELISA (DAS et TAS-ELISA)

Tampon coating pH=9,6

1,59 g Na₂CO₃

2,93 g NaHCO₃

0,2 g NaN₃

pour 1 litre d'eau distillée

Tampon PBS-T (Phosphate buffered saline tween) pH=7,4

8 g NaCl

0,2 g KH₂PO₄

2,9 g NaH₂PO₄

0,2 g KCl

Protocole 3: Test de l'immunocapture-RT-PCR (Wyatt et al., 1993)

1-Activation des plaques

avec des AcsPCx de lapin *PAV* dilués au 1/500^{ème} (2µg/ml) dans un tampon «coating»
incubation 3h à 37°C
3 lavages au PBS-T

2-Fixation de l'antigène

Dépôt de l'antigène sous forme de broyât de plante dans le tampon PBST-PVP-SAB
dilué de 1/2 (0,5 g/ml)
incubation une nuit à 4°C
3 lavages au PBS-T
2 lavages à l'eau ultrapure (bidistillée)

3-Rupture de la structure de la capside

Pour chaque isolat, est ajouté un mixe de:
1µl dNTP (5mM)
0,5 µl Rnasine (inhibiteur de ribonucléase) (facultative)
4 µl tampon 5X (50 Mm Tris-HCl pH8,3; 40 Mm KCl; 10 mM DTT; 7Mm MgCl₂)
13,45µl eau ultrapure stérile
congélation à -20°C pendant 30 min
décongélation rapide au bain-marie à 42°C pendant 1h30
congélation à -20°C pendant 1h
décongélation lente à température ambiante

4-Fabrication de l'ADNc

La synthèse du brin complémentaire est réalisée par addition au mixe précédent
0,05 µl reverse transcriptase (enzyme)
1µl amorce primer indirecte Lu-4 (séquence GTCTACCTTATTTGG) correspondant
du nucléotide 3455 à 3468 de l'isolat PAV-Vic
incubation à 42°C pendant 1h à 1h30

5-Amplification de l'ADNc

La réaction de polymérisation en chaîne est réalisée par addition au mixe précédent
1,5 µl amorce primer directe Lu-1 (séquence CCAGTGGTTATGGTC) correspondant
du
nucléotide 2938 à 2952 de l'isolat PAV-Vic
1µl amorce primer Lu-4
1µl dNTP 5mM
5 µl tampon 10X (10 Mm Tris-HCl pH 8; 50 Mm KCl; 0,1% Triton X-100)
0,3 µl Taq polymérase (Eurobio)
35,7 µl eau ultrapure

0,2 g NaN₃
0,5 ml Tween 20
pour 1 litre d'eau distillée

Tampon PBS-T-PVP-SAB

1000 ml tampon PBS-T
1% polyvinyl pyrrolidone (PVP)
0,1% sérum albumine bovine (SAB)

Tampon substrat pH=9.8 (à ajuster avec du HCL)

97 ml diéthanolamine
0,1 g NaN₃
800 ml eau distillée

3-12-Test IC-RT-PCR (immunocapture-reverse transcriptase-polymerase chain reaction) (Protocole 3):

La méthode PCR constitue un outil puissant pour détecter les virus. Récemment, l'immuno-RT-PCR (Jansen et al., 1990) a été développée pour détecter les virus des plantes (Wetzel et al., 1992, Nolasco et al., 1993).

L'immuno-PCR est considérée plus sensible que la PCR conventionnelle (Wetzel et al., 1992). L'immuno-PCR devrait prendre une grande importance dans le diagnostic mais aussi comme un complément de la microscopie électronique et d'une manière plus générale pour l'étude de la relation entre les virus et leur vecteurs.

Le test utilisé dans cette étude combine le principe d'adsorption des particules virales de la technique ELISA et la rupture de l'unité de la structure de la capsid de virus sous l'effet de séries consécutives de congélation et de décongélation (Wyatt et al., 1993).

Les particules virales extraites des tissus foliaires sont fixées sur une plaque de microtitration préalablement coâtée avec un AcPC *BYDV-PAV* dilué au 1/500^{ième}. Après dépôt de l'inhibiteur de l'enzyme ribonucléase (Rnase), la plaque est soumise à 2 cycles de congélation à -20°C et décongélation au bain-marie à 50°C. Par la suite l'enzyme transcriptase inverse est utilisée pendant 1h à 1h 30 à 42°C en présence d'une amorce indirecte Lu-4 (GTCTACCTATTTGG) correspondant des nucléotides 3455 à 3468 de l'isolat *BYDV-PAV-Vic* (Robertson et al., 1991). L'amplification est réalisée par

6-Programme PCR

(thermocycleur Perkin-Elmer Corp, Norwalk,CT)

L'amplification par PCR se compose de 2 étapes :

étape initiale de dénaturation de 5 min à 95°C

suivie de 35 cycles de 95°C pendant 15 sec, 50°C pendant 30 sec, 72°C pendant 1,5 min

étape finale d'élongation de 10 min à 72°C, clôturant la polymérisation en chaîne

7-Gel

pour un gel de 8 peignes (puits)

40 ml de tampon TBE

0,4 g d'agarose

1 goutte bromure d'éthidium (Bet)

8-Dépôt des ADNc amplifiés

Mélanger dans un même eppendorff

7 µl d'ADNc amplifiés

3 µl de bleu de charge

déposer le mélange dans un puits

9-Conditions de migration et visualisation des ADNc amplifiés

température ambiante

200 Volts

10 à 15 min

la détection des bandes est effectuée sous ultra-violet

addition d'une amorce directe Lu-1 (CCAGTGGTTATGGTC) correspondant du nucléotide 2938 à 2952 de l'isolat *BYDV-PAV-Vic* (Robertson et al., 1991).

L'amplification par PCR se compose d'une étape initiale de dénaturation de 5 min. à 95°C suivie de 35 cycles de 95°C pendant 15 sec, 50°C pendant 30 sec, 72°C pendant 15 min. La polymérisation en chaîne se termine par une étape d'élongation de 10 min. à 72°C.

Composition des tampons utilisés en IC-RT-PCR

Les tampons pour l'immunocapture sont identiques à ceux utilisés en ELISA

Tampon TBE (tris-borate EDTA 10X) pH=8,3

108 g tris base

55 g acide borique

7,5 g EDTA

pour 1 litre d'eau distillée

3-13-Etude épidémiologique du BYD:

Afin d'estimer l'impact probable de l'infection primaire sur les semis automnaux et de calculer chaque semaine l'indice d'infectivité proposé par Plumb, (1983; 1995) ; Plumb et al., (1982). Un essai épidémiologique sur blé tendre cv IID 1220 a été mené à la station expérimentale de l'Institut d'agronomie de Blida en 1998.

3-13-1-Terrain expérimental:

Le terrain expérimental se compose de 7 parcelles non espacées entre elles. Les dimensions de chaque parcelle sont de 30m X 15m. La superficie totale des 7 parcelles est de 3150 m². Le terrain expérimental est limité à l'ouest par un verger et au sud, est, nord par des pâturages.

3-13-2-Observations et prélèvement d'échantillons:

Les observations ont commencé au stade fin tallage. La progression de l'épidémie a été suivie en observant régulièrement -tous les 3 jours- les plants présentant des

- * Symptômes de type BYD qui sont des rougissements et enroulements des feuilles

* Pucerons vecteurs du BYD qui sont, *R. padi*, *R. maidis*, *S. avenae*, *S. fragariae*, *Schizaphis graminum*.

Les notations visuelles sont confirmées toutes les semaines par des contrôles TAS-ELISA vis-à-vis du *BYDV-PAV*, *BYDV-MAV*, *CYDV-RPV*, et DAS-ELISA vis-à-vis du *RMV*, *SGV*. Des prélèvements hebdomadaires de 70 plants (10 plants par parcelle) ont été effectués du stade tallage-début montaison jusqu'au stade fin épiaison correspondant ainsi à 8 semaines de prélèvement. Le nombre total d'échantillons prélevés est de 560.



TROISIEME CHAPITRE
RESULTATS ET DISCUSSIONS

Tous les résultats obtenus au cours de ces recherches ont fait l'objet de 3 articles (1 accepté, 2 soumis). Ces articles constituent le corps de la thèse.

Article 1-Serodetection of viruses associated to barley yellow dwarf (BYD) on cereals in Algeria.

Received 1999-04-09; accepted 2000-03-03

Hadjira Belkahla , and Hervé Lapierre 1999. *Phytoprotection* 80 (3): 169-177.

*Article 2-Efficacité de la transmission des virus associés à la jaunisse nanisante de l'orge (BYD) par *Sitobion frugariae* Walk en Algérie.*

Accepté dans *Journal Canadien de Phytopathologie*

Hadjira Belkahla, Hervé Lapierre, Salah-Eddine Doumandji.

Article 3-Analyse par ELISA et immunocapture-RT-PCR des virus associés au BYD sur blé tendre

Soumis à *Sciences et technologies* (Univ. Mentouri, Constantine)

Hadjira Belkahla et Hervé Lapierre

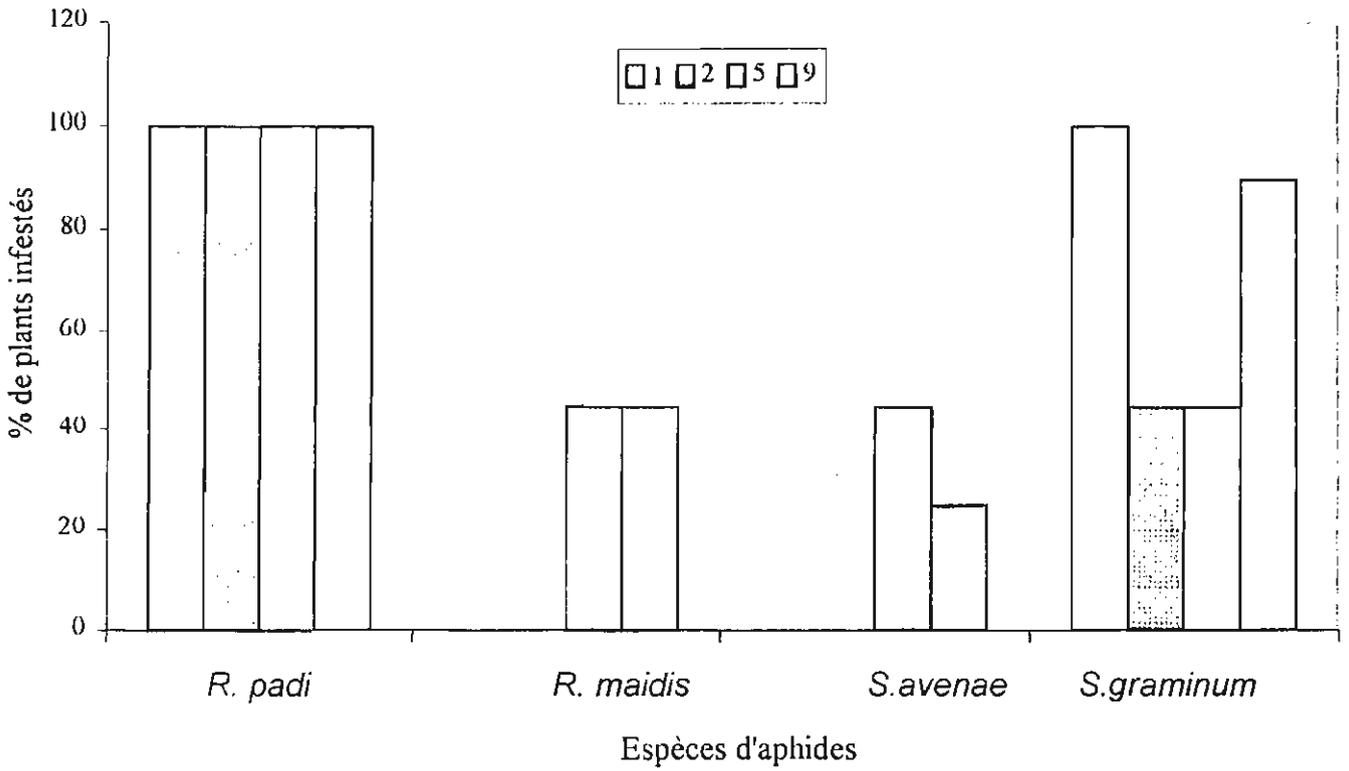


Figure 8: Fréquences des plants d'orge infestés par pucerons en 1997

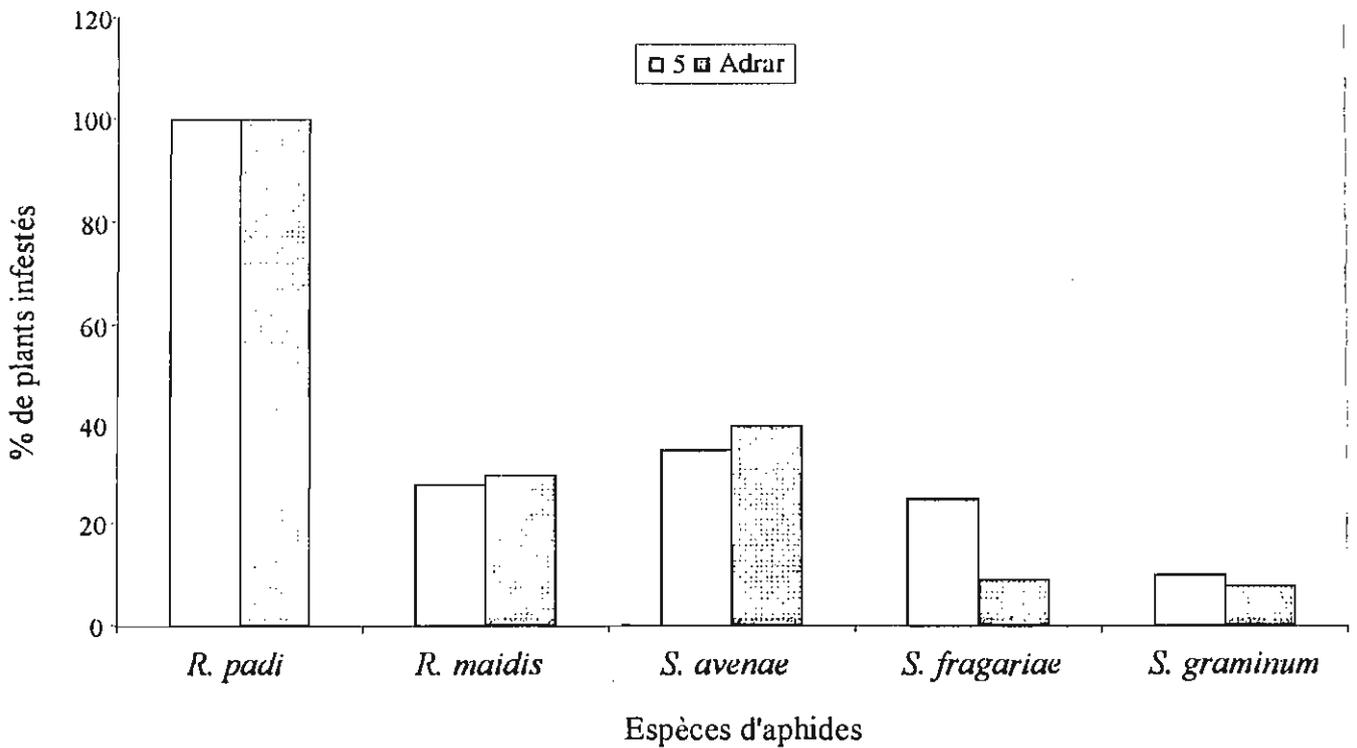


Figure 9: Fréquences des plants de blé infestés par pucerons en 1998

1-Résultats de la sérodétection des virus associés à la jaunisse nanisante de l'orge (BYD) sur les céréales en Algérie.

1-1-Distribution géographique des populations de pucerons vecteurs du BYD:

Les principales espèces de pucerons vecteurs des virus associés au BYD (*R. padi*, *S. avenae*, *S. fragariae*, *R. maidis*, *S. graminum*) ont été observés dans les cultures céréalières en Algérie en 1997 et en 1998. Le puceron *R. padi* est le plus fréquent sur les cultures d'orge (Fig. 8) et également dans d'autres céréales prospectées. Le puceron *S. graminum* a été observé dans les 4 zones céréalières mais pas dans la région de Blida, constituant un des 3 sites de la zone d'Alger. Les pucerons *S. avenae*, *R. maidis* sont moins fréquents et sont détectés seulement dans la zone d'Alger et de Sidi-bélabès. En 1998, seulement le puceron *R. padi* a été fréquent dans la zone d'Alger et d'Adrar par rapport aux autres espèces de pucerons. Cependant, des population élevées du puceron *S. fragariae* ont été observées sur blé tendre à Blida en 1998 (Fig. 9).

1-2-Impact et distribution des symptômes de type BYD:

Les symptômes de type BYD ont été observés dans toutes les zones céréalières prospectées (Fig.8 ; 9). La différence la plus significative concernant la sévérité de la maladie a été observée dans la zone céréalière d'Alger entre Oued-smar et El-harrach. Dans la région de Oued-smar, les plants d'avoine extériorisent des symptômes légers. Par contre dans la région d'El-Harrach, les plants sont atteints de nanisme. A Blida, les plants d'orge ont montré également un nanisme et les plants d'avoine ont extériorisé uniquement des symptômes légers. Dans la zone de Sidi-bélabès et de Constantine des symptômes modérés ont été observés dans toutes les cultures céréalières. Des symptômes sévères ont été observés sur avoine à Guelma et sur blé dur et blé tendre à Adrar (Tableau 14).

1-3-Identification et distribution des virus associés au BYD:

Uniquement 24,48% (191/780) des plants testés ont répondu positivement à un ou plusieurs antiserum utilisés (Tableau 15). Dans certains cas 2 virus ont été détectés simultanément dans la même plante (Tableau 16). Le *BYDV-PAV* a été dominant et la

Tableau 14. Symptômes observés sur céréales en Algérie

Zones et sites	N°. de plants		symptôme de type
	examinés	avec symptômes	
Guelma	250 ^a	166 (A)	sévère
Constantine	304 ^a	280 (A,O, B)	modérés
Algiers			
Blida	150 ^a , 225 ^b	290 (A,O,B)	léger, sévère
Oued-smar	202 ^a	150 (A)	léger, sévère
El-Harrach	217 ^a	180 (A)	sévère
Sidi-Bélabès	269 ^a	240 (A,O,B)	modéré
Adrar	311 ^b	300 (B)	sévère

a: en 1997; b: en 1998, A: Avoine; O: Orge, B: Blé

Tableau 15. Nombre d' isolats appartenants aux différents sérotypes du *BYDV* d' Algérie

Année	AcsMx ou AcsPCs	TAS ELISA					DAS ELISA			N° échan. testés
		PM63	P2	P14	M2	MAFF2	MAC92	RMV	SGV	
1997	Zones et sites									
	Guelma	16	14	5	2	0	1	0	0	80
	Constantine	26	23	9	3	0	1	0	0	100
	Algiers									
	Blida	13	8	8	2	0	0	0	0	100
	Oued-smar	10	8	4	0	0	0	0	0	100
	El-Harrach	14	9	4	4	0	0	0	0	100
	Sidi-Bélabès	21	16	12	5	0	0	0	0	100
1998	Algiers									
	Blida	27	21	8	5	0	1	4	0	100
	Adrar	9	9	4	0	0	0	0	0	100
Total		136	109	54	21	0	3	4	0	780

fréquence du *CpA* (54) et *CpB* (109 isolats) a été dépendante de la zone céréalière et de l'année de prélèvement (**Tableau 15**). Cent trente six isolats n'ont pas été détectés par l'AcMC spécifique, mais ont été détectés par l'AcMC PM63, qui reconnaît simultanément le *BYDV-PAV* et *BYDV-MAV*. Ces isolats ne peuvent être groupés ni dans le sérotype *BYDV-PAV* ou *BYD-MAV*. Les 21 isolats du *BYDV-MAV* détectés par l'AcMC M2 n'ont pas été clairement détectés par le l'AcMC MAFF2. Les isolats du *CYDV-RPV*, *SGV* et *RMV* ont été rares dans toutes les zones excepté dans la région de Blida en 1998 où 4% des réactions positives en DAS-ELISA ont été pour le sérotype *RMV* (**Tableau 15**).

1-4-Sévérité des isolats du *BYDV-PAV* et *RMV*:

Les plants d'avoine infectés par les isolats du *RMV* ont montré un rougissement des feuilles âgées et uniquement une légère chute de la biomasse (0-8%). Par contre, les plants d'orge infectés soit par les isolats du *BYDV-PAV CpA* ou *BYDV-PAV CpB* ont montré une gamme importante de nanisme. La biomasse racinaire de l'orge infectés par certains isolats a été réduite à moins de 90% par rapport au témoin sain (**Tableau 17**).

1-5-Fréquences et caractères des sérotypes *BYDV-MAV* chez l'orge en Belgique (Essai I, II, III):

Les fréquences du sérotype *BYDV-MAV B* varient de 7 % à 12%. (**Fig. 10**). Par contre aucun sérotype *BYDV-MAV A* n'a été détecté dans ces prélèvements.

1-6-Distribution périphérique dans des parcelles de maïs des sérotypes du *BYDV-PAV* et *BYDV-MAV* à Versailles:

1-6-1-Site 1:

Dans le site I, une fréquence importante du sérotype *BYDV-PAV* est observée dans les parcelles I, II, V, VI comparée à celle du *BYDV-MAV* (**Fig. 11**). Egalement, la fréquence du sérotype *BYDV-PAV B* est supérieure à la fréquence du sérotype *BYDV-PAV A*. Le sérotype *BYDV-MAV A* est absent dans le site I correspondant aux parcelles I, II, V, VI, alors que le sérotype *BYDV-MAV B* est faiblement représenté.

1-6-2-Site 2:

Tableau 16 Valeurs des DO_{450nm} du test ELISA de quelques isolats collectés en Algérie

AcsMA ou AcsPCs Zones et sites	TAS ELISA										DAS ELISA			Sérotypes détectés
	PM63	P2	P14	M2	M4	MAF12	MAC92	RMV	SGV					
Guelma	0.804	0.948	0.004	0.006	0.002	0.098	3.000	0.000	0.000	0.000				<i>BYDI-P41-CpB, CYDI-RPI</i>
Constantine	0.848	0.264	0.632	0.004	0.008	0.076	0.000	0.024	0.002	0.002				<i>BYDI-P41-CpA</i>
Algiers	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	2.944	0.028	0.018	0.018				<i>CYDI-RPI</i>
Blida	1.776	0.028	0.048	0.036	0.000	0.150	0.028	0.004	0.008	0.008				$(1)^a$
	0.000	0.000	0.000	0.000	0.060	0.000	0.000	0.744	0.018	0.018				<i>RAMI</i>
Oned-smar	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.950	0.950				<i>SGI</i>
El-karrach	1.498	0.008	0.034	0.028	0.000	0.086	0.014	0.026	0.044	0.044				$(1)^a$
Sidi-Befabès	1.738	0.058	0.036	0.452	0.002	0.136	0.016	0.018	0.016	0.016				<i>BYDI-M41-B</i>
	1.304	1.100	0.042	0.024	0.002	0.136	0.016	0.018	0.018	0.016				
Témoin malade														
<i>BYDI-P41-CpA</i>	0.530	0.238	0.728	0.000	0.000	0.000	nt ^b	nt	nt	nt				nt
<i>BYDI-P41-CpB</i>	0.486	0.632	0.070	0.000	0.000	0.000	nt	nt	nt	nt				nt
<i>BYDI-P41-Am</i>	0.328	0.224	0.632	0.000	0.000	0.458	nt	nt	nt	nt				nt
<i>BYDI-M41-A</i>	0.618	0.000	0.000	0.200	0.798	0.000	nt	nt	nt	nt				nt
<i>BYDI-M41-B</i>	0.596	0.000	0.000	0.698	0.000	0.000	nt	nt	nt	nt				nt
<i>CYDI-RPI</i>	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	1.760	nt	nt	nt				nt
<i>RAMI</i>	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.508	0.000	0.508				
<i>SGI</i>	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000				0.404
Témoin sain	0.006	0.006	0.006	0.016	0.018	0.152	0.090	0.038	0.038	0.028				

a. probablement nouveau sérotype, b. non testé

Dans le site 2, la fréquence du sérotype *BYDV-PAV* est supérieure à la fréquence du sérotype *BYDV-MAV* (Fig. 11). Le sérotype *BYDV-PAV CpB* dans ce site est dominant par rapport au sérotype *BYDV-PAV CpA*. La fréquence du sérotype *BYDV-MAV B* est identique à celle du sérotype *BYDV-PAV CpA*. Le sérotype *BYDV-MAV A* est absent.

1-6-3-Dans la parcelles Desmonts, Essonne:

Dans la parcelle Desmonts, Essonne la fréquence du sérotype *BYDV-PAV* est plus importante que la fréquence du sérotype *BYDV-MAV* (Figure 11). La présence du sérotype *BYDV-MAV B* est supérieure par rapport au sérotype *BYDV-PAV CpA*. L'absence du sérotype *BYDV-MAV A* est également observée dans cette parcelle.

1-7-Discussion:

Les prospections effectuées en Algérie durant les campagnes 1996-1997 et 1997-1998 dans les principales zones céréalières pendant le stade fin tallage-début montaison ont montré en général la présence de populations élevées de pucerons.

Dans toutes ces zones, *R. padi* était dominant et était fréquemment associé à un jaunissement et/ ou rougissement de la plupart des feuilles de toutes les plantes. Les prospections ont été limitées à une ou trois régions par zone céréalière et ont donc donné uniquement des données préliminaires sur la distribution des différentes espèces de pucerons. Malgré le pourcentage élevé de plants montrant des symptômes de type BYD, la détection par les tests ELISA des virus associés ont été négatifs pour les 3/4 des échantillons. Makkouk et al. (1989) ont obtenu des résultats similaires. Les prospections effectuées par temps chaud ont peut être réduit les concentrations en virus dans les échantillons frais et desséchés. Il n'est pas exclu qu'un virus associé au BYD ou bien d'autres pathogènes induisant des symptômes similaires ont été présents dans ces zones. La présence d'un complexe de pathogènes ou la variations de souches peuvent expliquer les différences de sévérité entre la même culture dans les différentes zones où les mêmes cultivars sont semés. Il est également possible que les populations de pucerons infestant les cultures dans les différentes zones déterminent la sévérité de la maladie (Comeau 1987).

Le *BYDV-PAV* était le plus fréquemment détecté, comme il est généralement le plus important sur céréales de part le monde. La dominance du *BYDV-PAV* peut être expliquée par sa capacité d'être transmis par plusieurs espèces de pucerons, incluant *S. avenae* et *S.*

Tableau 17. Symptômes induits par les isolats du *BYDV-PAV* et *RMV*

	Orge		Avoine
	<i>BYDV-PAV A</i>	<i>BYDV-PAV B</i>	<i>RMV</i>
Légers	2	2	4
Modérés	4	6	0
Sévères	11	3	0

fragariae qui sont parfois localement abondants en Algérie. La large gamme d'hôte du *BYDV-PAV* comparée à celle *CYDV-RPV* (Beuve and Lapierre, 1992; 1993; D'Arcy, 1995) renforce sa fréquence dans la plupart des pays. Même si seulement 3 isolats du *CYDV-RPV* ont été détectés dans cette étude, leur identification confirme la présence de ce sérotype déjà signalé dans le Maghreb (El-Yamani and Bencharki, 1996). Les sérotypes *RMV* et *SGV* ne sont pas également fréquents dans ces zones malgré la présence relative de leur vecteurs. Une meilleure estimation de leur fréquence nécessite l'amélioration des tests ELISA pour le *RMV* et *SGV* qui sont moins sensibles que ceux utilisés pour le *BYDV-PAV*, *BYDV-MAV* et *CYDV-RPV*. La variabilité sérologique des isolats *BYDV-PAV* et *BYDV-MAV* d'Algérie collectés dans différentes zones céréalières a été étudiée. Comme il a été identifié dans d'autres pays (Chay et al., 1996b; Mastari et al., 1998b) le *BYDV-PAV CpA* et le *BYDV-PAV CpB* ont été détectés dans toutes les zones céréalières indiquant ainsi une adaptation similaire des 2 sérotypes quel que soit le climat où les céréales sont semés. Par opposition à la situation en Europe et aux Etats-Unis, dans certains cas la fréquence du *BYDV-PAV CpA* est plus importante que celle du *BYDV-PAV CpB*, qui peut indiquer une identité incomplète des réservoirs ou une efficacité distincte du vecteur entre les 2 sérotypes.

Dans quelques échantillons seulement l'AcMC PM63 a donné des réactions positives claires en TAS-ELISA. Les valeurs de DO relativement élevées obtenues avec ce MC et l'absence de réaction avec les MCx spécifiques du *BYDV-PAV* et *BYDV-MAV* indique que probablement un nouveau virus associé au BYD ou sérotype est présent en Algérie. Les essais de transmission par puceron pourront faciliter la caractérisation de ces isolats. Un nombre limité d'isolats du *BYDV-MAV* a été testé et uniquement le *BYDV-MAV B* a été identifié en Algérie. Ce sérotype a également été détecté sur des plants d'orge de Belgique et de maïs de France. Bien qu'isolé en Belgique, le sérotype *BYDV-MAV A* n'a pas été retrouvé dans ce pays ni en Algérie ni en France.

Le sérotype *BYDV-MAV A* est extrêmement rare (Lapierre, résultats non publiés). Ces résultats confirment que le *BYDV-MAV A* est inclus dans un écosystème très particulier. Curieusement l'AcMC MAFF2 a donné des réactions très faibles avec les isolats algériens du *BYDV-MAV*.

Les isolats du *RMV* sont très variables (D'Arcy et al., 1989; Fan et al., 1994; Geske et al., 1996) et les variants montrant des symptômes sévères sur avoine ont été décrits aux Etats-unis (Yount and Carroll 1983). Aucune différence biologique n'a été observée entre

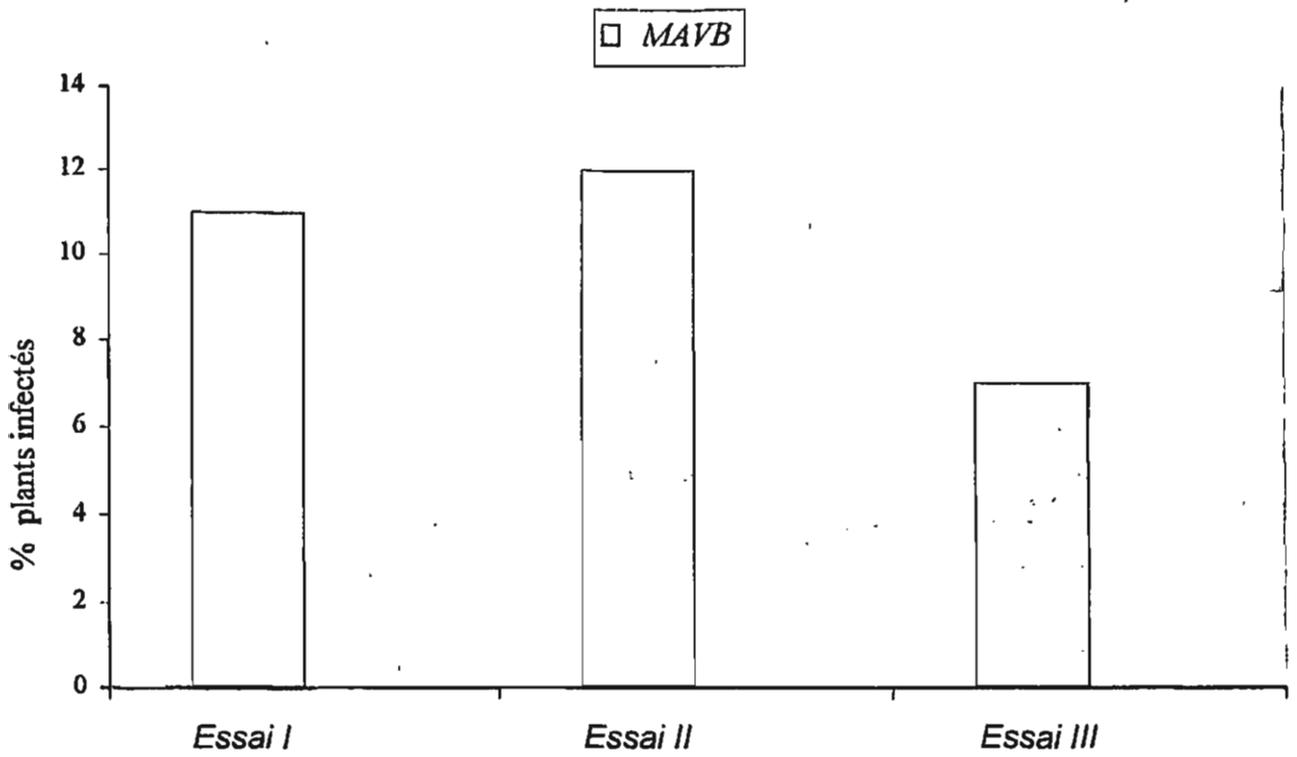


Figure 10: Fréquences des sérotypes du *BYDV-MAVB* sur orge en Belgique

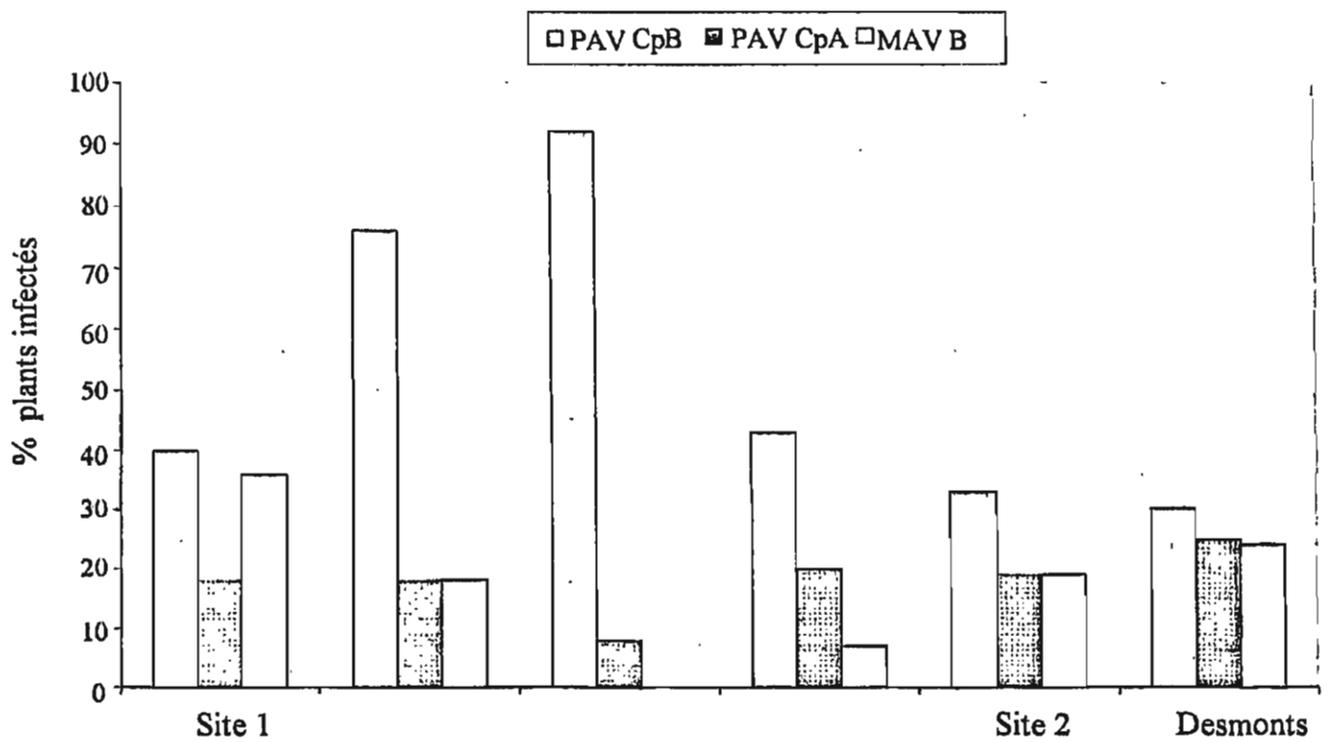


Figure 11: Fréquences des sérotypes du *BYDV-PAV*, *BYDV-MAVB* sur maïs en France

les 4 isolats du *RMV* d'Algérie collectés de la région de Blida. Les symptômes sur avoine étaient légers.

Tableau 18. Taux de transmission des *Luteoviridae* par différentes espèces de pucerons

Pucerons	Virus			
	<i>BYDV-MAV</i>	<i>BYDV-PAV</i>	<i>CYDV-RPV</i>	<i>RMV</i>
<i>S. fragariae</i>	97±3,34	88±6,62	0	0
<i>S. avenae</i>	97±2,54	96±3,52	0	0
<i>R. padi</i>	0	84±2,51	86±4,62	0
<i>R. maidis</i>	0	0	0	98±2,45

Tableau 19. Transmissions comparées du *BYDV-PAV CpA*, *BYDV-PAV CpB* d'Algérie et de France

Pucerons	<i>BYDV-PAV CpA</i>		<i>BYDV-PAV CpB</i>	
	HD	RG	HD	M
<i>S. fragariae</i>	96±3,52	88±5,23	94±5,25	99±7,45
<i>S. avenae</i>	88±3,58	84±2,54	87±3,32	85±1,48
<i>R. padi</i>	97±4,32	96±4,32	98±4,42	95±3,32

Tableau 20. Persistance de la transmission des *Luteovirus* par différentes espèces de pucerons

Virus	Sp. puceron	Js. de transmissions successives		
		1 ^{er}	3 ^{eme}	5 ^{eme}
<i>BYDV-MAV A</i>	<i>S. fragariae</i>	60/60*	49/50	40/40
	<i>S. avenae</i>	60/60	50/50	40/40
<i>BYDV-MAV B</i>	<i>S. fragariae</i>	60/60	50/50	40/40
	<i>S. avenae</i>	60/60	50/50	40/40
<i>BYDV-PAV CpA</i>	<i>S. fragariae</i>	56/60	49/50	38/40
	<i>S. avenae</i>	58/60	48/50	37/40
	<i>R. padi</i>	60/60	50/50	40/40
<i>BYDV-PAV CpB</i>	<i>S. fragariae</i>	59/60	48/50	39/40
	<i>S. avenae</i>	59/60	47/50	39/40
	<i>R. padi</i>	60/60	50/50	40/40

*: Nbre de plantes infectées /Nbre de plantes infestées

2-Résultats de l'efficacité de la transmission des virus associés à la jaunisse nanisante de l'orge (BYD) par *Sitobion fragariae* Walk en Algérie.

2-1-Transmission des *Luteovirus* et *Polerovirus* par différents vecteurs:

La transmission des *BYDV-PAV*, *BYDV-MAV*, *CYDV-RPV* et *RMV* par *S. fragariae*, ont montré que les *BYDV-PAV* et *BYDV-MAV* étaient transmissibles par ce puceron. Alors que le *CYDV-RPV* et *RMV* n'ont pas été transmis par *S. fragariae* (Tableau 18). *S. fragariae* ne transmet pas les *Polerovirus*. Donc seuls les *Luteovirus* sont reconnus par *S. fragariae*. Ces résultats montrent donc que *S. fragariae* se comporte comme *S. avenae* (vecteur du *BYDV-MAV* et *BYDV-PAV*) et *R. padi* (vecteur du *BYDV-PAV*).

2-2-Transmission comparée des *BYDV-PAV-HD*, *BYDV-PAV-M*, *BYDV-PAV-RG*:

Les résultats indiquent que les trois espèces de pucerons transmettent efficacement le *BYDV-PAV CpA* et le *BYDV-PAV CpB* (Tableau 19). Les isolats *BYDV-PAV-RG*, *BYDV-PAV-M* de France et *BYDV-PAV-HD* d'Algérie sont aussi bien transmis par *R. padi*, *S. avenae* que par *S. fragariae*. On conclue donc que *S. fragariae* est un vecteur efficace des *Luteovirus*. Les transmissions comparées ont montré également que les isolats *BYDV-PAV CpA* HD et *CpA* RG et les isolats *BYDV-PAV CpB* HD et *CpB* M sont plus transmissibles par *S. fragariae* et *R. padi* que par *S. avenae*.

2-3-Persistance du *BYDV-PAV CpA*, *BYDV-PAV CpB*, *BYDV-MAV A*, *BYDV-MAV B* dans le puceron :

Les résultats obtenus montrent que la concentration du *BYDV-MAV A*, *BYDV-MAV B*, *BYDV-PAV CpA*, *BYDV-PAV CpB* dans *S. fragariae*, décroît significativement entre le 1^{er} et le 5^{ème} jour de transfert (Fig. 12). Egalement la persistance de la transmission par *S. fragariae* du *BYDV-MAV A*, *BYDV-MAV B*, *BYDV-PAV CpA*, *BYDV-PAV CpB* jusqu'au 5^{ème} jour de transfert est à considérer (Tableau 20). La décroissance de la concentration des *BYDV-MAV A*, *BYDV-MAV B*, *BYDV-PAV CpA*, *BYDV-PAV CpB* est linéaire dans les lots de 10 aptères de chaque combinaison de virus / espèce d'aphide. Egalement les concentrations virales de chaque combinaison de virus / espèce d'aphide ont affiché des différences. En effet les concentrations du *BYDV-PAV CpA*, *BYDV-PAV CpB* sont élevées dans *S. avenae* et *R. padi*, alors qu'elles sont plus faibles dans *S. fragariae*. La situation est différente dans le cas du *BYDV-MAV B*, on observe que

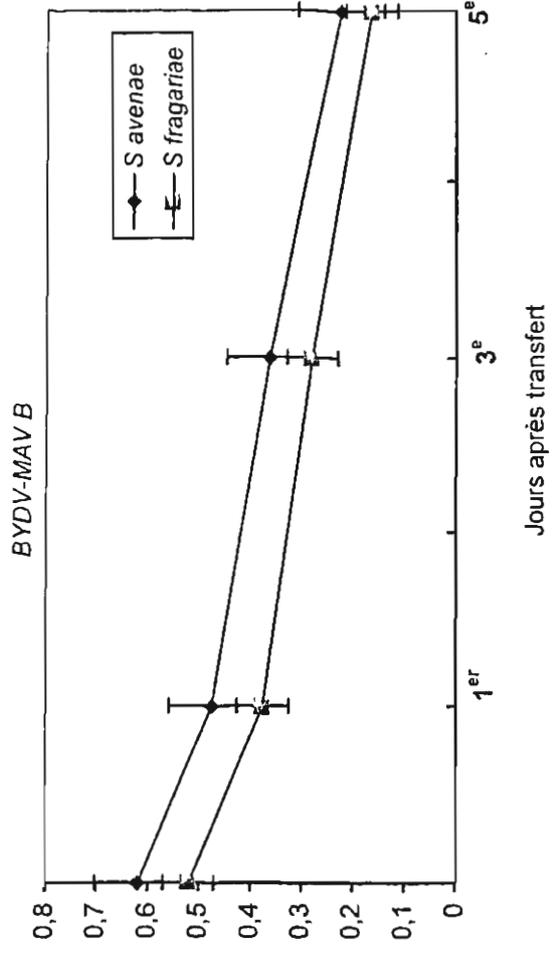
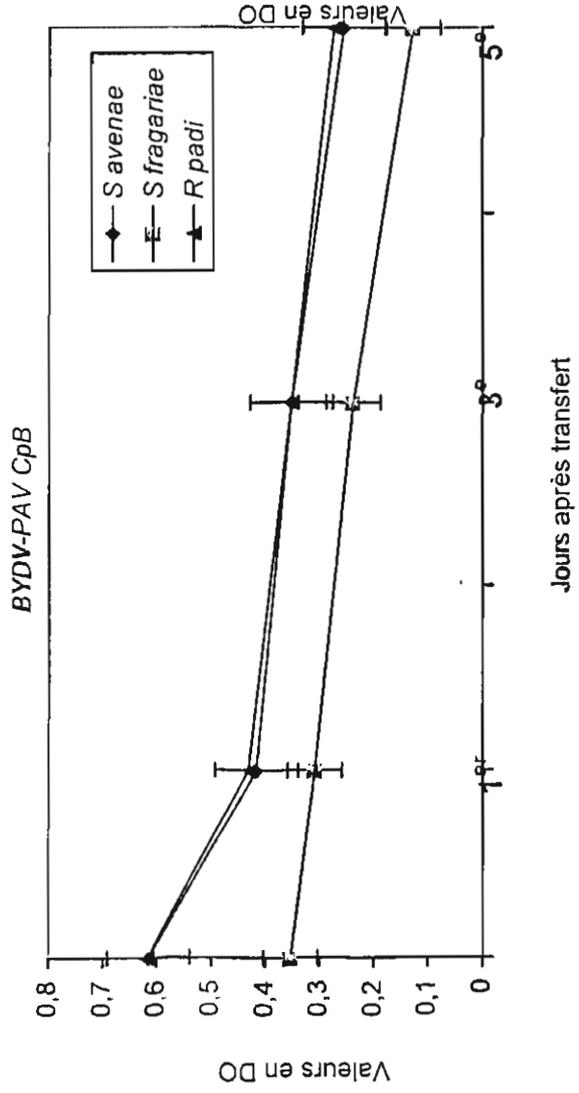
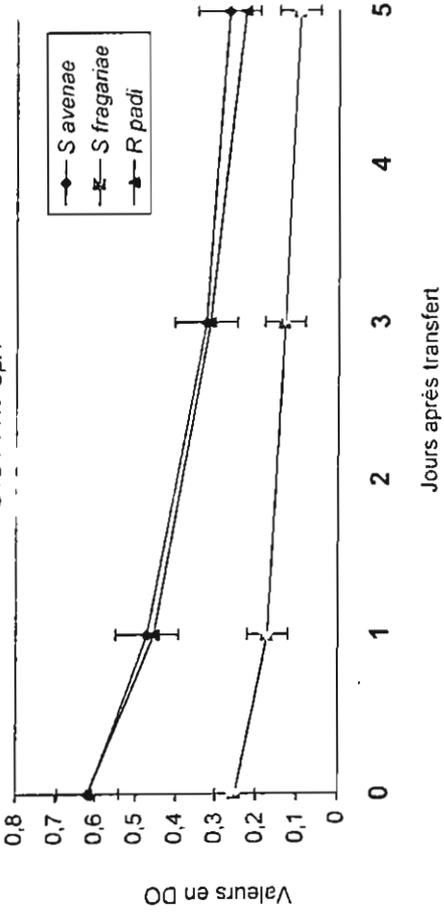
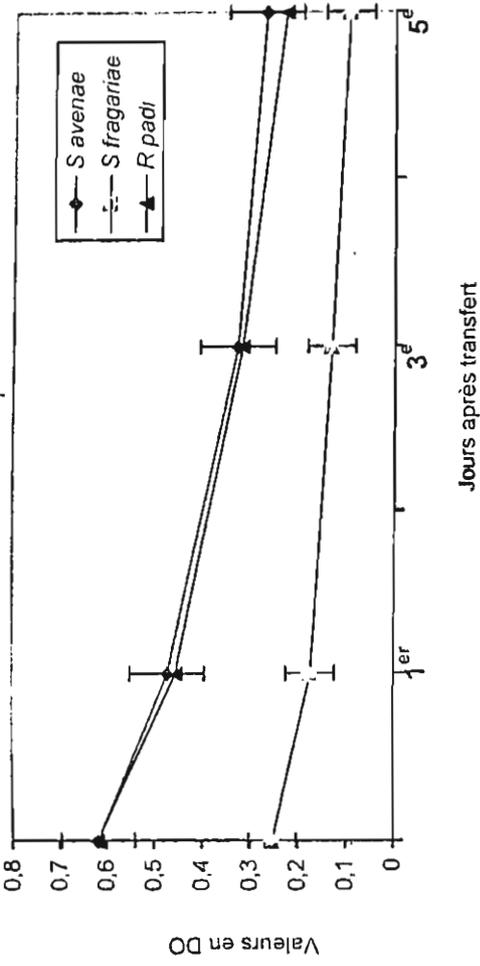


Figure 12 : Evolution des DO obtenues en ELISA après acquisition des virus par pucerons

la concentration du virus dans *S. avenae* et *S. fragariae* sont relativement peu éloignées. L'écart de la concentration du *BYDV-MAV A* est remarquable dans *S. avenae* et *S. fragariae*. Ces derniers transmettent efficacement le *BYDV-MAV A*, *BYDV-MAV B*, *BYDV-PAV CpA* et *BYDV-PAV CpB* jusqu'au 5^{ème} jour de transfert. La même observation est notée pour le *R. padi* concernant seulement le *BYDV-PAV CpA* ainsi que le *BYDV-PAV CpB*.

2-4-Cinétique de la multiplication des *BYDV-MAV A* et *BYDV-MAV B*:

Les résultats obtenus tendent à montrer que la multiplication du *BYDV-MAV B* transmis par *S. fragariae* est sensiblement différente de celle du *BYDV-MAV A* (**Tableau 21**). Les concentrations virales des plantes infectées par le *BYDV-MAV B* et *BYDV-MAV A* transmis par *S. fragariae* et *S. avenae*, à 10 jours de leur obtention, sont rapprochées. Par la suite les concentrations des plantes infectées par le *BYDV-MAV A*, *BYDV-MAV B* chutent à 15 jours de leur obtention, puis réaugmentent à 20 jours de leur obtention.

2-5-Analyse de la protection croisée entre le *BYDV-MAV B* et *BYDV-MAV A*:

Les résultats obtenus tendent à montrer que le *BYDV-MAV B* en position de virus prémunisant inhibe la multiplication du *BYDV-MAV A*, l'intervalle séparant les deux inoculations ne semble pas avoir d'incidence sur l'évolution des concentrations du *BYDV-MAV B* et *BYDV-MAV A* en infection double (**Tableau 22**). Dix jours après leur obtention, les concentrations virales dans les plantes inoculées par *S. avenae* et *S. fragariae* évoluent vers un mélange *BYDV-MAV BA*. Alors qu'à 15, 20 jours de leur obtention, les concentrations virales des plantes inoculées évoluent vers le *BYDV-MAV B*. La vitesse de multiplication du *BYDV-MAV B* est probablement supérieure à celle du *BYDV-MAV A*. Dans aucun cas on aboutit à un état où seul le *BYDV-MAV A* est présent. L'analyse de la protection croisée entre ces 2 virus apparentés (*BYDV-MAV B* et *BYDV-MAV A*) inoculés soit par *S. fragariae* ou par *S. avenae* n'a pas montré de différence. L'exclusion du *BYDV-MAV A* ne semble donc pas être liée au rôle joué par le vecteur mais plutôt à l'existence d'une compétition précoce pour les sites de reconnaissance chez la plante hôte, du moment que celui-ci était en position de virus compétiteur.

Tableau 21. Valeurs en D.O du test ELISA de la multiplication des *BYDV-MAV A*.

BYDV-MAV B transmis par le genre *Sitobion*

Virus	Pucerons	Jours après inoculation			
		5	10	15	20
<i>BYDV-MAV A</i>	<i>S. avenae</i>	0,192±0,01	1,192±0,52	0,438±0,45	0,924±0,74
	<i>S. fragariae</i>	0,194±0,25	1,264±0,23	0,846±0,23	1,002±0,13
<i>BYDV-MAV B</i>	<i>S. avenae</i>	0,394±0,42	1,454±0,12	0,942±0,63	1,102±0,12
	<i>S. fragariae</i>	0,292±0,24	1,546±0,12	1,048±0,56	2,346±0,54

Tableau 22. Détermination du *BYDV-MAV A*, *BYDV-MAV B* en fonction du rapport des D.O._{405nm}.

Pucerons	Jour après Inoculation	TAS-ELISA		Virus détectés
		M2	M4	
		<i>BYDV-MAV B</i>	<i>BYDV-MAVA</i>	
<i>S. fragariae</i>	5	0.592±0,11	0.528±0,16	<i>BYDV-MAV BA</i>
	10	0.804±0,17	0.798±0,26	<i>BYDV-MAV BA</i>
	15	1.842±0,39	0.026±0,01	<i>BYDV-MAV B</i>
	20	1.356±0,41	0.022±0,02	<i>BYDV-MAV B</i>
<i>S. avenae</i>	5	0.398±0,09	0.400±0,22	<i>BYDV-MAV BA</i>
	10	0.628±0,11	0.680±0,28	<i>BYDV-MAV BA</i>
	15	0.798±0,41	0.02±0,001	<i>BYDV-MAV B</i>
	20	0.958±0,58	0.034±0,01	<i>BYDV-MAV B</i>

2-6-Discussion:

Les transmissions comparées du *BYDV-PAV*, *BYDV-MAV*, *CYDV-RPV* et *RMV* par *S. fragariae*, ont montré que les *BYDV-PAV* et *BYDV-MAV* étaient transmissibles par ce puceron. Le *CYDV-RPV* et *RMV* n'ont pas été transmis par *S. fragariae*. On conclue donc que *S. fragariae* est un vecteur efficace de 2 *Luteovirus* (*BYDV-PAV* et *BYDV-MAV*). Cette situation est très semblable à celle décrite pour *S. avenae* ce qui permet de penser que le mécanisme de reconnaissance a pu se mettre en place avant la séparation des deux espèces du genre *Sitobion*. Notre étude a montré que les 2 *Polerovirus* (*CYDV-RPV* et *RMV*) ne sont pas reconnus par *S. fragariae*. Des travaux effectués en Grande-Bretagne (Watson et Mulligan 1960b) et en Australie (Guy et al., 1986) ont montré que *S. fragariae* est un vecteur du *CYDV-RPV*. Nos résultats diffèrent de ceux obtenus par ces auteurs. La différence est que nous avons réalisé des infections simples. Dans ce cas, lorsque *S. fragariae* est déposée en AAP sur des plantes sources ne contenant que le *CYDV-RPV*. Le résultat serait donc la non reconnaissance de ce virus et par voie de conséquence la non transmissibilité de celui-ci. Par contre *S. fragariae* peut reconnaître et transmettre faiblement le *CYDV-RPV* dans le cas d'une infection double par le couple (*BYDV-PAV*+ *CYDV-RPV*). Dans ce cas le *BYDV-PAV* a joué le rôle de virus assistant pour la transmission du *CYDV-RPV* (virus dépendant) par *S. fragariae* (Guy et al., 1987).

En raison de l'existence de variants de virus présentant des interactions particulières avec les espèces aphidiennes habituellement vectrices, les interactions *S. avenae* / *BYDV-PAV* et *R. padi* / *BYDV-PAV* ont été rapportées (Guo et al., 1996; Guo et al., 1997). Nous avons étudié l'importance de ce phénomène pour les couples *S. fragariae* / *BYDV-PAV* et *S. fragariae* / *BYDV-MAV* et en utilisant l'orge comme plante source. Les *BYDV-PAV*-RG, *BYDV-PAV*-M de France et *BYDV-PAV*-HD d'Algérie sont aussi bien transmis par *S. avenae* que par *S. fragariae*. Par ailleurs, en plus d'une gamme d'hôtes très large (Guy, 1988; D'Arcy, 1995), l'adjonction de *S. fragariae* dans la gamme de vecteurs du *BYDV-PAV* renforce sa place de virus majeur dans le complexe BYD. Les résultats de la concentration dans les lots de 10 aptères de chaque combinaison de virus / espèce d'aphide ont montré des différences. Les concentrations du *BYDV-PAV* Cpa, *BYDV-PAV* CpB sont élevées dans *S. avenae* et *R. padi*, et faibles dans *S. fragariae*. Concernant le *BYDV-MAV* B, les concentrations dans *S. avenae* et *S. fragariae* sont relativement peu éloignées. La différence de concentration du *BYDV-MAV* A dans *S.*

avenae et *S. fragariae* est significative. *S. fragariae* transmet efficacement le *BYDV-MAV A*, *BYDV-PAV B*, *BYDV-PAV CpA* et *BYDV-PAV CpB* jusqu'au 5^{ème} jour de transfert. On conclue donc que la détection par ELISA du taux de virus dans les lots de 10 aptères des combinaisons de virus / *S. fragariae* décroît plus rapidement que celui des combinaisons de virus / *S. avenae* , virus / *R. padi*. Ces variations d'efficacité entre vecteurs ne sont pas attribuées à l'inaptitude à l'acquisition des virus, mais sont associés à la régulation du virus pendant la période de rétention dans le puceron.

Des AcSMCx ont été utilisés pour le suivi de l'évolution des concentrations respectives du *BYDV-MAV A*, *BYDV-MAV B*. L'AcMC M4 réagit positivement avec tous les sérotypes *MAV* et l'AcMC M2 reconnaît spécifiquement les sérotypes *MAV B*. L'estimation relative (D.O. ELISA) de la présence de chaque virus a montré que la multiplication du *BYDV-MAV B* transmis par *S. fragariae* est sensiblement différente de celle du *BYDV-MAV A* transmis par le même virus.

En vue de mieux comprendre la place du *BYDV-MAV A* dans son écosystème ainsi que ses interactions avec le *BYDV-MAV B* bien plus fréquent, nous avons réalisé des infections doubles. Celles-ci ont été décalées en utilisant l'orge comme plante multiplicatrice. Les résultats obtenus tendent à montrer que le *BYDV-MAV B* en position de virus prémunisant inhibe la multiplication du *BYDV-MAV A*. Wen et al., (1991b) ont montré que l'isolat *BYDV-MAV PSI* inhibe l'installation du *BYDV-MAV NY* à un intervalle de 7 et 9 jours. L'inhibition la multiplication du *BYDV-MAV A* n'apporte pas d'explication à la rareté du *BYDV-MAV A*. L'hypothèse la plus vraisemblable pourrait tenir à la forte agressivité de ce virus chez les céréales entraînant une mort prématurée de celles-ci. Le *BYDV-MAV A* se maintiendrait plus facilement chez certaines graminées fourragères généralement plus tolérantes vis-à-vis des *Luteoviridae*. Cette hypothèse mérite d'être exploré en effet si les réservoirs de ces virus constitués par les graminées sauvages d'une part et de repousses d'autre part sont souvent déconnectés. Des circonstances particulières pourraient favoriser des réajustement certaines années.

Tableau 23: Résultats du test TAS et DAS-ELISA (D.O. 405 nm)

Semaine de végétation	Nb.plants prélevés	Nb.plants testés	Nb.plants positifs	TAS-ELISA			DAS-ELISA					Conclusion
				MC P2 et P14	MC M2	MC M16S	PC RPV	PC RMV	PC SGV			
S1	70	47	14	+	+	+	+	+	+	0	PAY, MAV, RPY, PAY/MAV	
S2	70	41	15	+	+	+	+	+	+	0	PAY, MAV, RPI, RMV, PAY/MAV	
S3	70	52	21	+	+	-	+	+	+	0	PAY, MAV, RPI, RMV, PAY/MAV	
S4	70	70	19	+	+	+	+	+	+	0	PAY, MAV, RPI, RMV, PAY/MAV	
S5	70	65	17	+	+	+	+	+	+	0	PAY, MAV, RPI, RMV, PAY/MAV	
S6	70	55	10	+	+	+	+	+	+	0	PAY, MAV, RPI, RMV, PAY/MAV	
S7	70	21	2	0	0	+	0	0	0	0	PAY/MAV	
S8	70	40	8	+	+	+	+	+	0	+	PAY, MAV, RPI, SGI, PAY/MAV	
Total	560	391	107	32	30	12	22	16	1			

: positif. 0: négatif. PAY: *Padi avenae virus*, MAV: *Macrosiphum avenae virus*. RPI: *Rhopalosiphum padi virus*, SGI: *Schizaphis graminum virus*, RMV: *Rhopalosiphum maidis virus*

3-Résultats de l'Analyse par ELISA et immunocapture-RT-PCR des virus associés au BYD sur blé tendre

3-1-Incidence des virus associés au BYD:

L'incidence de la jaunisse nanisante de l'orge était de 27,36% (107/391). Pendant les 8 semaines de prélèvement des échantillons, le *BYDV-PAV* (32 isolats), *BYDV-MAV* (30 isolats), *CYDV-RPV* (22 isolats) et le *RMV* (16 isolats) étaient présents. Le sérotype *SGV* était très rare, uniquement 1 seul isolat a été détecté par l'AcPC *SGV* la dernière semaine de prélèvement des échantillons. L'AcMC PM63 a détecté seulement 12 isolats (Tableau 23).

3-2-Fréquence des sérotypes du BYD en infection simple:

Les résultats du test DAS et TAS-ELISA ont montré l'abondance de l'infection simple du *BYDV-PAV* (28%), *BYDV-MAV* (25%), *CYDV-RPV* (14%) et *RMV* (13%) (Fig. 13a).

3-3-Fréquence des sérotypes du BYD en infection mixte:

Les infections mixtes sont représentées le plus souvent en infection double (*BYDV-PAV+CYDV-RPV*) et (*BYDV-MAV+RMV*) et en infection triple (*BYDV-PAV+BYDV-MAV+CYDV-RPV*). En infection double (*BYDV-PAV+BYDV-MAV*) est dominant avec une fréquence de 11,22%, suivi de (*BYDV-PAV+CYDV-RPV*) 3,74%, (*BYDV-MAV+CYDV-RPV*) 1,87%, alors que (*BYDV-MAV+CYDV-RPV*), (*BYDV-PAV+RMV*), (*BYDV-MAV+RMV*) et (*BYDV-PAV+SGV*) ont enregistré une fréquence de 0,93% chacun. L'infection triple est représentée par (*BYDV-PAV+BYDV-MAV+CYDV-RPV*) avec une fréquence de 3,74% (Fig. 13b).

3-4-Variabilité moléculaire des *BYDV-PAV*:

Seuls les échantillons à valeurs de DO relativement très élevées en ELISA avec les AcsMCx P14 et P2 ont été testés en immunocapture-RT-PCR.

Les analyses effectuées sur 12 isolats révèlent la présence de 7 isolats de *BYDV-PAV* profil de type A et 5 isolats de *BYDV-PAV* profil de type B (Fig. 14).

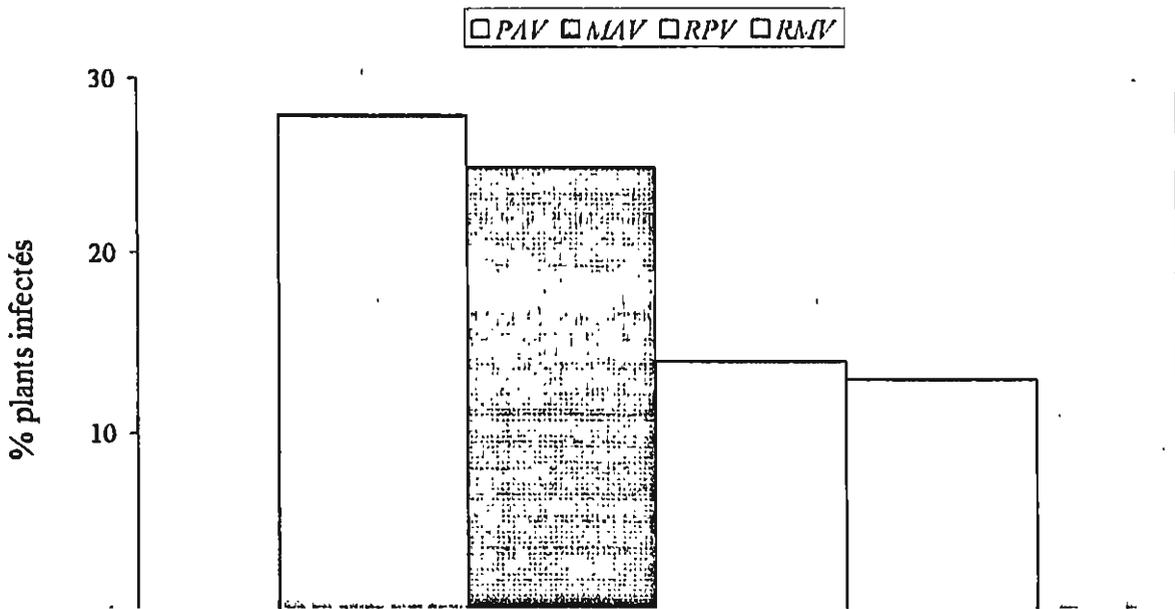


Figure 13a: Fréquences des sérotypes du BYD en infection simple sur le blé tendre

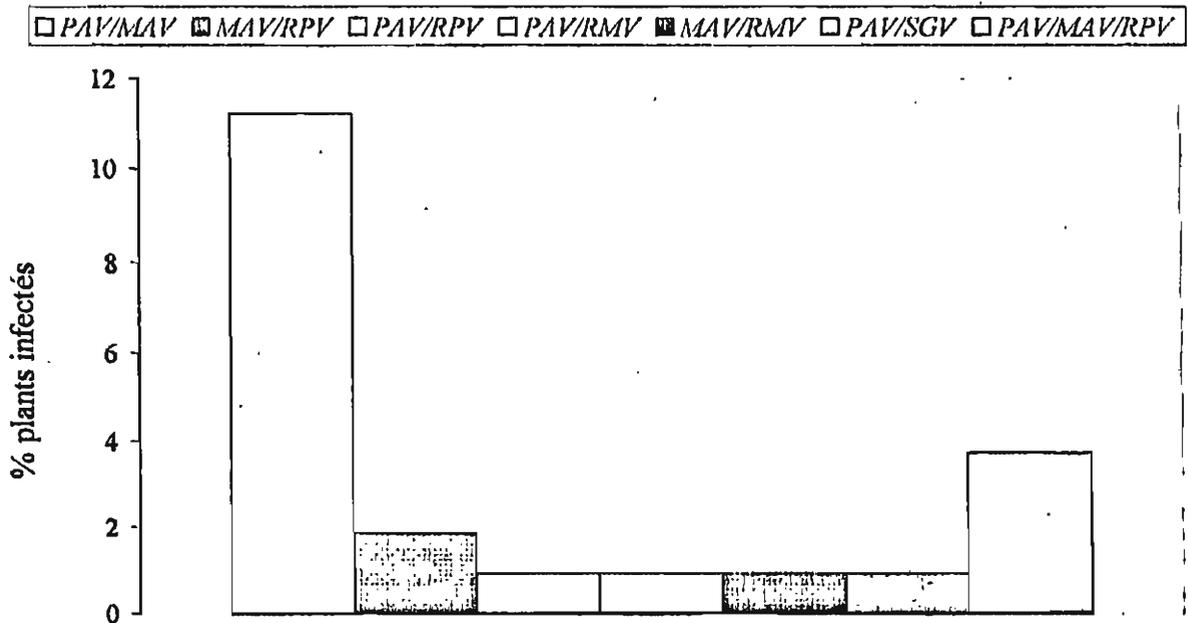


Figure 13b: Fréquence des sérotypes du BYD en infection mixte sur blé tendre

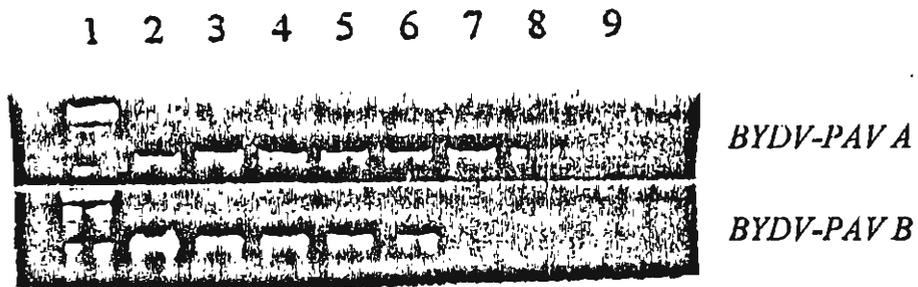


Figure 14: Détection des *BYDV-PAV A*, *BYDV-PAV B* sur orge cv Plaisant par immunocapture-RT-PCR. Ligne 1 (1: ADN KB marqueur, de 2 à 9 plants d'orge infectés par le *BYDV-PAV A*). Ligne 2 (1: ADN KB marqueur, de 2 à 7 plants d'orge infectés par le *BYDV-PAV B*).

3-5-Variabilité biologique du *BYDV-PAV* et *RMV*:

Deux à trois semaines après la transmission des virus, les plantes ont extériorisé des symptômes de type BYD. Le symptôme le plus commun est le jaunissement progressif des feuilles sous forme de bandes parallèles à partir de leur extrémité vers la base en commençant par les jeunes feuilles vers les plus âgées. Le *BYDV-PAV CpA* provoque des symptômes sévères sur orge cv Plaisant. Les plantes présentent généralement un retard de croissance important ainsi qu'une réduction de l'espace interfoliaire (Fig. 15). Le *BYDV-PAV CpB* provoque des symptômes légers, et sont de type jaunisse modérée (Fig. 16).

Sur avoine cv Coast Black, le *RMV* induit des symptômes de rougissements des feuilles suivi de nanisme et tallage excessif des plants (Fig. 17).

3-6-Discussion:

L'étude épidémiologique menée en 1998 a montré la présence des virus associés au BYD avec des fréquences variables des différents sérotypes rencontrés. L'incidence du BYD était de 27,23%. Le *BYDV-PAV* est dominant (28%) suivi respectivement du *BYDV-MAV* (25%), *CYDV-RPV* (14%) et *RMV* (13%). Nos résultats se rapprochent de ceux obtenus dans la région de l'Afrique du nord et de l'Asie de l'ouest (west asia and north africa (WANA), où les virus rencontrés chaque année étaient principalement le *BYDV-PAV*, *BYDV-MAV*, *CYDV-RPV* et *RMV*, avec une fréquence importante du *BYDV-PAV* dans la nature par rapport à celle des autres virus associés au BYD (El-Yamani and Hill 1990; El-Yamani et al., 1992). Nos résultats concordent également avec ceux obtenus en Australie (Ealing et al., 1989 ; Guy et al., 1987) en Californie (Gildow and Rochow 1983); et au Portugal (Pereira (1993). Les fréquences des infections mixtes sont faibles. La fréquence du (*BYDV-PAV+BYDV-MAV*) est de 11,22% suivie de (*BYDV-PAV+ BYDV-MAV+ CYDV-RPV*) 3,74%, (*BYDV-MAV+ CYDV-RPV*) 1,87%. Le (*BYDV-PAV+ CYDV-RPV*), (*BYDV-PAV+RMV*), (*BYDV-PAV+SGV*) et (*BYDV-MAV+RMV*) ont enregistré une fréquence identique de 0,93% chacun. En France et en Grande Bretagne, l'infection mixte est représentée par le (*BYDV-PAV+BYDV-MAV*), (*BYDV-PAV+BYDV-MAV+CYDV-RPV*), (*BYDV-PAV+CYDV-RPV*), (*BYDV-MAV+ CYDV-RPV*) (Henry et al., 1993). La prédominance du *BYDV-PAV* peut être expliqué par sa large gamme d'hôte en particulier par rapport à celle du *CYDV-RPV* (Belkahla and Lapierre, 1999; Beuve and Lapierre, 1992; 1993;

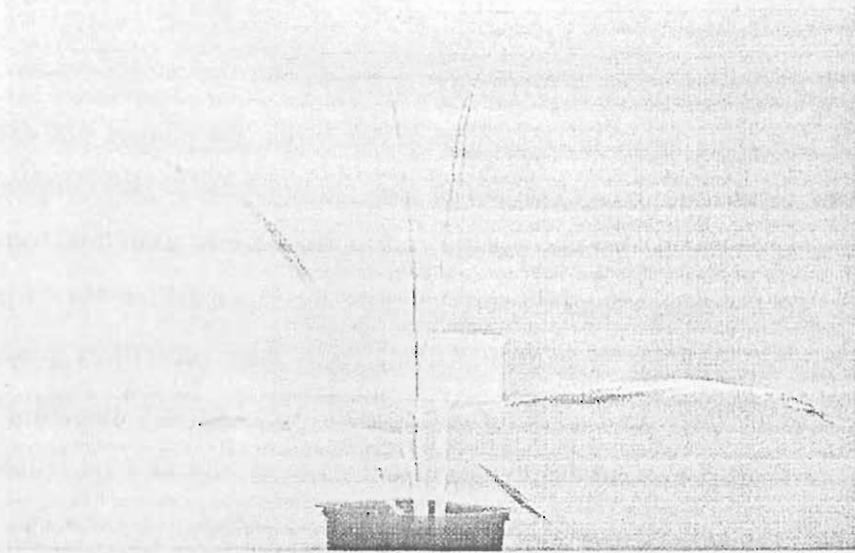


Figure 15: Symptôme provoqué par le *BYDV-PAV Cp A* sur orge cv Plaisant

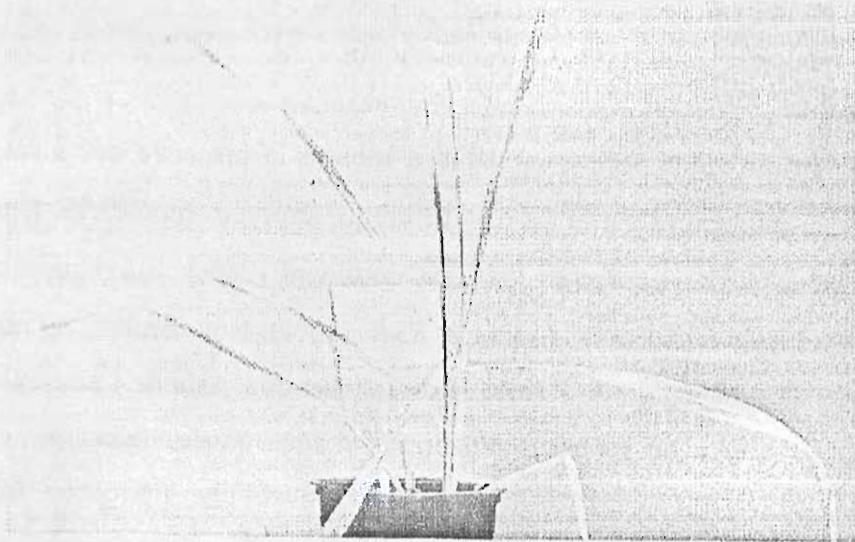


Figure 16: Symptôme provoqué par le *BYDV-PAV Cp B* sur orge cv Plaisant



Figure 17: Symptôme provoqué par le *RMV* sur avoine cv Coast Black

D'Arcy, 1995) et par sa transmission non spécifique par *R. padi* et occasionnellement par *S. avenae* (Beuve and Lapierre,1992; Guo,1995). Des travaux récents ont montré que *S. fragariae* est un vecteur efficace du *BYDV-PAV* (Belkahla and Lapierre, soumis). Les résultats de l'immunocapture-RT-PCR ont montré une variabilité moléculaire entre les 12 isolats du *BYDV-PAV*. Ainsi les isolats ont été répartis en 2 types : *BYDV-PAV* profil de type *A* (7 isolats) et des *BYDV-PAV* profil de type *B* (5 isolats). Chay et al., (1996b) ont étudié une portion du gène de la capsid de 21 isolats du *BYDV-PAV* par la technique du polymorphisme dans la longueur des fragments de restriction (RFLP). Les fragments génomiques amplifiés et découpés par l'enzyme de restriction *Sau3AI* (site de restriction: GATC) répartissent les isolats en 2 types (*A* et *B*).

L'analyse de la variabilité biologique a montré que les *BYDV-PAV A* extériorisent des symptômes de type jaunisse forts, alors que ceux des *BYDV-PAV B* sont faibles. (Chaloub, 1994b ; Chay et al., 1996a) ont caractérisé différents isolats du *BYDV-PAV* présentant des propriétés biologiques et en particulier des pathogénicités différentes. Les symptômes du *RMV* sur avoine Coast Black sont des rougissements.

CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES

Conclusions et perspectives:

De nombreux éléments bibliographiques suggéraient une importance considérable des virus associés au BYD en Afrique du nord. Le protocole mis en place dans cette étude avait pour objet d'estimer plus précisément l'importance de ces virus dans le contexte algérien. Un des projets visait à décrire la situation pendant 3 années consécutives, un projet plus lourd avait été bâti pour amorcer une première évaluation de la dynamique des flux de vecteurs et de virus. Ce n'est que sur l'état des lieux que notre activité a pu se développer. Ce travail a été réalisé en tentant d'exploiter au mieux les données accumulées sur des populations de pucerons et sur les variants des différents virus détectés.

Bien que des effectifs relativement élevés aient été testés, les données recueillies de l'analyse des fréquences de certains virus associés au BYD dans les zones céréalières, ne permettent pas d'apprécier la dynamique des migrations annuelles des vecteurs.

Ainsi, parmi les vecteurs potentiels des virus associés au BYD reconnus de part le monde, en Algérie les principales espèces d'aphides recensées dans les cultures céréalières en 1997 et 1998 sont: *R. padi*, *S. avenae*, *S. fragariae*, *R. maidis* et *S. graminum*. Les symptômes type BYD ont été observés dans toutes les parcelles de céréales prospectées (orge, avoine, blé tendre et blé dur).

Le sérotype *BYDV-PAV* a été le plus fréquemment détecté dans l'ensemble des échantillons prélevés. Aucun sérotype *BYDV-MAV* identifié n'a réagit avec l'AcMC MAFF2 ce qui constitue une indication importante sur la variabilité de ce virus dans les différentes zones géographiques.

Le symptôme le plus commun est le jaunissement progressif des feuilles sous forme de bandes parallèles à partir de leur extrémité vers la base en commençant par les jeunes feuilles vers les plus âgées. Le *BYDV-PAV* provoque chez l'orge cv Plaisant des symptômes de jaunissement foliaires. Les isolats de *BYDV-PAV CpA* étudiés déterminent des symptômes foliaires plus importants associés à un retard de croissance et une réduction des entre-nœuds. Les isolats *BYDV-PAV CpB* sont beaucoup moins agressifs. Les plantes présentent généralement un retard de croissance important ainsi qu'une réduction de l'espace interfoliaire. Les symptômes observés sont de type jaunisse modérée. Les isolats algériens de *RMV* montrent des symptômes sévères sur avoine cv Coast Black. Les symptômes les plus fréquents sont des rougissements, nanisme et un tallage excessif.

Les causes de la distribution très inégale des deux sérotypes de *BYDV-MAV* n'est pas expliquée. Bien qu'isolé en Belgique, le sérotype *BYDV-MAV A* n'a pas été retrouvé dans ce pays ni en Algérie ni en France. Le *BYDV-MAV B* est pourtant assez fréquent en Belgique (7 à 12% des échantillons de BYD chez l'orge). Chez le maïs en France dans toutes les parcelles prospectées (Versailles, INRA et Desmonts, Essonne) seuls *BYDV-PAV* et *BYDV-MAV* ont été détectés. Comme chez l'orge le *BYDV-PAV* est dominant et le *BYDV-MAV A* est absent. Ces résultats confirment que le *BYDV-MAV A* est inclus dans un écosystème très particulier.

Contrairement aux régions plus nordiques parmi les vecteurs du BYD on peut soupçonner qu'en Algérie le puceron *S. fragariae* joue un rôle épidémique important. En 1998, des populations élevées de *S. fragariae* ont été observées sur blé tendre dans la région de Blida. Une étude a donc été entamée pour déterminer sa capacité à transmettre différents virus du BYD. Les transmissions comparées du *BYDV-PAV*, *BYDV-MAV*, *CYDV-RPV* et *RMV* par *S. fragariae*, ont montré que les *BYDV-PAV* et *BYDV-MAV* étaient transmissibles par ce puceron. Le *CYDV-RPV* et *RMV* n'ont pas été transmis par *S. fragariae*.

En raison de l'existence de variants de virus présentant des interactions particulières avec les espèces aphidiennes habituellement vectrices, l'interaction *S. avenae* / *BYDV-PAV*, *R. padi* / *BYDV-PAV* ont été rapportées. Nous avons étudié l'importance de ce phénomène pour le couple *S. fragariae* / *BYDV-PAV*, *S. fragariae* / *BYDV-MAV* en utilisant l'orge comme plante source. Les *BYDV-PAV-RG*, *BYDV-PAV-M* de France et *BYDV-PAV-HD* d'Algérie sont aussi bien transmis par *R. padi*, *S. avenae* que par *S. fragariae*. On conclue donc que *S. fragariae* est un vecteur efficace de 2 *Luteovirus* alors que les 2 *Polerovirus* ne sont pas reconnus par ce puceron. Cette situation est très semblable à celle décrite pour *S. avenae* ce qui permet de penser que le mécanisme de reconnaissance a pu se mettre en place avant la séparation des 2 espèces du genre *Sitobion*. Par ailleurs, en plus d'une gamme d'hôtes très large, l'adjonction de *S. fragariae* dans la gamme de vecteurs du *BYDV-PAV* renforce sa place de virus majeur dans le complexe BYD. L'efficacité de la transmission des *BYDV-PAV CpA*, *BYDV-PAV CpB* par *S. fragariae* est semblable à celle de *R. padi* et *S. avenae*. Egalement la concentration des *BYDV-PAV CpA*, *BYDV-PAV CpB* dans des lots de 10 individus de chaque espèce a montré des différences.

En vue de mieux comprendre la place du *BYDV-MAV* dans son écosystème ainsi que ses

interactions avec *BYDV-MAV B* bien plus fréquent, nous avons réalisé des infections doubles. Celles-ci ont été décalées en utilisant l'orge comme plante multiplicatrice. Les résultats obtenus tendent à montrer que le *BYDV-MAV B* en position de virus prémunisant inhibe la multiplication du *BYDV-MAV A*. Cette donnée n'apporte pas d'explication à la rareté du sérotype *BYDV-MAV A*. L'hypothèse la plus vraisemblable pourrait tenir à la forte agressivité de ce virus chez les céréales entraînant une mort prématurée de celles-ci. Le *BYDV-MAV A* se maintiendrait plus facilement chez certaines graminées fourragères généralement plus tolérantes vis-à-vis des *Luteovirus*. Cette hypothèse mérite d'être explorée en effet si les réservoirs de ces virus constitués par les graminées sauvages d'une part et de repousses d'autre part sont souvent déconnectés. Des circonstances particulières pourraient favoriser des réajustements certaines années.

En Algérie le complexe BYD est plus varié que dans les 2 pays européens comparés, la France et la Belgique, et se rapproche des situations rencontrées en Europe centrale et du sud. En effet si comme dans la majorité des situations le *BYDV-PAV* est dominant, tous les autres virus associés au BYD sont aussi présents. De plus la plupart des associations possibles sont détectées. Les infections mixtes sont de type (*BYDV-PAV+BYDV-MAV*), (*BYDV-PAV+BYDV-MAV+CYDV-RPV*), (*BYDV-MAV+CYDV-RPV*), (*BYDV-PAV+CYDV-RPV*), (*BYDV-PAV+RMV*), (*BYDV-PAV+SGV*) et (*BYDV-MAV+RMV*).

Nos connaissances sur l'épidémiologie du BYD en Algérie comme dans beaucoup d'autres régions du monde sont encore très limitées. Nous avons observé que dans les zones prospectées dès la fin de l'automne et début du printemps, l'infection de la culture de blé par deux ou trois virus du BYD était précoce. Cette situation s'explique par la présence pendant les premières semaines de végétation de la culture de fortes populations de *S. avenae*, *S. fragariae* et de *R. padi*.

La jaunisse nanisante de l'orge est considérée comme la virose la plus importante dans toutes les zones céréalières. Cette maladie a été signalée dans la région du Maghreb depuis 1990. Les travaux effectués lors de cette étude en Algérie ont montré que les virus associés au BYD sont effectivement présents et déterminent de graves problèmes dans toutes les zones céréalières. En effet toutes les parcelles prospectées sont affectées par ces virus. La conjonction de conditions favorables au développement de fortes populations aphidiennes et la présence d'inocula viraux permanents, mais encore

mal cernés explique la gravité de ces viroses en Algérie. Plusieurs stades du cycle épidémique sont généralement caractérisés lorsque l'inoculum primaire (puceron et virus) est limité: l'installation des premiers migrants, la dispersion des larves de première génération suivie d'une extension complexe de la maladie en fonction de l'évolution des morphes de pucerons et de leur activité liées aux conditions climatiques. Le plus souvent en raison d'un inoculum viral primaire relativement faible, la phase de dispersion joue un rôle capital dans le développement des épidémies. La lutte contre les virus associés au BYD a fait l'objet de très nombreuses recherches dans le monde. Cette lutte dans le champs, s'articule essentiellement autour des méthodes chimiques et culturales et éventuellement biologiques. En cas d'absence de sources de tolérances suffisantes contre ces virus. Il s'agit donc de mettre en place des programmes de lutte chimique d'une part contre les pucerons migrants surtout s'ils sont très virulifères et dont l'installation s'effectue dès le début de végétation des céréales et/ou d'autre part contre les pucerons présents dans les foyers primaires d'infection. L'utilisation d'insecticide, à la fin de l'automne et au début du printemps, diminuerait la dispersion des virus dans la parcelle.

Dans certains contextes l'utilisation d'herbicide, diminuerait les mauvaises herbes des *Poaceae*, hôtes secondaires des pucerons et des virus. Dans le même esprit il serait nécessaire d'éliminer les résidus de récolte afin de limiter la quantité de l'inoculum primaire présent à l'automne.

Traditionnellement en Algérie les semis ont lieu, si les conditions le permettent, entre le mois de Novembre à la mi-décembre. Par conséquent, si l'exposition des cultures aux infections pouvait être évité à un stade jeune, les pertes en rendements pouvaient substantiellement être diminuées. Dans l'impossibilité de retarder les dates de semis, l'utilisation de semence enrobées d'insecticide, serait une mesure préventive à envisager dans les zones les plus exposées (climat, précocité du semis).

L'utilisation de prédateurs de pucerons pourrait être envisagée en cultures céréalières. Les résultats obtenus à l'aide de certaines espèces d'arthropodes ont montré leur intérêt dans la lutte contre plusieurs espèces de pucerons potentiellement vectrices des virus associés au BYD. Ainsi des lâchées de coccinelles aphidophages ont permis de diminuer considérablement les populations de pucerons, réduisant ainsi leur rôle dans le développement épidémique du BYD.

En Algérie, dans l'avenir, les recherches doivent être encore centrées sur la génétique classique dont le potentiel n'est certainement pas épuisé mais aussi sur le génie moléculaire dont les avancées sont très prometteuses. Ces 2 voies ne peuvent être bien valorisées que si nos connaissances sur les virus et leurs variants sont bien adaptées. Notre travail a tenté de contribuer à collecter ce type de données.

Il serait donc indispensable de poursuivre ces recherches afin de bien cibler les gènes de résistances qu'il faudra exploiter.

Il existe en Algérie les 2 formes du *BYDV-PAV* (*BYDV-PAV CpA* et *BYDV-PAV CpB*).

Quel serait le comportement de nos variétés vis-à-vis de ces 2 virus ?

Nous avons rarement détecté le *RMV* qui semble aux Etats-Unis d'Amérique très dommageable chez le maïs doux. Quand sera-t-il en Algérie sachant que le *RMV* existe et qu'il existe aux Etats-Unis d'Amérique 2 formes très éloignées ?

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- 12-Boubetra S., Mohammedi F., Ait-Yahia A., Ait-Ouada M., Louanchi M. 1999. Identification sérologique et biologique de quelques virus de céréales dans la région centre de l'Algérie. Pages 205-210 in: Proceedings du 2^{ème} symposium régional sur les maladies des céréales et légumineuses alimentaires. 10-12 nov. Nabeul, Tunisie. 561 pp.
- 13-Bouzouba S., Niesbach-Klößgen U., Jupin I., Guilley H., Richards K. and Jonard G. 1991. Shortened forms of beet necrotic yellow vein virus RNA₃ and RNA₄: internal deletion and a subgenomic RNA. *J. Gen. Virol.* 72: 259-266.
- 14-Brandes J. and Wetter C. 1959. Classification of elongated plant viruses on the basis of particles morphology. *Virology* 88: 99-109.
- 15-Brault V. and Miller W.A. 1992. Translational frameshifting mediated by a viral sequence in plants cells. *Proc. Nat. Acad. Sc., USA* 89: 2262-2266.
- 16-Brumfield S.K.Z., Carrol T.W. and Gray S.M. 1992. Biological and serological characterization of three Montana RMV-Like isolates of barley yellow dwarf virus. *Plant Dis.* 76: 33-39.
- 17-Brunt A.A. 1989. Viruses and virus-like pathogens transmitted by zoosporic fungi. *OEPP/EPPO Bul.* 19: 437-451.
- 18-Bruyère A., Brault V., Ziegler-Graff V., Simonis M.T. Van Den Heuvel J.F.J.M. 1997. Effects of mutation in the beet western yellows virus readthrough protein on its expression and packaging and on virus accumulation, symptoms and aphid transmission. *Virology* 230: 323.
- 19-Bujarski J.J. and Kaesberg P. 1986. Genetic recombinaison between RNA component of a multipartite plant virus. *Nature* 321: 528-531.
- 20-Burnett P.A., ed. 1984. Barley yellow dwarf, a Proceeding of the workshop. CIMMYT, Mexico, D.F., Mexico. 209 pp.
- 21-Burnett P.A., ed. 1990. World perspectives on Barley yellow dwarf. CIMMYT, Mexico, D.F., Mexico. 511 pp.
- 22-Burnett P.A. and Mezzalama M. 1992. The CIMMYT barley yellow dwarf program: Pages 33-46 in: Barley yellow dwarf in West Asia and North Africa. Comeau A. and Makkouk K.M. eds., ICARDA, Aleppo, Syrie. 239 pp.
- 23-Carter N. and Plumb R.T. 1991. The epidemiology of cereal viruses. Pages 193-208 in: The ecology of temperate cereal fields. Firbank L.G., Carter N., Darbyshire J.F. and Potts G.R., eds. Blackwell Scientific Publications, Oxford. 586 pp.
- 24-Cervera M.T., Riechmann J.L., Martin M.T. and Garcia J.A. 1993. 3'-terminal sequence of the plum pox virus PS and P6 isolates: evidence for RNA recombinaison within the potyvirus group. *J. Gen. Virol.* 74: 329-334.

- 25-Chahloub B.A. 1994. Le sérotype du virus de la jaunisse nanisante de l'orge (BYDV-PAV): interaction d'isolats du *BYDV-PAV* avec l'orge cultivée (*Hordeum vulgare* L.); contrôle génétique de la résistance partielle des génotypes d'orge; polymorphisme de la région 3'-terminale du génotype viral. Th. Doc. Inst. Polytech. Toulouse. 137 pp.
- 26-Chahloub B.A., Kelly L., Robaglia C. and Lapierre H. 1994. Sequence variability in the genome 3-terminal region for 10 geographically distinct PAV-like isolates of barley yellow dwarf virus: analysis of the ORF6 variation. Arch. Virol. 139: 403-416.
- 27-Chay C.A., Gunasinge U.B., Dinesh-Kumar S.P., Miller W.A. and Gray S.M. 1996a. Aphid transmission and systemic plant infection determinants of barley yellow dwarf luteovirus-PAV are contained in the protein readthrough domain and 17 kDa protein, respectively. Virology 219: 57-65.
- 28-Chay C.A., Smith D.M., Vaughan R. and Gray S.M. 1996b. Diversity among isolates within the PAV serotype of barley yellow dwarf virus. Phytopathology 86: 370-377.
- 29-Cheng S.L., Domier L.L. and D'Arcy C.J. 1994. Detection of the readthrough protein of barley yellow dwarf virus. Virology 202: 1003-1006.
- 30-Clark M.F. and Adams A.N. 1977. Characteristics of microplate methods of enzyme-linked immunosorbent assay for detection of plant viruses. J. Gen. Virol. 34: 475-483.
- 31-Clement D.L., Lister R.M. and Foster J.E. 1986. ELISA based studies on the ecology and epidemiology of barley yellow dwarf virus in Indiana. Phytopathology 76: 86-92.
- 32-Comeau A. and Dubuc J.P. 1977. Observation on the barley yellow dwarf virus epidemic in eastern Canada. Can. Plant Dis. Surv. 57: 42-44.
- 33-Comeau A. and Makkouk K.M., eds. 1992. Barley yellow dwarf in West Asia and North Africa. ICARDA, Aleppo, Syria. 239 pp.
- 34-Comeau A. 1987. Effects of BYDV inoculations at various dates in oat, barley, wheat, rye, and triticale. Phytoprotection 68: 97-109.
- 35-Conti M., D'Arcy C.J., Jedlinski H. and Burnett P.A. 1990. The «yellow plague» of cereals. Pages 1-6 in: World perspectives on Barley yellow dwarf. P.A. Burnett ed. CIMMYT, Mexico, D.F., Mexico. 511 pp.
- 36-Creamer R. and Falk B.W. 1989. Characterization of nonspecifically aphid-transmitted CA-RPV isolate of barley yellow dwarf virus. Phytopathology 79: 942-946.

- 37-Creamer R. and Falk B.W. 1990. Direct detection of transencapsidated barley yellow dwarf luteoviruses in doubly infected plants. *J. Gen. Virol.* 71: 211-217.
- 38-D'Arcy C.J. 1995. Symptomatology and host range of barley yellow dwarf. Pages 9- 28 In D'Arcy, C. J. and, P.A. Burnett (eds.) *Barley yellow dwarf. Forty years of progress, 1995.* APS Press. St. Paul ; Minn. 374 pp.
- 39-D'Arcy C.J., Torrance L. and Martin R. 1989. Discrimination among luteoviruses and their strains by monoclonal antibodies and identification of common epitopes. *Phytopathology* 79: 869-873.
- 40-D'Arcy, C.J., and Burnett, P.A. 1995. *Barley Yellow Dwarf: Forty years of progress.* D'Arcy, C.J., and Burnett, P.A. (eds.) APS Press. St. Paul Minn. 374 pp.
- 41-D'Arcy C.J., Domier L. and Mayo M.A. 1999. *Luteoviridae.* in *Seventh report of the international Committee on the Taxonomy of Viruses,* in press. Elsevier, New York.
- 42-De Bokx J.A. 1987. Biological properties. Pages 52-92 in: *Viruses of potatoes and seed-potato production.* De Boks J.A. and Van Der Want J.P.H. eds., Pudoc Wageningen. 325 pp.
- 43-De Zantedoni A.P.M., Gibbs M.J., Gould E.A. and Holmes E. 1996. A reevaluation of the higher taxonomy of viruses based on RNA polymerases. *J. Virol.* 70: 6083-6096.
- 44-Delaunay T. and Mancouvriez P. 1990. Mouse immunoglobulin isotyping. Pages 367-371 in: *Rat hybridomas and rat monoclonal antibodies.* Bazin M. ed., CRC Press, Inc, Boca Raton, Fla. 359 pp.
- 45-Dixon A. 1973. *Biology of aphids.* Studies in biology 44. Arnold D.E. ed., London, 58 pp.
- 46-Dolja V.V., Karasev A. and Koonin E.V. 1994. Molecular biology and evolution of closteroviruses: sophisticated build-up of large RNA genomes. *Ann. Rev. Phytopathol.* 32: 261-285.
- 47-Domingo E., Martinez-Salas E., Sobrino F., De la Torre J.C., Portela A., Ortin J., López-Galíndez C., Pérez-Breña P., Villanueva N., Rafael N., Vandpol S., Steinhauer D., De Polo N. and Holland J. 1985. The quasispecies (extremely heterogenous) nature of viral RNA genome population: biological relevance, a review. *Gene* 40: 1-8.
- 48-Doodson J.K. 1967. A survey of barley yellow dwarf virus in perennial ryegrass in England and Wales. *Plant Pathol.* 16: 42-45.

- 49-Drake J.W. 1991. A constant rate of spontaneous mutation in DNA based microbes. Proc. Nat. Acad. Sc. 88: 7160-7164.
- 50-Drake J.W. 1993. Rates of spontaneous mutation among RNA viruses. Proc. Nat. Acad. Sc. 90: 4171-4175.
- 51-Eagling D.R., Cunningham P.J. and Holloran G.M. 1989a. The incidence of barley yellow dwarf virus in perennial ryegrass (*Lolium perenne*) in south-western Victoria. Plant Pathol. 38: 408-413.
- 52-Eagling D.R., Sward R. and Halloran G.M. 1989b. The effect of barley yellow dwarf virus on early plant growth in ryegrass (*Lolium spp*). Aust. J. Agric. Res. 40: 293-299.
- 53-Edwards M.C., Petty I.T.D. and Jackson A.O. 1992. RNA recombination in the genome of barley stripe mosaic virus. Virology 189: 389-392.
- 54-Eigen M. and Biebricher C.K. 1988. Sequence space and quasispecies distribution. Pages 211-245 in: RNA genetics 3. Domongo E., Holland J.J. and Alquist P. eds., CRC Press, Inc, Boca Raton, Fla. 452 pp.
- 55-El-Yamani M., Hill J.H. 1991. Crop loss assessment and germplasm screening for resistance to barley yellow dwarf virus in west central Morocco. Phytopathol. Medit. 30: 93-102.
- 56-El-Yamani M., Hill J.H. 1992. Characterization of grass hosts and epidemiology of barley yellow dwarf virus isolates in west central Morocco. Phytopathol. Medit. 31: 163-169.
- 57-El-Yamani M. and Bencharhi B. 1996. La jaunisse nanisante de l'orge: Caractérisation et épidémiologie au Maghreb. Pages 63-68: in Proceedings of symposium régional sur les maladies des céréales et des légumineuses alimentaires. 11-14 Nov. 1996, Rabat, Maroc 370 pp.
- 58-El-Yamani M., Makkouk K.M., Hafidi B. and El-Kassem K. 1992. Contribution of the study of barley yellow dwarf virus in Souss-Massa, region of Morocco. Phytopathol. Medit. 32:41-45.
- 59-Endo R.M. and Brown C.M. 1964. Barley yellow dwarf virus resistance in oats. Crop Sci. 4: 279-283.
- 60-Fan Y.J., Namba S., Yamashita S. and Doi Y. 1994. Some properties of barley yellow dwarf virus (BYDV) from maize and some cereal plants. Ann. Phytopath. Soc. Japan 60: 725-728.
- 61-Fargette D., Lister R.M. and Hood E.L. 1982. Grasses as reservoir of barley yellow dwarf in Indiana. Plant Dis. 66: 1041-1045.

- 62-Filichkin S.A., Brumfield S., Filichkin T.P. and Young M.J. 1997. *In vivo* interactions of the aphid endosymbiotic SymL chaperonin with barley yellow dwarf virus. *J. Virol.* 71: 569-577.
- 63-Francki R.I.B., Fauquet C.M., Knudson D.I., Brown F. 1991. Classification and nomenclature of viruses. Rep. ICTV Arch. Virol. 5th Suppl. 2, New York. Springer Verlag. 450 pp.
- 64-Fulton J.P., Gergerich R.C. and Scott H.A. 1987. Beetle transmission of plant viruses. *Ann. Rev. Phytopathol.* 25: 111-123.
- 65-Garret A. 1992. Etude du comportement du virus de l'enroulement de la pomme de terre à l'intérieur du puceron-vecteur, *Myzus persicae*. Th. Doc. Sci. Rennes I. 210 pp.
- 66-German T.L., Ulman D.E. and Moyer J.W. 1992. Tospoviruses: diagnosis, molecular, biology, phylogeny and vector relationship. *Ann. Rev. Phytopathol.* 30: 315-348.
- 67-Geske S.M., French R., Robertson N.L. and Carroll T.W. 1996. Purification and coat protein gene sequence of a Montana RMV isolate of barley yellow dwarf virus. *Arch. Virol.* 141: 541-556.
- 68-Gildow F.E. 1985. Transcellular transport of barley yellow dwarf virus into the hemocoel of the aphid vector, *Rhopalosiphum padi*. *Phytopathology* 75: 292-297.
- 69-Gildow F.E. 1987. Virus membrane interactions involved in circulative transmission of Luteoviruses by aphids. *Curr. Top. Vector Res.* 4: 140-143.
- 70-Gildow F.E. 1993. Evidence for receptor-mediated endocytosis regulating Luteovirus acquisition by aphids. *Phytopathology* 270-277.
- 71-Gildow F.E. and Gray S.M. 1993. The aphid salivary gland basal lamina as a selective barrier associated with vector specific transmission of barley yellow dwarf Luteoviruses. *Phytopathology* 83: 1293-1302.
- 72-Gildow F.E. and Rochow W.F. 1980. Role of accessory salivary glands in aphids transmission of barley yellow dwarf virus. *Virology* 104: 97-108.
- 73-Gildow F.E. and Rochow W.F. 1983. Barley yellow dwarf in California: Vector competence and Luteovirus identification. *Plant Dis.* 67: 140-143.
- 74-Gill C.C. 1969. Annual variation in strains of barley yellow dwarf virus in Manitoba and the occurrence of greenbug-specific isolates. *Can. J. Bot.* 47: 1277-1283.
- 75-Gill C.C. 1970. Aphid nymph transmit an isolate of barley yellow dwarf virus more efficiently than do adults. *Phytopathology* 60: 1747-1752.

- 76-Gill C.C. and Chong J. 1979. Cytopathological evidence for division of barley yellow dwarf virus isolates in two subgroups. *Virology* 95: 59-69.
- 77-Gorbalenya A.E., Koonin E.V., Donechenko A.P. and Blonov V.M. 1988. A novel superfamily of nucleotide triphosphate-binding motif containing proteins which are probably involved in duplex unwinding in DNA replication and recombinaison. *Febs Lett.* 235: 16-24.
- 78-Gorbalenya A.E., Koonin E.V. 1989. Viral proteins containing the purine NTP-binding sequence pattern. *Nucleic Acid. Res.* 17: 8413-8439.
- 79-Gourmet C., Hewings A.D., Kolb F.L. and Smyth C.A. 1994. Effect of imidacloprid on nonflight movement of *Rhopalosiphum padi* and the subsequent spread of barley yellow dwarf virus. *Plant Dis.* 78: 1098-1101.
- 80-Guilley H., Wipf-Sheibel C., Richards K., Lecoq H. and Jonard G. 1994. Nucleotide sequence of cucurbit aphid-borne yellows Luteovirus. *Virology* 202: 1012-1017.
- 81-Guo, J.Q. 1995. Transmission par pucerons des luteovirus de la jaunisse nanisante de l'orge (JNO): étude de l'interaction virus-aphide à l'estimation du risque épidémique. Th. Doc. es. Sci. Univ. Paris XI Orsay , 173.
- 82-Guo, J.Q., Moreau, J.P. and Lapierre, H. 1996. Variability among aphid clones of *Rhopalosiphum padi* L. and *Sitobion avenae* Fabr. (*Homoptera: Aphididae*) in transmission of PAV isolates of barley yellow dwarf viruses. *Can. Entomol.*128: 209-217.
- 83-Guo, J.Q., Lapierre, H. and Moreau, J.P. 1997. Vector ability of aphid clones of *Rhopalosiphum padi* (L.) and *Sitobion avenae* (Fabr.) and their capacity to retain barley yellow dwarf virus. *Ann. Appl. Biol.* 131: 179-188.
- 84-Guy, P.L., Johnstone, G.R. and Duffus, J.F. 1986. Occurrence and identify of barley yellow dwarf viruses in Tasmanian pasture grasses. *Aust. J. Agric. Res.* 37: 43-53.
- 85-Guy P.L. 1988. Pasture ecology of barley yellow dwarf viruses at Sanford, Tasmania. *Plant Pathol.* 37: 546-550.
- 86-Guy P.L., Johnstone G.R. and Morris D.I. 1987. Barley yellow dwarf virus in, aphids on, grasses (including cereals) in Tasmania. *Aust. J. Agri. Res.* 38: 139-152.
- 87-Habili N. and Symons R. 1989. Evolutionary relationships between luteoviruses and other RNA plant viruses based on sequence motifs in the putative RNA polymerases and nucleic acid helicases. *Nucleic Acids Res.* 17: 9543-9555.

- 88-Halbert S.E. and Pike K.S. 1985. Spread of *barley yellow dwarf virus* and relative importance of local aphid vectors in Central Washington. *Ann. Appl. Biol.* 107: 387-395.
- 89-Halbert S.E., Sandvol L.E. and Bishop G.W. 1990. Aphids infesting Idaho small grain and corn. University of Idaho Current Information Series Bulletin 816: 4.
- 90-Halbert S.E., Connelly B., Lister R.M., Klein R.E. and Bishop G.W. 1992. Vector specificity of barley yellow dwarf virus serotypes and variants in southern Idaho. *Ann. Appl. Biol.* 121: 123-132.
- 91-Harris K.F., 1977. An ingestion-egestion hypothesis of noncirculative virus transmission. Pages 165-220 in: *Aphids as virus vectors*. Harris K.F. and Maramoroch K. eds. Aca. Press. New York. 394 pp.
- 92-Harris K.F., 1979. Leafhoppers and aphids as biological vectors: Vectors-virus relationships. Pages 217-308 in: *Leafhoppers vectors and plant disease agents*. Maramorosch K., Harris K.F. eds. Aca. Press. New York, London. 456 pp.
- 93-Harris K.F. 1981. Arthropod and nematode vectors of plant viruses. *Ann. Rev. Phytopathol.* 19: 391-426.
- 94-Harris K.F., Bath J.E., Thottpillay G., and Hooper G.R. 1975. Fate of pea enation mosaic virus in PEMV-injected pea aphids. *Virology* 65: 148-162.
- 95-Henry M. 1988. Contribution à l'étude de l'épidémiologie de la jaunisse nanisante de l'orge (BYD) dans l'ouest de la France. Th. Doc. Sci. Rennes I. 209 pp.
- 96-Henry M. and Dedryver C.A. 1991. Occurrence of barley yellow dwarf virus in pastures of western France. *Plant Pathol.* 40: 93-99.
- 97-Henry M. and Francki R.I.B 1991. Improved ELISA for detection of barley yellow dwarf virus in grasses. *J. Virol. Meth.* 36: 231-238.
- 98-Henry M., Georges S., Arnold G.M., Dedryver C.A., Kendall D.A., Robert Y. and Smith B.D. 1993. Occurrence of barley yellow dwarf virus (BYDV) isolates in different farmland habitats in western France and south-west England. *Ann. Appl. Biol.* 123: 315-329.
- 99-Hillman B.I., Carrington C. and Morris T.J. 1987. A defective interfering RNA that contains a mosaic of plant virus genome. *Cell* 51: 427-433.
- 100-Hirst G.K. 1962. Genetic recombination with new castle disease, Poliovirus and influenza virus. *Symp. Quant. Biol.* 27: 303-309.
- 101-Holland J.P., Spindler K., Horodyski E., Grabau S., Nichol S. and Vande-Pol S. 1982. Rapid evolution of RNA genomes. *Science* 215: 1577-1585.

- 102-Holmes S.J.J. 1991. Barley yellow dwarf in *Lolium* ssp. Acta. Phyto. Entomo. Hung. 26: 33-39.
- 103-Hu J.S., Rochow W.F., Palukaitis P. and Dietret R.R. 1988. Phenotypic mixing: mechanism of dependent transmission for two related isolates of barley yellow dwarf virus. Phytopathology 78: 1326-1330.
- 104-Hull R., Stanley J. and Briddon R.W. 1991. Geminivirus group. Classification and nomenclature of viruses. 81: 173-177.
- 105-Hunter W.B., Hsu H.T. and Lawson R.H. 1995. A novel method for Tospovirus acquisition by thrips. Phytopathology 85: 480-483.
- 106-Irwin M.E., Thresh J.M. 1990. Epidemiology of barley yellow dwarf: a study in ecological complexity. Ann. Rev. Phytopathol. 28: 393-424.
- 107-Jansen R. W., Siegle G., and Lemon S.M. 1990. Molecular epidemiology of human hepatitis a virus defined by an antigen-capture polymerase chain reaction method. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 87: 2867-2871.
- 108-Jedlinski H. 1981. Rice root aphids, *Rhopalosiphum rufiabdominalis*, a vector of barley yellow dwarf virus in Illinois and the disease complex. Plant Dis. 65: 975-978.
- 109-Jedlinski H. and Voegelin D.J. 1986. Transmission of barley yellow dwarf isolates by the aphid *Rhopalosiphum insertum* (Walker). Pages 94-97 in: Proceeding of the second international oat conference, Aberystwyth, Wales. Lawes D.A. and Thomas H., eds., Nijhoff M. Publ., Dordrecht, Boston, Lancaster. 287 pp.
- 110-Johnston R.A. and Rochow W.F. 1972. An isolate of barley yellow dwarf virus transmitted specifically by *Schizaphis graminum*. Phytopathology 62: 921-925.
- 111-Johnstone G.R., Sward R.J., Farrell J.A., Greber R.S., Guy P.L., Mc Even J.M. and Waterhouse P.M. 1990. Epidemiology and control of barley yellow dwarf viruses in Australia and New Zealand. Pages 228-239 in: World Perspectives on Barley yellow dwarf. Burnett P.A. ed. CIMMYT, Mexico, D.F., Mexico. 511 pp.
- 112-Kelly J., Gerlach W.L. and Waterhouse P.M. 1994. Characterization of the subgenomic RNA of an Australian isolate of barley yellow dwarf virus. Virology 202: 565-573.
- 113-Kendall D.A., Brain P. and Chinn N.E. 1992. A simulation model of the epidemiology of barley yellow dwarf virus in winter sown cereals and its application to forecasting. J. App. Ecol. 29: 414-426.
- 114-Kendall D.A. and Chinn N.E. 1990. A comparison of vector population indices for forecasting barley yellow dwarf virus in autumn sown cereal crops. Ann. Appl. Biol. 116: 87-102.

- 115-Kennedy J.S., Day M.F. and Eastop V.F. 1962. A conspectus of aphids as vectors of plant viruses. Commonw. Inst. Entomol. London. 114 pp.
- 116-Knorr D.A. and Dawson W.O. 1988. A point mutation in the tobacco mosaic virus capsid protein gene induces hypersensitivity in *Nicotiana sylvestris*. Proc. Nat. Acad. Sci. USA 85: 170-174.
- 117-Koenig R. 1992. Plant viruses and water environment. Pages 35-36 in: Proceedings of 5th international Plant Virus Epidemiology Symposium. Valenzano, Bari, Italy. 56 pp.
- 118-Koonin E.V. and Dolja V.V. 1993. Evolution and taxonomy of positive-strand RNA viruses: Implications of comparative analysis of amino-acid sequences. Crit. Rev. Biochem. Mol. Biol. 28: 375-430.
- 119-Lai M.M. 1992. RNA recombinaison in animal and plant viruses. Microbiol. Rev. 56: 61-79.
- 120-Leclercq-Le Quillec F. 1992. Analyse de la dynamique spatio-temporelle du complexe *BYDV* (barley yellow dwarf virus) et l'effet d'un traitement de semences sur la distribution des vecteurs et des virus. Th. Doc., Univ. Paris VI Orsay. 111 pp.
- 121-Lei C.H., Lister R.M., Vincent J.R. and Karanjkar M.N. 1995. *SGV* serotype isolates of barley yellow dwarf virus differing in vectors and molecular relationships. Phytopathology 85: 820-826.
- 122-Li X.H., Heaton L.A., Moris T.J. and Simon A.E. 1989. Turnip crinkle virus defective interfering RNAs intensify viral symptoms and are generated de novo. Proc. Nat. Acad. Sci., USA 86: 9173-9177.
- 123-Lindsten K. and Gerhardson B. 1969. Investigations on barley yellow dwarf virus (*BYDV*) in leys in Sweden. Nat. Swed. Inst. Plant Prot. Contrib. 14: 127.
- 124-Lister R.M. and Ranieri R. 1995. Distribution and economic importance of barley yellow dwarf. Pages 29-53 in: Barley yellow dwarf. Forty years progress. D'Arcy C.J. and Burnett P.A., eds., APS Press, S^t Paul Minn. 374 pp.
- 125-Lister R.M. and Rochow W.F. 1979. Detection of barley yellow dwarf virus by enzyme linked immunosorbent assay. Phytopathology 69: 649-654.
- 126-Lister R.M. and Sward R.J. 1988. Anomalies in serological and vector relationships of *MAV*-isolates of barley yellow dwarf virus from Australia and the USA. Phytopathology 78: 766-770.
- 127-Makkouk K.M., Baker I. and Skaf J. 1989. Serotyping of barley yellow dwarf virus isolates on cereals crops on countries of west Asia and north Africa. Phytopathol. Medit. 28: 164-168.
- 128-Martelli G.P. 1993. The new classification of plant viruses. Petria 3: 131-140.

- 129-Martelli G.P. 1997. Plant virus taxa: properties and epidemiological characteristics. *J. Plant Pathol.* 79: 151-171.
- 130-Martin R.R. and D'Arc C.J. 1990. Relationships among luteoviruses bases on nucleic acid hybridation and serological studies. *Intervirology* 31: 23-30.
- 131-Mastari J. 1998. Populations naturelles du BYDV-PAV en jachère fixe de raygrass et en grande culture de céréales. Th. Doc. Univ. Paris VI. 143 pp.
- 132-Mastari J., Lapierre H. and Dessens J.T. 1998. Asymmetrical distribution of the variants PAV of BYDV. *Phytopathology* 88: 818-821.
- 133-Matthews R.E.F. 1991. *Plant Virology*, 3th ed. Acad. Press, Inc., San Diego, California. 813 pp.
- 134-Mayo M.A., Baker H., Robinson D.J., Tamada T. and Harrison B.D. 1982. Evidence that potato leafroll virus RNA is positive-stranded, is linked to a small protein and does not contain polyadenylate. *J. Gen. Virol.* 59: 163-167.
- 135-Mayo M.A. and Jolly C.A. 1991. The 5'-terminal sequence of potato leafroll virus RNA: evidence of recombinaison between virus and host RNA. *J. Gen. Virol.* 72: 2591-2595.
- 136-Mayo M.A. and Pringle C.R. 1997. Virus taxonomy. *J.Gen.Virol.* 72: 649-657.
- 137-Mayo M.A., Robinson D.J., Jolly C.A. and Hyman L. 1989. Nucleotide sequence of potato leafroll Luteovirus. *J. Gen. Virol.* 70: 1037-1051.
- 138-Mayo M.A. and Ziegler-Graff V. 1996. Molecular biology of Luteovirus. *Adv. Virus Res.* 46: 413-416.
- 139-Mc Grath P.F. and Bale J.S. 1990. The effects of sowing date an choice of insecticide on cereal aphids and barley yellow dwarf virus epidemiology on northern England. *Ann. Appl. Biol.* 117: 31-43.
- 140-Miller W.A., Waterhouse P.M., Gerlach W.L. 1988. Sequence and identification of the barley yellow dwarf virus coat protein gene. *Virology* 165: 306-309.
- 141-Miller W.A., Dinesh-Kumar S.P. and Paul C.P. 1995. Luteovirus gene expression. *Crit. Rev. Plant Sci.* 14: 179-211.
- 142-Miller W.A. and Rasochova L. 1997. Barley yellow dwarf viruses. *Ann. Rev. Phytopathol.* 35: 167-190.
- 143-Miles P.W. 1968. Insect secretions in plants. *Ann. Rev. Phytopathol.* 137: 164.
- 144-Mills P.R., Mercer P.C., and Mc Gimpsey H.C. 1985. Barley yellow dwarf virus. *Ann. Rep. Res.Tech. Work Dept. Agric. Northen Ireland.* 202 pp.

- 145-Mohan B.R., Dinesh-Kumar S.P. and Miler W.A. 1995. Genes and cis-acting sequences involved in replication of barley yellow dwarf virus-PAV RNA. *Virology* 212: 186-195.
- 146-Moonan F., Molina J. and Mirkov T.E. 2000. Sugarcane yellow leaf virus: Emerging virus that has evolved by recombination between *Luteovirus* and *Poterovirus* ancestors. *Virology* 269: 156-171.
- 147-Moreau J.P., Lapierre H., Navarro D., Debray P., Fohrer F. and Lebrun I. 1992. Distribution des effets du nanisme et de la jaunisse sur le blé. *Phytoma* 443, Défense des végétaux: 21-25.
- 148-Morgan D. 1990. Simulation model of barley yellow dwarf epidemiology. Pages 300-304 in: *World Perspectives on Barley yellow dwarf*. Burnett P.A. ed. CIMMYT, Mexico, D.F., Mexico. 511 pp.
- 149-Morgan D. and Carter N. 1988. Modelling principles to the epidemiology of barley yellow dwarf virus. *Bull. OILB/ SROP*. 11: 27-32.
- 150-Moriones E. and Garcia-Arenal F. 1991. Occurrence of barley yellow dwarf viruses in small grain cereals and in alternative hosts in Spain. *Plant Dis.* 75: 930-934.
- 151-Muniyappa V. 1980. Whiteflies. Pages 39-85 in: *Vectors of plant pathogens*. Harris K.F. and Maramorosch K. eds., Aca. Press. New York, London, Toronto, Sydney, San Francisco. 509 pp.
- 152-Murant A.F., Roberts I.M. and Elnagar S. 1976. Association of virus-like particles with the foregut of the aphid *Cavariella aegopodii* transmitting the semi persistent viruses Anthriscus yellows and parsnip yellow fleck. *J. Gen. Virol.* 31: 47-57.
- 153-Murphy J.F., D'Arcy C.J. and Clark J.M. 1989. Barley yellow dwarf virus RNA has a 5'-terminal genome linked protein. *J. Gen. Virol.* 70: 2253-2256.
- 154-Nault L.R. and Ammar E.D. 1989. Leafhopper and planthopper transmission of plant viruses. *Ann. Rev. Entomol.* 34: 503-529.
- 155-Nass P.H., Domier L.L., Jaksty B.P. and D'Arcy C.J. 1988. *In situ* localization of barley yellow dwarf virus-PAV 17kDa protein and nucleic acids in oats. *Phytopathology* 88: 1031-1039.
- 156-Nolasco G., De Blas C., Tores V. and Ponz F. 1993. A method combining immuno-capture and PCR amplification in microtiter plate for detection of plant viruses and subviral pathogens. *J. Virol. Meth.* 45: 201-218.
- 157-Osler R., Loi N. and Pertot I. 1992. Characterization of a RMV-Like strain of BYDV by aphid transmission. *Riv. Pat. Veg. S.V.* 2: 33-38.

- 158-Osler R. 1984. Caraterizzazione biologica di un ceppo del virus nanismo giallo dell'orzo (BYDV) agente causale del giallume del riso. Riv. Pat. Veg. S. IV (résumé).
- 159-Oswald J.W. and Houston B.R. 1951. A new disease of cereals, transmissible by aphids. Plant Dis. Rep. 15: 471-475.
- 160-Palasingam K. and Shaklee P.N. 1992. Reversion of *QB* RNA phage mutants by homologous RNA recombinaison. J. Virol. 66: 2435-2442.
- 161-Paliwal Y.C. 1982. Identification and annual variation of variants of barley yellow dwarf virus in Ontario and Quebec. Can. J. Plant Pathol. 4: 59-64.
- 162-Paliwal Y.C. and Comeau A. 1984. Epidemiology of barley yellow dwarf virus in Ontario and Quebec in 1982 and 1983. Can. Plant Dis. Surv. 64: 21-23.
- 163-Palti J. 1984. Cultural practices and infections crops diseases. Springer-Verlag, Berlin: 243.
- 164-Pereira A.M.N., 1993. Epidemiology of barley yellow dwarf in Portugal. Phytopathol. Medit. 32: 211-222.
- 165-Pike K.S. 1990. A review of barley yellow dwarf virus grain yield losses. Pages 356-361 in: World Perspectives on Barley yellow dwarf. Burnett P.A. ed. CIMMYT, Mexico, D.F., Mexico. 511 pp.
- 166-Pirone T.P. and Harris K.F. 1977. Non persistent transmission of plant viruses by aphids. Ann. Rev. Phytopathol. 15: 55-73.
- 167-Ploeg A.T., Robinson D.J. and Brown D.J.F. 1993. RNA₂ of tobacco rattle virus encodes the determinants of transmissibility by trichodorid vector nematodes. J. Gen. Virol. 74: 1463-1466.
- 168-Plumb R.T. 1974. Properties and isolates of barley yellow dwarf virus. Ann. Appl. Biol. 77: 87-91.
- 169-Plumb R.T. 1977. Grass as reservoir of cereal viruses. Ann. Phytopathol. 9: 361-364.
- 170-Plumb R.T. 1983. Barley yellow dwarf virus-a global problem. Pages 185-198 in: Plant Virus Epidemiology. Burnett P.A. and Thresh J.M. eds., Blackwell Scientific Publications, Oxford, UK. 377 pp.
- 171-Plumb R.T. 1986. A rational approach to the control of barley yellow dwarf virus. J. Royal Agric. Soc. England. 147: 162-17.
- 172-Plumb R.T. 1995. Epidemiology of barley yellow dwarf virus in Europe. Pages 105-127 in: Barley yellow dwarf. Forty years progress. D'Arcy C.J. and Burnett P.A., eds., APS Press, S^t Paul Minn. 374 pp.

- 173-Plumb R.T., Lennon E.A. and Gutteridge R.A. 1982. Aphid infectivity and the infectivity index (II). Rep. Rotham. Exp. Sta. for 1981 part 1: 195-198.
- 174-Plumb R.T., Lennon E.A. and Gutteridge R.A. 1986. Forecasting barley yellow dwarf virus by monitoring vector populations infectivity. Pages 387-398 in: Plant Virus Epidemics. Monitoring, Modelling and Predicting Outbreaks. Mc Lean G.D., Garret R.G. and Ruesink W.G. eds., Aca. Press, Sydney. 550 pp.
- 175-Plumb R.T. and Carter N. 1991. The use and validation of the infectivity index as a method of forecasting the need to control barley yellow dwarf virus in autumn-sown crops in the UK. Acta Phytopathol. Entomol. Hunga. 26: 59-62.
- 176-Pons V., Albajes R., Avilla J., Sarasua M.J., Artigues M. and Eizaguivre M. 1989. Spring population development of cereal aphids on durum wheat in Lleida, nord-west of Spain. J. Appl. Entomol. 107: 203-210.
- 177-Ramirez A.I., Zerene M. and Cortazar R. 1992. The barley yellow dwarf virus program in Chili. Pages 47-54 in: Barley yellow dwarf in West Asia and North Africa. Comeau A. and Makkouk K.M. eds., ICARDA, Aleppo, Syria. 239 pp.
- 178-Rathgen J.P., Karageogos L.E., Habili N., Waterhouse P.M. and Symons R.H. 1994. Soybean dwarf Luteovirus contains the third variant genome type in the Luteovirus group. Virology 198: 671-679.
- 179-Reutenauer A., Ziegler-Graff V., Lot H. Scheidecker D., Guilley H., Richards K. and Jonard G. 1993. Identification of beet western yellows Luteovirus genes implicated in viral replication and particle morphogenesis. Virology 195: 692-699.
- 180-Roberts I.M., Tamada T. and Harrison B.D. 1980. Relationships of potato leafroll virus luteoviruses: Evidence from electron microscope serological tests. J. Gen. Virol. 47: 209-213.
- 181-Robertson N.L., Roy F. and Gray S.M. 1991. Use of group-specific primers and the polymerase chain reaction for the detection and identification of Luteovirus. J. Gen. Virol. 72: 1473-1477.
- 182-Robinson D.J., Hamilton W.D.O., Harrison B.D. and Baucombe D.C. 1987. Two anomalous Tobravirus isolates: evidence for RNA recombination in nature. J. Gen. Virol. 68: 2551-2561.
- 183-Rochow W.F. 1965. Apparent loss of vector specificity following double infection by two strains of barley yellow dwarf virus. Phytopathology 55: 62-68.
- 184-Rochow W.F. 1969. Biological properties of four isolates of barley yellow dwarf virus. Phytopathology 59: 1580-1589.
- 185-Rochow W.F. 1970. Barley yellow dwarf virus. CMI/AAB Description of Plant Viruses 32: 4.

186-Rochow W.F. 1975. Barley yellow dwarf dependant virus transmission by *Rhopalosiphum maidis* from mixed infections. *Phytopathology* 65: 99-104.

187-Rochow W.F. 1982. Dependent transmission by aphids of barley yellow dwarf luteoviruses from mixed infections. *Phytopathology* 72: 302-305.

188-Rochow W.F. and Diffus J.E. 1981. Luteoviruses and yellows diseases. Pages 147-170 in: *Handbook of plant infections comparative diagnosis*. Kurstac E. ed., Elsevier, Noerd Holland, Amsterdam. Biomed press. 443 pp.

189-Roivainen O. 1980. Mealybugs. Pages 15-38 in: *Vectors Plants Pathogens*. Harris K.F., Maramorosch K. eds., Aca. Press. New York, London, Toronto, Sydney, San Francisco. 509 pp.

190-Rott M.E., Tremaine J.H. and Rochon D.M. 1991. Comparison of the 5' and 3' terminal of Tomato ringspot virus RNA₁ and RNA₂: evidence for RNA recombinaison. *Virology* 185: 468-472.

191-Sayoud R., Ezzahiri B. et Bouznad Z. 1999. Les maladies des céréales et des légumineuses alimentaires au Maghreb. Pages 305-310 in: *Proceedings du 2^{ième} symposium régional sur les maladies des céréales et légumineuses alimentaires*. 10-12 nov. Nabeul, Tunisie. 561 pp.

192-Shukle R.H., Lampe D.J., Lister R.M. and Foster J.E. 1987. Aphid feeding behaviour: relationship to barley yellow dwarf virus resistance in *Agropyron* species. *Phytopathology* 77: 725-729.

193-Smith H.C. 1963. Control of barley yellow dwarf virus in cereals. *N. Z. J. Agric. Res.* 6: 229-244.

194-Snidaro M. and Delogu G. 1990. Agronomic techniques for preventing barley yellow dwarf damage in winter cereal. Pages 457-453 in: *World Perspectives on Barley yellow dwarf*. Burnett P.A. ed. CIMMYT, Mexico, D.F, Mexico. 511 pp.

195-Steinhauer D.A. and Holland J.J. 1986. Direct methods for quantification of extreme polymerase error frequencies at selected single base sites in viral RNA. *J. Virol.* 57: 219-228.

196-Stevens M., Smith H.G. and Hallsworth P.B. 1994. The host range of Beet yellowing viruses among common arable weed species. *Plant Pathol.* 43: 579-588.

197-Sylvester E.S. 1956. Beet yellow virus transmission by the green peach aphid. *J. Econ. Entomol.* 49: 789-800.

198-Take E., Prüfer J., Schmitz J. and Rohde W. 1991. The potato leafroll Luteovirus 17 kDa protein is a single-stranded nucleic acid-binding protein. *J. Gen. Virol.* 72: 2035-2038.

- 199-Take E., Schmitz J., Prüfer J. and Rohde W. 1993. Mutational analysis of the nucleic acid-binding 17kDa phosphoprotein of Potato leafroll luteovirus identifies an amphipathic alpha-helix as the domain for protein/protein interactions. *Virology* 197: 274-282.
- 200-Teakle D.S. and Morris T.J. 1981. Beans seeds acquire southern bean mosaic virus from soil. *Plant Dis.* 65: 599-600.
- 201-Tomlinson J.A. and Faithfull E.M. 1984. Studies on the occurrence of Tomato stunt virus in English rivers. *Ann. Appl. Biol.* 104: 485-495.
- 202-Torrance L. 1987. Use of enzyme amplification in an ELISA to increase sensitivity of detection of barley yellow dwarf virus in oats and in individual vector aphids. *J. Virol. Meth.* 15: 131-138.
- 203-Ueng P.P., Vincent J.R., Kawata E.E., Lei C.H., Lister R.M. and Larkins B.A. 1992. Nucleotide sequence analysis of the genome of barley yellow dwarf virus. *J. Gen. Virol.* 73: 487-492.
- 204-Van Den Heuvel J.F.J.M., De Blank C.M., Goldbach R.W. and Peters D. 1990. A characterization of epitopes of potato leafroll virus coat protein. *Arch. Virol.* 115: 185-197.
- 205-Van Den Heuvel J.F.J.M., Verbeek M. and Peters D. 1993. The relationship between aphid-transmissibility of potato leafroll virus and surface epitopes of the viral capsid. *Phytopathology* 83: 1125-1129.
- 206-Van Den Heuvel J.F.J.M., Verbeek M. and Van Der Wilk F. 1994. Endosymbiotic bacteria associated with circulative transmission of Potato leafroll virus by *Myzus persicae*. *J. Gen. Virol.* 75: 1024-1028.
- 207-Van Der Kuyl A. C., Neeleman L. and Bol J.F. 1991. Complementation and recombination between Alfalfa mosaic virus RNA₃ mutants in tobacco plants. *Virology* 183: 732-738.
- 208-Van Der Wilk F., Molthoff J., Van Den Heuvel J.F.J.M., Dekker B., Goldbach R. and Huttinga H. 1993. Transgenic potato plants expressing PLRV ORF1. IXth Intern. Congr. Virol., Glasgow, 341.
- 209-Veidt I., Bouzouba S.E. Lister R.M., Ziegler-Graff V., Guilley H., Richards K. and Jonard G. 1992. Synthesis of full-length transcripts of Beet western yellows virus RNA: Messenger properties and biological activity in protoplasts. *Virology* 186: 192-200.
- 210-Von Wechmar M.B. 1990. Barley yellow dwarf virus in south Africa. Pages 72-80 in: *World Perspectives on Barley yellow dwarf*. Burnett P.A. ed. CIMMYT, Mexico, D.F., Mexico. 511 pp.

- 211-Wangai A.W. 1990. Effects of barley yellow dwarf virus in cereals in Kenya. Pages 391-393 in: World Perspectives on Barley yellow dwarf. Burnett P.A. ed. CIMMYT, Mexico, D.F., Mexico. 511 pp.
- 212-Ward C.W. 1993. Progress towards a higher taxonomy of viruses. Res. Virol. 144: 419-453.
- 213-Waterhouse P.M., Gildow F.E. and Johnstone G.R. 1988. Luteovirus group. CMI/AAIB Description Plant Viruses:399. Wellesbourne, Warwick, UK.
- 214-Waterhouse P.M., Martin R.R. and Gerlach W.L. 1989. BYDV-PAV virions contain readthrough protein. Phytopathology 79: 1215 (résumé).
- 215-Watson M.A. and Mulligan T.E. 1960a. Comparaison of two barley yellow dwarf viruses in glasshouse and field experiments. Ann. Appl. Biol. 48: 559-574.
- 216-Watson, M.A., and Mulligan, T. 1960b. The manner of transmission of some barley yellow dwarf viruses by different aphid species. Ann. Appl. Biol. 48 (4): 711-720.
- 217-Watson M.A. and Plumb R.T. 1972. Transmission of plant pathogenic viruses by aphids. Ann. Rev. Entomol. 17: 425-452.
- 218-Wen F. and Lister R.M. 1991. Heterologous encapsidation in mixed infections among four isolates of barley yellow dwarf virus. J. Gen. Virol. 72: 2217-2223.
- 219-Wen, F., Lister, R.M., and Fattouh, F.A. 1991. Cross-protection among strains of barley yellow dwarf virus. J. Gen. Virol. 72: 791-799.
- 220-Wetzel T., Candresse T., Macquaire G., Ravelonandro M. and Dunez J. 1992. A high sensitive immunocapture polymerase chain reaction method for pox Potyvirus detection. J. Virol. Meth. 39: 27-37.
- 221-Wyatt S.D., Druffel K. and Berger P.H. 1993. *In vitro* destabilization of plant viruses and cDNA synthesis. J. Virol. Methods 44: 211-220.
- 222-Yokomi R.K. and Garnsey S.M. 1987. Transmission of tristesa virus by *Aphis gossypii* and *Aphis citricola* in Florida. Phytophylactica 19: 169-172.
- 223-Young M. J., Kelly L. , Miller W.A., Waterhouse P.M. and Gerlach W.L. 1991. Infectious transcripts from a cloned cDNA of barley yellow dwarf virus. Virology 180: 372-379.
- 224-Yount D.J. and Carroll T. 1983. Barley yellow dwarf luteoviruses in Montana cereals. Plant Dis. 67: 1217-1222.
- 225-Zhang Q.F., Guan W.N., Ren Z.Y., Zhu X.S. and Tsai J.H. 1983. Transmission of barley yellow dwarf virus strains from north western China by aphid species. Plant Dis. 67: 895-899.

226-Zhao G.H. and Zhang S.X. 1990. Identification of the variants of barley yellow dwarf Virus. Pages 290-292 in: *World Perspectives on Barley yellow dwarf*. Burnett P.A. ed. CIMMYT, Mexico, D.F., Mexico. 511 pp.

227-Ziegler-Graff V., Brault V., Mutterer J.D., Simonis M.T., Herbach E., Guilley H, Richards K.E. and Jonard G 1996. The coat protein of Beet western yellows luteovirus is essential for systemic but the viral gene products P29 and P19 are dispensable for systemic infection and aphid transmission. *Mol. Plant Microbe Interac.* 9: 501-510.

Serodetection of viruses associated to barley yellow dwarf (BYD) on cereals in Algeria

Hadjira Belkahla¹ and Hervé Lapierre²

Received 1999-04-09; accepted 2000-03-03

PHYTOPROTECTION 80 : 169-177

Surveys on viruses associated with Barley Yellow Dwarf (BYD) and their vectors were carried out in Algerian cereal areas (Guelma, Constantine, Algiers, Sidi-bélabès, Adrar) in 1997 and 1998. *Rhopalosiphum padi* was present in all zones of culture, whereas *R. maidis*, *Sitobion avenae*, *S. fragariae* and *Schizaphis graminum* had only local distributions. In most areas BYD-like symptoms, i.e. dwarfing and yellowing of barley (*Hordeum vulgare*), dwarfing and reddening of oat (*Avena sativa*) and wheat (*Triticum aestivum*), were observed. Serological tests were done on these crops using DAS-ELISA (RMV and SGV) or TAS-ELISA using monoclonal antibodies specific to CYDV-RPV or using different variant specific BYDV-PAV (CpA and CpB) and BYDV-MAV monoclonal antibodies. BYDV-PAV was prevalent and few plant samples carrying RMV, SGV, BYDV-MAV or CYDV-RPV were detected. The relative frequencies of BYDV-PAV CpA and CpB serotypes were variable depending on the area and the crop season. The range of symptoms induced on barley by both Algerian BYDV-PAV CpB and BYDV-PAV CpA serotypes was mild to severe. Twenty-one BYDV-MAV isolates were compared using monoclonal antibodies, which distinguish two serotypes of this virus. Only one serotype was detected. This same serotype is also the most prevalent in Europe.

[Sérodétection des virus associés à la jaunisse nanisante de l'orge sur les céréales en Algérie]

La recherche des virus associés à la jaunisse nanisante de l'orge et de leurs vecteurs a été effectuée dans différentes zones céréalières en Algérie (Guelma, Constantine, Alger, Sidi-bélabès, Adrar) en 1997 et 1998. Le *Rhopalosiphum padi* est présent dans toutes les zones de culture, alors que les *R. maidis*, *Sitobion avenae*, *S. fragariae* et *Schizaphis graminum* ne montrent qu'une distribution locale. Dans la plupart des parcelles, on observe un nanisme et jaunissement de l'orge (*Hordeum vulgare*), un rougissement et un nanisme de l'avoine (*Avena sativa*) et du blé (*Triticum aestivum*). Des tests sérologiques ont été effectués sur ces cultures en DAS-ELISA (RMV et SGV) ou en TAS-ELISA révélés par un anticorps monoclonal du CYDV-RPV et par différents anticorps monoclonaux du BYDV-PAV (CpA et CpB) et du BYDV-MAV. Le BYDV-PAV est mis en évidence dans toutes les zones étudiées. Peu de plantes se sont révélées porteuses des autres

-
1. Université de Blida, Institut Agronomique, Laboratoire de Virologie, B.P. 270, Douiret, Blida, Algérie; e-mail : univblida@hotmail.com
 2. INRA, Station de pathologie végétale, Route de Saint-Cyr, 78026 Versailles Cedex, France

virus (RMV, SGV, BYDV-MAV, CYDV-RPV). Les fréquences relatives des sérotypes BYDV-PAV CpA et CpB sont variables suivant les cultures et les années. Les symptômes induits par les isolats des sérotypes BYDV-PAV CpA et BYDV-PAV CpB d'Algérie sur l'orge sont légers à graves. Le comportement de 21 isolats de BYDV-MAV a été analysé vis-à-vis d'anticorps monoclonaux distinguant deux sérotypes de ce virus. Uniquement un sérotype, le plus répandu en Europe, a été mis en évidence.

INTRODUCTION

The viruses associated with Barley yellow dwarf (BYD) have a worldwide distribution and cause damages on straw cereals (D'Arcy and Burnett 1995). Six distinct viruses associated with BYD have been identified (Cheng *et al.* 1996; Murphy *et al.* 1995). Variants of these viruses have been characterized by their biological and/or their serological properties and/or their specific aphid vectors. Serological variants of BYDV-MAV (Lister and Sward 1988) have been associated with distinct symptoms on oat (*Avena sativa* L.) (Quiroz *et al.* 1991). Two groups of BYDV-PAV have been determined from their capsid amino-acid sequences (Chay *et al.* 1996; Mastari *et al.* 1998;) and they differ by one (Chay *et al.* 1996) or several epitopes (Mastari and Lapierre 1999). In the different countries of the Mediterranean basin, immuno-enzymatic tests revealed the general presence of BYDV-PAV and sometimes also of BYDV-MAV, CYDV-RPV, RMV or SGV whose frequencies vary according to the zones of culture (Benbelkacem 1991; El-Yamani and Hill 1990; Makkouk *et al.* 1990; Moriones and Garcia-Arenal 1991). The importance of phloem necrosis induced by these viruses (limitation of sap flow) explains the dramatic effect of drought on BYD-infected plants (Ibriz 1992) frequently found in this basin.

In Algeria the presence of BYDV-PAV, BYDV-MAV and CYDV-RPV has been recorded (El-Yamani and Bencharki 1996). During the 1997 and 1998 seasons high aphid populations and severe expression of BYD symptoms were observed in the different cereal crop areas. The objectives of this work were to study the geographical distribution of Algerian aphid populations of the

potential vectors *Rhopalosiphum padi* (L.), *R. maidis* (Fitch), *Sitobion avenae* (F.), *S. fragariae* (Wulk) and *Schizaphis graminum* (Rondani) and to characterize the viruses associated to BYD and serotypes BYDV-PAV and BYDV-MAV infecting these cereal crops.

MATERIALS AND METHODS

Survey sites

Surveys were carried out from the end of March to the end of May in the four experimental stations of the Institut Technique des Grandes Cultures, 3 sites at Algiers 2°-4° east (El-Harrach, Oued-smar and Blida); 1 site at Constantine 6°-8° east, Guelma 6°-8° east and Sidi-bélabès 0.5°-1° west) devoted to wide cereal crops and in a south Algerian station (Adrar 2°-4° center) of the Institut National de la Recherche Agronomique.

Symptoms and aphid populations of viruses associated with BYD

The percentage of plants expressing symptoms or inhabited by aphids was directly estimated from 100 to 200 plants randomly collected in different parts of barley (*Hordeum vulgare* L.) and wheat (*Triticum aestivum* L.) plots. In Algiers area the number of infested plant was measured only at Blida site. Aphid populations were estimated only once and at the near flowering stage. A plant was considered infested when at least one nymph or an adult aphid was found. Determination of aphid species was done in the laboratory.

Plant sampling

Fifty or fifty-five plants showing symptoms and eventually infested by aphids were collected in each of 29 fields in

1997 (9 durum wheat, 9 bread wheat, 6 barley and 5 oat) and 10 in 1998 (6 durum wheat and 4 bread wheat). The number of samples tested in 1997 and in 1998 was 580 and 200, respectively.

Aphid transmission

Apterous aphids of *R. padi* and *R. maidis* collected in the fields were caged on one-leaf stage barley plants cv. Plaisant for 2 d and then killed. The isolates were regularly transferred to fresh plants using a French clone of each aphid species.

Severity of the isolates

Virus-free *R. padi* and *R. maidis* were allowed to feed for 48 h on barley infected with PAV and RMV isolates, respectively. Apterous aphids (*R. padi* on barley cv. Plaisant, and *R. maidis* on oat cv. Coast-Black) were then maintained for 2 d on 10 healthy seedlings (one-leaf stage). After 4 wk at 17°C and a 14-h photoperiod in a growth chamber, fresh shoot biomass was measured.

Storage of leaf samples

Field samples (last extended leaves) were dried at room temperature and stored at 4°C for 2 to 4 mo before testing.

Serological tests

Dried samples were pulverized in liquid nitrogen and blended in 10 volumes of phosphate buffered saline containing polyvinylpyrrolidone (1%) and bovine serum albumin (0.1%). Virus-free barley plants were used as controls. Control samples were ground in a roller in the presence of five volumes of the same buffer. The polyclonal (PCAbs) [BYDV-PAV, BYDV-MAV] and then the following monoclonal antibodies (MAbs) prepared in mouse were obtained from INRA, Versailles: PM63 (for PAV / MAV detection), P2 (BYDV-PAV CpB specific), P14 (BYDV-PAV CpA specific) equivalent to 1C2 from Chay *et al.* (1996), M2 (BYDV-MAV specific), M4 (detects only BYDV-MAV A, a serotype distinct from BYDV-MAV B), MAC 92 [CYDV-RPV specific] and MAFF2 (considered as BYDV-MAV specific) MAbs were prepared in rat and provided by Adgen

(Scotland, Great-Britain). DAS-ELISA kits for the detection of RMV and SGV serotypes were obtained from Sanofi (France). In DAS-ELISA and TAS-ELISA, microplates were first coated with polyclonal antibodies (PCAbs), and incubated at 33°C for 4 h and 2 h, respectively. Then leaf extracts were incubated overnight at 4°C in duplicate wells (100 µL extract per well). In TAS-ELISA, microplates were incubated 2 h at 33°C with MAbs and then 2 h at 33°C with rabbit PCAbs (mouse or rat anti-IgG) conjugated to alkaline phosphatase (Biosys, France). After 2 h substrate incubation at room temperature, for alkaline phosphatase reaction, absorbance values of wells were measured at 405 nm with a Molecular Devices Emax microplate reader. Samples were considered as positive when O.D. (optical density) values were greater than three times the means of the results for uninfected control leaves.

RESULTS

Geographical distribution of viruses associated with BYD aphid vector populations

The main aphid vector species of viruses associated with BYD (*R. padi*, *S. avenae*, *S. fragariae*, *R. maidis*, and *S. graminum*) were found in Algerian cereal crops (Fig. 1) during spring and the beginning of summer in 1997 and 1998. *R. padi* was prevalent in barley crops (Fig. 2) and similarly in other cereal



Figure 1. Algerian cereal areas surveyed in 1997 and in 1998 (1: Guelma; 2: Constantine; 5: Algiers; 9: Sidi-bélabès; A: Adrar).

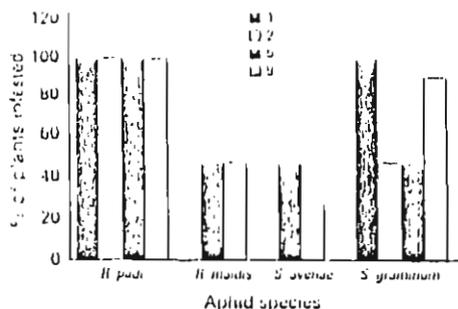


Figure 2. Frequencies of aphid-infested barley plants from plots of designated crops in Algeria in 1997 (1: Guelma; 2: Constantino; 5: Algiers; 9: Sidi-belabès).

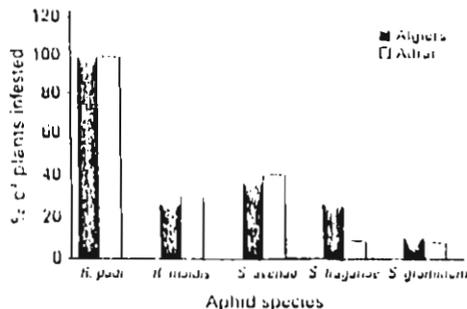


Figure 3. Frequencies of aphid-infested wheat plants from plots of designated crops in Algeria in 1998 (Algiers and Adrar).

crops surveyed. *S. graminum* was observed in the four cereal crop areas but not at Blida, one of the three sites of the Algiers area. *S. avenae* and *R. maidis* were less frequent and detected only in the Algiers and Sidi-belabès areas. In 1998, only *R. padi* was prevalent in the Algiers area and in the Adrar region, compared to the other aphid species. However, high populations of *S. fragariae* were found on bread wheat at Blida in 1998 (Fig. 3).

Distribution and impact of BYD-like symptoms

BYD-like symptoms were observed in all cereal areas surveyed (Fig. 1). The most significant difference in disease severity was observed in the Algiers crop area between Oued-smar and El-

Harrach. At Oued-smar, oat plants were mildly affected, whereas at El-Harrach, plants were very stunted. At Blida, barley plants were also very stunted and oat plants expressed only mild symptoms. At Sidi-belabès and at Constantino moderate symptoms were observed in all cereal crops. Severe symptoms were observed in oat at Guelma and in bread and durum wheat at Adrar (Table 1). The symptoms seen may not have been due to BYD.

Identification and distribution of viruses associated to BYD

Only 24.5% (191/780) of the plants tested were positive with one or several of the specific antisera tested (Table 2). In a few cases, two viruses were detected simultaneously by in the plants (Table

Table 1. Relative virus symptom expression in cereals in Algeria

Areas and sites	No. of plants		Symptom type
	examined	showing symptoms	
Guelma	250 ^a	166 (O)	severe
Constantine	304 ^a	280 (O,B,W)	moderate
Algiers			
Blida	150 ^a , 225 ^b	290 (O,B,W)	mild, severe
Oued-smar	202 ^a	150 (O)	mild, severe
El-Harrach	217 ^a	180 (O)	severe
Sidi-belabès	269 ^a	240 (O,B,W)	moderate
Adrar	341 ^b	300 (W)	severe

^a in 1997; ^b in 1998.
O: oat; B: barley; W: wheat.

Table 2. Number of isolates belonging to the different BYDV serotypes on cereals in Algeria

Year	M Abs or PC Abs	TAS-ELISA						DAS-ELISA		No. of samples tested
		PM63	P2	P14	M2	MAFF2	MAC92	RMV	SGV	
1997	<i>Areas and sites</i>									
	Guelma	16	14	5	2	0	1	0	0	80
	Constantine	26	23	9	3	0	1	0	0	100
	Algiers									
	Blida	13	9	8	2	0	0	0	0	100
	Oued-smar	10	8	4	0	0	0	0	0	100
	El-Harrach	14	9	4	4	0	0	0	0	100
	Sidi-bélabès	21	16	12	5	0	0	0	0	100
1998	Algiers									
	Blida	27	21	8	5	0	1	4	0	100
	Adrar	9	9	4	0	0	0	0	0	100
Total		136	109	54	21	0	3	4	0	780

Specificity of monoclonal (M) and polyclonal (P) antisera used; PM63 (M): BYDV-PAV, BYDV-MAV; P2 (M): BYDV-PAV CpB; P14 (M): BYDV-PAV CpA; M2 (M): BYDV-MAV B; MAFF2 (M): BYDV MAVvic; MAC92 (M): CYDV-RPV; RMV (P): RMV; SGV (P): SGV.

3). BYDV PAV was the prevalent serotype and the frequency of CpA (54 isolates) and CpB (109 isolates) was dependent on the area and on the year of sampling (Table 2). One hundred and thirty-six isolates were not detected by the specific MABs, but were detected by PM63, which recognizes both BYDV-PAV and BYDV-MAV. These isolates cannot be grouped within BYDV-PAV or BYDV-MAV serotype. The 21 MAV isolates (detected by MAb) M2 were not clearly detected by MAFF2. CYDV-RPV, SGV and RMV isolates were rare in all areas except at Blida in 1998 where 4% of the positive ELISA reactions were of the RMV serotype (Table 2).

Severity of BYDV-PAV and RMV isolates

Oat plants infected by RMV isolates expressed reddening of the oldest leaves and only slight decreases in biomass (0.8%). In contrast, barley plants infected either by BYDV-PAV CpA or BYDV-PAV CpB isolates showed a wide range in the extent of dwarfing. The shoot biomasses of barley infected with some isolates were reduced to less than 90% of the control (Table 4).

DISCUSSION

Surveys conducted in the main cereal areas of Algeria during 1997 and 1998 seasons during the near flowering stage of wheat showed the general presence of high aphid populations. In all these areas, *R. padi* was prevalent and was frequently associated with yellowing and/or reddening of most leaves on all plants. The survey was limited to one to three sites per area and therefore gives only preliminary data on the distribution of the different aphid species. Despite the high percentage of plants showing BYD-like symptoms, ELISA tests to detect viruses associated to BYD were negative for 3/4 of the samples. Other authors (Makkouk *et al.* 1989) have obtained similar results. The hot weather during the surveys may have reduced both virus concentrations in the plants and in dried leaf samples. It cannot be excluded that undetected viruses associated to BYD or other pathogens inducing similar symptoms were present in these areas. The presence of pathogen complexes or strain variations may explain differences in severities between the same crop in the

Table 3. O.D._{492 nm} values in ELISA of some isolates collected in Algeria

M. Abs or PC Abs Virus detected	TAS-ELISA							DAS-ELISA			Serotypes detected	
	PM63 EUCALYPTUS	P2 EUCALYPTUS	P14 EUCALYPTUS	M2 EUCALYPTUS	M4 EUCALYPTUS	MAFF2 EUCALYPTUS	MAC92 EUCALYPTUS	PC PEU	PC PEU	PC SGV		
<i>Areas and sites</i>												
Quelme	0.804	0.948	0.004	0.006	0.002	0.098	3.000	0.000	0.000	0.000	0.000	BYDV-PAV CpB, CYDV-RPV
Constantine	0.648	0.264	0.632	0.004	0.008	0.076	0.000	0.024	0.002	0.002	0.002	BYDV-PAV CpA
	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	2.944	0.028	0.018	0.028	0.018	CYDV-RPV
<i>Algiers</i>												
Elida	1.776	0.028	0.048	0.036	0.000	0.150	0.028	0.004	0.008	0.004	0.008	(1) [*]
	0.000	0.000	0.000	0.000	0.060	0.000	0.000	0.744	0.018	0.744	0.018	RMV
	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.950	0.000	0.950	SGV
<i>Oued-smar</i>												
El-Harrach	1.498	0.008	0.034	0.028	0.000	0.086	0.014	0.026	0.044	0.026	0.044	(1) [*]
Sidi-Belabes	1.738	0.058	0.036	0.452	0.002	0.136	0.016	0.018	0.016	0.018	0.016	BYDV-MAV B
	1.304	1.100	0.042	0.024	0.004	0.132	0.012	0.038	0.018	0.038	0.018	
<i>Infected control</i>												
PAV A	0.530	0.236	0.728	0.000	0.000	0.000	nt [†]	nt	nt	nt	nt	
PAV B	0.486	0.632	0.070	0.000	0.000	0.000	nt	nt	nt	nt	nt	
PAV Am	0.328	0.224	0.632	0.000	0.000	0.458	nt	nt	nt	nt	nt	
MAV A	0.618	0.000	0.000	0.200	0.798	0.000	nt	nt	nt	nt	nt	
MAV B	0.596	0.000	0.000	0.698	0.000	0.000	nt	nt	nt	nt	nt	
RPV	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	1.760	nt	nt	nt	nt	
RMV	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.508	nt	0.508	nt	
SGV	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.404	0.000	0.404	
<i>Healthy control</i>												
	0.006	0.006	0.006	0.016	0.018	0.152	0.090	0.038	0.028	0.038	0.028	

* Probably new BYDV serotype.

† nt : not tested.

Table 4. Severity of disease symptoms induced by BYDV-PAV and RMV isolates found in Algeria¹

Disease symptom	Barley		Oat
	BYDV-PAV A	BYDV-PAV B	RMV
Mild	2	2	4
Moderate	4	6	0
Severe	11	3	0

¹ Number of isolates causing mild (0-10%), moderate (11-30%) and severe (> 30%) reduction in biomass, respectively.

different Algerian areas where the same cultivars are seeded. It is also possible that aphid populations landing in the crops in the different areas determined the severity of the disease (Comeau 1987).

BYDV-PAV was the most frequent strain detected, as is generally found in cereal crops around the world. The predominance of BYDV-PAV can be explained by its capacity to be transmitted by several aphid species, including *S. avenae* and *S. fragariae* which are sometimes locally abundant in Algeria. The wider host range of BYDV-PAV compared to CYDV-RPV (Beuve and Lapierre 1992, 1993; D'Arcy 1995) strengthens its prevalence in most countries. Even though only three CYDV-RPV isolates were found during this study, their detection corroborates the presence of this serotype already reported in the Maghreb (El-Yamani and Bencharki 1996). RMV and SGV serotypes were also not frequently detected in these areas despite the relatively common presence of their vectors. A better estimation of their frequency requires improvement of the ELISA tests for RMV and SGV which are less sensitive than those available for BYDV-PAV, BYDV-MAV and CYDV-RPV. Serological variability of BYDV-PAV and BYDV-MAV isolates from Algeria collected in the different crop areas was investigated. As found in other countries (Chay *et al.* 1996; Mastari *et al.* 1998) BYDV-PAV CpA and BYDV-PAV CpB were detected in all cereal areas, indicating a similar adaptation of the two serotypes whatever the climate where cereals are grown. In contrast to the situation in

Europe and in the USA, in a few cases CpA frequency was higher than CpB, which may indicate incomplete identity of the reservoirs or distinct vector efficiency between the two serotypes. Two new serotypes (CpAm and CpBz) of BYDV-PAV have been recently discovered in Europe (Mastari *et al.* submitted paper). These two new serotypes would have been detected in the 163 Algerian BYDV-PAV isolates, suggesting that they are absent or very infrequent as in Europe.

In a few samples only MAb PM63 gave a clear positive reaction in ELISA. The relatively high O.D. values obtained with this MAb and absence of reaction of usual PAV and MAV MAbs indicates that probably new viruses associated to BYD or serotypes are present in Algeria. Aphid transmission assays will help to characterize these isolates. Two serotypes of BYDV-MAV have been detected in Europe. The A serotype is extremely rare and the B serotype has been found only in Belgium (Lapierre, unpublished results). Although a limited number of BYDV-MAV isolates have been tested, a similar situation may be encountered in Algeria where only BYDV-MAV B was found. Curiously, MAFF2 was not or very faintly reactive with these Algerian BYDV-MAV isolates. RMV or RMV like isolates are very variable (D'Arcy *et al.* 1989; Fan *et al.* 1994; Geske *et al.* 1996) and variants showing severe symptoms in oat have been described in the USA (Yount and Carroll 1983). No such biological differences have been observed between the four Algerian RMV isolates collected in the Blida area, which expressed only mild

symptoms on oat. Comparison of RMV isolates from the different continents will be useful to more accurately determine the geographical influence on their properties.

ACKNOWLEDGEMENTS

We would like to thank the Institut Technique des Grandes Cultures, for helping to conduct this study particularly in Guelma, Constantine, Sidi-bélabès, Oued-smar and El-Harrach. We also wish to thank Dr Aroun M.E., Institut Agronomique, Laboratoire de Zoologie, Université de Blida, for helping to identify the aphid species.

REFERENCES

- Benbelkacem, A. 1991. The BYDV situation in Algeria. Pages 1-2 in Barley yellow dwarf Newsletter No. 4. CIMMYT, Mexico, D.F., Mexico.
- Beuve, M., and H. Lapierre. 1992. Resistance to RPV barley yellow dwarf virus in the genus *Bromus*. *Can. J. Bot.* 70 : 32-37.
- Beuve, M., and H. Lapierre. 1993. Résistance spécifique du maïs (*Zea mays* L.) au BYD RPV, un des virus de la jaunisse nanisante de l'orge. *C. R. Acad. Sci. Paris, t.316, Série III* : 275-280.
- Chay, C.A., D.M. Smith, R. Vaughan, and S.M. Gram. 1996. Diversity among isolates within the PAV serotype of barley yellow dwarf virus. *Phytopathology* 86 : 370-377.
- Cheng, Z., X. He, M. Wu, and G. Zhou. 1996. Nucleotide sequence of coat protein gene for GPV isolates of barley yellow dwarf virus and construction of expression plasmid for plant. *Sci. China (ser. C)* 39 (5) : 534-543.
- Comeau, A. 1987. Effects of BYDV inoculations at various dates in oat, barley, wheat, rye, and triticale. *Phytoprotection* 68 : 97-109.
- D'Arcy, C.J. 1995. Symptomatology and host range of barley yellow dwarf. Pages 9-28 in C.J. D'Arcy and P.A. Burnett (eds.), Barley yellow dwarf. Forty years of progress, 1995. APS Press, St. Paul, Minn.
- D'Arcy, C.J., and P.A. Burnett. 1995. Barley yellow dwarf. A brief introduction. Pages 1-5 in C.J. D'Arcy and P.A. Burnett (eds.), Barley yellow dwarf. Forty years of progress, 1995. APS Press, St. Paul, Minn.
- D'Arcy, C.J., L. Torrance, and R. Martin. 1989. Discrimination among luteoviruses and their strains by monoclonal antibodies and identification of common epitopes. *Phytopathology* 79 : 869-873.
- El-Yamani, M., and B. Bencharki. 1996. La jaunisse nanisante de l'orge : Caractérisation et épidémiologie au Maghreb. Pages 63-68 in Proceedings of symposium régional sur les maladies des céréales et des légumineuses alimentaires. 11-14 nov. 1996. Rabat, Maroc.
- El-Yamani, M., and J.H. Hill. 1990. Identification and importance of barley yellow dwarf virus in Morocco. *Plant Dis.* 74 : 291-294.
- Fan, Y.J., S. Namba, S. Yamashita, and Y. Doi. 1994. Some properties of barley yellow dwarf virus (BYDV) from maize and some cereal plants. *Ann. Phytopathol. Soc. Japan* 60 : 725-728.
- Geske, S.M., R. French, N.L. Robertson, and T.W. Carroll. 1996. Purification and coat protein gene sequence of a Montana RMV isolate of barley yellow dwarf virus. *Arch. Virol.* 141 : 541-556.
- Ibriz, M. 1992. Étude des interactions entre le virus de la jaunisse nanisante et la sécheresse chez l'orge (*Hordeum vulgare* L.) et le blé tendre (*Triticum aestivum* L.). Thèse Doctorat, ENASA, Montpellier, 157 pp.
- Lister, R.M., and R.J. Sward. 1988. Anomalies in serological and vector relationship of MAV like isolates of barley yellow dwarf virus from Australia and USA. *Phytopathology* 78 : 766-770.
- Makkouk, K.M., I. Baker, and J. Skaf. 1989. Serotyping of barley yellow dwarf virus isolates on cereals crops on countries of west Asia and north Africa. *Phytopathol. Mediterr.* 28 : 164-168.
- Makkouk, K.M., O.I. Azzam, J. Skaf, M. El-Yamani, C. Cherif, and A. Zouba. 1990. Situation review of barley yellow dwarf virus in west Asia and north Africa. Pages 61-65 in P.A. Burnett (ed.), World perspectives on barley yellow dwarf. 1990. CIMMYT, Mexico, D.F., Mexico.
- Mastari, J., and H. Lapierre. 1999. Sequences of the 3' halves of the genome of barley yellow dwarf virus-PAV CpA isolates that vary in symptom severity. *Eur. J. Plant Pathol.* 105 : 801-811.
- Mastari, J., H. Lapierre, and J.T. Dessens. 1998. Asymmetrical distribution of the variants PAV of BYDV. *Phytopathology* 88 : 818-821.
- Moriones, E., and F. Garcia-Arenal. 1991. Occurrence of barley yellow dwarf viruses in small grain and in alternative hosts in Spain. *Plant Dis.* 75 : 930-934.

- Murphy, F.A., C.M. Fauquet, D.H.L. Bishop, S.A. Ghabriel, A.W. Jarvis, G.P. Martelli, and M.D. Summers. 1995. Virus taxonomy. Sixth report of the international committee on taxonomy of viruses. Springer-Verlag, Wien. Arch. Virol. Suppl. 10 : 379-383.
- Quiroz, C., R.M. Lister, J.M. Araya, and J.E. Foster. 1991. Effect of symptoms variants of NY-RMV isolate of barley yellow dwarf virus on life cycle of English grain aphid (Homoptera : Aphididae) and yield components in wheat and oat. J. Econ. Entomol. 84 : 1920-1925.
- Yount, D.J., and T. Carroll. 1983. Barley yellow dwarf luteoviruses in Montana cereals. Plant Dis. 67 : 1217-1222.