# Protection des plantes

Le pôle de Protection des plantes (3P) poursuit sa structuration interne tout en développant ses partenariats.

L'UMR PVBMT, qui regroupe les effectifs 3P du Cirad et de l'Université, a été reconnu en décembre 2004 par le ministère délégué à la recherche. Les capacités d'encadrement doctoral sont accrues avec désormais huit chercheurs habilités à diriger des thèses. Deux thèses ont été soutenues (A. Carmeille sur la résistance à la race 3 du flétrissement bactérien chez la tomate et I. Litrico sur l'impact de la fragmentation sur la structuration génétique d'Antirhea borbonica, espèce forestière endémique) et cinq nouvelles thèses ont débuté au sein de l'UMR. Le bactériologiste C. Verniere, affecté depuis août, va avec la doctorante vietnamienne L. Bui Thi Ngoc et le doctorant brésilien J. Belasque, former une équipe internationale sur le chancre citrique, maladie de quarantaine majeure pour tous les pays producteurs d'agrumes du sud comme de l'Europe. Cette équipe vient renforcer nos activités d'épidémiosurveillance, point fort de notre collaboration avec le SPV, et la FDGDON au sein du 3P.

Les transferts de technologies en diagnostic moléculaire s'intensifient : mise en routine d'un test moléculaire pour le flétrissement bactérien, suffisamment sensible pour détecter la bactérie dans les eaux d'irrigation; application par le SPV du test de détection de la bactériose de l'anthurium pour réduire la durée de guarantaine de vitroplants de 24 à 6 mois. Cet appui en terme de diagnostic permet également la mise en évidence à la Réunion, soit de nouveaux microrganismes tel l'IYSV un Tospovirus présent sur oignons mais jusqu'à I'heure confondu avec une maladie fongique, soit de nouvelles souches plus virulentes comme pour le TYLCV sur tomate. Ces capacités d'expertises sont valorisées dans le cadre du Programme Régional de Protection des Végétaux (PRPV) où le 3P réalise l'inventaire des ennemis des cultures, celui des Seychelles et des Comores étant bien avancé.

Les collaborations entre pathologistes et généticiens au 3P donnent les premiers résultats probants en terme de valorisation du matériel végétal. L'évaluation de la résistance à la maladie des taches noires du manguier a montré que les niveaux de populations bactériennes dans la variété sud-africaine Heidi étaient limités. La variété Heidi a donc un potentiel intéressant pour les arboriculteurs réunionnais qui ont déjà fait une demande d'exploitation commerciale auprès de l'organisme obtenteur en Afrique du Sud. Pour ce qui est des variétés traditionnelles, les variétés de haricot Marla et Kerveguen ont été inscrites au catalogue officiel et la variété d'ail assainie « Ti Rouge » ainsi que trois variétés de piment et deux variétés d'aubergines sont en pré-inscription. La production de semences de base a démarré et pourra fournir la filière locale de plants maraîchers certifiés, via la SEMOI, société semencière réunionnaise.

Outre les résultats majeurs obtenus sur les mécanismes de compétition interspécifique chez les mouches des fruits, les travaux sur *Fopius arisanus*, parasitoïde ovopupal, montre qu'il a un taux de survie élevé sur *B. zonata* et pourrait donc avoir un effet significatif de réduction des populations de cette espèce aujourd'hui dominante en basse altitude. Les efforts d'acclimatation sont donc poursuivis.

Enfin, les équipes du 3P ont participé à un séminaire sur la canne à sucre qui a été l'occasion de proposer un projet sur l'étude du déséquilibre de liaison, qui pourrait accélérer les gains en sélection chez cette espèce. Elles ont également accueilli le comité de pilotage du PRPV et un atelier franco-sud-africain sur la biodiversité. Cet atelier a réuni chercheurs et gestionnaires impliqués dans la conservation de la biodiversité à la Réunion et neuf de leurs homologues sud-africains, il a servi à nouer des collaborations pour développer une stratégie globale de gestion des écosystèmes naturels réunionnais.

B. Reynaud



Photo 1. Dépérissement bactérien de l'oignon (lésion sur feuilles et hampe florale) (L. Humeau).



Temps de maladie des plants (de 0 à 120 jours)

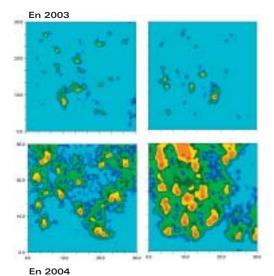


Figure 1.

Représentation des parcelles expérimentales d'oignons de second cycle contaminés par Xanthomonas axonopodis pv. allii en 2003 et 2004.

# PIDÉMIOLOGIE DES MALADIES BACTÉRIENNES ET VIRALES

# ▶ Maladie des taches noires du manguier

La maladie des taches noires est l'une des menaces majeures du manguier dans la zone océan Indien. Ce constat repose largement sur le fait que (1) la lutte chimique est peu efficace contre la bactérie responsable Xanthomonas sp. pv. mangiferaeindicae (et contre les bactéries phytopathogènes de façon générale) et (2) que la résistance variétale est peu exploitée dans les schémas de lutte intégrée mis en place dans les pays touchés. L'objectif de notre travail est donc d'évaluer l'intérêt d'une nouvelle source de résistance partielle présente dans le cultivar sudafricain Heidi sélectionné au début des années 1990. Nous avons effectué en 2004 les dernières notations de maladie sur feuilles visant à mesurer l'efficacité de la résistance partielle de ce cultivar à la maladie des taches noires du manguier.

Les résultats de l'analyse statistique complète des données acquises depuis 1999 confirment les tendances précédemment décrites :

- Le pourcentage d'arbres malades (incidence) n'est pas un bon descripteur pour identifier des variétés de manguier partiellement résistantes. La sévérité de la maladie est beaucoup plus appropriée ; elle a permis de différencier statistiquement le cultivar partiellement résistant (Heidi) du cultivar sensible témoin (Haden).
- La répartition spatiale de la maladie en vergers évolue différemment sur des cultivars sensibles et partiellement résistants. Dans un verger sensible, la maladie progresse efficacement à partir des foyers primaires, ce qui se traduit par une agrégation précoce de la maladie, et une taille des agrégats qui tend à augmenter au cours du temps. Sur le cultivar partiellement résistant, aucune agrégation durable au cours du temps n'est détectée. Ceci s'explique

probablement par la mise en place chez le cultivar résistant de mécanismes de défense qui se traduisent une dizaine de jours après l'infection par une mortalité de 90 à 99 % des cellules bactériennes présentes au niveau des symptômes foliaires. Sur un cultivar sensible, une telle mortalité n'est pas constatée.

 Cette limitation des niveaux de populations bactériennes dans la variété résistante a un impact net sur les pertes en fruits dues à la maladie. Selon les années et parcelles, les pertes sur le cultivar sensible de référence ont varié de 32 à 84 %; elles ont été de 0,5 à 4 % sur la variété Heidi.

Les analyses génétiques des populations bactériennes présentes sur cultivars sensibles et partiellement confirment la durabilité de la résistance. La variété Heidi a donc un potentiel intéressant à la Réunion pour complémenter l'offre variétale sur le marché local. Des contacts pris avec les opérateurs de Rungis indiquent qu'elle a également un potentiel pour la relance de l'exportation. Sur la base de nos résultats expérimentaux, une présentation de cette nouvelle variété avait été faite il y a deux ans aux techniciens de la Chambre d'Agriculture et aux arboriculteurs intéressés. Cette initiative s'est récemment concrétisée par une demande auprès de l'organisme obtenteur en Afrique du Sud d'exploitation commerciale de cette nouvelle variété à la Réunion.

Les travaux de recherche menés en 2005 et 2006 viseront à finaliser les travaux prévus dans le cadre de la convention pluriannuelle 2000-2006, à savoir principalement (1) la compréhension de la nature de populations asymptomatiques et de l'importance biologique d'un état non cultivable de la bactérie responsable de la maladie des taches noires du manguier, (2) la validation de la méthode IS-LM-PCR en tant qu'outil de typage épidémiologique.

O. Pruvost, L. Gagnevin

# Dépérissement bactérien de l'oignon

Les travaux de recherche visant à comprendre le développement des épidémies de dépérissement bactérien de l'oignon provoqué par Xanthomonas axonopodis pv. allii (Xaa) se sont poursuivis en 2004. Cette maladie émergente au niveau mondial se manifeste par des lésions sur les parties aériennes de l'oignon (feuilles et hampes florales) (photo 1) et provoque une réduction de la taille des bulbes d'oignon conduisant à des pertes de rendement pouvant atteindre 50 %. En 2004, les conditions climatiques locales ont largement favorisé le développement d'épidémies chez les producteurs d'alliacées du sud de l'île de la Réunion.

Dans la continuité du programme, deux points principaux sont abordés en 2004 : (1) Analyse des épidémies de dépérissement bactérien dans des parcelles expérimentales d'oignon de second cycle, et (2) Analyse bactériologique des graines produites dans ces parcelles expérimentales.

Deux parcelles identiques à celles de 2003 ont été plantées avec des bulbes d'oignon. L'incidence de la maladie (pourcentage de plants malades) a été évaluée, après inoculation de quelques plants avec une souche connue et identifiable de Xanthomonas toutes les deux semaines par cartographie de tous les plants malades. Les expérimentations ont débuté à la fin de la saison chaude et les épidémies se sont largement développées jusqu'à atteindre des incidences de 44 et 61 % (contre 5 % en 2003). En comparant les conditions climatiques des deux années on explique les fortes incidences de maladie observées en 2004. En effet, contrairement à l'année précédente, les températures supérieures à 20°C et des pluies survenues en début d'expérimentation ont favorisé le développement de la maladie. Une modélisation de la progression temporelle de l'incidence de la maladie a été effectuée par régression non linéaire.

Le modèle « probit » est le plus adapté aux données de 2003 alors que le modèle Gompertz est le plus pertinent pour les données de 2004. L'analyse spatiale des épidémies grâce à la loi de Taylor et le calcul des paramètres betabinomiaux montre que tous les foyers de maladie sont de type agrégé, autour des plants inoculés, dans toutes les parcelles (Fig. 1). Les analyses géostatisques basées sur l'étude des semivariances révèlent que la dépendance spatiale des plants malades est particulièrement forte en 2004.

Des prélèvements bactériens sur les symptômes des plants d'oignon ont permis de vérifier l'identi-

té des souches responsables des épidémies dans les parcelles expérimentales par une analyse FAFLP (fluorescent amplified fragment length polymorphism). Cette technique moléculaire permet de distinguer les groupes génétiques du pathogène. Deux groupes principaux sont présents à la Réunion ainsi qu'une souche rare facilement identifiable, que nous avons utilisée pour les inoculations. Les résultats indiquent que les foyers autour des plants inoculés sont contaminés par la souche d'origine et que certains foyers, disposés en bordure de parcelles ou dans des zones éloignées des plants inoculés, sont contaminés par un inoculum exogène, appartenant au groupe génétique commun à la Réunion. Cette analyse qualitative des épidémies montre ainsi un flux de génotype dans les parcelles expérimentales, probablement provoqués par des évènements de dissémination sur la période étudiée. Des évènements climatiques mineurs (association de pluie et vent) sont effectivement apparus un mois avant l'apparition des premières souches exogènes.

Toutes les semences produites dans les parcelles expérimentales les deux années d'étude sont récoltées et analysées afin de détecter la bactérie pathogène (Fig. 2). Les graines issues des parcelles de 2003 ne semblent pas contaminées contrairement aux semences produites en 2004. Les taux de contamination obtenus pour ces lots de semences sont faibles mais en accord avec la littérature. Il semble donc exister une relation entre l'incidence de la maladie sur les plants d'oignon et le taux de contamination des semences produites. Par ailleurs, la détection par technique moléculaire est plus sensible que sur milieu sélectif, même si elle ne garantit pas la viabilité des bactéries, puisque le test PCR gigogne détecte aussi bien les pathogènes vivants que morts. Enfin, il est à noter que les graines contaminées sont produites aussi bien par des plants d'oignon malades que par des plants d'oignon ne présentant pas de symptômes. Ce qui souligne que la contamination des graines d'oignon par Xanthomonas axonopodis pv. allii se fait principalement par voie aérienne, la dissémination étant favorisée par l'arrosage par asperseurs et par la pluie.

La mise au point d'un outil de détection de la bactérie dans les semences a été poursuivie. Un premier SCAR avait déjà été identifié et avait servi de matrice pour développer une Nested-PCR (N-PCR) spécifique de Xaa. Une autre séquence spécifique de Xaa a été mise en évidence par

Figure 2. Méthode d'analyse bactériologique des semences d'oignon produites dans les parcelles expérimentales. Taux de contamination (TC) par Xanthomonas axonopodis pv. allii obtenus pour 2004.

# Semences récoltées dans les parcelles

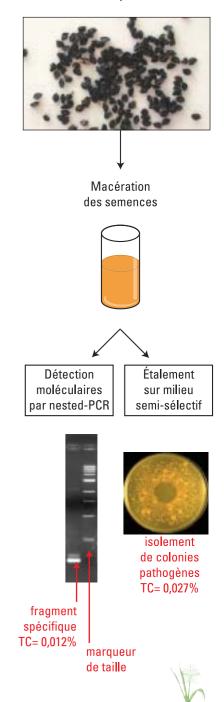


Figure 3.
Arbre phylogénétique indiquant les liens de parenté entre les séquences des génomes complets d'ADN des isolats du Tomato leaf curl Mayotte virus – [Kahani] et [Dembeni], du Tomato leaf curl Madagascar virus – [Morondava] et [Toliary], du Tomato yellow leaf curl virus – Mild [Réunion] et des bégomovirus africains et méditerranéens de la tomate et du manioc les plus apparentés. SWIO : îles du sud-ouest de l'océan Indien.

RAPD-PCR, puis clonée et séguencée. Une N-PCR Multiplex a été mise au point, qui fonctionne avec des paires d'amorces nucléotidiques sélectionnées sur les deux SCARs. Cet outil amplifie selon les souches un ou deux fragments d'ADN cible de Xaa et détecte de 95 % des souches de la collection mondiale de Xaa disponible au laboratoire. Seules quatre souches (trois en provenance d'Afrique du Sud, une en provenance des États Unis) ne sont pas reconnues par cette PCR multiplex. La spécificité de cet outil a été évaluée sur une collection de bactéries différentes du Xanthomonas a. pv. alli. L'outil montre une bonne spécificité puisque seules quelques souches différentes de Xaa, appartenant pour la plupart à Xanthomonas axonopodis pv. vesicatoria (pathogène de la tomate) sont reconnues par le test. Il existe cependant une « signature » vesicatoria qui rend possible la distinction des deux types de souches par PCR-RFLP. Une extraction alcaline réalisée sur macérât de semences avant PCR permet de concentrer l'ADN cible et de l'isoler des substances inhibitrices de la PCR présentes dans ces macérâts. La N-PCR Multiplex détecte jusqu'à 3. 10³ bactéries/g de semence, ce qui correspond à des concentrations bactériennes peu élevées, capables néanmoins de déclencher des épidémies au champ. L'outil PCR déjà applicable localement pour de la certification de semences reste à parfaire, afin de pouvoir détecter les quelques souches atypiques de Xaa. La recherche de marqueur(s) spécifiques(s) pour ces souches est en cours.

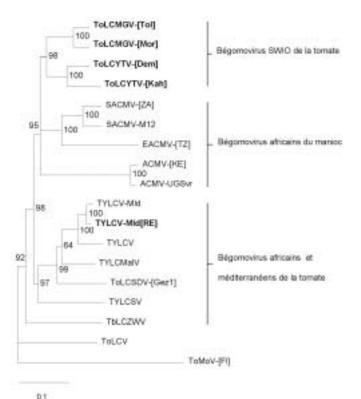
L. Humeau, P. Roumagnac, I. Robène-Soustrade, O. Pruvost

# Caractérisation moléculaire de deux nouvelles espèces de bégomovirus sur tomate

Suite à la première épidémie de *Tomato yellow leaf curl virus (Begomovirus, Geminiviridae)* à la Réunion en 1997, une enquête a été menée sur les cultures maraîchères des îles du sud-ouest de l'océan Indien, afin d'évaluer les risques sanitaires liés aux bégomovirus. Ce projet se déroule en partenariat avec les services officiels de la protection des végétaux et dans le cadre du PRPV (Programme Régional de Protection des Végétaux).

Des campagnes de prélèvement de feuilles de tomate présentant des symptômes de feuille en cuillère, de jaunissement et de nanisme, ont été effectuées à Madagascar en 2001, aux Comores (Mayotte, Anjouan et Grande Comore) en 2003-04 et aux Seychelles (Mahé) en 2004. L'utilisation d'un couple d'amorces dégénérées spécifiques des bégomovirus qui amplifient la partie centrale du gène de la protéine de capside (CP) a permis de détecter par PCR la présence de bégomovirus dans de nombreux échantillons foliaires. Sur la base de la séguence de la CP, certains isolats pouvaient être provisoirement classés dans deux nouvelles espèces au sein du genre Begomovirus : (1) le Tomato leaf curl Madagascar virus (ToLCMGV) détecté à Madagascar dans trois régions de la côte ouest, Miandrivazo, Morondava et Toliary et (2) le Tomato leaf curl Mayotte virus (ToLCMYV) détecté à Mayotte, sur la côte est à Dembeni et sur la côte ouest à Combani et Kahani. Ce dernier a également été détecté aux Seychelles à Mahé et dans le nord de Madagascar à Namakely et à Antsalaka. La distinction de deux nouvelles espèces a été confirmée par la séguence complète de l'ADN-A de deux isolats du ToLCMGV-[Morondava] et -[Toliary] de Madagascar, de deux isolats du ToLCMYV-[Dembeni] et -[Kahani] de Mayotte et d'un isolat réunionnais du TYLCV-MId[RE]. A l'exception de l'isolat Toliary, le pouvoir infectieux des clones viraux a été vérifié par agroinfection de jeunes plants de tomate (Fig. 3). Ces clones agroinfectés provoquent des symptômes typiques de nanisme et de feuilles en cuillère comparables à ceux observés au champ, et sont transmissibles par l'aleurode B. tabaci. Ceci suggère que l'ADN-A représente l'intégralité du génome de ces virus. Des recherches de composants B et beta à l'aide d'amorce PCR à spectre large ont été infructueuses.

L'étude des relations phylogénétiques montre que le ToLCMGV et le ToLCMYV



appartiennent au groupe africain des bégomovirus monopartite et qu'ils sont génétiquement proches des bégomovirus africains du manioc (bipartites) et méditerranéens de la tomate (monopartite) (Fig. 4). Contrairement au TYLCV qui a été introduit à la Réunion, ces deux nouvelles espèces virales semblent endémiques de la région : la plupart des îles du sud-ouest de l'océan Indien hébergent au moins une

des deux espèces, la diversité intra espèces est relativement importante et les deux espèces sont plus proches l'une de l'autre que des autres bégo-

H. Delatte, B. Reynaud, J-M. Lett

# ▶ Etude de la variabilité du pouvoir pathogène du SCYLV

Le SCYLV (Sugarcane yellow leaf virus), agent causal de la maladie de la feuille jaune (photo 2), est présent dans la majorité des aires de culture de la canne à sucre. Des pertes notables de rendement ont été attribuées à ce virus dans plusieurs pays. A la Réunion, on le trouve, avec des taux d'infection variables, sur toute la sole cannière et pour toutes les variétés cultivées.

Le SCYLV est principalement disséminé par la plantation de boutures infectées, mais également par l'intermédiaire d'insectes vecteurs, notamment par le puceron Melanaphis sacchari. L'étude de la variabilité du pouvoir pathogène du SCYLV fait suite aux travaux de thèse de L. Rassaby qui avait caractérisé la variabilité génétique du virus. Ces travaux sont réalisés en collaboration avec le Cirad Montpellier dans le cadre de la thèse de Y. Abu Ahmad.

En 2002 et 2003, des collectes de Melanaphis sacchari, puceron vecteur du SCYLV, ont été effectuées dans le but de mettre en place des élevages de cet insecte. Toutes les tentatives d'élevage sur différentes plantes hôtes se sont soldées par un échec pour des raisons diverses. Des solutions de remplacement ont donc dû être envisagées. Dont une nouvelle méthode d'élevage de M. sacchari. Elle consiste à multiplier les pucerons sur fragment de feuille de canne à sucre détachée maintenue en survie dans un tube en verre (photo 3). Cette méthode d'élevage de M. sacchari pourra être utilisée en 2005 pour le transfert de différentes souches de SCYLV de plantes malades (en serre) à plantes saines (vitroplants).

Par ailleurs, la technique d'inoculation de vitroplants de canne à sucre avec le SCYLV par l'intermédiaire de M. sacchari a été mise au point. Les premiers essais ont été réalisés avec un isolat semi-purifié originaire du Pérou. Le SCYLV a été détecté dans 5 plantes sevrées sur 84 après 3 mois de croissance en chambre de confinement. Cependant, le virus transmis par les pucerons ne correspondait pas à la souche virale péruvienne mais à la souche présente naturellement à la Réunion. On peut conclure que la transmission du virus semi-purifié a été infructueuse et que le virus transmis était présent dans les pucerons prélevés au champ. Néanmoins, cette expérience a permis de montrer que la transmission du SCYLV à des vitroplants de canne à sucre via Melanaphis sacchari était possible.

En se basant sur ces résultats, on peut donc envisager d'étudier la variabilité du pouvoir pathogène du SCYLV présent à la Réunion par transmission de différents isolats du SCYLV (à partir d'un élevage de pucerons sur feuille détachée) à différentes variétés de canne à sucre cultivées in vitro.

L. Costet











Figure 4. Comparaison des symptômes de maladie observés sur des plants de tomate de la variété sensible Farmer, 20 jours après agroinoculation avec différents isolats de bégomovirus caractérisés dans cette étude : (1) Témoin plante saine, (2) Tomato leaf curl Mayotte virus - [Kahani], (3) Tomato leaf curl Madagascar virus – [Morondava], et (4) Tomato yellow leaf curl virus - Mild [Réunion].



Photo 2. Symptômes de la maladie de la feuille jaune causée par le SCYLV (L. Costet).



Photo 3. Elevage de Melanaphis sacchari sur feuille de canne à sucre détachée (L. Costet).





Photo 4. Symptômes d'échaudure des feuilles de la canne à sucre, maladie causée par Xanthomonas albilineans (L. Costet).

# Transfert de connaissance vers les professionnels du secteur agricole

# Appuis en phytopathologie à la profession cannière

Cette activité se décline en deux actions : (1) une aide à l'amélioration variétale qui est continue et permet de s'assurer, par des expérimentations réalisées en conditions d'inoculation artificielle, que les variétés obtenues par les sélectionneurs canne à sucre du Cerf (Centre d'Etude, de Recherche et de Formation) présentent un niveau suffisant de résistance aux principales maladies présentes à la Réunion (2) une sur veillance générale des maladies sur l'île.

Concernant l'action de criblage variétale pour la résistance aux maladies deux nouveaux essais ont été mis en place sur la station de la Mare en juillet 2004. Le premier permettra l'évaluation de 29 clones du Cerf et 5 variétés du MSIRI (Mauritius Sugar Industry Research Institute) à l'égard de l'échaudure des feuilles (photo 4) et de la gommose. Alors que le second est une répétition de l'essai criblage à l'égard de l'échaudure des feuilles suivi en 2002-2003 à Saint-Benoît et qui comportait une trentaine de clones. L'objectif de cette étude est de valider la méthode d'estimation de la résistance à l'échaudure des feuilles basée sur la colonisation de la tige. L'année 2004 est également marquée par la libération par le Cerf d'une nouvelle variété aux qualités agronomiques exceptionnelles : R580. Cette nouvelle variété que nous avons évaluée à plusieurs reprises au cours des années précédentes pour sa résistance aux maladies, présente néanmoins une certaine sensibilité en condition d'inoculation artificielle à l'échaudure et à la gommose. Une vigilance particulière devra être observée au fur et à mesure de la diffusion de cette variété.

Dans le cadre de la sur veillance générale des maladies, aucun phénomène pathologique nouveau n'a été signalé cette année à la Réunion. On signalera cependant qu'une nouvelle épidémie de taches jaunes (ou yellow spot) a eu lieu en avril-mai 2004 sur toutes les variétés cultivées, notamment R570 et R579, et surtout dans les hauts de l'est (Grand Etang, Salazie,...). Il s'agit du même type d'épidémie qui s'est déjà produite en 2003 à la même période, mais lors de pluies plus importantes. Au cas où cette maladie s'installe de manière durable et récurrente à la Réunion, il faudrait envisager un criblage pour la résistance des nouveaux clones produits par le Cerf.

Par ailleurs, deux visites de la quarantaine canne à sucre du Cerf ont été réalisées en juin et novembre 2004. Aucune anomalie d'ordre phytopathologique n'a été observée sur les 24 variétés internationales importées à partir de la quarantaine du Cirad à Montpellier, et toutes ces variétés ont été libérées. En revanche, en novembre 2003, le Sugarcane yellow leaf virus ou SCYLV a été détecté dans la quarantaine canne à sucre du Cerf dans quatre variétés originaires du MSIRI à Maurice. En 2004, la culture de méristème pour assainir ces variétés ayant échoué, ces variétés ont été détruites.

L. Costet

### Identification et détection de Xanthomonas fragariae, agent de la maladie des taches angulaires du fraisier.

Ce sujet a été mené en collaboration avec le Service de Protection des Végétaux (SPV).

Xanthomonas fragariae (Xf), bactérie inscrite sur la liste européenne des organismes de quarantaine a été mise en évidence à plusieurs reprises sur des plants de fraisier importés de métropole. En 2001 une nouvelle maladie du fraisier est apparue en Europe. Peu de données sont disponibles sur la bactérie responsable, dénommée Xanthomonas arboricola pv. fragariae (Xaf), qui fut confondue au début avec Xf. Dans le but de contrôler les plants de fraisier à l'importation vis-à-vis de la présence de Xf et Xaf, il est nécessaire de posséder des outils de détection performants de ces bactéries. Dans la littérature sont déjà décrits différents outils de diagnostic de Xf (tests ELISA et PCR). La réalisation de tests biochimiques et de tests de pouvoir pathogène est également conseillée pour différencier les deux types de bactéries. Nous avons comparé ces différentes méthodes de caractérisation et de détection sur une collection de bactéries appartenant aux deux espèces.

Pour Xanthomonas fragariae, un test DAS-ELISA ainsi qu'une multiplex PCR donnent de bons résultats en terme de spécificité et sensibilité. Toutes les souches de Xf montrent une réponse positive à ces deux tests. Ces deux outils permettent de confirmer la présence de Xf dans des plants exprimant des symptômes.

Les souches de Xaf ne répondent à aucun test sérologique ou moléculaire effectué. Leur profil biochimique étudié est différent de celui de Xf mais ne permet pas de typer formellement du Xaf. Seuls les symptômes obtenus sur fraisier après inoculation de la bactérie permettent de confirmer l'identité de cette bactérie.

### Validation d'outils de diagnostic moléculaire de Ralstonia solanacearum. Détection de la bactérie in planta et dans l'eau

Cette étude est conduite en collaboration avec le SPV. A la Réunion, Ralstonia solanacearum est présente sur les cultures de basse altitude, tomate et aubergine et dans les Hauts de l'île, essentiellement sur pomme de terre et Géranium rosat. L'eau constitue un mode de transmission de la maladie. En effet, la bactérie peut être véhiculée par les pluies, l'eau de ruissellement, l'eau d'irrigation, les réseaux hydrographiques. On peut également la retrouver dans les réservoirs et retenues collinaires utilisés par les agriculteurs en secours suite à des problèmes d'alimentation d'eau.

La mise au point d'une méthode de détection de la bactérie dans les eaux, rapide et fiable, est un préalable à la mise en oeuvre d'un réseau d'alerte et de prévention des contaminations.

D'autre part, l'utilisation d'un matériel sain avant plantation est une règle indispensable pour lutter contre l'introduction de la maladie dans une exploitation. Pour cela, il est nécessaire de posséder un test suffisamment sensible pour certifier des plants de pépinière indemnes de Ralstonia solanacearum.

Le but de ces travaux est de mettre au point et de valider un outil PCR pour détecter la bactérie dans l'eau et également in planta.

Nous avons dans un premier temps comparé deux protocoles PCR d'identification et/ou de détection de la bactérie existants : une PCR Multiplex (Fegan/Prior) et une Nested-PCR (Poussier) sur un panel de souches représentatif de la diversité de Ralstonia solanacearum à la Réunion. Les essais réalisés avec la Nested-PCR montrent des résultats peu répétitifs, avec des problèmes récurrents d'absence d'amplification, alors que la Multiplex PCR permet d'identifier et de typer les différents phyllotypes réunionnais. Par contre, ce n'est pas un outil suffisamment sensible pour être utilisé tel quel pour détecter la bactérie dans les eaux et garantir l'absence du pathogène dans des plants. En effet, cette PCR simple rend possible la détection de concentrations bactériennes supérieures à 107 bactéries par ml (suspensions bactériennes). Nous avons fait évoluer cet outil en Nested-PCR en désignant des amorces plus internes dans la séguence d'intérêt. Deux amplifications successives abaissent le seuil de détection à 102 bactéries par ml. Afin de minimiser les problèmes de contamination

entraînant des faux positifs, assez fréquents en N-PCR, nous avons mis au point une "One-tube Nested-PCR": les deux étapes successives de la Nested-PCR sont réalisées dans un seul tube, sans ouverture du tube entre les deux amplifications. La sensibilité de l'outil dans l'eau d'irrigation artificiellement contaminée par Ralstonia solanacearum, a été évaluée à 103 bactéries par ml, après concentration et nettoyage de l'ADN cible par filtration et centrifugation.

L'évaluation de la spécificité est en cours sur une gamme de bactéries différentes de Ralstonia solanacearum.

J. Pompon, I. Robène-Soustrade

### Utilisation du test de détection par bio-PCR pour valider la sortie de quarantaine d'anthuriums importés

Cinq mille vitroplants d'anthurium de 16 variétés différentes ont été importés des Pays-Bas (société Anthura) en décembre 2003 et placés en quarantaine chez un pépiniériste particulier. La sortie de quarantaine de ces plants a été validée par un travail de diagnostic effectué de façon coordonnée entre le Service de Protection des Végétaux et le Laboratoire de Pathologie et Génétique Moléculaire du Cirad. En mars et avril 2004, trois cent feuilles ont été prélevées parmi toutes les variétés et ont subi le test de détection. Les tests ont consisté en une première étape d'enrichissement bactérien dans un milieu semi-sélectif contenant quatre antibiotiques, suivie d'une seconde étape de recherche par amplification enzymatique (PCR) de la présence d'un gène spécifique révélant la présence de la bactérie. Théoriquement, une seule bactérie est détectée par échantillon. Comme tous les tests se sont avérés négatifs, ces plantes ont été autorisées à sortir de guarantaine en juin 2004. Cette approche a permis de faire passer la durée de guarantaine pour les vitroplants d'anthurium de 24 mois (temps approximatif pour l'apparition de la première fleur et date à laquelle un plant n'ayant pas exprimé de symptômes est considéré comme sain) à 6 mois environ.

P. Laurent, L. Gagnevin

### Caractérisation moléculaire d'un Tospovirus sur culture d'oignon

Cette étude a été menée avec le SPV et la FDG-DON. Une maladie virale a été mise en évidence fin 2003 sur culture d'oignon à la Réunion. Les symptômes observés s'apparentent à ceux provoqués par un Tospovirus, l'IYSV déjà décrit dans plusieurs pays sur alliacées. L'identité du virus a été confirmée par des tests sérologiques (ELISA, immunoempreinte) et moléculaires (RT-PCR). Une



Photo 5. Symptômes d'IYSV sur feuilles et tiges d'oignon.





Photos 6. Symptômes de la maladie du tomato yellow leaf curl ou des feuilles jaunes en cuillère sur tomate en plein champ identifiés à Saint-Gilles les Hauts en avril 2004.

La caractérisation moléculaire de l'agent pathogène, par PCR et par séquençage, a permis d'identifier la souche Israël dite recombinante du TYLCV. prospection a été menée d'octobre à décembre 2004 dans 10 parcelles de production de bulbes d'oignon localisées dans les principales aires de culture de l'île. Le virus a été mis en évidence par ELISA dans 75 % des feuilles symptomatiques récoltées (n=221). Le virus a également été détecté par ELISA dans 27 % de bulbes testés (n=64), 15 % de semis d'oignon âgés de 45 jours (n=119). Par contre, les tests ELISA réalisés sur lots de semences (n=59) se sont montrés négatifs. IYSV a également été mis en évidence sur d'autres espèces du genre allium : poireau, ail et échalotte.

I. Robène-Soustrade, M. Roux-Cuvelier

### Présence des souches recombinantes et non recombinantes du Tomato yellow leaf curl (TYLCV), virus sur tomate à la Réunion

Depuis la première épidémie de TYLCV à la Réunion en 1997, une campagne de prélèvement d'échantillons foliaires présentant les symptômes typiques de nanisme, de jaunisme et d'enroulement foliaires, a été mise en place. L'objectif était d'étudier (1) la répartition géographique du virus sur l'île et (2) l'évolution moléculaire du virus depuis son introduction. Les échantillons prélevés de 1997 à 2003 ont permis d'identifier la présence

unique de la souche Mild dite non recombinante du TYLCV. En avril 2004, la présence de symptômes très sévères, plus sévères que ceux observés habituellement, de la maladie du TYLC dans une parcelle de tomate en plein champ à Saint-Gilles les Hauts suggérait l'apparition d'un variant plus sévère de la souche Mild du TYLCV ou l'introduction d'une nouvelle souche du TYLCV ou encore celle d'un nouveau bégomovirus (photos 6). La présence et l'identité du virus ont été étudiées par PCR avec deux couples d'amorces l'un amplifiant les deux-tiers du gène de la protéine de capside (région CP) et l'autre la moitié du gène de la protéine de réplication (région Rep). La dernière région du génome du TYLCV a été utilisée pour distinguer la souche Israël dite recombinante (TYLCV-IL), de la souche mild dite non recombinante (TYLCV-MId). L'analyse des séquences nucléotidiques virales de la région Rep, correspondant aux échantillons prélevés à Saint-Gilles-les Hauts, a permis d'identifier pour la première fois à la Réunion la présence de la souche Israël dite recombinante du TYLCV.

> H. Delatte, B. Reynaud, J-M. Lett

# YNAMIQUE DES POPULATIONS ET COMPORTEMENT DES RAVAGEURS ET DE LEURS AUXILIAIRES

# L'aleurode Bemisia tabaci, vecteur de bégomovirus

### Variabilité moléculaire du vecteur

L'aleurode *B. tabaci* est l'un des ravageurs des cultures les plus préoccupants, principalement par ses capacités à transmettre plus de cent espèces de bégomovirus dont le TYLCV à la Réunion. Suite à la pullulation de *B. tabaci* à la Réunion à partir de 1997, nous avons confirmé en 2000 l'introduction accidentelle du biotype B et son installation. Deux biotypes de *B. tabaci* sont maintenant présents à la Réunion : le biotype MS indigène des îles du sud de l'océan Indien et le biotype B cosmopolite et généralement invasif. La cartographie

de répartition du biotype B invasif et du biotype MS indigène à la Réunion a été établie en 2003. Le biotype B invasif est prédominant sur les espèces maraîchères et le biotype MS indigène présent plutôt sur certaines adventices (en particulier *Euphorbia heterophylla*) est prédominant uniquement dans la région Est.

Cette récente introduction du biotype B à la Réunion permet d'analyser son processus de colonisation. Les biotypes de *B. tabaci* étant indistincts morphologiquement, un jeu de huit marqueurs

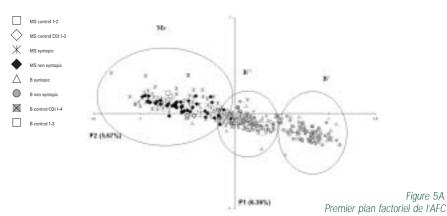


microsatellites a été produit et utilisé pour mesurer la variabilité génétique des deux biotypes. L'utilisation de marqueurs combinés à une analyse de statistiques bayesiennes, a permis de différencier aisément les deux biotypes. La diversité génétique des deux biotypes est comparable, et suggère que l'introduction du biotype B n'a pas été associée à un fort goulot d'étranglement. Ainsi, plus d'une introduction du biotype B pourrait être responsable de l'invasion, qui pourrait remonter à plusieurs années. En l'espace de quelques années, le biotype introduit a atteint le même niveau de structuration géographique sur l'île que le biotype indigène. Il a colonisé toutes les régions favorables de l'île, bien qu'il n'ait totalement remplacé le biotype indigène dans aucun secteur.

Certaines populations de biotype B tendraient à être génétiquement plus proches des populations de MS, que d'autres populations de B plus isolées, ce qui suggère fortement un phénomène d'introgression. Ainsi, dans la population de biotype B de la Réunion, le sous-groupe B" est plus proche du groupe MS que le groupe B' (Fig. 5). L'hypothèse d'un phénomène d'introgression est supportée par (1) la présence d'allèles typiques de MS retrouvés parfois à fréquence élevée dans la population B'' (2) l'existence d'une proportion plus élevée d'individus syntopiques (se retrouvant sur le même lieu que des individus MS) chez B'' comparé à B'. Néanmoins, plus de données seraient nécessaires (et peut-être plus de temps d'évolution) pour prouver la présence ou l'absence d'hybrides, et ainsi la possibilité d'intercroisement en conditions naturelles des deux biotypes. Les premiers essais de croisements en cages au laboratoire ont montré que seul le croisement dans le sens femelle B x mâle MS était fécond mais restait très rare.

Une étude dans les îles du sud-ouest de l'océan Indien est également lancée en parallèle pour connaître la diversité génétique du biotype MS tout en confirmant ou non la présence du Biotype B. Cette étude est réalisée dans le cadre du PRPV (Programme Régional de Protection des Végétaux) de la Commission de l'océan Indien (COI); elle est essentielle en terme d'épidémiosurveillance d'autant que différents bégomovirus peuvent être présents dans les îles. Nous disposons maintenant d'une amorce microsatellite (MS145A/B) qui discrimine les biotypes B et MS et qui nous a donc permis une première détermination des biotypes des individus collectés. Le biotype MS est bien présent sur l'ensemble des îles échantillonnées : à Madagascar (408/408), aux Comores (46/46), et aux Seychelles (52/52) il a été le seul biotype identifié. A Mayotte, du biotype B avait été identifié en 2000 mais les derniers échantillons collectés en 2004 appartiennent tous au biotype M (49/49). C'est le contraire à Maurice, où le biotype B n'avait pas été confirmé lors des premières analyses moléculaires, et où il est aujourd'hui dominant (48/53). En 2005, une étude de génétique sera menée sur ces échantillons pour mieux déterminer l'origine et la diversité du biotype MS dans les îles du sudouest de l'océan Indien.

H. Delatte, B. Reynaud



### Modélisation de la dynamique des populations d'aleurodes

L'année 2004 correspond à la fin des essais terrain et à un approfondissement des analyses des données issues du protocole de piégeage pour étudier la relation entre la dynamique du vecteur et l'épidémiologie du virus associé (2001-2004), et du protocole d'essai sur parcelles de giraumon (2000-2001).

L'analyse des données issues des comptages sur les pièges entre 2002 et 2003 sur le site de Bassin-Martin a démarré. Le choix du modèle s'est porté sur un modèle prédictif de type modèle sur séries chronologiques. Les résultats de 2003 semblaient bons mais l'interprétation biologique difficile de certains paramètres nous a obligés à nous pencher sur de nouvelles variables fabriquées à partir des données climatiques issues de GESMET; nous avons ainsi trouvé une forte relation entre le nombre de jours où la température moyenne est supérieure au quantile 90 % de la température moyenne sur la 🚦 période étudiée et le nombre d'aleurodes capturés. Mais d'autres approches plus pertinentes sont toujours envisagées en vue d'une application en tant qu'outil d'aide à la décision.

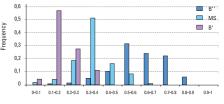
F. Chiroleu

Figure 5. Répartition des génotypes de Bemisia tabaci échantillonnés à la Réunion et proportion d'allèles du biotype MS par groupe de génotype.

génétique. Les individus de biotypes B et MS identifiés par le logiciel Structure sont représentés avec différents symboles ; deux sous-groupes sont distingués au sein du biotype B : B'et B".

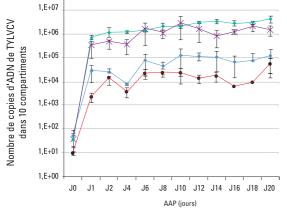
Figure 5A.

Figure 5B. Distribution de la proportion d'allèles de type MS au sein des individus de chacun des trois groupes MS, B' et B".



Proportion of Ms alleles





- Abdomen
- ← Thorax
- Hémolymphe
- ⊢ Tête

Figure 6.
Cinétique d'accumulation
du TYLCV-MId[RE] dans les différents
compartiments de Bemisia tabaci
impliqués dans la transmission
circulante, pendant une période
d'alimentation infectieuse (AAP)
de 20 jours sur tomates virosées.

### Mode de transmission du TYLCV-MId[RE] par le biotype B de *Bemisia tabaci*

La maladie des feuilles jaunes en cuillère représente la plus importante contrainte virale de la tomate à l'île de la Réunion et dans de très nombreuses régions du monde. Cette maladie peut être causée par plusieurs espèces virales (Begomovirus, Geminiviridae) dont le Tomato yellow leaf curl virus (TYLCV). Les bégomovirus sont transmis selon le mode circulant par leur insecte vecteur Bemisia tabaci. Des résultats contrastés ont été publiés en ce qui concerne la multiplication des souches de TYLCV

dans leur vecteur et la production d'une descendance infectieuse par des parents virulifères. Ainsi, Ghanim et al. (1998, Virology, 240, 295-303) montrent que la souche Israël recombinante du TYLCV peut être transmise à des plantes de tomates par des descendants d'une femelle infectieuse du biotype B alors que Bosco et al. (2004, Virology, 323, 276-283) démontrent le contraire avec la souche Mild non-recombinante du TYLCV du Portugal et le biotype B. Les données actuelles suggèrent que l'interaction virus-vecteur pourrait dépendre de l'espèce et/ou de la souche de virus et du biotype de *B. tabaci*. Nos travaux ont porté sur l'étude de l'interaction entre l'isolat réunionnais du TYLCV-Mild (TYLCV-

MId[RE]) et le biotype B de B. tabaci, à l'aide de la PCR conventionnelle et de la PCR quantitative avec une sonde Tagman-MGB. Au cours d'une alimentation continue sur une plante infectée par le TYLCV-MId[RE], la charge virale dans les insectes entiers et dans des compartiments de l'aleurode testés séparément (intestin, glandes salivaires et hémolymphe), atteint très rapidement un pallier, qui varie peu pendant tout le reste de l'expérimentation (Fig. 6). Une persistance importante de la charge virale est détectée dans les aleurodes entiers transférés sur une plante non hôte du TYLCV après une alimentation infectieuse de 3 jours. Le tractus intestinal constitue le lieu de stockage principal du virus. Les glandes salivaires représentent un lieu de stockage secondaire alors que la tête, les stylets et l'hémolymphe ne seraient qu'un lieu de transit du virus dans l'insecte vecteur. Ces observations indiquent que le TYLCV-MId[RE] est transmis selon le mode circulant non multipliant par le biotype B de B. tabaci. L'absence de transmission transovarienne de l'isolat réunionnais du TYLCV-Mild par la population réunionnaise du biotype B de *B. tabaci* corrobore cette hypothèse et confirme pour un deuxième isolat de TYLCV-Mld les travaux de Bosco et al. (2004).

J-M. Lett



Figure 7.

Proportion relative des 4 espèces de Tephritidae sur 4

plantes hôtes dans 4 zones de l'île (Altitude : 0 à 100 m;

avant = 1991 à 1999 [relevés avant l'extension de B.

zonata]; après = 2000 à 2005; Ccat = Ceratitis catoirii;

Ccap = C. capitata; Cros = C. rosa; Bzon = Bactrocera

zonata).

# Les mouches des fruits et des légumes

#### Comportement des mouches des fruits et méthodes de lutte

L'étude de l'évolution des populations de mouches a été poursuivie dans un réseau de piégeage basé sur deux transects situés dans le sud et l'ouest de l'île. *Bactrocera zonata* a tendance à dominer les autres espèces à basse altitude (Fig. 7). Elle se cantonne pour l'instant à cette zone de l'île et devient rare au-delà de 600m d'altitude. Dans les zones où elle est présente, l'espèce peut montrer des pics de populations à différentes périodes de l'année, en fonction de la fructification de ses plantes-hôtes.

L'étude visant à déterminer l'influence de la consommation de para-phéromones sur le succès reproducteur des mâles de *B. zonata* (programme coordonné de la FAO- AIEA) a été poursuivie en 2004, avec la méthodologie mise au point l'an passé (photos 7 et 8). Les premiers essais réalisés en cage au laboratoire ont montré un effet positif du traitement sur la compétitivité sexuelle des mâles après exposition à des doses de 5 ou 10 µl. Une tendance à un effet positif est également détectée pour toutes les autres doses testées, mais de nouvelles répétitions seront nécessaires en 2005 afin de confirmer ces résultats. On note au contraire un effet négatif sur la compétitivité dans le cas de 4 traitements successifs des mâles (à un jour d'intervalle).

L'étude des relations entre invasions biologiques et compétition inter-spécifique chez les Tephritidae a été poursuivie (thèse P-F. Duyck). Elle porte sur le complexe d'espèces nuisibles aux cultures fruitières à la Réunion (*Ceratitis capitata, C. rosa, C. catoirii et* 



Cage de laboratoire pour l'étude de l'influence des paraphéromones sur le comportement sexuel des mâles de Bactrocera zonata (photo A. Franck)



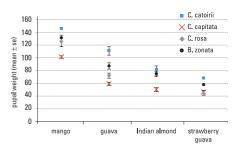
Mâles de Bactrocera zonata s'alimentant sur un tampon de méthyl-eugénol (photo A. Franck)

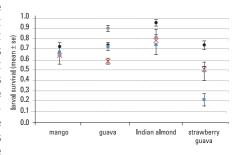
Bactrocera zonata). Des expériences de co-infestation de deux ou plusieurs espèces au sein d'un même fruit ont montré que la survie larvaire et le poids des pupes sont affectés par la compétition interspécifique. La décroissance de ces paramètres est plus ou moins importante selon les espèces et les co-infestations considérées. Les larves de C. capitata et C. catoirii présentent une résistance à la compétition plus faible que celles de C. rosa et B. zonata, bien que les larves de C. catoirii nuisent au développement des trois autres espèces. Bactrocera zonata présente en outre un développement larvaire très rapide qui lui confère un avantage sur les autres espèces lors de son développement dans le fruit. La nature du fruit-hôte larvaire a des répercussions sur les paramètres de développement et sur la fécondité des adultes (Fig. 8). En particulier, le poids pupal peut constituer un bon indicateur de la fécondité.

Pour le stade adulte, on s'est intéressé à différents mécanismes d'interférence entre femelles : phéromones de marquage de l'hôte (HMP), vitesse de localisation du fruit-hôte et défense de celui-ci. En situation de choix du site de ponte, la réduction des risques de compétition intra- ou inter-spécifique s'effectue de deux façons : soit par le marquage phéromonal des fruits-hôtes par les femelles de C. capitata et C. rosa, soit par la reconnaissance des fruits marqués pour B. zonata qui semble pouvoir faire la distinction entre des blessures indemnes et des trous contenant des œufs d'autres espèces. Ceratitis catoirii ne semble pas pouvoir distinguer des fruits infestés de fruits indemnes. Le niveau de performance des stratégies de compétition de chacune des espèces est en accord avec leur fréquence et leur distribution sur l'île. Ces mécanismes jouent probablement un rôle important dans la compétition intra-et inter-spécifique.

La réponse des femelles matures des différentes espèces à des composés volatiles émis par différents fruits-hôtes sauvages et cultivés a été étudiée en cages extérieures. L'odeur de fruit-hôte constitue pour toutes les espèces un stimulus important dans la localisation de l'hôte. Les réponses diffèrent cependant entre les dix espèces végétales testées et selon les espèces de mouches. Les résultats ont été confrontés aux caractéristiques des niches écologiques des mouches, déterminées lors de l'étude des plantes-hôtes. L'étude fournit également des éléments en vue de l'identification de substances volatiles susceptibles d'être utilisées dans le futur pour la mise en place d'outils de surveillance ou de lutte biotechnique contre les Tephritidae. Par ailleurs, la vitesse de réponse à un stimulus olfactif a été étudiée en grandes cages chez les quatre espèces de mouches. On note une activité plus importante de B. zonata et C. capitata 3 16 dans la localisation de la ressource. Pourtant, C. rosa et B. zonata se montrent les plus efficaces dans l'appropriation du fruit-hôte par leur fécondité et leur agressivité.

D'une façon générale, les résultats sur la démographie comparée des quatre espèces suggèrent un trade-off interspécifique entre les traits K et r. L'asymétrie de la compétition larvaire et des interactions directes entre femelles semble corrélée au rang d'établissement sur l'île, l'espèce arrivée la plus récemment ayant de bonnes performances dans la compétition larvaire comme dans l'aptitude à déplacer d'autres femelles d'un fruit. En conditions optimales, le gradient r-K pourrait être utilisé comme prédicteur d'espèces potentiellement invasives, les traits K pouvant favoriser à la fois l'aptitude à la compétition par exploitation et par interférence. La coexistence entre espèces est cependant permise par la variabilité de la tolérance aux





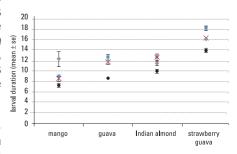


Figure 8. Poids pupal, survie et durée de développement larvaire des quatre espèces de Tephritidae élevées sur quatre fruits-hôtes différents.



conditions climatiques (température et humidité) et par celle de la gamme d'hôtes. L'espèce endémique a non seulement de plus faibles paramètres de survie et de fécondité que les autres espèces mais voit également les axes climatiques et de ressource de sa niche inclus dans celle de ses compétiteurs. Une coexistence stable devrait s'installer entre les trois espèces invasives alors que l'extinction de l'espèce endémique est considérée comme possible.

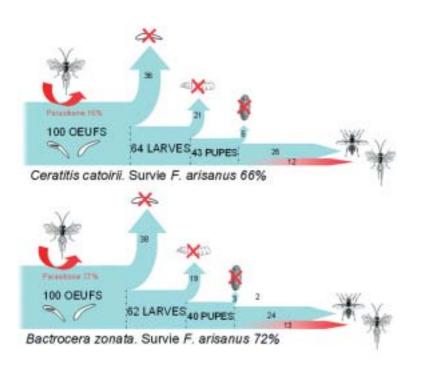


Figure 9. Survie de cohortes de 100 œufs de Bactrocera zonata et Ceratitis catoirii parasitées par Fopius arisanus (P. Rousse).

Après l'importation fin 2003 du parasitoïde ovo-pupal Fopius arisanus à partir d'Hawaii, un élevage régulier de l'espèce a été mis en place. Les premiers travaux, dans le cadre de la thèse de P. Rousse, ont porté sur la spécificité de cet auxiliaire vis-à-vis des espèces de Tephritidae locales. En situation de non-choix, sur les huit espèces de Tephritidae testées (C. capitata, C. rosa, C. catoirii, B. zonata, B. cucurbitae, D. demmerezi, D. ciliatus et N. cyanescens), on note généralement un taux de parasitisme des oeufs de l'hôte de l'ordre de 10 à 30 %. Toutefois, la survie du parasitoïde est très variable selon la nature de l'hôte : nulle sur *B. cucurbitae* (le parasitoïde est apparemment éliminé par une réponse immunitaire), elle est mauvaise sur D. ciliatus (12 %), D. demmerezi (21 %), C. capitata (10 %), C. rosa (22 %), N. cyanescens (22 %), et bonne sur B. zonata (72 %) et C. catoirii (66 %) (Fig. 9). En situation de choix entre des œufs de B. zonata et de C. capitata, les femelles sont capables de discrimination entre deux espèceshôtes et montrent une nette préférence pour les œufs de la première espèce. Cette préférence se manifeste que les femelles se soient préalablement développées sur l'une ou l'autre des deux espèces de mouches, ce qui indique que l'apprentissage préémergence n'a qu'une faible influence sur le choix de l'imago. Du point de vue pratique de son impact potentiel en lutte biologique, F. arisanus présente donc avant tout un intérêt en vue de la réduction des populations naturelles de B. zonata, ce qui s'avère particulièrement intéressant puisque cette mouche représente maintenant le ravageur dominant dans les zones de basse altitude. Les premières expérimentations réalisées en grandes cages sur la sélection de l'hôte et de son habitat ont montré que les femelles sont plus attirées par l'odeur de fruits d'agrumes infestés par des oeufs de Tephritidae que par celle des fruits sains. Nous avons en outre poursuivi le programme d'acclimatation de l'espèce à la Réunion, en partenariat avec l'USDA Hawaii (mission du Dr E. Harris et de T. Mangine en août 2004). Une nouvelle souche issue d'un élevage sur C. capitata a été importée, ce qui a permis une comparaison avec la souche issue de B. dorsalis. Des lâchers ont été réalisés sur quatre sites non traités (Rivière St-Denis, St-Pierre, St-Benoît, L'Hermitage) de janvier à mai, portant au total sur 42800 individus. Des collectes de fruits piqués sur les sites de lâchers ont permis de vérifier la présence du parasitoïde sur les trois derniers sites plusieurs semaines après les derniers lâchers effectués. Toutefois, F. arisanus n'ayant pas été retrouvé depuis le mois de juillet, une nouvelle campagne de lâchers sera réalisée en 2005. Les travaux sur l'optimisation des systèmes de piégeage pour les femelles de Tephritidae se sont poursuivis en 2004 (programme coordonné de la FAO-AIEA). Un essai mené à Bassin Plat a permis de comparer l'attractivité de différents traitements : Nulure (9 %) + borax (3 %), 1/2 diffuseur d'Ammonium Acetate (AA), 2 diffuseurs d'AA, Di-Ammonium Phosphate (AP), Ammonium Sulphate (AS), « 3 lures » et Torula Yeast, vis-à-vis de B. cucurbitae. Parmi les différentes combinaisons testées, le Nulure, le Torula Yeast, le « 3 lures » et la faible dose d'AA se montrent les plus efficaces. Tout récemment, une « bait station » mise au point par l'USDA a été testée vis-à-vis des espèces s'attaquant aux cultures fruitières (photo 9).

Dans le cadre du PRPV, le Laboratoire d'Ecologie Terrestre et de Lutte Intégrée s'est par ailleurs vu confier la coordination des compléments d'inventaires des ravageurs et auxiliaires, qui sont apparus nécessaires pour les Comores et les Seychelles. L'ensemble des échantillons d'insectes et acariens collectés lors des missions d'A. Barbet (Seychelles en décembre 2003 et Comores en mars 2004) et

d'A. Barbet et M. Attié (Seychelles et Comores en septembre 2004) ont été adressés au laboratoire puis triés et reconditionnés en vue d'envois ciblés à un réseau de spécialistes de taxonomie. Les résultats viendront alimenter une base de données régionale mise en place dans le cadre du PRPV.

S. Quilici, P-F. Duyck et P. Rousse



Photo 9. Modèle de « bait-station » de l'USDA, testé pour son attractivité vis-à-vis des femelles de Tephritidae (A. Franck).

### Modélisation de la dynamique des populations des mouches des fruits

L'objectif de cette opération est de mieux connaître la dynamique de population d'insectes ravageurs ou vecteurs de maladies. Le but est de modéliser l'évolution des populations d'insectes en fonction de facteurs biotiques et abiotiques afin de pouvoir à terme développer des outils d'aide à la décision comme des cartes de risque sanitaire.

La collaboration avec J. Chadoeuf (INRA Avignon) se poursuit avec la validation, à partir de plusieurs sites, d'un modèle spatio-temporel permettant d'estimer le nombre de mouches mâles et femelles de Ceratitis rosa capturées chaque semaine dans chaque piège en fonction de l'attractivité potentielle des arbres sur le site étudié indépendamment des autres espèces de mouches. Le modèle a aussi été amélioré suite à des

discussions avec les entomologistes pour fournir une meilleure prédiction en relation avec les estimations de ressources biotiques.

En parallèle, une collaboration avec l'Université de Montpellier I, R. Sabatier et M. Vivien, a permis d'étudier les relations entre piégeages de mouches des fruits (voire des légumes), floristique et météorologie en utilisant de nouvelles méthodes d'analyse multivariée (STATIS, ACIMOG, DO-ACT) sur les trois cubes de données créés avec deux dimensions communes : espace (15 sites sélectionnés sur 58) et temps (données hebdomadaires du 09/09/94 au 31/03/98). Les premiers résultats sont encourageants mais limités par de nombreuses données manquantes qu'il va falloir mieux gérer.

E Chiroleu



Adulte d'Hoplochelus marginalis mycosé à l'issue du test 3 sur le pouvoir pathogène du Betel® (D. Pastou).

### Durabilité de la lutte contre le ver blanc à la Réunion

### Mise au point d'une méthode d'évaluation du pouvoir pathogène du Betel® (tests sur larves et adultes)

A partir des méthodes existantes, nous avons choisi une technique de référence, susceptible d'être appliquée à toute souche purifiée ou produit de traitement renfermant des spores du champignon. Celle-ci a été appliquée à deux lots de granulés (références P0403 et P0404) issus de sacs de Betel® choisis au hasard dans la chambre des deux principaux distributeurs de l'île (80 % des ventes de ce produit commercial servant au traitement au champ). Quatre tests ont été menés avec la collaboration du SPV les 15/07, 5/08, 22/09 et 15/12, à une dose supposée de 10<sup>5</sup> - 10<sup>6</sup> spores/ml de suspension (spécifications indiquées sur l'étiquette du produit). Les larves L3 utilisées avaient subi une quarantaine d'au moins 15 jours. Les adultes étaient issus des larves non mycosées des tests

précédents, dont on a vérifié l'état sanitaire à l'aide des témoins. Dans les tests 1 et 2, malgré une perturbation liée à la transformation rapide des larves en nymphes (2 mois avant l'apparition de celles-ci en conditions naturelles) rendant les conclusions partielles, on peut estimer que le taux de larves mycosées un mois après inoculation atteignait 77 (test 1) et 100 % (test 2). En conclusion, on peut estimer que le lot P0403 est tout juste passable, alors que le lot P0404 est excellent compte tenu du fait que ces produits ont quitté l'usine il y a 4 à 5 mois. Les résultats des tests 3 et 4 sur les adultes (photo10) confirment ces conclusions, le lot P0403 décrochant néanmoins après 8-9 mois de conservation en chambre froide.



Photo 11. Mycelium de Beauveria (B. Vercambre).





Figure 10.
Nombre moyen de larves d'Hoplochelus marginalis par sondage sur les parcelles échantillonnées en 2004 sur la zone cannière de l'île (carte réalisée par A. Rolet, FDGDON et F.Chiroleu, CIRAD; données FDGDON et IGN©BD Topo, 1997).

### ELATRA 2003 larves - P3 - 06/02/03

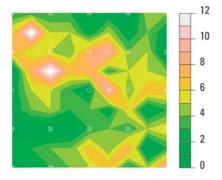


Figure 11.
Variabilité spatiale de la densité de larves de vers blancs (toutes espèces confondues) sur une microparcelle de riz pluvial de 90 \* 90 \* 20 cm sur le site d'Andranomanelatra - les symboles désignent les plants morts (cercles barrés) et vivants (simples cercles).



# Evolution des populations du ver blanc et du champignon

Depuis 4 ans (2001-2004), les prospections larvaires menées par la FDGDON montrent une stabilité étonnante (en 2004, la densité moyenne dans l'île est de 0,3 ver blanc/souche de canne à sucre alors que le seuil économique pour la zone sèche est de guatre vers blancs /souche), une certaine pression se manifestant encore dans le sud (St-Louis, St-Pierre). Le taux moyen de larves mycosées au champ en fin de cycle larvaire, complété par celui des quarantaines de laboratoire menées par l'Université de la Réunion, est d'environ 40 % pour l'ensemble de l'île. Les projections théoriques, basées sur les paramètres biologiques du ver blanc (nombre d'œufs par femelle, sexratio, ...) indiquent que 70 à 90 % des individus devraient disparaître ou ne pas naître, en plus du pourcentage de L3 mycosées en fin de cycle, pour expliquer cette stabilité. En effet, les

expiriquer cette stabilité. En er autres stades biologiques de l'insecte peuvent également être infectés par la mycose. Par ailleurs, de nombreuses observations de terrain montrent la présence du *Beauveria brongniartii* dans le sol, croissant sur de la matière organique en l'absence de vers blancs (environ 1,1 % des 1 224 souches observées en juin 2004).

Sur une parcelle (SL02) suivie à St-Louis (380 m d'altitude) et n'ayant jamais reçu de traitement biologique, nous avons noté 18,2 % de nymphes mycosées à la fin novembre et 16,7 % d'adultes mycosés dans la première décade de décembre, après que 22,8 % des larves L3 aient été infectées par le champignon à la mi-juin sur le terrain, 20 % supplémentaires ayant été constatées en quarantaine de laboratoire dans les 15 jours suivant le prélèvement. La densité de vers blancs a ainsi chuté de 60 % entre juin et décembre (2,3 à 0,9 ver blanc vivant/souche).

# Perte de vitalité d'Hoplochelus marginalis

Les dissections de femelles pratiquées durant la période favorable à la mesure du potentiel de fertilité, sur des couples prélevés à St-Pierre ou à St-Leu (NI = 61), ou à la lumière à l'Entre-Deux (N2 = 81) révèlent une fertilité potentielle moyenne de 43 œufs/femelle pour les deux sites, ce qui représente une réduction d'environ 20 % sur le potentiel évalué au début de l'invasion du ver blanc. Dans la parcelle de St-Louis évoquée plus haut, le nombre moyen

d'œufs/femelle (N3 = 14) est de 30 à 34 au début décembre (réduction d'environ 30 %). Ces observations, très parcellaires, devront être développées pour confirmer ce phénomène de perte de vitalité.

B. Vercambre

# Modélisation de la dynamique des populations de vers blancs

Deux collaborations se sont développées autour de la connaissance de la dynamique des populations de vers blancs : l'une avec la FDGDON à la Réunion, l'autre avec l'URP SCRID à Madagascar:

La première se fonde sur les prospections réalisées depuis 1996 par la FDGDON sur une partie (1996-2001) ou l'ensemble de la Réunion (2001-2004). Notre collaboration avec A. Rolet consiste en la réalisation de cartes permettant de mieux comprendre

l'évolution spatio-temporelle des populations d'Hoplochelus marginalis à la Réunion et de l'agent de lutte biologique associé, Beauveria brongniartii en complément d'une possible modélisation des phénomènes sous-jacents. Les résultats montrent des effectifs d'H.

marginalis qui sont partout très faibles (Fig. 10). Il conviendra toutefois de continuer à observer dans le futur la zone ouest-sud-ouest.

La seconde a été lancée grâce au Conseil Régional de la Réunion. La coopéra-

tion avec Madagascar a permis d'appuyer un entomologiste malgache du Fofifa dans l'analyse de ses données spatio-temporelles pour la rédaction d'une thèse (Etude de la bio- écologie et de la dynamique des populations d'Heteronychus spp. et Heteroconus spp. et de leurs organismes associés sur riz pluvial dans le Vakinankaratra et le Moyen-Ouest). Nous avons aussi apporté notre savoir-faire dans le cadre du comité d'encadrement de la thèse et par des missions dans la mise au point des protocoles d'échantillonnage destructif sur les deux sites étudiés. L'analyse a été effectuée avec le logiciel R et les premières explorations et analyses spatio-temporelles (Fig. 11) montrent une répartition aléatoire du complexe d'espèces de vers blancs (plus de quinze espèces répertoriées sur un site).

F. Chiroleu

### ▶ La cochenille du vanillier

Conchaspis angraeci a été recensée pour la première fois sur l'île en 1997 par Provanille. Depuis, elle n'a cessé de se répandre sur l'île, bien que les zones de production de la vanille ne soient pas toutes touchées. Ainsi, la région de St-Philippe est pour le moment relativement épargnée (quelques pieds recensés). Par contre, de Ste-Suzanne à Ste-Rose, les niveaux d'infestation sont beaucoup plus importants. Les suivis effectués par Provanille auprès de ses adhérents indiquent que ce ravageur est en progression. Un des moyens d'éviter l'émergence de nouveaux foyers est de veiller à la mise en place de lianes « saines » sur les nouvelles parcelles ou en cas de remplacement de lianes mortes. En effet, le principal facteur de dissémination de la cochenille semble être l'introduction de lianes infestées, même à des niveaux faibles, au sein d'une parcelle saine.

Les niveaux d'infestation et la sévérité des symptômes diffèrent selon le type cultural, l'ancienneté de l'infestation et la localisation géographique. Les parcelles cultivées en sous-bois présentent des populations moins abondantes que celles cultivées en plein champ et en intercalaire canne à sucre. La répartition hétérogène et la densité des lianes en sous-bois semblent constituer un frein à la dispersion par rapport à l'alignement régulier et à la proximité des pieds des cultures en plein champ. Notre étude a montré que les stades larvaires mobiles, plus sensibles aux traitements insecticides, sont plus nombreux pendant la saison chaude, ce qui devra être pris en compte dans les éventuelles préconisations de lutte chimique. On manque encore de données pour évaluer précisément les pertes de rendement dues à ce ravageur. Les conséquences d'une infestation ne se manifestent pas par une mort de la liane en première, voire en deuxième année. Le processus d'installation est lent et l'affaiblissement de la liane progressif. L'itinéraire technique est important puisque, sur des parcelles très bien entretenues, des lianes avec de forts effectifs de cochenille peuvent parfois produire des gousses de bon calibre avec un rendement peu affecté.

Les enquêtes de terrain ont confirmé que les auxiliaires naturels indigènes, prédateurs ou parasitoïdes, sont peu nombreux et incapables de contrôler par eux-mêmes les populations de la cochenille. Les parasitoïdes recensés ne semblent pas inféodés aux populations de *C. angraeci*. Un test de laboratoire de prédation par la coccinelle *Chilocorus nigritus*, prédatrice efficace de diverses diaspines en vergers d'agrumes et sur cocotier, a été mis en place à partir de novembre. Les premiers résultats n'ont pas été positifs, les adultes de coccinelles ne survivant pas plus de 5 jours en l'absence de nourriture alternative et ne présentant pas d'activité prédatrice notable. Les tentatives d'élevage sur citrouille à partir d'une contamination par des L1 montrent un taux amélioré de fixation et de passage au stade L2. Cependant, peu d'adultes sont obtenus, et l'on ne dispose pas encore d'une méthode d'élevage sur hôte de substitution. La production sur lianes de vanille en serre s'avère relativement lente.

A l'heure actuelle, le contrôle des infestations repose avant tout sur des mesures prophylactiques telles que l'arrachage des lianes fortement contaminées et leur remplacement par des boutures certifiées indemnes de cochenilles (et de virus) issues de la pépinière de Provanille.



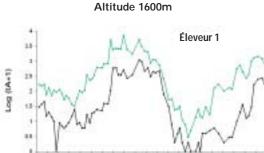


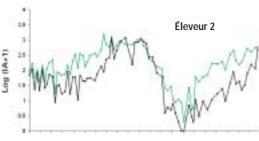
Photo 12.
Hoya bella (Asclepiadaceae) plante-hôte
alternative de la cochenille de la vanille
(A. Richard).



Photo 13. Dégâts de la cochenille du vanillier (A. Franck).

# Dynamique des populations de stomoxes dáns les élevages laitiers





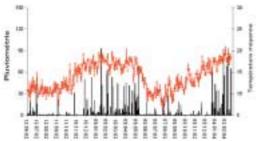


Figure 12. Abondances relatives [ log10 (IA+1)] de S. calcitrans (vert) et S. niger (noir), température moyenne (°C) et pluviométrie (mm) en fonction du temps chez deux éleveurs laitiers situés à 1600 m d'altitude

choix. Dynamique des populations de stomoxes A la Réunion, les deux espèces de stomoxes présentent des variations de densité au cours du temps (Fig. 12). Le cycle saisonnier des deux espèces est bien marqué avec une forte densité de stomoxes en période estivale et une nette réduction de la taille de la population en hiver. L'étude des patterns d'abondance (cycles saisonniers) le long d'un gradient altitudinal, a permis de mettre en évidence un synchronisme spatial des différentes populations, de S. calcitrans

populations au cours du temps. De plus,

ces variations spatio-temporelles de densi-

té influencent directement la structuration

génétique des populations. Il semble alors

intéressant de définir l'impact des facteurs

abiotiques tels que les paramètres météo-

rologiques sur la biologie et la dynamique

des populations ainsi que les consé-

quences génétiques de ces variations. A la

Réunion, les stomoxes Stomoxys calcitrans

et S. niger, diptères hématophages, sont

vecteurs de maladies par transmission

mécanique. Ils transmettent l'anaplasmose

(dont l'agent causal est Anaplasma margi-

nalae) maladie représentant la première

cause de mortalité chez les bovins laitiers.

De plus, par leurs piqûres douloureuses et

la spoliation sanguine, les stomoxes représentent une nuisance considérable pour

l'élevage bovin et pour la production de

lait et constituent donc un modèle de

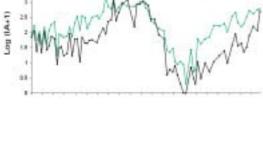
Trois acteurs interviennent : le parasite d'une part et de S. niger d'autre part. Ce synchronisme spatial intraspécifique observé dans la dynamique des responsable de la maladie, le vecteur transporteur de ce parasite et l'hôte qui sera populations diminue quand la distance entre les infecté. La compréhension du fonctionnepopulations augmente. Le synchronisme spatial entre ment d'un tel système est souvent très populations peut résulter de trois principaux mécacomplexe puisqu'elle fait intervenir de nismes: (1) la dispersion entre les populations (2) nombreuses composantes et que son effil'effet de facteurs abiotiques (température, pluviomécacité est très fortement dépendante des trie,...) agissant de manière conforme sur la dynaconditions environnementales. En effet, les mique des différentes populations (Moran effect) (3) facteurs biotiques et abiotiques sont les interactions trophiques avec les populations des déterminants dans la biologie et la dynaautres espèces de la communauté. Par l'analyse de mique des populations des différents séries chronologiques, nous avons montré que la acteurs du système. Ainsi, les modifications température explique à elle seule entre 60 et 85 % climatiques engendrées par exemple par le des fluctuations de densité observée sur les différents réchauffement global se traduisent par des sites d'étude et pourrait donc être le facteur clef modifications des facteurs biotiques et responsable du synchronisme spatial et de la variation abiotiques qui agissent sur la biologie des de densité des populations. espèces et influencent la démographie des

### Effet de la température sur le cycle biologique des stomoxes

Ces variations spatio-temporelles de densité résultent de l'influence de la température sur le cycle biologique des deux espèces de stomoxes. Une première étude sur S. calcitrans et S. niger a montré que la survie des immatures des deux espèces était maximale entre 20 et 25°C et qu'elle diminuait de part et d'autre de cet intervalle. La durée de développement est également un trait lié à la température puisqu'elle passe d'environ 70 jours à 15°C à 14 jours à 30°C chez les deux espèces. Dans une seconde étude, nous avons montré que la température avait également un effet considérable sur la longévité des adultes et la fécondité des femelles et influençait de manière importante les différents paramètres démographiques des deux espèces de stomoxes.

Ainsi la température est le facteur explicatif majeur des variations spatio-temporelles de densités des deux espèces de stomoxes. Nous étudions actuellement les conséquences de ces variations de densité sur la structuration génétique des populations. Plus précisément, nous nous posons les questions suivantes: les goulots d'étranglements suivis d'événements de fondation répétés entraînent-ils une perte de diversité génétique et une différenciation notoire des populations de stomoxes ? Les effets de fondation sont ils plus importants pour les populations de S. niger que celles de S. calcitrans? Enfin, l'expansion d'une population se fait-elle à partir des populations plus proches? Afin de répondre à ces interrogations, des marqueurs microsatellites ont été mis au point pour chacune des deux espèces (Gilles et al. 2004) et







les premiers résultats montrent qu'il existe une grande homogénéité à l'échelle de l'île. Celle-ci pourrait résulter de la grande mobilité des stomoxes (capables de parcourir d'importantes distances) mais aussi des pratiques agricoles (mouvement important de paille de canne à sucre ou de fumier, substrats de développement des stomoxes).

J. Gilles



Photo 14. Femelle de Stomoxys calcitrans (J. Gilles).

# ÉNÉTIQUE ET CARACTÉRISATION DE LA RÉSISTANCE AUX BIOAGRESSEURS

# Résistance de la canne à sucre au foreur ponctué

À la Réunion, la résistance de la canne à sucre au foreur ponctué *Chilo sacchariphagus Bojer* (*Lepidoptera, Crambidae*) est bien connue au travers de la sensibilité contrastée des variétés R570 et R579 à ce ravageur. L'objectif des recherches menées est de promouvoir la résistance génétique de la canne au foreur ponctué en étudiant la diversité et l'hérédité des résistances ainsi que les mécanismes mis en jeu, en vue de fournir des sources de résistance et des méthodes pour la création de variétés résistantes

En 2004, les performances de plusieurs critères de mesure de la résistance ont été évaluées au travers d'une étude préliminaire menée sur un essai variétal du Cerf à Ste Marie. Il apparaît que les observations précoces (avril) permettent de classer les variétés aussi bien que des observations avant récolte, plus lourdes. Le critère simple du « taux de tiges attaquées » montre des performances équivalentes à celles de critères plus lourds basés sur le comptage des entre-nœuds attaqués. D'autre part, la collection de 456 clones internationaux du Cerf a été criblée en vue d'identifier des clones résistants ou sensibles. Treize clones potentiellement résistants et dix-neuf potentiellement sensibles ont été identifiés. Le niveau de sensibilité de ces clones doit être confirmé en 2005 et 2006.

La connaissance de la localisation tissulaire de la résistance est déterminante pour l'identification des mécanismes mis en cause. Les sites d'alimentation des jeunes chenilles de *Chilo sacchariphagus* ont ainsi été analysés lors de sondages réalisés dans quinze parcelles de planteurs, huit plantées avec la variété R579 (sensible) et sept avec la variété R570 (résistante). On constate que seuls les quatre premiers

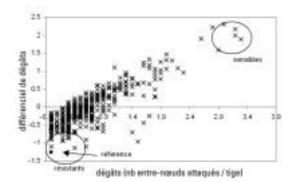


Figure 13.
Distribution des dégâts observés sur tige en avril 2004 sur les 456 clones de la collection du Cerf. Le point noir indique le clone (KASSOER) utilisé comme référence résistance pour le calcul de la sensibilité.

stades larvaires sont observés hors de la tige. Les chenilles se répartissent sur les feuilles terminales, les gaines foliaires et la tige dès le premier stade larvaire. Leur progression vers la tige se fait le plus fréquemment en perforant au moins une gaine foliaire. La pénétration dans la tige intervient majoritairement à la base des guatre entre-nœuds situés sous le méristème terminal. Les bourgeons axillaires ne sont pas un site privilégié de pénétration dans la tige. Des différences de comportement des chenilles entre variétés suggèrent que le franchissement des gaines foliaires est l'occasion de l'expression d'une partie de la résistance de la variété R570. Les tests menés en laboratoire confirment que les chenilles du premier stade larvaire détectent des différences entre variétés à la surface externe de la gaine foliaire. La variété R579 est préférée à la R570 et induit une moindre mortalité lors de la pénétration des chenilles



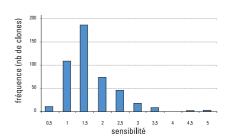




Figure 14.

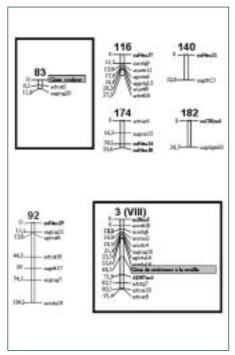


Figure 15. Extrait de la carte génétique de la variété MO 76/53.

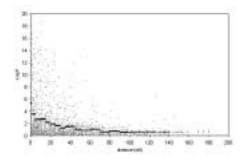


Figure 16. Diminution du « déséquilibre de liaison » en fonction de la distance génétique.

### ▶ Génétique de la résistance aux maladies de la canne à sucre

### Cartographie génétique

La carte génétique du croisement biparental impliquant R570 (résistant au charbon) et MQ 76/53 extrêmement sensible au charbon est achevée. 1666 marqueurs polymorphes ont été produits à l'aide de 40 couples d'amorces AFLP, 46 SSRs et neuf sondes RFLP (gènes de défense fournis par la SASRI en Afrique du Sud). Quatre essais ont été mis en œuvre pour caractériser la résistance des 200 clones de la descendance vis-à-vis du charbon : deux essais au champ avec inoculation par trempage et observation de la maladie sur deux repousses et deux essais en serre avec inoculation par pigûre des bourgeons. L'analyse statistique devrait permettre de détecter les associations marqueurs-résistance au charbon les plus intéressantes en utilisant les 1666 marqueurs polymorphes produits pour construire la carte génétique Ces essais ont par ailleurs permis d'étudier la résistance à la rouille, la floraison, le brix, le diamètre des tiges. Ainsi, un nouveau gène de résistance à la rouille et un gène de la couleur rouge des tiges ont été identifiés liés à des marqueurs AFLP (Fig.15).

### Déséquilibre de liaison chez la canne à sucre et détection d'associations marqueur-résistance dans une population de cultivars

Une exploration du déséquilibre de liaison a été entreprise à partir de cette population. Un génotypage AFLP a été réalisé et plus de 1600 marqueurs ont été produits dont 408 sont cartographiés chez R570. Cette information est très intéressante pour étudier la structure du déséquilibre de liaison chez la canne à sucre. Ainsi, des associations entre marqueurs distants de plus de 30 cM ont pu être détectées (Fig. 16). Le déséquilibre de liaison chez la canne devrait donc conférer à la diversité moléculaire en un point du génome une valeur prédictive pour la diversité au niveau de gènes utiles présents dans le voisinage. Cette approche devrait notamment permettre de révéler un certain nombre de marqueurs associés à la résistance au charbon de la canne à sucre à partir de la comparaison de deux sous-groupes dans la population de cultivars étudiée, l'un très résistant et l'autre très sensible. Leur résistance au charbon a été évaluée au Burkina-Faso en conditions d'infestation naturelle forte.

L-M. Raboin

# ▶ Génétique de la résistance aux maladies virales chez le maïs

Les travaux de cartographie génétique de la résistance au Maize stripe virus (MStV) sont maintenant achevés et en voie de publication. La résistance oligogénique originaire de la Réunion (Rev 81) agit principalement en réduisant l'incidence de la maladie. La présence simultanée d'un QTL majeur sur le chromosome 2L et d'un autre sur le chr.3, dans la région du cluster de gènes de résistance près du centromère, apparaît comme une condition minimale pour obtenir un bon contrôle de la maladie au champ. Cette constatation découle de l'étude comparée des deux fonds génétiques Rev 81 et MP 705, ce dernier ne possédant pas le QTL du chr.2 et ne présentant qu'une résistance partielle surmontée par un nombre important d'insectes vecteurs du virus. La dissection de cette résistance serait maintenant la prochaine étape en vue de la compréhension des mécanismes sous-jacents : résistance au virus et/ou à l'insecte vecteur ?

Cela nécessiterait dans un premier temps la mise au point d'une technique d'inoculation mécanique du virus à la plante de type biolistique, permettant de ne prendre en compte que les mécanismes de résistance au virus sensu stricto.

La résistance au *Maize mosaic virus* (MMV) présente dans le germplasme réunionnais reste à cartographier et à comparer au gène majeur Mv1 de résistance identifié dans le matériel originaire d'Antigua. Pour cela, une population de lignées recombinantes issues du croisement CVR12 x B73 est en cours de sélection. L'objectif est de savoir s'il existe une variabilité génétique pour cette résistance, avec les conséquences importantes que cela sous-entend en terme de sélection et de durabilité.



# ▶ Génétique de la résistance aux bégomovirus chez la tomate

Les bégomovirus transmis par l'aleurode Bemisia tabaci constituent un problème majeur de la culture de la tomate en zone tropicale mais également, et de plus en plus, en zone tempérée. La résistance variétale est la seule voie possible pour contrôler ces maladies de façon durable, étant donné la très faible efficacité et la nocivité pour l'environnement de la lutte chimique contre les insectes vecteurs. Les tests de résistance réalisés sur des accessions sauvages de Lycopersicons ont permis d'identifier différentes sources de résistance potentielle à la souche de TYLCV présente à la Réunion, notamment dans les espèces L. chilense, L. hirsutum et L. peruvianum. L'espèce L. pimpinellifolium s'est révélée également très intéressante avec des sources de résistance aux begomovirus bipartites tels que le Potato yellow mosaic virus (PYMV), mais également à l'insecte vecteur, résistance peu étudiée jusque-là. L'accession L. pimpinellifolium LA 2187-5 présente un niveau de résistance très élevée au PYMV, qui semble reposer sur un déterminisme monogénique récessif. La cartographie génétique de cette résistance est en cours dans une population de lignées F2 issues de LA 2187-5 (R) x CRA66 (S). Après la constitution de pools de lignées R et S, grâce à de tests de résistance à ce virus menés actuellement en Guadeloupe, la cartographie du gène de résistance se fera à l'aide de marqueurs AFLP polymorphes entre ces deux pools et sur une population d'effectif réduit (approche BSA). Par ailleurs, la présence d'une résistance partielle au vecteur est soupconnée dans les accessions L. pimpinellifolium INRA-hirsute et LA 1478. Cette résistance diminue l'incidence de la maladie et se montre efficace vis-à-vis du TYLCV aussi bien que du PYMV. Elle s'exprime de façon quantitative et peut être contournée par un nombre élevé d'aleurodes virulifères sur les plantes (Fig. 17). Néanmoins, utilisée en combinaison avec la résistance au virus, elle pourrait constituer une première barrière dans la lutte contre la maladie.

J. Dintinger, H. Delatte, B. Reynaud

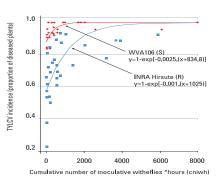


Figure 17. Expression quantitative d'une résistance partielle dans l'accession L. pimpinellifolium 'INRA-hirsute' en fonction du nombre d'aleurodes virulifères sur les plants.

# ▶ Génétique de la résistance au flétrissement bactérien chez la tomate

La bactérie Ralstonia solanacearum, responsable du flétrissement bactérien de la tomate, constitue l'autre facteur limitant de la culture en zone tropicale. Depuis peu, la race 3 de la bactérie constitue une maladie émergente sur tomate en zone tempérée menaçant les cultures sous serre dans l'hémisphère nord. Une étude de cartographie génétique de la résistance présente dans la variété Hawaï 7996 (L. esculentum, var. cerasiforme), menée vis-à-vis des différentes races de la bactérie, a montré l'existence de QTL (Quantitative Trait Locus) de résistances qui peuvent être soit généralistes, soit spécifiques de certains phylotypes de la bactérie. Un QTL situé dans le cluster de gènes de résistance du chromosome 6 est détecté quelque soit le phylotype, alors que des QTL sur les chromosomes 3, 4 et 12 s'expriment spécifiquement vis-à-vis du phylotype I ou II de la bactérie. Ce travail réalisé dans deux descendances issues du même fond génétique montre l'importance de disséguer ce type de résistance en vue de son utilisation dans un programme de sélection visant à contrôler de façon stable et durable le complexe

d'espèce que constitue R. solanacearum. La Réunion est un site privilégié pour mener de telles études, car les différents phylotypes y sont présents et permettent d'effectuer des tests en condition contrôlée de la maladie. Les sources de résistance à R. solanacearum sont pour l'instant rares et il convient de poursuivre les criblages systématiques de nouvelles sources potentielles. Parmi celles-ci, la variété L. esculentum CRA 66, parent sensible du croisement utilisé pour l'étude la résistance au PYMV, est une source potentielle de résistance partielle à la maladie. Cette population prévue initialement pour la cartographie de la résistance au PYMV, pourra donc aussi être exploitée en vue de la recherche de nouveaux QTL de résistance au flétrissement bactérien. Par contre, ce travail nécessitera la réalisation d'une carte génétique complète avec une bonne couverture du génome qui se fera à l'aide principalement de marqueurs RFLP. Un certain nombre de marqueurs microsatellites et PCR spécifiques polymorphes pourront compléter cette carte (Fig.18).

J. Dintinger

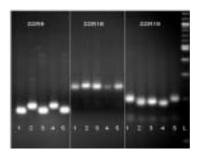


Figure 18. Exemples de quelques marqueurs microsatellites polymorphes détectés au sein des géniteurs. (Pistes: 1 = CRA66; 2 = LA2187-53 = Atatürk; 4 = INRA hirsute5 = WVA106;  $L = ladder\ 100pb$ )





Photo 15. La collection de vanilliers indemnes de virus et aperçu du polymorphisme de trois accessions : V. planifolia variegata (a), V. imperialis (b) et V. madagascariensis (c).

# The state of the s

Figure 19.
Détection quantitative du Cymbidium mosaic virus avec trois protocoles de Reverse Transcription – Polymerase Chain Reaction et fluorescence du SyBR-Green®.

## ▶ Génétique et certification des vanilliers

Ce programme vise à identifier les vanilliers qui expriment qualitativement et quantitativement des caractéristiques intéressantes pouvant être ensuite sélectionnées et utilisées en production ou en hybridation. La démarche entreprise consiste tout d'abord à mettre au point des outils de caractérisation moléculaire des génotypes et à analyser la variabilité phé-

notypique, notamment du point de vue de la résistance aux virus. En 2004, les travaux ont essentiellement porté sur la mise en place, d'une collection diversifiée de vanilliers et à la caractérisation des souches de *Cymbidium mosaic virus* (CymMV) qui infectent les vanilliers. Nous avons d'autre part chercher à élargir le champ d'application de cette recherche aux pays de la région qui contribuent à près de trois-quarts de la production mondiale de vanille.

La collection de vanilliers du Cirad a été enrichie cette année de 114 accessions originaires de la zone Océan Indien, d'Amérique, d'Afrique et d'Océanie. Ces introductions portent à 143 le nombre d'accessions en guarantaine ou en collection. Elles se répartissent provisoirement en 12 espèces, les plus représentées étant V. planifolia (66), V. bahiana (15) et V. pompona (13). Soixante-six lignées indemnes de virus ont été mises en collection, sous ombrière insect-proof à Bassin Plat (photo 15) en vue de leur caractérisation morphologique. De nombreuses lignées disponibles à travers le monde sont infectées par des virus, notamment par le CymMV. L'incorporation de ces ressources à la collection exige en préalable un travail d'assainissement pour les débarrasser des virus. La présence d'une collection mondiale de vanilliers sur la Réunion constituera une première mondiale de par sa diversité et surtout sa gestion rigoureuse aux plans de l'état sanitaire et du respect des règles de la Convention sur la Biodiversité. On peut en attendre des retombées scientifiques et potentiellement économiques. Elle sera tout d'abord valorisée dans le cadre de la thèse de Séverine Bory (Boursière Région Réunion) débutée en 2004. Son travail porte sur l'analyse moléculaire de la diversité génétique des vanilliers avec référence spécifique aux vanilliers de la Réunion. En préalable à l'évaluation des vanilliers pour leur

niveau de tolérance au CymMV, trente souches virales ont été caractérisées au niveau moléculaire par séguençage direct du gène de la protéine de capside (CP) et d'un fragment de 495 nucléotides du gène de la RNA-Polymérase (RdRP). Les souches étudiées sont originaires de la Réunion (6), de Polynésie française (9), de Madagascar (2), de Fiji (1) et de vanilliers importés des jardins botaniques d'Auteuil (4) et de Cherbourg (8). Les dendrogrammes issus des séquences nucléotidiques sont nettement congruents pour les deux gènes étudiés (CP et RdRP). Ils mettent en évidence l'existence de deux groupes bien distincts de souches. Néanmoins, la divergence demeure faible au niveau protéique (<11%) et en particulier, l'ensemble des isolats de vanilliers sont bien détectés par les anticorps commerciaux ainsi qu'avec différents jeux d'amorces de RT-PCR. Ces résultats valident donc le schéma de certification sanitaire des boutures mis en place dans les pépinières de la Réunion et justifient d'autre part l'utilisation d'une souche locale de CymMV pour cribler les accessions de vanillier pour leur sensibilité à ce virus. A cette fin, et à partir de l'étude de variabilité de la CP, un test de détection quantitative du CymMV dans le vanillier a été mis au point. Le protocole retenu est basé sur IC-SyBRGreen®-RT-PCR qui offre un bon compromis coût/performance (Fig. 19). Schématiquement, il repose sur la capture des particules virales à l'aide d'anticorps spécifigues suivie de la rétro-transcription de l'ARN puis de l'amplification de la séquence cible qui est révélée quantitativement par le SyBRGreen, un

M. Grisoni



fluorochrome spécifique de l'ADN bicatenaire.

Photo 16. Fruits de Piment Maurice.



# ▶ Production et certification de matériel végétal sain

La mise en application des normes européennes en matière de production et commercialisation de semences et plants d'espèces cultivées est un enjeu important pour la diversification de l'agriculture de la Réunion et la structuration des filières, en particulier maraîchère et fruitière. En 2004, les travaux inscrits dans le programme de mise en place de la norme « qualité CE » ont concerné essentiellement l'inscription au catalogue officiel de variétés localess d'espèces potagères. Après le travail d'homogénéisation réalisé en 2002 et 2003, trois variétés de piment, Maurice (photo 16), Martin et Gros piment, et deux variétés d'aubergines (oblongue et demi-longue) ont été déposées en pré-inscription au catalogue au GEVES à Cavaillon. En parallèle, la production de semences de base a démarré (photo 17). En partenariat avec la SEMOI et après un complément d'étude, les variétés de haricot Marla et Kerveguen ont été officiellement inscrites au catalogue.

Les variétés locales de concombre et citrouille nécessitent un travail d'homogénéisation complémentaire avant inscription au catalogue. Suite à des problèmes constatés de perte de faculté germinative sur des lots de semences de haricot de la SEMOI, des essais ayant pour but d'analyser l'effet de différents facteurs (température, humidité, traitement insecticide et durée de stockage) ont été réalisés. Les résultats ne montrent pas d'effets significatifs. Une combinaison de facteurs incluant les conditions de culture au champ semble être responsable de ces problèmes. Le programme de création variétale d'oignon se poursuit conformément au programme. Plus de 25 000 graines issues de 37 hybrides ont été récoltées et serviront de matériel de départ pour la sélection d'une ou de plusieurs nouvelles variétés. Une nouvelle série de croisement entre lignées sélectionnées Véronique, G2 et IPA 3 a été réalisée.

La mise en place de la **norme de certification** des semences pour le mais et l'ail est en cours à la Réunion. En préalable au développement de filières de production de semences certifiées, l'inscription au catalogue officiel est obligatoire. Après avoir été multipliée en conditions insect-proof (plus de 11 000 bulbes récoltés), la variété assainie d'ail rouge de la Réunion a été présentée à l'inscription fin 2004. Elle a été nommée « Ti Rouge ». La multiplication des semences débutera en 2005. L'assainissement des deux autres variétés locales, Vacoa et Gros bleu se poursuit. Les premières multiplications de Vacoa assaini démarreront en 2005.

Les travaux de transfert de résistance aux viroses dans des lignées élites de maïs se poursuivent. La production de semences commerciales a concerné essentiellement la variété population Cirad 412. Des formules hybrides 3 voies sont disponibles mais les conditions de production de semences commerciales dans le cadre de la SEMOI doivent être améliorées. Le maintien des principales lignées élites s'est poursuivi.

Après la décision du SOC (Service Officiel de Contrôle) de prendre en charge la norme CAC (Conformité Agricole Communautaire) pour les plants d'agrumes dans les DOM, la mise en place chez les pépiniéristes fruitiers a démarré courant 2004. Cette norme permettra à terme de proposer à l'utilisateur des plants d'agrumes puis d'autres espèces indemnes de maladies et génétiquement conformes. Ce travail est réalisé conjointement par le Cirad, l'Armeflhor et la Chambre d'Agriculture. La rédaction d'un règlement technique officiel, commun à l'ensemble des DOM est en cours. Dans ce cadre, le Cirad poursuit l'aménagement de ses structures pour répondre à la demande de greffons et porte-greffe de qualité ainsi qu'à la nécessité de diffusion de nouvelles variétés. Pour répondre à une demande croissante de semences de papayer, le dispositif de production de semences a été amélioré. Les nouvelles variétés de papaye Solo (Sunset, Sunrise et Waïmanolo) ont été diffusées (photo 18).

La gestion des ressources génétiques est un élément essentiel pour le maintien de la diversité génétique des plantes cultivées. Pour répondre à l'accroissement des travaux de conservation des semences dans ce domaine, une nouvelle chambre froide positive à hygrométrie contrôlée a été aménagée. Une collection d'aulx tropicaux a été installée in vitro en 2004. Elle se compose de trente accessions, essentiellement d'origine africaine. Après une phase de quarantaine réalisée en serre en 2004, un travail d'évaluation au champ et de caractérisation sera conduit en 2005. Certaines variétés pourraient présenter un intérêt agronomique pour la Réunion. Les travaux de caractérisation de légumes lontan se sont poursuivis avec un travail particulier sur les margoses (photo 19). Neuf variétés de piments et six d'aubergines ont été multipliées en 2004 dans le cadre du réseau ressources génétiques solanacées du BRG (Bureau des Ressources Génétiques).



Photo 17 Tunnel de production de semence de base de piment.



Photo 18. Production de semences de Papaye Solo Sunrise.



Photo 19. Margose amère.



# NDÉMISME ET INVASIONS BIOLOGIQUES DES ÉCOSYSTÈMES TERRESTRES EN MILIEU INSULAIRE

# Adventices des cultures et plantes envahissantes

### Caractérisation des enherbements

L'étude réalisée au cours des années 2003 et 2004 a porté sur 410 relevés phyto-écologiques en parcelles agricoles, dont 314 en canne à sucre et 92 en maraîchage. La flore adventice inventoriée comprend 228 espèces, dont 220 en canne à sucre et 176 en maraîchage. L'analyse de la relation entre fréquence relative et abondance moyenne des espèces permet de classer celles-ci en fonction de leur importance agronomique dans chacun des systèmes de culture. Les parcelles de canne à sucre présentent en moyenne une diversité floristique de 29 espèces (photo 20) tandis que les parcelles de maraîchage n'en comptent que 23 (photo 21).

Est-Sud à moins de 400 m, (2) Nord-Ouest à moins de 400 m, (3) Ouest entre 400 et 600 m, (4) Est-Sud au dessus de 400 m et ouest au dessus de 600 m. La comparaison des groupes d'espèces en fonction de leur importance agronomique montre que les espèces majeures des différents systèmes de culture ne sont pas les mêmes. La flore adventice d'une parcelle dépend donc des conditions environnementales et du système de culture. Il convient de raisonner les pratiques de désherbage en fonction de la culture concernée et de la flore de la parcelle. La distribution de chaque espèce a été cartographiée en fonction de son abondance.

L'ensemble des résultats sera synthétisé en 2005 au



Photo 20. Enherbement diversifié en canne à sucre (T. Le Bourgeois).

### Principaux groupes d'espèces d'importance agronomique en fonction des systèmes de culture.

Importance agronomique	Canne à sucre	Maraîchage
Majeures générales Fr>50 et AD>2	Panicum maximum Sigesbeckia orientalis Cyperus rotundus Cynodon dactylon	Ageratum conyzoides Coronopus didymus Gallinsoga parviflora Stellaria media
Générales Fr>50 et AD>2	Oxalis corniculata Solanum americanum Bidens pilosa Ageratum conyzoides Lantana camara Litsea glutinosa Momordica charantia	Oxalis corniculata Solanum americanum Bidens pilosa Conyza sumatrensis Eleusine indica Sonchus asper
Majeures régionales 25 <fr<50 ad="" et="">2</fr<50>	Euphorbia heterophylla Paspalum paniculatum Ipomoea hederifolia Rottboellia cochinchinensis Kyllinga elata	Plantago lanceolata Gamochaeta purpurea Apium leptophyllum Euphorbia heterophylla



Photo 21. Enherbement spécifique en maraichage (T. Le Bourgeois).

Les cultures maraîchères ont tendance à sélectionner une flore plus ciblée, adaptée à un travail du sol régulier et des rotations courtes, de forts apports d'engrais et une faible variabilité de molécules herbicides. En canne à sucre, la flore est globalement plus diversifiée, du fait de l'étendue de la zone de culture, de la variabilité de la nature des sols, du climat et des niveaux d'intensification rencontrés. Nous avons pu différencier quatre zones principales en fonction de la composition floristique de l'enherbement (1)

travers de la mise à jour des fiches descriptives des adventices de la Réunion et de la réalisation d'une série de nouvelles fiches dans le cadre de la deuxième version du cédérom AdvenRun.

#### Espèces envahissantes

Le programme d'étude complémentaire de la tenthrède *Cibdela janthina* (*Hymenoptera, Argidae*), agent potentiel de lutte biologique contre *Rubus alceifolius*, a porté principalement sur la mise au



point des conditions d'élevage en quarantaine de l'insecte à la Réunion. Différents lots de cocons ont été recus de Sumatra, où cet insecte est élevé pour le projet. Il ressort que les nymphes en cocons sont très sensibles au transport, ce qui se traduit par un taux d'émergence des adultes à l'arrivée de 10 à 30 %. Dans 85 % des cas de non émergence, il s'agit de nymphoses incomplètes ; le développement a été perturbé par le transport. Les conditions biotiques des différentes phases du cycle de l'insecte sont très rigoureuses et difficiles à obtenir en quarantaine (Photo 22). En effet, l'accouplement doit se faire en plein soleil, intensité lumineuse très difficile à obtenir en conditions contrôlées. Cela s'est traduit par des pontes de femelles généralement non fécondées, donnant naissance à une très grande minorité de femelles, 7 %, contre 70 % dans la nature. Les conditions d'élevage des larves à 22°C la nuit et 28°C le jour, photopériode de 12h/2h et 80 % d'humidité sont bien maîtrisées permettant l'obtention de 80 % des larves atteignant le stade nymphe et 85 % des nymphes donnant naissance à un adulte.

Les premiers tests de spécificité de ponte et d'alimentation entre R. alceifolius et R. apetalus montrent que la ponte est possible sur R. apetalus mais que la survie larvaire sur R. apetalus seul (66 %) est inférieure à celle sur R. alceifolius (93 %). Ces résultats doivent être confirmés.

Etant donné les difficultés d'élevage en guarantaine, les études de spécificité seront réalisées à partir de lots importants envoyés de Sumatra début 2005 sans tenir compte du maintien de l'élevage.

Trois missions de prospection et de collecte ont été réalisées en Chine, dans l'île d'Hainan et dans la région du Guangdong, par R. Desmier de Chenon. Ces missions ont permis de collecter de nouvelles espèces de Cibdela sp. responsables de dégâts importants sur Rubus alceifolius. D'autres insectes semblent également avoir une action régulatrice du développement des massifs de Rubus de ces régions. Il s'agit d'un charançon Alcidodes sp. (photo 22), dont les adultes se nourrissent en creusant des gouttières dans les pétioles, les pédoncules et les jeunes tiges au point d'en provoquer le dessèchement ou la rupture. La ponte a lieu dans les tiges. Les larves se développent en foreurs de tiges contrariant l'élongation des rameaux. Un lot de ces charançons est en cours d'étude en quarantaine à la Réunion. Un microlépidoptère se développe dans les jeunes feuilles des apex de tiges et tisse un réseau de fils qui empêche le déploiement des feuilles.

### Gestion intégrée de la biodiversité à la Réunion

L'atelier sur la biodiversité a réuni à la Réunion les chercheurs réunionnais et neuf chercheurs sud-africains pour définir des collaborations dans le domaine de la conservation de la biodiversité et de la lutte contre les plantes envahissantes (photo 24).

La Réunion a la responsabilité locale et régionale de conserver une biodiversité unique. Nombre d'écosystèmes naturels des Mascareignes, ne sont plus présents qu'à la Réunion.

Au niveau de la zone Sud-Ouest de l'océan Indien, l'Afrique du Sud et la Réunion sont tous deux confrontés au problème de la conservation de la biodiversité mais présentent deux situations très différentes. L'un est un pays continental, vaste, d'origine géologique très ancienne, tandis que l'autre est une île océanique de petite surface, d'origine géologique très récente. L'analyse comparée des données obtenues dans des problématiques communes dans ces deux situations très différentes doit nous apporter beaucoup d'informations et d'éléments de compréhension sur les processus d'évolution et de construction de la biodiversité ainsi que sur la dynamique des menaces qui portent sur cette biodiversité (enjeux d'utilisation de l'espace, invasions biologiques...). Les équipes de recherche sud-africaines sont beaucoup plus nombreuses et travaillent sur ces suiets depuis beaucoup plus longtemps que les équipes de la Réunion. Il apparaît donc très intéressant d'associer nos efforts et d'adapter les méthodologies qui ont été mises au point en Afrique du Sud aux besoins de la Réunion. Ces collaborations pourront être renforcées par la mise en place de cursus de formation communs Master, Phd, Post Doc. et au travers de l'échange d'étudiants.

De nombreuses perspectives de collaborations ont été envisagées qui devront être précisées en 2005 dans le cadre d'un programme régional.



Photo 22. Elevage de Cibdela janthina en guarantaine NS3 (T. Le Bourgeois).



Photo 23. Alcidodes sp. sur Rubus alceifolius (R. Desmier de Chenon).

### S. Baret, T. Le Bourgeois



Photo 24. Atelier biodiversité franco-sud-africain à la Réunion.



# Antirhea borbonica

# Mimusops maxima

Figure 20.

Moyenne de la hauteur des individus de deux espèces forestières au cours du temps (pour les mois suivants la germination et 1 an après). IL : Intensité lumineuse. IL 1 correspond à une zone où 72% de la lumière extérieure est encore perceptible ; IL 2 = 52%; IL 3 = 20%; IL 4 = 14% et IL 5 = 0.3%.



Photo 25. Plantule de Weinmania tinctoria sur stipe de Cyathea (J.M. Sarrailh).



# Fonctionnement et restauration des forêts réunionnaises indigènes

Ces recherches ont pour but d'acquérir les connaissances permettant la gestion des forêts réunionnaises et d'apporter des éléments pour effectuer des opérations de restauration écologique. Elles se déclinent en deux actions :

### Reproduction des plantes indigènes

Pour comprendre les processus de régénération naturelle, des études ont été menées à la Rivière des Remparts sur la conservation des graines en forêt en collectant des échantillons de terre mis en conditions contrôlées. On observe une nette prépondérance du nombre de germinations en faveur des espèces indigènes par rapport aux espèces exotiques (91 %). Par contre, la conservation des graines des espèces indigènes chute considérablement au bout d'un an à l'inverse des espèces exotiques.

Les études se sont poursuivies sur l'influence de la lumière sur le développement des plantules, en plaçant en condition expérimentale des plantules de *Grand Natte-Mimusops maxima* et de Bois d'*Osto-Antirhea borbonica* à différents niveaux de lumière.

Mimusops maxima se développe de manière plus importante lorsque les intensités lumineuses sont les plus fortes et Antirhea borbonica a une croissance optimale pour des intensités intermédiaires (Fig. 20).

Le troisième thème abordé est celui de la régénération des espèces en forêt tropicale humide de montagne. On constate que la régénération se produit soit uniquement sur les stipes des fougères arborescentes (Weinmania tinctoria, Hypericum lanceolatum, Forgesia racemosa, Nuxia verticillata...)

(photo 25), soit uniquement sur le sol (*Doratoxylon apetalum, Maillardia borbonica, Dombeya sp...*), soit indifféremment sur les deux (*Phyllanthus phillyreifollius, Hedychium gardnerianum, Aphloia theiformis...*). L'étude des trouées dans ce type de forêt montre qu'elles sont nombreuses et de petites tailles et ne semblent pas avoir d'impact sur la régénération et la distribution des espèces.

# Fonctionnement et restauration de la biodiversité forestière

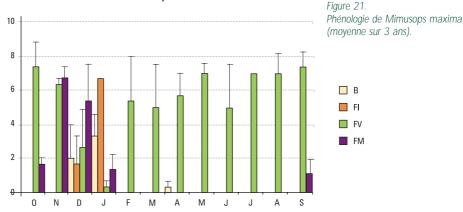
Pour comprendre le fonctionnement des écosystèmes forestiers et leurs dynamiques, les observations sur la phénologie et la dynamique des plantules des espèces ligneuses (indigènes et exotiques) ont été poursuivies en 2004 à Mare-Longue et Notre Dame de la Paix. Ainsi que sur les placettes du dispositif d'étude de la Rivière des Remparts. Exemple de la phénologie de *Mimusops maxima* (Fig. 21).

On commence ainsi à observer les stratégies de régénérations des espèces, par banque de graines ou banque de semis. A la Rivière des Remparts, on observe qu'il n'y a pratiquement pas d'apparition d'espèces exotiques en dehors de la zone perturbée.

Pour observer les possibilités de régénération du *Grand Natte* (*Mimusops maxima*) en milieu naturel, on a prospecté sept peuplements en notant les formes de fruits comme indicateur de la variabilité génétique.

J-M. Sarrailh





### → Publications et communications en 2004 :

### Publications, ouvrages, thèses, HDR:

ASNAGHI C., ROQUES D., RUFFEL S., KAYE C., HOARAU J.Y., TELISMART H., GIRARD J.C., RABOIN L.M., RISTERUCCI A-M., GRIVET L., D'HONT A., 2004. Targeted mapping of a sugarcane rust resistance gene (Bru1) using bulked segregant analysis and AFLP markers. Theor. Appl. Genet. 108:759-764.

ATTIE M., BOURGOIN T., FOUILLAUD M., REYNAUD B., BONFILS J., 2004. Ecology and distribution of *Mahellus determinatus* (Distant, 1917) (*Cicadomorpha*). African Entomology, 12 (1): 63-70.

BALIRAINE F., BONIZZONI M., GIUGLIELMINO C.R., OSIR E-O., LUX S.A., MULAA F.J., GOMULSKI L.M., ZHENG L., QUILICI S., GASPERI G. and MALACRIDA A.R., 2004. Population genetics of the potentially invasive African fruit fly species, *Ceratitis rosa* and *Ceratitis fasciventris* (*Diptera*: *Tephritidae*). Molecular Ecology, 13: 683-695.

BARET S., LE BOURGEOIS T., 2004. Case study: Rubus alceifolius. Case studies on the Status of Invasive Woody Plant Species in the Western Indian Ocean - 4. Réunion. C. Kueffer and C. Lavergne., FAO 4: 19-22, Rome, Italy.

BARET S., MAURICE S., LE BOURGEOIS T., STRASBERG D., 2004. Altitudinal variation in fertility and vegetative growth in the invasive plant *Rubus alceifolius* Poiret (*Rosaceae*), on Réunion island. Plant Ecology 172: 265-273.

BESSE P., DA SILVA D., BORY S., GRISONI M., LE BELLEC F., and DUVAL M-F., 2004. RAPD genetic diversity in cultivated vanilla: *Vanilla planifolia*, and relationships with *V. tahitensis* and V. pompona. Plant science 167 (2): 379-385.

BEYO J., NIBOUCHE S., GOZE E., DEGUINE J.P., 2004. Application of Probability Distribution to the Sampling of Cotton Bollworms (*Lepidoptera : Noctuidae*) in Northern Cameroon. Crop Protection, 23: 1111-1117.

**CARMEILLE A., 2004.** Bases génétiques de la résistance de la tomate à *Ralstonia solanacearum* : comparaison des races 1 et 3. Thèse, Université de la Réunion.147 p + annexes.

**DUYCK P.F., STERLIN J.F. and QUILICI S., 2004.** Survival and development of different life stages of *Bactrocera zonata* (*Diptera :Tephritidae*) reared at five constant temperatures compared to other fruit fly species. Bull. entomol. Res. 94: 89-93.

DUYCK P.F., ROUSSE P., RYCKEWAERT P., FABRE F. and QUILICI S., 2004. Influence of adding borax and modifying pH on effectiveness of food attractants for melon fly (*Diptera : Tephritidae*). J. Econ. Entomol. 97(3): 1137-1141.

**DUYCK P.F., DAVID P. and QUILICI S., 2004.** A review of relationships between interspecific competition and invasions in fruit flies (*Diptera : Tephritidae*). Ecological Entomology 29: 511-520.

GILLES J., LITRICO I., SOURROUILLE P., DUVALLET G., 2004. Microsatellite DNA markers for the Stable Fly: Stomoxys calcitrans (*Dipetra : Muscidae*). Molecular Ecology Notes 4: 635-637

GRISONI M., DAVIDSON F., HYRONDELLE C., FARREYROL K., CARUANA M.L., PEARSON M., 2004. Nature, incidence and symptomatology of viruses infecting *Vanilla tahitensis* in French Polynesia. Plant disease 88 (2): 119-124.

LE BOURGEOIST., BARET S., STRASBERG D., 2004. Les invasions biologiques, un problème majeur en milieu tropical insulaire: l'exemple de la situation à la Réunion. C.R. Académie d'Agriculture de France 90 (2): 18-19.

LE BOURGEOIS T., GOILLOT A., CARRARA A., 2004. New data on the biology of Phaedon fulvescens (*Col. Chrysomelinae*), a potential biological control agent of *Rubus alceifolius* (*Rosaceae*). In Jolivet, P. H., Santiago-Blay, J. A., Schmitt, M. [eds.], New contributions to the biology of Chrysomelidae, 757-766. SPB Academic Publishers, The Hague, Netherlands.

**LITRICO I., 2004.** Evolution du genre sexuel et de la diversité génétique dans une succession primaire : étude d'*Antirhea borbonica* (*Rubiaceae*) sur les coulées de la Réunion, Thèse, Université de la Réunion. 66 p + annexes.

LETT J.M., DELATTE H., NAZE F., REYNAUD B., ABDOULD-KARIME A.L., PETERSCHMITT M., 2004. A New Tomato leaf curl virus from Mayotte. Plant Disease, 88: 681.

NIBOUCHE S., BABIN R., BEYO J., GOZE E., 2004. Within Plant Distribution of Cotton Boll-infesting *Lepidoptera*. Application to Sampling. Environmental Entomology, 33: 1458-1464.

QUILICI S., 2004, Interactions à différents niveaux trophiques chez les diptères *Tephritidae*. Habilitation à Diriger des Recherches, Ecole doctorale interdisciplinaire, Université de la Réunion.

RASSABY L., GIRARD J.C., LEMAIRE O., COSTET L., IREY M.S., KODJA H., LOCKHART B.E.L., ROTT P., 2004. Spread of Sugarcane Yellow Leaf Virus in sugarcane plants and fields in Reunion Island. Plant Pathol. 53: 117-125.

ROUMAGNAC P., GAGNEVIN L., GARDAN L., SUTRA L., MANCEAU C., DICKSTEIN E. R., JONES J. B., ROTT P, PRUVOST O., 2004. Polyphasic characterization of xanthomonads isolated from onion, garlic and Welsh onion (Allium spp.)

and their relatedness to different *Xanthomonas* species. Int. J. Syst. Evol. Microbiol. 54:15-24.

ROUMAGNAC P., PRUVOST O., CHIROLEU F. and HUGHES G., 2004. Spatial and temporal analyses of bacterial blight of onion caused by *Xanthomonas axonopodis* pv. *allii*. Phytopathology 94:138-146.

ROYER M., COSTET L., VIVIEN E., BES M., COUSIN A., DAMAIS A., PIERETTI I., SAVIN A., MEGESSIER S., VIARD M., FRUTOS R., GABRIEL D.W., ROTT P.C., 2004. Albicidin pathotoxin produced by *Xanthomonas albilineans* is encoded by three large PKS and NRPS genes present in a gene cluster also containing several putative modifying, regulatory, and resistance genes. Mol. Plant-Microbe Interact. 17: 414-427.

RUIZ M., ROUARD M., RABOIN L-M., LARTAUD M., LAGO-DA P., COURTOIS B., 2004. Tropgene-db, a multi-tropical crop information system. Nucleic Acids Research. 32: D364-D367.

TASSIN J., RIVIERE J.N., 2004. Durée optimale d'écoute pour la détermination d'indices ponctuels d'abondance dans les paysages ruraux des hauts de la Réunion. Alauda 72 (3) 2004 : 187-191

VERNIERE C., PERRIER X., DUBOIS C., DUBOIS A., BOTELLA L., CHABRIER C., BOYE J-M., DURAN VILA N., 2004. Citrus viroids: symptom expression and effect on vegetative growth and yield on clementine trees grafted on Trifoliate orange. Plant Dis. 88: 1189-1197.

VERNIERE C., COHEN S., RAFFANEL B., DUBOIS A., VENARD P., PANABIERES F., 2004. Variability in pathogenicity among *Phytophthora* spp. Isolated from citrus in Corsica. J. Phytopathology 152: 476-483.

### Communications dans des congrès

Atelier sur la dynamique de la biodiversité à l'île de la Réunion, 29 nov-5 déc. 2004, St Pierre, Réunion :

ATTIE M., QUILICI S., BOURGOIN T., CHIROLEU F., VESLOT J. and REYNAUD B., 2005. Auchennorrhyncha (Insecta: Hemiptera) as possible bioindicators of disturbed / undisturbed habitats in Reunion Island: a model study in Mare-Longue forest. In S. Baret, M. Rouget, I. Nänni & T. Le Bourgeois (eds.). Proceedings of a workshop on biodiversity dynamics in La Réunion Island, La Réunion, Nov. 29th - December 5th 2004: 21-23.

BARET S., 2004. Spatial analysis of the main alien plant invasion on La Réunion Island. In S. Baret, M. Rouget, I. Nänni & T. Le Bourgeois (eds.). Proceedings of a workshop on biodiversity dynamics in La Réunion Island.

QUILICI S., ATTIE M., CHIROLEU F. and B. REYNAUD, 2005. Current status of knowledge on endemic entomofauna from highlands of La Réunion. In S. Baret, M. Rouget, I. Nänni & T. Le Bourgeois (eds.). Proceedings of a workshop on biodiversity dynamics in La Réunion Island.

RIVIERE J-N., SCHMITT L., SARRAILH J-M., HIVERT J., GOUSSEF M., BARET S., 2004. Tropical forest structure and dynamics for conservation. In S. Baret, M. Rouget, I. Nänni & T. Le Bourgeois (eds.). Proceedings of a workshop on biodiversity dynamics in La Réunion Island.

Congrès international d'entomologie, août 2004, Brisbane, Australie :

DELATTE H, REYNAUD B., GRANIER M., LETT J.M., GOLD-BACH R., PETERSCHMITT M., 2004. Distribution of an indigenous and an introduced biotype of *Bemisia tabaci* (*Gennadius*) in Reunion Island using microsatellite markers. International Congress of Entomology, August Brisbane, Australia.

DINTINGER J., REYNAUD B., BUDUCA C., LECOQ J., TUR-PIN P., GRONDIN M., CHIROLEU F., 2004. Application of multivariate analysis to electrical penetration graphs using manual and automate waveform recognization from the planthopper *Peregrinus maidis* feeding on susceptible and resistant maize. International Congress of Entomology, August, Brisbane, Australia

REYNAUD B., GARGANI D., LECOQ J., TURPIN P., GRONDIN M., PETERSCHMITT M., LETT J. M., 2004. Feeding behaviour of the planthopper *Peregrinus maidis* on maize analysed by digital signal processing of EPG and MET structure of stylet pathway. Poster présenté à l'International Congress of Entomology, August, Brisbane, Australia.

REYNAUD B., TURPIN P., DINTINGER J., DELATTE H., BIANCHI M., LESTRUAUT G., MOLINARO F., 2004. EPG-SOFT a software for acquisition and automated recognition of EPG recording. EPG Workshop, ICE 2004, August 10-13, Brisbane, Australia.

Quatrième symposium international sur les Geminivirus, 15-20 février 2004, Cape Town, Afrique du Sud :

DELATTE H., NAZE F., GRANIER M., REYNAUD B., PETER-SCHMITT M., LETT J.M., 2004. Tomato-infecting begomoviruses in the South Western islands of the Indian Ocean. 4th International Geminivirus Symposium, February 15-20, Cape Town, South Africa.

SOUSTRADE I., WUSTER G., DALMON A., DELATTE H., 2004. Poster. Use of molecular and serological methods to detect begomoviruses in imported tomato lots in Réunion

Island. 4th International Geminivirus Symposium.

SOUSTRADE I., WUSTER G., LE BOURGEOIS T., CADET V., DALMON A., LETT J.M., 2004. Inventory of weeds contaminated by the TYLCV in Réunion Island using serological and molecular methods. Poster présenté au 4th International Geminivirus Symposium.

Sixièmes Rencontres Plantes-Bactéries, 11-15 janvier 2004, Aussois, France:

GAGNEVIN L., JOUEN E., FILIPSKI M. and PRUVOST O., 2004. IS1595 : suivi de mobilité in vitro et in planta, intérêt pour le génotypage de populations de Xanthomonas pv. mangiferaeindicae par LMPCR. 6èmes Rencontres Plantes Bactéries, 11-15 janvier 2004, Aussois, France.

ROBENE-SOUSTRADE I., ROUMAGNAC P., COUREAU A., PRUVOST O. 2004. Elaboration d'un outil de détection de Xanthomonas axonopodis pv. allii, agent de la bactériose de l'oignon. 6èmes Rencontres Plantes Bactéries.

ROUMAGNAC P., GAGNEVIN L., GARDAN L., SUTRA L., MANCEAU C., ROTT P., PRUVOST O., 2004. Caractérisation polyphasique des Xanthomonas isolés d'oignon, d'ail et de ciboule. 6èmes Rencontres Plantes Bactéries.

Autres congrès ou symposium :

DUYCK P.F., DAVID P., GLENAC S., QUILICI S., 2004. Peut-on identifier les espèces de mouches des fruits à potentiel invasif à l'aide de leurs traits démographiques ? Séminaire « Modélisation », 12 mars 2004.

FARREYROL K., PEARSON M.N., GRISONI M., RASSABY L., 2004. Potyviruses of vanilla: A diagnostic puzzle. European foundation for Plant Pathology Meeting, 5-10 sept 2004, Aberdeen, Scotland.

GRISONI M., BESSE P., ROUX-CUVELIER M., 2004. Un projet régional pour la caractérisation, la valorisation et la conservation des vanilliers de l'océan Indien. Congrès international du marché de la vanille, 20-21 octobre 2004, Nice, France.

GRISONI M., BARON V., 2004. La certification sanitaire : la clé pour lutter contre les viroses des vanilliers cultivés sur le mode intensif. Assises de la Recherche dans le Pacifique, 24-27 août 2004, Nouméa, Nouvelle-Calédonie.

HUMEAU L., ROUMAGNAC P., SOUSTRADE I., COUTEAU A., CHIROLEU F., HUGHES G., PRUVOST O., 2004. Spatial and temporal analysis of onion bacterial blight in seed production fields. Poster présenté à l'International Plant Disease Epidemiology Workshop, 10-15 avril 2005, Rennes.

LE BOURGEOIST., LEBRETON G. et al., 2004. Caractérisation des enherbements en culture de canne à sucre à la Réunion. 19ème Conférence Internationale du Columa, Dijon, France,

LE BOURGEOIST., JEUFFRAULT E., GRARD P., CARRARA A. 2004. A new process to identify the weeds of La Réunion Island : the AdvenRun system. 14th Australian Weeds Conference, Charles Sturt University, Wagga Wagga, Australia: 660-663.

LECUNFF L., GARSMEUR O., RABOIN L.M., GRIVET L., GLASSZMANN J.C., D'HONT A., 2004. Construction of a sugarcane BAC contig covering the target resistance gene Bru1 though exploitation of synteny with sorghum and rice. Plant and Animal Genomes XII conference San Diego.

LE ROUX, A. RICHARD, C. RIVIERE, J. PERIBE, B. COME, P. RYCKEWAERT, M. GRISONI, S. QUILICI, D. MATILE-FERRE-RO, 2004. Conchaspis angraeci Cockerell (Hemiptera, Coccoidea, Conchaspididae), a new pest on vanilla plantations in Reunion Island (Indian Ocean). X° Symposium International sur les cochenilles. Adana, Turquie, 19-28 avril.

### Rapports, documents techniques ou de vulgarisation

BEZZOU K., 2004. Analyse multivariée de la relation entre piégeages de mouches des fruits et conditions agro-climatiques à La Réunion entre 1994 et 1998. DEA de Biostatistique. Université Montpellier II, Montpellier, France.

BRUNEL C., 2004. Aspects de la compétition chez les Diptères Tephritidae : mise en évidence de phéromones de marquage. Relations entre poids des pupes et potentiel biotique. DAA Santé du Végétal, Agronomie, Economie et Environnement, INH Angers / ENIHP, 44 p.

COUSTON L., 2004. Etude de la persistance, de la dynamique et de la transmission transovarienne du TYLCV à travers son insecte vecteur Bemisia tabaci, IUP d'Agrosciences de la Faculté des Sciences d'Avignon, 30 p.

DELARRE J., GRATTEAU C., 2004. Régénération naturelle de la forêt mésotherme hygrophile des Makes - modalités de régénération des plantules selon le type de substrat, influence des trouées sur la régénération. Maîtrise, Université de la Réunion, Saint Denis, Réunion.

DUPONT R., 2004. Stimuli olfactifs et compétitivité dans l'appropriation du fruit-hôte chez les femelles de quatre espèces de Tephritidae de la Réunion. DAA Santé du Végétal, Agronomie, Economie et Environnement, INH Angers / ENIHP, 45 p.

**HIERNARD S., 2004.** Attractivité de différentes plantes hôtes sur la mouche du melon, Bactrocera cucurbitae – Coquillett) (*Diptera : Tephritidae*). DESS gestion, contrôle et conservation des populations d'insectes, 40 p.

HUMEAU L., ROUMAGNAC P., SOUSTRADE I., GAGNEVIN L., DEGAS J., JEUFFRAULT E., PRUVOST O., 2004. Une maladie émergente de l'oignon : le dépérissement bactérien causé par Xanthomonas axonopodis pv. allii. Phytoma, 573: 28-30.

JEUFFRAULT E., ROLET A., REYNAUD B., MANIKOM R., GEORGER S., TAYE T., CHIROLEU F., FOUILLAUD M., VERCAMBRE B., 2004. Vingt ans de lutte contre le ver blanc de la canne à sucre de la Réunion. Phytoma, 573: 16-19.

JUNOD G., 2004. La compétition larvaire interspécifique chez les *Tephritidae*: cas de quatre espèces de mouches des fruits de l'île de la Réunion. DAA Protection des Cultures (ENSAIA-Nancy) et DEA Sciences Agronomiques (INPL, Université de Metz), 35 p.

LAINE M-F., 2004. Caractérisation du comportement alimentaire de *Bemisia tabaci* en relation avec la résistance de la tomate au Tomato Yellow Leaf Curl Virus (TYLCV). Maîtrise de Biologie des Populations et des Ecosystèmes. Université Pierre et Marie Curie, Paris.

LE BOURGEOIS T., 2004. a - Les mauvaises herbes de la canne à sucre : une flore diversifiée comprenant 210 espèces. Caro canne 5: 22.

LE BOURGEOIS T., 2004. b - Les mauvaises herbes de la canne à sucre : l'importance agronomique des espèces. Caro canne 5: 22-23.

LE BOURGEOIS T., 2004. Projet de recherche sur la lutte biologique contre *Rubus alceifolius* à la Réunion - Etude complémentaire de *Cibdela janthina* agent potentiel de lutte biologique : rapport synthétique d'activité 2004. Cirad, Saint Pierre, Réunion, 12 p.

**LEGRAND D., 2004.** Détection moléculaire de *Xanthomonas axonopodis* pv. *allii* dans les semences d'oignon". DESS Gestion de la Biodiversité, Université Pierre et Marie Curie, Paris, 42 p.

MARIANNE D., 2004. Contribution au plan de gestion de la forêt de la rivière de l'Est. DESS Sciences et Gestion de l'Environnement Tropical, Université de la Réunion, Saint Denis, Réunion.

MICHEL J., 2004. Approche de la dynamique successionnelle forestière à la Réunion : le regroupement d'espèces en fonction de leurs caractéristiques d'installation. Mémoire de première année d'ingénieur, ENSAM Montpellier, France, 25 p.

NASSIBOU J., 2004. Contribution à la mise au point d'une méthode de multiplication *in vitro* chez les Cyathéacées. Rapport de stage de licence, Université de Montpellier II, France

**OLIVIERO A., 2004.** Etude de la diversité biochimique et génétique des Xanthomonas pathogènes de la canne à sucre à la Réunion ». BTS ANABIOTECH (Analyse Agricoles Biologiques et Biotechnologiques), Lycée Professionnel Agricole le Paraclet (Cottenchy, Somme).

PAJANIAYE P., 2004. Application du temps fréquence à l'electropénétrographie. Maîtrise de physique et application. Université de la Réunion, 31 p.

**PELLARDY N., 2004.** Recherche d'une phase Viable Non Cultivable chez *Xanthomonas axonopodis* pv. *dieffenbachiae*, agent responsable du dépérissement bactérien de l'Anthurium, IUP Productions Végétales, Université d'Angers.

**QUILICI S., 2004.** FAO-IAEA co-ordinated research project "Development of improved attractants and their integration into fruit fly SIT management programmes". Final report for phases 2 and 3, 13 p.

QUILICI S., POUSSEREAU J., VOISIN J.F., RAZAFINDRAINI-BE S., 2004. Une curieuse anomalie des pattes chez un *Cratopus humeralis* Boheman, 1834. Le Coléoptériste 7 (2): 135-136.

SAURET S., 2004. IS1595 et LMPCR (ligation-mediated polymerase chain reaction) pour le génotypage de *Xanthomonas* sp. pv. *mangiferaeindicae*. Rapport de stage de 3ème année, UTC Compiègne, France.

**TRICHET A., 2004.** Recherche d'une phase Viable Non Cultivable chez *Xanthomonas* sp. pv. *mangiferaeindicae*, agent responsable de la maladie des taches noires du manguier. IUP Productions Végétales, Université d'Angers, France