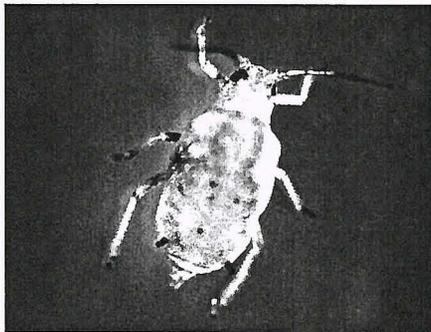




**DIPLÔME D'ÉTUDES APPROFONDIES**  
**Environnement Tropical et Valorisation de la Biodiversité**

**Maladie des feuilles jaunes de la canne à sucre :  
analyse de la dissémination du virus et  
caractérisation de cultivars résistant au vecteur.**

**Carine EDON**



**Directeurs de stage :**

*1- Daugrois J.-H.*

*Cirad CA, station de Roujol, Petit Bourg*

*2- Sauvion N.*

*INRA URPV, domaine Duclos, Petit-Bourg*



**F.E.O.G.A.**

**Soutenu le 12 juillet 2004**





## *Un grand merci...*

- *Tout d'abord au CIRAD :*

*Rosianne, merci pour les techniques et astuces que tu m'as enseigné durant ces révélations.*

*Steeve, tu as été mon bras droit lors de ces longues semaines d'échantillonnage. Ta bonne humeur nous redonnait courage quand nous ne voyions pas le bout du tunnel dans notre travail. Et Dieu sait qu'il était long ce tunnel...*

*Jean-Marie, toujours un sourire et une attention pour moi, tu pouvais effacer une matinée de travail au champs en un clin d'œil.*

*Patrice, tes conseils m'aident beaucoup, et je t'en remercie.*

*M. Daugrois, une fois de plus, tout cela je vous le dois. Cette collaboration qui dure depuis mai 2003 me fait progresser. J'espère que nous pourrons réaliser tous ces projets que vous avez pour moi. Merci de vos lumières et de votre patience, surtout ces dernières semaines.*

- *A l'INRA :*

*Albert, tu m'as tant fait rire durant ce stage. Je ne peux imaginer ce qu'auraient été mes journées sans une de tes blagues.*

*Lydia R.! J'ai toujours pu compter sur toi. M. Sauvion m'a remise entre tes mains, et tu ne m'as jamais lâchée. Tout ce dont j'ai eu besoin dans le cadre de ce travail, tu me l'as gentiment obtenu. Encore aujourd'hui, je te mets à contribution, et je sais que je peux m'appuyer sur toi. Malheureusement, je pense que ce sera notre unique collaboration, mais je ne l'oublierai pas !*

*Et toi Lydia St E., cela fait des années que nous assistons aux mêmes cours, mais c'est dans le cadre de ce DEA, que nous avons réellement fait connaissance. Tous ces repas pris ensemble à la cantine ou dans la cuisine m'ont permis de mieux te connaître.*

*M. Sauvion, j'appréhendais tous ces  $r_m$ , mais vous m'avez montré qu'un chercheur est astucieux, qu'avec très peu, nous pouvions faire beaucoup. Vous êtes inventif, et j'admire cela. Votre départ sera une grande perte pour l'URPV, mais je souhaite que nous aurons à travailler ensemble à nouveau. Merci pour cette rigueur et cette présence à chaque fois que j'avais un doute, et merci pour tous vos conseils.*

- *A vous, mes amis et ma famille :*

*Charlène, merci pour ton aide à la fin de mon stage, elle m'a été très précieuse. De toute façon, tu es une amie sur qui l'on peut compter.*

*Joël... Tu sais tout ce que je pense. Tu as été patient et compréhensif quand j'en avais le plus besoin. Tu m'as soutenue et encouragée à toujours aller plus loin. Je souhaite que tu continues à être à mes côtés comme durant toutes ces dernières années.*

*Maman, que te dire ? Tout cela, c'est grâce à toi ! Même loin de moi, tu es là. Depuis toujours tu me pousses en avant, tu m'as aidée à voler toujours plus haut. Et tout cela, c'est aussi pour toi que je le fais. Merci d'avoir sacrifié tes vacances pour m'aider lors de mes comptages et de mes empreintes.*

*Sam ! Plus qu'un frère, tu as toujours été un père pour moi... C'est aussi pour toi que je veux avancer.*

*Et toi... tu te reconnaîtras... Un merci à toi qui m'a toujours protégée. Tu étais là à tout instant, même si j'en ai souvent douté.*

*Merci à tous ceux que je n'ai pas cité, mais qui de près ou de loin m'ont aidée durant ces six mois.*

*Merci à vous tous...*



<b>Chapitre 1 : Présentation du contexte de l'étude</b>	<b>8</b>
1. La maladie de la feuille jaune	9
1.1. Physiologie et symptômes	9
1.2. Agent causal	9
1.3. Mode de transmission	11
2. Le vecteur du SCYLV	13
2.1. Systématique	13
2.2. Caractères morphologiques	13
2.3. Cycle de développement	14
2.4. Dégâts causés aux plantes hôtes	14
3. Contrôle de la maladie	15
4. Objectifs de l'étude	17
<b>Chapitre 2 : Matériels et méthodes</b>	<b>19</b>
1. Les plantes	19
2. Les insectes	19
3. Dispositif expérimental en plein champ	20
4. Détection du virus par Immuno-Empreinte	21
5. Dénombrement des pucerons	23
5.1. Présence / absence sur tous les plants	23
5.2. Quantification de population sur 40 plants	23
5.3. Quantification d'ailés	23
6. Dispositif expérimental sous serre	24
7. Biotest de 48 heures	25
8. Test du taux d'accroissement fini	25
8.1. Test $r_m$ complet sur variété témoin	27
8.2. $r_m$ simplifié sur 15 variétés	29
9. Analyse statistique des données	30
<b>Chapitre 3 : Résultats</b>	<b>31</b>
1. Dissémination du virus	31
1.1. Répartition du virus	31
1.2. Répartition du vecteur	33
1.2.1. Présence/absence sur tous les plants	33
1.2.2. Quantification de populations sur 40 plants	33
1.2.3. Quantification d'ailés	34
2. Résistance variétale	34
2.1. Antixénose	35
2.2. Antibiose	36
<b>Chapitre 4 : Discussion et perspectives</b>	<b>38</b>
1. Dissémination du virus	38
2. Résistance variétale	41
3. Perspectives	43
<b>Références bibliographiques</b>	<b>44</b>
<b>Glossaire</b>	<b>46</b>
<b>Annexes</b>	<b>48</b>



La Canne à sucre *Saccharum sp.* est l'une des plus importantes cultures agricoles du monde entier. Outre d'être un axe économique majeur, c'est aussi un acteur important dans l'histoire de l'Amérique du Sud, et des Antilles françaises. L'intérêt qui lui est porté vient certainement de sa capacité à produire et surtout à accumuler du saccharose dans sa tige. Le sucre peut être extrait pour être consommé, ou transformé en un produit très prisé, le rhum. De l'énergie peut également être obtenue à partir de la bagasse et de l'alcool.

En Guadeloupe, le sucre et le rhum sont destinés à la consommation locale, mais aussi, et principalement à l'exportation. Pour être compétitifs sur le marché européen, les produits de l'industrie locale doivent être obtenus à moindre coût.

Cependant, les rendements en canne, la production de sucre et d'alcool sont diminués par les nombreuses pathologies liées à des virus, champignons et bactéries. La plupart des maladies d'origine virale sont transmises par des insectes vecteurs. Ces derniers s'installent, se multiplient dans les champs de canne à sucre, et contaminent les produits de récolte. De plus, les tiges contaminées le restent au fil des cycles de cultures et les boutures produites à partir de ces tiges le sont également. L'infection prend donc de l'ampleur au fil du temps.

Une maladie virale récemment découverte, la maladie de la feuille jaune, crée des pertes assez considérables. Au Brésil, 20% de pertes en rendement en 1990 pour la variété SP71-6163 ont été répertoriés (Vega J. *et al*, 1997). En Louisiane, 6 à 14% de pertes en sucre. Les études de rendements à la Réunion montrent des différences de croissance entre les plants sains et les plants contaminés (Rassaby L., 2001). Différents paramètres sont affectés par l'infection : le rendement, le nombre de tiges par touffe, le diamètre et le poids de la tige, la pureté du jus, la quantité de fibres, etc.

Les facteurs de dissémination de cette maladie sont encore très mal connus. En revanche, il est établi que l'agent causal, le virus de la feuille jaune ou Sugarcane Yellow Leaf Virus se transmet par deux espèces de pucerons dont une, le puceron de la canne *Melanaphis sacchari* (Zehntner, 1897), est identifiée sur canne à sucre aux Antilles Françaises.

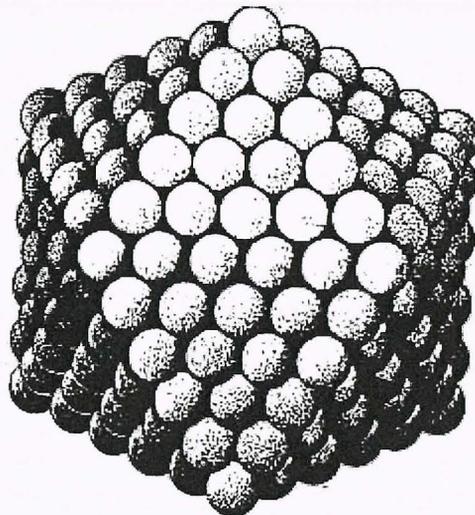
Cette maladie a été intégrée aux programmes de recherche en amélioration variétale du département des cultures annuelles du CIRAD à Petit Bourg. Ces programmes ont pour objectif la sélection de variétés de canne à sucre résistantes à des bactéries, virus ou champignons, et/ou leurs vecteurs, tout en conservant les

qualités premières de la canne à sucre telles la qualité des repousses, l'adaptation culturale et surtout le rendement en saccharose. Cultiver une plante résistante signifie pour les agriculteurs limiter les pertes financières. Pour mieux sélectionner les variétés résistantes au SCYLV, il faut mieux comprendre le cycle de la maladie, et les mécanismes de résistances des variétés de canne à sucre. Ces deux thématiques seront abordées au cours de ce stage de DEA.



**Photographie 1 : Symptômes de la maladie de la feuille jaune de la canne à sucre** (Photo de Daugrois J.H.).

La nervure centrale des feuilles de canne se décolore. La coloration varie du jaune clair au rose intense selon le degré d'infection.



**Figure 1 : représentation schématique d'un virus à structure icosaédrale**  
(d'après <http://microbio.multimania.com/virologies/généralités>)

## Chapitre 1 : **Présentation du contexte de l'étude**

### 1. **La maladie de la feuille jaune**

#### **Physiologie et symptômes**

Les premiers symptômes sont observés en 1988 à Hawaïi. Des chutes du rendement sur une variété présentant les mêmes symptômes sont constatées au Brésil en 1990. Il s'agit de jaunissement de la nervure centrale sur la face inférieure des feuilles de canne. La coloration peut également être rose (Photographie 1). Ces symptômes ne sont pas spécifiques de la maladie de la feuille jaune. Ils peuvent apparaître à la suite d'un manque d'irrigation créant un stress hydrique chez la plante, l'approche de la maturité, un déficit ou un excès en nutriments, etc. Cette décoloration apparaît donc à la suite d'un stress de diverses origines chez la plante. Il est également rapporté que les symptômes n'apparaissent pas systématiquement au début de l'infestation (Vega J. *et al*, 1997).

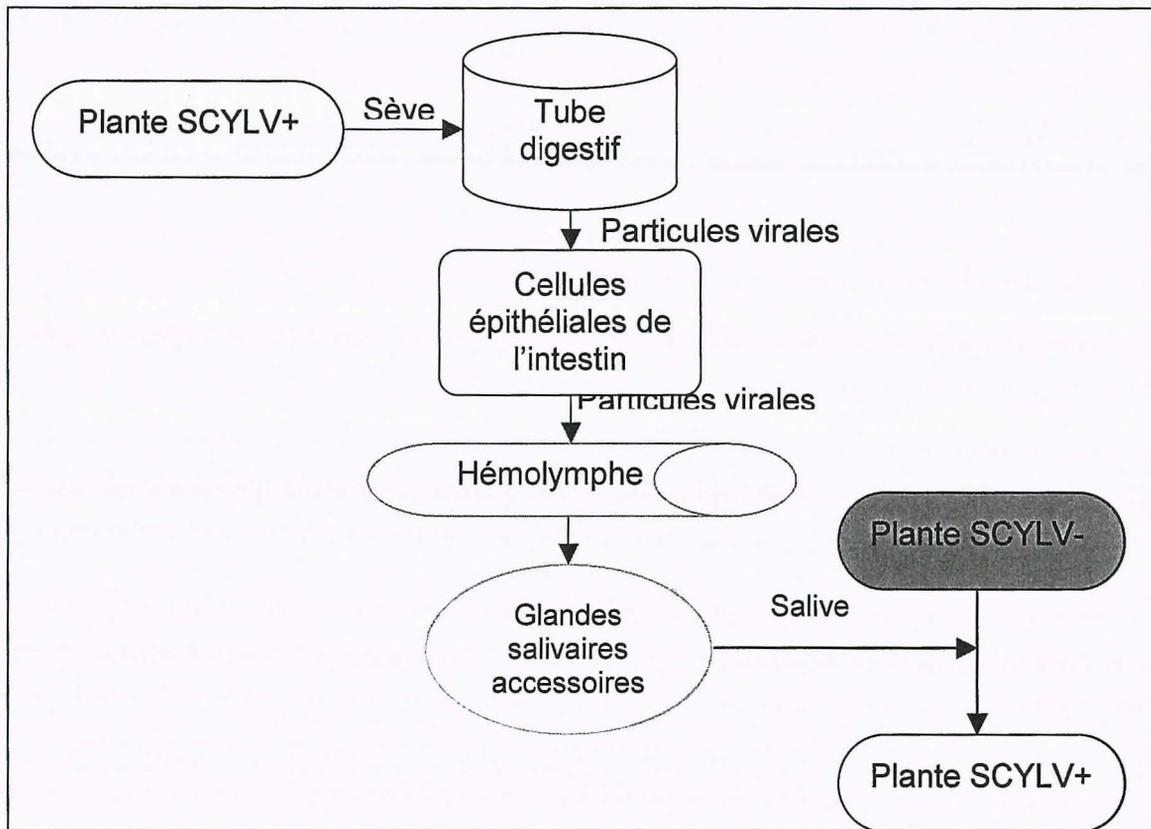
Ces symptômes sont associés à un virus, le Sugarcane Yellow Leaf Virus (SCYLV) ou virus de la feuille jaune depuis 1996.

Chez les plants diagnostiqués positifs au SCYLV, le taux d'hydrocarbures augmente significativement. Par contre, le rapport chlorophylle a/b diminue, ainsi que la photosynthèse et l'assimilation des nutriments (Rassaby L. *et al*, 2003).

#### **Agent causal**

Le SCYLV est un membre non classé de la famille des *Luteoviridae*. C'est un virus à ARN simple brin, à un seul constituant de polarité positive et de forme icosaédrale\*(Figure 1). Le génome est composé de 5898 nucléotides avec une masse moléculaire d'environ  $2.10^6$  daltons. Les particules virales sphériques ont un diamètre de 24 à 28 nm, et sont localisées dans les cellules compagnes des vaisseaux du phloème (Lockhart *et al*, 1996; Gray S. et Gildow F., 2003).

Les *Luteoviridae*, distribués dans le monde entier, comptent 19 virus classés en 3 genres : les Lutéovirus, les Poléovirus et les Enamovirus. Il s'agit des phytovirus qui causent les plus grandes pertes économiques. Ces virus s'attaquent à beaucoup d'espèces à grand intérêt économique. Les plus connus sont le concombre, la betterave, la pomme de terre, et la canne à sucre. Il est démontré que les pertes de



**Figure 2 : Schéma simplifié du mécanisme d'ingestion, d'acquisition et de transmission du SCYLV.**

Les particules ingérées lors d'une prise de nourriture dans le phloème d'une plante virosée (SCYLV+) circulent à travers le tube digestif et s'accumulent dans l'intestin moyen. Les virions sont ensuite acquis dans l'hémolymphe où ils survivent quelques jours. Ils sont transportés activement vers les glandes salivaires accessoires, puis injectés à travers le stylet lors d'une piqûre ultérieure dans le phloème d'une plante saine (SCYLV-).

rendement varie en fonction des espèces et des cultivars, et selon la physiologie de la plante hôte. Par exemple, pour le Cucurbit Aphid-Borne Yellow Virus (CABYV), 50% de pertes pour les cultures de concombre ont été répertoriées, contre seulement 15% pour le melon (Lecoq *et al.*, 1992).

### **Mode de transmission**

Le SCYLV peut être disséminé lors de la plantation de boutures obtenues à partir de cannes infectées, mais également par l'intermédiaire d'insectes vecteurs. Les virus de cette famille sont transmis essentiellement par des pucerons selon le mode circulant persistant et non multipliant \*. Les particules virales sont ingérées avec la sève lors de la prise de nourriture sur une plante infectée. Elles circulent dans le corps du puceron du tube digestif à la salive de l'insecte (Figure 2) :

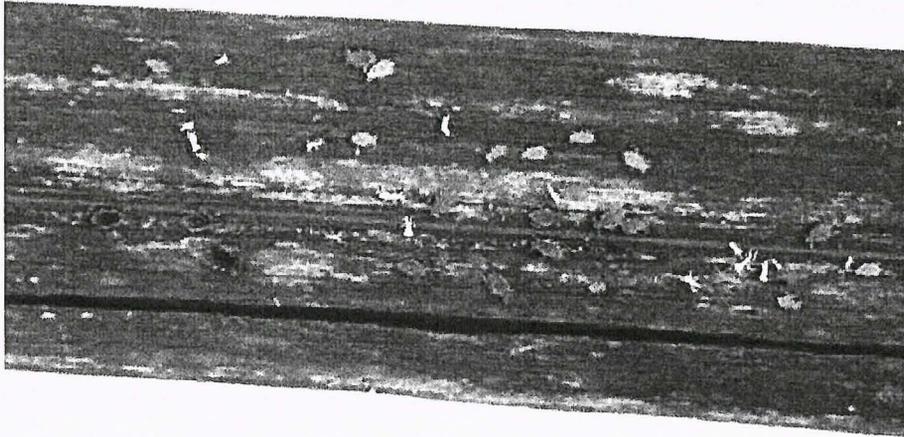
- L'ingestion dure entre 1 et 5 minutes. Cette étape n'est pas spécifique, beaucoup de virus non transmissibles par les pucerons sont ingérés puis excrétés.

- Il y a acquisition quand le virus est spécifiquement reconnu et transporté à travers les membranes des cellules de l'épithélium intestinal du puceron pour circuler ensuite dans l'hémolymphe. Les mécanismes qui entrent en jeu pour le mouvement et la survie des virions dans l'hémolymphe du puceron sont peu connus. Après quelques jours, les particules virales sont transportées passivement vers les glandes salivaires accessoires.

- La transmission a lieu quand le virus passe des glandes à la salive et est véhiculé, via le canal salivaire, vers les vaisseaux du phloème d'une autre plante.

Ces étapes se succèdent sur une durée variable, la période de latence\* allant de 24 heures à 3 ou 4 jours. Le puceron est ensuite capable de transmettre le virus lors de piqûres ultérieures, et généralement jusqu'à la fin de sa vie. Les virus transmis selon le mode persistant ne peuvent pas être transmis par voie mécanique (Gray S. et Gildow F.E., 2003).

Des études de transmission ont été menées par Schenck et Lehrer à Hawaï en 2000 avec plusieurs espèces de pucerons, dont 3 ont été identifiées aux Antilles françaises : *M. sacchari*, *Rhopalosiphum maidis* (Fitch, 1856), *Sipha flava* (Forbes, 1884). Ces tests ont montré que dans les conditions réunies à Hawaï, le puceron de la canne *M. sacchari* est un vecteur très efficace pour transmettre le SCYLV. Par contre, le puceron du maïs, *R. maidis* est un vecteur peu efficace. La transmission



**Photographie 2 : *M. sacchari* sur la face inférieure d'une feuille de canne à sucre.** (Photo de Sauvion N.)



tubercule frontal

**Photographie 3 : Forme ailée de *M. sacchari*.**  
(Photo de Daugrois J.H.)

cornicule

cauda

nervure médiane



**Photographie 4 : Forme aptère de *M. sacchari*.**

(Photo de Daugrois J.H.)

cornicule

cauda

de la maladie par le puceron jaune de la canne *S. flava* n'a pas été possible (Schenck S. et Lehrer A., 2000).

En Guadeloupe, *R. maidis* n'a pas été identifié sur la canne à sucre, par conséquent, notre étude se limitera au seul vecteur efficace présent sur la canne à sucre : *M. sacchari* (Photographie 2).

## 2. Le vecteur du SCYLV

### Systematique

La systématique du puceron *M. sacchari* est la suivante (Remaudière, 1997) :

- Famille : *Aphididae*
- Sous famille : *Aphidinae*
- Tribu : *Aphidini*
- Genre : *Melanaphis*

Selon Remaudière (1997), plusieurs autres noms d'espèce lui ont déjà été attribués : *sorghii* (Theobald, 1904), *sorghella* (Schouteden, 1906), *phidolei* (Theobald, 1916).

### Caractères morphologiques

*M. sacchari* est un puceron de couleur crème à jaunâtre de 1,1 à 2mm de long. Il existe sous forme d'aptère ou d'ailé. Ces deux formes présentent des caractéristiques communes :

- le sinus frontal\* est profondément sinué avec un tubercule frontal\* médian distinct.

- les cornicules\* sont pigmentées, contrairement à la cauda\*.

- la queue est digitiforme\*.

- Caractéristiques particulières de l'ailé (Photographie 3) :

- la nervure des ailes antérieures est bien marquée, avec à leur extrémité une petite zone triangulaire pigmentée et floue. La nervation est complète, avec la médiane bifurquée deux fois.

- l'abdomen présente des bandes transversales sombres et des sclérites marginaux\*.

- les cornicules sont droites.

- Caractéristiques particulières de l'aptère (Photographie 4) :
  - l'abdomen est dépourvu de bandes transversales.
  - la pigmentation apparaît chez les formes plus âgées, cependant, elle n'est pas obligatoire.

## **Cycle de développement**

En région tropicale, comme pour la quasi-totalité des espèces d'aphides, *M. sacchari* a un comportement anholocyclique\* et se multiplie parthénogénétiquement\* sur son hôte tout le long de l'année : les femelles ailées en s'installant sur une plante donnent naissance à des larves femelles. Celles-ci au terme de trois mues larvaires et d'une mue imaginale, deviennent des adultes aptères fécondes qui elles mêmes donneront naissance à des femelles aptères, et ainsi de suite. D'une manière générale, les périodes sèches favorisent le développement des populations aphidiennes. Lorsqu'il y a surpopulation, dépérissement ou vieillissement de la plante hôte, des femelles ailées apparaissent au sein des colonies, permettant ainsi la dissémination des pucerons vers de nouvelles plantes hôtes (Autrique A., Ntahimpera L., 1994).

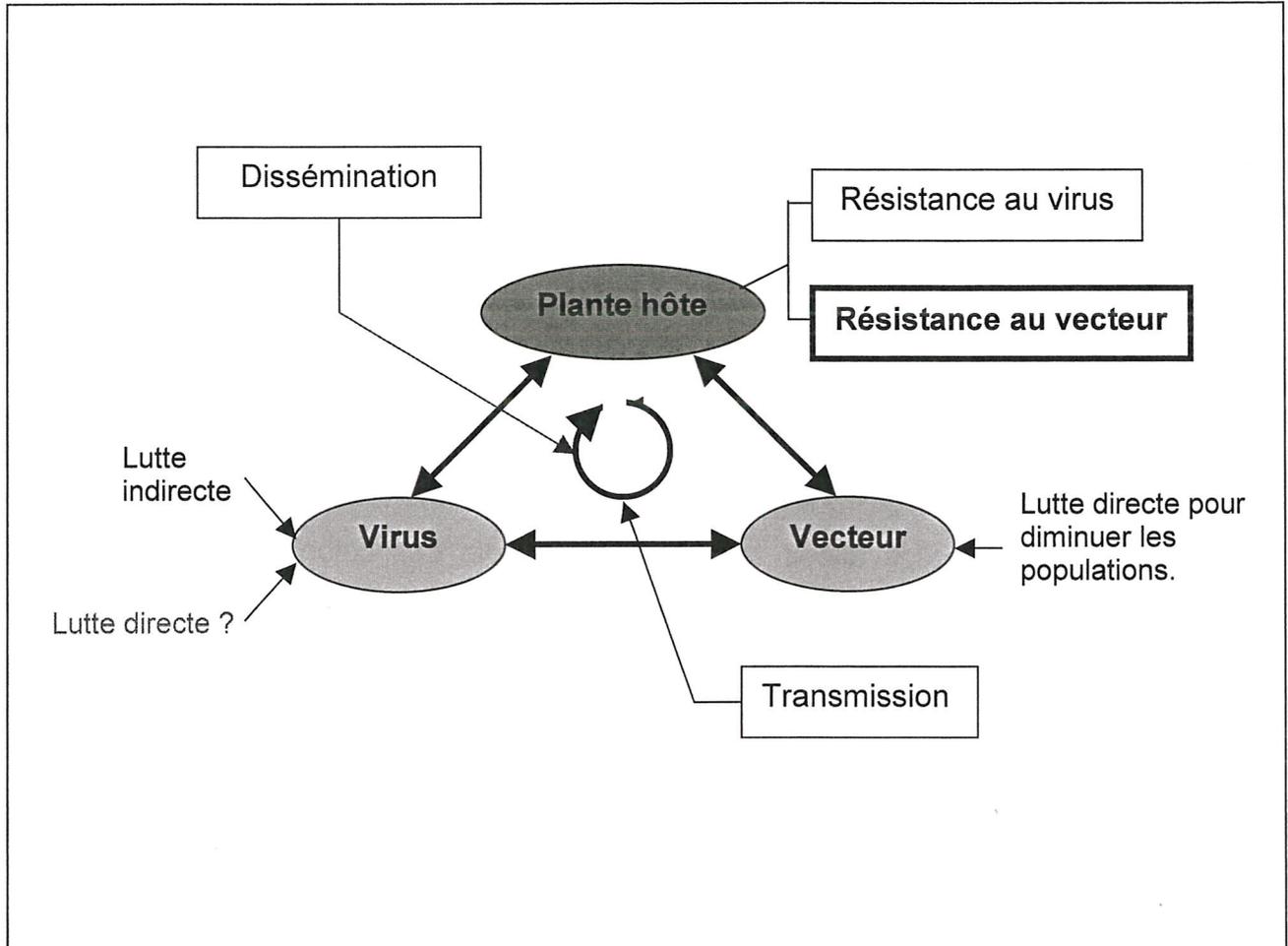
## **Dégâts causés aux plantes hôtes**

Les pucerons, insectes piqueurs suceurs, se nourrissent en prélevant et en absorbant la sève de leur hôte. Il s'ensuit lors de fortes infestations, un affaiblissement de la plante qui éventuellement se flétrit et meurt. L'action irritative des piqûres et parfois toxique de la salive peut aussi provoquer la déformation des feuilles infestées. Ces dernières s'enroulent, se crispent, et bien souvent jaunissent (Autrique A., Ntahimpera L., 1994).

Un liquide poisseux, luisant, riche en sucre est excrété par les pucerons : le miellat. Il recouvre souvent les parties aériennes des plantes fortement infestées. Très apprécié des fourmis, il constitue un milieu favorable au développement d'un champignon saprophyte\*. Celui-ci forme une pellicule noire ou fumagine\* sur les organes de la plante, ce qui gêne ses fonctions respiratoires et chlorophylliennes, et souille les produits de récolte (Autrique A., Ntahimpera L., 1994).

### 3. Contrôle de la maladie

La maladie de la feuille jaune résulte d'une interaction entre 3 partenaires : la canne à sucre, le SCYLV et *M. sacchari* son vecteur (Figure 3).



**Figure 3 : Schéma des 3 partenaires en jeu dans la maladie de la feuille jaune.**

Il n'y a pas de méthode de lutte directe contre le SCYLV, la lutte indirecte contre ce virus consiste en l'assainissement par culture de méristème. Par contre la lutte directe contre le vecteur *M.sacchari* peut s'orienter vers l'utilisation d'insecticide, de prédateurs naturels, etc. La plante hôte, la canne à sucre peut exprimer une résistance envers l'acquisition du virus ou à l'insecte vecteur lui-même. La dynamique de ce système à trois partenaires repose sur deux aspects importants : la transmission et la dissémination de cette maladie.

Actuellement, il n'y a aucun moyen pour lutter directement contre le SCYLV : le SCYLV ne peut être éliminé par thermothérapie. Par contre, il est possible d'assainir du matériel végétal contaminé par culture de méristèmes, cependant, ce

traitement est coûteux et ne rend pas la variété moins sensible à de nouvelles attaques, car le matériel sain à la plantation peut être rapidement contaminé au champ par le puceron vecteur (Fitch *et al*, 2001).

Il est possible de diminuer les populations de *M. sacchari* par la lutte chimique. Cette stratégie est cependant dangereuse pour l'environnement. De plus, elle a montré ses limites dans le cas des épidémies de SCYLV. En effet, elle ne permet pas de limiter les premières infections : le vecteur a le temps de transmettre le virus à d'autres plantes avant que la matière active n'agisse. Cette méthode est coûteuse d'un point de vue financier mais également d'un point de vue écologique.

Une autre stratégie pour contrôler la maladie de la feuille jaune serait d'agir sur les facteurs favorisant sa dissémination. Cependant ceux-ci sont encore peu connus. D'après les études menées à la Réunion (Rassaby L. 2001), les parcelles saines à la plantation sont très rapidement infectées, mais le taux d'infection se stabilise au bout de 6 mois. Les études menées au CIRAD CA en Guadeloupe en 2002 montrent que le virus est détecté 12 semaines après la plantation, mais le taux de contamination avoisinant 6% en canne plantée atteint 50% en première repousse (Daugrois J.H., rapport d'activité, 2003).

L'utilisation de variétés résistantes est une solution attrayante, car en limitant l'usage d'insecticides, elle est plus respectueuse de l'environnement. Ceci est d'autant plus intéressant que des différences variétales marquées ont été mises en évidence dans plusieurs pays. Certains cultivars présentent de forts taux d'infection par le SCYLV, comme les variétés CP72-1210 (Floride) et H65-7052 (Hawaii), et d'autres paraissent résistantes car aucun virus n'y a jamais été détecté alors qu'elles étaient cultivées à proximité d'autres variétés présentant de forts taux d'infection. C'est le cas de M1176/77 (Ile Maurice), H78-4153 (Hawaii), CP57-603 et CP89-1509 (Floride) (Schenck & Lehrer, 2000).

La résistance de la variété peut s'exprimer envers le virus et/ou le vecteur. Le SCYLV étant uniquement transmis par le puceron, l'absence de l'agent causal suggère deux hypothèses : (1) le vecteur transmet le virus mais la plante résiste à l'infection, elle exprime donc une résistance au virus et non au vecteur ; (2) la plante exprime une résistance vis à vis du vecteur lui-même. Celle-ci pourrait être du type :

- a) « barrière chimique » : une fois ingérée, la sève est plus ou moins indigeste voire même toxique. Cette toxicité a un effet sur la biologie et la physiologie de l'insecte, c'est l'**antibiose**. Elle peut se traduire par un allongement du cycle de développement, une diminution de la fécondité, une mortalité importante, etc.
- b) « barrière physique » : la constitution de la plante peut opposer des barrières mécaniques ou chimiques qui empêchent la piqûre, Ces barrières physiques se manifestent par l'**antixénose** ou **non acceptation** : même en absence d'autre alternative, l'animal refuse de s'alimenter et se reproduire sur la plante.
- c) « **tolérance** » : la plante tolère ou compense les attaques de l'insecte. Aucun retard de croissance, aucun affaiblissement, ni aucune déformation prononcée n'est constaté, ou le cas échéant, la plante récupère très vite. Cette tolérance ne favorise pas la résistance au virus.

#### 4. Objectifs de l'étude

Les connaissances limitées sur la maladie de la feuille jaune amènent de nombreuses questions de recherche.

Le SCYLV se dissémine t-il en Guadeloupe de la même façon qu'à l'île de la Réunion ? A quelle vitesse s'installe la maladie sur une parcelle expérimentale en Guadeloupe ? Est-il possible de corrélérer la répartition du virus à celle de son vecteur sur la parcelle ? La dissémination est elle liée à un apport continu d'ailés extérieurs, ou à une auto contamination par les populations se développant à l'intérieur de la parcelle ?

D'autre part, les résistances aux insectes piqueurs suceurs mises en évidence chez d'autres espèces sont elles exprimées chez la canne à sucre ? Existe-t-il des différences variétales liées à une résistance au vecteur *M. sacchari* ?

Afin de répondre à ces questions de recherche, nous avons choisi plusieurs objectifs qui se regroupent en deux grandes parties : l'étude de la dissémination du

virus à l'échelle d'une parcelle en Guadeloupe et l'étude de la résistance de plusieurs variétés face à *M. sacchari*.

- ♦ Dissémination du virus à l'étude d'une parcelle expérimentale :
  - La répartition spatio-temporelle du virus a été étudiée par un échantillonnage exhaustif de la parcelle afin de diagnostiquer la présence ou l'absence du SCYLV dans chacun des plants.
  - Le rôle du vecteur *M. sacchari* dans la répartition et la dissémination du SCYLV a été étudié en analysant sa répartition spatiale et temporelle sur la parcelle en dénombrant et en caractérisant les populations sur les pieds colonisés.
  
- ♦ Résistance variétale au vecteur :
  - Des résistances de types antixénose et antibiose ont été caractérisées par des tests de survie et de fécondité respectivement.

## Chapitre 2 : **Matériels et méthodes**

### 1. **Les plantes**

L'essai au champ a été planté avec des vitroplants de la variété SP71-6163 sensible au virus. Les plants ont été obtenus par culture de méristèmes et multiplication *in vitro*.

Pour les tests de résistance, 15 variétés de différentes origines ont été utilisées. Il s'agissait de variétés commerciales et prometteuses disponibles en culture *in vitro*. Le cultivar SP71-6163, a été utilisé comme référence. De même que pour l'essai au champ, le matériel a été obtenu par culture *in vitro* de méristèmes.

Quelque soit la destination de ces plants, essai en plein champ ou test de résistance variétale en conditions semi contrôlées, ils ont été sevrés dans un bain fongicide d'Aliète à 4g/L, puis repiqués dans une pastille « jiffy »\*. Ils ont ensuite été placés sous serre à arrosage automatique pendant 4 semaines. L'engrais constitué d'azote (N), de phosphore (P) et de potassium (K), était apporté en solution par l'arrosage.

### 2. **Les insectes**

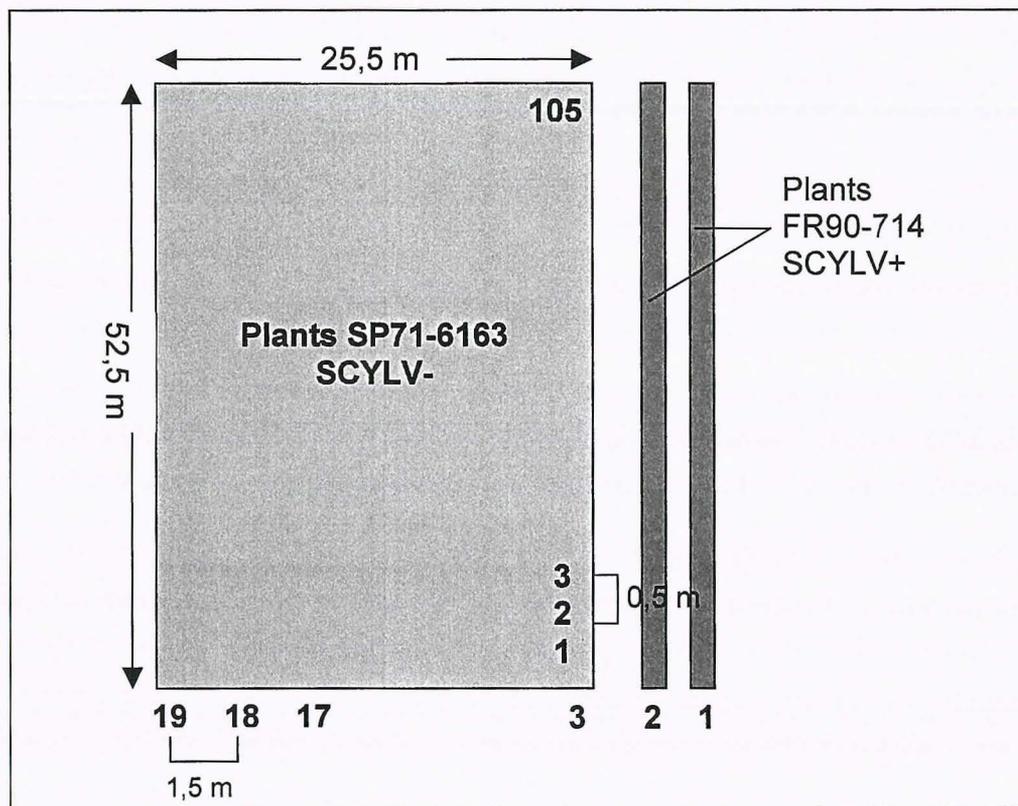
Nous disposons de pucerons de l'espèce *M. sacchari* issus de 2 prélèvements sur canne à sucre (21/11/03 et 20/01/04) pour les élevages destinés aux tests de résistance variétale.

Ces élevages sont mis en place en déposant les pucerons sur les feuilles de canne sans traitement particulier.

A l'approche d'une expérimentation, pour d'obtenir un grand nombre d'insectes de même âge, aptères de préférence, il fallait déposer des adultes en pleine phase de ponte sur un ou deux plants non encore colonisés. La quantité de pucerons à déposer était fonction du nombre désiré, connaissant le nombre moyen de larves pondues par une femelle.

La pré synchronisation consistait à mettre à pondre un lot de femelles adultes pendant 3 jours au grand maximum, puis à les enlever en conservant les larves émergées.

La synchronisation consistait à laisser ces larves se développer jusqu'à l'âge adulte de façon à obtenir des individus d'âge très proche.



**Figure 4 : Dispositif expérimental mis en place pour l'étude de la répartition spatiale du SCYLV et de son vecteur.**

La bordure est constituée de plants de la variété FR90-714 infectés par le virus de la feuille jaune (lignes 1 et 2). Le reste de la parcelle est constitué de plants la variété SP71-6163 sains au moment de la plantation (lignes 3 à 19). La parcelle fait 52,5×25,5m<sup>2</sup>, avec 1,5m d'espacement entre les lignes et 0,5m entre 2 plants d'une même ligne. Le nombre de plants par ligne varie de 95 à 105.

### 3. Dispositif expérimental en plein champ

L'essai fut mis en place le 03 décembre 2003, avant le début du stage, au lieu dit Saint Jean sur la commune de Petit-Bourg. Les plants ont été mis en terre par une planteuse mécanique, à raison de 0,5 m entre plants d'une même ligne, et 1,5 m entre les lignes, soient environ 1328 m<sup>2</sup>. La parcelle comptait 17 lignes de 95 à 105 pieds, soient au total 1745 plants. Sur la face nord du champ, deux lignes de bordures ont été plantées avec des boutures obtenues à partir de tiges de la variété FR90-714 infectées par le SCYLV (Figure 4).

La parcelle a été traitée un mois après plantation à l'herbicide : Azulox 40 à 25 mL/L et Lertrol DS à 9.4 mL/L, 16 litres ont été nécessaires pour l'ensemble de la parcelle. Deux mois après plantation, elle a été traitée au pré-émergent Prowl à 5 L/ha et au dés herbant anti-aicot Lertrol à 1,5 L/ha.

### 4. Détection du virus par Immuno-empreinte

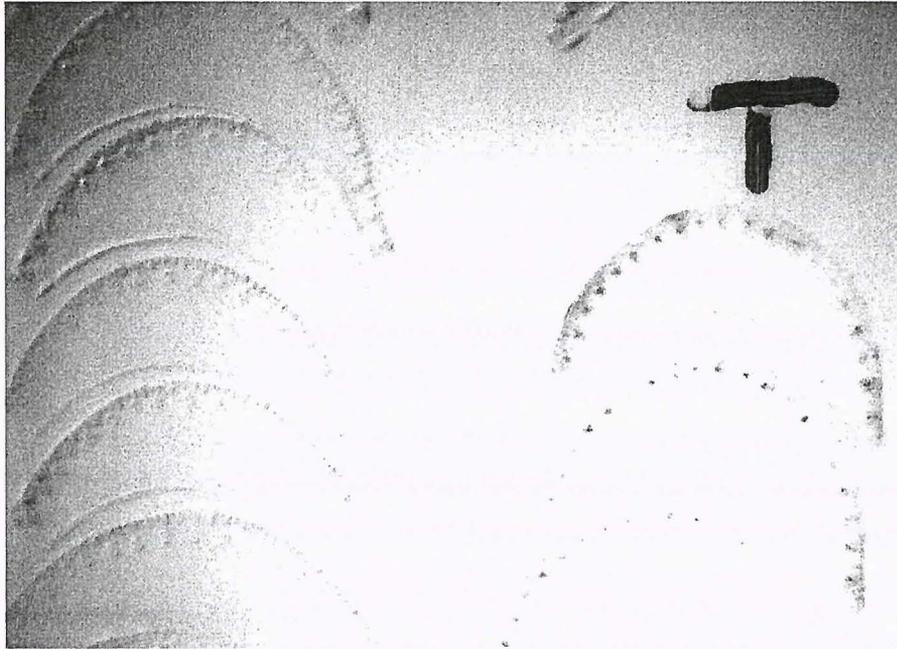
Une fois par mois, chaque mois après plantation, la première feuille à ochréa visible a été prélevée sur une tige par plant, en vue de déterminer la présence ou l'absence du SCYLV dans chacun des 1745 pieds de la parcelle. La présence du virus a été détectée par la suite par Immuno-empreinte.

Lors des premiers échantillonnages, certaines plantes, dont les tissus foliaires n'étaient pas assez rigides, n'ont pu être utilisées pour la réalisation de l'Immuno-empreinte (I-E).

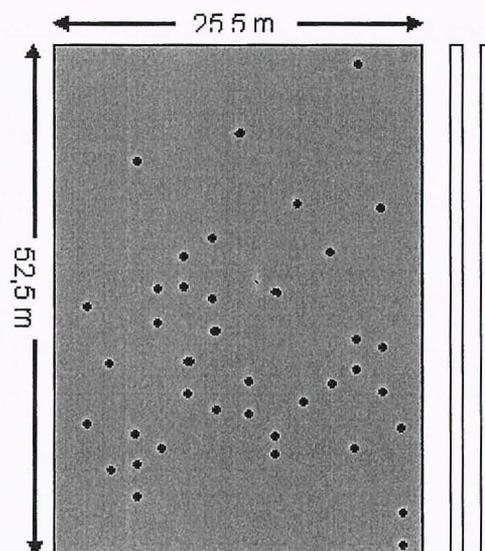
Les empreintes sur feuille de nitrocellulose ont été réalisées en ôtant le limbe puis en faisant une section nette de la nervure du côté de la base de la feuille, à l'aide d'un « coupe-tuyau ».

La révélation des empreintes a été faite selon le protocole utilisé pour le DOT BLOT (Fiche protocole en annexe).

- Principe : Le virus étant localisé dans les vaisseaux du phloème, lors de l'impression, il a été transféré sur la membrane NC. Sa présence a été détectée par une double réaction immunologique. Le 1<sup>er</sup> Anticorps (Ac), anti-SCYLV de chèvre, était dirigé contre le virus. Le 2<sup>ème</sup> Ac, conjugué phosphatase alcaline anti-globuline de lapin, était dirigé contre le 1<sup>er</sup>, et lié à une enzyme. La réaction a été révélée en ajoutant le substrat de l'enzyme. Ce substrat était composé d'un mélange de Nitro-



**Photographie 5 : Empreintes de nervure centrale de feuilles de canne à sucre.** Les impressions sont faites sur membrane de nylon et diagnostiquées par Immuno-Empreinte. A droite, les empreintes de la variété témoin (T) contaminée par le SCYLV. La présence du virus est visible par des taches bleu foncé caractéristiques.



**Figure 5 : Localisation des 40 pieds de canne ayant permis de suivre le développement de populations de pucerons.**

blue-tétrazilium (NTB) et de 5bromo-4chloro-3indolyphosphate (BCIP). Sur la membrane NC, le complexe Ag-Ac était visible à la loupe binoculaire, par une coloration bleue foncée des vaisseaux du phloème contaminés (photographie 5).

## 5. Dénombrement des pucerons

### Présence / absence sur tous les plants

Nous avons dénombré qualitativement la présence ou l'absence (notée 1 ou 0 respectivement) de pucerons sur la parcelle une fois par mois après plantation. Pour qu'il y ait présence, au moins un puceron adulte, aptère ou ailé, ou une larve devaient être visible sur l'ensemble du plant.

### Quantification de population sur 40 plants

Dès les premières données de présence/absence de *M. sacchari* sur la parcelle, parmi les pieds déjà colonisés, nous en avons choisis 40 afin d'y quantifier les populations. Le choix a été fait au champ : pour chaque ligne, 2 à 4 plants sont pris au hasard (Figure 5).

Nous avons effectué les comptages environ tous les 15 jours.

Pour évaluer les colonies supérieures à 150 individus, nous avons compté une petite surface, puis estimé le nombre de fois où cette surface se répète sur l'ensemble de la colonie. Par contre, nous avons dénombré précisément les colonies inférieures à 150 individus.

### Quantification d'ailés

Afin de piéger des pucerons ailés, nous avons disposé des pièges autour de la parcelle (2 par bordures). Ces pièges étaient posés toutes les trois semaines environ et restaient au champ durant 72 heures. Ce sont des feuilles engluées double face, de couleur jaune, fixées par des attaches à deux piquets, à hauteur des feuilles du pied de canne. Après les avoir retirés du champ, nous les recouvrons de transparents plastiques afin de protéger de la glue. Les ailés de *M. sacchari* sont ensuite identifiés à la loupe binoculaire, à l'aide des caractères distinctifs de l'ailé dont nous disposions (voir paragraphe 2.2).



**Photographie 6 : Cages « insect proof » contenant les plants destinés aux élevages de *M. sacchari* (Photo de Sauvion N.).**

variétés	origine
<b>série 1</b>	
B69-566	Barbade
B80-689	Barbade
B82-139	Barbade
FR91-699	Guadeloupe
R570	Réunion
<b>série 2</b>	
B47-258	Barbade
B59-92	Barbade
B69-379	Barbade
B80-08	Barbade
FR91-486	Guadeloupe
<b>série 3</b>	
B51-129	Barbade
CO64-15	Inde
FR83-2034	Guadeloupe
FR90-840	Guadeloupe
R579	Réunion
<b>variété référence</b>	
SP71-6163	Brésil

**Tableau 1 : Liste des 15 variétés utilisées pour les tests de résistance.** Les variétés sont organisées arbitrairement en 3 séries de 5. La variété référence SP71-6163 est testée à chaque série. Les 15 variétés ont été testées au moins une fois au cours de ces trois séries. Les variétés B80-689 et R570 ont été testées deux fois pour l'effet antibiose.

## 6. Dispositif expérimental sous serre

Les tests de résistance variétale sont réalisés sous serre en conditions semi-contrôlées : la serre est constituée d'un grillage et équipée d'une ombrière. Après le sevrage et 4 semaines sous serre, nous avons mis en pot les vitroplants dans un mélange de terre tamisée (2/3) et de pouzzolane\*(1/3).

Nous avons disposé les plants de la variété SP71-6163 réservés aux élevages de *M. sacchari* dans des cages « insect proof » (Photographie 6) afin d'être sûrs de l'origine de nos larves.

Pour le biotest, nous laissons les plants à l'air libre à l'intérieur de la serre.

Nous avons cherché à mettre en évidence chez 15 variétés en cours de sélection les résistances de type antixénose et antibiose.

## 7. Biotest de 48 heures

La résistance de type antixénose a été quantifiée par le biotest dit de « 48 heures ». Ce test a consisté à déposer 10 jeunes aptères sur une même feuille d'un plant de canne à sucre. Le nombre d'insectes restant sur le plant a été dénombré 48 heures plus tard.

Les 15 variétés ont été testées au cours de 3 séries échelonnées dans le temps (tableau 1). A chaque série, 5 variétés ont été étudiées. La variété témoin a été testée dans les 3 séries. Quatre à dix plants par variété ont ainsi été analysés. Le nombre de répétitions dépendait du nombre de plants disponibles après le sevrage.

## 8. Test du taux d'accroissement fini

Le taux de croissance des populations de *M. sacchari* sur différentes variétés de canne à sucre a été étudié en estimant un paramètre démographique « classiquement » utilisé par les entomologistes : le taux intrinsèque d'accroissement naturel des populations ou indice «  $r_m$  ».

Cet indice prend en compte pour un adulte, les paramètres suivants :

- ♦ durée du cycle de développement larvaire
- ♦ fécondité : nombre de larves pondues par jour
- ♦ survie.

Ce taux d'accroissement naturel  $r_m$  a été introduit par Lotka en 1907.

Dans le cas d'une population à croissance exponentielle :

$$\frac{dN_t}{dt} = r_m \cdot N_t$$

où  $r$  = taux d'accroissement naturel

et  $N_t$  = population au temps  $t$

En résolvant l'équation différentielle :

$$N_t = N_0 \cdot e^{r_m t}$$

Une population dont la fécondité et la mortalité sont constantes pour chaque classe d'âge, permet d'obtenir une distribution stable par âge.  $r$  peut alors être calculé à partir de l'équation suivante :

$$\int_0^{\infty} e^{-rx} l_x \cdot m_x \cdot dx = 1$$

où  $l_x$  est la proportion d'individus d'âge  $x$ , ou probabilité de survie au jour  $x$

$m_x$ , le nombre de descendants femelles par femelle au jour  $x$

$r_m$ , le nombre de femelles / femelle / jour, avec  $0 < r < 1$

A partir de cette équation, 3 principales méthodes de calcul du taux d'accroissement fini, avec ou sans modélisation, ont été proposées. L'approximation de Birch (1948), la modélisation de Lewontin (1965) et la simplification de White et Wyatt (1977). Parmi ces trois méthodes, nous en avons utilisé deux pour comparer la résistance des différentes variétés face à *M. sacchari*.

- Approximation de Birch (1948)

Birch propose une approximation discrétisée, simple et rapide, de la formule précédente, valable uniquement pour de petites valeurs de  $r_m$  :

$$\sum e^{-r_m x} l_x \cdot m_x = 1$$

Il s'agit d'additionner tous les groupes d'âge pour lesquels  $m_x$ , le nombre de descendants femelles par femelle est strictement positif. Pour obtenir une valeur de

$r_m$  de sorte que cette équation tende vers 1, il faut les données  $l_x$  et  $m_x$  et procéder par itérations successives.

- $r_m$  simplifié selon Wyatt et White (1977)

A partir de l'équation discrète de Birch (1948), bien qu'en connaissant le temps de pré reproduction, le taux de survie, la fécondité d'une femelle au jour  $x$ , le calcul du  $r_m$  est laborieux. Ceci est vrai, même pour les aphides qui ont une durée de vie courte par rapport à d'autres insectes. En 1977, Wyatt et White propose une méthode simplifiée permettant de calculer le  $r_m$ .

La simplification repose sur les résultats d'une étude menée par Deloach (1974) : les larves produites durant les premiers jours de reproduction contribuent à 95% du  $r_m$ . Par la suite, la contribution au  $r_m$  diminue fortement.

Selon Wyatt et White, le taux d'accroissement ou paramètre de Malthus peut être calculé par la formule suivante :

$$r_m = 0,738 \cdot \frac{\text{Ln}(M_d)}{d}$$

avec  $d$  la durée de développement larvaire.

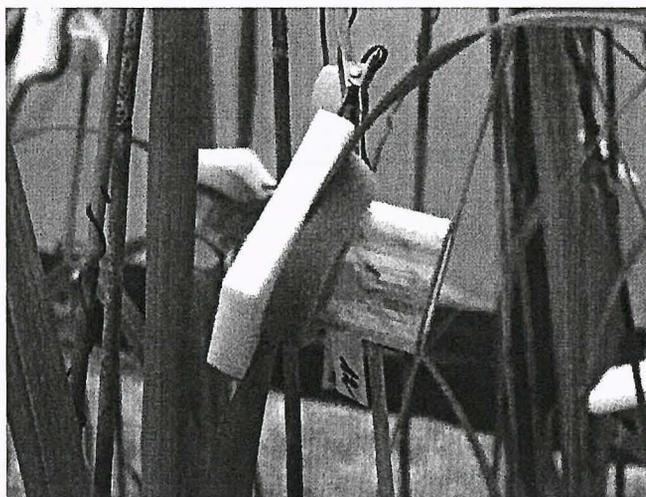
et  $Md$  le nombre de larves pondues pendant une durée égale à  $2d$ .

Le coefficient de corrélation entre des données calculées par la méthode de Birch et par celle Wyatt et White est 0.995. Ce  $r_m$  simplifié semble convenir à différentes espèces d'aphides, et pour des conditions environnementales très différentes (Wyatt et White, 1977).

Etant donné que nous ne disposons d'aucune donnée concernant le taux d'accroissement pour l'espèce *M. sacchari* sur la variété référence SP71-6163, nous avons procédé à un test préliminaire.

### 8.1. Test $r_m$ complet sur variété témoin

Le paramètre  $r_m$  des populations de *M. sacchari* sur la variété témoin SP71-6163 a été déterminé par la méthode de Birch (1948). Au jour  $J_0$ , 30 femelles adultes, à raison de 2 par plant ont été déposées sur la variété SP71-6163. Les



**Photographie 7 : « clip cage » posée sur une feuille de canne à sucre (Photo de Sauvion N.)**



**Photographie 8 : Disposition des plants lors des test d'antibiose sous serre (photo de Sauvion N.).**

insectes étaient isolés dans des « clip cages » à la face inférieure des feuilles (Photographie 7).

Dès la première ponte, l'adulte a été ôté de la cage. Les larves se sont développées jusqu'au 8<sup>ème</sup> jour, où une seule jeune femelle a été conservée, afin de calculer son indice  $r_m$  sur la variété. Le nombre de pontes par femelle est relevé quotidiennement jusqu'à ce qu'il n'y en ait plus.

## 8.2. $r_m$ simplifié sur 15 variétés

Les indices  $r_m$  des populations de *M. sacchari* sur les 15 variétés ont été calculés par la méthode de Wyatt et White (1977) à partir du nombre moyen de larves pondues durant une durée équivalente au temps de développement larvaire.

Les mêmes plants utilisés pour le biotest de 48 heures sont conservés pour ce test. De même que pour le test complet, les femelles sont disposées dans les « clip cages ». 2 à 3 cages sont installées sur chaque plant (Photographie 8). Chaque cage est infestée (jour  $j_{+1}$ ) de 2 larves émergées au maximum 24 heures auparavant. Sept jours plus tard (jour  $J_{+8}$ ), une des deux femelles est ôtée de la cage. Les pontes de la femelle conservées sont comptées durant une durée égale au nombre de jours avant la première ponte.

Par exemple, pour chaque variété deux  $r_m$  ont été estimés :

- ♦ **le paramètre  $r_{\text{population}}$**  : ce  $r_m$  est calculé sur l'ensemble de la population. L'indice des pucerons dont la durée de vie est supérieure à  $d+1$  jour est calculé selon la formule simplifiée de Wyatt et White. Celui des individus dont la durée de vie est inférieure à  $d+1$  jour est posé égal à 0. Pour obtenir le  $r_{\text{population}}$ , nous avons fait la moyenne des  $r_m$  individuels par variété.
- ♦ **le paramètre  $r_{\text{survivants}}$**  : cet indice est obtenu en calculant les  $r_m$  individuels des pucerons dont la durée de vie est supérieure à  $d+1$  jour, puis en faisant la moyenne par variété.

## 9. Analyse statistique des données

La répartition spatiale du SCYLV et du puceron *M. sacchari* a été analysée à l'échelle de la parcelle pour chaque date d'échantillonnage en utilisant le formalisme des processus ponctuels. Comme nous disposons d'une carte exhaustive du domaine d'étude (i.e. un positionnement dans l'espace de chaque point d'échantillonnage), nous avons pu mettre en œuvre la **méthode de Ripley** (1977), qui présente l'avantage de décrire la structure spatiale d'un semis de points à plusieurs échelles simultanément (i.e. à différentes distances entre points). Les calculs ont été effectués sous l'hypothèse nulle que les semis de points étudiés correspondaient à des processus de Poisson, c'est à dire des processus homogènes\* et isotropes\* pour lesquels la disposition des points était complètement aléatoire (la probabilité de présence d'un point à une position donnée est indépendante de la position des autres points du processus). Nous avons considéré qu'un processus était agrégé, pour une distance entre voisins donnée, lorsque les points avaient en moyenne plus de voisins que pour l'hypothèse nulle. L'ensemble de ces calculs a été effectué avec le logiciel *ADS in ADE-4* (Goreaud et Pélissier, 2000).

Les données d'ailés de *M. sacchari* obtenues par piégeage et les moyennes des tests d'antixénose et antibiose ont été traitées par analyse de variance sous le Modèle Linéaire Généralisé (MLG) du logiciel SAS 8.0, puis les variétés ont été comparées au témoin par comparaison des moyennes à l'aide du le test de Student ou test t.

- L'**analyse de variance** est basée sur la statistique de Fisher qui quantifie l'influence d'un facteur donné les moyennes. Le logiciel détermine la statistique de Fisher notée F et la probabilité critique notée P pour laquelle le paramètre considéré a une influence significative sur les moyennes.

- Le **test de Student** est basé sur l'hypothèse nulle d'égalité entre les moyennes. Le logiciel calcule la probabilité critique P que les moyennes soient égales deux à deux.

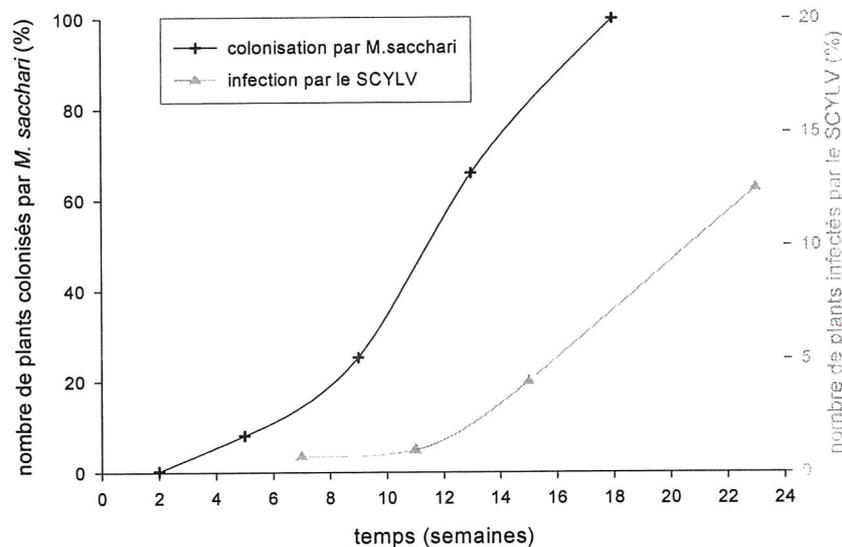
## Chapitre 3 : Résultats

### 1. Dissémination du virus

#### 1.1. Répartition du virus

Le diagnostic de la présence du virus a été réalisé par Immuno-empreinte puis révélé par DOT BLOT.

Le premier diagnostic a été fait 7 semaines après plantation, à cette date, 0,70% des plants échantillonnés étaient infectés par le SCYLV. A 11 et 15 semaines, respectivement 0,98% et 4% de plants étaient infectés. En semaine 19 après plantation, 12,8% de la parcelle était infectée par le SCYLV (Figure 6).



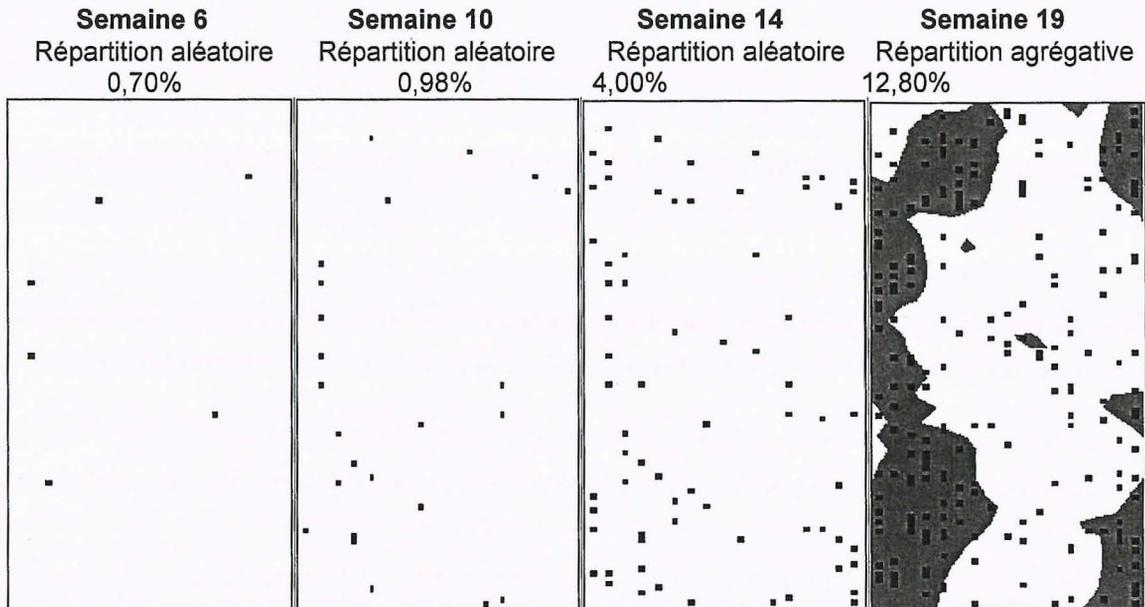
**Figure 6 :** Pourcentage de plants infectés par le SCYLV et pourcentage de plants colonisés par *M. sacchari*, vecteur du SCYLV.

Il faut noter que les plants étant jeunes, aux semaines 7 et 11, le nombre de plants échantillonnés représentaient respectivement 50 et 85,6% de la parcelle.

En semaine 19, la répartition du SCYLV sur la parcelle montre trois zones d'agrégats de plants infectés. La première sur la face sud du champ, et les deux

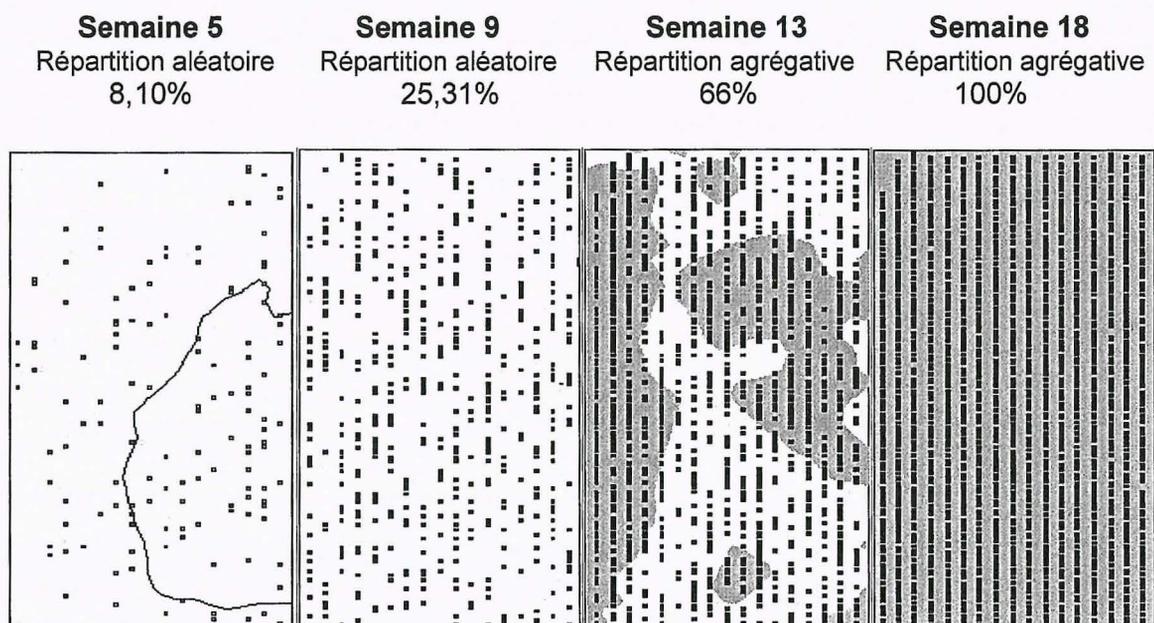
**Figure 7 : Répartition spatiale du SCYLV à l'échelle d'une parcelle de canne à sucre de 25,5 x 52,5 m à quatre dates données après la plantation.**

Les pourcentages représentent le nombre de plants de la parcelle contaminés par le SCYLV. Les points représentent les pieds contaminés. En rouge, les zones où la répartition est agrégative.



**Figure 15 : Répartition spatiale de *M. sacchari* à l'échelle d'une parcelle de canne à sucre de 25,5 x 52,5 m à quatre dates données après la plantation.**

Les pourcentages représentent le nombre de plants de la parcelle colonisés par *M. sacchari*. Les points représentent les pieds colonisés. En bleu, les zones où la répartition est agrégative.



autres moins importantes sur les coins nord-ouest et sud-ouest (figure 7).

## 1.2. Répartition du vecteur

### 1.2.1. Présence/absence sur tous les plants

La colonisation des plants de la parcelle a été observée exhaustivement par des données de présence/absence.

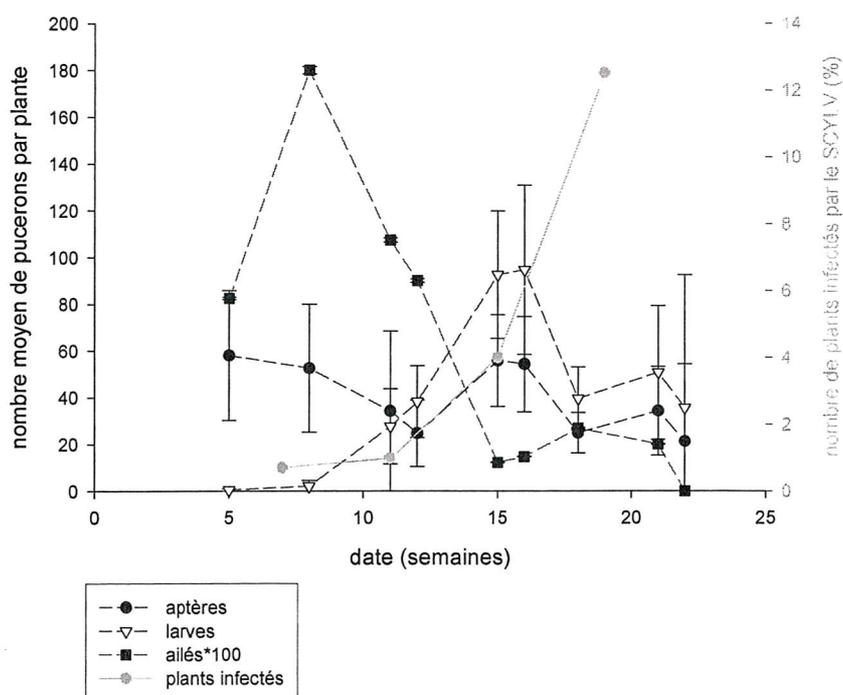
Deux semaines après plantation, 0,36% des plants abritaient l'espèce *M. sacchari*. Par la suite, le pourcentage de plants colonisés s'élevait à 8,10%, 25,31%, 66% et 100% respectivement aux semaines 5, 9, 13 et 18 après la plantation.

En 18 semaines, tous les pieds de la parcelle avaient donc été colonisés par au moins un individu de l'espèce *M. sacchari*.

L'étude de la répartition spatiale du puceron montre en semaine 13, deux agrégats importants sur les faces sud et nord de la parcelle, ainsi que 3 petits agrégats à l'est, à l'ouest et au nord-est (figure 8).

### 1.2.2. Quantification de populations sur 40 plants

Les populations de *M. sacchari* ont été comptées sur 40 pieds colonisés pris au hasard sur la parcelle. Nous avons dissocié les adultes ailés, les adultes aptères et les larves jeunes ou L1 dans les comptages. Le nombre moyen d'ailés a été multiplié par 100 (figure 9).



**Figure 9 :** nombre moyen de pucerons sur 40 plants de référence de la parcelle expérimentale, et pourcentage de plants infectés par le virus. Les barres représentent les erreurs standard. Le nombre d'ailés a été multiplié par 100 pour que la courbe soit plus visible. Lors des comptages, la distinction est faite entre les larves du 1<sup>er</sup> stade, les adultes aptères et les ailés. En gris, le pourcentage de plants échantillonnés diagnostiqués positifs au SCYLV.

En semaine 8 une augmentation des ailés à l'intérieur de la parcelle est constaté. Quatre semaines plus tard, le nombre d'aptères et de larves augmente également. Entre les semaines 8 et 15, la population d'ailés diminue et reste faible par la suite. En semaine 18, les populations d'aptères et de larves diminuent également.

### 1.2.3. Quantification d'ailés

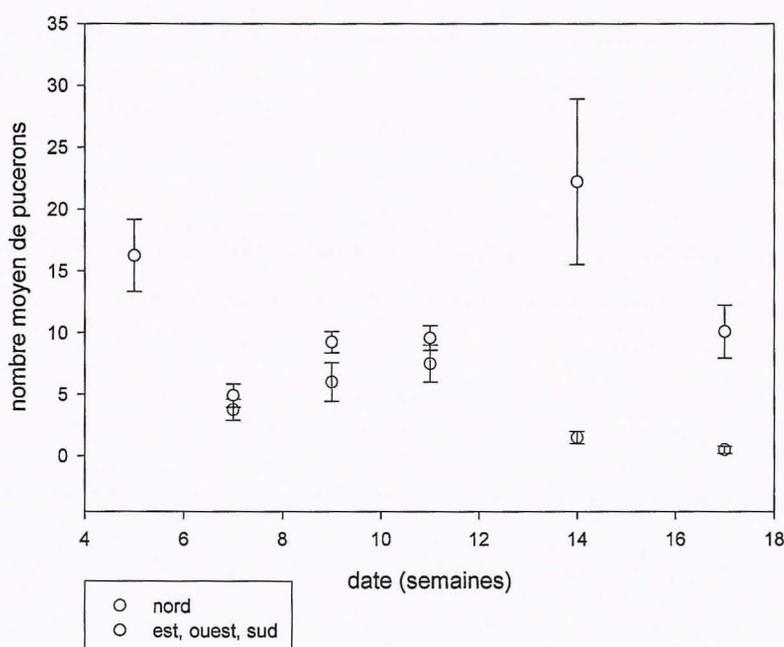
Les ailés de *M. sacchari* ont été observés par piégeage.

Les moyennes des pucerons sur l'ensemble des pièges varient entre 4,92 et 22,00 pucerons pour les zones est sud et ouest, et entre 0,50 et 7,50 pour les pièges situés sur la face nord.

Aux semaines 5 et 14 après plantation, pour les zones est sud et ouest, deux pics d'importance différentes sont notés, soient 16,25 et 22,00.

Sur les pièges, les populations d'ailés ont varié en fonction des semaines ( $F=18,50$  ;  $P<0,000$ ), nous avons également noté un effet de la localisation des pièges ( $F=8,66$  ;  $P=0,007$ ) au seuil 5%.

Nous avons notamment observé une forte augmentation des ailées en pourtour de la parcelle (est, ouest, sud) alors qu'entre la bordure et la première ligne de SP71-6163 (nord), les populations diminuent (Figure 10).



**Figure 10 : nombre moyen de pucerons sur les pièges situés à l'est, ouest, et au sud et au nord.**

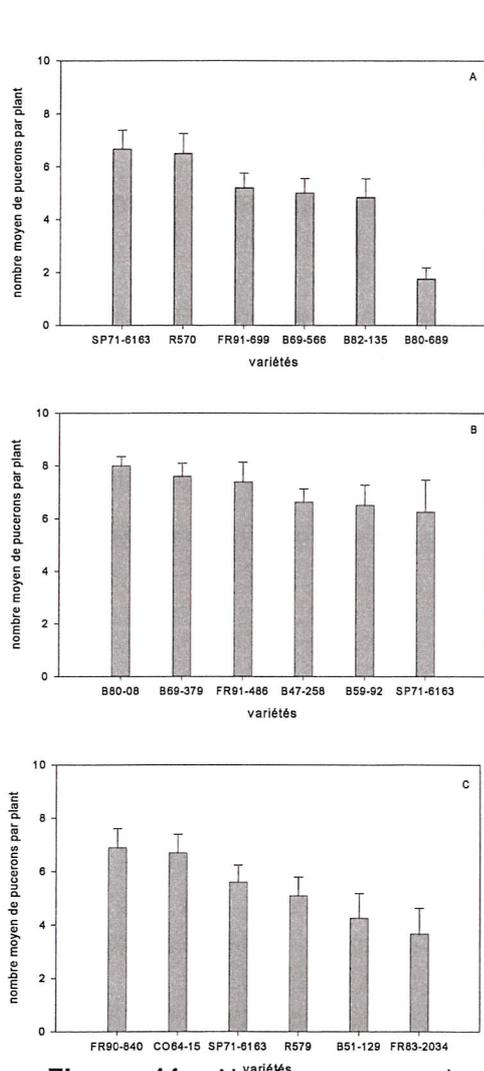
Les pièges posés au nord sont entre la bordure et la première ligne de la variété SP71-6163. Les pièges situés sur les zones est, ouest et sud sont à l'extérieur de la parcelle.

## 2. Résistance variétale

### 2.1. Antixénose

La résistance de type antixénose face à *M. sacchari* a été évaluée par le biotest dit de « 48 heures ». Les 15 variétés sont organisées en 3 groupes ou séries de 5 variétés plus le témoin.

Les moyennes de pucerons retrouvés après 48 heures sont soumises à l'analyse de variance sous la procédure MLG et à un test de Student.



**Figure 11 :** Nombre moyen de pucerons survivants après 48 heures sur 16 variétés de canne à sucre.

Les barres représentent les erreurs standard.

A : série 1 ; B : série 2 ; C : série 3.

#### ♦ Série 1

La figure 11.A représente le nombre moyen de pucerons retrouvés après 48 heures sur chacune des variétés de la 1<sup>ère</sup> série.

Après 48 heures, 6,67 et 6,5 pucerons en moyenne par plant ont été retrouvés sur la variété témoin SP71-6163 et sur R570 respectivement. FR91-699, B69-566 et B82-135 ont des résultats très proches : 5,2 ; 5,0 et 4,83. B80-689 compte 1,75 pucerons en moyenne après 48 heures.

Le nombre moyen de pucerons retrouvé est fonction de la variété au seuil 5% ( $F=6,97$  et  $P<0,000$ ). La variété B80-689 est significativement différente de la SP71-6163 ( $P<0,000$ ).

#### ♦ Série 2

La figure 11.B représente le nombre moyen de pucerons retrouvés après 48 heures sur chacune des variétés de la 2<sup>ème</sup> série.

Pour cette série, toutes les variétés ont un nombre de survivants supérieur à celui de la SP71-6163. 8,0 pour B80-08 ; 7,6 pour B69-379 ; 7,4 pour FR91-486 ; 6,6 pour B47-250 et 6,5 pour B59-92.

Le nombre moyen de pucerons survivants après 48 heures ne dépend pas de la variété au seuil 5% ( $F=0,79$  et  $P=0,561$ ).

#### ♦ Série 3

La figure 11.C représente le nombre moyen de pucerons retrouvés après 48 heures sur chacune des variétés de la 3<sup>ème</sup> série.

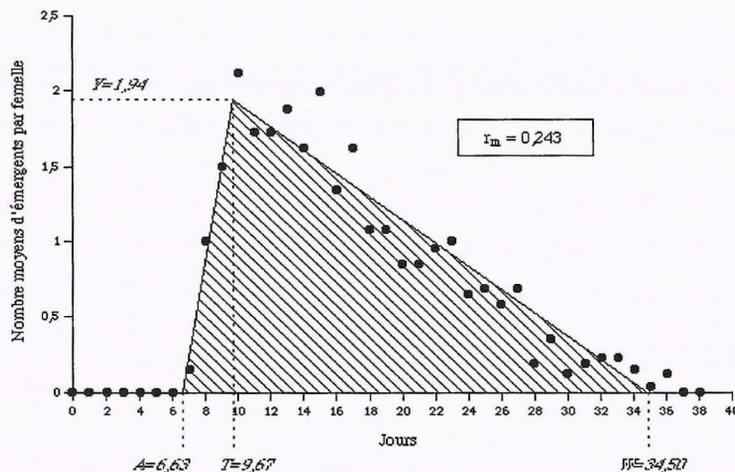
Sur la variété référence SP71-6163, 5,6

pucerons en moyenne ont été retrouvés après 48 heures. Le nombre de survivants au terme du biotest sur FR90-840 et CO64-15 est supérieur à celui du témoin, soient respectivement 6,9 et 6,7, contrairement à R579 : 5,1 ; B51-129 : 4,25 et 3,67 pour FR83-2034.

La variété influence le nombre moyen de pucerons retrouvés au seuil 5% ( $F=2,51$  et  $P<0,042$ ), aucune différence significative au seuil 5% n'est révélée entre les variétés et le témoin.

## 2.2. Antibiose

Le test préliminaire sur la variété témoin a permis de déterminer la durée du développement larvaire, le nombre de larves pondues par jour, la durée de la période de reproduction et la durée de vie de *M. sacchari*. Le  $r_m=0,248$  a été calculé selon la méthode de Birch par itérations successives (figure 12)



**Figure 12 :** Courbe d'émergence de *M. sacchari* sur la variété SP71-6163 modélisée selon le triangle de Lewontin (1965).  
 A=âge à la première ponte ; T=âge au maximum de pontes ; W=âge à la dernière ponte ; Y=fécondité en fonction de l'âge

La résistance de type antibiose a été quantifiée par le calcul du taux intrinsèque d'accroissement des populations de *M. sacchari* sur le témoin et les 15 variétés.

Nous rappelons que le  $r_m$  a été calculé :

- en tenant compte de tous les individus ayant commencé l'expérience. Pour les insectes morts avant la 1<sup>ère</sup> ponte ou le jour de la 1<sup>ère</sup> ponte, nous avons posé  $r_m=0$  afin de tenir compte de leur contribution négative à l'accroissement de la population.

- en prenant en compte uniquement les individus ayant survécu au-delà du 1<sup>er</sup> jour de ponte.

Nous avons choisi de classer les variétés par ordre décroissant des  $r_m$  calculés sur l'ensemble de la population.

Les valeurs de  $r_m$  des 3 séries et pour les 2 méthodes sont récapitulées dans le tableau 2 en annexes.

Seules les moyennes des  $r_m$  calculées sur l'ensemble des individus sont soumises à l'analyse de variance et à un test de Student. Les résultats des analyses sont résumés dans la fiche « tests statistiques sur la procédure MGL en annexe.

♦ Série 1

La figure 13.A représente les  $r_m$  obtenus pour la 1<sup>ère</sup> série de 5 variétés.

SP71-6163 a les indices  $r_{\text{population}}=0,028$  et  $r_{\text{survivants}}=0,145$ .

B59-556 :  $r_{\text{population}}=0,031$  et  $r_{\text{survivants}}=0,117$  ;

FR91-699 :  $r_{\text{population}}=0,044$  et  $r_{\text{survivants}}=0,155$  ;

R570 :  $r_{\text{population}}=0,007$  et  $r_{\text{survivants}}=0,102$ .

Les variétés B82-139 et B80-689 ont les 2  $r_m=0$ .

Pour cette série, les comparaisons des moyennes des  $r_m$  population ne sont pas significativement différentes des moyennes de la variété témoin SP71-6163 au seuil 5%. De plus, la variété n'a aucun effet sur les moyennes des  $r_m$  au seuil 5% ( $F=1,85$  et  $P=0,127$ ).

♦ Série 2

Le témoin SP71-6163 a un  $r_{\text{population}} = 0,079$  et un  $r_{\text{survivants}} = 0,138$ . La variété B59-92 a un  $r_{\text{population}}$  proche de celui du témoin, soit 0,080 et un  $r_{\text{survivants}} = 0,146$ .

Les 4 autres variétés ont des  $r_{\text{population}}$  inférieurs à celui du témoin :

- B80-08 :  $r_{\text{population}} = 0,058$  et un  $r_{\text{survivants}} = 0,147$

- FR91-486 :  $r_{\text{population}} = 0,07$  et un  $r_{\text{survivants}} = 0,122$

- B47-258 :  $r_{\text{population}} = 0,030$  et un  $r_{\text{survivants}} = 0,147$

- B69-379 :  $r_{\text{population}} = 0,028$  et un  $r_{\text{survivants}} = 0,142$ .

Au seuil 5%, aucun effet de la « variété » sur les moyennes n'est décelé ( $F=2,36$  et  $P=0,053$ ), par contre les moyennes des  $r_m$  des variétés B47-258 ( $p=0,043$ ) et B69-379 ( $p=0,020$ ) sont significativement différentes de celles de la variété SP71-6163.

♦ Série 3

Nous avons décidé d'inclure à la 3<sup>ème</sup> série les variétés R570 et B80-689 (1<sup>ère</sup> série).

Pour cette série, la variété témoin a le  $r_{\text{population}}$  le plus élevé. Par ordre décroissant :

- SP71-6163 :  $r_{\text{population}} = 0,093$  et  $r_{\text{survivants}} = 0,112$

- FR90-840 :  $r_{\text{population}} = 0,022$  et un  $r_{\text{survivants}} = 0,121$

- B80-689 :  $r_{\text{population}} = 0,014$  et un  $r_{\text{survivants}} = 0,219$

- R570 :  $r_{\text{population}} = 0,005$  et un  $r_{\text{survivants}} = 0,062$

- R579 :  $r_{\text{population}} = 0,002$  et un  $r_{\text{survivants}} = 0,062$ .

Les variétés CO64-15, B51-129 et FR83-2034 ont les deux types de  $r_m$  égaux à 0.

Au seuil 5%, les variétés agissent significativement sur les moyennes ( $F=12,63$  et  $p<0,000$ ), de plus, au même seuil, les écarts entre les  $r_m$  des 7 variétés testées et du témoin sont significatifs ( $P<0,000$ ).

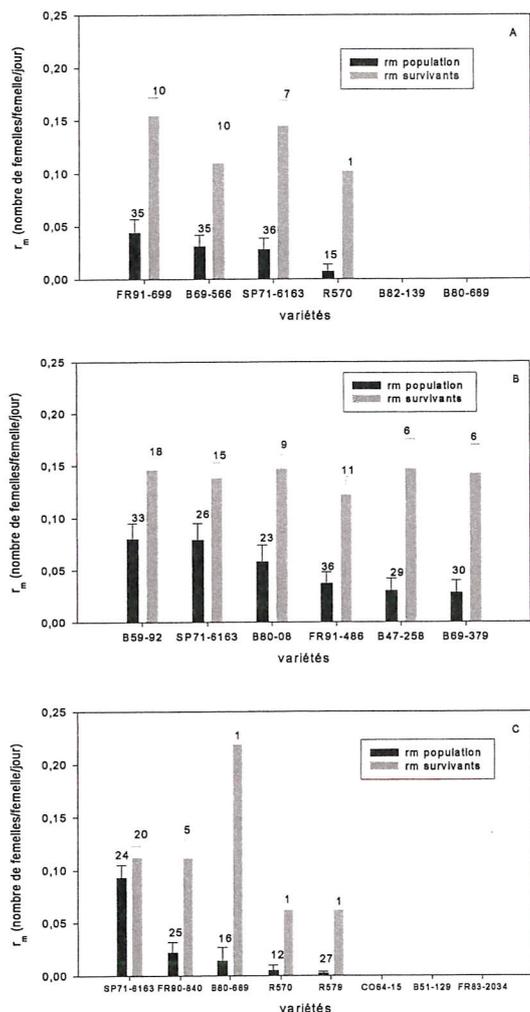


Figure 13: Comparaison des taux d'accroissement fini des populations de *M. sacchari* sur les 16 variétés de canne à sucre.

Les barres représentent les erreurs standard. Les chiffres au dessus des barres représentent le nombre de femelles prises en compte dans la moyenne du  $r_m$ . Le paramètre est calculé à partir de toute la population ( $r_{\text{population}}$ ) ou à partir des individus ayant survécu au delà du 1<sup>er</sup> jour de ponte ( $r_{\text{survivants}}$ ).

A : série 1 ; B : série 2 ; C : série 3.

Sur l'ensemble des tests, nous avons noté une influence des séries sur les moyennes des  $r_m$  au seuil 5% ( $F=5,88$  et  $P<0,008$ ). De même, pour SP71-6163, les moyennes des  $r_m$  de la série 1 sont significativement différentes de celles des séries 2 ( $P=0,022$ ) et 3 ( $P=0,003$ ).

## Chapitre 4 : **Discussion et perspectives**

### 1. Dissémination du virus

Les premières contaminations par le SCYLV sur la parcelle ont été détectées dès la 5<sup>ème</sup> semaine après la plantation (0,70%), et a atteint 12,80% à la fin de l'échantillonnage. La répartition spatiale des plants infectés était aléatoire jusqu'à la semaine 19 où nous avons observé quelques agrégats.

Les agrégats de plants colonisés par *M. sacchari* (semaine 13) se superposent partiellement à ceux des plants infectés 6 semaines plus tard (semaine 19). Cela peut-être dû au pouvoir de transmission du SCYLV par *M. sacchari*. La virulence et le cycle de la maladie dans le vecteur et dans la plante n'ont pas encore été étudiés en Guadeloupe : nous ne savons pas en combien de temps le SCYLV est acquis par ce vecteur, ni en combien de temps après la piqûre infectante le virus est détecté par Immuno-empreinte. De plus, les données sont séparées de 4 semaines, ce qui ne nous permet pas de dire exactement s'il s'agit uniquement d'une période de latence, ou si le virus était détectable avant.

Le pic d'ailés constaté sur la parcelle à la semaine 8 est suivi d'un pic des populations aptères et larvaires 3 semaines plus tard environ. Sachant que les formes ailées sont colonisatrices, ces deux augmentations sembleraient avoir un lien. En effet, les ailées arrivent sur un plants, pondent des larves, ces larves deviennent adultes et pondent d'autres larves et ainsi de suite, jusqu'à ce qu'il y ait surpopulation (Autrique A. et Ntahimpera L., 1994 ; Hullé M. et al, 1999). Ces réactions en chaîne permettraient à la population de pucerons de s'accroître en

nombre. Inversement, le creux des ailés induirait une diminution des populations : les populations ne sont pas renouvelées, et de plus elles sont décimées par les prédateurs observés sur la parcelle (Coccinelles et leurs larves, araignées, larves de Syrphidés, etc.

Les agrégats de pucerons détectés en semaine 14 se trouvent en bordure du champ. Sachant que les ailés voient les différences de teintes, et se laissent tomber quand ils voient un contraste, et qu'à cette date, vue d'en haut, la parcelle était verte. Nous pouvons supposer qu'ils sont arrivés sur des plants en bordure, se sont installés et nourris sur ces plants. Si ces derniers étaient contaminés, quand le plant a été surchargé, les ailés porteurs du SCYLV se sont envolés vers les pieds voisins. Ils ne pouvaient voler plus loin parce que la parcelle était fermée par les feuilles de canne, ce qui aurait pu créer l'agrégat de plants contaminés par le virus en semaine 19.

Ce que nous ne savons pas, c'est si les premiers ailés sont arrivés porteurs du SCYLV ou s'ils l'ont acquis sur la bordure de FR90-714 contaminée.

Les résultats des pièges montrent un flux continu et variable d'ailés autour de la parcelle. L'effet de la localisation des pièges sur le nombre d'ailés attrapés ( $F=8.66$  ;  $P=0,007$ ) peut avoir deux hypothèses explicatives :

- Premièrement, les abords du champ étaient très différents. Sur la face nord, à quelques mètres se trouvaient du sorgho, à l'ouest des plantations diverses, au sud, la parcelle juste contiguë à la nôtre a été labourée au début du mois de mai (semaine 13) pour êtreensemencée à la fin du mois de juin. Et enfin à l'est, séparée par un sentier, un champ de cannes à sucre. Les pucerons perçoivent en général les contrastes durant leurs vols, quand ils voient une différence de couleur, ils se laissent tomber pour atterrir. En ce sens, la face sud était plus facilement repérable lors de leurs vols. Mais, ils auraient également pu quitter la parcelle de canne sur la face est et tomber sur la parcelle expérimentale. De plus, les collants situés sur le côté nord du champ ont été placés premièrement à l'extérieur, à côté des bordures de FR90-714 (semaines 5 à 13), puis entre la 2<sup>ème</sup> ligne de bordure et la 1<sup>ère</sup> ligne de SP7161-63 (semaine 14 à 17). A cette époque, la parcelle commençait à se fermer, ce qui rendait les vols plus difficiles. Nous avons changé les pièges sur la face nord de place, car nous voulions observer si les pucerons passaient de la bordure contaminée aux lignes de SP71-6163. La courbe du nombre d'ailés sur les pièges au nord suit premièrement celle des pièges situés en bordure (est, ouest, sud), puis elle

diminue fortement après le changement de place. C'est pourquoi, lors des analyses nous avons dissocié les pièges sur la face nord des autres.

- La deuxième hypothèse est relative aux conditions atmosphériques. L'alizé souffle d'est en ouest le jour, et le soir, le vent thermique dans le sens inverse. Les pucerons n'ont pas de vols actifs sur de longues distances, mais ils se laissent porter par le vent (Hullé M. et al, 1999), ceci pourrait expliquer que le nombre de pucerons sur les pièges situés à l'est et à l'ouest ait été plus élevé.

L'influence de la semaine ( $F=18,50$  ;  $P<0,000$ ) peut être due aux particularités des activités de vols de *M. sacchari* en Guadeloupe. Cependant, nous ne disposons d'aucune étude portant sur ce sujet en Guadeloupe. En pays à climat tempéré par contre, les activités de vols sont relatives aux saisons (Hullé M. et al, 1999 ; Leclant F., 1999).

La végétation autour de la parcelle et le climat tropical ont donc pu se combiner et influencer sur les zones de colonisation des pucerons ailés.

Le scénario de dissémination du SCYLV par *M. sacchari* sur une parcelle de plants de canne à sucre sains à la plantation qui nous semblait le plus probable par rapport à nos résultats est le suivant :

- La parcelle après plantation contrastait par sa couleur avec son environnement, ce qui aurait pu attirer les ailés au cours de leurs vols. Ils pouvaient être porteurs du SCYLV en arrivant sur la parcelle, ou l'avoir acquis en se nourrissant sur les plants infectés de la bordure. Ils se seraient répartis aléatoirement sur les pieds de la parcelle, auraient pondu des larves qui, adultes, auraient pondu à leur tour, et ainsi de suite. Pendant les premiers mois où la parcelle n'était pas fermée par le feuillage, les ailés continuaient à arriver de l'extérieur et ils auraient pu reproduire plusieurs fois les étapes ci-dessus. Certains ont dû quitter la parcelle pour coloniser d'autres champs.

Lorsque la parcelle s'est fermée, les ailés qui arrivaient se seraient arrêtés en bordure où ils auraient formés des agrégats. Le virus aurait également été transmis de proche en proche par les ailés ayant acquis le virus sur la parcelle. Les formes aptères auraient un rôle négligeable dans la dissémination du virus durant les premiers mois. Cependant, après fermeture de la parcelle, ils pouvaient se déplacer d'une touffe à une autre par l'intermédiaire des feuilles qui se touchaient. Ils auraient

ainsi pu contribuer à la dissémination du SCYLV sur la parcelle de proche en proche, ce qui pourrait expliquer la répartition agrégative des plants contaminés observée en semaine 19.

Au terme de cette étude, *M. sacchari* semble avoir colonisé rapidement la parcelle, cependant le virus s'est propagé beaucoup moins vite : 100% de colonisation par le vecteur contre 12,8% de contamination par le virus en fin d'expérimentation. Etant donné qu'aucun test de transmission n'a été réalisé sur *M. sacchari* en Guadeloupe, nous ne savons pas s'il est aussi efficace pour transmettre le SCYLV qu'il l'a été à Hawaii (Schenck S. et Lehrer A., 2000).

Un autre mode de dissémination du SCYLV connu est la plantation de boutures infectées. Certes, avec l'évolution des connaissances, des précautions sont prises lors des exportations de plants et tiges depuis des années. L'intérêt de cultiver des variétés résistantes est donc indiscutable, cela écarterait les deux modes de dissémination connus du virus.

## 2. Résistance variétale

Les 15 variétés ont été réparties en 3 groupes pour faciliter les tests. Pour chaque variété l'objectif était d'obtenir 10 plants après le sevrage, ce qui fait un total de 150 plants à manipuler. L'espace dont nous disposions et le temps pour les manipulations ne nous permettaient pas de tester les 15 variétés et le témoin au même moment.

Nous ne disposons d'aucune donnée sur la biologie et la reproduction de *M. sacchari* en Guadeloupe, sinon que l'espèce se reproduisait par parthénogenèse thélytoque. Le test  $r_m$  complet sur la variété témoin nous a permis d'avoir une idée sur le premier jour de ponte, du nombre de larves pondues par jour et de la durée de vie d'un puceron de l'espèce *M. sacchari* dans nos conditions.

Le nombre de répétitions par variété n'est pas fixe pour plusieurs raisons. Le nombre de plants dont nous disposions dans les milieux de culture variait entre 4 et 12. Certaines variétés portaient très vite en tallage comme la FR90-840, ce qui a

permis d'obtenir un grand nombre de vitroplants lors des sevrages. Par contre, d'autres comme la R570 étaient difficiles à multiplier, le tallage étant très réduit. De plus, dans le test d'antibiose, les cages doivent être posées sur des feuilles assez rigides pour supporter le poids de la cage. Certains plants supportaient jusqu'à 4 ou 5 cages, et d'autres 2 au maximum, d'où le nombre variable de répétitions par variété.

Le témoin SP71-6163 est une variété brésilienne, dont les pertes causées par le SCYLV ont été répertoriées par Vega et ses collaborateurs en 1997. En 2002, cette variété a été utilisée comme témoin sur une parcelle identique pour la dissémination du virus en Guadeloupe, où elle a été un très bon témoin sensible à *M. sacchari* (Daugrois J.H., rapport d'activités 2003). De même, sur notre parcelle, elle était sensible au vecteur. Malheureusement, durant notre étude les explosions de populations constatées au champ étaient difficiles à reproduire dans nos conditions d'élevage. Il était donc difficile d'obtenir un grand nombre d'insectes de même âge pour mettre en place les tests d'antixénose et d'antibiose.

La présence d'une résistance de type antixénose influe sur la mortalité lors des tests d'antibiose. Cependant, les variétés peuvent présenter uniquement un effet antibiose. Par exemple, la variété B80-689 présente les deux types de résistance. En effet, si le puceron rejetait un type de plante en 48 heures, l'espèce ne pouvait s'y développer, il n'y avait pas de ponte, et le  $r_m$  est posé égal à 0. Par contre, la réciproque n'était pas vraie. Quant il y avait antibiose, le cycle de reproduction du puceron était altéré, mais il survivait plus de 48 heures. C'est pourquoi certaines variétés présentent uniquement une résistance de type antibiose.

D'après l'analyse du  $r_m$  obtenu pour la variété SP71-6163 lors de chaque série d'antibiose, la première série se distingue des deux autres statistiquement. En effet, lors de cette première expérience, nous ne maîtrisons pas correctement les élevages. Cependant les variétés ont pu être comparées entre elles à l'intérieur de la série 1 et pas avec celles des deux autres séries. Nous avons décidé de tester à nouveau les variétés B80-689 et R570 parce qu'elles présentaient un effet antibiose. Nous les avons donc ajoutées à la série 3. L'effet antibiose a également été noté sur ces variétés à la série 3. Bien que différentes des deux autres séries, les résultats de la série 1 sont exploitables. Les variétés qui présentent un fort effet antibiose agissent sur la biologie du vecteur *M. sacchari*, ce qui pourrait limiter la dissémination du SCYLV.

Sachant que le taux intrinsèque d'accroissement d'une population est compris entre 0 et 1, nous pouvons dire que lors de nos expériences en conditions semi-contrôlées, *M. sacchari* avait un  $r_m$  faible en comparaison d'autres espèces pucerons. Par exemple, le puceron *Aphis gossypii* présente un  $r_m=0,423$  sur la variété sensible de Melon Védrantais (Michaud V., 2000).

### 3. Perspectives

Beaucoup de données ont été récoltées, et l'effort d'échantillonnage fourni était important. A l'avenir, il serait intéressant d'organiser les observations et échantillonnages en fonction des connaissances que nous avons acquises sur la dynamique de population de *M. sacchari*. De cette façon, moins de données seront récoltées, mais des analyses plus poussées pourront être réalisées.

Nous ne disposons d'aucune donnée concernant la biologie de *M. sacchari* en Guadeloupe, sinon que l'espèce se reproduisait par parthénogenèse thélytoque\* en milieu tropical. Des études concernant les activités de vols pourraient expliquer les variations du nombre de pucerons attrapés en fonction des semaines et de la localisation des pièges. Des études similaires ont été mises en place de 1978 à 1996 sur la France, cependant elles ont nécessité la conception de réseaux de surveillance basés sur la capture des ailés à l'aide de pièges à succion (Hullé M. et al., 1999). Ces pièges ont permis de déterminer avec précision les différentes périodes d'activité de vol d'un grand nombre d'espèces de pucerons et d'en évaluer la variabilité annuelle région par région.

A Hawaii, cette espèce apparaissait comme un bon vecteur du SCYLV (Schenck S. et Lehrer A., 2000). Par contre, aucune étude de transmission du SCYLV par *M. sacchari* n'a encore été réalisée en Guadeloupe. Ces expériences doivent être mises en place sur l'ensemble des Antilles françaises.

La transmission des *Luteoviridae* par les pucerons est très sélective (Gray S. et Gildow F.E., 2003). Les variations observées entre les différents pays peuvent être dues à une ou des souches virales spécifiques aux Antilles Françaises. Par conséquent, la ou les souches virales présentes seront caractérisées en Guadeloupe et en Martinique. Les expériences de diagnostic du SCYLV menées sur la parcelle expérimentale seront répétées sur plusieurs parcelles de culture à la Martinique.

Beaucoup de zones d'ombre subsistent concernant la dissémination du SCYLV, mais ce travail préliminaire apporte déjà certaines bases :

- Les élevages sont à améliorer de façon à optimiser les tests.
- Les variétés trouvées intéressantes quant à leur résistance à *M. sacchari* à l'issue des 3 séries seront testées à nouveau. Pour le moment, nous ne disposons pas d'autres variétés en culture *in vitro*.

## Références bibliographiques

- Autrique A., Ntahimpera L. (1994).** Atlas des principales espèces de pucerons rencontrées en Afrique Sud-Saharienne. Administration Générale de la Coopération au Développement. Publication Agricole n°33.
- Birch L. C. (1948).** The intrinsic rate of natural increase of an insect population. *Journal of Animal Ecology*; 17 ; p.15-26.
- Dajoz R. (1974).** Dynamique des populations. Collection d'Ecologie 6. Masson et Cie, Editeurs.
- Dent D.R. (1997).** Quantifying Insect Populations : Estimates and Parameters. *Methods in Ecological & Agricultural Entomology* (Dent D.R. & Walton M.P. eds.). CAB International 1997. University, Press, Cambridge, UK.
- Fitch M.M.M., Lehrer A.T., Komor E. And Moore P.H. (2001).** Elimination of Sugarcane yellow leaf virus from infected sugarcane plants by meristem tip culture visualised by immunoassay. *Plant Pathology* (2001) 50,676-680.
- Goreaud F. et Pélissier, R. (2000).** ADE in ADE-4, Analyse des données spatiales : méthodes exploratoires basées sur les distances pour l'analyse spatiale des semis de points. Logiciel gratuit téléchargeable avec sa documentation à : <http://pbil.univ-lyon1.fr/ADE-4/ADSWeb.html>
- Gray S., Gildow F. E. (2003).** Luteovirus-Aphid Interactions. *Annu. Rev. Phytopathol.* 2003. 41 : 539-66.
- Hullé M., Turpeau-Ait Ighi E., Robert Y., Monnet Y., (1999).** Les pucerons des plantes maraîchères. Cycles biologiques et activités de vol. Agraphid. ACTA/INRA Edition.
- Leclant F., (1999).** Les pucerons des plantes cultivées. Clefs d'identification. I Grandes cultures. Editions ACTA/INRA.

- Lecoq H., Bourdin D., Wipf-Scheibel C., Bon M., Lot H., Lemaire O., Herrbach E., 1992.** A new yellowing disease of cucurbits caused by a Luteovirus, Cucurbit Aphid-Borne Yellows Virus. *Plant Pathology*, 41: 749-761.
- Lett J. M., Reynaud B., Peterschmitt M. (2001).** Les Mécanismes de la transmission circulante des virus de plante par insectes piqueurs - suceurs. *Virologie*, vol. 5, n°3, mai – juin 2001.
- Lewontin R. C. (1965).** Selection for Colonizing Ability. *Ent* 2273
- Lockhart B.E.L, Irely M.S., Comstock J.C., 1996.** Sugarcane bacilliform virus, sugarcane mild mosaic virus and sugarcane yellow leaf syndrome. In Croft B.J., Piggin C.M., Wallis E.S., Hogarth D.M. (Eds.), 1996. Sugarcane germplasm conservation and exchange. In Proceedings of Australian Centre for International Agricultural Research. Canberra, Australia, 67: 108-112.
- Michaud V. (2000).** Contournement des résistances exprimées par 5 géotypes de melon (Margot, PI 161375, PI 414723, AR5 et 90625) par des souches guadeloupéennes du puceron *Aphis gossypii*. Rapport de Licence de l'Université de Sherbrooke (Canada, Québec).
- Rassaby L. (2001).** Le syndrome de la feuille jaune de la canne à sucre causé par le *Sugarcane Yellow Leaf virus (SCYLV)* à la réunion : caractérisation et impact. Thèse de doctorat spécialité phytopathologie, Université de la Réunion.
- Rassaby L., Girard J.-C., Letourmy P., Chaume J., Irely M. S., Lockhart B. E. L., Kodja H., Rott P., (2003).** *Impact of Sugarcane yellow leaf virus on sugarcane yield and juice quality in Réunion Island. European Journal of Plant Pathology* 109:459-466, 2003. © 2003 Kluwer Academic Publishers.
- Remaudière G. & Remaudière M. (1997).** Catalogue des *Aphididae* du monde. *Homoptera, Aphidoidea*. Techniques et pratiques. INRA Editions.
- Remaudière G., Autrique A., Eastop V. F., Starý P., Aymonin G., Kafurera J., Dedonder R. (1985).** Contribution à l'écologie des aphides africains. Etude FAO production végétale et protection des plantes 64. Organisation des nations unies pour l'alimentation et l'agriculture. Rome, 1985.
- Ripley, B.D. (1977).** Modelling spatial patterns. *Journal of the Royal Statistical Society*, B39 : 172-212.
- Schenk S., Lehrer A.T., 2000.** Factors affecting the transmission and spread of sugarcane yellow leaf virus. *Plant Dis.* 84:1085-1088.
- Vega J., Scagliusi S.M.M., Ulian E. (1997).** Sugarcane yellow leaf disease in Brazil : Evidence of association with a Luteovirus. *Plant Dis.* 81 :21-26. The American Phytopathological Society.
- Vercambre B. (2001).** Note sur la détermination des pucerons prélevés sur canne à sucre à la réunion.
- Wyatt I.J., White P.F. (1977).** Simple estimation of intrinsic increase rates for aphids and tetranychid mites. *J. Appl. Ecol.* (1977), 14, 757-766.

## Glossaire

- **Anholocyclie** : particularité du cycle biologique correspondant au maintien durant toute l'année sur la plante hôte d'individus parthénogénétiques, sans passage par la reproduction sexuée (Leclant F., 1999).
- **Cauda** : queue.
- **Cornicules** : appendices pairs, de formes et de longueur variable, situés à la partie postérieure de l'abdomen (Leclant F., 1999).
- **Digitiforme** : en forme de doigt.
- **Face abaxiale** : face inférieure.
- **Fécondité** : nombre total d'œufs produits durant la vie d'une femelle (Dent D.R., 1997).
- **Fumagine** : pellicule noire formée par les champignons saprophytes.
- **Icosaèdre** : polyèdre à vingt faces triangulaires.
- **Mode circulant** : les particules virales ont la capacité de traverser les membranes cellulaires et de pénétrer dans l'hémolymphe du vecteur (Gray S., Gildow F.E., 2003 ; Lett J.M., *et al*, 2001).
- **Mode non multipliant** : le virus ne se réplique pas dans l'insecte vecteur (Gray S., Gildow F.E., 2003 ; Lett J.M., *et al*, 2001).
- **Mode persistant** : les particules virales sont internalisées après ingestion et ne sont pas perdues au cours des mues (Gray S., Gildow F.E., 2003 ; Lett J.M., *et al*, 2001).
- **Ochréa** : gaine violacée à la base des feuilles déroulées de canne à sucre.
- **Parthénogenèse** : mode de reproduction indépendant de la fécondation, l'ovule se développe sans la contribution du mâle.
- **Pastille Jiffy** : pastille constituée de tourbe déshydratée.
- **Population exponentielle** : Ce type de population est caractérisé par un taux instantané d'accroissement constant quelque soit le temps (Dajoz R., 1974).
- **Pouzzolane** : roche volcanique concassée.
- **Processus homogène (ou stationnaire)** : processus invariant par translation : ses propriétés ne varient pas d'une position à l'autre de l'espace

- **Processus isotrope** : processus invariant par rotation : ses propriétés ne varient pas avec l'orientation de l'espace
- **Saprophyte** : qui tire sa nourriture dans les substances organiques en décomposition.
- **Scérite marginal** : aire tégumentaire d'étendue et de forme variable imprimée de pigment, située en bordure du corps de l'insecte.
- **Sinus frontal** : partie du vertex située entre les antennes, de forme variable (Leclant F., 1999).
- **Taux intrinsèque d'accroissement naturel** : capacité innée d'une population d'augmenter en nombre dans des conditions de température et d'humidité déterminées et dans un milieu illimité où les effets d'augmentation de densité ne peuvent se faire sentir. Représenté par la lettre  $r$ , ce taux est encore appelé paramètre de Malthus (Dajoz R., 1974).
- **Temps de latence** : temps minimum entre l'ingestion de virus, et le moment où le vecteur est capable d'infecter une nouvelle plante (Gray S., Gildow F.E., 2003 ; Lett J.M., *et al*, 2001).
- **Thélytoque** : type de reproduction parthénogénétique, où la descendance des femelles non fécondées est composée uniquement de femelles.
- **Tubercule** = tubercule frontaux : protubérance du vertex à la base ou entre les antennes (Leclant F., 1999).

## Annexes

### FICHE PROTOCOLE DOT-BLOT

#### Révélation des membranes de nitrocellulose pour la détection du SCYLV

- Préparation du tampon TBS  
TRIS : 2,42 g/L  
Sodium chlorure : 8 g/L  
Compléter à 1L avec de l'eau distillée  
→ Ajuster à pH 7,5 avec HCl.
- Préparation du TBS-BSA  
Solution à 1% (10 g/L) et 3% (30 g/L) de BSA diluée dans du TBS.  
*Préparation de 3 membranes/boîte et 40 ml/boîte.*
- Préparation du TBS-Tween (rinçage)  
Solution à 0,5 mL de Tween/L de TBS

➤ **Blocage** : Trempage des membranes dans du TBS-BSA 3% sous agitation (40 tours/minute). Volume de 30 mL pour deux membranes et 40 mL pour 3 membranes.  
Durée : 30 minutes

- Préparation du premier sérum : dilution de l'anticorps de chèvre anti-SCYLV au 1/10000 dans le TBS-BSA 1%.

➤ **1<sup>ère</sup> Hybridation** : Trempage des membranes dans le premier sérum sous agitation dans les bacs recouvert d'un couvercle.  
Durée : 1 heure à 1 h 30

➤ **Lavages** : Lavage des membranes dans du tampon TBS-Tween. Répéter cette opération trois fois en changeant de bac à chaque fois.  
Durée : 3 x 5 minutes

- Préparation du deuxième sérum : dilution du conjugué phosphatase alcaline anti-anticorps de chèvre au 1/10000<sup>e</sup> dans du TBS-BSA 1%.

➤ **2<sup>ème</sup> Hybridation** : Trempage des membranes dans le deuxième sérum sous agitation dans les bacs munis de couvercle.  
Durée : 1 heure

➤ **Lavages** : Lavage des membranes dans du tampon TBS-Tween. Répéter cette opération trois fois en changeant de bac à chaque fois.  
Durée : 3 x 5 minutes

- Préparation de la solution de révélation : diluer 1 pastille de Fast-blue pour 60 mL d'eau distillée. Passer à l'agitateur magnétique pour homogénéiser.

➤ **Révélation** : Trempage des membranes dans la solution de coloration, surveiller l'évolution de la couleur à partir de la cinquième minute, prolonger l'immersion jusqu'à l'apparition d'une légère coloration sur l'ensemble de la membrane. Arrêter la réaction en rinçant rapidement à l'eau distillée, puis laisser sécher la membrane.

**Tableau 2 : Récapitulatif des  $r_m$  obtenus pour les 3 séries.** Pour chaque série, SE représente l'erreur standard pour l'ensemble des valeurs prises en compte pour le calcul de l'indice  $r_m$ . N représente le nombre d'individus pris en compte pour le calcul de  $r_m$ . '-' signifie que la valeur n'a pu être calculée.

variétés	$r_m$ population	SE population	N	$r_m$ survivants	SE survivants	N
<b>série 1</b>						
<b>B82-139</b>	-	-	<b>24</b>	-	-	<b>3</b>
<b>B80-689</b>	-	-	<b>25</b>	-	-	<b>0</b>
<b>R570</b>	0,007	0,007	<b>15</b>	0,102	-	<b>1</b>
<b>SP71-6163</b>	0,028	0,011	<b>36</b>	0,145	0,024	<b>7</b>
<b>B69-556</b>	0,031	0,011	<b>35</b>	0,110	0,027	<b>10</b>
<b>FR91-699</b>	0,044	0,013	<b>35</b>	0,155	0,017	<b>10</b>
<b>série 2</b>						
<b>B69-379</b>	0,028	0,012	<b>30</b>	0,142	0,028	<b>6</b>
<b>B47-258</b>	0,030	0,012	<b>29</b>	0,147	0,028	<b>6</b>
<b>FR91-486</b>	0,037	0,011	<b>36</b>	0,122	0,017	<b>11</b>
<b>B80-08</b>	0,058	0,016	<b>23</b>	0,147	0,015	<b>9</b>
<b>SP71-6163</b>	0,079	0,016	<b>26</b>	0,138	0,015	<b>15</b>
<b>B59-92</b>	0,080	0,015	<b>33</b>	0,146	0,014	<b>18</b>
<b>série 3</b>						
<b>CO64-15</b>	-	-	<b>24</b>	-	-	<b>0</b>
<b>B51-129</b>	-	-	<b>13</b>	-	-	<b>0</b>
<b>FR83-2034</b>	-	-	<b>18</b>	-	-	<b>0</b>
<b>R579</b>	0,002	0,002	<b>27</b>	0,062	-	<b>1</b>
<b>R570</b>	0,005	0,005	<b>12</b>	0,062	-	<b>1</b>
<b>B80-689</b>	0,014	0,013	<b>16</b>	0,219	-	<b>1</b>
<b>FR90-840</b>	0,022	0,010	<b>25</b>	0,111	0,018	<b>5</b>
<b>SP71-6163</b>	0,093	0,012	<b>24</b>	0,112	0,011	<b>20</b>

## Tests statistiques sous la procédure MLG

### 1. Analyse de variance sur les moyennes de pucerons ailés de l'espèce *M. sacchari* piégés, sous la procédure MLG

Variable étudiée : nombre moyen de pucerons par piège.

#### 1.1. Test sur les variables semaine, zone et face du piège

Sources de variation	DDF	Somme des carrés	Carrés moyens	F	P
semaine	4	1322,075	330,519	18,500	<0,000
semaine x zone	12	3613,625	301,135	16,850	<0,000
semaine x face	4	574,325	143,581	8,040	<0,000
semaine x zone x face	12	800,575	66,715	3,730	<0,001

DDL : degrés de liberté

F : statistique de Fisher

P : probabilité critique.

#### 1.2. Test sur les variables zone et face du pièges

Sources de variation	DDF	Somme des carrés	Carrés moyens	F	P
zone	3	1901,812	633,812	8,66	0,007
face	1	234,612	234,612	3,2	0,111
zone x face	3	219,73	73,246	1	0,441

DDL : degrés de liberté

F : statistique de Fisher

P : probabilité critique.

**2. Analyse statistique sur les moyennes de pucerons de l'espèce *M. sacchari* survivants après 48 heures sur les plants de 15 variétés de canne à sucre et le témoin SP71-6163 sous la procédure MLG (résistance de type Antixénose).**

### 2.1. Analyse de variance

Variable étudiée : nombre moyen de survivants par variété.

Série 1					
Source de variation	DDL	somme des carrés	carrés moyens	F	P
Série	5	118,711	23,742	6,970	<0,000

Série 2					
Source de variation	DDL	Somme des carrés	carré moyen	F	P
Série	5	20,334	4,069	0,790	0,561

Série 3					
Source de variation	DDL	somme des carrés	carré moyen	F	P
Série	5	78,235	15,647	2,510	0,042

DDL : degrés de liberté

F : statistique de Fisher

P : probabilité critique.

### Test de Student

Test t pour l'hypothèse  $H_0$  : moyenne des moindres carrés (i) = moyenne des moindres carrés (j).

Variable étudiée : nombre moyen de survivants par variété pour la série 1.

i \ j	B69-566	B80-689	B82-139	FR91-699	R570	SP71-6163
B69-566	.	0,001	0,868	0,821	0,192	0,071
B80-689	0,001	.	0,004	0,000	0,000	<b>&lt;0,000</b>
B82-139	0,868	0,004	.	0,703	0,170	0,067
FR91-699	0,821	0,000	0,703	.	0,241	0,092
R570	0,192	0,000	0,170	0,241	.	0,881
SP71-6163	0,071	<b>&lt;0,000</b>	0,67	0,092	0,881	.

### 3. Analyse statistique sur les moyennes des $r_m$ des populations de *M. sacchari* sur 15 variétés de canne à sucre et le témoin SP71-6163 sous la procédure MLG (résistance de type Antibiose).

#### 3.1. Analyse de variance

##### 3.1.1. Variété témoin SP71-6163

Variable étudiée : moyenne des  $r_m$  par série.

Source de variation	DDL	Somme des carrés	Carrés moyens	F	P
série	2	0,023	0,011	5,88	0,008

DDL : degrés de liberté

F : statistique de Fisher

P : probabilité critique

##### 3.1.2. Variétés étudiées

Variable étudiée : moyenne des  $r_m$  par variété.

###### Série 1

Source de variation	DDL	Somme des carrés	Carrés moyens	F	P
Variétés	5	0,017	0,003	1,850	0,127

###### Série 2

Source de variation	DDL	Somme des carrés	Carrés moyens	F	P
Variétés	5	0,024	0,005	2,360	0,053

###### Série 3

Source de variation	DDL	Somme des carrés	Carrés moyens	F	P
Variétés	5	0,070	0,010	12,630	<0,000

DDL : degrés de liberté

F : statistique de Fisher

P : probabilité critique

### 3.2. Test de Student

#### 3.2.1. Variété témoin

Test t pour l'hypothèse  $H_0$ : moyenne des moindres carrés (i)=moyenne des moindres carrés (j).

Variable étudiée : moyenne des  $r_m$  par série.

i \ j	série 1	série 2	série 3
série 1	.	<b>0,021</b>	<b>0,003</b>
série 2	<b>0,021</b>	.	0,432
série 3	<b>0,003</b>	0,432	.

#### 3.2.2. Variétés étudiées

Test t pour l'hypothèse  $H_0$ : moyenne des moindres carrés (i)=moyenne des moindres carrés (j).

Variable étudiée : moyenne des  $r_m$  par variété.

Série 1

i \ j	B69-556	B80-689	B82-139	FR91-699	R570	SP71-6163
B69-556	.	0,187	0,187	0,250	0,401	0,904
B80-689	0,187	.	1,000	0,021	0,761	0,224
B82-139	0,187	1,000	.	0,021	0,761	0,224
FR91-699	0,250	0,021	0,021	.	0,085	0,204
R570	0,401	0,761	0,761	0,084	.	0,455
SP71-6163	0,904	0,224	0,224	0,204	0,455	.

Série 2

i \ j	B47-258	B80-689	B69-379	B80-08	FR91-486	SP71-6163
B47-258	.	0,045	0,733	0,142	0,847	<b>0,043</b>
B59-92	0,045	.	0,020	0,585	0,068	0,985
B69-379	0,733	0,020	.	0,074	0,761	0,224
B80-08	0,142	0,585	0,074	.	0,085	0,203
FR91-486	0,847	0,068	0,761	0,085	.	0,455
SP71-6163	<b>0,043</b>	0,985	0,224	0,203	0,455	.

## Série 3

i	j	B51-129	B80-689	CO64-15	FR83-2034	FR90-840	R570	R579	SP71-6163
B51-129	.	0,351	1,000	1,000	0,094	0,78	0,822	<0,000	
B80-689	0,351	.	0,309	0,335	0,462	0,624	0,432	<0,000	
CO64-15	1,000	0,309	.	1,000	0,066	0,756	0,805	<0,000	
FR83-2034	1,000	0,335	1,000	.	0,083	0,764	0,816	<0,000	
FR90-840	0,094	0,462	0,066	0,083	.	0,274	0,109	<0,000	
R570	0,780	0,624	0,756	0,764	0,274	.	0,901	<0,000	
R579	0,822	0,432	0,805	0,816	0,109	0,901	.	<0,000	
SP71-6163	<0,000	<0,000	<0,000	<0,000	<0,000	<0,000	<0,000	.	

