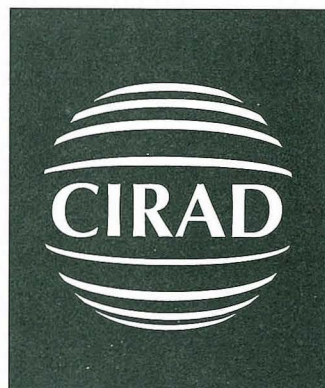


PROGRAMME EUROPEEN DOCUP 2000-2006

PROGRAMME DE TRAVAUX D'APPUI AU DEVELOPPEMENT DE LA CANNE A SUCRE EN GUADELOUPE

CONTRAT D'ENTREPRISE DU CIRAD-CA 2^e TRANCHE – Année 2003



RAPPORT D'ACTIVITES

AMELIORATION VARIETALE ET PRODUCTION DE PLANTS ASSAINIS DE CANNE A SUCRE EN GUADELOUPE

MALADIES DE LA CANNE A SUCRE

Chercheur : Jean-Heinrick DAUGROIS

Thésard : Patrice CHAMPOISEAU

**Techniciens : Rosiane BOISNE-NOC
Steeve JOSEPH**

VCAT : Myriam SIEGWART

Stagiaire : Carine EDON

**Participation : Jean-Claude EFILE
Technique Jean-Marie COUPAN
Sylvère CARMEL**

JUIN 2004

PROGRAMME EUROPEEN DOCUP 2000-2006

PROGRAMME DE TRAVAUX D'APPUI AU DEVELOPPEMENT DE LA CANNE A SUCRE EN GUADELOUPE

CONTRAT D'ENTREPRISE DU CIRAD-CA 2^e TRANCHE – Année 2003

RAPPORT D'ACTIVITES

AMELIORATION VARIETALE ET PRODUCTION DE PLANTS ASSAINIS DE CANNE A SUCRE EN GUADELOUPE

MALADIES DE LA CANNE A SUCRE

Chercheur : Jean-Heinrick DAUGROIS

Thésard : Patrice CHAMPOISEAU

Techniciens : Rosiane BOISNE-NOC
Steeve JOSEPH

VCAT : Myriam SIEGWART

Stagiaire : Carine EDON

Participation : Jean-Claude EFILE
Technique Jean-Marie COUPAN
Sylvère CARMEL

JUIN 2004

**PROGRAMME EUROPEEN
DOCUP 2000-2006**

**PROGRAMME DE TRAVAUX D'APPUI AU DEVELOPPEMENT
DE LA CANNE A SUCRE EN GUADELOUPE**

CONTRAT D'ENTREPRISE DU CIRAD-CA – 2ème TRANCHE

RAPPORT D'ACTIVITES – PREMIERE PARTIE

MALADIES DE LA CANNE à SUCRE

Table de matière (32 pages): page

RAPPORT ANALYTIQUE :

Opération n°1. Contrôle des maladies de la canne à sucre.	2
<i>Action n°1</i> : Suivi de l'évolution phytosanitaire de la canne à sucre en Guadeloupe.	2
<i>Action n°2</i> : Etude des agents pathogènes telluriques de la canne à sucre	6
<i>Action n°3</i> : Coopération avec les pays des Caraïbes	8
Opération n°2. Appui de la pathologie à l'amélioration variétale.	9
<i>Action n°1</i> : Criblage des variétés en cours de sélection pour la résistance aux principales maladies.	9
<i>Action n°2</i> : Amélioration de l'efficacité de la sélection pour la création de variétés résistantes aux maladies	11
Opération n°3. Epidémiologie de l'échaudure des feuilles.	12
<i>Action n°1</i> : Dissémination aérienne de <i>Xanthomonas albilineans</i> .	12
<i>Action n°2</i> : Capacité colonisatrice et diversité génétique de <i>Xanthomonas albilineans</i> .	23
Opération n°4. Etude de la maladie du jaunissement des feuilles causée par le 'Sugar Cane Yellow Leaf Virus' ou SCYLV.	15
<i>Action n°1</i> : Epidémiologie du SCYLV.	15
<i>Action n°2</i> : Impact sur le rendement	19
Annexes	21

➤ **Opération n°1. Contrôle des maladies de la canne à sucre.**

➤ **Action n°1 :** *Suivi de l'évolution phytosanitaire de la canne à sucre en Guadeloupe.*

Chercheur : **Jean Heinrich DAUGROIS.**
Techniciens : Rosiane BOISNE-NOC, Steeve JOSEPH.
VCAT : Myriam Siegwart (jusqu'au 30/09/2003).

Objectifs : Contrôle phytosanitaire du schéma de pépinière et des plantations de Guadeloupe.

⌘ **Diagnostics avant multiplication in vitro :**

La culture in vitro permet de multiplier rapidement et à l'abri des pathogènes les plants de canne à sucre. Il va de soit que la culture in vitro n'est pas en elle-même une technique d'assainissement. C'est pour cela que les plantes mises en culture in vitro en Guadeloupe sont contrôlées quant à la présence d'agents pathogènes.

En 2003, 20 plantes mises en culture à partir de bourgeons et de méristèmes ont été testés pour la présence du SCYLV par RT-PCR (10 plants de R575 dont 5 issus de méristèmes et 5 issus de bourgeons et 10 plants de B80 689 mis en culture à partir de méristèmes). Seul 4 des 5 plants de R575 issus de bourgeons ont été diagnostiqués positifs.

⌘ **Traitements de thermothérapie :**

Afin d'ajuster la production de plants sains, effectuée essentiellement par culture in vitro, le traitement par thermothérapie longue de boutures issues de pépinière mère a été utilisé en 2003 pour 8700 boutures. Les boutures traitées ont été plantées en pépinière mère après germination et 15 jours de croissance sous serre.

La thermothérapie a aussi été utilisée pour traiter les boutures des variétés prometteuses en vu de multiplication pour les essais préindustriels.

⌘ **Diagnostics pépinières :**

Contrôle de l'état sanitaire du schéma de pépinière mère.

Maladies recherchées :

L'échaudure des feuilles (a. c. : *Xanthomonas albilineans*), le rabougrissement des repousses (a. c. : *Clavibacter xyli* subsp. *xyli*) et la maladie du jaunissement des feuilles (agent impliqué : Le virus de la feuille jaune ou SCYLV, 'Sugarcane Yellow Leaf Virus').

Méthode de diagnostic :

La technique de diagnostic utilisée pour la détection de *C. xyli xyli* et du SCYLV est l'immunoempreinte de tissus (TBIA ou Tissue Blot Immuno Assay) par empreinte d'un échantillon végétal sur membrane de nitrocellulose. Des

échantillons de tiges de 1 cm de diamètre sont prélevés dans le bas de tige pour le diagnostic de *C. xyli xyli* et des échantillons de nervure centrale de jeune feuille pour le diagnostic du SCYLV.

La technique de diagnostic utilisée pour la détection de *X. albilineans* est l'isolement sur milieu de culture sélectif à partir de sève extraite d'un échantillon de tige.

Résultats :

En 2003, 16 parcelles de pépinière mère de variétés commerciales et prometteuses ont été concernées par ce contrôle.

Résultats des sondages effectués dans les pépinières mères en 2003 pour le diagnostic du rabougrissement des repousses (RSD), de l'échaudure des feuilles et du syndrome du jaunissement des feuilles (SCYLV). Les résultats indiquent le nombre d'échantillons positifs sur le nombre total d'échantillons effectués.

Pépinières mères	RSD 2003	Echaudure des feuilles 2003	SCYLV 2003
variétés commerciales	0/120	0/260	3/270
Variétés prometteuses	0/120	0/120	10/120
Total	0/240	0/380	13/390

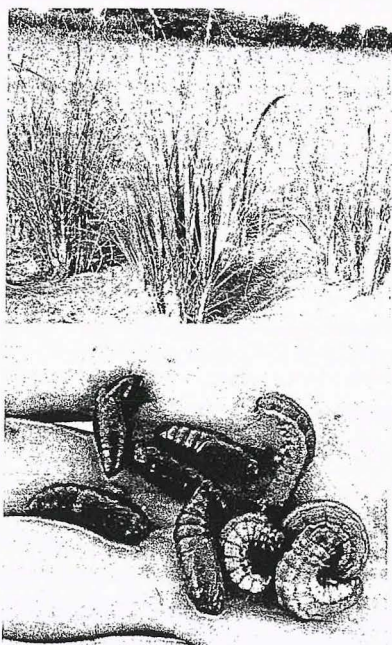
Conclusion :

Aucun des 2 agents pathogènes bactériens n'a été identifié lors des contrôles. Par contre quelques échantillons sont positif au diagnostic du SCYLV. Douze des 13 échantillons positifs proviennent des parcelles dont les plants n'ont pas subi de traitement spécifique pour éliminer le virus. Quoiqu'il en soit le taux global d'infection (<4%) est faible.

☞ Diagnostics chez les producteurs :

Nord Basse Terre :

Capesterre



Suite à la demande de l'UDCAG, un diagnostic a été réalisé sur une parcelle de B 80 08 du SCEA les AL à Combrefor, Capesterre le 24 janvier 2003. Sur toute la parcelle, on a observé des touffes de canne à sucre dont les limbes foliaires ont été entièrement mangés par des chenilles. Aucune chenille n'est présente sur les feuilles. En revanche, des chenilles et des chrysalides ont été trouvées dans le sol à la base des plantes (photo 2).

Un papillon adulte a été obtenu à partir d'une chrysalide, papillon à partir duquel a pu être identifié la noctuelle responsable des dégâts (par Jérôme Barbut du MNHN à Montpellier). La noctuelle identifiée est : *Pseudaletia sequax* Franclemont, 1951, Noctuidae Hadeninae



Pour une raison non déterminée, une forte population s'est développée de façon synchrone et a eu un comportement processionnaire. Les dégâts observés sont importants mais postérieurs au passage des larves. Un traitement sanitaire n'est donc pas conseillé.

Basse Terre



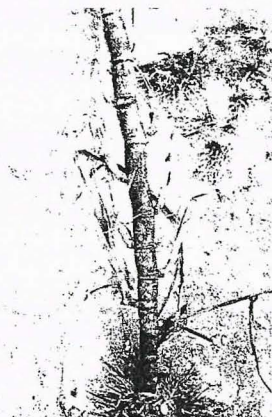
Suite à la demande de l'UDCAG, un diagnostic a été effectué le 24 novembre 2003 sur l'exploitation de Bologne à Basse Terre par le Cirad-ca (Philippe Oriol et Jean Heinrich Daugrois) quant à la présence de tâches de couleur brun-rouille sur les feuilles basses de jeunes plantes. Les taches foliaires observées sont dues à une forte attaque d'un insecte piqueur-suceur, le fulgoride de la canne à sucre (*Delphacidae*, *Saccharosydne saccharivora*), provoquant des taches brun-orange sur certaines variétés lorsqu'il pique la feuille. Cet insecte laisse un miellat sur lequel se développe la fumagine (champignon *Capnodium* sp.). La pullulation de delphacides est particulièrement forte sur les dernières parcelles plantées, cet insecte se développant préférentiellement sur les jeunes plantes. Ceci est un phénomène couramment observé en Guadeloupe (et dans la Caraïbe) sur des plantations de fin de saison et est susceptible d'avoir une incidence négative sur les rendements. Il est déconseillé de traiter à l'insecticide les parcelles infestées car ce traitement détruira les nombreux parasites prédateurs de ce fulgoride. Ces prédateurs sont nombreux en Guadeloupe et suffisent généralement à maintenir les populations à un seuil acceptable. Toutefois, dans certains cas exceptionnels, un recours à un traitement insecticide pourrait être utile sous certaines conditions et dans la mesure où les produits sont homologués pour la canne à sucre.

Nord Grande Terre :

Conjointement à une enquête de conduite des exploitations (confer rapport) effectuée en Nord Grande terre des observations sur les maladies présentes et des diagnostics ont été réalisés en vue de l'identification des agents responsables des maladies de l'échaudure des feuilles, du rabougrissement des repousses et du jaunissement des feuilles par immunoempreinte de tige ou de feuille. Quatorze parcelles ont été concernées par ces diagnostics. Les observations visuelles effectuées nous ont permis de noter la présence de rouille (variété B47 258 en mélange avec B80 689), de chlorose foliaire, peu de présence de pucerons vecteurs du SCYLV mais d'autres insectes dommageables à la production ont été observés. Le diagnostic par immunoempreinte montre que la maladie la plus répandue semble être le rabougrissement des repousses, bien que les échantillons aient été prélevés sur de jeunes cannes (cette maladie est généralement plus facile à détecter sur des plantes matures). A noter que le rabougrissement des repousses est une maladie insidieuse, sans symptômes et provoque des diminutions de rendements, surtout en cas de stress hydriques. Par contre c'est la maladie la plus facile à contrôler par un schéma correct de pépinière après traitement sanitaire des plantes. La présence de l'agent pathogène responsable de l'échaudure des feuilles semble faible (seulement 3 échantillons positifs), toutefois une attention particulière doit être portée à cette maladie compte tenu de la sensibilité observée par ailleurs de B80689.

Résultats des sondages effectués en Nord Grande Terre en 2003 pour le diagnostic du rabougrissement des repousses (RSD), de l'échaudure des feuilles et du syndrome du jaunissement des feuilles (SCYLV).

	RSD		Echaudure des feuilles		SCYLV	
	Positif	Total Testé	Positif	Total testé	Positif	Total testé
Tiges de canne à sucre	7	179	3	180	7	420
Parcelle	5	12	3	12	2	14



B80 689 avec échaudure des feuilles, Marie Galante, 02/2003

Marie Galante :

En février 2003, dans une parcelle, la variété B80 689 a montré des symptômes important d'échaudure des feuilles. Environ 5% des tiges présentaient des départs d'ailerons correspondant à des symptômes de la phase aiguë de l'échaudure des feuilles. Cette parcelle a de nouveau été contrôlée en février 2004. A été observé une densité de tige pas très élevée et de quelques manques mais aucun symptômes d'échaudure des feuilles n'étaient visible. L'impact réel des observations de 2003 sur la parcelle ne pourrait être évalué qu'en effectuant des analyses comparatives.

☞ Etiologie de la Pourriture d'Apex :

En 2002, 3 souches de fusarium (*fusarium oxysporum*) avaient été isolées à partir de plante présentant des symptômes de pourriture d'apex. Après mise en culture et production de spores, le champignon a été inoculé au-dessus de l'apex de plusieurs plantes, chaque souche individuellement et conjointement. Aucun symptôme n'a été observé dans les 2 mois qui ont suivi l'inoculation.

☞ Perspective 2004 :

Une veille sanitaire sera maintenue sur le contrôle sanitaire des pépinières mères. Un contrôle complémentaire quant au diagnostic du rabougrissement des repousses et de l'échaudure des feuilles sera réalisé début 2004 en Nord Grande Terre.

➤ Opération n°1. Contrôle des maladies de la canne à sucre.

➤ Action n°2 : Etude des agents pathogènes telluriques de la canne à sucre

Chercheur : **Jean Heinrich DAUGROIS.**

Collaboration : Jeff Hoy, Université de Louisiane, Baton Rouge

Objectifs : Evaluer les dégâts potentiels de microorganisme tellurique sur la croissance de la canne sucre et identifier les organismes en cause. Tester la faisabilité de ce type d'analyse.

Descriptif de l'action :

Afin d'estimer l'impact potentiel d'agents pathogènes tellurique sur la croissance de la canne à sucre, des boutures ont été plantées, après germination, dans un échantillon de sol, prélevé au pied de plants de canne, mélangé à de la roche volcanique. Le mélange terre/roche volcanique est soit stérilisé (sol canne stérile), soit utilisé tel quel (sol canne), soit traité avec un fongicide. Douze semaines après la plantation des plantes, sont relevées les différentes données agronomiques et des agents telluriques sont recherchés au niveau des racines (voir fiche technique an annexe 1).

➤ Résultats :

Données agronomiques :

Pour les 3 caractères étudiés, hauteur, poids de tige, poids de racine, une différence significative entre le sol canne et le sol canne stérile a été mise en évidence (figure 1). Parmi ces différences, nous avons noté une chute de 56% du poids des racines entre le sol non stérile et le sol stérilisé. Cette perte de poids concerne essentiellement la réduction du nombre de radicelles présentes (photo 1). Nous avons aussi observé une baisse de 18% du poids des parties aérienne de la plante et consécutivement une diminution de 13% de la hauteur de tige. Par contre les traitements fongicides n'ont eu aucun effet significatif sur ces caractères.

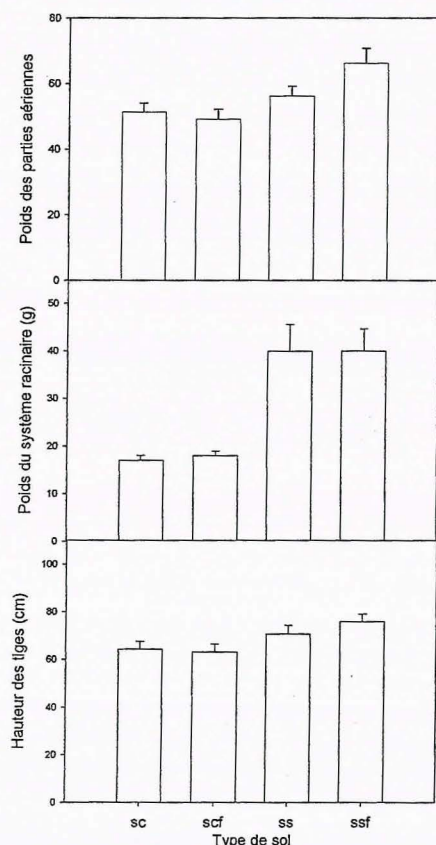


Figure 1 : Effet des différents traitements sur la croissance des plants de canne à sucre (sc = sol canne ; scf = sol canne + fongicide ; ss = sol stérile ; ssf = sol stérile + fongicide ; Barres d'erreur = erreur standard)

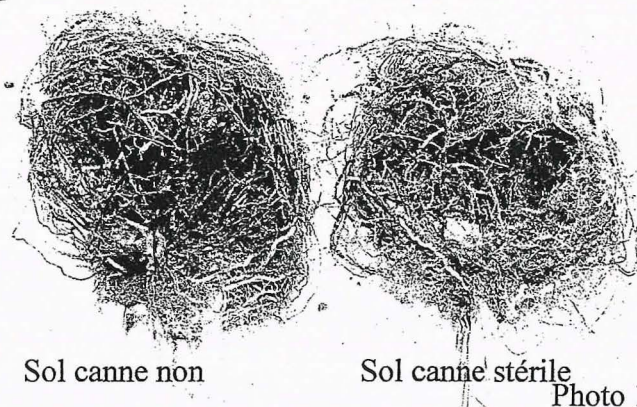
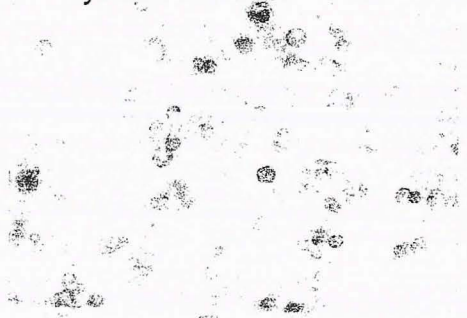
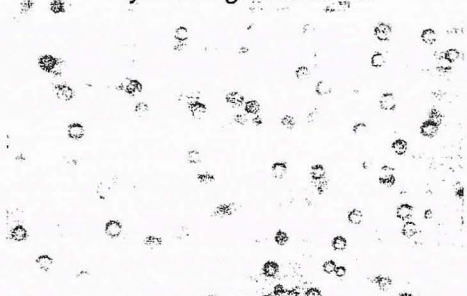


Photo 1

Pythium arrhenomanes



Pythium graminicola



Contamination des racines et identification des champignons.

La longueur de racine, à partir de laquelle des croissances de champignon dans le milieu culture synthétique ont été observé, est identique quel que soit le traitement effectué. Par contre nombre d'isolats correspondent à des champignons du sol non pathogène tels que *Trichoderma* et *Gliocladium*. La présence massive de ces champignons a probablement masqué la présence d'autres champignons pathogènes. Quoiqu'il en soit des isolats de champignons pathogènes ont été identifiés à partir de racines de plantes provenant de sol non stérile traité ou non traité avec le fongicide mais pas des racines issues de sol stérile. Les champignons identifiés sont *Pythium arrhenomanes* et *Pythium graminicola* (photo 1 et 2).

Conclusion :

Les agents telluriques réduisent fortement la croissance des racines et le poids des plantes. Le traitement fongique choisi n'était pas adapté aux pathogènes en présence. La qualité du milieu ARP doit être contrôlée afin d'éviter la présence des champignons non pathogènes type *Trichoderma*.

Des essais complémentaires doivent être menés pour confirmer la présence d'agents pathogènes telluriques et les identifier. Ces travaux sont prévus pour 2005.

➤ **Opération n°1. Contrôle des maladies de la canne à sucre.**

➤ **Action n°3 : *Coopération avec les pays des Caraïbes***

Chercheur : Jean Heinrich DAUGROIS.

Objectifs : développer la coopération dans la zone caraïbe quant aux études concernant les maladies de la canne à sucre

↪ **Central Romana, Rep. dominicaine :**

Depuis 2001, le Cirad Guadeloupe soutient Central Romana quant à l'évaluation de l'étendue du rabougrissement des repousses dans leur zone de production. Les premières observations montrent que la maladie est bien présente sur le site de Central Romana en république dominicaine. Le taux d'infection mesurée a varié de 1,2 à 4,7 % de tige infectées en 2001 et 2002. Ces observations ont aussi permis d'identifier une variété particulièrement sensible à la maladie, CR80 291.

En 2003, 55 parcelles ont été testées (soit 1650 échantillons), et 4,4% des empreintes étaient positives. Les résultats confirment aussi la sensibilité de la variété CR80 291 dont 29 des 30 échantillons d'une des parcelles testées étaient positifs. Les autres variétés ne montrant que peu de tiges contaminées.

Suite à ces observations, Central Romana a remis en route son bac de traitement de thermothérapie pour alimenter un schéma de multiplication de boutures assainies.

Pour 2004, la suite de la collaboration sera centrée sur le contrôle des plantes assainies et la mise en place d'un essai pour évaluer les pertes financières liées à la maladie.

↪ **Jamaïque :**

En 2003, un technicien du SIRI Jamaïque a été formé au laboratoire de Roujol pour la réalisation d'empreinte de tige pour le diagnostic du rabougrissement des repousses. Fin 2003, 360 échantillons ont été réalisés par empreinte de tige en Jamaïque et envoyés pour traitement immunologique en Guadeloupe. Le diagnostic sera réalisé début 2004.

➤ **Opération n°2. Appui de la pathologie à l'amélioration variétale.**

➤ **Action n°1 :** ***Criblage des variétés en cours de sélection pour la résistance aux principales maladies.***

Chercheur : **Jean Heinrich DAUGROIS.**
Techniciens : Rosiane BOISNE-NOC, Steeve JOSEPH.
VCAT : Myriam Siegwart (jusqu'au 30/09/2003).

Objectifs : Application des tests de criblage pour l'évaluation de la résistance aux maladies des clones en cours de sélection afin d'éviter de sélectionner et de distribuer aux partenaires et aux planteurs des variétés trop sensibles.

Descriptif de l'action :

Les variétés en cours de sélection au CIRAD sont actuellement testées pour leur résistance au charbon (*Ustilago scitaminea*), à l'échaudure des feuilles (*Xanthomonas albilineans*) et au rabougrissement des repousses (*Clavibacter xyli* subsp. *xyli*).

L'échaudure des feuilles, dont l'agent causal est une bactérie vasculaire (*X. albilineans*) est une maladie qui comporte des phases de latence, sans expression de symptômes, alors que l'agent pathogène est présent dans la plante. Afin de garantir une résistance suffisante des variétés en cours de sélection, un indexage des clones est effectué après inoculation avec comme base de criblage la symptomatologie et l'intensité de colonisation des plantes par la bactérie.

Le rabougrissement des repousses est une maladie bactérienne vasculaire dont l'agent causal est *Clavibacter xyli* subsp. *xyli*. Cette maladie ne présente aucun symptôme caractéristique et les infections ne peuvent être déterminées que par diagnostic spécifique. Cette maladie se propage lors du bouturage ou de la coupe. Les techniques de lutte consistent à limiter l'extension de la maladie en suivant les préconisations sanitaires et en évitant de cultiver les variétés trop sensibles. Ceci nécessite de connaître le degré de résistance des variétés sélectionnées.

Le charbon, maladie fongique causée par *U. scitaminea*, s'exprime naturellement au champ au fil des repousses et des replantations de matériel infecté. Les observations effectuées lors des premières étapes de sélection sont insuffisantes et nécessitent un complément d'information pour cette maladie. Une étude des variétés, en cours de sélection, effectuée dans des conditions de forte pression parasitaire et sur plusieurs cycles de récolte est nécessaire.

Les valeurs obtenues après 3 années d'observation pour le charbon et le rabougrissement des repousses, et 1 année pour l'échaudure des feuilles, permettent d'évaluer les clones suivant l'échelle de notation suivante :

	----- 1 très résistant
2 résistant -----	----- 3 résistant
	----- 4 tolérant
5 intermédiaire-----	----- 6 légèrement sensible
	----- 7 sensible
8 sensible-----	----- 9 très sensible

Le descriptif des essais est donné en annexe 2

Résultats :

Après 3 cycles d'observation, les tests de résistance au charbon se sont achevés pour 45 clones de la série FR96, dont 13 ont été notés sensibles au charbon et devront être éliminés du schéma de sélection si ces clones y sont encore présents et 14 clones sont à surveiller quant à leur sensibilité au charbon.

Le test de résistance à l'échaudure des feuilles a été appliqué à 97 clones des séries FR98 et FR99. L'infection moyenne de l'essai est très élevée et la sensibilité des clones sélectionnés devra être confirmée avant retrait. En revanche un clone c'est avéré très sensible et doit être éliminé (FR99.096)

Après 3 années d'observation, le criblage pour la résistance au RSD s'est achevé pour 107 clones des séries FR95 et FR96 et 3 variétés prometteuses. Deux clones de la série FR96 (FR96 0018 et FR96 0047) sont très sensible au RSD, FR96 0047 en cour de sélection devra être éliminée. Deux des variétés prometteuses sont résistantes au RSD (FR87 166 et FR83 2034).

Tableau 1 : Rappel des tests effectués en 2003 sur les séries en essais.

Série	Nombre de clones *	rabougrissement des repousses	échaudure des feuilles	charbon	observation
FR 95	64	Terminé en 2003		Terminé en 2002	Plantation octobre 1999
FR 96	Xa, char : 45 RSD : 46	Terminée en 2003	Terminé en 2001	Terminé en 2003	Plantation juin 2000
FR 97	52	Année 2	Terminé en 2002	Année 2	Plantation mai 2001
FR 98	37	Année 1	Terminé en 2003	Année 1	Plantation mai 2002
FR 99	60	Année 1	Terminé en 2003	Année 1	Plantation mai 2002
FR 2000	47	En cours	En cours	En cours	Plantation juin 2003
FR 2001	54	En cours	En cours	En cours	Plantation juin 2003

* Incluant les clones testés qui sont en fin de sélection.

Les résultats détaillés des tests terminés en 2003 sont donnés en annexes (3 à 6). Les résultats des variétés en fin de sélection et variétés prometteuses sont données en annexe 7.

➤ **Opération n°2. Appui de la pathologie à l'amélioration variétale.**

☞ **Action n°2 : Amélioration de l'efficacité de la sélection pour la création de variétés résistantes aux maladies**

Chercheur : Jean Heinrich DAUGROIS.
Stagiaire : Carine EDON

Objectif : Augmenter l'occurrence de variétés résistantes.

☞ **Etude de la résistance variétale au rabougrissement des repousses.**

Etude réalisée dans le cadre d'un stage de maîtrise des populations et des écosystèmes UFR Sciences exactes et naturelles par Mlle Carine EDON.

Résumé du rapport de stage :

Afin de garantir la production de canne à sucre (*Saccharum* sp.), la Guadeloupe s'est dotée d'un programme d'amélioration variétale. Au cours de cette sélection, après trois stades, les variétés sélectionnées sont testées pour la résistance au Rabougrissement des Repousses.

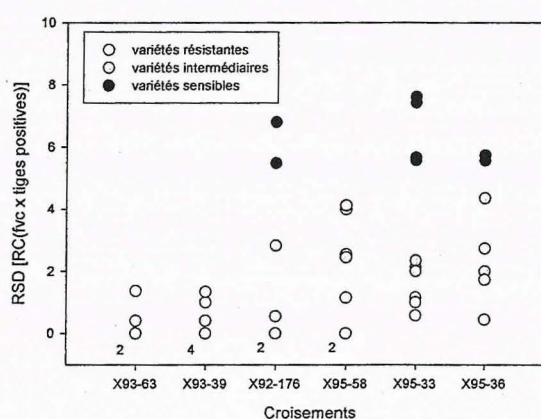
La résistance est évaluée par test sérologique, en dénombrant le nombre de faisceaux vasculaires colonisés et le nombre de tiges contaminées par *Clavibacter xyli xyli* (agent causal du Rabougrissement des Repousses), diagnostiqués par Immuno-empreinte.

Le but de l'étude est d'utiliser ces résultats pour évaluer les croisements et les parents afin de déterminer lesquels génèrent une descendance résistante. Ainsi, il serait possible de choisir les géniteurs à utiliser, afin que les croisements les plus prometteurs soient réalisés à l'avenir.

Lors de ce travail, il a été déterminé que la valeur moyenne des clones peut varier fortement d'une année à l'autre, par conséquent, seuls ont été pris en compte les séries de tests ayant des résultats similaires. L'analyse de ces résultats montre que le croisement a une influence significative sur la résistance des clones. Le nombre de clones issus d'un même parent s'est avéré insuffisant pour une analyse statistique correcte par conséquent, l'influence des parents n'a pu être mise en évidence.

L'utilisation de ces résultats pour conseiller le généticien dans le choix des parents n'est donc pas encore possible.

Evaluation de la résistance des variétés de canne à sucre en fonction de leur origine (croisement)



MOTS CLE :

Rabougrissement des repousses - Canne à sucre - Résistance variétale - *Clavibacter xyli* subsp. *xyli* (*Leifsonia xyli* subsp. *xyli*) - Guadeloupe.

➤ Opération n°3. Epidémiologie de l'échaudure des feuilles.

➤ Action n°1 : Dissémination aérienne de *Xanthomonas albilineans*.

Chercheur : Jean Heinrich DAUGROIS.

Techniciens : Rosiane BOISNE-NOC, Steeve JOSEPH.

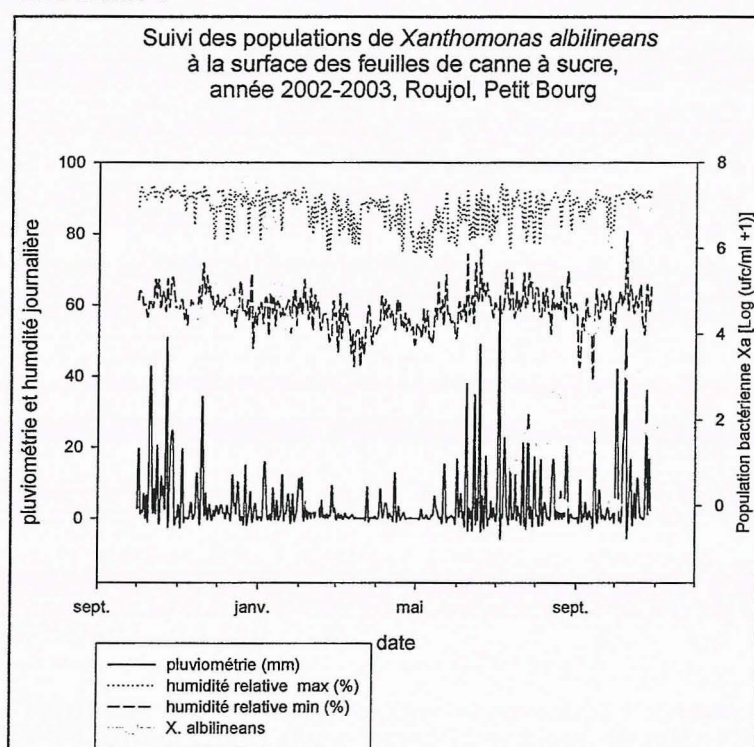
Objectif : En Guadeloupe, la phase épiphyte de *X. albilineans* joue un rôle important dans la contamination des plants de canne à sucre par cette bactérie (confer rapport 2000-2002). Cette phase épiphyte est fortement liée au climat. L'objectif de notre étude est de mieux définir le rôle du climat dans cette phase épiphyte. Pour cela, un suivi constant des populations disponibles à la surface des feuilles est réalisé.

Descriptif de l'action :

Lorsque disponibles à la surface des feuilles, 3 fois 1 ml de gouttes de rosée sont prélevées chaque semaine sur des plants de canne à sucre âgés de 3 à 9 mois en bordure de parcelle sur la variété B80 08. Le nombre de bactéries cultivables (*Xanthomonas albilineans*) est dénombré après étalement sur milieu spécifique d'un échantillon de 50 µl de chaque prélèvement et de leur dilution au 1/10 et 1/100.

Les données météo sont obtenues à partir d'une station météo automatique située sur la station du Cirad-ca à Roujol.

Résultats :



Cette première année d'observation couvre la période de début octobre 2002 à fin octobre 2003. Durant la saison des pluies 2002, les densités de populations de *Xanthomonas albilineans* présentes dans l'eau à la surface des feuilles ont varié de 20 mille à 30 millions de bactéries par ml d'eau en fonction des dates de prélèvement. Fin janvier 2003 avec l'arrêt des pluies et le début du carême les bactéries n'étaient plus décelables à la surface des feuilles. Après le retour des pluies en juillet 2003, les populations de *X. albilineans* sont apparues à la surface des feuilles dès le mois d'août. Mais la présence de populations élevées à la surface des feuilles est erratique pendant la saison des

pluies 2003 probablement à cause d'un mois de septembre plutôt sec et des pluies discontinues. Quoiqu'il en soit, pendant cette saison, les populations de *X. albilineans* à la surface des feuilles ont varié de 0 à 10 millions de bactéries par millilitre d'eau prélevé à la surface des feuilles.

➤ **Opération n°3. Epidémiologie de l'échaudure des feuilles.**

➤ **Action n°2 :** Capacité colonisatrice et diversité génétique de *Xanthomonas albilineans*.

Chercheur : Jean Heinrich DAUGROIS.
Thésard : Patrice CHAMPOISEAU

Objectif : L'objectif de l'étude est d'étudier et de mettre en évidence des relations entre la variabilité génétique et la biodiversité de *Xanthomonas albilineans* en Guadeloupe, et ce par rapport à la variabilité mondiale de cette bactérie pathogène de la canne à sucre.

Durée : 3 ans

Résumé des résultats, année 1 :

Une collection regroupant 147 souches de *X. albilineans* originaires de Guadeloupe a été constituée. Les souches ont été prélevées dans plusieurs zones géographiques distinctes de l'archipel et sur plusieurs cultivars de canne à sucre. Des colonies bactériennes ont été isolées sur milieu de culture à partir de dilacérations foliaires ou de centrifugations de tiges de canne à sucre puis mises en culture et stockées au congélateur à -20°C sous formes de suspensions aqueuses.

Trois groupes sérologiques ont été identifiés chez *X. albilineans* : le sérovar I (le plus répandu dans le monde), le sérovar II (que l'on trouve essentiellement en Afrique et dans les Mascareignes) et le sérovar III (présent dans les îles des Caraïbes et en Asie). Les 147 souches de *X. albilineans* prélevées en Guadeloupe pour cette étude appartiennent au sérovar I.

La quantité d'albicidine, toxine, produite *in vitro* par chacune des souches de la collection a été mesurée au moyen d'un bio-essai basé sur la capacité de l'albicidine à inhiber la croissance d'autres bactéries, en l'occurrence *Escherichia coli*. Nous avons ainsi observé une grande variabilité de la quantité d'albicidine produite par les différentes souches. Les souches de *X. albilineans* ayant produit des quantités différentes d'albicidine ont été sélectionnées afin de vérifier la répétitivité des résultats et pour identifier des variants de production d'albicidine (albivars).

L'ADN génomique total de 139 souches de *X. albilineans*, originaires de 27 zones géographiques distinctes (dont 62 souches issues de Guadeloupe), a été digéré avec deux enzymes de restriction (HincII et PstI). Il a ensuite été hybridé selon la technique RFLP avec le plasmide pALB571. Ce plasmide contient huit des dix-sept gènes impliqués dans la biosynthèse de l'albicidine. Dix haplotypes distincts et deux groupes génétiques majeurs, nommés ALB-RFLP571-A et ALB-RFLP571-B, ont été identifiés. La majorité des souches de *X. albilineans* originaires de zones géographiques ou une recrudescence de l'échaudure des feuilles a été signalée ces dernières années appartiennent au groupe ALB-RFLP571-B. C'est aussi le cas des 62 souches originaires de Guadeloupe. Ces travaux ont été réalisés au laboratoire IGEPAM du Cirad Montpellier.

L'étude de la variabilité de séquences répétées au sein du génome de *X. albilineans* grâce à la technique REP-PCR est en cours. Des résultats préliminaires ont permis

d'identifier des profils polymorphes sur la base de 10 à 15 bandes obtenues chez les souches originaires de Guadeloupe. La reproductibilité de ces résultats est à vérifier.

Parmi les 147 souches de *X. albilineans* prélevées en Guadeloupe, 75 souches ont été sélectionnées sur la base de la quantité d'albicidine produite *in vitro* et de leur origine géographique dans l'archipel. Un essai sous serre a été mis en place en Guadeloupe et des plants du cultivar de canne à sucre B69566, réputé sensible à la maladie, ont été inoculés avec les 75 souches par la méthode de décapitation-dépôt d'inoculum. L'objectif de cet essai est d'identifier des variants de pathogénie parmi ces souches en analysant l'intensité des symptômes foliaires provoqués par la maladie et la densité des populations bactériennes à différents niveaux de la tige de canne à sucre. La récolte des données pour cet essai est prévue pour mi-janvier 2004. Un deuxième essai a été amorcé pour contrôler la répétitivité des résultats.

➤ **Opération 4 : Etude de la maladie du jaunissement des feuilles causée par le 'Sugar Cane Yellow Leaf Virus' ou SCYLV.**

➤ **Action n°1 : Epidémiologie du SCYLV**

Chercheur : Jean Heinrich DAUGROIS.
Techniciens : Rosiane BOISNE-NOC, Steeve JOSEPH.
VCAT : Myriam Siegwart (jusqu'au 30/09/2003).

Objectif : Etudier la propagation du SCYLV (*Sugarcane Yellow Leaf Virus*) et la dynamique de la population de pucerons en conditions naturelles, dans une parcelle saine à la plantation.

Descriptif de l'action :

Des symptômes de jaunissement des feuilles, accompagnés d'une plus ou moins forte baisse de rendement ont été signalés à Hawaii en 1988 et vers le début des années 1990 au Brésil (variété SP71 6163). En 2000 la maladie des feuilles jaunes (anciennement YLS ou Yellow Leaf Syndrome) a été observée dans plus d'une vingtaine de pays répartis sur tous les continents.

Le symptôme principal de cette maladie est le jaunissement plus ou moins prononcé de la nervure centrale de la face inférieure des feuilles, le limbe restant généralement vert, et, pour certaines variétés, une coloration violette de cette même nervure, face supérieure. Le jaunissement n'est pas spécifique de la maladie, il peut être induit par un déséquilibre nutritionnel, un stress hydrique ou thermique, l'initiation florale, l'approche de la maturité.... Il est donc difficile de détecter la maladie sur de seuls critères visuels.

Un des agents causals de la maladie des feuilles jaunes est un lutéovirus à ARN simple brin, appelé le Sugarcane Yellow Leaf Virus ou SCYLV. Des phytoplasmes pourraient aussi générer cette maladie.

Le virus est disséminé par la plantation de boutures infectées et par des insectes vecteurs. Le virus est alors transmis selon le mode circulant persistant par des pucerons.

Afin de déterminer les risques de contaminations de plants assainis et de définir des moyens de lutte, la dissémination du virus dans les conditions tropicales de Guadeloupe a été étudiée sur une parcelle de plants sains, à l'origine, d'une variété sensible, SP71-6163. Afin de mieux comprendre cette dissémination des observations concernant l'insecte vecteur ont aussi été réalisées. Le descriptif des travaux effectués et des modalités de mesures est donné en annexe 8.

RESULTATS

Contamination de la parcelle par le SCYLV

Les premiers échantillons de feuilles diagnostiqués positif au SCYLV apparaissent au cours du 4^{ème} mois après plantation (12 à 16 semaines). Le taux de contamination des échantillons prélevés lors de la conduite de l'essai reste faible (maximum 8%) et oscille autour de la valeur moyenne de 6%, valeur réelle à 25 semaines, obtenue en échantillonnant une feuille sur chacune des touffes de la parcelle. Si la contamination stagne autour de 6% lors des dernières observations effectuées en canne plantée, le taux d'échantillons positif est de 21% dès la 4^{ème} semaine après la coupe. La cause de cet accroissement entre les deux

Infestation d'une parcelle de canne à sucre par *Melanaphis sacchari* et contamination des plants par le SCYLV en canne plantée et en première repousse.

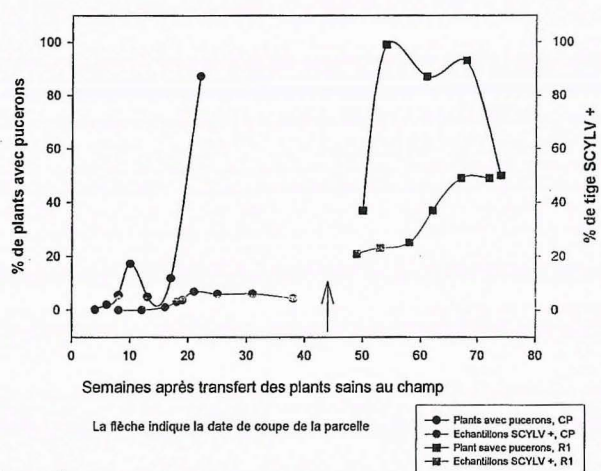
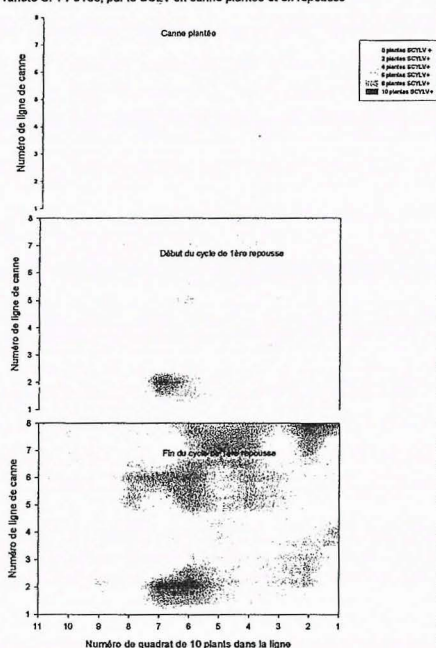


Figure 1

Cartographie parcellaire de la contamination d'un champ de canne à sucre, variété SP71 6163, par le SCLV en canne plantée et en repousse



L'étude de la répartition des plantes contaminées sur la parcelle montre qu'en canne plantée, la contamination des plantes semble aléatoire sauf la première ligne jouxtant les plantes infectées qui a un pourcentage de plants contaminés supérieur aux autres lignes et la partie Est de la parcelle qui est moins contaminée. De plus, sur 118 plantes positives, seuls 6 foyers contenant 2 à 4 plantes positives successives, ont été observés, soit 14% des plantes.

En repousse les premières observations montrent un caractère agrégatif des échantillons positifs dont la répartition n'est pas uniforme. La plupart des contaminations s'effectuent à partir des foyers primaires notés en canne plantée. En début de cycle 66% des échantillons contaminés ont été prélevés sur des plantes consécutives. La partie Est de la parcelle, au vent, reste la zone la moins contaminée.

Répartition du virus dans la plante

Les différents échantillonnages ont été réalisés en prélevant une seule feuille par touffe. Nous avons voulu vérifier si le résultat obtenu sur cette unique feuille était représentatif de l'état phytosanitaire de l'ensemble de la plante. Pour ce faire une feuille est prélevée sur chaque tige de canne à sucre sur l'ensemble de la touffe identifiée.

Résultats de l'analyse des plantes (touffes) effectuée sur 37 plantes en canne plantée et 19 plantes en 1^{ère} repousse.

Cycle de culture	% de tiges positives sur plant identifié. positif		% de tiges positives sur plant identifié négatif
	en CP	en R1	
Canne plantée	79,4 %	-	8,7 %
Première repousse	96,7 %	48,6 %	1,8 %

En canne plantée, pour les plants diagnostiqués positifs, la plupart des tiges sont contaminées. En revanche sur les 21 touffes négatives, 4 ont 30 à 50% de tiges positives. Ces plants sont probablement en cours de contamination.

En première repousse, les touffes contaminées en canne plantées ont pratiquement toutes les tiges positives, par contre pour les plants contaminés en repousse seul la moitié des tiges sont positive. Les tiges positives sont alors regroupées selon le tallage secondaire de la plante. En repousse les touffes ne peuvent plus être considérées comme une seule entité 'plante'.

Observation des symptômes

En canne plantée, les symptômes ne sont apparus que tardivement, bien après la détection du virus par TBIA. Ce n'est qu'à la 24^{ème} semaine (6 mois) après plantation que le premier symptôme est apparu sur la ligne contiguë aux bandes contaminées. Les colorations violettes et jaunes de la nervure, typiques de cette maladie sur cette variété, étaient bien visibles. Un mois plus tard, de nouveaux symptômes, plus discrets, étaient visibles sur une autre touffe, toujours située sur cette même ligne. Cependant, ces symptômes restent rares ou très peu visibles.

En repousse des symptômes de jaunissement sont apparus 5 mois après la récolte, en période de carême.

Suivi des populations de pucerons

Identification des pucerons :

Deux espèces de pucerons ont été identifiées :

Le plus fréquent est *Melanaphis sacchari* (famille des Aphididae, sous famille des Aphidinae, tribu des Aphidini). C'est un puceron couleur crème à jaunâtre de 1,1 à 2 mm de long, que l'on peut rencontrer essentiellement sur des graminées (sorgho, canne à sucre), aussi bien sous la forme aptère qu'ailée. Il est largement représenté dans les zones tropicales et subtropicales.

Le puceron *Sipha flava* (famille des Aphididae, sous famille des Chaitophorinae, tribu des Atheroidini) est moins abondant dans la parcelle, et n'est apparu que sporadiquement.

Melanaphis sacchari est vecteur du SCYLIV. En revanche, *Sipha flava* serait incapable de le transmettre. Seul les populations de *Melanaphis sacchari* seront dénombrées.

Localisation des pucerons sur la plante

Melanaphis sacchari est situé sur la face inférieure des feuilles. A de rares exceptions près, il a toujours été observé sur les feuilles âgées, au bas de la tige, et ce, quel que soit l'âge de la plante.

Selon l'abondance de ce puceron dans la parcelle, on observe des individus isolés (aptère ou ailés), des regroupements en petites colonies (d'une dizaine à une cinquantaine d'individus) ou en gros amas de plusieurs centaines d'individus où il est impossible de différencier des colonies.

Evolution de la population de *Melanaphis sacchari* :

En canne plantée, les premiers pucerons apparaissent rapidement dans la parcelle, un mois seulement après plantation, sur des vitro plants qui commencent tout juste à se développer. Jusqu'à 10 semaines après le transfert des plants au champ, les pucerons se rencontrent en majorité dans un triangle au sud-ouest de la parcelle. Au-delà de cette date, toute la parcelle est envahie plus ou moins régulièrement. Au bout de 22 semaines, l'envahissement de la parcelle est quasi total (87%) (figure 1), et le nombre de pucerons est très important (plus de 100 000).

En repousse, 6 semaines après la plantation, *Melanaphis sacchari* est présent sur près de la moitié des plantes en début de cycle puis sur pratiquement toutes les plantes lors des 3 observations suivantes puis le nombre de plantes infestées diminue pratiquement de moitié (figure 1). Nombre de prédateurs sont présents sur la parcelle et peuvent jouer un rôle sur les variations observées.

Le nombre moyen de pucerons observés sur une touffe a varié en canne plantée de 4 à 70 individus par plantes en fonction de la période d'observation. Deux pics sont observés, 1 a 10 semaine (50 pucerons/touffes infestées) et un à 22 semaines (70 pucerons/touffes infestées). Ces deux pics correspondent aux périodes de croissance de la population relevée sur la parcelle (figure 1).

En repousse, les populations moyennes par touffe infestée ont varié de 20 pucerons en début de cycle à 140 pucerons, 2 mois après la coupe. Puis le nombre d'individus a diminué pour retrouver au bout de 6 mois son niveau de départ, soit environ 20 pucerons en moyenne par touffe infestée. Les populations de pucerons adultes ailés susceptibles de migration à plus grande distance ont suivi la même courbe d'évolution avec un maximum 2 mois après la coupe.

Discussion et Conclusion

L'apparition du SCYLV sur la variété SP71-6163, saine à la plantation, est rapide et semble aléatoire la première année. Le virus est détecté dès 4 mois après le transfert des plants au champ. Par contre le degré de contamination reste faible en canne plantée et semble se stabiliser autour de 6%. En canne plantée, l'évolution géographique de l'apparition des pucerons et de celle du SCYLV sont similaires, et le palier de 6% de touffes malades apparaît conjointement au pic d'envahissement par les pucerons.

En revanche, en repousse, la contamination des plants par le SCYLV est rapide, la moitié des cannes à sucre de la variété sensible SP71-6163 est contaminée. Cette progression considérable est sans doute due à la forte population de *Melanaphis sacchari* présente cette année là. L'étude de la propagation du virus en repousse montre qu'il s'agit ici d'une contamination secondaire en foyers. Cela pourrait s'expliquer par l'enchevêtrement des touffes voisines dont les feuilles se touchent, facilitant ainsi la migration des pucerons de plante à plante. Le virus étant présent au sein même du champ, la dispersion du virus n'en est que plus rapide. Le seuil de 50% de tiges positives semble stable à la fin de la saison pour des raisons qui peuvent être attribuées à la diminution du nombre de vecteurs, régulés par les prédateurs ou à la croissance des tiges de cannes à sucre qui lorsque la couverture végétale est totale, limite le déplacement des pucerons ailés.

D'après ces résultats, le SCYLV serait un ennemi potentiellement dangereux pour des variétés sensibles de canne à sucre. Même si aucune notation sur le rendement n'a été faite dans cet essai, quelques observations concernant des plantes gravement infectées laisse supposée un impact sur la production. Quoiqu'il en soit, nous avons mis en évidence la rapidité de propagation du virus qui représente un danger pour les variétés sensibles.

Un deuxième essai a été mis en place pour confirmer et étudier la variabilité de telles observations et tenter d'explicitier la croissance du taux de contamination des plantes entre les 2 cycles de culture.

➤ **Opération 4 : Etude de la maladie du jaunissement des feuilles causée par le 'Sugar Cane Yellow Leaf Virus' ou SCYLV.**

↪ **Action n°2 : Impact sur le rendement**

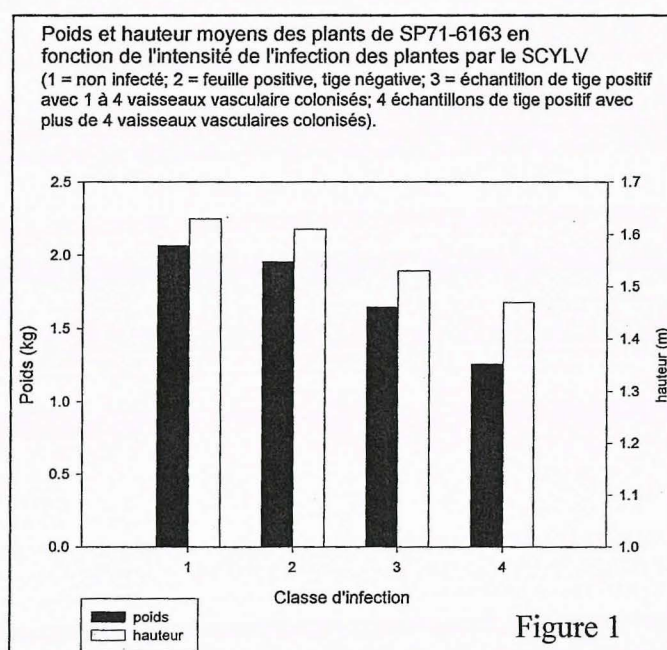
Chercheur : Jean Heinrich DAUGROIS.
Techniciens : Rosiane BOISNE-NOC, Steeve JOSEPH.
VCAT : Myriam Siegwart (jusqu'au 30/09/2003).

Objectif : Depuis la détection du SCYLV en Guadeloupe (en 1996), aucune information n'est disponible sur son impact sur la production en Guadeloupe. En attendant la production de matériel végétal adéquat pour tester des variétés adaptées à la Guadeloupe, un essai préliminaire concernant une variété sensible, SP71-6163 a été mis en place.

Descriptif des travaux :

Des boutures de SP71-6163 issus de plants sains et de plants infectés par le SCYLV ont été plantés sous serre. La contamination des plantes par le SCYLV a été contrôlée pendant toute la durée de cet essai. Après 5 mois de culture, chaque plant a été pesée, la qualité évaluée par la mesure du brix en bas et en haut de tige. La contamination de la plante a été estimée par immunoempreinte de la nervure centrale de la première feuille a ocréa visible et d'un échantillon de 1 cm de diamètre du bas de tige. Les vaisseaux vasculaires contaminés par le virus ont été dénombrés. Le descriptif détaillés des méthodes utilisées est donné en annexe 9.

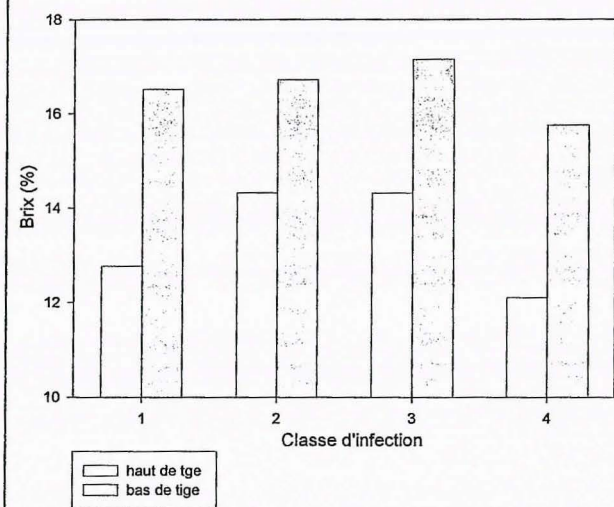
Résultats :



Pour des raisons non déterminées, la croissance des plantes ont variées dû à leur localisation dans la serre, augmentant ainsi la variation intrinsèque de l'essai sur les données de mesures (poids et hauteur de tiges) et ne permettant pas de valider statistiquement l'effet de la maladie sur ces données. Quoiqu'il en soit on observe des baisses de rendement (poids des plantes, hauteur de tige) qui augmente en fonction de la quantité de vaisseaux vasculaires colonisés dans la tige (figure 1). Pour les plantes les plus infectées, le poids de matière végétal diminue de 39% et la croissance des tiges de 10% par rapport aux plantes non infectées. Ces résultats suggèrent que les pertes de productions sont essentiellement liées à la charge virale

présent dans la tige.

Brix moyens des plants de SP71-6163 mesuré en haut et en bas de tige, fonction de l'intensité de l'infection des plantes par le SCYLV (1 = non infecté; 2 = feuille positive, tige négative; 3 = échantillon de tige positif avec 1 à 4 vaisseaux vasculaire colonisés; 4 échantillons de tige positif avec plus de 4 vaisseaux vasculaires colonisés).



Concernant l'impact de la maladie sur la qualité de la canne à sucre, évaluée par la mesure du brix, nous avons observé que, pour cette variété, lorsque le taux de contamination est faible, la valeur du brix augmente. En revanche, cette augmentation n'est que transitoire, en effet lorsque la quantité de virus présent dans la tige devient importante, la qualité du jus extrait de canne semble se détériorer et est légèrement inférieure à celui des plantes saines (figure 2) que ce soit pour les mesures effectuées en haut ou en bas de tige.

Conclusion :

Il est indéniable que cette maladie peut avoir un impact négatif sur le rendement

et la qualité de la canne à sucre. En revanche les dégâts causés par cette maladie semble liés à la quantité de virus présent dans la plante. Ce point est important à développer notamment pour estimer les critères de résistance à considérer en sélection variétale.

Annexe 1

O1A2 : Etude des agents pathogènes telluriques de la canne à sucre

Fiche technique

Matériel et méthodes :

Descriptif de l'essai :

Terre : Sol horizon 0-10 cm, prélevé sur la station (bande D, Nord) au pied de plants de canne à sucre. La terre prélevée est mélangée v/v avec de la roche volcanique.

Plante : Variété B 8008, boutures issues de pépinière mère, mises à débourrer 15 jours sous serre puis plantées dans des pots de 4 l en respectant les traitements décrits ci-dessous. Fertirrigation goutte à goutte sous serre.

Date de plantation : 2 décembre 2002

Type de sol : Sol brut, sol stérilisé (3 heures à 100°C).

Traitement : Traitement fongicide, Pas de traitement

Bloc : 4 blocs contenant chacun les 4 modalités en randomisation totale (Sol brut, sol brut + fongicide, sol stérile, sol stérile + fongicide). Pour chaque modalité, 5 plantes sont utilisées par bloc.

Traitement fongicide : Trempage des boutures dans une solution de 1,083 g/l de propamocarbe hydrochloride (Proplant) avant plantation puis arrosage du pot avec 200ml de la même solution juste après plantation et 4 semaines plus tard.

Echantillonnage :

Douze semaines après plantation, les plantes sont dépotées, les racines lavées et pesées, la hauteur de la tige majeure est mesurée, le tallage relevé et la plante pesée (partie aérienne).

Pour chaque plante, 6 fois 5 cm de racine sont lavés dans de l'eau stérile (2 lavages de 20 min) et immergées dans le milieu de culture ARP (pour 1 l : 10g Agar de maïs, 10g de bacto Agar, et après autoclave : 15 mg de PCNB, 300 mg ampicilline, 10 mg rifampicine, 0,2 ml pimarinine).

Après 24 et 48 heures, la longueur de racine infectée par des champignons est évaluée. Les champignons issus des racines sont transférés sur milieu V8 (pour 1 l : 200 ml de jus V8, 2 g CaCO₃, 17 g de bacto Agar) par carottage d'échantillons de 0,5 cm de diamètre. Après 24 à 48 heures de croissance sur milieu V8, une carotte est déposée dans une suspension de sol filtrée (filtre de 0,2µm) pour sporulation et identification après 24 à 48 heures.

Annexe 2

O2A1 : Criblage des variétés en cours de sélection pour la résistance aux principales maladies

Fiche technique

Descriptif des essais :

Nombre de variétés :

Série FR 95 : 61 clones.
Série FR 96 : 45 clones.
Série FR 97 : 46 clones
Série FR 98 : 30 clones
Série FR 99 : 58 clones
Série FR 00 : 54 clones
Série FR 01 : 47 clones

Variétés FR en fin de sélection : 11 clones.

Variétés étrangères : 7

Parcelle élémentaire : 12 m² (2 lignes de 4 m). Sauf pour test RSD (1 ligne de 4 m).

Pas de répétition sauf pour les témoins.

Plantation : 15 boutures de 2 bourgeons par ligne de 4 m.

Charbon (*U. Scitaminea*) :

Les plantes sont inoculées par trempage de boutures dans une suspension de spores dosée à 10⁶ spores par ml. La résistance des plantes est évaluée par rapport au nombre de plantes malades qui présentent un fouet charbonneux. Les fouets sont dénombrés à plusieurs reprises pour chaque cycle de récolte : à 6, 8 et 10 mois en canne plantée et à 4 et 8 mois lors des 2 repousses suivantes.

Echaudure des feuilles (*X. albilineans*) :

Les plantes sont inoculées 5 mois après la plantation par la méthode de décapitation / aspersion. La suspension bactérienne utilisée est dosée à 10⁸ ufc (unité formant des colonies) par ml. Les symptômes sont notés à 1 mois sur les feuilles inoculées pour contrôler l'efficacité de l'inoculation et 3 mois après l'inoculation (IDM). La résistance des plantes est évaluée en fonction de la symptomatologie et de la colonisation de la tige par la bactérie.

Cinq mois après inoculation, 6 à 8 tiges sont échantillonnées par parcelle. Un extrait de jus est prélevé dans la partie inférieure (troisième entrenœud sous la zone d'inoculation) de chaque tige par centrifugation d'un morceau de tige de 2 cm de long. Pour chaque prélèvement un aliquote est déposé sur milieu de culture pour le dénombrement des populations bactériennes.

Rabougrissement des repousses (*C. xyli* subsp. *xyli*) :

Les plantes sont inoculées à la plantation. La technique d'inoculation consiste à tremper le couteau de coupe avant chaque section de bouture dans un broyat de plants infectés par Cxx et cultivés 'in vitro'. L'inoculum est dosé à environ $5 \cdot 10^6$ bactéries par ml.

En fin de chaque cycle, après 12 mois de culture, la contamination des plantes est contrôlée par test TBIA à raison d'un échantillon de 1 cm de diamètre prélevé dans le bas de 6 tiges par variété.

La résistance des plantes est estimée après 3 cycles de récoltes en fonction du nombre d'échantillons positifs et du nombre de vaisseaux vasculaires colonisés (vvc) par *C. xyli* subsp. *xyli*.

O2A1 : Criblage des variétés en cours de sélection pour la résistance aux maladies

Série :	FR 95,						
Résistance au Rabougrissement des repousses							
	Canne plantée		Première repousse		deuxième repousse		Résistance
variété	wc	Tige +	wc	Tige +	wc	Tige +	Note
FR 832034	0.0	0	0.0	0	0.0	0	2
FR 87166	1.0	1	1.3	2	0.0	0	3
FR90 0840	0.0	0	0.0	0	0.0	0	2
FR 95 0025	0.0	0	0.7	1	0.0	0	3
FR 95 0189	3.0	5	2.2	5	0.8	4	5
FR 95 0195	0.0	0	0.3	1	0.0	0	2
FR 95 0223	0.2	1	0.3	2	0.0	0	3
FR 95 0224	1.0	2	0.0	0	0.0	0	3
FR 95 0240	0.0	0	2.2	4	2.3	6	7
FR 95 0244	0.0	0	0.0	0	1.0	2	3
FR 95 0245	0.0	0	0.8	1	0.0	0	3
FR 95 0259	0.0	0	0.0	0	nd	nd	2
FR 95 0263	0.0	0	1.0	1	1.3	4	5
FR 95 0285	0.0	0	0.0	0	0.2	1	3
FR 95 0328	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0
FR 95 0355	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0
FR 95 0364	0.0	0	0.0	0	0.2	1	3
FR 95 0382	0.0	0	0.2	1	0.0	0	3
FR 95 0392	0.0	0	0.3	2	1.8	5	6
FR 95 0406	0.3	2	0.2	1	0.0	0	4
FR 95 0412	1.7	3	0.0	0	0.7	2	6
FR 95 0417	0.7	2	1.8	5	2.5	6	7
FR 95 0418	0.0	0	2.0	3	0.5	3	6
FR 95 0433	0.0	0	0.0	0	0.0	0	2
FR 95 0437	1.3	4	0.3	1	0.5	1	5
FR 95 0475	0.0	0	0.0	0	0.0	0	2
FR 95 0506	0.2	1	0.5	3	0.7	2	5
FR 95 0556	0.0	0	0.0	0	0.0	0	2
FR 95 0559	0.0	0	0.0	0	0.0	0	2
FR 95 0563	0.3	2	1.7	2	0.0	0	5
FR 95 0575	0.0	0	0.3	1	1.2	5	6
FR 95 0579	0.0	0	0.2	1	0.7	1	4
FR 95 0618	0.0	0	0.0	0	0.2	1	3
FR 95 0638	0.0	0	0.0	0	0.0	0	2
FR 95 0643	0.3	1	0.0	0	0.0	0	3
FR 95 0683	1.2	2	1.0	2	0.0	0	5
FR 95 0706	1.2	2	nd	nd	0.0	0	5
FR 95 0725	0.0	0	5.5	6	1.2	4	7
FR 95 2064	2.2	3	0.5	2	0.0	0	6
FR 95 2112	0.0	0	0.0	0	0.2	1	3
FR 95 2117	0.7	2	1.8	4	1.5	3	6
FR 95 2118	0.3	1	6.0	5	3.0	6	8
FR 95 2155	0.7	2	0.0	0	0.0	0	3
FR 95 2159	0.3	2	0.2	1	0.0	0	3
FR 95 2166	0.5	1	0.5	1	0.2	1	4
FR 95 2179	1.0	3	5.2	6	2.5	5	8
FR 95 2189	0.2	1	0.0	0	nd	nd	3
FR 95 2194	1.0	1	1.3	3	0.7	2	5
FR 95 2199	0.0	0	0.0	0	0.0	0	2
FR 95 2200	0.0	0	1.2	1	0.3	1	4
FR 95 2204	0.2	1	0.0	0	0.0	0	2
FR 95 2209	0.0	0	0.2	1	0.0	0	3
FR 95 2222	0.0	0	0.0	0	0.5	2	3
FR 95 2230	0.0	0	0.0	0	0.0	0	2
FR 95 2233	0.0	0	0.0	0	0.0	0	2
FR 95 2247	0.0	0	0.0	0	0.0	0	2
FR 95 2248	0.0	0	0.0	0	0.0	0	2
FR 95 2258	0.0	0	0.0	0	0.2	1	3
FR 95 2260	0.3	2	1.8	1	0.0	0	4
FR 95 2293	0.0	0	0.0	0	0.0	0	2
FR 95 2320	0.0	0	0.0	0	0.2	1	3
FR 95 2321	0.7	2	1.0	2	3.7	3	7
FR 95 2345	0.2	1	1.2	1	0.8	2	5
B80 08	0.0	0	0.0	0	0.0	0	2
B5992 (1)	0.0	0	0.0	0	0.0	0	2
B5992 (2)	0.0	0	0.0	0	0.3	1	3
R570(1)	0.0	0	0.0	0	0.0	0	2
R570 (2)	0.0	0	0.0	0	0.2	1	3
Moyenne	0.3	0.7	0.7	1.1	0.5	1.2	
wc : vaisseaux vasculaires colonisés							

O2A1 : Criblage des variétés en cours de sélection pour la résistance aux maladies

Série :	FR 96						
Test RSD : moyennes sur 6 tiges							
Variété	année 1, canne plantée		première repousse		deuxième repousse		Note
	wc	Tige +	wc	Tige +	wc	Tige +	
B 59 92 (1)	0.0	0	nd	nd	2.3	6	5
B 59 92 (2)			nd	nd	1.5	3	3
B 59 92 (3)			nd	nd	2.4	3	4
Fr 83 2035	4.2	4	nd	nd	9.8	6	9
Fr 96 0001	0.2	1	nd	nd	4.7	6	7
Fr 96 0003	0.8	1	nd	nd	3.5	5	5
Fr 96 0004	1.8	3	nd	nd	4.5	3	5
Fr 96 0008	0.0	0	nd	nd	8.2	6	8
Fr 96 0014	2.0	1	nd	nd	1.7	2	3
Fr 96 0015	0.0	0	nd	nd	5.3	5	7
Fr 96 0017	0.0	0	nd	nd	5.3	6	7
Fr 96 0018	1.2	2	nd	nd	10.3	6	9
Fr 96 0021	0.0	0	nd	nd	3.3	4	5
Fr 96 0022	0.2	1	nd	nd	7.2	6	8
Fr 96 0029	1.2	2	nd	nd	8.7	5	8
Fr 96 0031	0.3	1	nd	nd	3.2	5	5
Fr 96 0033	2.2	3	nd	nd	4.8	6	7
Fr 96 0034	3.3	6	nd	nd	6.0	5	8
Fr 96 0047		-	nd	nd	19.2	6	9
Fr 96 0053	0.3	2	nd	nd	8.5	6	8
Fr 96 0058	2.0	4	nd	nd	8.8	6	8
Fr 96 0062	1.0	3	nd	nd	5.7	6	7
Fr 96 0065	0.7	3	nd	nd	7.8	6	8
Fr 96 0067	0.0	0	nd	nd	1.2	3	3
Fr 96 0070	0.0	0	nd	nd	4.2	6	7
Fr 96 0074	0.0	0	nd	nd	5.7	6	8
Fr 96 0082	0.0	0	nd	nd	4.2	4	6
Fr 96 0083		-	nd	nd	1.2	3	3
Fr 96 0086	0.0	0	nd	nd	0.5	1	3
Fr 96 0087	2.2	1	nd	nd	2.8	4	5
Fr 96 0092	0.0	0	nd	nd	0.5	1	3
Fr 96 0094	0.0	0	nd	nd	3.3	4	5
Fr 96 0095	0.7	2	nd	nd	1.3	5	4
Fr 96 0120	0.2	1	nd	nd	4.5	6	7
Fr 96 0214	0.3	1	nd	nd	0.0	0	3
Fr 96 0226	3.3	1	nd	nd	5.2	6	7
Fr 96 0229	0.0	0	nd	nd	8.7	6	8
Fr 96 0238	0.0	0	nd	nd	2.3	5	5
Fr 96 0333	0.0	0	nd	nd	3.3	6	6
Fr 96 0405	0.0	0	nd	nd	0.5	2	3
Fr 96 0416	0.0	0	nd	nd	1.2	3	3
Fr 96 0418	0.0	0	nd	nd	5.2	6	7
Fr 96 0419	0.0	0	nd	nd	0.7	2	3
Fr 96 0423	2.2	3	nd	nd	5.7	5	7
Fr 96 0428	1.5	2	nd	nd	5.3	5	7
Fr 96 0512	0.0	0	nd	nd	8.0	6	8
Fr 96 0618	0.0	0	nd	nd	0.2	1	2
Fr 96 0626	0.3	1	nd	nd	4.3	6	7
Fr 96 0628	8.2	6	nd	nd	1.0	3	7
Nco 376	0	0	nd	nd	7.2	6	8
Moyenne	0.87	1.20			4.61	4.58	5.96

wc : vaisseaux vasculaires colonisés
tige + : nombre d'échantillons positifs sur 6.

Annexe 5

O2A1 : Criblage des variétés en cours de sélection pour la résistance aux maladies

Test de résistance au charbon série FR96																			
Les valeurs expriment le nombre de tiges charbonnées et de tiges totales observées pour chaque variété																			
(essai planté les 28 et 29 06/2000)																			
VAR	canne plantée									première repousse									
FR96	6 mois			8 mois			10 mois			4 mois			8 mois			4 mois			
	fouets	total	%	fouets	total	%	fouets	total	%	fouets	total	%	fouets	total	%	fouets	total	%	Note
B 69 379 (1)	0	82	0.0	0	80	0.0	0	85	0.0	0	110	0	2	94	2.13	0	109	0	3
B 69 379 (2)	0	90	0.0	0	86	0.0	0	79	0.0	0	114	0	0	88	0	0	128	0	2
FR 96 0001	0	103	0.0	0	103	0.0	0	101	0.0	0	15	0	0	13	0	0	36	0	2
FR 96 0003	0	72	0.0	0	74	0.0	0	72	0.0	3	117	2.56	10	100	10	3	123	2.44	7
FR 96 0004	0	117	0.0	0	110	0.0	0	106	0.0	0	132	0	0	127	0	0	123	0	3
FR 96 0008	0	116	0.0	0	121	0.0	0	120	0.0	1	124	0.81	2	109	1.83	4	119	3.36	5
FR 96 0014	2	96	2.1	2	92	2.2	2	76	2.6	0	115	0	2	122	1.64	4	121	3.31	5
FR 96 0015	8	124	6.5	8	113	7.1	6	110	5.5	13	117	11.1	0	111	0	5	123	4.07	8
FR 96 0017	6	127	4.7	7	120	5.8	8	100	8.0	0	104	0	0	98	0	2	139	1.44	6
FR 96 0018	3	107	2.8	5	101	5.0	0	95	0.0	2	102	1.96	0	99	0	0	133	0	3
FR 96 0021	0	94	0.0	0	90	0.0	1	88	1.1	0	96	0	1	78	1.28	0	113	0	3
FR 96 0022	2	103	1.9	3	98	3.1	2	101	2.0	2	107	1.87	1	93	1.08	0	101	0	5
FR 96 0028	0	61	0.0	0	68	0.0	0	66	0.0	0	70	0	0	67	0	0	61	0	2
FR 96 0029	0	84	0.0	3	80	3.8	3	74	4.1	0	83	0	7	86	8.14	5	108	4.63	8
FR 96 0031	0	93	0.0	0	83	0.0	0	80	0.0	0	113	0	1	103	0.97	0	119	0	3
FR 96 0033	0	180	0.0	0	187	0.0	0	150	0.0	1	149	0.67	0	105	0	0	172	0	3
FR 96 0034	1	105	1.0	0	103	0.0	0	99	0.0	0	118	0	0	112	0	1	117	0.85	3
FR 96 0047	0	120	0.0	0	120	0.0	0	108	0.0	0	124	0	0	115	0	0	138	0	2
FR 96 0053	3	121	2.5	5	115	4.3	3	91	3.3	5	127	3.94	2	85	2.35	0	77	0	6
FR 96 0058	9	86	10.5	10	89	11.2	10	78	12.8	4	88	4.55	6	88	8.82	1	54	1.85	8
FR 96 0062	8	122	6.6	4	114	3.5	3	96	3.1	0	104	0	4	93	4.3	3	108	2.78	7
FR 96 0065	0	144	0.0	0	140	0.0	0	134	0.0	0	151	0	0	127	0	4	135	2.96	5
FR 96 0067	0	112	0.0	0	106	0.0	0	101	0.0	0	102	0	0	89	0	0	68	0	2
FR 96 0070	1	104	1.0	1	109	0.9	0	110	0.0	0	93	0	0	86	0	0	136	0	3
FR 96 0074	1	76	1.3	3	81	3.7	1	86	1.2	2	104	1.92	0	90	0	0	117	0	4
FR 96 0082	0	42	0.0	0	39	0.0	0	45	0.0	0	62	0	0	55	0	0	43	0	2
FR 96 0085	0	87	0.0	0	80	0.0	0	81	0.0	0	78	0	0	74	0	0	83	0	2
FR 96 0087	0	107	0.0	0	107	0.0	0	100	0.0	1	88	1.14	0	72	0	0	94	0	3
FR 96 0092	0	92	0.0	0	99	0.0	0	92	0.0	0	89	0	1	74	1.35	4	72	5.56	4
FR 96 0094	3	64	4.7	1	81	1.2	0	74	0.0	0	74	0	0	47	0	0	66	0	3
FR 96 0095	0	130	0.0	0	117	0.0	0	108	0.0	0	90	0	2	72	2.78	0	57	0	3
FR 96 0214	2	119	1.7	4	116	3.4	3	117	2.6	2	134	1.49	2	105	1.9	1	139	0.72	5
FR 96 0220	1	88	1.1	0	90	0.0	0	81	0.0	0	98	0	0	67	0	3	69	4.35	5
FR 96 0229	10	95	10.5	9	89	10.1	7	85	8.2	6	106	5.66	2	92	2.17	7	128	5.47	8
FR 96 0238	0	126	0.0	0	122	0.0	0	122	0.0	9	151	5.96	1	142	0.7	1	147	0.68	5
FR 96 0333	0	26	0.0	0	33	0.0	0	33	0.0	0	13	0	0	18	0	0	81	0	2
FR 96 0405	4	105	3.8	7	107	6.5	6	104	5.8	2	123	1.63	2	106	1.89	1	154	0.65	8
FR 96 0416	12	95	12.6	10	89	11.2	6	78	7.7	9	128	7.03	3	95	3.16	0	141	0	7
FR 96 0418	6	116	5.2	9	115	7.8	4	104	3.8	6	142	4.23	23	126	18.3	3	134	2.24	9
FR 96 0419	0	130	0.0	0	122	0.0	0	120	0.0	12	151	7.95	3	107	2.8	5	135	3.7	7
FR 96 0423	3	47	6.4	1	56	1.8	1	55	1.8	0	88	0	0	67	0	0	97	0	6
FR 96 0428	0	93	0.0	0	88	0.0	0	81	0.0	2	93	2.15	4	100	4	0	116	0	6
FR 96 0512	11	90	12.2	13	94	13.8	4	76	5.3	0	56	0	1	47	2.13	0	91	0	7
FR 96 0619	1	110	0.9	1	97	1.0	0	97	0.0	2	117	1.71	0	111	0	3	134	2.24	6
FR 96 0620	0	97	0.0	0	92	0.0	0	91	0.0	1	120	0.83	0	101	0	0	126	0	3
FR 96 0626	10	95	10.5	8	94	8.5	7	86	8.1	9	126	7.14	14	109	12.8	1	150	0.67	8
FR 96 0628	6	86	7.0	15	87	17.2	14	84	16.7	1	111	0.9	0	95	0	0	41	0	7
R 579	0	119	0.0	0	120	0.0	0	113	0.0	0	115	0	0	113	0	0	134	0	2
moyenne	2.35	99.96	2.45	2.69	97.85	2.78	1.896	92.354	2.16	1.979	104.4	1.61	2	90.7	2.01	1.271	108.5	1.12	0.792
Nco 376 (1)	0	67	0.0	0	78	0.0	0	128	0.0	0	155	0	0	94	0	0	132	0	
Nco 376 (2)	1	130	0.8	1	131	0.8	0	136	0.0	3	150	2	0	159	0	0	204	0	
Nco 376 (3)	0	148	0.0	1	148	0.7	0	82	0.0	0	106	0	1	128	0.78	0	176	0	
moyenne	0.333	115	0.26	0.67	119	0.48	0	115	0	1	137	0.67	0.333	127	0.26	0	170.7	0	4

Annexe 6

O2A1 : Criblage des variétés en cours de sélection pour la résistance aux maladies

Série FR98-99 : test de criblage pour la résistance à l'échaudure des feuilles.					
Série FR98-99	ISFI	IDM	Positifs/6	Log (ufc/ml)	Note
B69 379 (1)	0.54	0.02	6	7.131669	8
B69 379 (2)	0.05	0.12	5	6.41857422	8
B69 379 (3)	0.53	0.04	5	6.1991685	8
B86 081	0.22	0.01	6	7.16083502	8
FR87 166	0.55	0.01	6	7.37561231	8
FR88 196	0.52	0.03	6	6.95264081	8
FR89 423	0.38	0.05	4	3.31494164	5
FR90 306	0.54	0.04	5	6.19497848	8
FR90 840	0.55	0.05	5	5.17721458	6
FR91 384	0.48	0.01	6	6.90313427	7
FR91 486	0.24	0.03	6	6.89689603	7
FR98 004	0.57	0.03	4	3.33345274	5
FR98 010	0.31	0.00	4	3.73976705	5
FR98 014	0.60	0.08	6	7.13397727	7
FR98 017	0.44	0.09	5	6.6061522	8
FR98 021	0.25	0.00	6	7.61812797	8
FR98 041	0.63	0.13	5	6.0496236	7
FR98 046	0.79	0.13	6	8.32141259	8
FR98 047	0.68	0.03	3	3.72005058	6
FR98 049	0.60	0.03	4	3.74634744	5
FR98 050	0.35	0.16	4	3.68936826	5
FR98 053	0.40	0.07	5	5.54644791	6
FR98 054	0.19	0.00	5	4.6888184	5
FR98 056	0.40	0.03	4	4.99133775	7
FR98 060	0.48	0.05	5	5.62224345	7
FR98 063	0.67	0.01	6	7.72315117	8
FR98 066	0.18	0.04	3	3.02082275	5
FR98 072	0.74	0.04	6	8.36689562	8
FR98 082	0.64	0.09	5	6.74161934	8
FR98 112	0.64	0.06	5	6.75371538	7
FR98 122	0.81	0.07	6	6.68071281	7
FR98 129	0.56	0.16	6	7.84682059	8
FR98 132	0.70	0.08	3	3.42221149	5
FR98 137	0.68	0.06	5	6.4831415	7
FR98 156	0.43	0.02	4	2.96232578	4
FR98 173	0.73	0.10	6	7.95153957	8
FR98 177	0.66	0.08	5	6.06769965	7
FR98 181	0.47	0.04	4	5.83597309	7
FR98 196	0.84	0.20	6	8.35044825	9
FR98 197	0.60	0.14	6	7.98068344	8
FR98 206	0.46	0.14	6	7.88964915	8
FR99 038	0.39	0.02	6	7.73907407	8
FR99 043	0.25	0.03	4	4.37599005	5
FR99 045	0.60	0.09	6	7.93406029	8
FR99 047	0.50	0.08	5	6.05593595	7
FR99 049	0.38	0.02	6	7.00516287	8
FR99 050	0.08	0.00	2	2.05184997	4
FR99 052	0.49	0.03	3	3.39673206	5
FR99 055	0.38	0.02	6	7.45218043	8
FR99 058	0.61	0.03	5	6.45641114	8
FR99 060	0.13	0.03	5	3.95926673	4
FR99 061	0.89	0.05	4	5.14491798	5
FR99 069	0.49	0.04	6	7.33686783	8
FR99 072	0.26	0.02	6	6.9710367	8
FR99 073	0.80	0.02	4	3.6762344	4
FR99 076	0.73	0.01	6	8.38678331	8
FR99 079	0.10	0.00	4	5.44451477	7
FR99 080	0.11	0.00	4	5.00003325	6
FR99 081	0.49	0.01	6	7.88378164	8
FR99 083	0.43	0.08	5	5.73194226	7
FR99 084	0.78	0.02	6	7.84503294	8
FR99 096	0.71	0.40	6	8.760206	9
FR99 101	0.20	0.07	6	7.8049337	8
FR99 107	0.08	0.01	6	8.16806528	8
FR99 108	0.17	0.12	5	6.36551452	7
FR99 109	0.48	0.13	6	8.08403524	8
FR99 116	0.58	0.01	6	8.18205557	8
FR99 119	0.56	0.08	6	6.94870712	8
FR99 204	0.04	0.01	6	5.11678362	6
FR99 211	0.51	0.01	6	5.27372758	6
FR99 230	0.57	0.04	5	6.24846878	7
FR99 235	0.11	0.00	2	2.53107228	4
FR99 244	0.07	0.00	3	2.99162485	3
FR99 248	0.13	0.00	4	3.66607314	3
FR99 273	0.28	0.01	5	4.94940318	4
FR99 274	0.41	0.01	3	3.00943213	3
FR99 276	0.65	0.04	3	3.09822138	3
FR99 294	0.47	0.23	5	6.02782481	8
FR99 307	0.26	0.04	5	5.73246771	6
FR99 314	0.38	0.07	6	7.26335543	8
FR99 328	0.20	0.00	5	6.22419477	8
FR99 331	0.18	0.04	4	4.18283749	5
FR99 344	0.34	0.13	5	5.83058919	7
FR99 348	0.33	0.16	5	6.40577784	7
FR99 349	0.47	0.02	6	7.60138422	8
FR99 366	0.68	0.06	5	6.08041998	7
FR99 378	0.11	0.00	5	5.25858412	6
FR99 380	0.40	0.03	3	2.98996473	3
FR99 381	0.07	0.00	6	6.93134086	8
FR99 386	0.12	0.01	3	2.63382419	3
FR99 391	0.22	0.07	1	0.22036988	2
FR99 407	0.08	0.07	4	4.9070689	6
FR99 413	0.68	0.00	5	6.54250832	8
FR99 429	0.50	0.01	5	4.4548276	5
FR99 433	0.39	0.01	6	6.60898064	8
FR99 434	0.63	0.01	6	7.10822066	8
FR99 435	0.32	0.09	5	6.34898723	8
FR99 436	0.13	0.07	6	6.94070613	8
No 376	0.24	0.08	4	3.02199118	3
No 376	0.50	0.01	5	4.88553174	5
No 376	0.20	0.02	3	2.74948484	3
R 579	0.78	0.02	6	8.25382013	8
R 579(2)	0.67	0.02	4	4.62849603	6

Annexe 7

O2A1 : Criblage des variétés en cours de sélection pour la résistance aux principales maladies

Résultats des tests de résistances des variétés prometteuses et récemment libérées.

R = résistant, I = intermédiaire, S = sensible

Variété	Charbon (% maximum observé)			Echaudure des feuilles		Rabougrissement des repousses	
	Test 1	Test 2	Test 3	Test 1	Test 2	Test 1	Test 2
B80 689	R			S		En cours	
B86 690	En cours			R			
B86 81	En cours			S*		En cours	
R575	R (1%)	En cours		S		En cours	
R579	R (0%)	R	En cours	I	I	En cours	En cours
FR83 2034	S (26%)			ND		R	
FR83 2035	R (1%)			I		S	
FR87 105	R			I		I	
FR87 127	R			I		S	
FR87 166	I (5%)	En cours		S*		R	En cours
FR87 285	R (2%)			R		R	
FR87 288	R			I		I	
FR87 1011	I (4%)			I		S	
FR88 196	R (0%)	En cours		S*		En cours	
FR89 423	R(1%)	En cours		I	I*	En cours	
FR89 746	R (1%)						
FR90 306	R (0%)	En cours		I*		En cours	
FR90 714	R (0%)	En cours		S		En cours	
FR90 840	I (5%)	R (0%)	En cours	S*		En cours	
FR91 384	I (4%)	En cours		S*		En cours	
FR91 486	S (16%)	En cours		S*		En cours	

* Moyenne de l'essai particulièrement élevé, sensibilité des clones à confirmer.

Annexe 8

O4A1 : Epidémiologie du SCYLV

Fiche technique

DESCRIPTIF DE L'ESSAI :

Localisation de la parcelle : Lieu-dit Saint-Jean (Petit-Bourg)

Matériel végétal :

FR90 714. Les boutures à 2 bourgeons sont issues de tiges contaminées par le SCYLV, prélevées la veille sur la pépinière d'essai 01M51 de Roujol, Petit-Bourg.

SP71-6163, vitro plants assainis du virus par culture de méristème au laboratoire de Roujol. L'absence de SCYLV a été contrôlée par RT-PCR. Ces plants ont été multipliés *in vitro*, puis sevrés en serre pendant deux mois (traitements insecticides en serre avec deux insecticides). L'absence de virus a été contrôlée à nouveau par RT-PCR 3 mois après sur 10 vitro plants conservés en serre.

Plan de l'essai : ♦ 2 lignes de 40 mètres plantées en boutures infectées par le SCYLV, variété FR90 714 (lignes 1 et 2).

♦ 18 lignes de 40 mètres plantées en vitro-plants sains, variété SP71 6163 ligne 3 à 20 (110 plants par ligne).

Date de plantation : 5 décembre 2001

Date de coupe : 1 octobre 2002 (Récolte des cannes le 20 octobre).

Remarque : La récolte tardive (saison humide) et le passage de chargeur de canne sur la parcelle ont eu pour conséquence la destruction partielle de certaines lignes. C'est pourquoi seulement 8 des 18 lignes initiales ont été analysées en repousse (lignes 3,4,6,7,10,11,14,15).

Traitements au champ : - Fumure : épandage d'engrais au moment de la plantation, et 3 semaines après la coupe.

- Désherbage : traitements usuels.

- Pas d'autres traitements, aucun insecticide n'a été utilisé pour ne pas interférer avec le développement de la population de pucerons et de leurs prédateurs (coccinelles, araignées, fourmis...).

METHODES :

Recherche du SCYLV dans les plantes :

La technique de diagnostic utilisée est l'immuno-empreinte de tissus (TBIA ou tissue blot immuno assay).

L'échantillon correspond à la première feuille de la tige à ocréa visible (PFOV). La nervure est sectionnée à la base et imprimée sur une membrane de nitrocellulose, par pression manuelle de 1 à 2 secondes. Les membranes sèchent une nuit sous une hotte à flux laminaire. Le virus sera détecté par une coloration violette des faisceaux du phloème après révélation des membranes.

Révélation des membranes :

- Trempage de la membrane de nitrocellulose dans du tampon TBS + BSA 3% pendant 1 heure pour saturer la membrane.
- Incubation de la membrane 1h30 dans une suspension d'anticorps anti-SCYLV au 1/10 000^{ème} dilué dans le tampon TBS + BSA 1% + Tween 0,05%. L'anticorps va se fixer sur le virus s'il est présent. La membrane est ensuite lavée 3 fois dans du TBS Tween 0,05%.
- Incubation de la membrane 1h dans le conjugué phosphatase alcaline anti-globuline de lapin (anti-rabbit) au 1/10 000^{ème} dilué dans du tampon TBS + BSA 1%. Le conjugué va se fixer sur l'anticorps anti-SCYLV. La membrane est ensuite lavée 3 fois dans du TBS Tween 0,05%.
- Les complexes antigènes-anticorps sont révélés par une coloration violette à l'intérieur des faisceaux du phloème, après trempage de la membrane dans le substrat BCIP + NBT dilué dans une solution de diéthanolamine. La réaction enzymatique est stoppée en trempant la membrane dans de l'eau distillée.

Recherche du SCYLV sur la variété FR90 714

Six semaines après la plantation, un échantillon de feuilles a été prélevé sur les touffes de ces deux lignes.

Recherche du SCYLV sur la variété SP71 6163, à l'échelle de la parcelle

En canne plantée, dix prélèvements ont été réalisés à intervalles de temps adaptés en fonction de l'évolution de l'infestation. La première feuille à ocréa visible (PFOV) est prélevée sur une grande tige de la touffe, ou, le cas échéant sur la tige où des pucerons ont été observés. Une feuille toutes les 10 touffes est prélevée sur l'ensemble des 18 lignes, soit un total de 200 feuilles environ pour chaque prélèvement. Différentes touffes sont échantillonnées lors des différents prélèvements. Lors du 9^{ème} prélèvement, tous les plants de SP71-6163 (1900 touffes) ont été testés, à raison de une feuille par touffe, afin d'avoir une image réelle de la contamination à cette date.

En repousse, 6 prélèvements ont été réalisés à 1 mois d'intervalle à compter du 5 novembre, à raison d'une feuille par touffe, soit 900 échantillons par prélèvement.

Recherche du SCYLV dans la variété SP71-6163, à l'échelle de la PLANTE (touffe)

En canne plantée, 22 semaines après transfert des plantes au champ, le SCYLV a été recherché dans toutes les PFOV de 35 touffes dont :

- 16 touffes avaient déjà été révélées positives,
- 21 touffes pour lesquelles l'analyse de la feuille était négative.

Ce prélèvement a été effectué sitôt le résultat de l'échantillonnage de la parcelle obtenu, avant que l'état phytosanitaire de la canne évolue au champ.

En première repousse, 4 mois après la récolte, 19 touffes ont été échantillonnées et un diagnostic a été réalisé pour chaque PFOV quant à la présence du SCYLV dont :

- 7 touffes toujours diagnostiquées négatives,
- 5 touffes contaminées en canne plantée,
- 7 touffes contaminées en R1.

Suivi de la population de pucerons

En canne plantée, le nombre de touffes hébergeant des pucerons a été dénombré à 4, 6, 8, 9, 13, 17 et 22 semaines après le transfert des plants au champ, sur toutes les touffes lors des 5 premières observations et sur 1/3 de la parcelle (1 ligne sur 3) pour les 2 dernières observations. Le nombre de pucerons par touffe a été estimé lors des dénombrements effectués à 4, 9, 13, 17 et 22 semaines sur des échantillons de 30 à 100 touffes.

En première repousse, la population de pucerons a été estimée à 5, 9, 16, 23 et 29 semaines après la récolte des cannes sur des échantillons de 110 touffes (44 pour la dernière observation à cause de la taille des plantes).

L'ensemble des feuilles de chaque tige de la touffe est minutieusement examiné, aussi bien sur la face inférieure que sur la face supérieure.

Comptage des pucerons sur les touffes :

Les pucerons sont comptés un par un sur les feuilles où ils ne sont pas trop abondants (< 300), sinon, une estimation est réalisée en dénombrant les pucerons sur une fraction de la surface envahie.

Recherche du SCYLV dans les pucerons :

En canne plantée, neuf prélèvements de pucerons ont été effectués, dans une même colonie ou en mélange provenant de plusieurs touffes. Ils sont conservés en tubes à hémolyse dans de l'alcool à 90° (dilution à partir d'éthanol absolu).

En première repousse, des prélèvements de pucerons ailés sur des touffes contaminées par le SCYLV et des touffes non contaminées ont été effectués. Comme précédemment ils sont conservés dans le l'éthanol à 90°.

La présence du virus dans les pucerons sera recherchée ultérieurement par RT-PCR.

Annexe 9

O4A2 : SCYLV, Impact sur le rendement

Fiche technique

Descriptif de l'essai :

Localisation : Serre tunnel
Variété : SP71-6163
Origine des boutures : St Jean Petit Bourg
Traitement : 1 : Boutures issues de tiges infectées par le SCYLV,
2 : Boutures issues de tiges saines.

L'état sanitaire des plants a été contrôlé par immuno-empreinte d'échantillons prélevés sur la première feuille à ocréa visible ainsi que dans le bas de tige.

Plantation : Des boutures de 1 bourgeons sont plantées après germination dans des pots de 4 litres contenant un mélange de terre/pouzzolane (1:1). La plantation a été effectuée le 29 Octobre.

Dispositif : Neuf lots de 8 plantes contaminées et 9 lots de 8 plantes indemnes de virus sont répartis de manière aléatoire sous une serre et arrosés et fertilisés par goutte à goutte à raison de 4 arrosage de 10 min par jour. La solution nutritive utilisée est composée de Mérol à 1 g.L⁻¹ (N-P-K : 14 – 12 – 15). Des Traitements insecticides sont effectués régulièrement afin d'éviter toute piquûre de puceron entraînant une contamination virale. D'autres traitements ont eu pour cible les fourmis.

Contrôle de la contamination des plants :

Après 6 et 15 semaines de croissance, la contamination des plantes est contrôlée par immuno-empreinte de feuilles.

Récolte de l'essai :

La récolte de l'essai a eu lieu du 31 mars au 4 avril 2003.

Les paramètres alors mesurés sont :

- La taille de la plus grande tige
- Le diamètre de celle-ci
- Le nombre de tiges
- Le poids total des parties aériennes
- Le BRIX au premier entre-nœud (à la base de la plus grande tige)
- Le BRIX dans le 5^{ème} entre-nœud

Les diagnostics par immuno-empreintes sont les suivants :

- Foliaire (une feuille à premier ocréa visible par touffe)
- De bas de tige