



# Criblage du maïs quant à sa résistance aux maladies courantes au Canada



Pour obtenir d'autres exemplaires :

**Lana M. Reid**

Centre de recherches de l'Est sur les céréales et oléagineux,  
Ferme expérimentale centrale,  
Agriculture et Agroalimentaire Canada,  
Ottawa (Ontario) K1A 0C6  
Téléphone : (613) 759-1619, courriel : reidl@agr.gc.ca

N° de catalogue : A42-103/2005f-PDF  
ISBN : 0-662-79969-0

© Sa Majesté la Reine du Chef du Canada, 2005

Also available in English under the title

***Screening corn for resistance to common diseases in Canada***



# **Criblage du maïs quant à sa résistance aux maladies courantes au Canada**

**Lana M. Reid et Xiaoyang Zhu**

Centre de recherches de l'Est sur les céréales et oléagineux  
Agriculture et Agroalimentaire Canada  
Ferme expérimentale centrale  
Ottawa (Ontario)



# Table des matières

	Page
<b>Préface</b>	<b>3</b>
<b>Remerciements</b>	<b>3</b>
<b>1.0 Maladies de l'épi</b>	<b>4</b>
<b>1.1 Fusariose de l'épi et pourriture fusarienne des grains</b>	<b>4</b>
1.11 Préparation de l'inoculum	4
1.12 Techniques d'inoculation	5
1.121 Inoculation dans le canal des soies	5
1.122 Inoculation dans les grains	6
1.13 Évaluation de la résistance	7
<b>1.2 Charbon commun</b>	<b>8</b>
1.21 Préparation de l'inoculum	8
1.22 Technique d'inoculation	8
1.23 Évaluation de la résistance	8
<b>2.0 Maladies de la tige</b>	<b>9</b>
<b>2.1 Fusariose de la tige et pourriture fusarienne de la tige</b>	<b>9</b>
2.11 Préparation de l'inoculum	9
2.12 Technique d'inoculation	10
2.13 Évaluation de la résistance	11
<b>2.2 Anthracnose</b>	<b>12</b>
2.21 Préparation de l'inoculum	12
2.22 Technique d'inoculation	12
2.23 Évaluation de la résistance	12
<b>3.0 Maladies des feuilles</b>	<b>13</b>
<b>3.1 Kabatiellose</b>	<b>13</b>
3.11 Préparation de l'inoculum	13
3.12 Technique d'inoculation	14
3.13 Évaluation de la résistance	15
<b>3.2 Rouille</b>	<b>16</b>
3.21 Préparation de l'inoculum	16
3.22 Technique d'inoculation	16
3.23 Évaluation de la résistance	17
<b>3.3 Dessèchement</b>	<b>18</b>
3.31 Préparation de l'inoculum	18
3.32 Technique d'inoculation	19
3.33 Évaluation de la résistance	20
<b>4.0 Entretien des parcelles d'essai et conception des pépinières</b>	<b>22</b>
<b>5.0 Isolement des agents pathogènes</b>	<b>23</b>
<b>6.0 Manipulation de l'inoculum et du matériel végétal infecté</b>	<b>24</b>
<b>7.0 Analyse statistique et interprétation des données</b>	<b>25</b>
<b>8.0 Références</b>	<b>26</b>

## Préface

---

Depuis 1995, les chercheurs du programme d'amélioration du maïs d'Agriculture et Agroalimentaire Canada (AAC) travaillent à mettre au point un programme visant à créer des lignées de maïs dotées d'une multirésistance aux organismes nuisibles. Avant 1995, les programmes de résistance d'AAC portaient surtout sur les pourritures de l'épi causées par des champignons du genre *Fusarium*. Les techniques mises au point pour identifier et évaluer les lignées résistantes à ces maladies ont été publiées dans le bulletin technique 1996-5F d'AAC : « Criblage du maïs quant à sa résistance à la fusariose de l'épi ». Cependant, au Canada, d'autres maladies du maïs nuisent à son rendement annuel et à la qualité de son grain. Le bulletin technique n° 2088-F 2001 d'AAC (« Maladies courantes du maïs au Canada ») présente un résumé des maladies les plus courantes du maïs. Les chercheurs d'AAC ont mis au point des techniques de démarquage au champ pour plusieurs de ces maladies et les ont normalisées pour qu'elles puissent être utilisées couramment dans les programmes d'amélioration. Ces techniques permettent une bonne différenciation des génotypes, depuis les très sensibles jusqu'aux très résistants, et elles sont maintenant utilisées par AAC dans le cadre de son programme d'amélioration du maïs d'AAC visant à créer des populations et des lignées pures (autofécondées) dotées d'une meilleure résistance.

La présente publication décrit les techniques utilisées pour cribler le maïs quant à sa résistance aux maladies courantes de l'épi (fusariose de l'épi, pourriture fusarienne des grains et charbon commun), de la tige (fusariose de la tige, pourriture fusarienne de la tige et anthracnose) et des feuilles (kabatiellose, rouille et dessèchement). On y trouve des détails sur la préparation de l'inoculum, les techniques d'inoculation et d'évaluation de la résistance pour chaque maladie. On y trouve également un sommaire général portant sur la conception des pépinières, l'isolement des agents pathogènes, la manipulation sécuritaire des inoculums et du matériel végétal infecté, de même que les méthodes d'analyse statistique et d'interprétation des données.

Ce livret vise d'abord à aider les chercheurs qui travaillent à l'amélioration du maïs; cependant, les techniques qui y sont décrites peuvent être et sont utilisées pour étudier les mécanismes de résistance, la transmission génétique de la résistance ainsi que l'épidémiologie et la pathologie fondamentale des maladies du maïs les plus courantes au Canada.

## Remerciements

---

Nous tenons à souligner l'appui technique important que nous ont fourni Tsegaye Woldemariam, George McDiarmid et Anthony Parker. Nous sommes également redevables à Ed Shahan, Ed Coles et Steve Thomas pour leur aide sur les lieux d'essai. Nous remercions George McDiarmid, Allen Xue et Linda Harris pour la révision des textes et leurs commentaires rédactionnels. Nous apprécions beaucoup tout le travail et l'application qu'ont mis Judy McCarthy et Susan Flood dans la réalisation graphique du présent livret.

Le texte est fondé sur des recherches financées en partie par l'Association des producteurs de maïs de l'Ontario et par l'entremise du Programme de partage des frais pour l'investissement d'AAC.

## 1.0 Maladies de l'épi

---

### 1.1 Fusariose de l'épi et pourriture fusarienne des grains

Il existe deux types de pourritures fusariennes, la fusariose de l'épi (pourriture rose, pourriture rouge) causée par le *Fusarium graminearum* Schwabe [stade sexué : *Gibberella zeae* (Schwein.) Petch] et la pourriture fusarienne des grains causée par 3 espèces : le *F. verticillioides* (Saccardo) Nirenberg [= *F. moniliforme* J. Sheld. (stade sexué : *G. moniliformis* Wineland)], le *F. proliferatum* (Matsushima) Nirenberg (stade sexué : *G. fujikuroi* var. *intermedia* Kulmann) et le *F. subglutinans* (Wollenweb. & Reinking) Nelson, Toussoun & Marasas (stade sexué : *G. subglutinans* Nelson, Toussoun & Marasas).

Les symptômes typiques de la fusariose de l'épi sont des moisissures variant de roses à rougeâtres, qui apparaissent souvent initialement à l'extrémité de l'épi ou à partir d'une lésion causée par un insecte, puis descendent le long de l'épi. Les rafles deviennent passablement spongieuses, et les feuilles de l'épi blanchissent et adhèrent fermement aux grains. Par la suite, une moisissure poudreuse, duveteuse et rose se forme. On peut aussi observer la présence de périthèces noirs (organes de fructification fongiques qui produisent les spores sexuées) sur les feuilles de l'épi.

Le symptôme typique de la pourriture fusarienne des grains est l'apparition de moisissures blanchâtres à roses, commençant fréquemment à la base ou à l'extrémité de l'épi, souvent à partir d'une lésion causée par un insecte. Les grains infectés par le *Fusarium verticillioides* sont généralement répartis aléatoirement sur l'épi, contrairement aux autres types de pourritures, qui se propagent à partir d'un point d'entrée initial. Les grains infectés peuvent également présenter des symptômes en étoile, c'est-à-dire que des stries blanches irradient à partir du point d'attache de la soie au grain. Comme dans le cas de la fusariose de l'épi, les feuilles de l'épi blanchissent et adhèrent fermement aux grains. Au stade avancé de la maladie, on peut observer la présence de périthèces noirs sur ces feuilles.

#### 1.11 Préparation de l'inoculum

On utilise souvent comme inoculum une suspension liquide de macroconidies et de microconidies. Pour obtenir une croissance fongique optimale, utiliser un milieu liquide à faible teneur en sucre, soumis à une agitation intermittente (avec ou sans rotation ou barbotage), qui prévient la croissance mycélienne et l'agglutination. Un milieu typique pour cultiver l'inoculum est le milieu modifié de Bilay (Reid *et al.*, 1996) qui contient 2,0 g de phosphate monobasique de potassium ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ), 2,0 g de nitrate de potassium ( $\text{KNO}_3$ ), 1,0 g de chlorure de potassium (KCl), 1,0 g de sulfate de magnésium ( $\text{MgSO}_4$ ), 0,0002 g de sulfate de fer(II) ( $\text{FeSO}_4$ ), 0,0002 g de chlorure de fer(III) ( $\text{FeCl}_3$ ), 0,0002 g de sulfate de manganèse ( $\text{MnSO}_4$ ), 0,0002 g de sulfate de zinc ( $\text{ZnSO}_4$ ) et 1,0 g de dextrose dans 1,0 L d'eau distillée. Préparer des erlenmeyers de 500 mL contenant chacun 150 mL de milieu, autoclaver pendant 20 minutes, puis vérifier que le pH=5. Déposer dans chaque flacon 4 à 6 morceaux de 1 cm<sup>2</sup> de gélose dextrosée à la pomme de terre, contenant du mycélium et des conidies provenant d'un seul isolat. Toutes les 4 heures, agiter les flacons pendant 1 heure à 25 °C sous un éclairage naturel complété par des lampes fluorescentes. Une suspension de conidies peut atteindre une concentration de plusieurs millions de spores par millilitre en une semaine. L'inoculum ainsi préparé peut être conservé au réfrigérateur (2 à 4 °C) pendant 4 semaines avant que la viabilité des spores ne commence à diminuer. Avant l'inoculation, filtrer la préparation à travers 2 épaisseurs de gaze pour éliminer les agglomérats de mycélium, puis diluer avec de l'eau stérile jusqu'à la concentration voulue de conidies. De façon générale, on utilise une concentration de  $2,5 \times 10^5$  conidies/mL

## 1.12 Techniques d'inoculation

Les mêmes techniques d'inoculation sont utilisées pour la fusariose de l'épi et la pourriture fusarienne des grains. Une technique d'inoculation distincte est cependant nécessaire pour chaque voie de pénétration du champignon, c'est-à-dire par le canal des soies ou par les grains.

### 1.121 Inoculation dans le canal des soies

Injecter 2 mL de suspension dans le canal des soies de chaque épi primaire, 4 à 7 jours après l'apparition des soies. Ce moment correspond à la période d'élongation et de pollinisation des soies, qui peuvent présenter un certain brunissement des extrémités sans être desséchées. Le moment de l'inoculation revêt une importance cruciale : si l'inoculation est faite trop tard, la plante manifestera peu de symptômes de la maladie, voire aucun. Il faut veiller à ce que l'inoculum soit injecté à angle



droit par rapport au canal des soies, sinon les conidies seront projetées le long du canal et atteindront les grains, et l'évaluation de la résistance des soies sera faussée. Un appareil à vaccination gradué, de 10 mL, à remplissage automatique, relié à un réservoir de 2,5 L porté sur le dos (Nasco Co., Fort Atkinson, WI), est particulièrement utile pour faire les inoculations. Il suffit de remplacer la buse originale de l'appareil par une aiguille hypodermique Luer-lock, de calibre 18, en acier inoxydable, de 5,6 cm de longueur (Reid *et al.*, 1996) (figure 1). Les épis secondaires ne sont pas inoculés, parce qu'ils ne sont pas présents chez tous les génotypes et qu'ils mûrissent souvent plus tard que les épis primaires. Après l'inoculation, on peut marquer les plantes inoculées en vaporisant le pédoncule ou la région inférieure des feuilles de l'épi d'un petit point de peinture

**Figure 1.** Appareil utilisé pour inoculer la fusariose de l'épi et le charbon commun dans le canal des soies. Un appareil de vaccination gradué, de 10 mL, à remplissage automatique, est relié à un réservoir de 2,5 L porté sur le dos et contenant la suspension de spores fongiques. Injecter 2 mL d'inoculum dans le canal des soies, 4 à 7 jours après l'apparition des soies.

### 1.122 Inoculation dans les grains

Injecter 2 mL de suspension de conidies dans 3 ou 4 grains situés au centre de chaque épi primaire lorsque les grains atteignent le stade du gonflement, soit environ 10 à 15 jours après l'apparition des soies. Le moment de l'inoculation revêt une importance cruciale, parce que si l'inoculation est faite trop tard, la plante manifestera peu de symptômes de la maladie, voire aucun. Il faut veiller à ce que l'inoculum soit injecté dans les grains et non dans le rachis, sinon les symptômes risquent d'être difficiles à distinguer sur les grains. Un appareil à vaccination gradué, de 10 mL, à remplissage automatique, relié à un réservoir de 2,5 L porté sur le dos (Nasco Co., Fort Atkinson, WI) est particulièrement utile pour faire ces inoculations. Il suffit de remplacer la buse originale de l'appareil par un dispositif d'injection constitué de quatre aiguilles, dont chacune est munie d'une ouverture latérale située près de l'extrémité, qui est scellée pour permettre de perforer le grain et d'injecter la suspension sans que l'aiguille ne s'obstrue de tissus provenant des feuilles de l'épi ou du grain. (Reid *et al.*, 1996) (figure 2). Les épis secondaires ne sont pas inoculés, parce qu'ils ne sont pas présents chez tous les génotypes et qu'ils mûrissent souvent plus tard que les épis primaires. Après l'inoculation, on peut marquer les plantes qui ont été inoculées en vaporisant le pédoncule ou la région inférieure des feuilles de l'épi d'un petit point de peinture rouge.

**Figure 2.** Appareil utilisé pour inoculer la fusariose de l'épi dans les grains. Un appareil de vaccination gradué, de 10 mL, à remplissage automatique, est relié à un réservoir de 2,5 L porté sur le dos et contenant la suspension de spores fongiques. Injecter 2 mL d'inoculum au moyen de 4 aiguilles, 10 à 15 jours après l'apparition des soies. Chaque aiguille est munie d'une ouverture latérale située près de l'extrémité, qui est scellée afin que l'on puisse perforer les feuilles de l'épi et le grain, puis injecter l'inoculum sans que l'aiguille ne devienne obstruée.

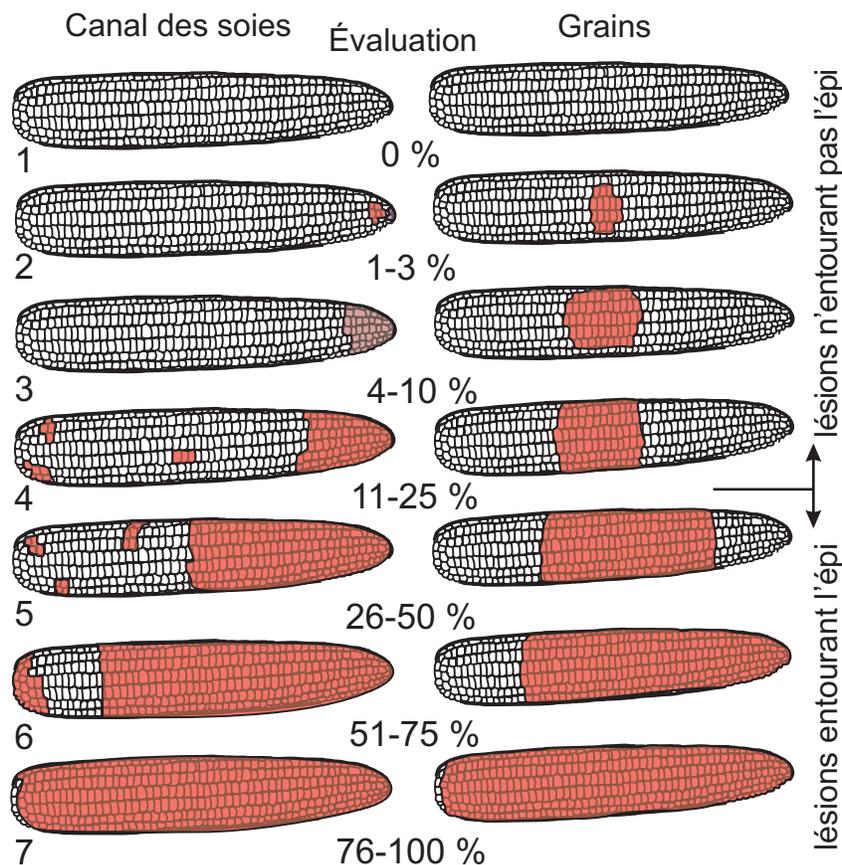


### 1.13 Évaluation de la résistance

Pour les deux maladies, la résistance des plantes est évaluée au moment habituel de la récolte, soit lorsque la teneur en humidité des grains est d'environ 24 %, c'est-à-dire 6 à 8 semaines après l'inoculation. Les épis, encore sur les plantes, sont épluchés à la main et on évalue la gravité de la maladie à l'aide d'une échelle fondée sur le pourcentage de grains présentant des symptômes visibles d'infection tels que la pourriture et la croissance mycélienne (figure 3). Cette évaluation est plus difficile dans le cas du *F. verticillioides*, puisque les grains manifestant des symptômes ont tendance à être plus dispersés le long de l'épi; par conséquent, il faut évaluer visuellement quel pourcentage de la surface de l'épi est infectée.

Dans un programme d'amélioration, le degré d'infection visible acceptable pour la sélection des sujets résistants dépend beaucoup de la technique d'inoculation utilisée. Dans le cas de l'inoculation dans le canal des soies, les épis qui ne présentent aucune infection visible (cote = 1) manifestent ainsi une résistance à la propagation de l'infection le long du canal des soies. Les épis contenant des grains infectés manifestent quant à eux une absence de résistance ou encore une résistance insuffisante pour empêcher le champignon d'atteindre les grains avant que la résistance des grains n'ait eu le temps de se développer ou que les grains aient durci et ne soient plus réceptifs. Le milieu environnant (p. ex. humidité, température) peut aussi retarder la propagation du champignon dans le canal des soies.

Avec la technique d'inoculation dans les grains, on obtient toujours un certain degré d'infection. La plante chez laquelle l'infection ne se propage pas à partir des grains blessés (cote = 2) est considérée comme résistante. Ce type de résistance se manifeste par un ratatinement des grains blessés, avec ou sans signe visible d'infection telle une croissance mycélienne.



**Figure 3.** Échelle de gravité de la fusariose de l'épi inoculée dans le canal des soies ou dans les grains, fondée sur le pourcentage de grains présentant des symptômes visibles de la maladie. L'échelle utilisée pour évaluer la fusariose inoculée dans le canal des soies peut aussi être utilisée pour estimer la gravité du charbon commun, dont la gravité est fonction du nombre de grains portant des tumeurs.

## 1.2 Charbon commun (charbon du maïs, charbon des feuilles)

Agent : *Ustilago zea* (Beckm.) Unger [= *U. maydis* (DC.) Corda]

Les symptômes du charbon commun peuvent se manifester sur toutes les parties aériennes de la plante et, notamment, sur les tissus jeunes en pleine croissance. De grandes tumeurs (masses gonflées et distendues) de 2 à 10 cm se forment sur les tiges, les panicules et les épis. Ces tumeurs se couvrent d'abord d'une membrane blanc argenté qui évolue en une masse grise contenant des spores sous forme de poussière noire. Lorsque ces tumeurs parviennent à maturité, elles éclatent et libèrent les spores. Des tumeurs peuvent également se former sur les feuilles, où elles sont généralement petites, brunes et dures. Si l'infection se produit tôt, elle peut entraîner la mort des jeunes plantes. Les plantes dont les tiges inférieures portent de grosses tumeurs peuvent être rabougries et stériles, ou produire de petits épis. La maladie se propage aux épis à partir de spores germant sur les soies et produisant un mycélium qui se répand jusqu'aux grains.

### 1.21 Préparation de l'inoculum

Des tumeurs matures sont prélevées sur des épis infectés lors de chaque saison de croissance, séchées dans un four, au laboratoire, à 28-32 °C pendant 10 à 15 jours, puis conservées à 4-6 °C jusqu'au moment de l'utilisation. Deux jours avant de procéder aux inoculations dans les champs, verser des aliquotes de 15 mL de gélose dextrosée à la pomme de terre dans des boîtes de Pétri de 9 cm de diamètre. Environ 36 heures avant l'inoculation, tapoter légèrement une tumeur provenant d'un épi infecté, au-dessus d'une de ces boîtes de Pétri, de manière à saupoudrer la gélose de spores (téliospores). Secouer la boîte de Pétri pour distribuer les spores uniformément, puis l'inverser brièvement pour déloger toute grosse particule de tumeur qui aurait pu y tomber. Incuber les boîtes de Pétri à 24-28 °C pendant 30 heures, en suivant un cycle de 12 heures d'obscurité suivies de 12 heures de lumière, pour permettre la formation de sporidies. Après cette période d'incubation, laver chaque gélose deux fois avec 15 mL d'eau stérile. Filtrer la solution de lavage à travers 4 épaisseurs de gaze et diluer dans de l'eau stérile jusqu'à une concentration de  $5 \times 10^5$  sporidies/mL. Ajouter 1 mL de Tween 20 à 0,5 % à chaque 500 mL de suspension pour favoriser l'adhérence des spores aux épis après l'inoculation. Les suspensions peuvent être conservées à 4-6 °C pendant un maximum de 4 heures avant l'utilisation.

### 1.22 Technique d'inoculation

Pour évaluer la résistance au charbon commun, utiliser la technique d'injection dans le canal des soies décrite dans la section 1.121 (figure 1).

### 1.23 Évaluation de la résistance

La résistance des plantes est évaluée au moment habituel de la récolte, soit lorsque la teneur en humidité des grains est d'environ 24 %, c'est-à-dire 6 à 8 semaines après l'inoculation. Les épis encore sur les plantes, sont épluchés à la main et on évalue la gravité de l'infection à l'aide d'une échelle fondée sur le pourcentage de grains ayant des tumeurs, où : 1 = aucune tumeur sur l'épi; 2 = 1-3 %, 3 = 4-10 %, 4 = 11-25 %, 5 = 25-50 %, 6 = 51-75 % et 7 = 76-100 % des grains présentent des tumeurs (figure 3). Une cote de 1 signifie qu'il y a résistance du canal des soies.

## 2.0 Maladies de la tige

---

### 2.1 Fusariose de la tige et pourriture fusarienne de la tige

Agent de la fusariose de la tige : *Fusarium graminearum* Schwabe [stade sexué : *Gibberella zeae* (Schwein.) Petch]. Agents de la pourriture fusarienne de la tige (3 espèces possibles : *F. verticillioides* (Saccardo) Nirenberg [= *F. moniliforme* J. Sheld. (stade sexué : *G. moniliformis* Wineland)]; *F. proliferatum* (Matsushima) Nirenberg (stade sexué : *G. fujikuroi* var. *intermedia* Kulmann); *F. subglutinans* (Wollenweb. & Reinking) Nelson, Toussoun & Marasas (stade sexué : *G. subglutinans* Nelson, Toussoun & Marasas).

Souvent, les plantes infectées par la fusariose de la tige se flétrissent et leurs feuilles passent d'un vert clair à un vert terne, alors que le bas de la tige se dessèche et que le tissu de la moelle se désintègre et devient filamenteux. Les symptômes distinctifs de la fusariose de la tige comprennent une coloration chamois à brun foncé des entre-nœuds inférieurs et une coloration rose à rougeâtre du tissu de la moelle. Des périthèces noir bleuté (organes de fructification libérant les spores sexuées) ou des spores asexuées blanc rougeâtre se forment à la surface de la tige. Si l'infection est grave, les plantes ont tendance à verser.

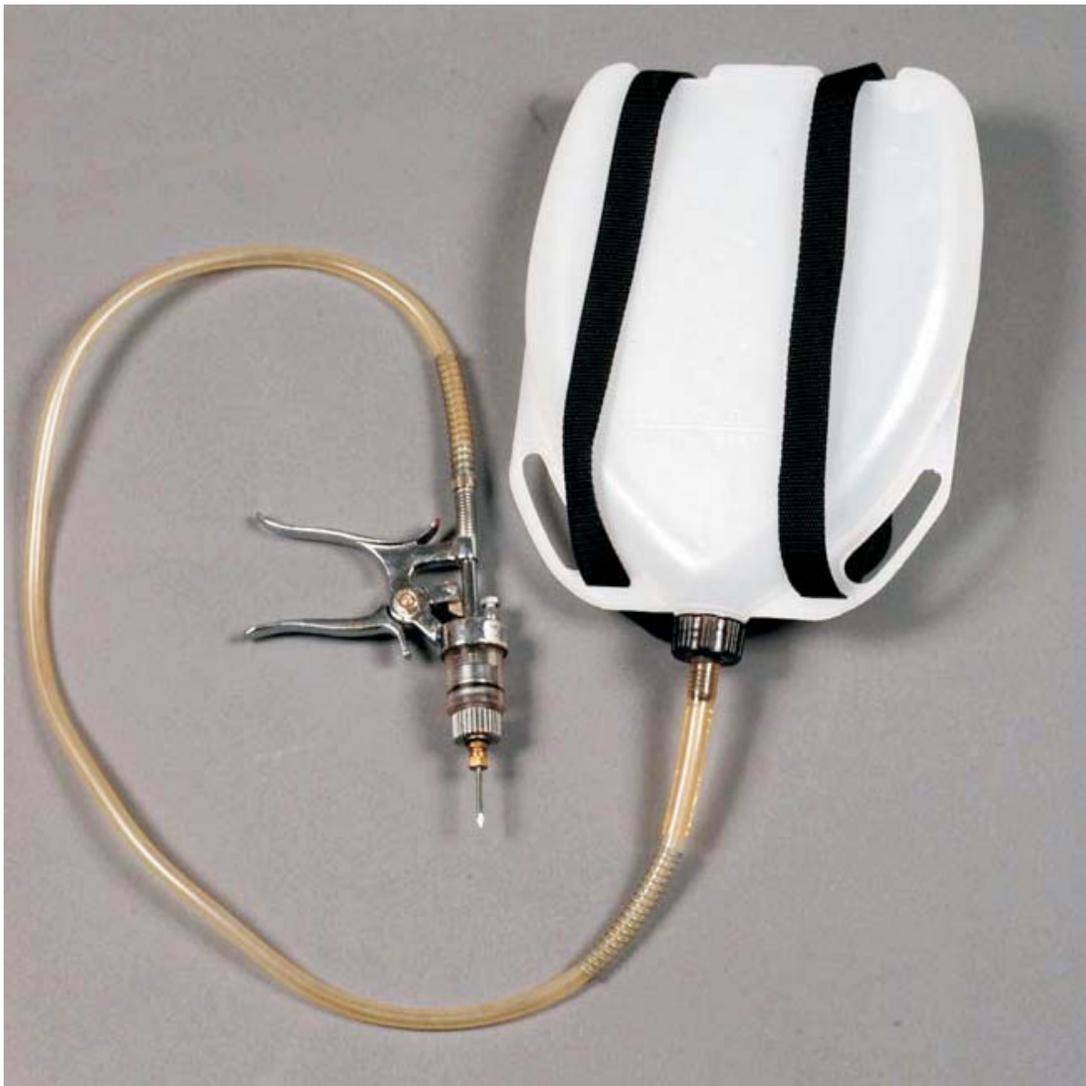
Les symptômes de la pourriture fusarienne de la tige diffèrent peu de ceux de la fusariose de la tige. Les plantes peuvent flétrir, les feuilles passent d'un vert clair à un vert terne, le bas de la tige se dessèche, et le tissu de la moelle se désintègre et prend une apparence filamenteuse. Des stries brunes apparaissent sur les entre-nœuds inférieurs, et le tissu pourri de la moelle prend une couleur rose blanchâtre à saumon, alors qu'il prend une coloration rose rouge caractéristique dans le cas de la fusariose de la tige. Les plantes infectées ont tendance à verser. Les symptômes apparaissent habituellement tard dans la saison.

#### 2.11 Préparation de l'inoculum

Les techniques de préparation de l'inoculum utilisées pour la fusariose de la tige et la pourriture fusarienne de la tige sont les mêmes que celles utilisées pour la fusariose de l'épi et la pourriture fusarienne de l'épi. (section 1.11).

## 2.12 Technique d'inoculation

Les techniques d'inoculation sont les mêmes pour les deux maladies. Injecter 2 mL de suspension de conidies ( $2,5 \times 10^5$  spores/mL) au milieu du premier entre-nœud au-dessus du nœud de la racine aérienne la plus élevée, en orientant l'aiguille à  $45^\circ$  vers le bas, 4 à 7 jours après l'apparition des soies. Comme une aiguille ordinaire deviendrait rapidement obstruée de tissus de la moelle lorsqu'elle s'enfoncerait dans la tige, il vaut mieux utiliser une aiguille de 5 cm de longueur et de 3 mm de diamètre dont l'ouverture se trouve sur le côté, près de l'extrémité, qui est scellée (ce qui permet de perforer et d'injecter). Une telle aiguille peut être fixée à un appareil de vaccination gradué, à remplissage automatique, relié à un réservoir de 2,5 L porté sur le dos (Nasco Co., Fort, Atkinson, WI) (figure 4).

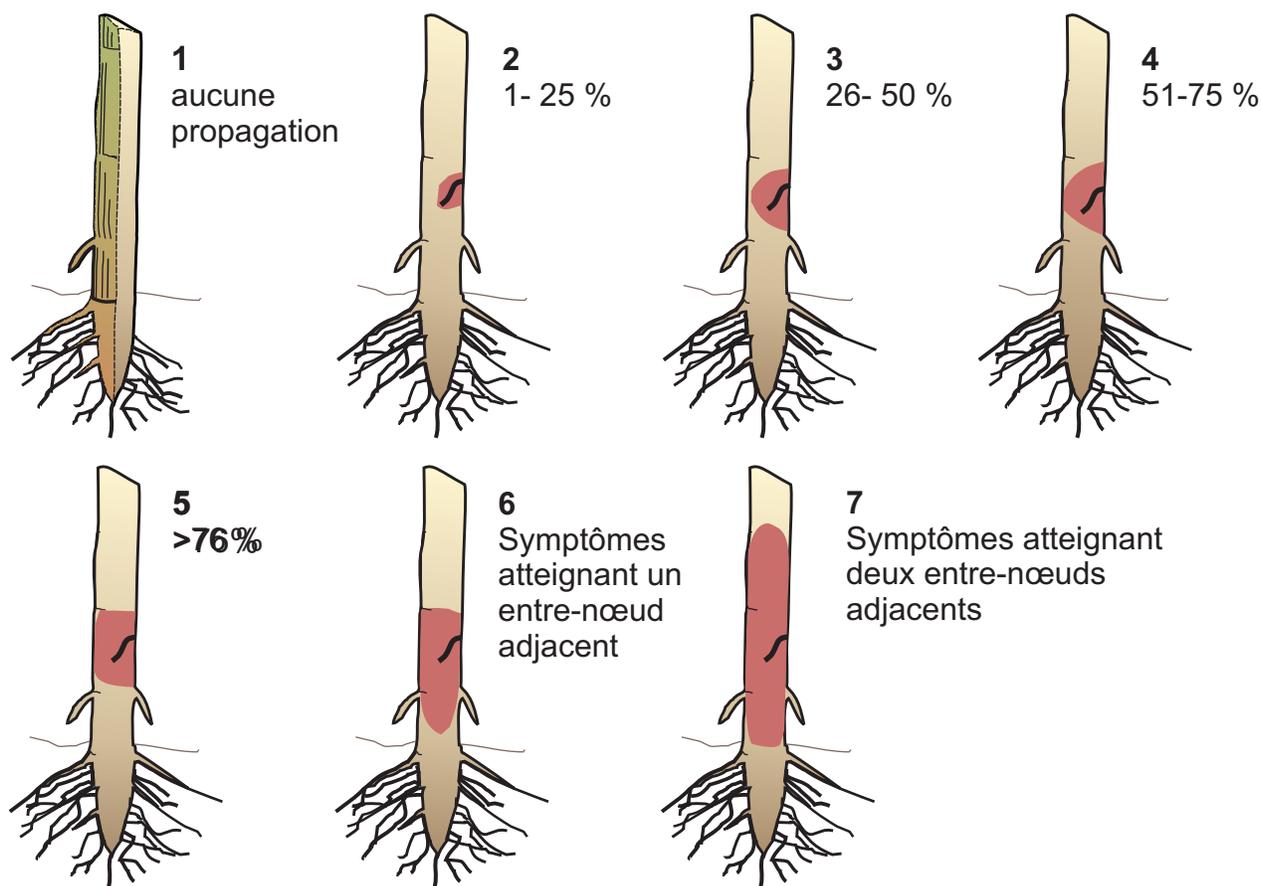


**Figure 4.** Appareil utilisé pour inoculer la fusariose de la tige et l'antracnose. Un appareil de vaccination gradué, de 10 mL, à remplissage automatique, est relié à un réservoir de 2,5 L porté sur le dos et contenant la suspension de spores fongiques. Perforer la tige et injecter 2 mL d'inoculum. L'aiguille en acier, de 3 mm de diamètre, comporte une ouverture latérale située près de l'extrémité, qui est scellée pour permettre de perforer

## 2.13 Évaluation de la résistance

Au moment où l'on procéderait normalement à la récolte, soit lorsque la teneur en humidité des grains est d'environ 24 %, 6 à 8 semaines après l'inoculation, faire une incision longitudinale sur la tige à partir d'un point situé juste sous l'épi jusqu'au niveau du sol. Évaluer la gravité de la maladie au moyen d'une échelle fondée sur le degré d'altération de la couleur des entre-nœuds où :

**1** = aucune propagation visible de l'agent pathogène à partir du point d'inoculation; **2** = 1-25 %, **3** = 26- 50 %, **4** = 51-75 %, **5** = >75 % de l'entre-nœud inoculé manifestant des symptômes d'infection; **6** = les symptômes se sont propagés à un entre-nœud adjacent, et **7** = les symptômes se sont propagés au moins à deux entre-nœuds adjacents (figure 5).



**Figure 5.** Échelle de gravité de la fusariose de la tige et de l'antracnose fondée sur le degré d'altération de la couleur des entre-nœuds et sur la propagation des symptômes à partir de l'entre-nœud où l'inoculation a été faite.

## 2.2 Anthracnose

Agent : *Colletotrichum graminicola* (Ces.) G.W. Wils. (stade sexué : *Glomerella graminicola* Politis)

Cette pourriture de la tige se caractérise par un noircissement distinctif du bas des tiges à la suite de l'apparition de stries noires à la fin de la période végétative. La moelle devient brun foncé et filamenteuse. De nombreux organes de fructification asexués noirs et épineux (acervules) se forment à la surface des tissus morts. Comme pour la plupart des pourritures de la tige, le symptôme le plus évident est la mort soudaine de la plante avant la maturation du grain. Comme les feuilles se flétrissent et meurent, la plante semble « avoir gelé ». Un autre symptôme courant est la verse.

### 2.21 Préparation de l'inoculum

Cultiver le *Colletotrichum graminicola* dans des boîtes de Pétri de 9 cm de diamètre contenant 15 mL de gélose à l'avoine (faire bouillir 75 g de flocons d'avoine dans 1000 mL d'eau et ajouter 18 à 20 g d'agar) à la température ambiante (22 à 25 ° C) pendant 10 à 14 jours, avec 12 heures d'obscurité et 12 heures de lumière chaque jour. Ensuite, laver chaque gélose avec 15 mL d'eau stérile et filtrer la solution de lavage à travers 4 épaisseurs de gaze, puis diluer avec de l'eau stérile jusqu'à une concentration de  $2,5 \times 10^5$  spores/mL.

### 2.22 Technique d'inoculation

La technique d'inoculation de l'anthracnose est la même que celle utilisée pour la fusariose et la pourriture fusarienne de la tige (section 2.12) (figure 4).

### 2.23 Évaluation de la résistance

La méthode d'évaluation de la résistance à l'anthracnose est la même que celle utilisée pour la fusariose et la pourriture fusarienne de la tige (section 2.13) (figure 5).



## 3.0 Maladies des feuilles

---

### 3.1 Kabatiellose

Agent : *Aureobasidium zeae* (Narita & Hiratsuka) J.M. Dingley (= *Kabatiella zeae* Narita & Hiratsuka)

Les symptômes de la kabatiellose consistent en des lésions rondes à ovales de 2 à 5 mm de diamètre. Le centre de la lésion est de couleur havane à crème et le pourtour, brun ou violet. La lésion est entourée d'une auréole jaunâtre qui donne l'aspect d'« œil » caractéristique de cette maladie. Les lésions sont faciles à reconnaître lorsque la feuille est tenue directement devant une source lumineuse. Elles peuvent s'amalgamer pour former une grande plaque nécrosée. Les feuilles supérieures peuvent faner et mourir prématurément. Les symptômes peuvent parfois être confondus avec des taches foliaires d'origine physiologique non infectieuse ou des dommages causés par les insectes.

#### 3.11 Préparation de l'inoculum

Préparer l'inoculum d'*Aureobasidium zeae* dans un milieu liquide contenant du carboxyméthyl-cellulose (CMC), du maltose et de l'extrait de levure. Comme le CMC et le maltose se dissolvent difficilement dans l'eau, préparer le milieu comme suit : dans un flacon de 1 L, verser 2,0 g de CMC, 2,0 g de maltose, 0,6 g d'extrait de levure, 0,6 g de peptone, 0,4 g de  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  et 400 mL d'eau distillée. Autoclaver pendant 15 à 20 minutes à 15 lb/po<sup>2</sup> pour stériliser. Une fois le milieu refroidi, ajouter à chaque flacon 6 à 8 morceaux de 1 cm<sup>2</sup> de gélose dextrosée à la pomme de terre contenant du mycélium et des conidies provenant d'un seul isolat d'*A. zeae*. Toutes les 4 heures, agiter les flacons pendant 1 heure à 25 °C sous un éclairage naturel complété par des lampes fluorescentes. Après deux ou trois semaines, la couche de mycélium et de conidies recouvrant les parois des flacons devient noire. Secouer le flacon pour déloger cette couche et la faire tomber dans le liquide. Filtrer le tout à travers 4 épaisseurs de gaze et diluer avec de l'eau stérile jusqu'à une concentration de  $2,5 \times 10^5$  conidies/mL.

### 3.12 Technique d'inoculation

Pour obtenir de bons taux d'infection, il faut faire 2 inoculations : une lorsque les plantes sont au stade 6 à 8 feuilles et l'autre, au stade 10 à 12 feuilles. Chaque fois, (sans endommager les tissus végétaux) injecter 2 mL de suspension de conidies ( $2,5 \times 10^5$  conidies/mL) dans le cornet de chaque plante au moyen d'un appareil de vaccination gradué, de 10 mL, à remplissage automatique, relié à un réservoir de 2,5 L porté sur le dos (Nasco Co., Fort Akinson, WI) (figure 6). Utiliser la buse en acier inoxydable de 18 cm de

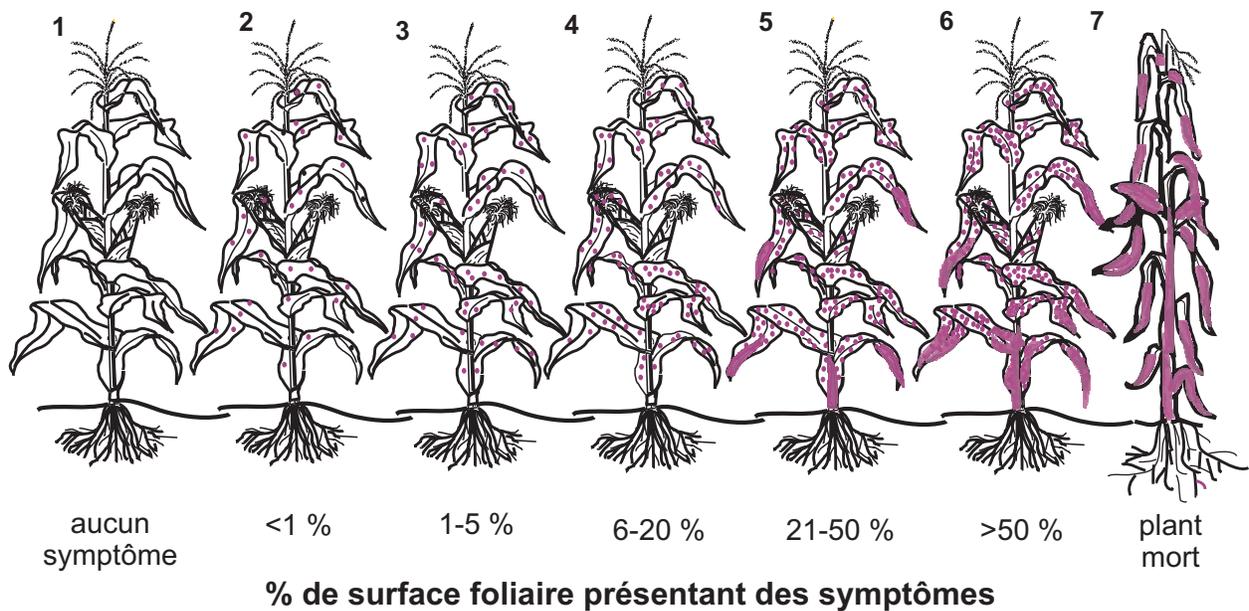


longueur et de 0,5 cm de diamètre qui vient avec l'appareil; cette longue buse évite à l'opérateur de devoir se pencher pour faire les inoculations.

**Figure 6.** Appareil utilisé pour inoculer la kabatiellose et la rouille. Un appareil de vaccination gradué, de 10 mL, à remplissage automatique, est relié à un réservoir de 2,5 L porté sur le dos et contenant la suspension de spores fongiques. Déposer 2 mL d'inoculum dans le cornet, une première fois au stade 6 à 8 feuilles, et une deuxième fois, au stade 10 à 12 feuilles.

### 3.13 Évaluation de la résistance

Évaluer la gravité de la maladie au stade pâteux mou (soit environ 3 semaines après l'apparition des soies) au moyen d'une échelle fondée sur le pourcentage de surface foliaire présentant des symptômes visibles, où : **1** = aucun symptôme, **2** = quelques lésions seulement (symptômes présents sur < 1 % de la surface foliaire), **3** = plusieurs lésions distinctes (1-5 % de la surface foliaire est infectée), **4** = de nombreuses lésions, dont certaines se rejoignent pour former une zone nécrosée (6-20 % de la surface foliaire est infectée), **5** = les zones nécrosées se rejoignent et quelques feuilles présentent une nécrose apicale (21-50 % de la surface foliaire infectée), **6** = 50 % des feuilles présentent une nécrose apicale (> 50 % de la surface foliaire présente des symptômes), et **7** = la plupart des feuilles sont mortes et, habituellement, la plante est morte (figure 7).



**Figure 7.** Échelle de gravité de la kabatiellose et de la rouille fondée sur le pourcentage de surface foliaire manifestant des symptômes.

## 3.2 Rouille

Agent : *Puccinia sorghi* Schwein.

Au début, les symptômes consistent en l'apparition, sur les feuilles, de petites taches qui se transforment rapidement en petites pustules rondes à allongées, brun rougeâtre, remplies d'urédospores rouges. Ces pustules peuvent apparaître sur les deux faces des feuilles, de même que sur l'enveloppe de l'épi, la gaine des feuilles et les tiges. Les pustules noircissent au fur et à mesure que la plante mûrit et elles sont souvent regroupées en bandes autour des feuilles quand l'infection survient au stade du cornet. Les jeunes feuilles sont plus sensibles que les feuilles matures. En cas d'infection grave, les tissus foliaires entourant les pustules jaunissent, flétrissent et meurent. Certains hybrides possèdent des gènes conférant une résistance à la maladie; ils peuvent avoir une réaction d'hypersensibilité qui se traduit par l'apparition de plusieurs petites lésions pâles ressemblant à des piqûres.

### 3.21 Préparation de l'inoculum

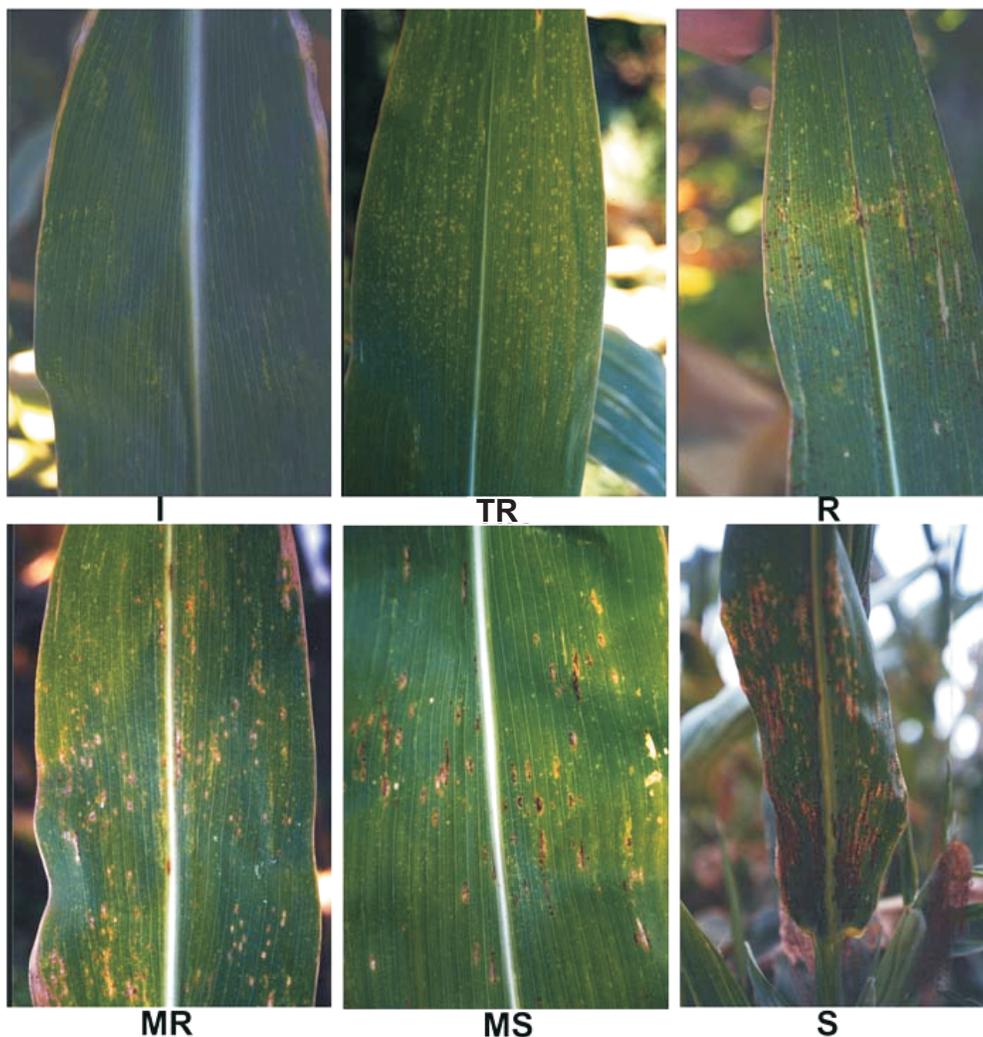
Comme le *Puccinia sorghi* est un parasite obligatoire, il faut garder cet organisme vivant; on ne peut le conserver dans un état de dormance comme on le fait pour les autres agents pathogènes décrits dans ce guide. Le maïs sucré est habituellement sensible à la rouille; cultivé en serre, il constitue un hôte utile pour la survie du champignon pendant l'hiver. Les urédospores peuvent survivre jusqu'à six mois au réfrigérateur (4 à 6 ° C); ainsi, de janvier à la mi-juin, on peut prélever les urédospores sur des plants de maïs sucré cultivés en serre et préalablement infectés avec des spores de rouille. Avant de procéder à l'inoculation au champ, mélanger toutes les spores recueillies, puis les répartir en deux lots pour l'inoculation en deux temps. Avant l'inoculation, mettre les spores en suspension dans de l'eau stérile contenant du Tween 20 à 0,5 % (1 mL pour chaque 500 mL d'eau) pour favoriser l'adhérence des spores aux tissus végétaux. Agiter la suspension pendant 15 minutes, puis la filtrer à travers 2 épaisseurs de gaze pour éliminer les grosses particules de tissu végétal. Diluer ensuite avec de l'eau stérile jusqu'à une concentration de  $2,5 \times 10^5$  spores/mL. La quantité d'eau stérile nécessaire pour préparer la suspension dépend de la quantité de spores recueillies; nous utilisons habituellement 6 litres d'eau pour préparer nos suspensions de spores.

### 3.22 Technique d'inoculation

La technique d'inoculation utilisée pour la rouille est la même que celle utilisée pour la kabatiellose (section 3.12) (figure 6).

### 3.23 Évaluation de la résistance

Lorsque les plants atteignent le stade pâteux mou, soit environ 3 semaines après l'apparition des soies, évaluer la résistance générale (fondée sur la gravité de la maladie) et la résistance spécifique (fondée sur le type de pustules). Il existe six types de pustules (figure 8) classés comme suit : plante immune (I) = aucun symptôme de rouille; très résistante (TR) = réaction d'hypersensibilité, mouchetures (ressemblant à des piqûres) jaunâtres; résistante (R) = très petites pustules à contour vert clair ou jaunâtre, ou encore brun et nécrosé, encore recouvertes de la cuticule de la feuille; modérément résistante (MR) = petites pustules dont la plupart sont encore couvertes par la cuticule de l'hôte, mais dont certaines ont percé, et présence de quelques urédospores; modérément sensible (MS) = pustules plus grosses, certaines se rejoignent, et certaines ont percé la cuticule, présence de quelques urédospores; sensible (S) = grosses pustules, la plupart se rejoignant et ayant percé la cuticule, présence de beaucoup d'urédospores. L'échelle d'évaluation utilisée pour la résistance générale est la même que celle utilisée pour la kabatiellose (section 3.13) (figure 7) sauf qu'il s'agit ici de pustules plutôt que de lésions.



**Figure 8.** Types de pustules associées à la résistance spécifique de la plante à la rouille. I = plante immune, TR = très résistante, R = résistante, MR = modérément résistante, MS = modérément sensible et S = sensible.

### **3.3 Dessèchement** (Helminthosporiose du Nord, pourriture du collet)

Agent : *Setosphaeria turcica* (Luttrell) K.J. Leonard & E.G. Suggs [stade asexué : *Exserohilum turcicum* (Pass.) K.J. Leonard & E.G. Suggs = *Helminthosporium turcicum* Pass.]

Les symptômes typiques du dessèchement consistent en l'apparition de lésions longues, elliptiques, vert grisâtre ou havane, sur les feuilles inférieures. Ces lésions peuvent mesurer jusqu'à 4 × 15 cm. En cas d'infection grave, des feuilles entières meurent et il devient difficile de distinguer les lésions individuelles; c'est ce qu'on appelle parfois la « brûlure » des feuilles. Des lésions peuvent également se manifester sur les feuilles de l'épi, mais les grains ne sont pas infectés. Les plants gravement atteints deviennent vert grisâtre et meurent prématurément. Les plants possédant le ou les gènes de résistance spécifique au dessèchement manifestent des symptômes différents, habituellement une longue rayure ou une lésion elliptique étroite d'un vert jaunâtre, avec ou sans zone centrale grisâtre.

#### **3.31 Préparation de l'inoculum**

La meilleure façon de préparer l'inoculum du *Setosphaeria turcica* consiste à recueillir des feuilles infectées, à les broyer en poudre et à les conserver à la température ambiante jusqu'à la prochaine saison de culture. Pour obtenir une abondance de feuilles infectées dès la première année, inoculer la maladie en utilisant des grains de maïs infectés. Faire bouillir les grains dans l'eau pendant 1 à 2 heures, jusqu'à ce que le péricarpe commence à s'ouvrir, puis utiliser ces grains bouillis pour remplir à moitié des flacons de 1 L. Autoclaver les flacons pendant 45 minutes à 15 lb/po<sup>2</sup> pour les stériliser. Une fois les flacons refroidis, ajouter à chacun 6 à 8 morceaux de 1 cm<sup>2</sup> de gélose dextrosée à la pomme de terre contenant du mycélium et des conidies provenant d'un seul isolat du champignon. Laisser croître le champignon à la température ambiante pendant 2 à 3 semaines, avec un cycle de 12 heures d'obscurité et 12 heures de clarté. Continuer ainsi jusqu'à ce que tous les grains soient colonisés par le champignon. Trois jours avant l'inoculation, enlever les grains des flacons, les placer sur un plateau et les séparer les uns des autres. Laisser sécher pour augmenter la production de spores. Pour inoculer la maladie, il est préférable d'utiliser la poudre de feuilles infectées plutôt que les grains infectés parce que la poudre est beaucoup plus facile et rapide à préparer et qu'il arrive souvent que les oiseaux mangent les grains inoculés.



### **3.32 Technique d'inoculation**

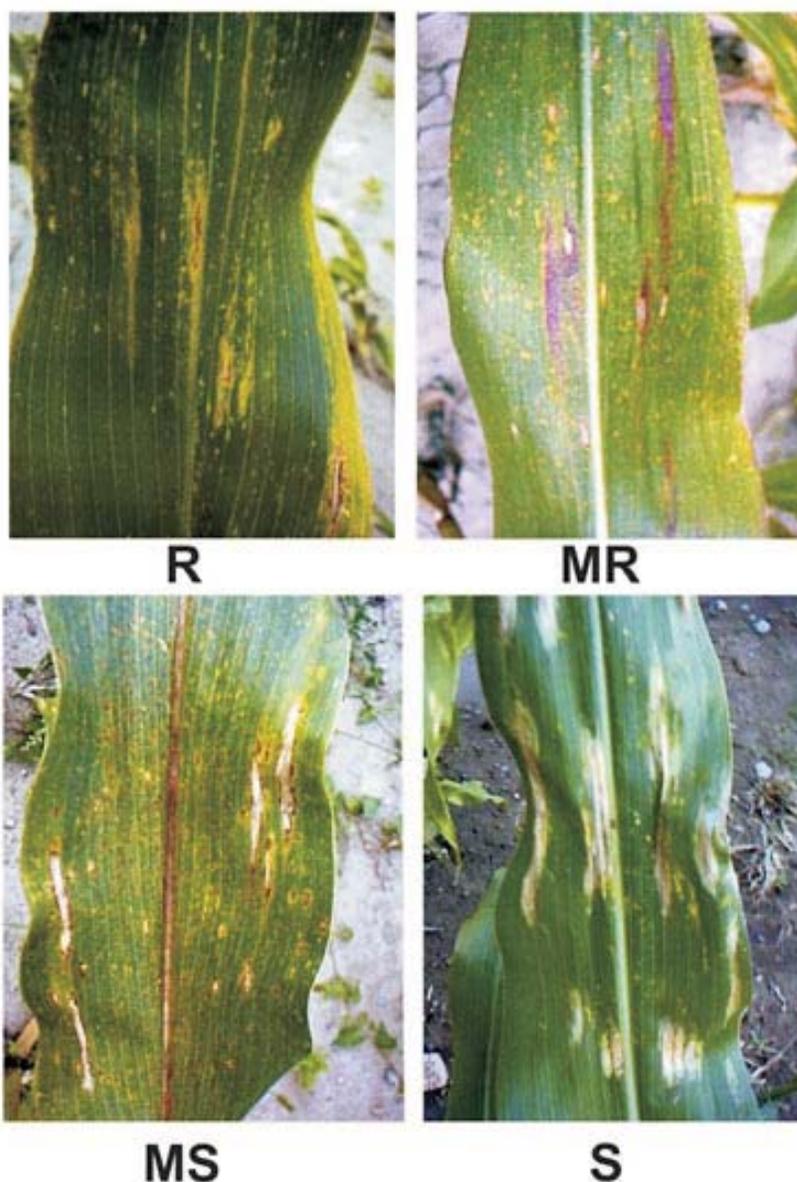
Pour obtenir de bons taux d'infection, on procède à deux inoculations, la première au stade 6 à 8 feuilles de la plante, et la deuxième, au stade 11 à 12 feuilles. Pour inoculer la maladie, déposer environ 0,2 g (1,5 mL) de poudre de feuilles infectées ou 3 grains, préparés selon la méthode décrite ci-dessus, dans le cornet de chaque plante. Le « bazooka » (Sistrunk Inoculators, Starkville, MS 39759, É.-U.) (figure 9) est un bon outil pour ce type d'inoculation; deux doses de poudre administrées avec le bazooka équivalent à 0,2 g.

**Figure 9.** Appareil (souvent appelé « bazooka ») utilisé pour inoculer l'agent du dessèchement. Deux doses de tissus foliaires réduits en poudre (0,1 g par dose) sont déposées dans le cornet de chaque plante.

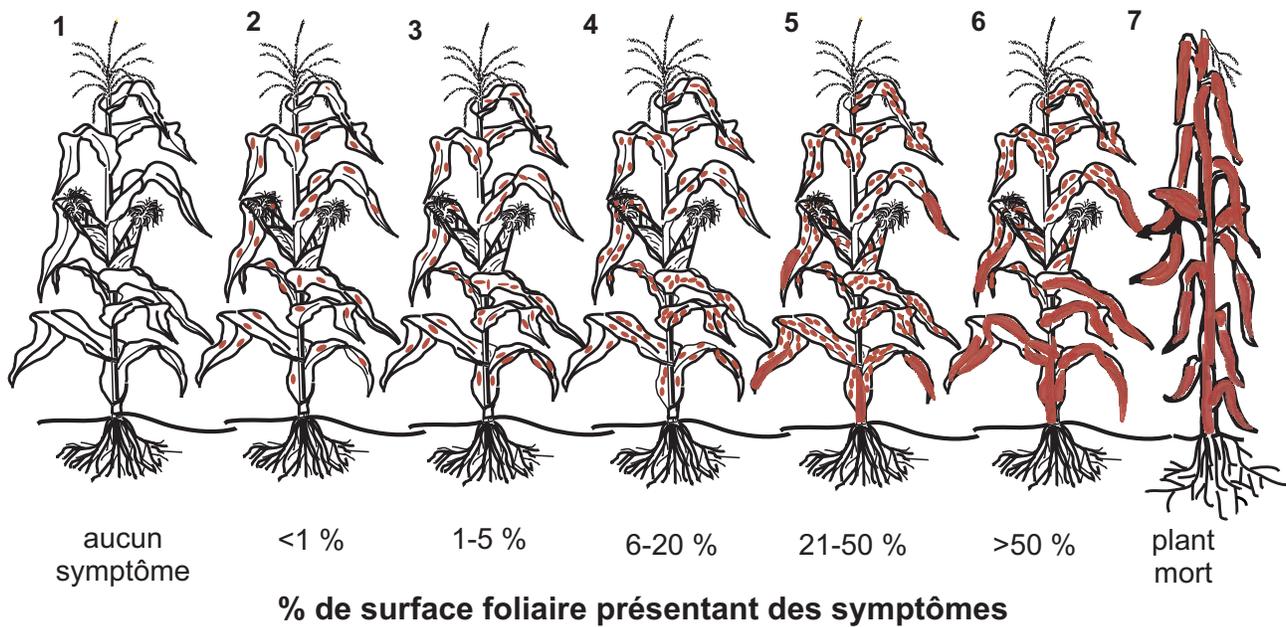
### 3.33 Évaluation de la résistance

Lorsque la plante atteint le stade pâteux mou, soit environ 3 semaines après l'apparition des soies, évaluer la résistance générale (selon la gravité de la maladie) et la résistance spécifique au dessèchement (selon le type de lésions) en utilisant la méthode de Wu *et al.* (1991). Il y a 4 types de lésions (figure 10) : plante résistante (R) = lésion en forme de rayure ou d'ellipse étroite de couleur vert jaunâtre; modérément résistante (MR) = lésion elliptique, étroite et longue, de couleur grise avec un contour vert jaunâtre; modérément sensible (MS) = longue lésion elliptique, de couleur grise avec un contour vert jaunâtre; sensible (S) = longue lésion elliptique, de couleur grise ou havane. L'échelle utilisée pour évaluer la résistance générale au dessèchement ressemble à celle utilisée pour la kabatiellose et la rouille; cependant, dans le cas du dessèchement, les lésions sont plus grosses et les degrés de gravité supérieurs sont fonction de la propagation des symptômes depuis les feuilles inférieures jusqu'aux feuilles supérieures de la plante. Les différents degrés de gravité sont les suivants :

**1** = aucun symptôme;  
**2** = < 1 %; **3** = 1 à 10 %;  
**4** = 11 à 25 % des feuilles présentent des symptômes;  
**5** = > 50 % des feuilles inférieures présentent des symptômes et < 25 % des feuilles médianes (les 4 feuilles les plus près de l'épi primaire) et supérieures présentent des symptômes; **6** = les feuilles inférieures sont mortes, > 50 % des feuilles médianes et < 25 % des feuilles supérieures présentent des symptômes; **7** = le plant est mort (figure 11).



**Figure 10.** Types de lésions associées à la résistance spécifique de la plante au dessèchement. R = plante résistante, MR = modérément résistante, MS = modérément sensible, S = sensible.



**Figure 11.** Échelle de gravité du dessèchement fondée sur le pourcentage de surface foliaire manifestant des symptômes et sur la propagation des symptômes des feuilles inférieures aux feuilles supérieures.



## 4.0 Entretien des parcelles d'essai et conception des pépinières

---

Dans les pépinières de pathologie, l'un des points les plus importants est la création d'un environnement qui favorise le développement et l'apparition d'une flambée de la maladie. Le type de sol peut influencer le développement de la maladie. Le terrain idéal est plat, uniforme, fertile et favorable à une bonne levée ainsi qu'à une santé optimale des plantes. À l'intérieur de chaque parcelle, la variabilité de la gravité de la maladie sera significativement réduite si l'on veille à ce que les plantes soient aussi uniformes que possible et que le moment de l'inoculation soit maintenu constant. Les pratiques de gestion doivent garantir que la maladie est inoculée uniquement à des plantes saines. De telles pratiques comprennent une fertilisation appropriée basée sur l'analyse du sol, l'espacement adéquat des plantes, la lutte contre les mauvaises herbes et même l'utilisation de pesticides contre les insectes et contre les autres maladies. Les plantes soumises à un stress sont habituellement plus gravement touchées par la maladie, ce qui rend l'évaluation de la résistance plus difficile.

Pour toutes les maladies décrites ci-dessus, on obtient de meilleurs résultats lorsque l'humidité du sol et de l'air est maintenue par irrigation. L'irrigation assure l'humidité nécessaire à la croissance des champignons et, dans certains cas, réduit la température du couvert végétal à un niveau qui convient mieux à la croissance de certaines espèces. La quantité et la durée de l'irrigation nécessaire dépendent des températures quotidiennes et de la quantité de pluie que reçoit le champ. En général, il faut irriguer les parcelles pendant au moins 4 semaines après l'inoculation et surveiller le progrès de la maladie pendant cette période, afin de déterminer s'il faut augmenter ou diminuer l'irrigation.

Si le programme de sélection porte sur plus d'un agent pathogène, il faut prendre les précautions nécessaires pour réduire au minimum la propagation de la maladie d'un endroit à un autre. De telles mesures ne sont pas vraiment nécessaires dans le cas d'organismes s'attaquant à la tige ou aux épis, puisque la plupart d'entre eux ne se propagent pas aux plantes avoisinantes pendant une saison donnée. Ce n'est pas le cas pour les maladies des feuilles. Si la kabatiellose se propage peu à l'intérieur d'un champ, la rouille et surtout le dessèchement peuvent rapidement se propager à partir du point d'inoculation. Il est donc recommandé d'isoler les champs de dessèchement des autres champs de maïs. Au moment de la récolte, il faut enlever ou enfouir toutes les plantes auxquelles on a inoculé une maladie donnée, pour réduire au minimum la survie de l'agent pathogène pendant l'hiver et diminuer le risque d'infection ultérieure.

La taille de l'échantillon, ou nombre de plants requis pour bien évaluer la résistance, varie selon la maladie étudiée, le génotype du maïs, le protocole d'évaluation et le but de l'évaluation. Pour un criblage préliminaire (visant à savoir s'il s'agit d'une plante résistante ou non) une parcelle constituée d'un seul rang de 15 plants suffit pour les hybrides et les lignées pures uniformes sur le plan génétique, pour la plupart des maladies; cependant, il faut un minimum de 30 plants si la population est peu uniforme ou s'il y a ségrégation des caractères. Pour évaluer la maladie en termes de fréquence (pourcentage de plantes présentant des symptômes), utiliser une parcelle d'au moins 4 rangs (50 à 60 plants). Dans une pépinière de sélection, on peut utiliser un seul rang par lignée, mais on obtient de meilleurs résultats si on sème au moins deux rangs de chaque lignée. Si l'on considère qu'un rang typique de pépinière contient 15 plants, les parcelles à 2 rangs offrent au moins 20 plants centraux à partir desquels on peut déterminer la gravité de la maladie et faire des sélections. Il ne faut pas utiliser les 2 ou 3 derniers plants de l'extrémité d'un rang pour la sélection ou l'évaluation de la gravité de la maladie, puisque ces plants sont plus sujets à l'effet du milieu. Pour évaluer la gravité d'une maladie durant les premiers stades du développement de lignées ou dans une population à ségrégation de caractères, utiliser au moins 4 rangs. Pour réduire la concurrence entre les différents génotypes de maïs, notamment entre les lignées pures, les hybrides et les populations, regrouper les génotypes semblables et prévoir des rangs de bordure entre les groupes. Semer des témoins sensibles et résistants tous les 30 à 50 rangs pour fins de comparaison entre les génotypes, les répétitions, les lieux d'essais et les années.

## 5.0 Isolement des agents pathogènes

---

Il faut maintenir des cultures pures de chaque agent pathogène pour pouvoir procéder aux inoculations décrites précédemment. À partir des échantillons prélevés, isoler une spore à la fois et préparer des isolats individuels qui seront utilisés seuls ou en association avec d'autres isolats selon le lien génétique existant entre la pathogénicité de l'organisme et la résistance de l'hôte. Comme le but principal des programmes de sélection est de découvrir des lignées dotées de résistances multiples, on utilise souvent un mélange de deux isolats ou plus. Avant de les utiliser pour la sélection, il faut vérifier la virulence des isolats. Pour ce faire, on inocule ces isolats à une série de lignées pures ou hybrides dont on connaît le degré de sensibilité ou de résistance. Ces épreuves peuvent être faites au champ ou en serre.

L'isolement des *Fusarium* est très bien documenté, et l'un des milieux couramment utilisés à cette fin est le milieu sélectif pentachloro nitrobenzène (PCNB) agar (Booth, 1971). L'utilisation de tissus végétaux récemment infectés est d'importance critique pour l'isolement de certains agents comme ceux de la kabatiellose et de l'antracnose. Les spores de l'*A. zeae* et du *C. graminicola* sont petites et semblables à celles de nombreux autres champignons qui peuvent contaminer les lésions plus anciennes et qui ne sont pas éliminées par la stérilisation superficielle des feuilles (Arny *et al.*, 1971; Dale, 1963). L'isolement du champignon responsable du dessèchement est relativement facile parce que ses spores sont plus grosses que celles de nombreux autres champignons (White, 2000). La gélose dextrosée à la pomme de terre et la gélose à la semoule de maïs sont deux milieux couramment utilisés pour isoler et multiplier les champignons responsables de la kabatiellose et du dessèchement. Comme la rouille est un parasite obligatoire, il n'existe pas de milieu de culture pour celui-ci à l'heure actuelle. La rouille doit donc hiverner en serre. Au Canada, pour les criblages courants, il n'est pas nécessaire de séparer les races du *P. sorghi*.

L'agent du charbon commun, *U. maydis*, est hétérothallique. Le locus *a* est responsable du type sexuel des sporidies et le locus *b*, de la pathogénicité (White, 2000). Le caractère hétérothallique de cette espèce complique sa pathogénicité, les cultures appariées issues de spores multiples sont habituellement plus virulentes que les cultures issues de spore unique qui les constituent. Comme on ne sait pas vraiment combien d'isolats issus de spore unique sont nécessaires pour évaluer la gravité du charbon commun, il vaut mieux utiliser un mélange de spores pour préparer l'inoculum.

## 6.0 Manipulation de l'inoculum et du matériel végétal infecté

---

Les spores produites par la plupart des agents phytopathogènes peuvent causer des allergies ainsi que des inflammations des tissus pulmonaires. L'inoculum des diverses espèces de *Fusarium* ainsi que le matériel végétal infecté par ces pathogènes renferment également des mycotoxines. Comme ces substances sont toxiques pour l'être humain, l'inhalation de spores ou de poussières provenant de plantes contaminées peut être extrêmement dangereuse. Il faut donc éviter le plus possible tout contact (par voie orale, par inhalation ou par la peau) avec les cultures d'agents pathogènes et le matériel végétal infecté. La manipulation des cultures de champignons, spécialement ceux du genre *Fusarium*, doit s'effectuer strictement dans une hotte de confinement biologique qui aspire et filtre l'air. Des gants jetables ainsi que d'autres vêtements de protection (sarraus, combinaisons) doivent être portés lorsqu'on travaille avec des cultures liquides, particulièrement durant la filtration.

L'équipement d'inoculation doit être nettoyé après utilisation, chaque jour, avec de l'éthanol à 70 %. Il ne faut pas utiliser le même équipement d'inoculation pour plusieurs espèces de champignons. Toutes les surfaces de laboratoire où ont été effectués des transferts de culture ou de suspension doivent être nettoyées avec de l'éthanol à 70 % ou d'autres désinfectants, immédiatement après usage.

Pendant la récolte, surtout celle des épis infectés par un *Fusarium* ou par le charbon, l'inhalation de poussières ou de particules fongiques est plus dangereuse que l'ingestion de matériel végétal infecté. Les gants, les combinaisons et les masques contre la poussière doivent être portés pendant la récolte, car des poussières et des particules fongiques s'échappent de l'épi lorsqu'on en retire les feuilles. Autant que possible, tenez-vous dos au vent lorsque vous manipulez des épis contaminés par des moisissures. Si les épis sont récoltés à la moissonneuse-batteuse, dans une parcelle contaminée, le conducteur de la machine doit également porter des vêtements de protection ainsi qu'un masque, surtout si la machine n'est pas dotée d'une cabine pressurisée et hermétique dont les filtres à air sont changés fréquemment.

## 7.0 Analyse statistique et interprétation des données

Dans le cadre des programmes de sélection du maïs, on a généralement recours à un criblage afin de déterminer si un génotype est résistant ou sensible à une maladie. Or, on arrive ainsi à une conclusion davantage qualitative que quantitative. Par conséquent, la moyenne la plus élevée de toutes les répétitions est parfois utilisée comme indice de la gravité de la maladie chez un génotype donné. Pour bien des maladies, telles que la kabatiellose, la rouille, le dessèchement et même la pourriture de la tige, l'indice de gravité de la maladie, chez un génotype donné, varie peu à l'intérieur de chaque répétition. Les cotes sont donc souvent attribuées par rang, et deux répétitions sont souvent suffisantes pour un criblage préliminaire. Dans le cas d'études plus quantitatives ou de maladies plus variables, particulièrement celles qui sont fortement liées à des facteurs environnementaux, comme la fusariose de l'épi et le charbon commun, les sujets doivent être cotés séparément, et une cote moyenne doit être calculée pour chaque rang de chacune des 3 ou 4 répétitions. Les méthodes varient selon les objectifs de recherche (par exemple, il est préférable de coter chaque sujet si une ségrégation des caractères est présente dans la population).

Un dispositif par blocs aléatoires complets est habituellement utilisé, et les données sont analysées et présentées de manière à montrer une gamme de résistance ou une hiérarchisation des génotypes. Étant donné qu'on utilise une échelle de cotes pour évaluer la gravité de la maladie, diverses méthodes permettent d'analyser les données. Des analyses non paramétriques peuvent être faites; celles-ci peuvent toutefois restreindre le degré d'analyse. Les données peuvent être transformées et ensuite analysées, ou elles peuvent être soumises à des analyses paramétriques ordinaires, pourvu que les termes d'erreur résiduelle aient une distribution normale.

La possibilité de différencier les génotypes à l'égard de leur résistance peut varier quelque peu d'une année à l'autre, à cause des facteurs environnementaux. Il est donc souhaitable d'évaluer le matériel sur une période d'au moins deux ans. Les cotes moyennes de chaque génotype varient d'année en année, mais son rang dans le classement est beaucoup moins sujet à varier, même parmi les différents milieux et différentes localités une année donnée. C'est pourquoi il est important d'utiliser des génotypes témoins permettant d'observer les différences dans des conditions variables. Avant de regrouper les données provenant de plusieurs années, il est également important de vérifier leur homogénéité au moyen d'un test d'erreur quadratique moyenne. Il faut un minimum de deux années de données de terrain pour chaque génotype, en excluant les pépinières de sélection servant à la mise au point des lignées pures ou à l'amélioration des populations.

La résistance et la sensibilité sont des termes relatifs qui dépendent de la maladie en question, de la perte de rendement et du degré de résistance présent dans le bassin génétique actuel. En ce qui concerne les maladies fusariennes, le niveau acceptable de mycotoxines dans le grain est très bas; ainsi, un sujet est jugé résistant s'il ne montre pratiquement pas d'infection visible. Pour le charbon commun, si l'indice de gravité est supérieur à 3,0, les pertes de rendement dépasseront 10 %, ce qui n'est pas acceptable. Pour les pourritures de la tige, les génotypes montrant un indice de gravité  $\leq 3,0$  sont rares, et un indice aussi haut que 5,0 peut être acceptable. Pour les maladies des feuilles, il existe des génotypes à résistance excellente (indice de gravité  $\leq 3,0$ ); cependant, comme la perte de rendement est faible même avec un indice aussi haut que 5, ces génotypes peuvent être classés comme montrant une résistance intermédiaire.



Canada 

