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

J. Gilles

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

GÉNÉTIQUE ET CARACTÉRISATION DE LA RÉSISTANCE AUX BIOAGRESSEURS

Résistance de la canne à sucre au foreur ponctué

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

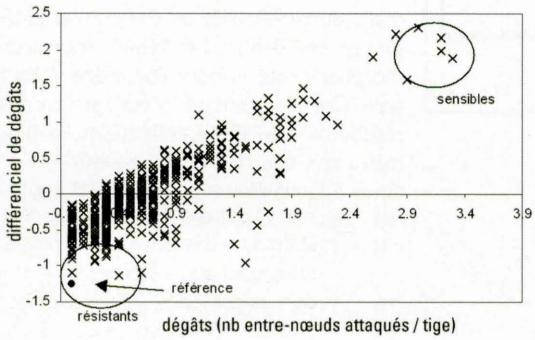

Figure 13.
Distribution des dégâts observés sur tige en avril 2004 sur les 456 clones de la collection du Cerf. Le point noir indique le clone (KASSOER) utilisé comme référence résistance pour le calcul de la sensibilité.

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

La connaissance de la localisation tissulaire de la résistance est déterminante pour l'identification des mécanismes mis en cause. Les sites d'alimentation des jeunes chenilles de *Chilo sacchariphagus* ont ainsi été analysés lors de sondages réalisés dans quinze parcelles de planteurs, huit plantées avec la variété R579 (sensible) et sept avec la variété R570 (résistante). On constate que seuls les quatre premiers stades larvaires sont observés hors de la tige. Les chenilles se répartissent sur les feuilles terminales, les gaines foliaires et la tige dès le premier stade larvaire. Leur progression vers la tige se fait le plus fréquemment en perforant au moins une gaine foliaire. La pénétration dans la tige intervient majoritairement à la base des quatre entre-nœuds situés sous le méristème terminal. Les bourgeons axillaires ne sont pas un site privilégié de pénétration dans la tige. Des différences de comportement des chenilles entre variétés suggèrent que le franchissement des gaines foliaires est l'occasion de l'expression d'une partie de la résistance de la variété R570. Les tests menés en laboratoire confirment que les chenilles du premier stade larvaire détectent des différences entre variétés à la surface externe de la gaine foliaire. La variété R579 est préférée à la R570 et induit une moindre mortalité lors de la pénétration des chenilles.

S. Nibouche

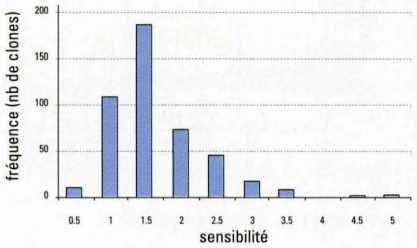

Figure 14.
Histogramme de répartition de la sensibilité des clones de la collection. La sensibilité est évaluée par la distance euclidienne entre le clone et la référence, calculée à partir de la Figure 13.

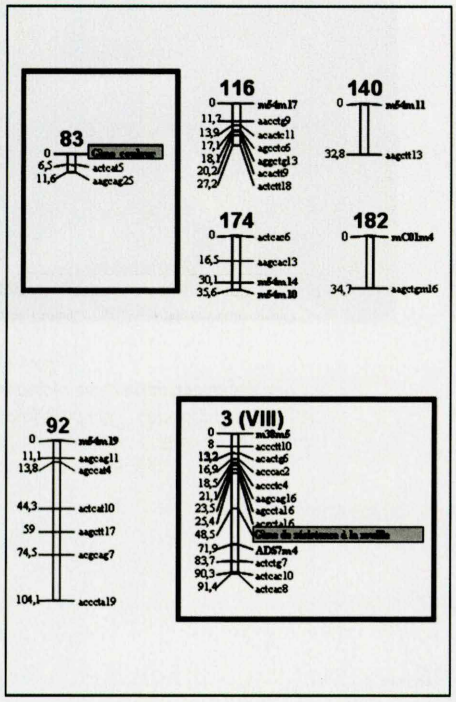

Figure 15.
Extrait de la carte génétique de la variété MQ 76/53.

Génétique de la résistance aux maladies de la canne à sucre

Cartographie génétique

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

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

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

L-M. Raboin

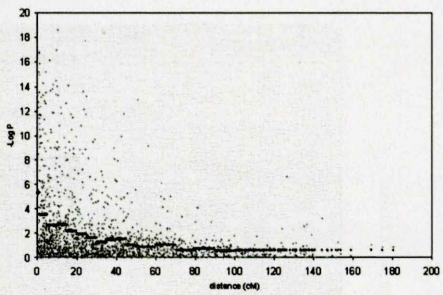

Figure 16.
Diminution du « déséquilibre de liaison » en fonction de la distance génétique.

Génétique de la résistance aux maladies virales chez le maïs

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

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

J. Dintinger

Génétique de la résistance aux bégomovirus chez la tomate

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

J. Dintinger, H. Delatte, B. Reynaud

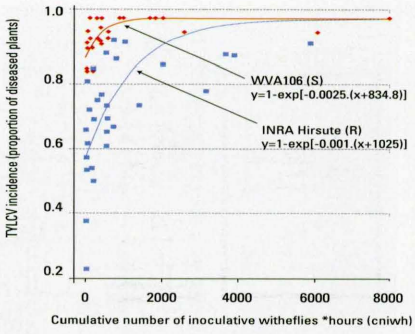

Figure 17.
Expression quantitative d'une résistance partielle dans l'accession L. pimpinellifolium 'INRA-hirsute' en fonction du nombre d'aleurodes virulifères sur les plants.

Génétique de la résistance au flétrissement bactérien chez la tomate

La bactérie *Ralstonia solanacearum*, responsable du flétrissement bactérien de la tomate, constitue l'autre facteur limitant de la culture en zone tropicale. Depuis peu, la race 3 de la bactérie constitue une maladie émergente sur tomate en zone tempérée menaçant les cultures sous serre dans l'hémisphère nord. Une étude de cartographie génétique de la résistance présente dans la variété Hawaï 7996 (*L. esculentum*, var. *cerasiforme*), menée vis-à-vis des différentes races de la bactérie, a montré l'existence de QTL (Quantitative Trait Locus) de résistances qui peuvent être soit généralistes, soit spécifiques de certains phylotypes de la bactérie. Un QTL situé dans le cluster de gènes de résistance du chromosome 6 est détecté quelque soit le phylotype, alors que des QTL sur les chromosomes 3, 4 et 12 s'expriment spécifiquement vis-à-vis du phylotype I ou II de la bactérie. Ce travail réalisé dans deux descendances issues du même fond génétique montre l'importance de disséquer ce type de résistance en vue de son utilisation dans un programme de sélection visant à contrôler de façon stable et durable le complexe d'espèce que constitue *R. solanacearum*. La Réunion est un site privilégié pour mener de telles études, car les différents phylotypes y sont présents et permettent d'effectuer des tests en condition contrôlée de la maladie. Les sources de résistance à *R. solanacearum* sont pour l'instant rares et il convient de poursuivre les criblages systématiques de nouvelles sources potentielles. Parmi celles-ci, la variété *L. esculentum* CRA 66, parent sensible du croisement utilisé pour l'étude la résistance au PYMV, est une source potentielle de résistance partielle à la maladie. Cette population prévue initialement pour la cartographie de la résistance au PYMV, pourra donc aussi être exploitée en vue de la recherche de nouveaux QTL de résistance au flétrissement bactérien. Par contre, ce travail nécessitera la réalisation d'une carte génétique complète avec une bonne couverture du génome qui se fera à l'aide principalement de marqueurs RFLP. Un certain nombre de marqueurs microsatellites et PCR spécifiques polymorphes pourront compléter cette carte (Fig.18).

J. Dintinger

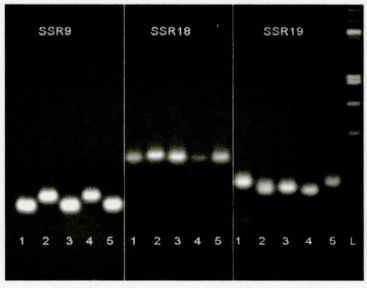

Figure 18.
Exemples de quelques marqueurs microsatellites polymorphes détectés au sein des géniteurs.
(Pistes : 1 = CRA66 ; 2 = LA2187-5 ; 3 = Atatürk ; 4 = INRA hirsute ; 5 = WVA106 ; L = ladder 100pb)

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

Génétique et certification des vanilliers

Ce programme vise à identifier les vanilliers qui expriment qualitativement et quantitativement des caractéristiques intéressantes pouvant être ensuite sélectionnées et utilisées en production ou en hybridation. La démarche entreprise consiste tout d'abord à mettre au point des outils de caractérisation moléculaire des génotypes et à analyser la variabilité phénotypique, notamment du point de vue de la résistance aux virus. En 2004, les travaux ont essentiellement porté sur la mise en place, d'une collection diversifiée de vanilliers et à la caractérisation des souches de *Cymbidium mosaic virus* (CymMV) qui infectent les vanilliers. Nous avons d'autre part chercher à élargir le champ d'application de cette recherche aux pays de la région qui contribuent à près de trois-quarts de la production mondiale de vanille.

La collection de vanilliers du Cirad a été enrichie cette année de 114 accessions originaires de la zone Océan Indien, d'Amérique, d'Afrique et d'Océanie. Ces introductions portent à 143 le nombre d'accessions en quarantaine ou en collection. Elles se répartissent provisoirement en 12 espèces, les plus représentées étant *V. planifolia* (66), *V. bahiana* (15) et *V. pompona* (13). Soixante-six lignées indemnes de virus ont été mises en collection, sous ombrière insect-proof à Bassin Plat (photo 15) en vue de leur caractérisation morphologique. De nombreuses lignées disponibles à travers le monde sont infectées par des virus, notamment par le CymMV. L'incorporation de ces ressources à la collection exige en préalable un travail d'assainissement pour les débarrasser des virus. La présence d'une collection mondiale de vanilliers sur la Réunion constituera une première mondiale de par sa diversité et surtout sa gestion rigoureuse aux plans de l'état sanitaire et du respect des règles de la Convention sur la Biodiversité. On peut en attendre des retombées scientifiques et potentiellement économiques. Elle sera tout d'abord valorisée dans le cadre de la thèse de Séverine Bory (Boursière Région Réunion) débutée en 2004. Son travail porte sur l'analyse moléculaire de la diversité génétique des vanilliers avec référence spécifique aux vanilliers de la Réunion.
En préalable à l'évaluation des vanilliers pour leur niveau de tolérance au CymMV, trente souches virales ont été caractérisées au niveau moléculaire par séquençage direct du gène de la protéine de capside (CP) et d'un fragment de 495 nucléotides du gène de la RNA-Polymérase (RdRP). Les souches étudiées sont originaires de la Réunion (6), de Polynésie française (9), de Madagascar (2), de Fiji (1) et de vanilliers importés des jardins botaniques d'Auteuil (4) et de Cherbourg (8). Les dendrogrammes issus des séquences nucléotidiques sont nettement congruents pour les deux gènes étudiés (CP et RdRP). Ils mettent en évidence l'existence de deux groupes bien distincts de souches. Néanmoins, la divergence demeure faible au niveau protéique (<11%) et en particulier, l'ensemble des isolats de vanilliers sont bien détectés par les anticorps commerciaux ainsi qu'avec différents jeux d'amorces de RT-PCR. Ces résultats valident donc le schéma de certification sanitaire des boutures mis en place dans les pépinières de la Réunion et justifient d'autre part l'utilisation d'une souche locale de CymMV pour cribler les accessions de vanillier pour leur sensibilité à ce virus.
A cette fin, et à partir de l'étude de variabilité de la CP, un test de détection quantitative du CymMV dans le vanillier a été mis au point. Le protocole retenu est basé sur IC-SyBRGreen®-RT-PCR qui offre un bon compromis coût/performance (Fig. 19). Schématiquement, il repose sur la capture des particules virales à l'aide d'anticorps spécifiques suivie de la rétro-transcription de l'ARN puis de l'amplification de la séquence cible qui est révélée quantitativement par le SyBRGreen, un fluorochrome spécifique de l'ADN bicatenaire.

M. Grisoni

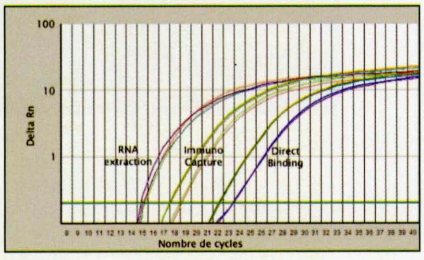

Figure 19.
Détection quantitative du Cymbidium mosaic virus avec trois protocoles de Reverse Transcription – Polymerase Chain Reaction et fluorescence du SyBR-Green®.

Photo 16.
Fruits de Piment Maurice.

Production et certification de matériel végétal sain

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

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

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

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

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

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

M. Roux-Cuvelier

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

Photo 18. Production de semences de Papaye Solo Sunrise.

Photo 19. Margose amère.