



**HAL**  
open science

# Émergence de la fusariose sur *Vanillaxtahitensis* à Raiatea : inventaire et déterminisme épidémiologique

Timeri Atuahiva

► **To cite this version:**

Timeri Atuahiva. Émergence de la fusariose sur *Vanillaxtahitensis* à Raiatea : inventaire et déterminisme épidémiologique. Phytopathologie et phytopharmacie. Université Paris Sud - Paris XI, 2015. Français. NNT : 2015PA112245 . tel-01243231

**HAL Id: tel-01243231**

**<https://theses.hal.science/tel-01243231>**

Submitted on 14 Dec 2015

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



Comprendre le monde,  
construire l'avenir®



UNIVERSITÉ PARIS-SUD

ÉCOLE DOCTORALE 145 :  
SCIENCES DU VÉGÉTAL

Laboratoire : *Etablissement Vanille de Tahiti*

## THÈSE DE DOCTORAT

BIOLOGIE

par

**Timeri ATUAHIVA**

Émergence de la fusariose sur *Vanilla* × *tahitensis* à Raiatea :  
inventaire et déterminisme épidémiologique

Date de soutenance : 19/02/2015

**Composition du jury :**

Président du jury :	Phila BIANCHINI	Professeur (Université de Polynésie française)
Directeur de thèse :	Michel DRON	Professeur (Université Paris Sud)
Co-responsable :	Ivan SACHE	Professeur (Agroparistech)
Rapporteurs :	Michel GRISONI Edward LIEW	Cadre scientifique (CIRAD Saint Pierre de la Réunion) Directeur (Royal Botanical Garden Australie)
Examineurs :	Phila BIANCHINI Christine DILLMANN	Professeur (Université de Polynésie française) Professeur (Université Paris Sud)

*À ma petite étoile,*

# MERCI

Mon premier MERCI revient à... Tatiana Hart, directrice de l'Etablissement Vanille de Tahiti de 2010 à 2013 car c'est grace (ou à cause) d'elle que j'ai décidé de quitter Tahiti (travail et famille) pour vivre cette belle aventure de doctorante au laboratoire de Raiatea ! Elle m'a permis également de connaître d'autres secteurs de la filère vanille (préparation, commercialisation et promotion de notre or noir).

MERCI à Frédéric Riveta, ministre de l'agriculture en 2010, qui a accepté que je démarre cette aventure et qui m'a encouragé comme les ministres qui ont suivis : Kalani Texiera avec qui la convention de thèse a été signée et Thomas Moutame.

MERCI à Michel Dron, mon directeur de thèse, que j'ai contacté, en 2005, pour des conseils sur des formations me permettant à terme de valoriser « notre » vanille. C'est alors naturellement qu'il m'a pris sous sa responsabilité pour ce doctorat. Je suis et reste fascinée devant son « pouvoir » de toujours encourager, positiver, remonter le moral et surtout d'avoir choisi, dans son immense réseau de connaissances, les personnes les plus compétentes pour me guider dans mon travail de thèse et avec qui des liens d'amitié ce sont créés.

MERCI à Ivan Sache, mon co-encadrant, qui a été mon professeur d'épidémiologie en Master Santé des Plantes en 2008, pour la bibliographie et les conseils d'écriture.

MERCI à mes « encadrants » de l'INRA de Grignon : Valérie Laval et Hélène Batina pour les manipulations que j'ai pu effectuer au sein du laboratoire, les conseils techniques et la bibliographie également. MERCI aussi à ceux de l'INRA du Moulon : Christine Dillmann, Judith Legrand et Antonin Labat pour m'avoir appris à rédiger les scripts, comprendre les étapes de traitement de données, de les mettre en forme pour les rendre le plus explicite possible.

MERCI à Claude Alabouvette, membre de mes comités de thèse annuels, pour ses conseils précieux et son équipe de l'INRA de Dijon aussi pour nous avoir fourni des souches de Fusarium, des protocoles et de la bibliographie.

MERCI à Sandra Lepers, responsable du laboratoire de l'EVT à Raiatea, pour les conseils de rédaction et avoir pris le rôle de coach les derniers mois de thèse. MERCI à Eliane Brodien de m'avoir accompagnée lors des visites. MERCI à Chloé Brander de m'avoir prêté sa hotte, aménager son temps de travail et aussi pour l'entretien de la pathothèque. MERCI à

Sarah d'avoir repris le relais lorsque j'étais absente du territoire, et m'avoir dépanné que ce soit en manipulations ou en recherche bibliographique durant mon travail courant.

MERCI au Fare vanira, particulièrement Etau et Teremu pour m'avoir guidée lors des premières visites des ombrières en 2010.

MERCI aux collègues du SDR, particulièrement Vincent Vaucherot de m'avoir présenté les producteurs « traditionnels » en 2010 et de m'avoir permis de réaliser de belles cartes, avec la collaboration de Mélanie Fourmanoir.

MERCI aux stagiaires qui ont contribué à l'obtention de résultats : Bénédicte Delarue, Anthéa Supply et particulièrement Antonin Labat pour le magnifique travail de traitement de données qu'il a fait !

MERCI à Michel Grisoni du CIRAD de la Réunion, Ed Liew du Royal Botanical Gardens d'Australie, Tea Frogier ministre de la Recherche et de l'Enseignement Supérieur d'avoir accepté d'être membre de mon jury de thèse et particulièrement à Phila Bianchini Professeur à l'Université de Polynésie d'avoir rendu possible la soutenance à l'Université de Polynésie, en visioconférence.

MERCI à ma famille pour tous les encouragements, soutiens et prières, particulièrement tonton Michel pour les relectures.

MERCI à mon chéri de m'avoir supporté surtout les derniers mois, de m'avoir m'accompagné au laboratoire pendant que je manipulais les dimanches après-midi et de m'avoir aidé à désherber la pathothèque quand le il fallait.

MERCI à tous ceux qui ont participé de près ou de loin à cette thèse: ami(e)s, collègues de travail et famille se reconnaîtront.

Mon dernier MERCI, et le plus important sans qui cette thèse n'aurait pas pu être réalisée, revient ...aux producteurs de vanille de Raiatea que j'ai rencontrés au cours des quatre années d'étude. Grâce à eux j'ai pu récolter des données pour mon étude. Je les remercie avant tout pour leur passion de cette culture très difficile, qui génère l'un des plus beaux produits de notre Fenua.

À vous tous « *Mauruuru roa* »

Fleur de vanille tahiti



# Table des matières

# Table des matières

Liste des abréviations .....	1
Liste des Figures.....	3
Liste des Tableaux.....	10
Introduction .....	12
1. Le vanillier <i>Vanilla ×tahitensis</i> .....	12
1.1. Origine et taxonomie.....	12
1.2. Morphologie.....	15
1.3. Spécificités de la vanille Tahiti.....	16
1.4. Importance économique.....	17
2. Un nouveau système de production.....	18
2.1. Contexte socio-économique.....	18
2.2. De la production extensive sur tuteurs naturels à la production intensive sous ombrière .....	19
2.3. Un constat de succès mitigé.....	21
3. Typologie des systèmes de production et profils de maladie.....	22
3.1. Pratiques culturelles et développement épidémique.....	25
3.2. Identification d'un champignon du genre <i>Fusarium</i> .....	26
4. Contexte et problématique du sujet de thèse .....	28
Chapitre 1 : Analyse spatio-temporelle de la nuisibilité des bio-agresseurs sur le vanillier à Raiatea.....	29
1. Introduction .....	29
2. Méthodes .....	30
2.1. Plan d'expérience et réalisation de l'enquête.....	30
2.2. Échantillonnage.....	31
2.3. Relevés tuteur par tuteur .....	34
2.3.1. Caractérisation des bio-agresseurs .....	34
2.3.2. Autres caractérisations .....	40
2.4. Constitution du jeu de données .....	41

2.5. Méthodes d'analyse .....	42
2.5.1 Analyse de la prévalence .....	43
2.5.1.1. Le modèle utilisé .....	43
2.5.1.2. Tests d'hypothèses .....	44
2.5.1.3. Validation des hypothèses et tests diagnostics .....	45
2.5.1.4. Comparaison de modèles .....	47
2.5.2 Analyse de l'incidence .....	48
3. Bilan sanitaire des exploitations .....	50
3.1. Evolution temporelle des variétés cultivées .....	50
3.2. Comparaison de la prévalence sur «Haapape» et «Tahiti» dans les ombrières mixtes .....	53
3.3. Prévalence des signes cliniques sur l'ensemble des exploitations .....	55
3.3.1. Prévalence des lianes jaunies .....	56
3.3.2. Prévalence des pucerons .....	56
3.3.3 Prévalence des signes cliniques associés à l'anthracnose .....	57
3.3.4. Prévalence des signes cliniques associé aux cannelures .....	58
3.3.5. Prévalence des signes cliniques associés à la fusariose .....	58
3.3.6. Prévalence des signes cliniques associé au mildiou .....	59
3.3.7. Prévalence des cochenilles .....	60
3.3.8. Prévalence des thrips .....	60
3.3.9. Prévalence des virus .....	60
3.3.10. Conclusions .....	61
3.4. Effets année et mode d'exploitation .....	61
3.4.1. Effet global .....	61
3.4.2. Identification des années et types d'ombrières ayant une prévalence significative par maladie .....	62
3.4.2.1. Fusariose .....	63
3.4.2.2. Mildiou .....	65

3.4.2.3. Anthracnose.....	66
3.4.2.4. Virus.....	68
3.4.2.5. Thrips.....	70
3.4.2.6. Cochenilles.....	71
3.4.2.8. Cannelures.....	73
3.4.9 Conclusion générale.....	75
3.5. Analyse en composantes principales.....	76
3.6. Analyse de l'incidence.....	78
3.6.1. Evolution de l'incidence des maladies et rôle du toilettage.....	78
3.6.1.1. Incidence et disparition des symptômes de la fusariose.....	79
3.6.1.2. Incidence et disparition des symptômes de l'anthracnose.....	80
3.6.1.3 Incidence et disparition des symptômes du mildiou.....	81
3.6.1.4 Conclusions.....	81
3.6.2. Renouvellements et arrachages.....	84
3.6.2.1. Facteurs de choix pour le renouvellement ou l'arrachage.....	84
3.6.2.2. Efficacité du renouvellement.....	86
Chapitre 2 : Analyse multivariée de variables d'enquête socio-agro-économique auprès des producteurs de Raiatea.....	88
1. Introduction.....	88
2. Population d'étude et méthode de collecte de données.....	91
2.1. Réalisation de l'enquête de données.....	91
2.2. Organisation de la base de données.....	93
2.3. Contenu du questionnaire.....	94
3. Méthodes d'analyse.....	98
3.1. Prétraitement des données.....	98
3.1.1. Regroupement de variables et de modalités.....	98
3.1.2. Traitement des variables quantitatives.....	99
3.2. Analyse multivariée.....	100

3.2.1. Analyse en Composantes Multiples (ACM) .....	100
3.2.2. Classifications des individus .....	101
3.2.3. Regroupements et suppressions de modalités .....	102
3.2.4. Typologie des pratiques .....	103
4. Résultats.....	103
4.1 Etablissement d'un jeu de données synthétiques pour la catégorie substrat .....	103
4.1.1. Analyse multivariée.....	104
4.1.2. Regroupements et suppressions de modalités .....	110
4.1.3 Conclusion de la recherche de nouvelles variables synthétiques .....	112
4.1.3.1. Catégorie information générale.....	112
4.1.3.2. Catégorie techniques culturelles.....	113
4.1.3.3. Catégorie Intrants .....	114
5. Étude multivariée sur l'ensemble des pratiques.....	116
6. Conclusion et discussion .....	126
Chapitre 3 : Identification du pathogène responsable du dépérissement racinaire .....	128
1. Introduction .....	128
2. Matériels et Méthodes .....	132
2.1. Echantillonnage.....	132
2.2. Isolement des souches de Fusarium.....	134
2.3. Purification et conservation des souches de Fusarium.....	134
2.4. Test de pouvoir pathogène .....	135
2.4.1. Le matériel végétal .....	135
2.4.2. L'inoculum .....	136
2.4.3. Méthode d'inoculation .....	136
2.4.4. Mesure des nécroses.....	137
2.5. Extraction d'ADN.....	137
2.6. Amplification de gènes d'intérêt taxonomique par PCR.....	138
2.7. Séquençage et analyse des données .....	139

3. Résultats et Discussion .....	140
3.1. Symptomatologie observée .....	140
3.2. Isolement du pathogène .....	142
3.3. Identification de souches de <i>Fusarium</i> .....	144
3.4. Mise en place d'un test du pouvoir pathogène d'isolats de vanillier Tahiti à Raiatea .....	147
3.5. Génotypage .....	148
3.6. Position phylogénétique et diversité des isolats de <i>Fusarium</i> du vanillier Tahiti de Raiatea.....	149
3.5.1. Avec ITS .....	149
3.5.2. Avec EF1-alpha.....	150
3.5.3. Avec IGS .....	152
3.6. Test de la souche « Raiateaïenne » la plus agressive sur planifolia.....	153
3.7. <i>Fusarium solani</i> .....	155
4. Conclusions et perspectives.....	155
Discussion générale et perspectives .....	157
Références bibliographiques .....	172
Annexes .....	178



Culture extensive sur tuteurs vivants dit parcelle « traditionnelle »

## Liste des abréviations

## Liste des abréviations

### Abréviations scientifiques

ADN	Acide désoxyribonucléique
ACP	Analyse en composante principale
ACM	Analyse en composante multiple
CymMV	Cymbidium Mosaic Virus
<i>Fo f sp</i>	<i>Fusarium oxysporum formae speacialis</i>
X2	Khi 2
PCR	Polymerase Chain Reaction
ITS	Internal Transcribed Space
IGS	Intergenic Sequence Spacer
EF1-alpha	gène codant pour le facteur d'élongation EF1-alpha

### Autres abréviations

CIRAD	Centre de Coopération Internationale en Recherche Agronomique pour le Développement
EVT	Etablissement Vanille de Tahiti
EPIC	Etablissement à Caractère Industriel et Commercial
CFP	Centre Nucléaire Français dans le Pacifique
SDR	Service du Développement Rural
INRA	Institut National de Recherche Agronomique
UPSud	Université de Paris Sud
UE	Unité d'Enseignement
IBP	Institut de Biologie des Plantes

### Unités

bp	paires de bases
cm	centimètre
g	gramme
h	heure
ha	hectar
kg	kilogramme
km	kilomètre
M	molaire
min	minute
mM	millimolaire
sec	seconde
t	tonne
μM	micromolaire
μL	microlitre





Le vanillier Tahiti



# Liste des Figures et Tableaux

## Liste des Figures

Figure 1: Liane de vanillier s'accrochant au tuteur béton avec ses racines crampons. (Photo Timeri A.).....	13
Figure 2: Voies d'introduction de(s) vanillier(s) pouvant être à l'origine du vanillier tahitien. A chaque couleur correspond un plant de vanillier, potentiellement différents des autres vanilliers introduits (Source : Lepers, 2010).....	14
Figure 3: Morphologie des feuilles de différentes espèces de <i>Vanilla</i> . <i>V. ×tahitensis</i> est intermédiaire entre <i>V. odorata</i> et <i>V. planifolia</i> . (Bory et al, 2010) .....	15
Figure 4: Les étapes de la pollinisation manuelle. 1 : soulever le rostellum avec un outil pointu (a), 2 : prélever le pollen (b) et 3 : déposer le pollen sur le stigmate (c) (Photos et schéma : Christine Wong) .....	16
Figure 5: Répartition de la production de vanille mûre vendue lors des comités de surveillance de vanille mûre en 2013 par île de production (Source : Rapport d'activité 2013) .....	18
Figure 6: Culture extensive sur tuteurs vivants : en haut à gauche sur Purau, en bas à gauche sur pignon d'Inde, en haut à droite sur Flamboyant de Taravao et en bas à droite sur <i>Glyricidia</i> . (Photos : Timeri A.) .....	20
Figure 7: Le système de culture intensif sous ombrière et sur tuteur béton à gauche et sa zone de stockage de substrat ici composé de bois broyé (Photo : Timeri Atuahiva).....	21
Figure 8: Protocole d'identification des espèces de <i>Fusarium</i> . (Leslie et Summerell, 2006) ..	27
Figure 9: Localisation des exploitations visitées en 2010, 2011, 2012 et 2013 et la répartition des variétés cultivées. (Source : Timeri A.) .....	32
Figure 10: Quatre parcelles traditionnelles en friche et abandonnées sur Raiatea.....	33
Figure 11: Symptôme de la fusariose : nécrose sur racine et tige sur tuteur béton (A), dessèchement des tiges et feuilles sur tuteurs vivant (B) et sur tuteur béton (C) (photo : Timeri A.).....	35
Figure 12: Symptôme du mildiou caractérisé par une pourriture molle au niveau des gousses, même verte, qui les noircit et les fait chuter (photo : Timeri A.).....	36
Figure 13: Les taches brunes, principalement sur les lianes, sont un symptôme caractéristique de l'antracnose. La plante se défend en limitant la progression du champignon dans ses tissus. Le liseré noir correspond une barrière de protection (photo : Timeri A.).....	36
Figure 14: Les feuilles déformées représentent les principaux symptômes de viroses. Les gaufres sont caractéristiques des Potyvirus (A). Quant aux feuilles fines et opposées (B)	

ainsi que les feuilles en forme de « virgule » sont caractéristiques du Cucumber Mosaic Virus (C). Un test Elisa est nécessaire pour confirmer leur présence. Un autre virus le Cymbidium est détectable au test Elisa mais ses symptômes sont difficilement observables (photo : Timeri A.) ..... 37

Figure 15 : Les piqûres de thrips laissent des « boutons » puis déforment la gousse. C’est un souci, car à la vente les gousses sont déclassées (photo : Timeri A.) ..... 37

Figure 16: Les pucerons noir aptères à franche blanche, *Cerataphis orchidearum* ou pucerons des orchidées ressemblent aux cochenilles car leurs pattes et antennes sont très réduites. Leurs piqûres peuvent être une porte d’entrée pour le mildiou. Ils sont majoritairement sur les rachis, organes qui portent les gousses (photo : Timeri A.)..... 38

Figure 17: Les cochenilles *Conchaspis angraeci* ou cochenilles de la vanille, sont des insectes blancs cachés sous une forme de cône. Ces insectes piqueurs-suceurs de sève entraînent l'apparition de taches chlorotiques jaunes sur les feuilles et les tiges. Lors de fortes infestations, ils affaiblissent la liane et aboutissent à une chute importante du rendement. Cela peut aboutir à un dessèchement du vanillier (photo : Timeri A.)..... 38

Figure 18: Lianes cannelées, rides au niveau de la liane (photo : Timeri A.)..... 39

Figure 19: Lianes jaunes sur tuteur béton (photo : Timeri A.)..... 39

Figure 20: Mode de parcours des exploitations pour les notations de symptômes : une personne de part et d’autre de la rangée de tuteurs, à gauche dans une ombrière et à droite dans une parcelle traditionnelle (Timeri A.) ..... 40

Figure 21: Lianes renouvelées correspondant à de nouvelles boutures placées sur un nouveau substrat et attachées sur le tuteur..... 41

Figure 22: Exemple de relevés des bio-agresseurs et toutes informations relatives à l'ombrière O3 visitée en 2010, 2011 et 2013. Chaque croix correspond à un tuteur, caractérisé par l'ensemble de ses symptômes et par l'origine de la liane. Un code de couleur est attribué à chaque maladie (Source Christine D. et Timeri A.)..... 42

Figure 23: Graphe des résidus des valeurs prédites par le modèle. Les symboles correspondent à un mode d'exploitation et les couleurs à une année (Source : Christine Dillmann et Judith Legrand) ..... 46

Figure 24: Boxplot des résidus en fonction du groupe d'échantillonnage et de l'année (Source : Christine Dillmann et Judith Legrand)..... 47

Figure 25 : Diversité variétale au sein des ombrières (Source : Christine D. et Judith L.)..... 51

Figure 26: Diversité clonale au niveau des exploitations ; les points représentent les ombrières qui cultivent uniquement la variété « Haapape », les triangles représentent les parcelles

traditionnelles et les étoiles représentent les ombrières mixtes (Source : Christine D. et Judith L.) ..... 52

Figure 27: Comparaison de la prévalence entre la variété « Tahiti » et la variété « Haapape » dans les ombrières mixtes. En abscisse, est représenté le taux de prévalence de chaque bio-agresseur au sein des ombrières mixtes. En ordonnées est représentée la différence de prévalence entre la variété « Haapape » et la variété « Tahiti ». Lorsqu'elle est positive, la variété « Haapape » a une prévalence plus élevée que la variété « Tahiti » et inversement (Source : Christine D. et Judith L.) ..... 54

Figure 28 : Evolution de la prévalence des lianes jaunies dans les exploitations visitées de 2010 à 2013 (Source : Christine D.) ..... 56

Figure 29: Evolution de la prévalence des pucerons dans les exploitations visitées (Source : Christine D.) ..... 56

Figure 30: Evolution de la prévalence des signes cliniques associés aux bio-agresseurs dans les exploitations visitées de 2010 à 2013. Chaque graphique correspond à un bio-agresseur. Les couleurs correspondent aux modes d'exploitation. Pour les ombrières mixtes et « Haapape », ainsi que pour les parcelles traditionnelles, la prévalence est mesurée sur les lianes « Haapape » de la parcelle. Pour les ombrières « Tahiti », la prévalence est mesurée sur les lianes « Tahiti » (Source : Judith L.) ..... 57

Figure 31: Prévalence moyenne et intervalles de confiance des signes cliniques associés à la fusariose lors des visites des différentes exploitations (Source : Christine D.) ..... 64

Figure 32: Prévalence moyenne et intervalles de confiance des signes cliniques associés au mildiou lors des visites des différentes exploitations (Source : Christine D.) ..... 65

Figure 33: Prévalence moyenne et intervalles de confiance des signes cliniques associés à l'antracnose lors des visites des différentes exploitations ..... 67

Figure 34: Prévalence moyenne et intervalles de confiance des signes cliniques associés aux virus lors des visites des différentes exploitations ..... 69

Figure 35: Prévalence moyenne et intervalles de confiance des signes cliniques associés aux thrips lors des visites des différentes exploitations ..... 70

Figure 36: Prévalence moyenne et intervalles de confiance des signes cliniques associés aux cochenilles lors des visites des différentes exploitations ..... 72

Figure 37: Prévalence moyenne et intervalles de confiance des signes cliniques associés aux cannelures lors des visites des différentes exploitations ..... 74

Figure 38: Représentation de la prévalence de tous les symptômes sur les deux premiers axes de l'Analyse en Composante Principale. Les couleurs représentent les années, et les types de

points les variétés cultivées (cercle = « Haapape », étoile = parcelle mixte, triangle = « Tahiti ». (Source : Christine D.)..... 77

Figure 39: Moyennes estimées de l'incidence et du toilettage pour les symptômes de fusariose. Les variables explicatives sont l'année et le type de culture. Les points représentent les moyennes et les traits l'intervalle de confiance autour de la moyenne..... 79

Figure 40: Moyennes estimées de l'incidence et du toilettage pour les symptômes de l'anthracnose (A) et du mildiou (B). Les variables explicatives sont l'année et le type de culture. Les points représentent les moyennes et les traits l'intervalle de confiance autour de la moyenne ..... 80

Figure 41: Relation entre l'incidence et le toilettage pour la fusariose et le mildiou. Les types de culture sont représentés par des symboles et les années par des couleurs (Source : Christine D.)..... 83

Figure 42: Relation entre la prévalence moyenne de la parcelle et la prévalence mesurée sur les lianes arrachées ou renouvelées. La taille des points est proportionnelle au nombre de tuteurs concernés (0-10, ou 10-100, ou >100). Le type de point correspond au traitement : liane de départ (depart), renouvelée (renouv) ou arrachée (disp) (Source : Christine D.) ..... 84

Figure 43: Efficacité du renouvellement. Barplot des modalités observées pour les symptômes sur les lianes de départ et les lianes renouvelées, pour les 12 parcelles ayant subi un renouvellement de plus de 10 tuteurs. Chaque parcelle est identifiée par le code de l'exploitant et l'année. Le chiffre p indique la prévalence moyenne mesurée l'année (n-1) sur la parcelle. Une couleur différente est attribuée à chaque modalité : sain=gris léger ; incid = bleu clair ; disp = gris foncé ; atteint = bleu. (Source : Christine D.) ..... 86

Figure 44: Calendrier des travaux (Source: Fiche Technique n°7, EVT 2012) ..... 89

Figure 45: Localisation des ombrières et parcelles traditionnelles visitées . Les points rouges sont les ombrières qui n'ont pas pu être visitées. (Source : Timeri A.) ..... 92

Figure 46 : Résultats des données brutes de la catégorie substrat. Douze variables composent cette catégorie. Pour chaque variable, la hauteur des barres donne le nombre d'observations (exploitation x année) dans chaque modalité. (Source : Christine D.)..... 104

Figure 47: Inertie portée par chacun des axes issus de l'ACM. En abscisse, est représentée la valeur propre des axes rangés de manière décroissante. En ordonnée, est représenté le pourcentage d'inertie expliqué (Source : Antonin L. et Timeri A.)..... 105

Figure 48: Représentation des variables sur les 2 axes principaux de l'ACM. En abscisse, les différentes variables de la catégorie substrat. En ordonnée, la coordonnée de chaque modalité

sur l'axe correspondant de l'ACM. Pour chaque modalité, la taille des caractères traduit la contribution de celle-ci à la construction de l'axe considéré. Plus les caractères sont gros, plus la modalité est contributive. (Source : Antonin L.).....	106
Figure 49: Rapport entre la variance intergroupe et la variance totale en fonction du nombre de groupes (Source : Antonin L. et Timeri A) .....	108
Figure 50 : Représentation des individus sur les 2 axes les plus significatifs. Les chiffres correspondent à un numéro attribué à chaque exploitant. Lorsque le chiffre est précédé de la lettre « T », il s'agit d'une exploitation traditionnelle. La coloration des producteurs est faite en fonction des groupes établis par la méthode du k-means. (Source : Antonin L. et Timeri A).....	109
Figure 51: Nombre d'occurrences des modalités des variables de la catégorie substrat (Source : Antonin L.) .....	111
Figure 52: Résultats de l'analyse des variables de la catégorie substrat. Pour chaque variable, la hauteur des barres donne le nombre d'observations (exploitation x année) dans chaque modalité (Source : Christine D.) .....	112
Figure 53: Barplot des modalités de chaque variable de la catégorie de la catégorie générale. Pour chaque variable, la hauteur des barres donne le nombre d'observations (exploitation x année) dans chaque modalité (Sources : Christine D.).....	113
Figure 54: Barplot des modalités de chaque variable de la catégorie techniques culturelles. Pour chaque variable, la hauteur des barres donne le nombre d'observations (exploitation x année) dans chaque modalité. (Source : Christine D.) .....	114
Figure 55: Barplot des modalités de chaque variable de la catégorie Intrants. A: les 4 variables de départ. B: les 4 variables conservées pour l'analyse. Pour chaque variable, la hauteur des barres donne le nombre d'observations (exploitation x année) dans chaque modalité. (Source : Christine D.).....	115
Figure 56 : Représentation des variables et des observations sur les deux premiers axes de l'analyse en composantes multiples. Les producteurs sont identifiés par le code de l'exploitation, avec une couleur représentant l'année d'observation (noir=2010, rouge=2011, vert=2012, bleu=2013). Les modalités de chaque variable sont représentées en italique. (Source : Christine D.) .....	117
Figure 57: Contribution des variables à l'axe 1 de l'ACM. Les 27 variables synthétiques sont représentées en abscisse, dans l'ordre alphabétique. Pour chaque variable, la position de chacune de ses modalités sur l'axe 1 est en ordonnée. La taille des caractères utilisés pour représenter la modalité est proportionnelle à la contribution de la modalité à l'axe de l'ACM. Par exemple, pour la variable « engrais » (en vert), la modalité « NSP » contribue fortement à	

l'axe 1 et est associée à des valeurs négatives sur cet axe. Les modalités « o » et « n » sont associées à des valeurs positives, mais contribuent peu à l'axe. Les exploitations ayant une valeur négative sur l'axe 1 de l'ACM sont associées à la réponse « NSP » pour la variable « engrais ». (Source : Antonin L.)..... 118

Figure 58: Contributions des variables à l'axe 2 de l'ACM. Les 27 variables synthétiques sont représentées en abscisse, dans l'ordre alphabétique. Pour chaque variable, la position de chacune de ses modalités sur l'axe 2 est en ordonnée. La taille des caractères utilisés pour représenter la modalité est proportionnelle à la contribution de la modalité à l'axe de l'ACM. (Source : Antonin L.) ..... 119

Figure 59: Représentation de l'affectation des parcelles dans les trois groupes de pratiques sur les axes 1 et 2 de l'Analyse en Composantes Multiples. Les parcelles sont représentées par leur code (« O » pour ombrière et « T » pour culture traditionnelle). Les couleurs représentent les groupes de pratique. Noir = NSP, vert = omb, rouge= tradi. (Source : Antonin L. et Timeri A.)..... 121

Figure 60: Fréquence d'observations des modalités caractéristiques des groupes de pratiques (Source : Antonin L.) ..... 123

Figure 61: Répartition des ombrières dans les groupes de pratiques selon les années. A. Les 15 ombrières visitées à partir de 2010. B. Les 29 ombrières visitées à partir de 2011. Le groupe « 0 » correspond aux exploitations qui n'ont pas pu être visitées suite à un refus de l'exploitant. Les autres groupes de pratiques sont identifiés par un code couleur identique à celui de la figure 59. (Source : Christine D.) ..... 125

Figure 62: Progression de 2010 à 2014 des symptômes des bio-agresseurs sur les sites visités sur l'île de Raiatea. (Source : Timeri A.) ..... 129

Figure 63: Types de symptômes pour les prélèvements sur tiges et racines desséchées (Photo : Timeri A.)..... 132

Figure 64: Type d'échantillons prélevés : gousses présentant une pourriture (brun non uniforme et présence de pustules blancs (Photo : Timeri Atuahiva)..... 133

Figure 65: Echelle de taux de nécrose sur vitro-plant après 12 jours d'incubation (Photo : Timeri A.)..... 137

Figure 66: Région amplifiée par PCR (Source : Hélène Batina, Grignon 2012)..... 140

Figure 67: Dessèchement de lianes sur tuteurs vivants (A); et sur tuteurs bétons (B) (Photo : Timeri A.)..... 141

Figure 68: Dépérissement des racines et des tiges de *Vanilla planifolia* (Photo : Michel Grisoni)..... 141

Figure 69: A : *Fusarium equiseti* : échantillons avec symptômes « jeunes » (encore vert à certains endroits), Spores septées sur milieu PDA, morphologie du mycélium sur PDA ; B : *Lasiodiplodia theobromae* : échantillons avec symptômes « avancés » (organes totalement bruni présentant des pustules) : Spores de sur milieu SNA ;morphologie du mycélium sur PDA. C : *Fusarium oxysporum* :échantillons avec symptômes intermédiaire (partie nécrosé et saine sur la même portion de l'organe ;morphologie du mycélium sur PDA (Photos : Timeri A.)..... 143

Figure 70 : Mycélium jaune rasant et spores apparentés au *Fusarium solani*. Mycélium sur PDA+ streptomycine. Photos prises au-dessus la boîte en haut à gauche, au-dessous la boîte en haut à droite et conidies observées au microscope. (Photos : Timeri A.)..... 145

Figure 71: Localisations et répartition des espèces de *Fusarium* isolées de vanillier puis testées et validées par test de Koch. (Source : Timeri A.) ..... 147

Figure 72 : Mesure d'agressivité des isolats de Raiatea après double Koch. (Source :Timeri A.)..... 149

Figure 73: Arbre phylogénétique établi pour les isolats de Raiatea avec la séquence ITS. Une lettre correspond à un isolat et le chiffre « 1 » à l'isolat d'origine et « 2 » à l'isolat après test de Koch. Sont surlignés en jaune les artéfacts. Les isolats devraient être identiques et être très proches. Ce n'est pas le cas de C1 et C2. (Source Timeri A.) La méthode utilisée est la Maximum Likelihood. Phénogramme réalisé sur le site Phylogeny.fr (Source : Timeri A.)... 150

Figure 74: Arbre phylogénétique établit avec EF1 alpha. Toutes les souches de la Réunion commence par la lettre « S ». Celles de Raiatea correspondant à celles qui sont en jaune (A1 à J2). La méthode utilisée est la Maximum Likelihood. Phénogramme réalisé sur le site Phylogeny.fr (Source : Timeri A.) ..... 150

Figure 75 : Arbre phylogénétique établit avec 662 isolats, basé sur les séquences EF1alpha ayant chacun 174 bp avec la méthode Maximum Likelihood. Phénogramme réalisé avec MEGA 6 (Tamura et al, 2013). (Source : Michel Grisoni) ..... 152

Figure 76: Arbre phylogénétique réalisé avec quelques isolats de la Réunion (nom de souche : Sxxx) et des souches de *Fusarium* reçues de l'INRA de Dijon (MIAE01184, MIAE01184, FO161 et FO173). La méthode utilisée est la Maximum Likelihood. Phénogramme réalisé sur le site Phylogeny.fr (Source : Timeri A.) ..... 153

Figure 77: Coupe histologique de racine de *V. planifolia* avec la souche Fo12. Le parenchyme est totalement détruit. Seuls les vaisseaux vasculaires ne sont pas atteints. Il ne s'agit pas de trachéomycose car le pathogène ne pénètre pas dans le xylème (S. Koyyappurath et al, en cours de rédaction) ..... 154

## Liste des Tableaux

Tableau 1 : Rendement de la production sous ombrières et sur tuteurs vivants de 2010 à 2012 (Source EVT) .....	21
Tableau 2: Répartition du suivi des exploitations durant les quatre années de l'enquête .....	34
Tableau 3: Types de notations de maladies pour les exploitations suivies au moins deux fois (Source Timeri A.) .....	49
Tableau 4 : Résultat de l'analyse de l'effet année et type d'ombrière pour chaque symptôme (Source : Christine D.) .....	62
Tableau 5 : Comparaison entre année de la prévalence moyenne des signes cliniques associés à la fusariose lors des visites des ombrières mixtes et des ombrière « Haapape ». Estimate est la différence de prévalence sur l'échelle logit. Une valeur positive indique une diminution de prévalence en moyenne entre l'année n et l'année n+1. Une valeur négative indique une augmentation de la prévalence. X2 est la valeur observée de la statistique de test et pvalue le niveau observé du test (Source Christine D.) .....	64
Tableau 6 : Comparaison de prévalence entre les ombrières mixtes et « Haapape » selon les années de visites. Les colonnes Estimate, X2 et pvalue ont le même sens que dans le Tableau 4. Lower et Upper sont les limites de l'intervalle de confiance à 5 % pour Estimate sur l'échelle logit (Source : Christine D.) .....	65
Tableau 7: Comparaison de prévalence entre type d'ombrière selon les années pour le mildiou (Source : Christine D.) .....	66
Tableau 8: Comparaison de prévalence entre années pour les ombrières mixtes et les ombrières "Haapape" .....	66
Tableau 9 : Comparaison entre ombrières mixtes et « Haapape » .....	67
Tableau 10 : Comparaison de prévalence moyenne, de signes cliniques associés à l'antracnose, entre années pour les ombrières mixtes et les ombrières qui ont uniquement du « Haapape » .....	68
Tableau 11: Comparaison de prévalence entre ombrières mixtes et « Haapape » selon les années .....	69
Tableau 12: Comparaison des prévalences entre années dans les ombrières mixtes et dans les ombrières "Haapape" .....	69

Tableau 13: Comparaison de prévalence moyennes de signes cliniques associés aux thrips entre les ombrières mixtes et les ombrières « Haapape » .....	70
Tableau 14: Comparaison de prévalence entre années dans les ombrières mixtes et dans les ombrières « Haapape » .....	71
Tableau 15: Comparaison de prévalence des cochenilles entre ombrières mixtes et « Haapape » par année de visite .....	72
Tableau 16: Comparaison de prévalence entre années dans les ombrières mixtes et dans les ombrières « Haapape » .....	73
Tableau 17: Comparaison de prévalence moyenne entre ombrières mixtes et « Haapape » par année de visites.....	74
Tableau 18: Comparaison des prévalences moyennes de cannelure entre années dans les ombrières mixtes et dans les ombrières « Haapape ».....	74
Tableau 19 : Les variables et modalités de la catégorie « données générales ».....	95
Tableau 20 : Variables et modalités de la catégorie « Environnement » .....	95
Tableau 21: Variables et modalités de la catégorie « techniques culturelles » .....	96
Tableau 22: Variables et modalités de la catégorie « substrat » .....	97
Tableau 23: Variables et modalités de la catégorie « intrants ».....	98
Tableau 24: Répartition des exploitations selon leur type et leurs groupes de pratiques.....	124
Tableau 25: Origine géographique des isolats utilisés dans l'étude. cc : cylindre central (Source : Timeri A.) .....	133
Tableau 26 Composition du milieu de multiplication MS (Source: EVT multiplication in vitro et sevrage de la vanille de Tahiti).....	135
Tableau 27: Température d'hybridation et temps d'élongation des primers.....	139
Tableau 28 : Idendification des souches isolées à Raiatea. Les caractéristiques des isolats sont répertoriées dans le tableau 25. Un isolat a plusieurs « noms ou codes selon le laboratoire où il a été étudié. (Source : Timeri A., Hélène B. et Michel G.).	146

Culture intensive sous ombrière



# Introduction

## Introduction

### 1. Le vanillier *Vanilla × tahitensis*

#### 1.1. Origine et taxonomie

Le vanillier est une liane souple appartenant au genre *Vanilla* Plumier ex Miller, de la famille des Orchidaceae. Cette monocotylédone est dite héli-épiphyte car elle a des racines souterraines bien développées et des racines crampons (Figure 1). C'est la seule espèce d'orchidée qui ne soit pas d'intérêt ornemental mais alimentaire, car elle est cultivée pour la production de « gousses ». La vanille, épice la plus chère au monde après le safran, est utilisée en cuisine pour parfumer desserts, entremets délicats, yaourts, glaces, etc. La vanilline (4-hydroxy-3-méthoxy-benzaldéhyde) est le composant principal de la vanille naturelle bourbon (*Vanilla planifolia*). La vanilline est l'une des molécules de saveur et d'arôme les plus couramment utilisées, y compris sous forme synthétique. La vanille rentre aussi dans la composition des parfums les plus prestigieux comme fixateur (Bouriquet, 1959 ; Savart, 2003). Elle est également utilisée en cosmétologie et en homéopathie. Elle était autrefois considérée comme aphrodisiaque (Beaujean, 2002).

Le genre *Vanilla* comporte 107 espèces tropicales dont 18 à 35 sont aromatiques. Seules trois espèces sont cultivées : *V. planifolia* Jacks. (vanille Bourbon, 97% de la production mondiale), et, dans une moindre mesure, *V. × tahitensis* J.W. Moore (vanille Tahiti, 2% de la production mondiale) et *V. pompona* Schiede (vanillon, moins de 1% de la production mondiale) (Soto Arenas et Dressler, 2010).

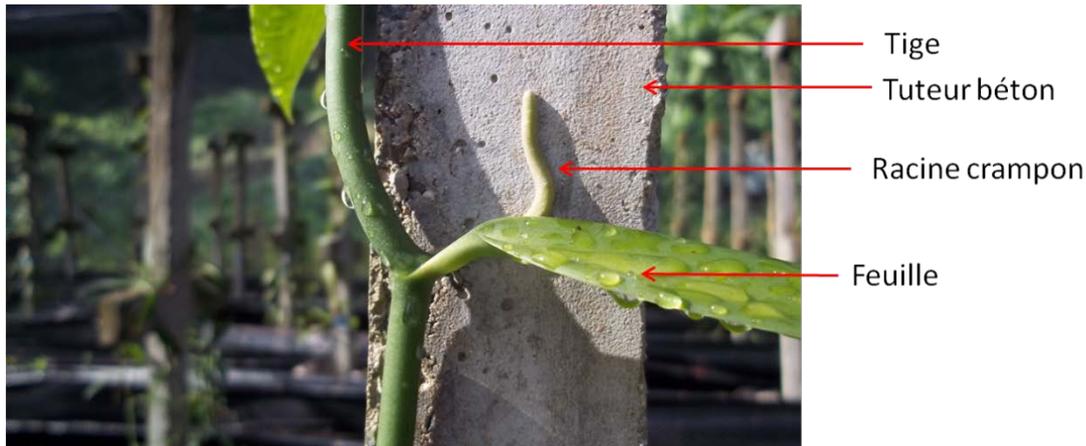


Figure 1: Liane de vanillier s'accrochant au tuteur béton avec ses racines crampons. (Photo Timeri A.)

Le vanillier tahiti aurait été introduit pour la première fois en Polynésie française, en 1848, par l'amiral Hamelin qui amena de Manille (Philippines) une espèce, *V. planifolia* Andrews, qui a été successivement désignée sous divers noms binomiaux (Portères, 1954) : *V. aromatica* S.W., et confondue avec l'espèce *V. ovalis* Blanco (synonymes *V. majajensis* Blanco, et *V. philippinensis* Rolfe (Portères, 1954). Une deuxième introduction avec de nouveaux plants aurait eu lieu en 1850 par le contre-amiral Bonard (Costantin et Bois, 1915). Il s'agissait de *V. planifolia* Andrews, provenant du jardin botanique d'Anvers par l'intermédiaire du Jardin des Plantes de Paris, et de *V. pompona* Schiede provenant des Antilles (Florence et Guérin, 1996).

Une troisième introduction, en 1874, par le commandant Pierre, aurait résulté dans l'apport de nouveaux pieds du Mexique (Costantin et Bois, 1915 ; Florence et Guérin, 1996) (Figure 2).

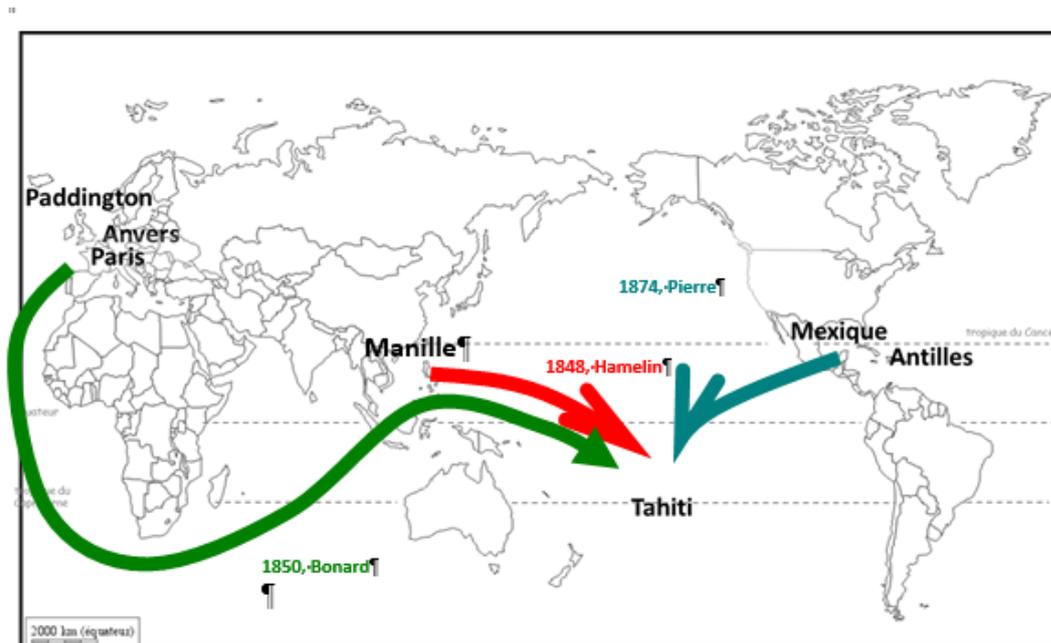


Figure 2: Voies d'introduction de(s) vanillier(s) pouvant être à l'origine du vanillier tahitien. A chaque couleur correspond un plant de vanillier, potentiellement différent des autres vanilliers introduits (Source : Lepers, 2010).

Il a été initialement suggéré que la vanille tahiti résulte de l'hybridation inter-spécifique entre *V. planifolia* d'une part, et *V. odorata* C. Presl. (Portères, 1951 ; Soto Arenas, 1999) ou *V. pompona*, d'autre part (Portères, 1954). Cette hypothèse est fondée sur des caractères communs avec *V. planifolia* - morphologie de la feuille, de la fleur et aspect général du fruit (Portères, 1954) - et avec *V. odorata* - anatomie de la tige (Portères, 1951) et des fruits, capacité à fleurir moins saisonnière et en zone équatoriale comme la Nouvelle-Guinée et *V. pompona* - reflet du disque du labelle, présence d'héliotropine et faible teneur en vanilline dans les gousses, et indéhiscence de la gousse mature. En outre, les dimensions de la feuille de la vanille tahiti sont intermédiaires entre celles de *V. planifolia* et *V. odorata* (Soto Arenas, 2003) (Figure 3).

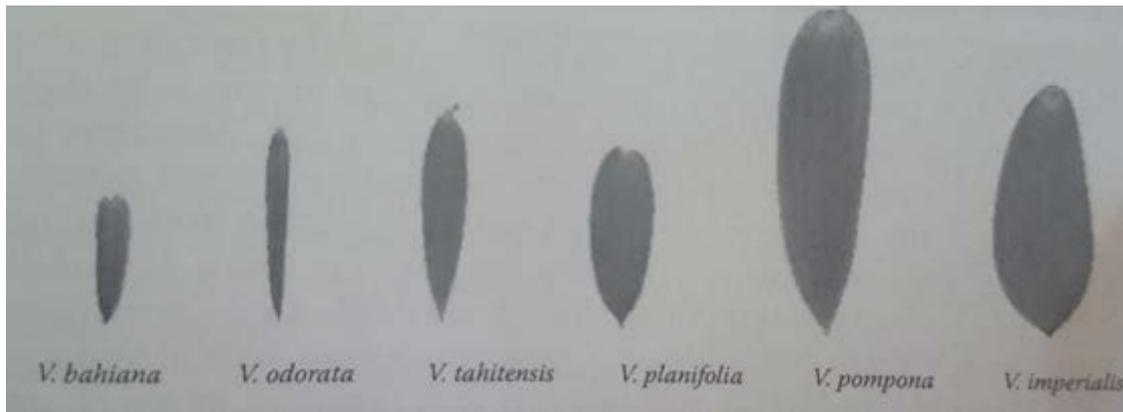


Figure 3: Morphologie des feuilles de différentes espèces de Vanilla. *V. ×tahitensis* est intermédiaire entre *V. odorata* et *V. planifolia*. (Bory et al, 2010)

L'utilisation de marqueurs moléculaires a permis de démontrer que *V. planifolia* est le parent maternel de la vanille Tahiti, qui ne résulte pas d'une auto-fécondation mais d'une hybridation, d'où le nom binomial actuel *Vanilla ×tahitensis* J.W. Moore (Lubinsky et al, 2008 ; Soto Arenas et Dressler, 2010 ; Lepers et al, 2012).

## 1.2. Morphologie

*Vanilla ×tahitensis*, comme *V. planifolia*, est une plante pérenne à croissance monopodiale présentant une tige lianescente flexueuse. Elle s'accroche à un support grâce à ses racines aériennes (ou crampons) produites à chaque entre-nœud et opposées aux feuilles alternes, coriaces et charnues. Son système racinaire est peu développé comme chez l'ensemble des orchidées. Les racines sont dépourvues de radicelles (Portères, 1954).

L'inflorescence naît à l'aisselle des feuilles. Les fleurs comportent trois sépales et trois pétales caractéristiques des orchidées, dont l'un, transformé en cornet et appelé labelle, porte un stigmate et une étamine. Les fleurs fleurissent de manière successive dans l'inflorescence. Leur durée de vie est très éphémère.

La morphologie particulière de la fleur rend l'auto-fécondation naturelle impossible. Une petite membrane (rostellum) empêche le contact entre le pollen et le stigmate. Dans les zones d'introduction, où les insectes pollinisateurs naturels (abeilles du genre *Euglossa*, *Eulaema* ou *Melipones*) sont absents, la pollinisation manuelle (« mariage ») est de rigueur. Le procédé utilisé en Polynésie aurait été découvert par l'esclave Edmond Albius en 1841 sur l'île de la Réunion. Au moyen d'un outil pointu, le rostellum est soulevé et bloqué derrière les pollinies tandis que le pollen est rabattu avec le pouce sur le stigmate (Figure 4).

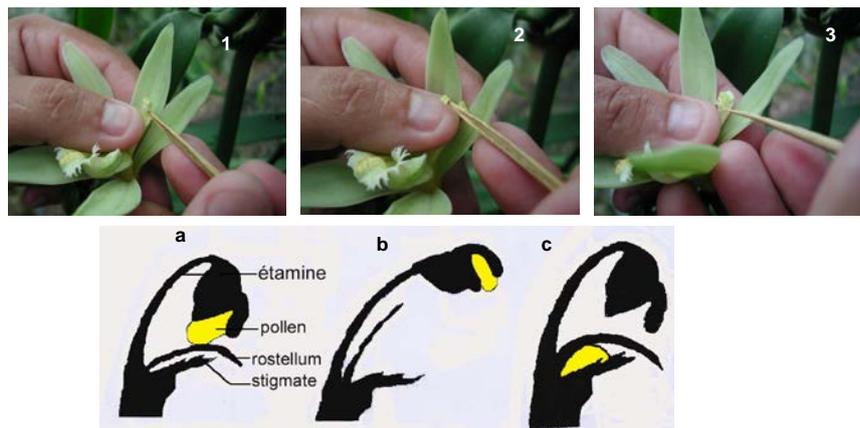


Figure 4: Les étapes de la pollinisation manuelle. 1 : soulever le rostellum avec un outil pointu (a), 2 : prélever le pollen (b) et 3 : déposer le pollen sur le stigmate (c) (Photos et schéma : Christine Wong)

Après fécondation l’ovaire se transforme en une capsule, appelée gousse, qui renferme plusieurs milliers de graines (Stehlé, 1954 ; Portères 1954 ; Soto Arenas, 2003).

Les gousses mures sont préparées selon un processus de transformation traditionnel.

### 1.3. Spécificités de la vanille Tahiti

*Vanilla × tahitensis* cultivée en Polynésie représente 2 % de la production mondiale de gousses (Bory et al, 2010). Sa tige et ses feuilles sont plus fines que celles de *V. planifolia*. Les fleurs sont plus jaunâtres que chez *V. planifolia*. Les sépales longs, rétrécis à la base, sont atténués-aigus au sommet. Les gousses sont récoltées à maturité lorsque le bouquet aromatique commence à se développer. Elles sont généralement indéhiscentes contrairement aux gousses de *V. planifolia*. De ce fait, la préparation de la vanille est différente en Polynésie française. En effet, l’étape d’échaudage, étape effectuée afin de provoquer le processus de libération des arômes pour les gousses de *V. planifolia* qui sont récoltées immatures, n’est pas réalisée et la maturation via une phase de brunissement et de libération des arômes (Lepers et al, 2010) se fait de manière naturelle via séchage à l’air-soleil et fermentation nocturne dans des draps en fermés dans des malles en bois.

La préparation se fait en trois étapes :

- Après récolte, les gousses sont mises à l’ombre jusqu’au brunissement ;
- Une fois le brunissement total obtenu, les gousses sont exposées au soleil durant quelques heures, chaque jour, pendant plusieurs semaines puis mises dans des coffres à

l'obscurité. Lors de cette étape, les gousses perdent de l'eau par transpiration, ce qui permet ainsi une concentration de l'arôme et une meilleure conservation. Le taux d'humidité des gousses diminue de 80 % à 50-55 %. Puis elles sont emballées dans des draps en coton (*faraoti*) et placées dans des caisses fermées pendant la nuit où elles perdent de l'eau par sudation. L'huile se dépose progressivement à la surface des gousses qui deviennent souples et brillantes. Elles sont également massées afin d'homogénéiser le contenu et répartir uniformément les graines dans la gousse.

- L'affinage (ou séchage à l'air), est effectué à l'ombre pour homogénéiser les lots, achever le séchage des gousses, les stabiliser, et permettre ainsi une bonne conservation.

Compte tenu de la perte en eau et du tri de certaines gousses, il faut en moyenne 3.8 kg de vanille mûre pour obtenir 1 kg de vanille préparée.

L'arôme de vanille tahiti est composé de plus de deux cent molécules, soit 5 à 10 fois plus que la vanille bourbon (Brunschwig et al 2009). La vanille tahiti est caractérisée par des notes anisées (alcool anisique, acide anisique et anisaldéhyde) (Brunschwig 2009 ; Brunschwig et al 2009 ; Lepers et al 2010).

## 1.4. Importance économique

La vanille Tahiti est le véritable « or noir » de la Polynésie française. Le berceau de la production est localisé dans l'archipel de la Société et particulièrement aux îles sous le vent. Tahaa, « l'île vanille », Raiatea et Huahine sont les principales îles productrices (Figure 5). La production y est répartie entre 710 producteurs sur une surface de 40 hectares.

La filière vanille représente un enjeu primordial pour le développement économique de la Polynésie française. La culture de la vanille favorise le maintien de l'emploi dans les îles, particulièrement à Raiatea et Tahaa. La vanille est une production à forte valeur ajoutée. Le comité de surveillance de vanille mûre a enregistré 28 tonnes de gousses de vanille mûre vendue localement aux préparateurs de vanille en 2013, soit une valeur de 143 680 000 FCP (1 197 333 euros). La production a diminué de 32.7 % soit une chute de 14.85 t par rapport à 2012. En 2012, 17t de vanille préparée ont été exportées vers les pays commateurs tels que la France, l'Allemagne, les Etats Unis et le Japon. La France absorbe 40 % du marché. Ces exportations représentent une valeur de 298 848 179 FCP (2 490 401 euros).

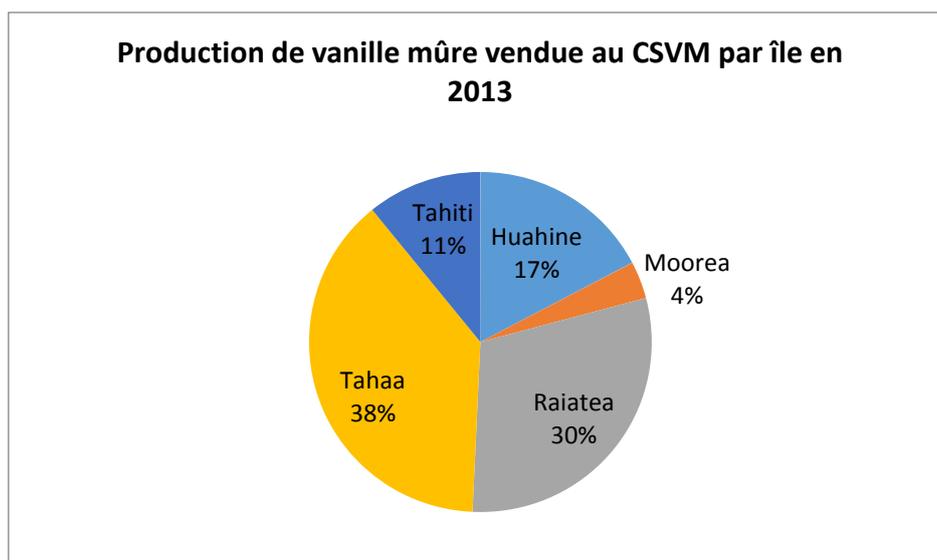


Figure 5: Répartition de la production de vanille mûre vendue lors des comités de surveillance de vanille mûre en 2013 par île de production (Source : Rapport d'activité 2013)

## 2. Un nouveau système de production

### 2.1. Contexte socio-économique

D'importantes modifications socio-économiques ont modifié les structures polynésiennes depuis un demi-siècle. L'attrait de la ville et des salaires réguliers ont contribué au déclin de certaines cultures. La vanille est l'une des toutes premières cultures ainsi affectées. Sa production annuelle, qui oscillait entre 200 et 250 t de vanille mûre (non préparée) jusqu'en 1965, a diminué pour n'être plus que de quelques centaines de kg en 1981. Parallèlement, les cours mondiaux de la vanille ont considérablement augmenté, principalement en raison de la raréfaction de la vanille sur le marché et de sa cotation en US \$, qui a doublé entre 1977 et 1984.

Cette hausse des prix a suscité la volonté du pouvoir politique d'intensifier cette culture. Le Plan de Relance de la Culture de la vanille, proposé par le Service de l'Économie Rurale, a été accepté dans son intégralité par le Conseil du Gouvernement en mai 1983. Il inclut, non seulement la relance des plantations par le biais d'aides et de prêts bonifiés mais aussi l'organisation du séchage et de la préparation de la vanille sèche ainsi que l'organisation du marché. Son objectif quantitatif est un retour au volume de production en Polynésie française des années 1990, soit environ 150 t par an.

Pour atteindre cet objectif, les agriculteurs doivent considérer la vanille comme une culture qui doit être suivie et régulièrement entretenue et non comme un produit de cueillette. Les techniques de production sont décrites dans le bulletin technique « La Vanille » n° 24 (Juillet 1984), qui constitue une mise à jour du bulletin n° 11, originalement publié en Janvier 1978 par le Service de l'Économie Rurale.

## **2.2. De la production extensive sur tuteurs naturels à la production intensive sous ombrière**

La production extensive en plein champ, dite « traditionnelle », se fait majoritairement à flanc de montagne, sur des tuteurs vivants. Les troncs du gliricidia (*Gliricidia sepium* (Jacq.) Kunth ex Walp.), du pignon d'Inde (*Jatropha* spp.), du purau (*Hibiscus tiliaceus* L.) et du flamboyant de Taravao (*Peltophorum pterocarpum* (DC.) Backer ex K. Heyne) servent de support à la croissance de la liane, tandis que leur feuillage fournit l'ombrage nécessaire (60%) à la bonne croissance du vanillier. Une fois les lianes installées, des racines crampons se développent sur le tuteur (Figure 6). Pour favoriser la mise en place d'un système racinaire souterrain plus développé, apportant les éléments nutritifs à la plante, les lianes sont « bouclées », c'est-à-dire ramenées au sol. Le sol est couvert de débris végétaux, constitués de feuillage et de bois provenant de la taille du tuteur.



Figure 6: Culture extensive sur tuteurs vivants : en haut à gauche sur purau, en bas à gauche sur pignon d'Inde, en haut à droite sur flamboyant de Taravao et en bas à droite sur glyricidia. (Photos : T. Atuahiva)

Afin d'augmenter la production, un système de culture intensif sous ombrière a été développé dans les années 2000. Les ombrières sont des structures artificielles de type serre, munies d'un filet « deux en un », assurant l'ombrage (60 %) et limitant l'entrée d'insectes vecteurs de maladies virales. Dans le cadre du programme gouvernemental de relance de la production de vanille, l'EVT a implanté 20 ha de vanille sous ombrière sur les îles de Raiatea, Tahaa et Huahine, et quelques ombrières sur les Îles du Vent (Tahiti et Moorea). À la différence de la culture traditionnelle, les tuteurs sont en béton et implantés dans des bacs de culture. Les ombrières sont généralement proches des habitations pour faciliter le travail des producteurs. Les nouveaux porteurs de projets ont bénéficié à l'installation d'une aide financière et d'une action de formation concernant le choix et l'aménagement du terrain, et l'installation de l'intérieur de l'ombrière (tuteurs, bacs de culture, toile de paillage). Le substrat conseillé était composé d'un tiers de bourre de coco, un tiers de bois et un tiers de feuillage. Une zone de stockage de substrat était également recommandée afin de recharger les bacs de culture (Figure 7).



Figure 7: Le système de culture intensif sous ombrière et sur tuteur béton à gauche et sa zone de stockage de substrat ici composé de bois broyé (Photo : Timeri Atuahiva)

### 2.3. Un constat de succès mitigé

Malgré l'implantation des ombrières, la production de vanille peine à progresser et les objectifs de rendement ne sont pas atteints (voir Tableau 1). Les dégâts causés par des maladies difficiles à gérer sont la cause principale de ce succès mitigé. Démotivés, les planteurs de vanille, risquent, en l'absence de solution à court terme, de se détourner de cette culture.

Tableau 1 : Rendement de la production sous ombrières et sur tuteurs vivants de 2010 à 2012 (Source EVT)

Année	Rendement (kg/ tuteur)	
	Culture intensive	Culture extensive
2010	0,23	0,02
2011	0,27	0,04
2012	0,26	0,04

Le principal responsable de cette stagnation des rendements semble être un dessèchement racinaire, qui se propage le long de la tige et cause, à terme, la mort de la liane. Ces symptômes semblent être causés par un champignon tellurique du genre *Fusarium* dont la prévalence atteindrait des niveaux inédits jusqu'alors. L'absence de connaissances précises

sur l'identité du champignon et sur l'épidémiologie de la maladie qu'il provoque est un frein sérieux à la préconisation de méthodes de gestion aptes à assurer un rendement optimal de la culture et à garantir le revenu des producteurs.

### **3. Typologie des systèmes de production et profils de maladie**

Il existe trois systèmes de production majeurs pour la vanille, dans le monde (Bourriquet, 1954 ; Wong et al, 2003 ; Hernandez-Hernandez, 2010 ; Hernandez-Hernandez et Lubinski, 2010).

- Un mode de production en sous-bois, encore largement majoritaire dans les grandes zones de production que sont Madagascar, l'Inde, l'Indonésie ou encore la Papouasie-Nouvelle Guinée. Ce mode de production représente encore 70% des surfaces plantées voir davantage pour des rendements très faibles par liane, souvent en moyenne peu supérieurs à 50 g/tuteur et par an. Ce mode de production est proche du mode cueillette. A part le mariage des fleurs et quelques passages, non réguliers, pour le bouclage, les producteurs interviennent très peu. L'ombrage est très important. Les lianes accrochées aux arbres par leurs crampons sont séparées par les arbres, ce qui d'une certaine manière, avec l'ombrage, la prévention vis-à-vis du vent et de la pluie due aux arbres, diminue la pression d'inoculum parasitaire. Ces plantations présentent assez peu de pathologies quoique le dépérissement des racines et du bas de la tige et les viroses y sont endémiques et souvent observées (Tombe et Liew 2010 ; Hernandez-Hernandez et Lubinsky 2010).
- Un mode de production organisé, sur tuteurs vivants, en extérieur, type verger. La vanille est connue pour posséder peu de racines et une participation de ses racines aériennes pour sa nutrition. Elle est également connue pour nécessiter un niveau d'ombrage à certaines périodes de son cycle phénologique et moins à d'autres et ceci est notamment important pour le déclenchement de la floraison. De nombreux agronomes (Bourriquet 1954 ; Hernandez-Hernandez et Lubinsky 2010) ont travaillé à l'amélioration des systèmes de conduite sous tuteurs vivants, un peu partout dans le monde. En Polynésie française, plusieurs tuteurs vivants sont utilisés car ils ont une croissance rapide, sont faciles à tailler car ils redémarrent très vite en végétation et car leurs produits de taille peuvent être recyclés en matière organique pour l'amendement

des lianes de vanille. En Polynésie française, ce système de production est conduit un peu à la manière d'un verger, deux lianes, en général, étant accrochées au support. Les boutures sont ancrées dans un substrat, souvent à base de broyat d'arbres et de feuilles associé à la bourre de coco. Le plus souvent ces substrats n'ont pas été mis en fermentation préalable. Les plantations sont légèrement en pente, voire très en pente, selon les cas. Les lianes sont assez exposées à la lumière, malgré l'ombrage de leurs tuteurs, et sont également exposées à la pluie et au vent. Les zones entre les tuteurs sont souvent entretenues afin d'éviter l'envahissement par de mauvaises herbes, réservoirs potentiels pour des maladies, notamment virales. Selon les cas, ces surfaces peuvent être couvertes d'un gazon qui évitera les éclaboussures trop fortes, souvent génératrices de spores fongiques infectieuses résidant au niveau du sol, comme des bactéries phytopathogènes... Ce mode de production est souvent nettement plus productif, jusqu'à 300 à 500 g/ tuteur et par hectare. En revanche, lorsque ces modes de culture sont mal entretenus de nombreuses pathologies se développent : (viroses (Richard et al 2009, Grisoni et al 2010), cochenilles (Quilici et al 2010, Richard et al 2003), mildiou, anthracnose, fusariose)... entraînant potentiellement l'arrêt de la production.

- Un mode de production sous ombrière, plus ou moins intensif, plus ou moins « insect proof », plus ou moins normalisé dans des conditions d'ombrage artificiel... Ce mode de production coûteux est développé depuis les années 1990 avec plus ou moins d'intensification selon les politiques locales (Wong et al 2003, Hernandez-Hernandez et Lubinski 2010). En Polynésie française, la politique de relance de la fin des années 1990, s'est fixée pour objectif d'atteindre un fort pourcentage de production sous ombrières à maille de filet normalisées en termes d'ombrage et de prévention de pénétration d'insectes vecteurs de maladies virales. Ce programme d'installation a été encadré par l'Etablissement Vanille Tahiti (EVT), pour lequel je travaille. Il a été soutenu par des aides bancaires dans le cadre d'un programme gouvernemental de la Polynésie française. Tous les producteurs n'ont pas adhéré à ce programme car il est contraignant et coûteux (remboursements sur le long terme, frais de conduite des plantations). Dans ce type de production, les lianes (majoritairement la variété « Haapape » (2/3 à 3/4) et la variété « Tahiti » (1/4 à 1/3)), certifiées indemnes de virus (contrôle sanitaire EVT, dont je suis responsable) sont installées sur un support artificiel (type pilier de béton) et posées sur substrat issu de la fermentation-minéralisation de broyats d'arbres-feuillages... avec de la bourre de coco (voir

Chapitre 1 et 2). Elles sont régulièrement bouclées vers le substrat, toiletées (tous organes malades sont supprimés et détruits hors de la parcelle)... Les ombrières de Polynésie possèdent entre 150 et 1000 tuteurs. La bonne conduite d'une ombrière de 1000 pieds nécessite un temps de travail considérable (Hernandez-Hernandez et Lubinski, 2010, Wong et al 2003) et peu de producteurs ont les moyens de s'y tenir. Les pathologies rencontrées sous ombrières sont de divers types. Les pathologies virales sont dues à des boutures non contrôlées ou s'il existe des insectes vecteurs piégés dans l'ombrière. Les cochenilles peuvent être importées par les producteurs avec des instruments de travail ou leurs vêtements. Cette espèce a pour propriété de pulluler très rapidement et de provoquer des chloroses très problématiques. Des maladies fongiques telluriques, donc racinaires, dont l'inoculum provient probablement du terreau, cause des dégâts importants notamment en raison d'un taux d'humidité saturant et d'une chaleur élevée. Des maladies fongiques aériennes se développent également pendant les périodes très pluvieuses de l'année. En effet, les gouttes de pluie explosent au contact de la trame serrée des toiles des ombrières et génèrent un brouillard chaud, type sauna. Ces conditions sont extrêmement favorables à la germination des spores de plusieurs champignons pathogènes comme il sera décrit dans le chapitre 1. Le rendement attendu sous ombrière, sans problème sanitaire, est très important (1 à 2 kg/ tuteur). Malheureusement, la complexité de conduite des ombrières, et les nombreuses difficultés rencontrées n'ont encore que rarement permis d'atteindre des rendements de ce type. Le plus souvent, ils sont de l'ordre de 200 à 500 g/ tuteur voire moins en Polynésie française (données EVT ; Lepers et Dron, 2010), comme dans l'Océan Indien (Grisoni, communication personnelle).

Les producteurs n'ayant pas adhéré au programme contraignant lié à l'aide financière de l'EVT ont été très inventifs, et ont décliné ce système de production sous différentes manières, soit uniquement pour l'ombrage, soit avec des toiles à maillage très grand. Ainsi, ils se retrouvent dans des systèmes de conduite intermédiaires entre la toile d'ombrière très rigoureuse prônée par l'EVT et la plantation extérieure, sur tuteurs vivants. Pour ces exploitations, un niveau intermédiaire des problèmes sanitaires et des variations des soins apportés aux lianes s'y retrouvent.

### 3.1. Pratiques culturelles et développement épidémique

Les pratiques culturelles sont assez similaires entre les systèmes de production sur tuteurs vivants et celui sous ombrière sur tuteurs artificiels.

Les principales différences sont les suivantes :

- Dans le premier cas, l'existence de tuteurs vivants. Il faut conduire le tuteur vivant en fonction de sa phénologie, sa vitesse de croissance, et recycler la matière organique générée lors de la taille de ce tuteur dans le substrat.
- Les techniques de compostage sont très variées dans les systèmes de production sous tuteurs vivants où l'intégration de bourre de coco est variable selon les producteurs. Elle peut être apportée soit sous forme de broyat, fermenté ou non, ou directement sous forme de coques non broyées. C'est un peu moins variable sous ombrière, quoiqu'il existe de nombreuses adaptations, peu de substrats étant préparés de la même manière et selon les normes recommandées (Portères, 1954 ; Wong et al 2003, Hernandez-Hernandez et Lubinsky, 2010).
- Une des caractéristiques des productions sur tuteurs vivants est également due au fait qu'il s'agit là de cultures réalisées en milieu extérieur, donc directement en contact avec les vecteurs viraux, non déconnectées des plantes réservoirs de virus (Farreyrol et al 2001 ; Richard et al 2009 ; Grisoni et al 2010)...
- Une source d'infection partagée pour ces deux systèmes de conduite réside dans le mariage des fleurs, puisque celui-ci nécessite une intervention humaine qui souvent participe à blesser certaines pièces de la fleur, terrain favorable au développement d'inoculum infectieux présent au moment de cette procédure. A notre connaissance, il n'a jamais été cherché à savoir si l'inoculum et les conditions d'infection sont supérieurs dans l'un ou l'autre système de culture, au moment du mariage. Cependant, la formation de brouillard dans les ombrières, au moment des pluies, semble plus favorable à la germination de spores fongiques que le milieu naturel pour lequel le tuteur vivant empêche potentiellement la pluie d'atteindre la liane.
- Le bouclage pourrait également être une source de contamination : l'introduction de la liane dans le substrat peut générer des blessures et donc favoriser les infections, mais là également, ce phénomène n'a pas été très étudié, du moins d'après la littérature (Hernandez-Hernandez et Lubinsky 2010, Tombe et Liew, 2010).

En ce qui concerne les plantations en sous-bois, encore largement majoritaires dans le monde, ce mode de plantation étant très extensif et présentant tellement de limitations pour de bons rendements, les pratiques étant peu normalisées, il est difficile de lier des cadres de pratiques à des risques sanitaires. Néanmoins, la présence dans le sol d'incoculum de certains pathogènes, de manière assez ubiquiste dans les régions de production de ces cultures; par exemple le dépérissement des racines et du pied de la tige (Tombe et Liew, 2010), semble constant quels que soient les itinéraires. Par contre l'intensification, via les ombrières, ne peut que favoriser la vitesse de propagation.

### **3.2. Identification d'un champignon du genre *Fusarium***

Tombe et Liew (2010), dans une revue de la littérature concernant les problèmes sanitaires du vanillier, citent le dépérissement des racines et du pied de la tige comme le problème mondial actuel limitant le développement de la culture de la vanille. Cette pathologie a été associée à la présence d'un *Fusarium*. Très tôt (Tucker, 1927, Alconero 1968), ce champignon a été soupçonné comme responsable de la maladie. Son nom a reçu plusieurs appellations au cours du temps (Tombe et Liew 2010) pour s'arrêter sur *Fusarium oxysporum f sp vanillae* (Alconero, 1968).

En Polynésie française, il y a eu un rapport mentionnant l'implication possible de ce pathogène dans les symptômes de dépérissement de la vanille tahiti (Portères, 1951). Toutefois, la démonstration complète de son implication dans les symptômes observés n'y a jamais été faite. Il était donc nécessaire de la conduire, dans les règles de l'art. Dans la littérature, il y a peu de publications qui démontrent de manière indiscutable l'implication de ce *Fo f sp vanillae* dans le développement des symptômes de dépérissement des racines et du bas de la tige. Les seules publications vraiment démonstratives sont celles de Pinaría et al (2010), Tombe et Liew (2010) réalisées sur des souches isolées de vanilleraies, en Indonésie, pour lesquelles il y a eu un isolement monospore, test de pouvoir pathogène reproductible clair. Cet isolement est fait selon le protocole du test de Koch, avec une observation morpho-anatomique des souches isolées et génotypage avec un seul locus génétique.

Pour rappel dans la figure 8, il est rappelé les différentes étapes nécessaires à réaliser pour valider l'identification des *Fusarium* et leur implication dans le développement d'une pathologie associée.

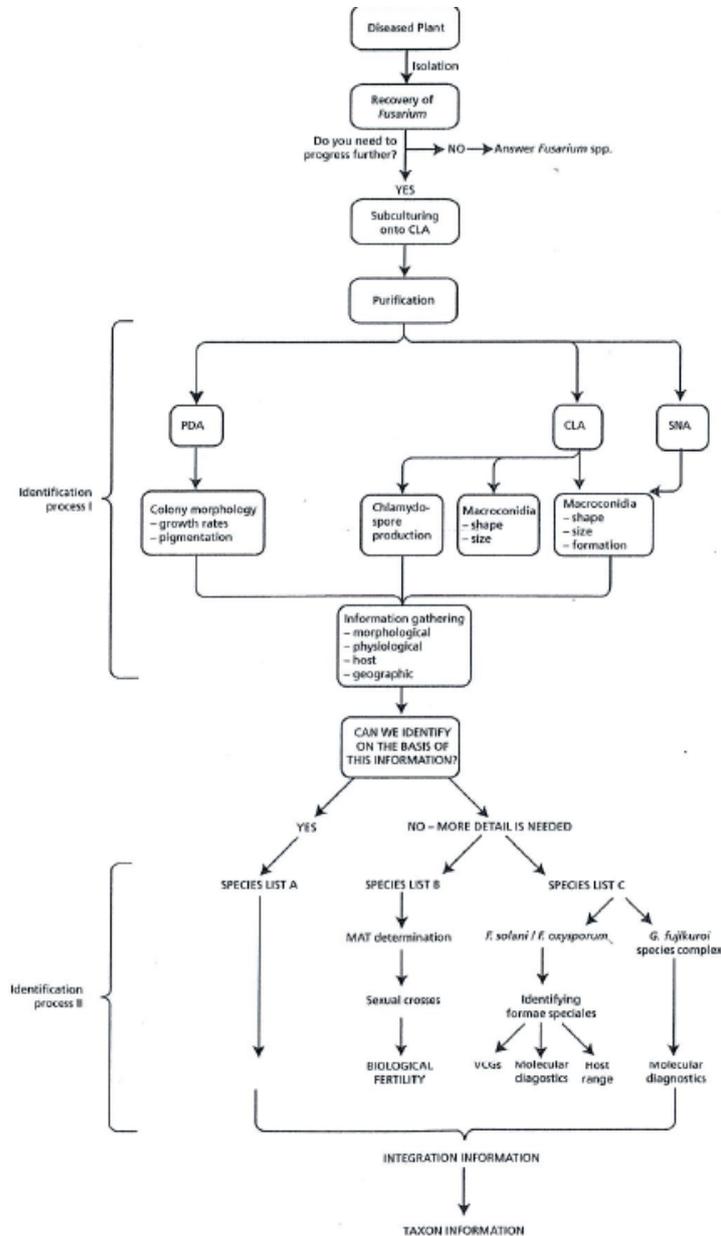


Figure 8: Protocole d'identification des espèces de *Fusarium*. (Leslie et Summerell, 2006)

## 4. Contexte et problématique du sujet de thèse

L'établissement créé en 2003 avait pour but de relancer la production de vanille, en installant un système intensif. Selon les études préalables, le rendement espéré était de 1,5 kg/ tuteur et par an. Mais le passage d'une culture traditionnelle à une culture moderne a entraîné l'apparition de nouveaux problèmes phytosanitaires. Les rendements observés sont devenus plus faibles que ceux espérés : 200 g/ tuteur en moyenne, en réalité sur les 5 dernières années.

C'est dans ce cadre que ma thèse a débuté. Mon premier objectif a été de faire un état des lieux de la situation sanitaire de la vanille tahiti à Raiatea. Pour cela j'ai relevé la présence de signes cliniques des différents bio-agresseurs tuteur par tuteur. L'analyse de ces données sera traitée dans mon premier chapitre.

Pour comprendre la situation sanitaire des parcelles visitées, j'ai établi un questionnaire pour relever les données concernant l'environnement physique et biologique des parcelles et les pratiques culturales appliquées par les producteurs. Ces variables ont été analysées dans mon second chapitre dont le but a été de voir s'il y avait un lien entre la situation sanitaire et les effets des pratiques. Cette étude permettra, à terme, de faire des recommandations de conduite de parcelles auprès des producteurs grâce à un système d'alerte qui reste encore à développer.

Dans mon troisième chapitre, il s'agissait de déterminer l'agent pathogène majeur responsable de la forte baisse de production récurrente sur le vanillier tahiti. J'ai concentré mon étude sur les parcelles de l'île de Raiatea.

Enfin, je conclurai et discuterai des résultats obtenus et des pistes de recherches ultérieures. Cette étude sur l'origine des symptômes de dépérissement de la vanille et les recommandations vont être stratégiques pour proposer à terme des recommandations qui devront limiter l'incidence de la maladie au plus près de zéro et donc de pouvoir relancer efficacement la production d'une vanille de grande qualité en Polynésie.

Mon travail de thèse s'est attaché, dans le cadre des modes de culture sur tuteurs vivants et surtout sous ombrière, à caractériser qualitativement et quantitativement :

- les pathologies rencontrées, leur prévalence et leur incidence dans le temps (Chapitre 1) ;

- la diversité des pratiques utilisées par les producteurs dans le cadre d'une enquête « sociologique », par interview avec traitement statistique des réponses, l'agrégation successive des critères méritant assemblage afin de définir des typologies de pratiques et si possible les confronter avec des pratiques à risques, du point de vue sanitaire (Chapitre 2);
- l'identité du pathogène responsable de la pathologie majeure rencontrée, le dépérissement des racines et du bas de la tige du vanillier, et connaître sa variabilité génétique à Raiatea (Chapitre 3).



# Chapitre 1

# Chapitre 1 : Analyse de la nuisibilité des bio-agresseurs sur le vanillier à Raiatea et de leur dynamique spatio- temporelle

## 1. Introduction

Dans l'introduction générale, nous avons évoqué le problème de la sous-production de vanille par rapport à ce qui était attendu lors de l'installation des ombrières. Un des facteurs pouvant expliquer pourquoi les rendements observés sont bien plus faibles qu'attendus est la présence de pathogènes sur les lianes.

Le terme « exploitation » englobe les ombrières (culture intensive sur tuteur béton) et les parcelles traditionnelles (culture extensive sur tuteurs vivants) visitées au cours de cette étude. La bibliographie suggère que la principale maladie responsable de la baisse de production, du moins sur *V. planifolia*, est la pourriture des racines « root rot » et des tiges « stem rot », dont l'agent responsable est un champignon du sol (Tucker, 1927 ; Huguenin 1962 ; Alconero, 1968 ; Dequaire, 1976 ; Fouché et Jouve, 1999 ; Suseela Bhai & Dhanesh, 2008). Cependant, d'autres bio-agresseurs touchent le vanillier dont d'autres maladies fongiques tels que le mildiou (Tsao et Mu 1987) et l'anthracnose, les maladies virales (Potyvirus, CMV, CymMV) (Grisoni et al 2004 ; Richard et al 2009 ; Grisoni et al 2010), les insectes ravageurs tels que les cochenilles, les thrips, les pucerons (Fouché et Jouve 1999 ; Le Bellec 2002).

Bien que les producteurs et les vulgarisateurs aient constaté la présence de ces pathogènes dans certaines exploitations, aucun bilan sanitaire n'a été réalisé depuis la création de l'établissement et l'installation des premières ombrières en 2003.

Le premier objectif du travail décrit dans ce chapitre était donc de dresser un bilan global de la situation sanitaire des exploitations de vanille de l'île de Raiatea et de décrire la dynamique des pathogènes présents dans les exploitations sur plusieurs années.

En plus de ces « bio-agresseurs » (les maladies fongiques et virales ainsi que les insectes ravageurs), deux états de la vigueur de la liane ont aussi été relevés : la présence de jaunissement et de cannelures des lianes. Une liane cannelée est une liane qui présente un sillon du fait qu'elle n'est plus suffisamment alimentée en eau et en nutriments.

Tous les exploitants ne cultivent pas les mêmes variétés. Les deux variétés les plus cultivées sont « Haapape » et « Tahiti ». La variété « Tahiti » est recherchée pour son arôme et la variété « Haapape » pour sa vigueur. Dans ce chapitre, je me suis concentrée sur l'état sanitaire des tuteurs de la variété « Haapape ».

Le second objectif du travail décrit dans ce chapitre était de comparer l'épidémiologie des exploitations selon le type de culture utilisé et notamment :

- de déterminer si le nouveau système de culture sous ombrière favorisait l'apparition de certains bio-agresseurs par rapport aux parcelles traditionnelles
- de déterminer si la diversité variétale intra-exploitation avait un impact sur l'état sanitaire des exploitations.

Pour atteindre ces deux objectifs j'ai étudié les variations de la prévalence et de l'incidence des « bio-agresseurs » en fonction du temps et selon le type d'exploitation (ombrière 100% « Hapaape », ombrière mixte ou parcelle traditionnelle). Pour l'incidence, je me suis, avec mon encadrement, concentrée sur les signes cliniques de la fusariose. Nous avons souhaité inclure les autres bio-agresseurs notamment pour étudier d'éventuelles interactions entre ces différents bio-gresseurs.

Cette étude est un préalable à l'identification de facteurs de risque favorisant le développement de la fusariose, autant parmi les variables environnementales que parmi les pratiques culturelles adoptées par les exploitants.

Pour répondre à ces questions, des exploitations (ombrières ou parcelles traditionnelles visitées au cours de cette étude) de l'île de Raiatea ont été échantillonnées. La façon dont l'étude a été réalisée est détaillée dans la partie « 2. Méthodes ». Les résultats et les discussions sont décrits dans la partie « 3. Bilan de l'état sanitaire des exploitations de Raiatea ».

## **2. Méthodes**

### **2.1. Plan d'expérience et réalisation de l'enquête**

Les visites ont été réalisées, annuellement, lors de la saison humide, c'est-à-dire de novembre à février de 2010 et 2013. Lors de chaque visite dans les exploitations, la présence des signes

cliniques des 5 bio-agresseurs, la présence de 2 bio-agresseurs et de 2 signes cliniques *a priori* non spécifiques des bio-agresseurs a été notée tuteur par tuteur. Sur les 91 exploitations de l'île, ce sont 51 exploitations qui ont été visitées au moins une fois, soit 15.291 tuteurs relevés.

## 2.2. Échantillonnage

En 2010, au démarrage de l'étude, 15 ombrières bien connues des vulgarisateurs de l'EVT ont été choisies (Figure 9). Ces 15 ombrières étaient caractérisées par le fait qu'elles étaient atteintes, voire très atteintes par les maladies.

En 2011, 12 de ces 15 ombrières ont été revisitées. Vingt-neuf ombrières supplémentaires ont été ajoutées afin d'augmenter la taille de l'échantillon, la diversité des situations géographiques et de prendre en compte des ombrières moins touchées par la maladie. Pour cet échantillon de 2011, le critère de choix était principalement la situation géographique, dans le but de représenter chaque district de l'île.

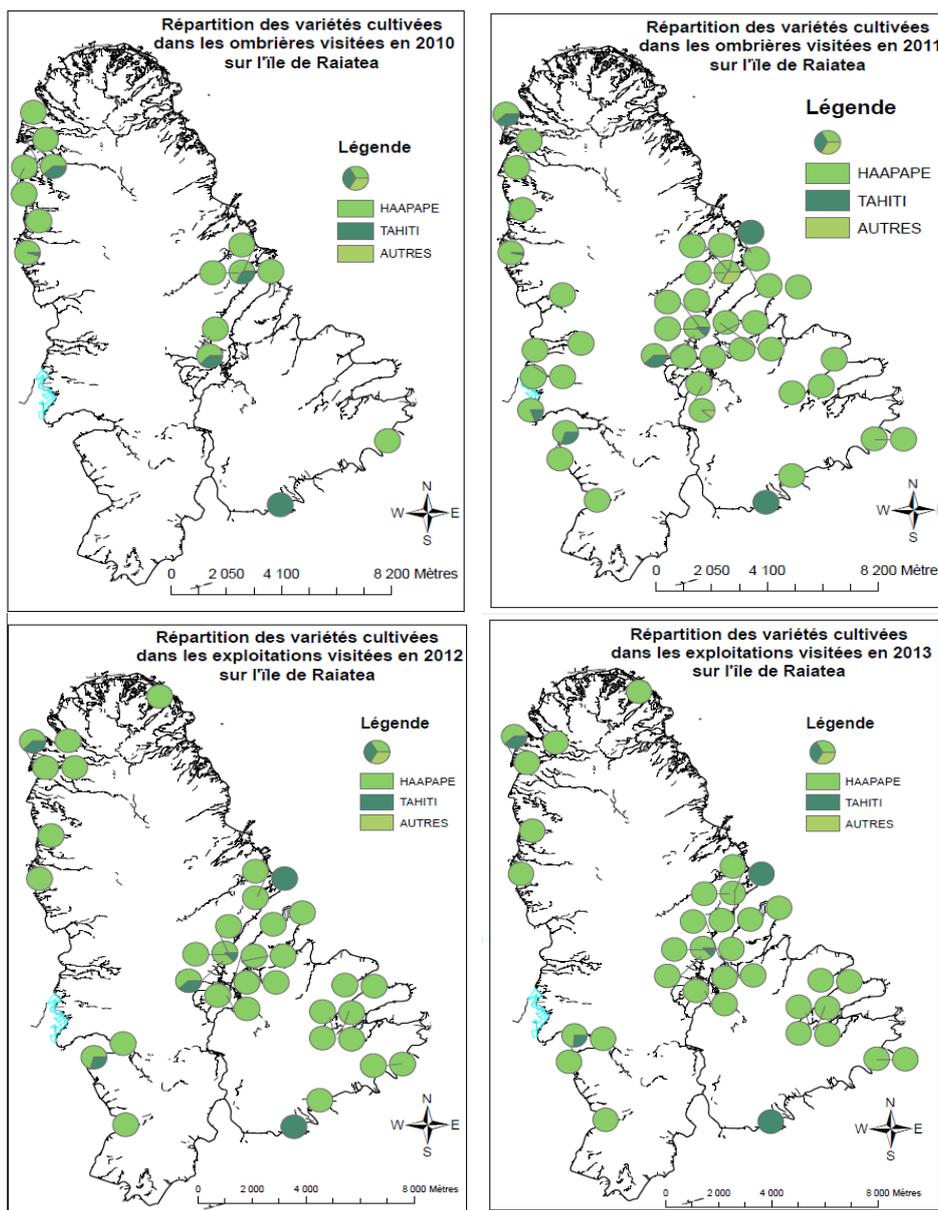


Figure 9: Localisation des exploitations visitées en 2010, 2011, 2012 et 2013 et répartition des variétés cultivées. (Source : Timeri A.)

En 2012 et 2013, 26 ombrières incluses dans l'étude en 2010 et 2011 ont été visitées à nouveau. Pour augmenter les effectifs, j'ai choisi d'inclure 7 nouvelles exploitations dans l'enquête. Parmi les 7 exploitations, 5 sont des parcelles traditionnelles. Ces dernières ont été repérées lors des visites de 40 parcelles traditionnelles visitées en 2011 non incluses dans l'étude du fait de la difficulté à identifier les bio-agresseurs dans des parcelles en friche, voire abandonnées (Figure 10).



Figure 10: Quatre parcelles traditionnelles en friche et abandonnées sur Raiatea

Il faut noter que les visites d'exploitations ont pu être réalisées uniquement chez les producteurs qui ont bien voulu que des relevés de bio-agresseurs y soient effectués. Certains ont accepté une année, mais pas les années suivantes, pour différentes raisons. Certains producteurs pensaient que les bio-agresseurs étaient amenés par moi-même et ma collègue, des personnes de l'extérieur, ou alors ils nous annonçaient l'arrêt d'exploitation de leur(s) parcelle(s), ou encore ils restaient injoignables.

Le suivi temporel n'a donc pas été assuré pour toutes les exploitations. De fait, l'échantillon comprend à la fois des données manquantes et des exploitations « perdues de vue ».

Finalement, l'échantillon est constitué à partir de 51 exploitations réparties dans 4 groupes, selon les années auxquelles elles ont été visitées la première fois (Tableau 2). Le groupe A est caractérisé par les exploitations visitées à partir de 2010, le groupe B caractérisé par les exploitations visitées à partir de 2011, le groupe C caractérisé par les exploitations visitées uniquement en 2011 et perdues de vue en 2012 et 2013, et enfin le groupe D est caractérisé par les exploitations visitées en 2012 et 2013.

Ce sont donc 15 exploitations qui ont été choisies en 2010, 29 exploitations supplémentaires ont été ajoutées en 2011, et 7 en 2012.

Le groupe A comprend des exploitations choisies pour la présence de symptômes.

Les groupes B et C ont été choisis pour représenter des secteurs géographiques de l'île, non représentés dans le groupe A. Le groupe D, principalement représenté par des parcelles traditionnelles, a été choisi pour compléter l'échantillonnage. Il ne s'agit pas du tout d'un

échantillonnage aléatoire. Cependant, j'ai effectué au moins une fois un relevé sur environ la moitié des exploitations de l'île.

Tableau 2: Répartition du suivi des exploitations durant les quatre années de l'enquête

Groupe	Année de visite	Nombre d'exploitations visitées
A	2010-2011-2012-2013	9
A	2010-2011-2012	1
A	2010-2011-2013	2
A	2010-2012-2013	1
A	2010	2
B	2011-2012-2013	15
B	2011-2012	2
B	2011-2013	1
C	2011	11
D	2012-2013	7

Par la suite, un numéro codé a été attribué à chaque exploitation. Il comporte la référence du type d'exploitation, « O » pour les ombrières et « T » pour les parcelles traditionnelles, suivi d'un numéro donné au hasard.

## 2.3. Relevés tuteur par tuteur

Pour toutes les exploitations, chaque année de visite, chaque tuteur, la présence de signes cliniques caractéristiques des bio-agresseurs ainsi que d'autres informations ont été collectées. Le nombre de tuteurs, par exploitation, est relativement stable. Ce sont 120 tuteurs en moyenne qui ont été installés dans les ombrières de petite surface (288m<sup>2</sup>). Dans les ombrières de surface moyenne (576m<sup>2</sup>), ce sont 250 tuteurs en moyenne qui ont été installés. Les grandes ombrières, 1152m<sup>2</sup> et 1920m<sup>2</sup> ont respectivement 500 et 750 tuteurs en moyenne. Dans les ombrières, les tuteurs sont espacés de 1,5m entre les rangées et de 1m entre les tuteurs. Dans les plantations traditionnelles, il a été choisi de faire les relevés sur 120 tuteurs.

### 2.3.1. Caractérisation des bio-agresseurs

Les signes cliniques observés au sein des exploitations et notés ont été les suivants :

- des pourritures sèches ou humides localisées principalement aux niveaux des racines qui remontent jusqu'aux tiges, voire même jusqu'aux feuilles. Le parenchyme est complètement détruit laissant apparaître le cylindre central. Ces symptômes ont été associés à la présence de la fusariose (Figure 11).

- des pourritures molles principalement localisées au niveau des gousses. Ces symptômes ont été associés à la présence de mildiou (Figure 12).
- des tâches marron sèches concentriques localisées sur les tiges principalement. Ce symptôme a été associé à la présence d'anthracnose (Figure 13).
- des feuilles déformées : en virgules, fines ou présentant des gaufrages, des feuilles opposées, des entrenœuds raccourcis, des fleurs et des bouts déformés. Ces symptômes ont été associés à la présence de virus (Figure 14)
- des boursouflures localisées sur les gousses principalement mais aussi sur tige. Elles ont été associées la présence de thrips (Figure 15)

Des bio-agresseurs visibles à l'œil nu, tels que les pucerons et les cochenilles, ont aussi été relevés. Les pucerons étaient principalement localisés sur le rachis (Figure 16). Les cochenilles sont localisées sur les tiges mais peuvent être observés sur toute la liane, lors de fortes infestations (Figure 17).

Des lianes cannelées (Figure 18) et jaunes (Figure 19) ont également été observées. Même si elles ne pouvaient être associées à une maladie, elles ont été notées. Il est possible, sans doute probable, que la présence de cannelures ou le jaunissement des lianes soit la conséquence d'un manque de nutrition.

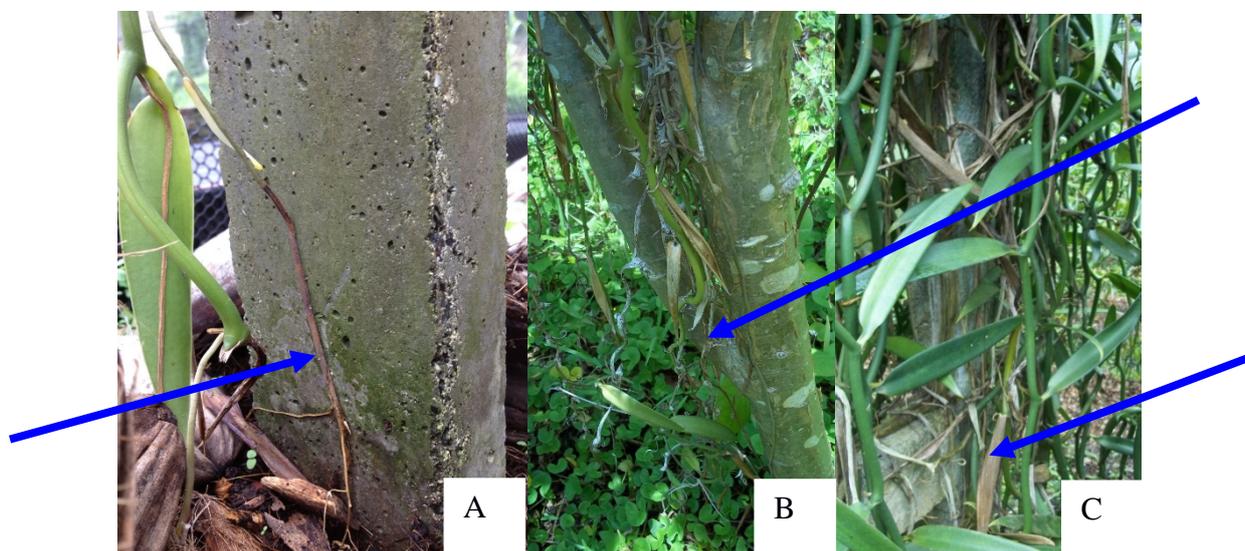


Figure 11: Symptôme de la fusariose : nécrose sur racine et tige sur tuteur béton (A), dessèchement des tiges et feuilles sur tuteurs vivants (B) et sur tuteur béton (C) (photo : Timeri A.)



Figure 12: Symptôme du mildiou caractérisé par une pourriture molle au niveau des gousses, même verte, qui les noircit et les fait chuter (photo : Timeri A.)

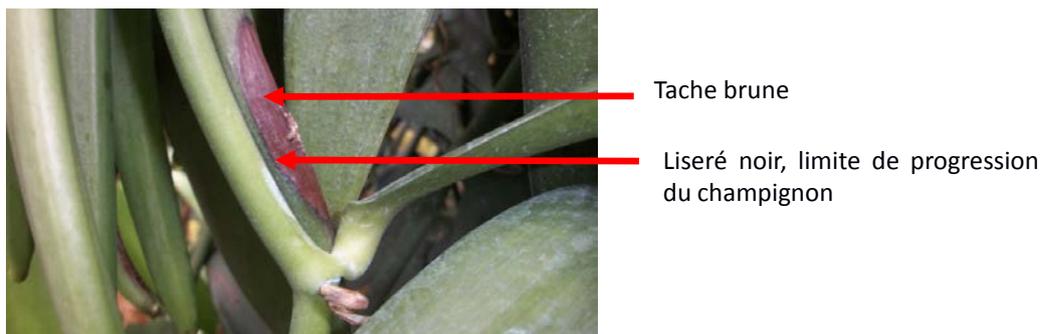


Figure 13: Les taches brunes, principalement sur les lianes, constituent un symptôme caractéristique de l'antracnose. La plante se défend en limitant la progression du champignon dans ses tissus. Le liseré noir correspond une barrière de protection (photo : Timeri A.)

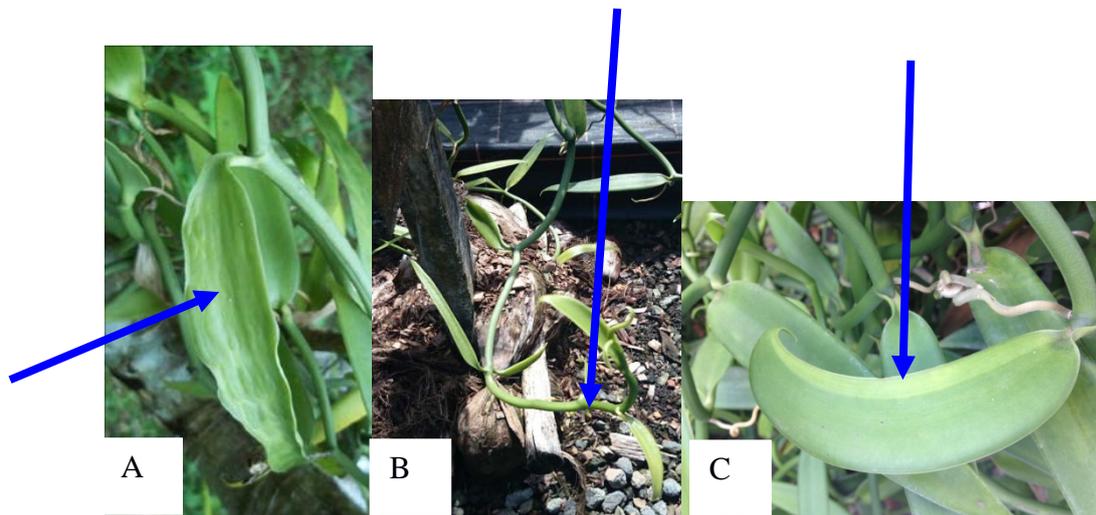


Figure 14: Les feuilles déformées sont les principaux symptômes de viroses. Les gaufrages sont caractéristiques des Potyvirus (A). Quant aux feuilles fines et opposées (B) ainsi que les feuilles en forme de « virgule » elles sont caractéristiques du Cucumber Mosaic Virus (C). Un test Elisa est nécessaire pour confirmer leur présence. Un autre virus, le Cymbidium, est détectable au test Elisa mais son symptôme est difficilement observable (photo : Timeri A.)



La zone piquée devient plus foncée au départ avant de devenir un « bouton »

Figure 15 : Les piqûres de thrips laissent des « boutons », puis déforment la gousse. C'est un souci car, à la vente, les gosses sont déclassées (photo : Timeri A.)



Figure 16: Les pucerons noirs aptères à frange blanche, *Cerataphis orchidacearum* ou pucerons des orchidées ressemblent aux cochenilles, car leurs pattes et antennes sont très réduites. Leurs piqûres peuvent être une porte d'entrée pour le mildiou. Ils sont majoritairement sur les rachis, organes qui portent les gousses (photo : Timeri A.)



Figure 17: Les cochenilles *Conchaspis angraeci* ou cochenilles de la vanille, sont des insectes blancs en forme de cône. Ces insectes piqueurs-suceurs de sève entraînent l'apparition de taches chlorotiques jaunes sur les feuilles et les tiges. Lors de fortes infestations, ils affaiblissent et diminuent le rendement d'un vanillier. Cela peut aboutir à un dessèchement du vanillier (photo : Timeri A.)



Figure 18: Lianes cannelées, rides au niveau de la liane (photo : Timeri A.)



Figure 19: Lianes jaunes sur tuteur béton (photo : Timeri A.)

Les notations ont été relevées par deux personnes positionnées dans les allées de part et d'autre d'une rangée de tuteurs (Figure 20). Un bio-agresseur était noté présent lorsque l'une des personnes distinguait les signes cliniques, ou observait le bio-agresseur ou le jaunissement ou des lianes cannelées.

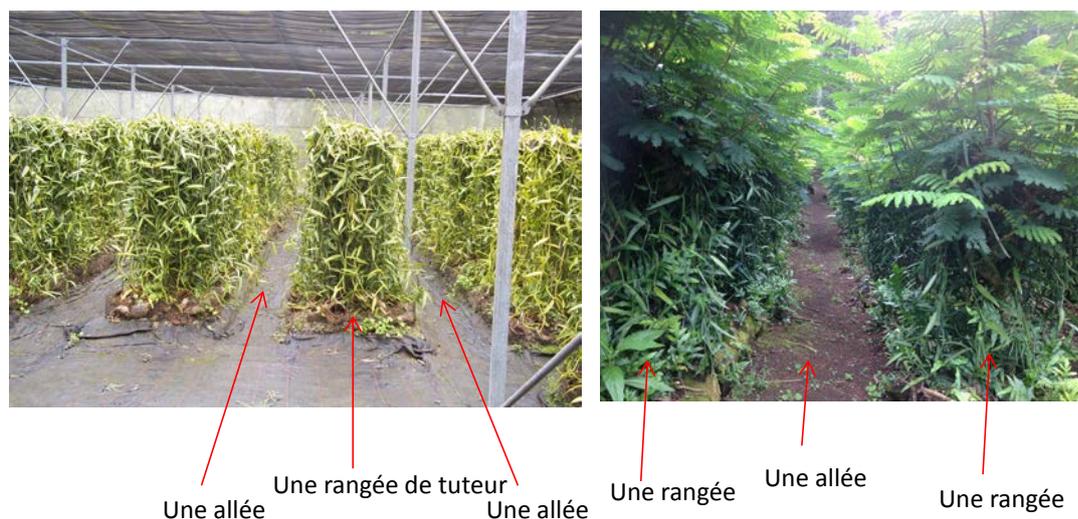


Figure 20: Mode de parcours des exploitations pour les notations de symptômes : une personne de part et d'autre de la rangée de tuteurs à gauche dans une ombrière et à droite dans une parcelle traditionnelle (Timeri A.)

De 2010 à 2012, les notations ont été réalisées manuellement, avec une étape de saisie informatique. En 2013, une tablette a été utilisée pour limiter les erreurs lors de la saisie.

### 2.3.2. Autres caractérisations

Pour chaque ombrière, l'emplacement des tuteurs est précisé sur un plan. La variété et l'origine du clone de la liane planté au départ sont des données que j'ai à disposition. Lorsque que des travaux ont été effectués par le producteur, notamment pour le renouvellement de la liane dans l'année, le nouveau clone n'était pas connu. J'ai considéré que c'était le même pour tous les tuteurs renouvelés de l'exploitation. Les lianes arrachées et les nouvelles plantations ont également été identifiées sur le plan de la parcelle. Une liane a été renouvelée lorsque qu'une nouvelle bouture de liane d'un mètre a été attachée sur le tuteur (Figure 21). Dans ces cas, le substrat est renouvelé aux pieds des lianes.

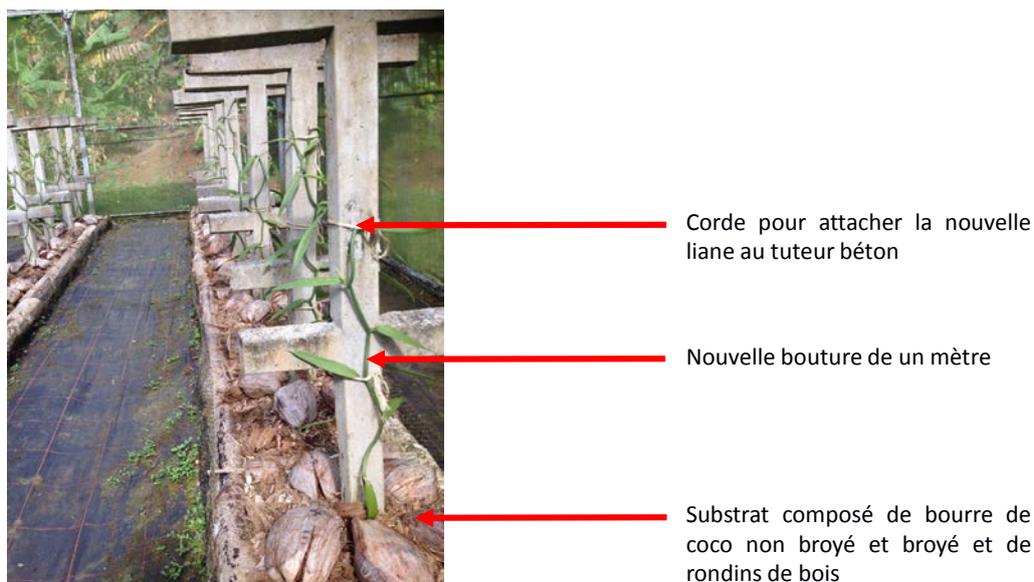


Figure 21: Lianes renouvelées correspondant à de nouvelles boutures placées sur un nouveau substrat et attachées sur le tuteur

Ces informations sont utiles pour déterminer la fréquence des renouvellements, et aussi la fréquence des arrachages.

Pour les parcelles traditionnelles, il n’y avait qu’une seule variété, « Haapape » et qu’un seul clone. Un plan a également été établi pour suivre l’évolution de ces parcelles. Je me suis concentrée sur une zone de 120 tuteurs de la parcelle.

## 2.4. Constitution du jeu de données

Les informations sont organisées de la façon suivante :

1. Un fichier au format csv par producteur et par année, répertoriant pour chaque tuteur sa position, un code correspondant au clone, et les symptômes observés.
2. Un fichier par année associant, pour chaque exploitant, les identifiants des clones à une variété et le statut, renouvelé ou non associé au clone.
3. Un fichier par année et par exploitant avec les coordonnées spatiales de la porte pour les ombrières.

Un script R permet d’associer les informations et de produire un fichier rassemblant l’ensemble des données brutes par tuteur et par année. Ce script génère aussi une représentation spatialisée de l’état sanitaire des lianes pour chaque visite réalisée (Figure 22).

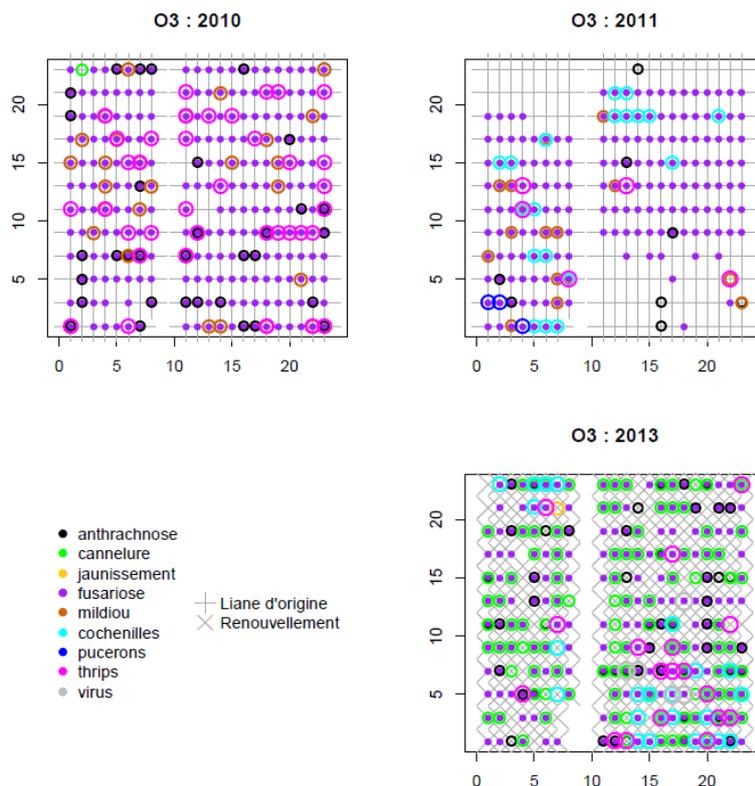


Figure 22: Exemple de relevés des bio-agresseurs et toutes informations relatives à l'ombrière O3 visitée en 2010, 2011 et 2013. Chaque croix correspond à un tuteur, caractérisé par l'ensemble de ses symptômes et par l'origine de la liane. Un code couleur est attribué à chaque maladie

Dans l'exemple de l'exploitant O3 (Figure 22), en 2010, la quasi-totalité des lianes sont atteintes du symptôme de la fusariose, avec une forte prévalence des symptômes du mildiou, de l'anthracnose et des thrips. En 2011, deux secteurs de l'ombrière (en haut à gauche et en bas à droite) présentent des lianes avec disparition des symptômes de fusariose. En 2013, l'ensemble des lianes ont été renouvelées. Cependant, les symptômes de fusariose réapparaissent, mais aussi ceux des thrips et de l'anthracnose. Des symptômes de type cannelures et liés à la présence de cochenilles apparaissent.

## 2.5. Méthodes d'analyse

Pour décrire l'épidémiologie des bio-agresseurs sur l'île, un suivi pluri-annuel des ombrières a été adopté pour cette étude. Les analyses effectuées concernent uniquement les tuteurs de la variété « Haapape ».

Tout d'abord, une analyse de la prévalence par parcelle a été réalisée en utilisant l'ensemble des données disponibles. Il a été cherché à comprendre comment évoluaient les symptômes d'une année sur l'autre, en étudiant l'incidence des bio-agresseurs et la disparition des symptômes. Pour cela, le jeu de données a été restreint aux exploitations visitées au moins deux années.

### 2.5.1 Analyse de la prévalence

Pour chaque pathogène une étude a été réalisée séparément. La variable étudiée est le comptage  $X_{ijk}$  du nombre de lianes présentant les signes cliniques de la maladie dans la parcelle de l'exploitant  $i$  l'année  $j$ , pour le mode d'exploitation  $k$ . Le nombre total de tuteurs de la parcelle est  $n_{ijk}$ . L'hypothèse est la suivante : toutes les lianes sont indépendantes vis-à-vis de la maladie. Une liane donnée a une certaine probabilité  $p_{ijk}$  d'être infectée. L'objectif de cette analyse est d'estimer la prévalence moyenne de chaque bio-agresseur selon l'année et le mode d'exploitation. Comme il n'y a que deux années pour les exploitations traditionnelles, elles sont considérées à part dans cette analyse. Le mode d'exploitation correspond donc à des ombrières dans lesquelles sont cultivées uniquement la variété « Haapape » ou des ombrières dans lesquelles sont cultivées un mélange de variétés dont la variété « Haapape » (notées ombrières « mixtes »).

#### 2.5.1.1. Le modèle utilisé

$X_{ijk}$  est une variable aléatoire dont il est supposé qu'elle suit une loi binomiale  $B(n_{ijk}, p_{ijk})$ . On modélise les variations de la probabilité pour une liane d'être infectée en fonction de l'année et du type d'exploitation. Afin de prendre en compte le fait que les mesures d'une année sur l'autre ne sont pas indépendantes lorsqu'elles sont faites dans les mêmes parcelles, la méthode utilisée est le GEE (pour Generalized Estimating Equations). Il s'agit d'une technique de régression semi-paramétrique qui permet d'obtenir un estimateur robuste de la variance résiduelle (Prentice et Zhao, 1991). Le GEE prend en compte la structure de corrélation entre les observations pour estimer les paramètres du modèle. Pour l'analyse de la prévalence, une structure de corrélation « échangeable » (corrélation égale à  $\alpha$  pour 2 observations issues de la même ombrière, 0 sinon) a été utilisée. Du fait de problème d'invariabilité de la matrice de variance-covariance, pour l'analyse de l'incidence, une structure de corrélation

« indépendant » (toutes les observations indépendantes) a été utilisée. La méthode permet d'estimer la matrice  $V$  de variance-covariance et d'en déduire la variance estimée des coefficients du modèle. Tous les calculs ont été réalisés à l'aide du package R « geepack » (Hojsgaard, 2006). Le modèle utilisé est le suivant :

$$\log\left(\frac{p_{ijk}}{1-p_{ijk}}\right) = \alpha_j + \beta_k + \gamma_{jk}$$

Où  $\alpha_j$  représente l'effet de l'année  $j$ ,  $\beta_k$  l'effet du type d'exploitation  $k$  et  $\gamma_{jk}$  l'effet de l'interaction entre l'année et le type d'exploitation. Les sorties de l'analyse sont les prévalences estimées pour chaque niveau des facteurs (par année et par mode d'exploitation) et leur intervalle de confiance.

### 2.5.1.2. Tests d'hypothèses

Des tests d'hypothèses peuvent être réalisés à partir du modèle, en utilisant la statistique de Wald (Wald, 1943). Cette statistique permet de comparer des coefficients estimés ou une combinaison linéaire de ces coefficients à une valeur attendue, et utilise la variance d'erreur des coefficients. Sous l'hypothèse nulle, les coefficients sont égaux à la valeur attendue et la statistique suit asymptotiquement une loi de  $\chi^2$ . Le nombre de degrés de liberté est le nombre de coefficients moins 1. Pour un symptôme donné, plusieurs tests d'hypothèse ont été réalisés, des tests globaux de l'effet des facteurs « année » et « type d'exploitation », et des tests de comparaison deux à deux.

*Test de l'effet année* : L'hypothèse à tester

$$H_0 : \text{an2010} = \text{an2011} = \text{an2012} = \text{an2013}$$

$$H_1 : \text{au moins une des quatre années a un effet significativement différent de zéro.}$$

Ici, l'effet année est l'effet moyen de l'année, tous modes d'exploitations confondus.

*Test de l'effet mode d'exploitation*: L'hypothèse à tester

$$H_0 : \text{Haapape} = \text{mixte, contre l'hypothèse}$$

$$H_1 : \text{les 2 modes d'exploitations ont des effets différents.}$$

L'effet mode d'exploitation est un effet moyen, toutes années confondus.

*Test de l'effet d'interaction année x mode d'exploitation* : L'hypothèse à tester

$H_0$  : l'effet de l'année est le même pour les 2 modes d'exploitation, contre l'hypothèse

$H_1$  : au moins un des modes d'exploitation a un effet significativement différent de zéro au moins une année.

Lorsque les effets d'interaction sont significatifs, quelles combinaisons années x mode d'exploitation sont différentes des autres ? Des tests de comparaison deux à deux sont alors effectués.

*Tests de comparaison deux à deux* : Trois séries de tests ont été accomplis, pour répondre aux questions suivantes.

- Pour chaque année, existe t'il une différence entre les ombrières haapape et mixte ?
- Pour les ombrières mixtes, entre quelles années des différences existent ?
- Pour les ombrières haapape, entre quelles années des différences, sont elles observables?

*Correction pour les tests multiples* : Pour chaque symptôme, en tout 19 tests statistiques différents ont été réalisés. S'il n'y a aucun effet significatif, l'hypothèse  $H_0$  est rejetée au seuil 5 % en moyenne dans 1 des tests. Pour conserver, pour chaque test, une probabilité de 5 % de rejeter  $H_0$  si  $H_0$  est vraie, il faudrait réaliser chaque test au seuil 0.003. Le nombre de tests réalisés étant trop faible pour contrôler réellement le niveau de faux positifs, j'ai décidé de réaliser tous les tests au seuil 0.005, un compromis entre le risque de trouver des faux positifs, et le risque de ne pas trouver un effet significatif.

### **2.5.1.3. Validation des hypothèses et tests diagnostics**

L'hypothèse d'indépendance des résidus est vérifiée *a posteriori* de deux façons différentes. D'une part, une représentation graphique des résidus a été réalisée en fonction des valeurs prédites. D'autre part, il a été vérifié, par analyse de variance, qu'il n'y avait pas d'effet du groupe d'échantillonnage sur la valeur des résidus. Les tests diagnostics ont été réalisés pour chaque symptôme étudié. Les résultats sont illustrés ici pour le cas de la fusariose, à titre indicatif.

La figure 23 montre le graphe des résidus. Il a été vérifié, graphiquement, que pour chaque valeur prédite, les résidus étaient à peu près centrés sur zéro.

La figure 24 montre un boxplot des résidus en fonction de l'année et du groupe d'échantillonnage. Les p-values données sur la figure sont les p-values de l'analyse de variance correspondant à l'effet groupe et l'effet d'interaction groupe x année. Il a été vérifié que ces effets n'étaient pas significatifs. En utilisant les figures 23 et 24, l'hypothèse d'indépendance des résidus a été validée pour l'analyse de la prévalence des symptômes de la fusariose. La même analyse a été réalisée pour chaque symptôme étudié.

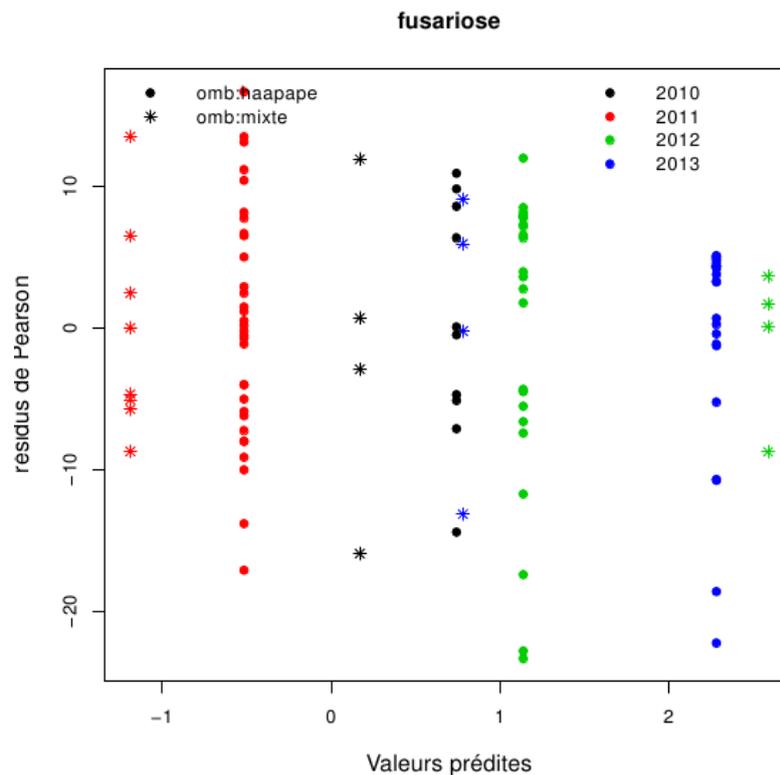


Figure 23: Graphe des résidus des valeurs prédites par le modèle. Les symboles correspondent à un mode d'exploitation et les couleurs à une année (Source : Christine Dillmann et Judith Legrand)

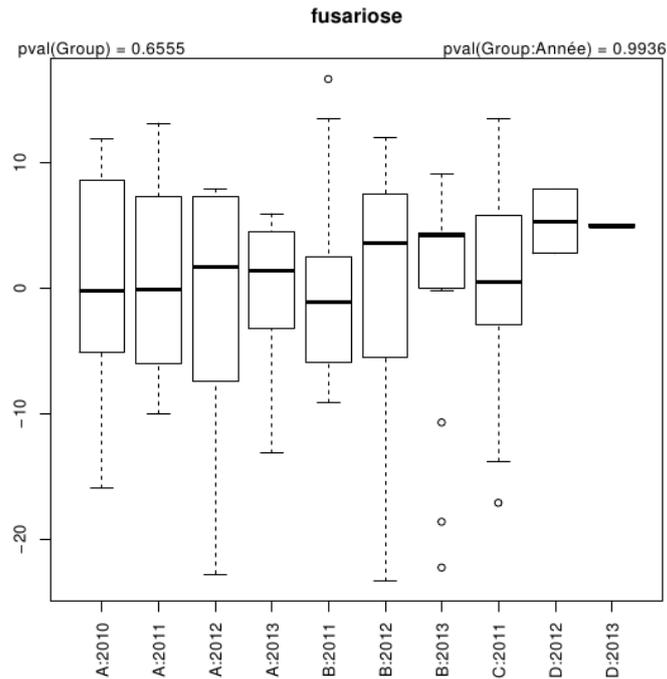


Figure 24: Boxplot des résidus en fonction du groupe d'échantillonnage et de l'année (Source : Christine Dillmann et Judith Legrand)

#### 2.5.1.4. Comparaison de modèles

Lorsque le modèle est ajusté par la méthode GEE, des modèles peuvent être comparés en utilisant le critère QIC (Pan, 2001). Il s'agit d'un critère empirique dérivé du critère d'Akaike. Celui-ci prend en compte le fait que les estimateurs ne sont pas des estimateurs du maximum de vraisemblance. Le modèle avec le QIC le plus petit est le modèle qui s'ajuste le mieux aux données, compte-tenu du nombre de paramètres à estimer. Il est rappelé ici que plus il est rajouté de paramètres dans les modèles, plus sont rapprochées, de façon mécanique, les observations des valeurs prédites. Le critère QIC fait donc partie de la famille des critères pénalisés utilisés pour comparer des modèles entre eux. Dans le cadre de cette analyse, du fait des différences importantes observées entre exploitations et entre années, le meilleur modèle au sens du critère QIC est toujours le modèle sans effet année, ni effet du mode d'exploitation. Les résultats obtenus sont donc à interpréter avec précaution.

## 2.5.2 Analyse de l'incidence

En épidémiologie, le risque qu'un individu sain, à l'instant t-1, soit malade à l'instant t, est appelé l'incidence. Pour calculer cette incidence, des relevés de signes cliniques, de présence de bio-agresseurs et d'état des lianes ont été effectués durant 4 années consécutives. La fréquence de chaque bio-agresseur, à un instant n, est appelé la prévalence.

Dans notre étude, l'individu correspond aux lianes de vanille positionnées sur un tuteur lui-même positionné dans la parcelle.

Pour chaque tuteur, deux informations sont notées : son origine et le signe clinique associé à un bio-agresseur ou la présence du bio-agresseur sur les lianes.

Pour l'origine des lianes, il existe trois cas :

- **départ** : la liane est la même que celle de l'année précédente. Son génotype peut être celui du clone de départ ou celui du clone utilisé pour un renouvellement l'année précédente ou alors
- **renouvellement** : la liane présente sur le tuteur est différente de celle de l'année précédente. Elle est issue d'un renouvellement d'une partie des lianes de l'exploitation ou encore
- **NA** : la liane a été arrachée, ou alors il s'agit d'une donnée manquante.

Pour les **symptômes**, il existe également 3 cas **présents, absents** ou **NA** (pas de liane sur le tuteur l'année d'observation ou donnée manquante). Il peut arriver qu'un symptôme disparaisse d'une année sur l'autre. Dans ce cas, soit les lianes ont été arrachées et non renouvelées, soit le producteur a « toileté » c'est-à-dire qu'il a apporté des soins en éliminant tous les organes présentant des symptômes de bio-agresseurs. Par exemple, sur la figure 22 les symptômes de fusariose disparaissent en haut à droite de la parcelle entre 2010 et 2011. Concernant cet exemple, toutes les lianes ont été renouvelées en 2013.

Le tableau 3 récapitule l'ensemble des cas rencontrés sur les exploitations ayant été visitées au moins deux années.

Tableau 3: Types de notations de maladies pour les exploitations suivies au moins deux fois

Origine liane		Symptômes		Mesure
n-1	n	n-1	n	
Départ	Départ	présent	présent	Pas de soins
Départ	Départ	présent	absent	Soins
Départ	Départ	absent	présent	Incidence
Départ	Départ	absent	absent	Soins
Départ	renouvelé	présent	présent	Pas de soins post renouvellement
Départ	renouvelé	présent	absent	Soins post renouvellement
Départ	renouvelé	absent	présent	Incidence post renouvellement
Départ	renouvelé	absent	absent	Soins
Départ	NA	présent	NA	Pas renouvelé
Départ	NA	absent	NA	Pas renouvelé
renouvelé	renouvelé	présent	présent	Pas de soins post renouvellement
renouvelé	renouvelé	présent	absent	Soins post renouvellement
renouvelé	renouvelé	absent	présent	Incidence post renouvellement
renouvelé	renouvelé	absent	absent	Soins post renouvellement
renouvelé	NA	présent	NA	Arrachage post renouvellement
renouvelé	NA	absent	NA	Arrachage post renouvellement
NA	renouvelé	NA	présent	Pas de soins post arrachage
NA	renouvelé	NA	absent	Soins post arrachage

Au total, 18 cas sont dénombrés, selon l'origine des lianes et la présence ou non de symptômes entre une année n-1 et une année n (Tableau 3). Une liane indemne de symptômes une année qui présente des symptômes l'année suivante est un cas incident.

A l'aide de ces notations, des pratiques au sein d'une exploitation sont différenciées: lianes d'origine (départ), renouvellement, plantation, arrachage, toilettage (soins). Pour chaque pratique, il est possible d'associer un taux de succès vis-à-vis de la lutte contre la maladie :

- **soins** : permet de mesurer la fréquence des soins apportés sur les lianes d'origine, conduisant à une disparition des symptômes.
- **pas de soins** : ceci permet de mesurer fréquence des lianes présentant le même symptôme d'une année à l'autre.
- **incidence** : permet de mesurer l'incidence des symptômes sur les lianes d'origine. C'est une mesure de l'efficacité de la propagation de la maladie.
- **incidence post renouvellement** : permet de mesurer l'incidence des symptômes sur les lianes renouvelées.
- **soins post renouvellement** : permet de mesurer la fréquence de disparition des symptômes sur les lianes infectées l'année précédente et renouvelées.
- **pas de soins post renouvellement** : permet de mesurer la fréquence des lianes présentant le même symptôme d'une année à l'autre malgré le renouvellement

### 3. Bilan sanitaire des exploitations

Les résultats qui sont présentés proviennent d'une enquête effectuée dans plusieurs exploitations de l'île de Raiatea de septembre 2010 à février 2013. Ces exploitations ont été choisies en fonction du niveau d'infection et de leur répartition sur l'île. A cet égard, il peut être considéré que les exploitations visitées lors de l'enquête sont représentatives d'une grande partie des conditions de milieu où le vanillier est cultivé aux îles sous le vent.

Les données récoltées ont permis de voir ce qui est réellement cultivé dans les exploitations (variété, clone) et la prévalence des signes cliniques par exploitation et par année.

Cette prévalence varie dans le temps et selon des exploitations. J'ai tenté d'expliquer d'où venait cette variabilité. Est-ce que les lianes renouvelées, la diversité variétale ou clonale jouent un rôle sur la prévalence des bio-agresseurs ? L'incidence est-elle la même par groupe renouvelé et non renouvelé ?

#### 3.1. Evolution temporelle des variétés cultivées

A l'installation des ombrières, 50% des lianes étaient de la variété «tahiti» et 50% de la variété « haapape ». Cette répartition initiale a fortement évolué au cours des années. Parmi les 51 exploitations visitées, 36 ombrières et 5 parcelles traditionnelles ont uniquement la variété « haapape ». Seules 10 exploitants cultivent encore la variété « tahiti ». La figure 25 montre le pourcentage de « Haapape » pour ces 10 ombrières, dont une cultive uniquement la variété Tahiti (la O24), alors que les 9 autres ombrières mixtes (O17, O22, O30, O31, O32, O33 O48, O5 et O7) cultivent à la fois les variétés « haapape » et « tahiti ».

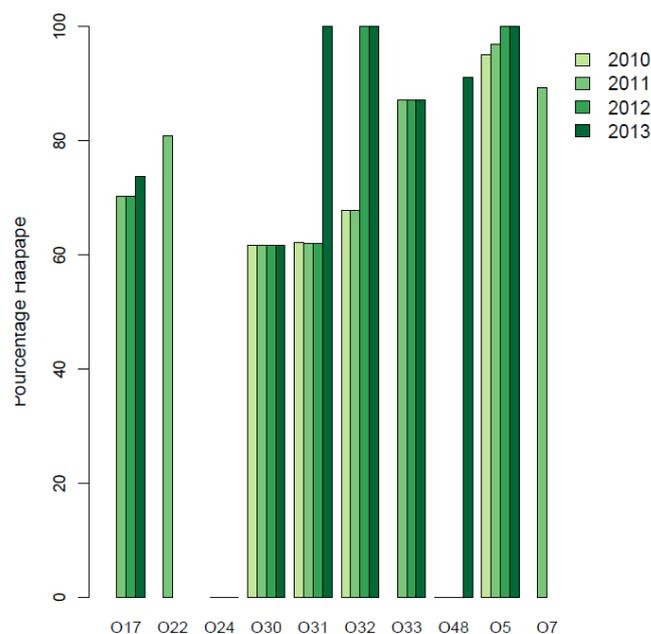


Figure 25 : Diversité variétale au sein des ombrières

Le choix des producteurs de faire de la culture monovariétale, est fondé sur un argument qui est que cette variété est plus résistante aux maladies, selon eux. Une seule ombrière, la O24, cultive uniquement la variété « tahiti ». Ce producteur, ancien pâtissier, a fait ce choix car il reconnaît que cette variété est plus aromatique. Une autre ombrière, la O48, n'avait que la variété « Tahiti » lors des visites de 2010 à 2012. En revanche, en 2013, le producteur a supprimé presque que toutes lianes de « tahiti » et a mis à la place la variété « haapape » (90% de « haapape »). Quant aux autres exploitations : O17, O22 O30, O31, O32, O33, O5 et O7, il y existe au minimum 60% des lianes qui sont de la variété « haapape » (Figure 13). L'exploitation O30 est la seule ombrière qui a su garder la même proportion de lianes « haapape » durant les 4 années de visites (60% de « haapape »). L'exploitation O31 qui avait aussi 60% de « haapape » au départ, a arraché l'ensemble des lianes « tahiti » en 2013 pour replanter des lianes « haapape ». Il en est de même pour les exploitations O32 et O5 en 2012. L'exploitation O17 a légèrement augmenté la proportion de lianes « haapape » en 2012. L'exploitation O33, est la seule ombrière a gardé le même nombre de lianes de « haapape » lors des 3 années de visites (83%).

Lorsque les lianes ont été installées dans les ombrières, l'origine des lianes et particulièrement le parent d'où les boutures ont été prélevées sont des données connues par l'établissement. Une liane dont l'origine est identifiée, obtenue par bouturage est appelée un clone.

La figure 26 représente la diversité de clones qu'il y a au sein des exploitations et l'évolution de cette diversité selon les années de visites.

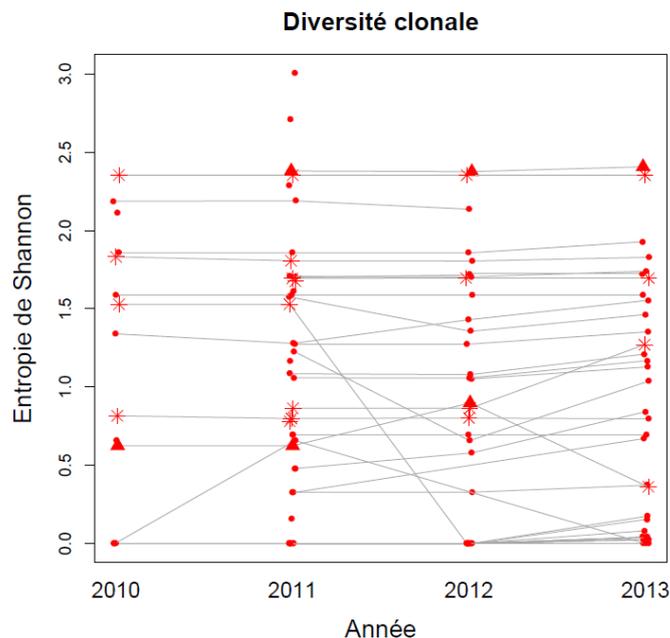


Figure 26: Diversité clonale au niveau des exploitations ; les points représentent les ombrières qui cultivent uniquement la variété « haapape », les triangles représentent les parcelles traditionnelles et les étoiles représentent les ombrières mixtes

La diversité clonale est calculée grâce à l'entropie de Shannon. Plus elle est faible plus la diversité est faible et inversement. Un point lorsqu'il est lié à un autre point l'année d'après correspond à la même parcelle. Si le lien est horizontal, la diversité clonale est restée la même les années suivantes. La plupart des exploitations gardent la même diversité clonale au fil des années. Ceci traduit le fait que les renouvellements sont partiels chaque année. Seule une ombrière voit sa diversité clonale chuter à zéro entre 2011 et 2012 à la suite du renouvellement de la totalité des lianes.

La variété cultivée majoritairement est donc nettement la variété « haapape », mais avec une forte diversité clonale, qui elle apparaît stable, d'une année à l'autre. Les exploitants qui cultivaient encore la variété « tahiti » au début de l'enquête l'ont progressivement remplacée par la variété « haapape ».

### 3.2. Comparaison de la prévalence sur «Haapape» et «Tahiti» dans les ombrières mixtes

Pour vérifier l'argument annoncé par les producteurs, à savoir que la variété « Haapape » serait moins sensible aux maladies, j'ai comparé la prévalence des bio-agresseurs sur « tahiti » et sur « haapape ». N'ayant pas beaucoup d'exploitations ne cultivant que la variété « tahiti », il a été décidé de concentrer l'analyse sur les parcelles mixtes, cultivant les deux variétés à la fois. Pour cela, il existe uniquement 8 ombrières (4 dont les visites ont débuté en 2010 et 4 ombrières dont les visites ont été initiées en 2011). Les parcelles traditionnelles ne font pas parti de l'analyse car elles cultivent uniquement la variété « haapape ». Les données issues de ces exploitations mixtes ont été utilisées pour réaliser des tests appariés en comparant, au sein de chaque parcelle, la prévalence sur les lianes « haapape » à la prévalence sur les lianes « tahiti ».

Pour chaque bio-agresseur, est calculé, pour chaque exploitation

$Z = \text{preva}(\text{« haapape »}) - \text{preva}(\text{« tahiti »})$ , où preva est le nombre de cas sur le nombre de tuteurs de la variété.

Un test de Student de conformité pour tester l'hypothèse  $H_0$  : pas de différence entre les variétés a été conduit. La figure 27 montre la relation entre la différence de prévalence  $Z$  et la prévalence moyenne des exploitations. En légende, la pvalue est associée au test. La proportion de la variété « haapape » dans l'exploitation est représentée par un code de couleur : noir pour une proportion comprise entre 60 et 70 %, rouge pour une proportion entre 70 et 80 %.

Lorsque  $Z$  est négatif, la variété «Tahiti» a une prévalence des symptômes plus élevée.

Lorsque  $Z$  est positif, c'est sur la variété « Haapape » que la prévalence est la plus forte.

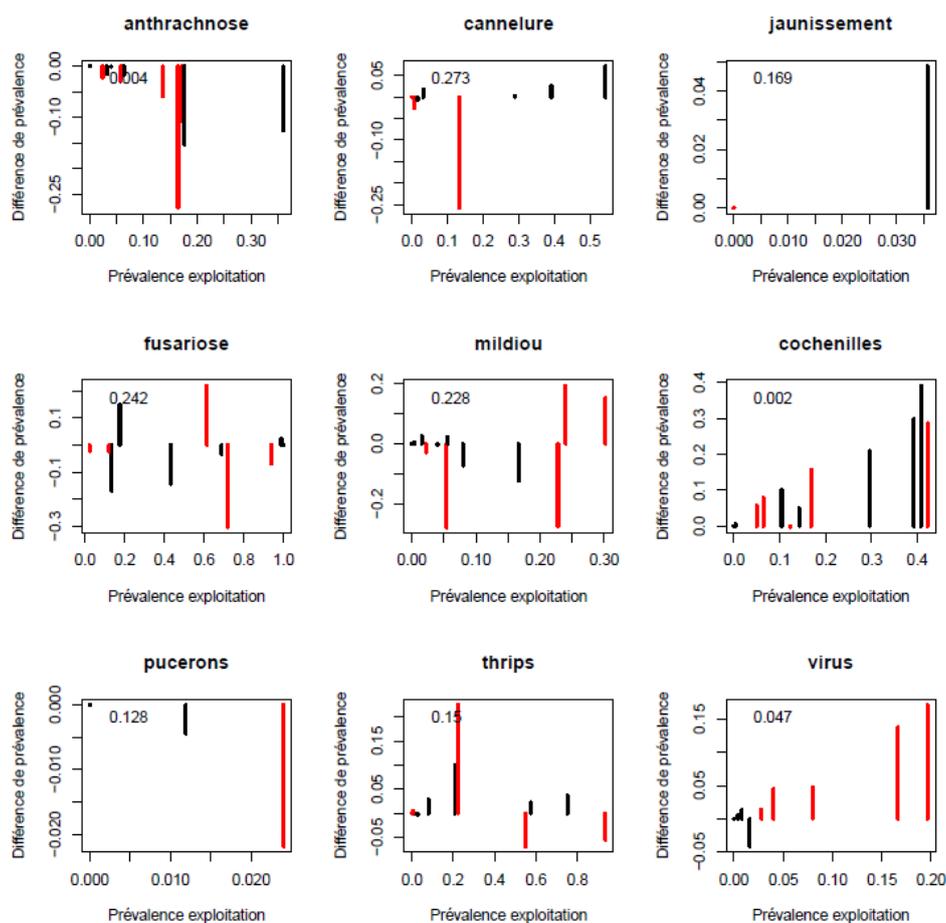


Figure 27: Comparaison de la prévalence entre la variété « tahiti » et la variété « haapape » dans les ombrières mixtes. En abscisse, est représenté le taux de prévalence de chaque bio-agresseurs au sein des ombrières mixtes. En ordonnées, est représentée la différence de prévalence entre la variété « haapape » et la variété « tahiti ». Lorsqu'elle est positive, la variété « haapape » a une prévalence plus élevée que la variété « tahiti » et inversement

Pour tester la différence de prévalence selon la variété cultivée, j'ai choisi un seuil de 5%. Si la p-value est inférieure à ce seuil alors la différence de prévalence entre les deux variétés est significative. C'est le cas pour l'anthracnose (p value = 0,004), les cochenilles (p value = 0,002) et les virus (p value = 0,047). Comme Z est négatif pour l'anthracnose, c'est la variété « tahiti » qui a une prévalence plus élevée. Ce résultat montre que la variété « tahiti » est plus sensible à cette maladie que la variété « haapape ». *A contrario*, la prévalence est plus élevée sur la variété « haapape » pour les cochenilles et les virus. Dans ce cas, la variété « tahiti » est plus tolérante que la « haapape » vis-à-vis des virus et des cochenilles. Par ailleurs, il n'y a pas de différence significative de prévalence de fusariose, ni de mildiou, ni de thrips, ni des pucerons, ni des cannelures et ni des jaunissements entre les deux variétés. Ils sont présents aussi bien sur la variété « haapape » que sur la variété « tahiti ». Avec ces résultats, il ne peut

être confirmé que la variété « haapape » est globalement plus résistante, argument qui est souvent avancé par les producteurs.

Les résultats semblent indépendants de la proportion de lianes « haapape » (Figure 27), sauf pour les symptômes associés aux virus. Dans ce cas, les exploitations ayant une faible proportion de la variété « haapape » (en noir) ont une prévalence des symptômes plus faible.

En conclusion, une différence significative est observée entre variétés pour la prévalence des symptômes pour trois bio-agresseurs uniquement : anthracnose, virus et cochenilles. La variété « tahiti » semble plus sensible à l'anthracnose mais moins sensible aux cochenilles et aux virus. L'analyse ne permet donc pas de conclure, comme le pensent les exploitants, que la variété « haapape » serait globalement plus résistante aux bio-agresseurs que la variété « tahiti ». Cependant, comme il existe un effet variétal pour au moins trois bio-agresseurs, j'ai choisi, pour la suite, de faire des analyses uniquement sur les lianes de la variété « haapape » au sein des exploitations.

### **3.3. Prévalence des signes cliniques sur l'ensemble des exploitations**

Dans un premier temps, une analyse descriptive des données brutes a été réalisée. Les prévalences mesurées sont les prévalences mesurées sur les lianes « haapape » au sein d'une exploitation au cours des années. Les données sont représentées sur les figures 28 à 30. Pour deux des symptômes observés, le jaunissement des lianes (Figure 28) et la présence de pucerons (Figure 29), les prévalences étaient proches de zéro. Ces deux caractères ne seront plus étudiés par la suite. Les prévalences des autres symptômes sont représentées sur la figure 30. Chaque point représente une exploitation. Rappelons que pour ces parcelles, les prévalences sont mesurées sur les lianes « haapape » uniquement. J'ai aussi choisi de représenter, sur le même graphique, les prévalences dans les quelques parcelles cultivant uniquement la variété « tahiti ».



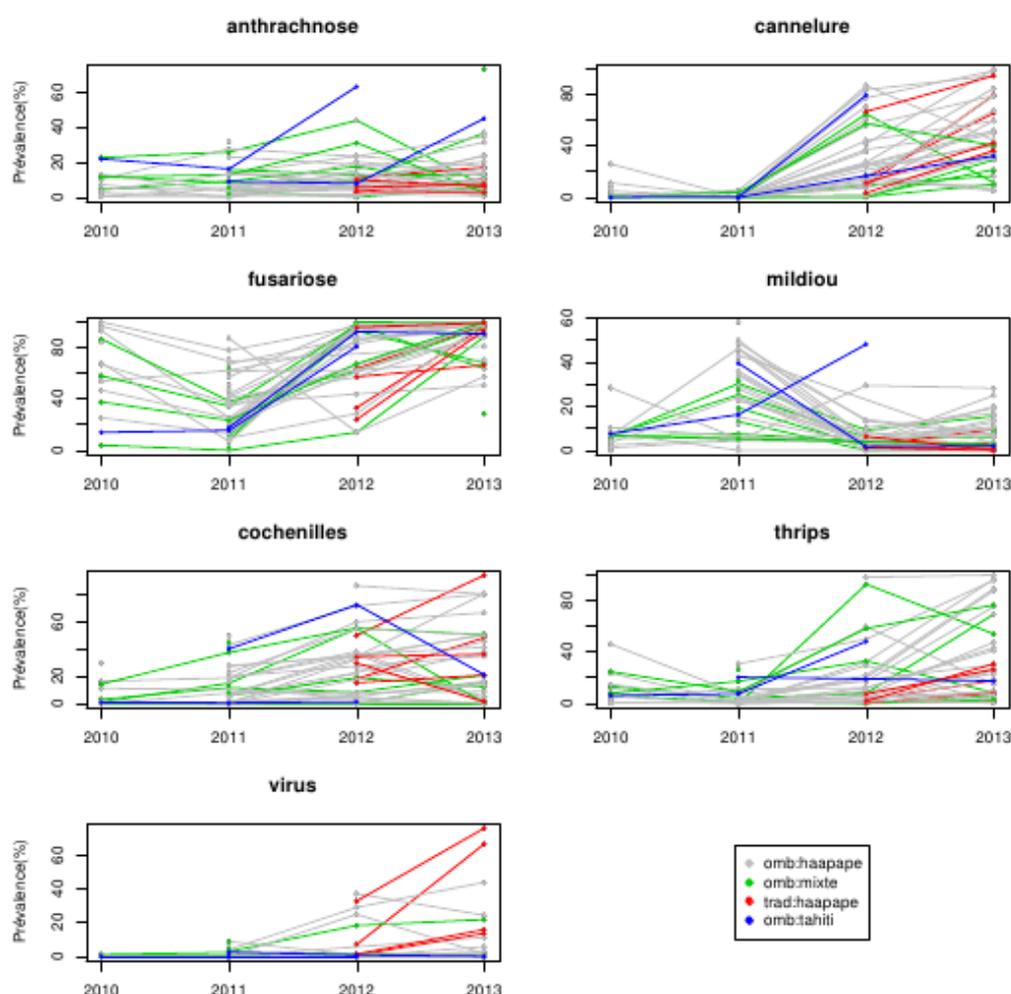


Figure 30: Evolution de la prévalence des « signes cliniques » associés aux bio-agresseurs dans les exploitations visitées de 2010 à 2013. Chaque graphique correspond à un bio-agresseur. Les couleurs correspondent aux modes d'exploitation. Pour les ombrières mixtes et « haapape », ainsi que pour les parcelles traditionnelles, la prévalence est mesurée sur les lianes « haapape » de la parcelle. Pour les ombrières « tahiti », la prévalence est mesurée sur les lianes « tahiti »

### 3.3.3 Prévalence des signes cliniques associés à l'anthracnose

En 2010, il semble que la prévalence est plus faible dans les ombrières qui cultivent uniquement la variété « haapape ». Les ombrières mixtes et celles cultivant la variété « tahiti » ont les prévalences les plus élevées.

En 2011, les exploitations avaient des prévalences proches, ombrières et parcelles traditionnelles confondues. Seules quatre ombrières avaient plus de 20 % de leurs lianes atteintes par les symptômes d'antracnose.

En 2012, la prévalence reste en dessous des 20 % de lianes atteintes à l'exception de cinq exploitations dont une parcelle « tahiti » qui a comptabilisé 60 % de lianes atteintes par les symptômes d'antracnose.

En 2013, cinq exploitations ont des prévalences supérieures à 20 %, dont une « mixte » et une exploitation cultivant uniquement la variété « Tahiti ». A noter une forte diminution de la prévalence pour les trois ombrières mixtes visitées depuis 2010.

Dans l'ensemble, les exploitations ont le même taux de prévalence de « signes cliniques » associés à l'antracnose. Ce taux ne dépasse pas les 20 %, sauf pour quelques exploitations.

#### **3.3.4. Prévalence des signes cliniques associé aux cannelures**

Le nombre de lianes cannelées était faible (10 %) en 2010 et 2011 et assez homogène entre exploitations. Il est à noter qu'une ombrière n'ayant que la variété « haapape » avait la prévalence la plus élevée en 2010 : 30 %. En 2012 et 2013, il y a eu une explosion de cette prévalence et une grande différence entre exploitations. Les exploitations les plus atteintes ont montré jusqu'à 80 % des lianes atteintes. Certains producteurs ont vu leur prévalence diminuer, en 2013, mais ils ne sont pas nombreux. La prévalence est plus élevée dans les ombrières qui ne cultivent que la variété « haapape », par rapport aux ombrières mixtes. Dans les cultures traditionnelles, la prévalence augmente entre 2012 et 2013.

#### **3.3.5. Prévalence des signes cliniques associés à la fusariose**

En 2010, la prévalence des symptômes de la fusariose est différente entre les ombrières et varie entre 0 et 100 %. Une seule ombrière mixte n'a pas de symptômes de fusariose. La prévalence la plus élevée en 2010 est détenue par une ombrière « Haapape ». En 2011, une diminution de la prévalence est constaté, sauf pour une ombrière « haapape ». En 2012, une augmentation de la prévalence est identifiée, à l'exception d'une ombrière « haapape ». Pour la majorité des exploitations, la prévalence atteint 80 % des lianes. En 2013, la tendance à

l'augmentation se poursuit. Seules deux ombrières mixtes voient leur prévalence diminuer. La prévalence reste stable, mais élevée pour plus de la moitié des exploitations.

La première remarque à faire est que la prévalence de « signes cliniques » associés à la fusariose est très différente d'une exploitation à une autre et cela pour les quatre années de visite. Certaines étaient peu atteintes et d'autres très atteintes. Les ombrières, visitées en 2010, ont pour la plupart vu la prévalence diminuer en 2011. Par contre, en 2012, cette prévalence a explosé dans toutes les exploitations sauf dans une ombrière. En 2013, la prévalence est restée élevée pour la majorité des exploitations. Cela peut être expliqué par le fait que les lianes ont dix ans d'âge et qu'elles vieillissent. De ce fait, la fusariose s'installe sur toutes les lianes des exploitations et ravage les lianes vieillissantes. Il y a tout de même des exploitations qui ont vu diminuer la prévalence. Une exploitation est passée de 80 % à 30 % de lianes présentant des signes cliniques associés à la fusariose. Cette baisse de prévalence peut être due à un apport de soins, par exemple par élimination de toutes les lianes malades.

D'après la figure 30, il semble être suggéré que ce n'est pas le type de culture (ombrière / parcelles traditionnelles) qui a un effet sur la prévalence de la maladie. La prévalence dans les parcelles traditionnelles ne semble pas distincte de celle observée dans les ombrières. Toutefois, il semble qu'il y ait une différence de prévalence entre les ombrières qui cultivent uniquement la variété « haapape » et les ombrières mixtes. Une hypothèse pour expliquer les différences de prévalence entre exploitations, est que les pratiques peuvent être différentes entre les exploitations. En particulier, les lianes symptomatiques peuvent disparaître suite à un arrachage ou peuvent avoir été toilettées.

### **3.3.6. Prévalence des « signes cliniques » associés au mildiou**

Les ombrières visitées en 2010 avaient une prévalence assez proche, avec pas plus de 10 % des lianes présentant des symptômes, sauf une ombrière « haapape » qui présentait 30 % de gousses symptomatiques du mildiou. Cette même ombrière a eu moins de gousses symptomatiques en 2011 (10 %). Parmi les ombrières visitées en 2010, la plupart voit une augmentation en 2011 de la prévalence des symptômes associés au mildiou. Une ombrière visitée en 2010 est passée de 10 % à 50 % de gousses symptomatiques en 2011. Les nouvelles exploitations visitées en 2011 présentaient une prévalence plus élevée : de 20 à 50 % de

gousses symptomatiques. Les ombrières visitées en 2010 puis 2011 ont eu le même nombre de gousses symptomatiques en 2012. Les autres exploitations visitées en 2011 ont eu moins de gousses symptomatiques (moins de 20 %) sauf pour deux exploitations qui ont eu plus de gousses symptomatiques en 2012. La prévalence est ainsi assez similaire entre les exploitations en 2012 comme en 2013. Cette prévalence est comprise entre 0 % et 30 %.

Sur les quatre années de visites, la prévalence est semblable entre les exploitations en 2010, 2012 et 2013. Elle a été plus variable entre exploitations en 2011.

Les symptômes du mildiou sont principalement observables sur les gousses. Une faible prévalence de mildiou peut être liée au fait qu'il y a eu moins de gousses, certaines années d'observation.

### **3.3.7. Prévalence des cochenilles**

La prévalence des cochenilles est plus faible en 2010 dans toutes les exploitations. En 2011 et 2012, la tendance générale est à l'augmentation de la prévalence, bien que certains producteurs parviennent à contenir le nombre de lianes présentant des cochenilles. En 2013, la prévalence reste stable, et diminue dans sept exploitations.

### **3.3.8. Prévalence des thrips**

L'année 2011 est l'année où il y a eu le moins de thrips dans les exploitations. La prévalence peut être différente d'une ombrière à une autre. La présence de thrips augmente dans certaines parcelles et provoque des symptômes sur plus de 80 % de lianes. Une ombrière visitée, en 2011 pour la première fois, était fortement atteinte et n'a pas vu les symptômes diminuer l'année suivante. En 2012, les exploitations ont des lianes qui ont été attaquées fortement par les thrips. La prévalence augmente encore en 2013, à l'exception de 5 exploitations.

### **3.3.9. Prévalence des virus**

Les signes cliniques associés aux viroses étaient peu nombreux voir absents (prévalence 0 %) dans la plupart des exploitations visitées. Seules quelques exploitations voient la prévalence des symptômes associés aux virus augmenter en 2012 et/ou 2013.

### 3.3.10. Conclusions

Les résultats ont montré qu'il y a une très forte variabilité inter-exploitations et en particulier pour la prévalence des signes associés à la fusariose pendant les quatre années de visites, pour les cannelures et les thrips en 2012 et 2013 et pour les cochenilles à partir de 2011. Ces observations montrent également une importante variabilité inter-annuelle. En 2012 et 2013, les prévalences explosent pour la fusariose, les thrips, les cochenilles et les cannelures. En revanche, en 2011 c'est le mildiou qui explose et les thrips et les cannelures qui diminuent. Les prévalences des jaunissements et celles des pucerons ne varient pas durant les quatre années de visites. De ce fait, je les ai retirés pour la suite de l'analyse.

## 3.4. Effets année et mode d'exploitation

Dans cette partie d'analyse de la prévalence, j'ai souhaité savoir si la prévalence variait selon les années et le mode d'exploitation. Les exploitations traditionnelles n'ont pas été incluses dans cette analyse, car leur nombre était trop faible au regard de la forte variation observée entre parcelles pour un mode d'exploitation donné (Figure 30). Le facteur « type d'exploitation » correspond donc aux ombrières « haapape » ou aux ombrières mixtes.

### 3.4.1. Effet global

Dans un premier temps, des tests ont été réalisés pour mettre en évidence un effet année, type d'exploitation, ou un effet d'interaction entre ces deux facteurs. Les résultats montrent que l'année a significativement un effet sur la prévalence de tous les bio-agresseurs (Tableau 4). C'est à dire que la prévalence varie considérablement, en moyenne, d'une année sur l'autre. C'est uniquement sur la prévalence de l'antracnose que la prévalence est significativement différente entre les ombrières « haapape » et les ombrières mixtes. Enfin, l'interaction des deux facteurs est significativement différente pour la prévalence des cannelures, des symptômes associé à la fusariose, la présence de cochenilles et des symptômes associés aux thrips.

Ainsi, la prévalence des symptômes évolue au cours des années. Par contre, les différences entre types d'exploitations (ombrières « haapape » versus ombrières « mixtes » ne sont

significatives que certaines années pour les symptômes associés à la fusariose, aux thrips et aux cochenilles et correspondent à des effets d'interaction.

Tableau 4 : Résultat de l'analyse de l'effet année et type d'ombrière pour chaque symptôme

Symptôme	Facteur	Stat de test		p	
		(Khi2)	DF		
Anthracnose	Année	38,51	3	<10 <sup>-3</sup>	*
	Type ombrière	5,57	1	0,018	*
	Interaction	2,95	3	0,400	
Cannelure	Année	146,77	3	<10 <sup>-3</sup>	*
	Type ombrière	0,08	1	0,783	
	Interaction	11,13	3	0,011	*
Fusariose	Année	62,14	3	<10 <sup>-3</sup>	*
	Type ombrière	0,19	1	0,662	
	Interaction	14,17	3	0,003	*
Mildiou	Année	42,85	3	<10 <sup>-3</sup>	*
	Type ombrière	0,11	1	0,745	
	Interaction	1,7	3	0,636	
Cochenilles	Année	61,91	3	<10 <sup>-3</sup>	*
	Type ombrière	0,02	1	0,886	
	Interaction	9,57	3	0,023	*
Thrips	Année	71,08	3	<10 <sup>-3</sup>	*
	Type ombrière	0,01	1	0,940	
	Interaction	13,44	3	0,004	*
Virus	Année	10,67	3	0,014	*
	Type ombrière	2,88	1	0,090	
	Interaction	0,55	3	0,909	

(\* : Significatif lorsque que  $\alpha < 0.05$ , \* année significative, \* type d'ombrière, \* interaction des 2 facteurs)

### 3.4.2. Identification des années et types d'ombrières ayant une prévalence significative, par maladie

Précédemment, j'ai montré que l'effet année était significatif pour la prévalence de tous les symptômes étudiés. En outre, un effet d'interaction année x type d'exploitation est caractérisé pour certains symptômes. Pour définir quelle année possède une influence significative sur la prévalence des maladies, des comparaisons deux à deux sont générées. Les figures suivantes montrent les prévalences moyennes et l'intervalle de confiance pour chaque combinaison de niveaux des facteurs année et type d'exploitation. Les astérisques verts sont les moyennes des

parcelles traditionnelles, qui n'avaient pas été mises dans l'analyse mais sont représentés ici sur les figures.

### 3.4.2.1. Fusariose

Les prévalences moyennes des signes cliniques associés à la fusariose dans les ombrières mixtes étaient de 54.2 %, 23.3 %, 92.9 % et 68.5 % en 2010, 2011, 2012 et 2013 respectivement (Figure 31).

Les prévalences moyennes des signes cliniques associés à la fusariose dans les ombrières « haapape » étaient de 67.7 %, 37.4 %, 75.7 % et 90.7 % en 2010, 2011, 2012 et 2013 respectivement (Figure 31). Dans les ombrières « haapape », une baisse significative de la prévalence des symptômes de la fusariose en 2011 est observable, puis une hausse significative en 2012, ainsi qu'en 2013 (Tableau 5). Pour les ombrières mixtes, la prévalence moyenne diminue également entre 2010 et 2011 (Figure 31), mais la différence n'est pas significative du fait de la forte variance entre ombrières mixtes en 2010 (Tableau 5). On observe une augmentation significative entre 2011 et 2012, et une stabilité entre 2012 et 2013 (Tableau 5 et Figure 31). Enfin, la prévalence moyenne dans les parcelles traditionnelles est plus faible en 2012, mais du même niveau que les autres types d'exploitation en 2013 (Figure 31).

Lorsqu'une comparaison entre les ombrières « haapape » et mixtes est effectuée année par année (Tableau 6), il n'est pas constaté de différence significative. L'effet d'interaction année x type d'exploitation, globalement significatif, (Tableau 4) vient du fait que la prévalence moyenne tend à être plus faible dans les ombrières mixtes en 2010, 2011 et 2013, et plus forte en 2012 (Figure 31).

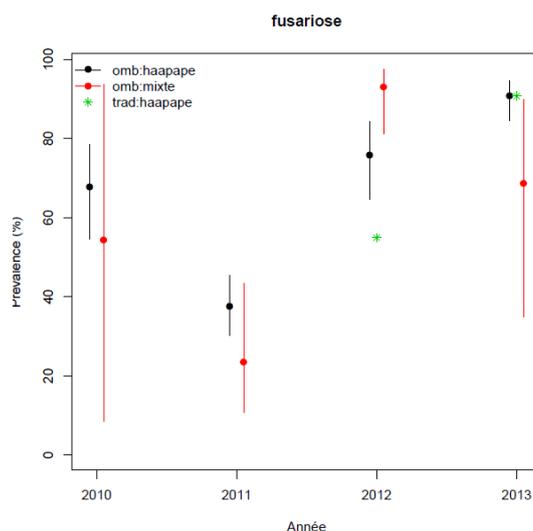


Figure 31: Prévalence moyenne et intervalles de confiance des « signes cliniques » associés à la fusariose lors des visites des différentes exploitations

Tableau 5 : Comparaison entre année de la prévalence moyenne des signes cliniques associés à la fusariose lors des visites des ombrières mixtes et des ombrières « haapape ». Pour chaque contraste, l'estimation est la différence de prévalence prédite pour le modèle sur l'échelle logit. Une valeur positive indique une diminution de prévalence en moyenne entre l'année n et l'année n+1. Une valeur négative indique une augmentation de la prévalence. X2 est la valeur observée de la statistique de test et pvalue le niveau observé du test

Symptôme	mode.exp	Contraste	Estimation	X2	pvalue
Fusariose	omb:mixte	an2010-an2011	1,35	1,55	0,21
Fusariose	omb:mixte	an2010-an2012	-2,41	3,23	0,07
Fusariose	omb:mixte	an2010-an2013	-0,61	0,17	0,67
Fusariose	omb:mixte	an2011-an2012	-3,77	25,96	0*
Fusariose	omb:mixte	an2011-an2013	-1,96	5,30	0,02
Fusariose	omb:mixte	an2012-an2013	1,80	5,17	0,02
Fusariose	omb:haapape	an2010-an2011	1,25	17,90	0*
Fusariose	omb:haapape	an2010-an2012	-0,39	1,16	0,28
Fusariose	omb:haapape	an2010-an2013	-1,53	12,96	0,0003*
Fusariose	omb:haapape	an2011-an2012	-1,65	23,67	0*
Fusariose	omb:haapape	an2011-an2013	-2,79	54,37	0*
Fusariose	omb:haapape	an2012-an2013	-1,14	14,78	0,0001*

(\* : Significatif lorsque pvalue < 0.005)

Tableau 6 : Comparaison de prévalence entre les ombrières mixtes et « haapape » selon les années de visites. Les colonnes Estimate, X2 et pvalue ont le même sens que dans le tableau 4. Lower et Upper sont les limites de l'intervalle de confiance à 5 % pour Estimate sur l'échelle logit

Symptôme	Contraste	Estimation	X2	pvalue	Lower	Upper
Fusariose	an2010:mixte-haapape	-0,57	0,19	0,66	-3,15	2,00
Fusariose	an2011:mixte-haapape	-0,67	1,81	0,17	-1,65	0,30
Fusariose	an2012:mixte-haapape	1,44	5,12	0,02	0,19	2,69
Fusariose	an2013:mixte-haapape	-1,50	3,80	0,05	-3,01	0,006

(\*) : Significatif lorsque pvalue < 0.005)

### 3.4.2.2. Mildiou

Les prévalences moyennes étaient plus faibles dans les ombrières mixtes (6.6 %, 19.8 %, 2.2 % et 3.5 % en 2010, 2011, 2012 et 2013 respectivement (Figure 32). Mais elles ne sont pas significativement différentes des prévalences des ombrières « haapape » (7.6 %, 23.7 %, 5.4 %, 8.1 % en 2010, 2011, 2012 et 2013 respectivement) (Tableau 7). Sur la figure 32, la prévalence moyenne dans les parcelles traditionnelles est du même niveau que dans les autres types d'exploitation en 2012 et 2013.

En 2011, il semble que la prévalence moyenne soit plus élevée que les 3 autres années. En effet, lorsque les années sont comparées, par type d'exploitation, dans les deux cas il existe une augmentation significative entre 2010 et 2011, et une diminution significative entre 2011 et 2012 (Tableau 7).

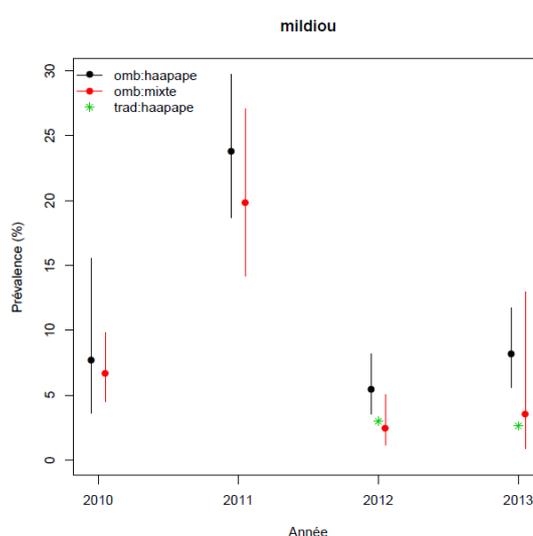


Figure 32: Prévalence moyenne et intervalles de confiance des « signes cliniques » associés au mildiou lors des visites des différentes exploitations

Tableau 7: Comparaison de prévalence entre type d'ombrière selon les années pour le mildiou

Symptôme	Contraste	Estimation	X2	Pvalue	Lower	Upper
Mildiou	an2010:mixte-haapape	-0,14	0,10	0,74	-1,04	0,74
Mildiou	an2011:mixte-haapape	-0,23	0,81	0,36	-0,73	0,27
Mildiou	an2012:mixte-haapape	-0,83	3,28	0,06	-1,74	0,06
Mildiou	an2013:mixte-haapape	-0,88	1,39	0,23	-2,34	0,57

(\* : Significatif lorsque pvalue < 0.005)

Tableau 8: Comparaison de prévalence entre années pour les ombrières mixtes et les ombrières "haapape"

Symptôme	mode.exp	Contraste	Estimation	X2	pvalue
Mildiou	omb:mixte	an2010-an2011	-1,23	10,00	0,0016*
Mildiou	omb:mixte	an2010-an2012	1,06	5,46	0,0194
Mildiou	omb:mixte	an2010-an2013	0,67	0,81	0,3652
Mildiou	omb:mixte	an2011-an2012	2,30	35,60	0*
Mildiou	omb:mixte	an2011-an2013	1,90	7,18	0,0073
Mildiou	omb:mixte	an2012-an2013	-0,39	0,43	0,511
Mildiou	omb:haapape	an2010-an2011	-1,31	8,66	0,0032*
Mildiou	omb:haapape	an2010-an2012	0,37	0,63	0,4239
Mildiou	omb:haapape	an2010-an2013	-0,06	0,01	0,8977
Mildiou	omb:haapape	an2011-an2012	1,69	38,17	0*
Mildiou	omb:haapape	an2011-an2013	1,25	28,73	0*
Mildiou	omb:haapape	an2012-an2013	-0,43	4,75	0,0292

(\* : Significatif lorsque pvalue < 0.005)

En conclusion, il existe une augmentation de la prévalence des symptômes du mildiou en 2011 à la fois dans les ombrières mixtes et « Haapape ». Pour le mildiou, il ne semble pas y avoir d'effet du type d'exploitation.

### 3.4.2.3. Anthracnose

Sur la figure 33, les ombrières mixtes ont des prévalences moyennes des symptômes d'anthracnose assez proches entre années : 11%, 11.6%, 14.9% et 24.8% en 2010, 2011, 2012 et 2013 respectivement. Elles sont également assez proches des prévalences moyennes des ombrières « haapape » : 4.7%, 8.5%, 10.3% et 15.3% en 2010, 2011, 2012 et 2013 respectivement. De ce fait, les prévalences moyennes ne sont pas significativement différentes entre type d'ombrières (Tableau 9). Par contre, la tendance observée d'augmentation de la prévalence au cours des années n'est significative que pour les ombrières « haapape », entre 2010 et 2012-2013.

Enfin, les parcelles traditionnelles semblent moins atteintes par ces symptômes (Figure 33).

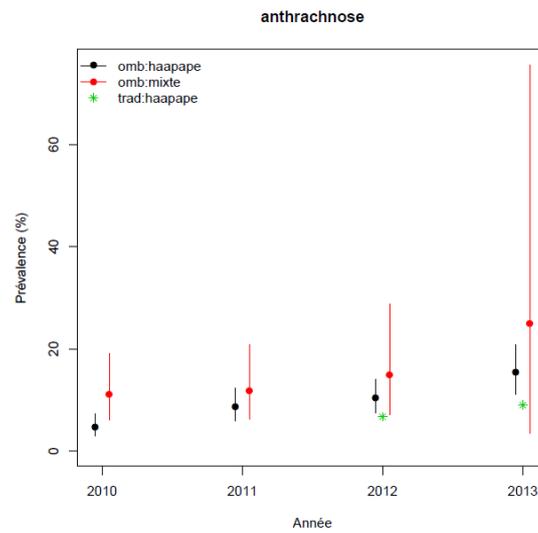


Figure 33: Prévalence moyenne et intervalles de confiance des signes cliniques associés à l'anthracnose lors des visites des différentes exploitations

Tableau 9 : Comparaison entre ombrières mixtes et « haapape »

Symptôme	Contraste	Estimation	X2	pvalue	Lower	Upper
Anthracnose	an2010:mixte-haapape	0,917	5,567	0,018	0,155	1,680
Anthracnose	an2011:mixte-haapape	0,347	0,726	0,394	-0,452	1,147
Anthracnose	an2012:mixte-haapape	0,423	0,926	0,335	-0,438	1,285
Anthracnose	an2013:mixte-haapape	0,604	0,272	0,601	-1,662	2,870

Tableau 10 : Comparaison de prévalence moyenne, de signes cliniques associés à l'anthraxose, entre années pour les ombrières mixtes et les ombrières qui ont uniquement du « haapape »

Symptôme	mode.exp	Contraste	Estimation	X2	Pvalue
anthracnose	omb:mixte	an2010-an2011	-0,06	0,09	0,75
anthracnose	omb:mixte	an2010-an2012	-0,35	0,54	0,46
anthracnose	omb:mixte	an2010-an2013	-0,98	0,78	0,37
anthracnose	omb:mixte	an2011-an2012	-0,28	0,33	0,56
anthracnose	omb:mixte	an2011-an2013	-0,9	0,65	0,41
anthracnose	omb:mixte	an2012-an2013	-0,63	0,50	0,47
anthracnose	omb:haapape	an2010-an2011	-0,63	4,87	0,02
anthracnose	omb:haapape	an2010-an2012	-0,84	10,29	0,0013*
anthracnose	omb:haapape	an2010-an2013	-1,29	33,74	0*
anthracnose	omb:haapape	an2011-an2012	-0,20	0,88	0,34
anthracnose	omb:haapape	an2011-an2013	-0,66	7,26	0,007
anthracnose	omb:haapape	an2012-an2013	-0,45	3,07	0,07

(\* : Significatif lorsque p-value < 0.005)

En conclusion, une tendance à l'augmentation graduelle des symptômes de l'anthraxose est visible au cours des années, avec des moyennes similaires selon le type d'exploitation, mais avec une variabilité entre parcelles plus importante pour les exploitations mixtes.

#### 3.4.2.4. Virus

Les virus, étaient l'une des premières maladies à avoir été observées sur vanillier. Ces résultats montrent que les filets insect-proof, ont permis de réduire le nombre lianes virosées. En effet, les prévalences moyennes des signes cliniques associés aux virus dans les ombrières « haapape » sont très faibles (0.2%, 0.6%, 3.3% et 3.2% en 2010, 2011, 2012 et 2013 respectivement) (Figure 34). Elles sont un peu plus élevées dans les ombrières mixtes (2.2%, 2.3%, 0.0 et 10.6% en 2010, 2011, 2012 et 2013 respectivement). Dans l'ensemble, il n'y pas de différences significatives entre type d'exploitation (Tableau 9). Il n'existe pas non plus de différences significatives entre années (Tableau 10). A noter cependant que, pour les ombrières « haapape », l'augmentation visible de la prévalence (Figure 34) entre 2010 et 2012-2013 est significative au seuil 1 %. Par ailleurs, une augmentation de l'intervalle de confiance de la prévalence pour ombrières mixtes est notée en 2012 et 2013 (Figure 34 et Tableau 9), ce qui signifie qu'il y a y une forte augmentation de prévalence dans certaines parcelles mixtes. Ce phénomène est également observé pour les parcelles traditionnelles.

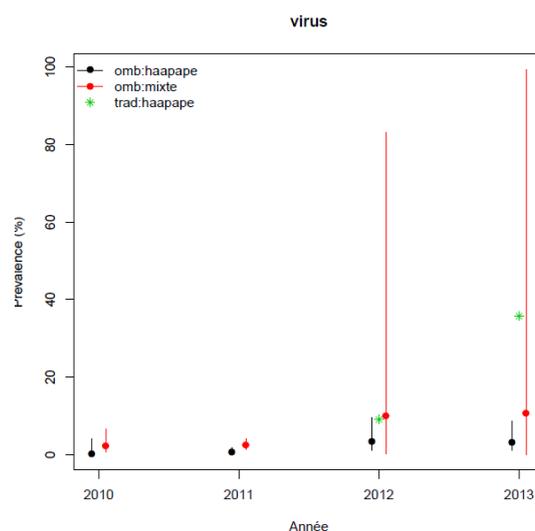


Figure 34: Prévalence moyenne et intervalles de confiance des signes cliniques associés aux virus lors des visites des différentes exploitations

Tableau 11: Comparaison de prévalence entre ombrières mixtes et « haapape » selon les années

Symptôme	Contraste	Estimation	X2	Pvalue	Lower	Upper
Virus	an2010:mixte-haapape	2,18	2,88	0,08	-0,33	4,71
Virus	an2011:mixte-haapape	1,28	5,16	0,02	0,17	2,40
Virus	an2012:mixte-haapape	1,17	0,34	0,55	-2,75	5,09
Virus	an2013:mixte-haapape	1,27	0,11	0,733	-6,05	8,60

Tableau 12: Comparaison des prévalences entre années dans les ombrières mixtes et dans les ombrières "haapape"

Symptôme	mode.exp	Contraste	Estimation	X2	Pvalue	Lower	Upper
Virus	omb:mixte	an2010-an2011	-0,05	0,01	0,91	-1,14	1,02
Virus	omb:mixte	an2010-an2012	-1,60	0,80	0,36	-5,10	1,89
Virus	omb:mixte	an2010-an2013	-1,66	0,22	0,63	-8,58	5,25
Virus	omb:mixte	an2011-an2012	-1,54	0,57	0,44	-5,52	2,43
Virus	omb:mixte	an2011-an2013	-1,60	0,17	0,67	-9,06	5,85
Virus	omb:mixte	an2012-an2013	-0,06	0,001	0,97	-3,58	3,45
Virus	omb:haapape	an2010-an2011	-0,95	0,46	0,49	-3,71	1,80
Virus	omb:haapape	an2010-an2012	-2,62	3,22	0,07	-5,48	0,23
Virus	omb:haapape	an2010-an2013	-2,58	4,19	0,04	-5,05	-0,11
Virus	omb:haapape	an2011-an2012	-1,66	6,52	0,01	-2,94	-0,38
Virus	omb:haapape	an2011-an2013	-1,62	6,49	0,01	-2,87	-0,37
Virus	omb:haapape	an2012-an2013	0,04	0,009	0,92	-0,80	0,89

En conclusion, les virus ont une prévalence des symptômes très faible à nulle en 2010 et 2011. Cette prévalence tend à augmenter légèrement en 2012 et 2013 dans certaines parcelles.

### 3.4.2.5. Thrips

Les prévalences moyennes des « signes cliniques » associés aux thrips dans les ombrières mixtes étaient de : 13.6%, 4.4%, 61.3%, 36.0% en 2010, 2011, 2012 et 2013 respectivement (Figure 35). Dans les ombrières « haapape » les prévalences moyennes étaient de 13.2%, 2.8%, 13.5%, 38.0% en 2010, 2011, 2012 et 2013 respectivement. Une fois encore, il n'est pas observé de différence significative selon les modes d'exploitation (Tableau 13). Par contre, il y a une baisse significative de la prévalence en 2011 suivie d'une augmentation entre 2012 et 2013 dans les ombrières « haapape ». (Tableau 14). La tendance est la même pour les ombrières mixtes, mais la forte variabilité entre exploitations ne permet pas de trouver des différences significatives (Figure 35). Enfin, les parcelles traditionnelles semblent avoir une prévalence plus faible que les ombrières en 2012 et 2013.

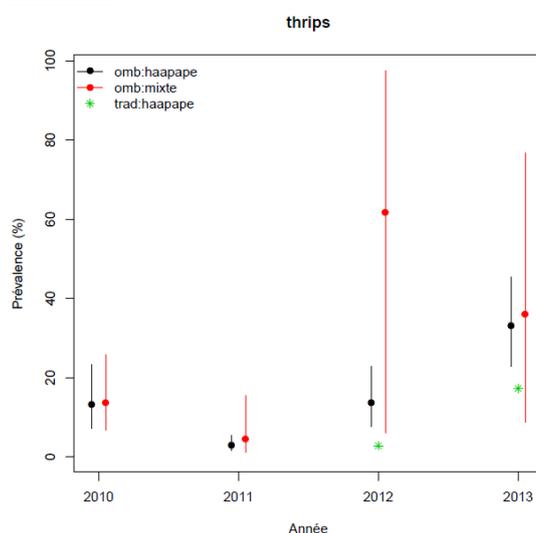


Figure 35: Prévalence moyenne et intervalles de confiance des « signes cliniques » associés aux thrips lors des visites des différentes exploitations

Tableau 13: Comparaison de prévalence moyenne de « signes cliniques » associés aux thrips, entre les ombrières mixtes et les ombrières « haapape »

Symptôme	Contraste	Estimation	X2	Pvalue	Lower	Upper
thrips	an2010:mixte-haapape	0,038	0,005	0,940	-0,973	1,051
thrips	an2011:mixte-haapape	0,458	0,346	0,556	-1,067	1,984
thrips	an2012:mixte-haapape	2,330	1,955	0,161	-0,935	5,597
thrips	an2013:mixte-haapape	0,130	0,019	0,888	-1,687	1,948

Tableau 14: Comparaison de prévalence entre années dans les ombrières mixtes et dans les ombrières « haapape »

Symptôme	mode.exp	Contraste	Estimation	X2	pvalue	Lower	Upper
Thrips	omb:mixte	an2010-an2011	1,232	3,604	0,057	-0,039	2,505
Thrips	omb:mixte	an2010-an2012	-2,318	2,234	0,135	-5,358	0,721
Thrips	omb:mixte	an2010-an2013	-1,270	2,367	0,123	-2,888	0,347
Thrips	omb:mixte	an2011-an2012	-3,551	2,889	0,089	-7,646	0,543
Thrips	omb:mixte	an2011-an2013	-2,503	3,539	0,059	-5,110	0,104
Thrips	omb:mixte	an2012-an2013	1,048	1,389	0,238	-0,694	2,790
Thrips	omb:haapape	an2010-an2011	1,652	16,169	0,0001*	0,846	2,457
Thrips	omb:haapape	an2010-an2012	-0,026	0,007	0,933	-0,652	0,598
Thrips	omb:haapape	an2010-an2013	-1,178	8,820	0,003*	-1,956	-0,400
Thrips	omb:haapape	an2011-an2012	-1,678	26,033	0*	-2,323	-1,034
Thrips	omb:haapape	an2011-an2013	-2,830	70,990	0*	-3,489	-2,172
Thrips	omb:haapape	an2012-an2013	-1,152	14,241	0,0002*	-1,750	-0,553

(\* : Significatif lorsque pvalue < 0.005)

En conclusion, la prévalence des thrips est relativement faible, en moyenne. Il existe une baisse en 2011, et une augmentation en 2012 et 2013. Les ombrières mixtes se caractérisent par une moyenne élevée mais une forte variance entre parcelles en 2012 et 2013.

### 3.4.2.6. Cochenilles

Les prévalences moyennes des cochenilles dans les ombrières mixtes étaient de 8.0%, 17.4%, 30.1% et 21.1% en 2010, 2011, 2012 et 2013 respectivement (Figure 36). Les prévalences moyennes des cochenilles dans les ombrières « haapape » étaient de 7.4 %, 8.6%, 22.6% et 25.3% en 2010, 2011, 2012 et 2013 respectivement (Figure 36). Il n'y a pas de différence significative des prévalences entre ombrières « haapape » et mixtes et cela pour les 4 années de visites (Tableau 15).

J'ai constaté une augmentation de la prévalence des cochenilles en 2012 (Figure 36), significative pour les deux types d'exploitation entre 2010 et 2012 (Tableau 16). Enfin, la prévalence semble rester constante, autour de 25 %, entre 2012 et 2013. La prévalence dans les parcelles traditionnelles était proche des prévalences des ombrières en 2012 et 2013.

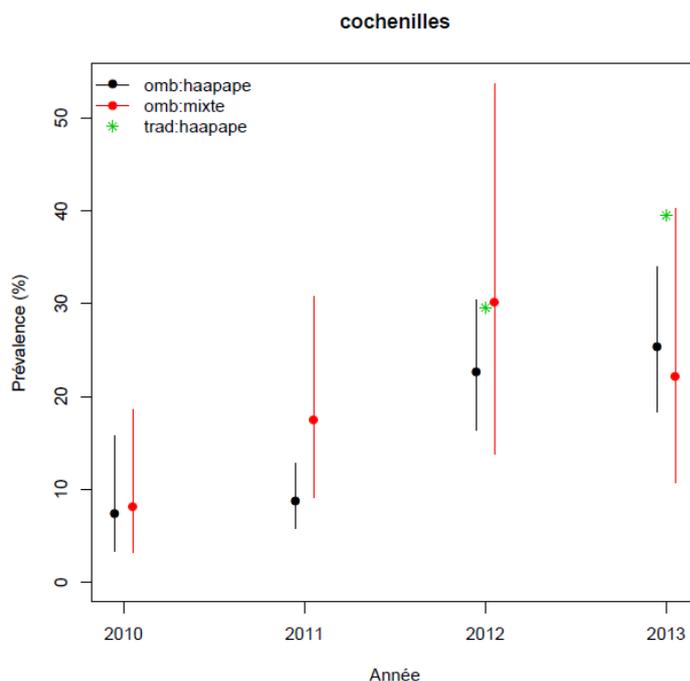


Figure 36: Prévalence moyenne et intervalles de confiance des « signes cliniques » associés aux cochenilles lors des visites des différentes exploitations

Tableau 15: Comparaison de prévalence des cochenilles entre ombrières mixtes et « haapape », par année de visite

Symptôme	Contraste	Estimation	X2	Pvalue	Lower	Upper
cochenilles	an2010:mixte-haapape	0,088	0,020	0,886	-1,123	1,300
cochenilles	an2011:mixte-haapape	0,802	4,151	0,041	0,030	1,575
cochenilles	an2012:mixte-haapape	0,388	0,553	0,456	-0,634	1,410
cochenilles	an2013:mixte-haapape	-0,175	0,153	0,695	-1,052	0,701

(\*) : Significatif lorsque p-value < 0.005)

Tableau 16: Comparaison de prévalence entre année dans les ombrières mixtes et dans les ombrières « haapape »

Symptôme	mode.exp	Contraste	Estimation	X2	Pvalue	Lower	Upper
cochenilles	omb:mixte	an2010-an2011	-0,883	4,851	0,027	-1,669	-0,097
cochenilles	omb:mixte	an2010-an2012	-1,594	8,440	0,0037*	-2,669	-0,518
cochenilles	omb:mixte	an2010-an2013	-1,180	5,741	0,016	-2,145	-0,214
cochenilles	omb:mixte	an2011-an2012	-0,710	5,113	0,023	-1,326	-0,094
cochenilles	omb:mixte	an2011-an2013	-0,296	0,964	0,326	-0,888	0,295
cochenilles	omb:mixte	an2012-an2013	0,413	1,085	0,297	-0,364	1,192
cochenilles	omb:haapape	an2010-an2011	-0,168	0,211	0,645	-0,888	0,550
cochenilles	omb:haapape	an2010-an2012	-1,294	9,315	0,0023*	-2,125	-0,463
cochenilles	omb:haapape	an2010-an2013	-1,443	11,63	0,0006*	-2,273	-0,614
cochenilles	omb:haapape	an2011-an2012	-1,125	49,852	0*	-1,437	-0,812
cochenilles	omb:haapape	an2011-an2013	-1,274	44,512	0*	-1,649	-0,900
cochenilles	omb:haapape	an2012-an2013	-0,149	0,765	0,381	-0,484	0,185

(\* : Significatif lorsque p-value < 0.005)

En conclusion, la prévalence des cochenilles augmente en 2012 et se stabilise en 2013.

### 3.4.2.8. Cannelures

Les prévalences moyennes des cannelures dans les ombrières mixtes étaient de 7.0%, 4.3%, 19.2% et 25.0% en 2010, 2011, 2012 et 2013 respectivement (Figure 37). Les prévalences moyennes des cannelures dans les ombrières « haapape » étaient de 4.3 %, 0.1%, 28.7% et 46.6% en 2010, 2011, 2012 et 2013, respectivement (Figure 37). Le Tableau 17 montre qu'il n'y pas de différence significative entre les ombrières « haapape » et mixte et cela pour les 4 années de visites. L'effet année est visible surtout dans les ombrières « haapape ». Il n'y a pas de différences significatives entre 2010 et 2011, mais la prévalence augmente entre 2011 et 2012, et entre 2012 et 2013 (Tableau 18). Enfin, la prévalence moyenne semble plus élevée dans les parcelles traditionnelles que dans les ombrières en 2013.

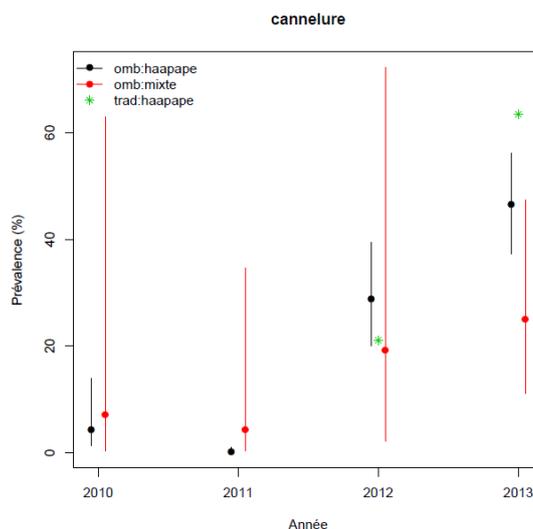


Figure 37: Prévalence moyenne et intervalles de confiance des « signes cliniques » associés aux cannelures lors des visites des différentes exploitations

Tableau 17: Comparaison de prévalence moyenne entre ombrières mixtes et « haapape » par années de visites

Symtôme	Contraste	Estimation	X2	Pvalue	Lower	Upper
Cannelure	an2010:mixte-haapape	0,513	0,075	0,782	-3,138	4,165
Cannelure	an2011:mixte-haapape	3,413	4,228	0,039	0,160	6,667
Cannelure	an2012:mixte-haapape	-0,526	0,174	0,676	-2,999	1,946
Cannelure	an2013:mixte-haapape	-0,961	3,110	0,077	-2,029	0,106

Tableau 18: Comparaison des prévalences moyennes de cannelures entre années dans les ombrières mixtes et dans les ombrières « haapape »

Symptôme	mode.exp	Contraste	Estimation	X2	pvalue
cannelure	omb:mixte	an2010-an2011	0,514	0,537	0,463
cannelure	omb:mixte	an2010-an2012	-1,151	0,432	0,510
cannelure	omb:mixte	an2010-an2013	-1,489	1,052	0,305
cannelure	omb:mixte	an2011-an2012	-1,666	1,836	0,175
cannelure	omb:mixte	an2011-an2013	-2,003	3,701	0,054
cannelure	omb:mixte	an2012-an2013	-0,337	0,151	0,697
cannelure	omb:haapape	an2010-an2011	3,414	6,456	0,011
cannelure	omb:haapape	an2010-an2012	-2,192	9,295	0,0023*
cannelure	omb:haapape	an2010-an2013	-2,963	19,410	0*
cannelure	omb:haapape	an2011-an2012	-5,606	41,687	0*
cannelure	omb:haapape	an2011-an2013	-6,378	53,223	0*
cannelure	omb:haapape	an2012-an2013	-0,771	13,526	0,0002*

(\* : Significatif lorsque pvalue < 0.005)

En conclusion, la prévalence des cannelures des lianes est très faible en 2010 et 2011, mais augmente dans toutes les exploitations à partir de 2012.

### 3.4.9 Conclusion générale

Plusieurs conclusions peuvent être tirées de cette analyse exhaustive sur le suivi des « signes cliniques » associés aux différentes pathologies observées sur la vanille dite « tahiti ».

Tout d'abord, il ne semble pas y avoir de fortes différences entre modes d'exploitation, quel que soit le symptôme considéré. A noter que les modes d'exploitations, comparés ici, étaient les ombrières cultivant uniquement la variété « haapape » et les ombrières cultivant un mélange de variétés. Ce résultat est à rapprocher de la comparaison entre la prévalence des symptômes sur lianes « haapape » et sur lianes « tahiti » dans les ombrières mixtes : les seuls symptômes pour lesquels une différence significative était observée, selon la variété des lianes, étaient l'anthracnose, les cochenilles et les virus. Pour l'anthracnose, les lianes « haapape » semblent plus résistantes. La prévalence moyenne observée pour ce symptôme est toujours plus élevée dans les ombrières mixtes (Figure 33). Pour les virus, les lianes de la variété « tahiti » semblent plus résistantes, mais uniquement lorsque la proportion de lianes « haapape » est forte. Il existe effectivement une très forte variation entre parcelles mixtes pour la prévalence des virus (Figure 34). Enfin, les lianes « tahiti » sont plus résistantes aux cochenilles, mais je n'ai pas observé de différences entre ombrières mixtes et ombrières « haapape » pour ce symptôme. L'importance des variations entre parcelles, en particulier pour les ombrières mixtes (Figures 33-37), laisse penser que les différences entre exploitations proviennent peut-être d'autres facteurs, comme la qualité des soins...

Ensuite, les résultats varient selon les symptômes observés. En 2010, les principaux symptômes étaient la fusariose et les thrips. En 2011, une épidémie de mildiou s'est manifestée et s'est révélée associée à une diminution de la prévalence des symptômes de fusariose. En 2012 et 2013, une augmentation de la plupart des symptômes comme la fusariose, les thrips, les cochenilles, les virus et les cannelures des lianes, est observée avec, par contre une diminution du mildiou. Enfin, l'anthracnose semble augmenter de façon graduelle entre 2010 et 2013. La tendance générale à l'augmentation de la prévalence des symptômes après 2011 pourrait être attribuée à un vieillissement des lianes. Cependant, les parcelles ayant pour la plupart été implantées entre 2003 et 2004, l'hypothèse du

vieillessement n'explique pas la rupture observée entre 2011 et 2012. Dans l'hypothèse d'un vieillissement des lianes, une augmentation graduelle des symptômes serait attendue, comme noté pour l'anthracnose. La particularité de l'année 2011 pourrait être expliquée par des conditions climatiques particulières, favorables au mildiou. Par exemple, le mildiou étant favorisé en présence d'eau liquide, 2011 aurait été une année favorable à cette maladie et *a contrario* défavorable pour les thrips et les cannelures. Cependant, l'hypothèse des variations climatiques ne semble pas suffisante pour expliquer l'augmentation très forte des symptômes de la fusariose en 2012 et 2013, associée à une augmentation des virus, des thrips, des cannelures et des cochenilles. Une hypothèse pourrait être une modification des pratiques avec une diminution des soins apportés aux parcelles. J'étudierai cette hypothèse dans la section consacrée à l'évolution de l'incidence, et dans le chapitre 2 consacré à l'étude des pratiques.

### 3.5. Analyse en composantes principales

La figure 38 est une représentation graphique de l'ensemble des résultats, projetés sur les deux premiers axes d'une Analyse en Composantes Multiples (ACP). Les points correspondent aux types d'exploitation et les couleurs représentent les années de visites. Le cercle des corrélations montre une corrélation positive entre les symptômes de la fusariose (f), des cochenilles (o), des thrips (t), des cannelures (c) et des virus (v). Ces symptômes sont corrélés négativement au mildiou (m). Les variations pour ces symptômes sont associées à des variations sur l'axe 1 de l'ACP. Les parcelles visitées en 2012 (en vert) et 2013 (en bleu) avec des coordonnées positives sur l'axe 1, correspondent à une forte prévalence de tous les symptômes associés à la fusariose et une faible prévalence du mildiou. Les parcelles visitées en 2011 (en rouge) ont des coordonnées négatives, ce qui correspond à une diminution des symptômes associés à la fusariose et une augmentation du mildiou. Enfin, l'année 2010 (en noir) est intermédiaire.

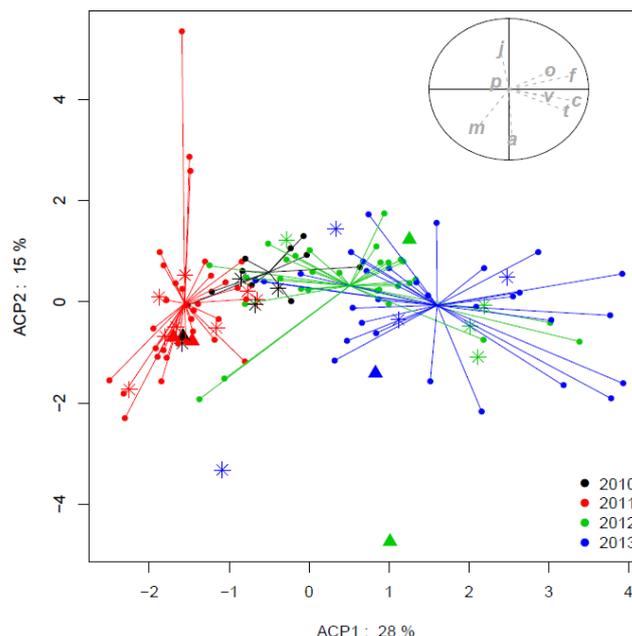


Figure 38: Représentation de la prévalence de tous les symptômes sur les deux premiers axes de l'Analyse en Composante Principale. Les couleurs représentent les années, et les types de points les variétés cultivées (cercle = « haapape », étoile = parcelle mixte, triangle = « tahiti »).

Sur l'axe 2 de l'ACP, il existe une corrélation négative entre le jaunissement des lianes d'une part, et l'anthracnose et le mildiou d'autre part. Y sont retrouvés avec des coordonnées positives sur l'axe 2 les quelques parcelles de 2011 ayant une forte prévalence du jaunissement (Figure 28). Avec des coordonnées négatives sur l'axe 2, se trouvent les parcelles de 2011 avec une forte prévalence du mildiou, et les parcelles de 2013 avec une forte prévalence de l'anthracnose.

Ainsi, la figure 38 permet de synthétiser les résultats obtenus précédemment concernant les évolutions inter-annuelles pour les prévalences des symptômes. Elle illustre aussi la forte variabilité observée entre parcelles, une même année. En particulier, il semblerait qu'il soit possible de séparer les parcelles de 2013 en deux groupes en fonction de la prévalence des symptômes associés à la fusariose (axe 1) : un groupe avec une faible prévalence et une moyenne autour de 0-1 sur l'axe 1 de l'ACP, et un groupe avec une forte prévalence et une moyenne autour de 3 sur ce même axe. La même analyse peut être effectuée pour les parcelles de 2012. Il serait intéressant de savoir si les exploitants se trouvant dans le groupe avec une « faible » prévalence en 2012 se trouvent dans le même groupe en 2013. Concernant les parcelles de 2011, il semblerait aussi que l'on puisse séparer un groupe de parcelles avec des coordonnées positives sur l'axe 2 de l'ACP et donc probablement peu de mildiou, et un groupe avec des coordonnées négatives sur l'axe 2 et donc plutôt une prévalence forte du mildiou.

Ainsi, cette analyse nous permet d'entrevoir une structuration des parcelles pour la prévalence des symptômes associés aux bio-agresseurs. Cette structuration semble clairement indépendante du type d'exploitation. Elle pourrait être reliée soit aux variations climatiques entre parcelles une même année d'observation, soit à des différences de pratiques entre exploitants.

## 3.6. Analyse de l'incidence

### 3.6.1. Evolution de l'incidence des maladies et rôle du toilettage

Pour ne pas confondre les effets, l'analyse se fait uniquement sur les ombrières, en ne regardant que les tuteurs non renouvelés et non arrachés, c'est à dire les tuteurs chez lesquels la liane observée est la même que celle observée l'année passée. Dans une parcelle, les lianes peuvent se classer en quatre catégories :

sain = liane indemne de symptômes, deux années consécutives

incid = liane indemne de symptômes l'année (n-1), mais présentant des symptômes l'année n.

disp = liane présentant des symptômes l'année (n-1), pour laquelle les symptômes ont disparu l'année n.

atteint = liane présentant des symptômes deux années consécutives.

La disparition des symptômes sur une liane atteinte l'année précédente peut être interprétée comme un effet de toilettage. Deux analyses sont réalisées séparément. D'une part, la proportion de cas incidents mesurée comme le rapport  $\text{incid}/(\text{incid}+\text{sain})$  est analysée. Cette analyse permet d'observer la progression de l'épidémie. D'autre part, la proportion de lianes présentant une disparition des symptômes, mesurée comme le rapport  $\text{disp}/(\text{disp}+\text{atteint})$  est analysé. Cette analyse permet d'observer l'évolution des pratiques de toilettage des lianes et de leur efficacité. Pour ces deux variables, un modèle GEE a été utilisé, avec l'année d'observation et le mode d'exploitation (variété « haapape » ou culture mixte) comme variables explicatives. Les analyses ont été réalisées pour la fusariose, le mildiou et l'anthracnose.

### 3.6.1.1. Incidence et disparition des symptômes de la fusariose

La Figure 39 donne les résultats pour la fusariose.

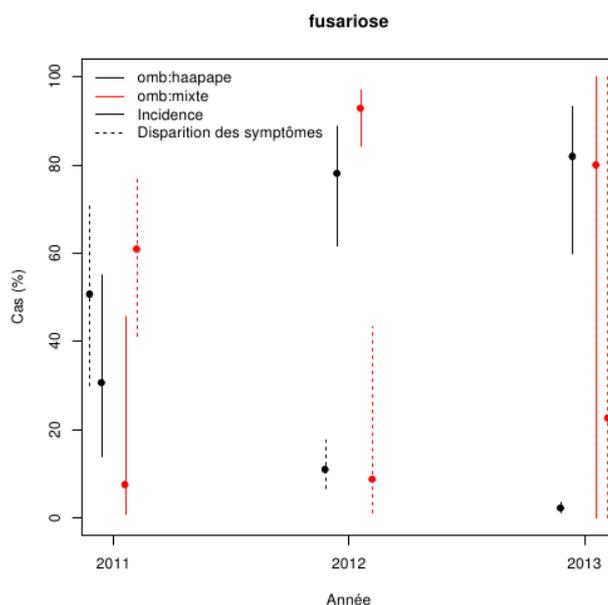


Figure 39: Moyennes estimées de l'incidence et du toilettage pour les symptômes de fusariose. Les variables explicatives sont l'année et le type de culture. Les points représentent les moyennes et les traits l'intervalle de confiance autour de la moyenne

En 2011, j'ai observé une incidence moyenne autour de 30 % dans les ombrières « haapape » et de 10 % dans les ombrières mixtes. L'incidence augmente en 2012 à 80 % pour les ombrières « haapape » et près de 90 % pour les ombrières mixtes. Elle se stabilise autour de 80 % en 2013 pour les deux types d'exploitation. Il y a donc une forte augmentation en 2012 et 2013 de l'apparition de symptômes sur des lianes saines. Concernant la disparition des symptômes, la fréquence est élevée (autour de 40 à 50 %) dans les deux types d'ombrières en 2011. Elle chute à environ 10 % en 2012. En 2013, la disparition des symptômes concerne en moyenne quelques pourcents des lianes atteintes dans les ombrières « haapape », et 20 % des lianes atteintes dans les ombrières mixtes. Que ce soit pour l'incidence ou la disparition des symptômes, le type d'exploitation n'a pas d'influence. A noter cependant la très forte variance entre parcelles en 2013 dans les ombrières mixtes, due en partie à un très faible effectif pour cette catégorie.

Il existe une association négative entre l'incidence, c'est à dire l'apparition de symptômes sur des pieds sains, et la disparition des symptômes sur des pieds atteints. Lorsque la disparition

des symptômes est importante comme en 2011, l'incidence est faible. En revanche, lorsque la disparition des symptômes est faible comme en 2012 et 2013, l'incidence est élevée.

### 3.6.1.2. Incidence et disparition des symptômes de l'antracnose

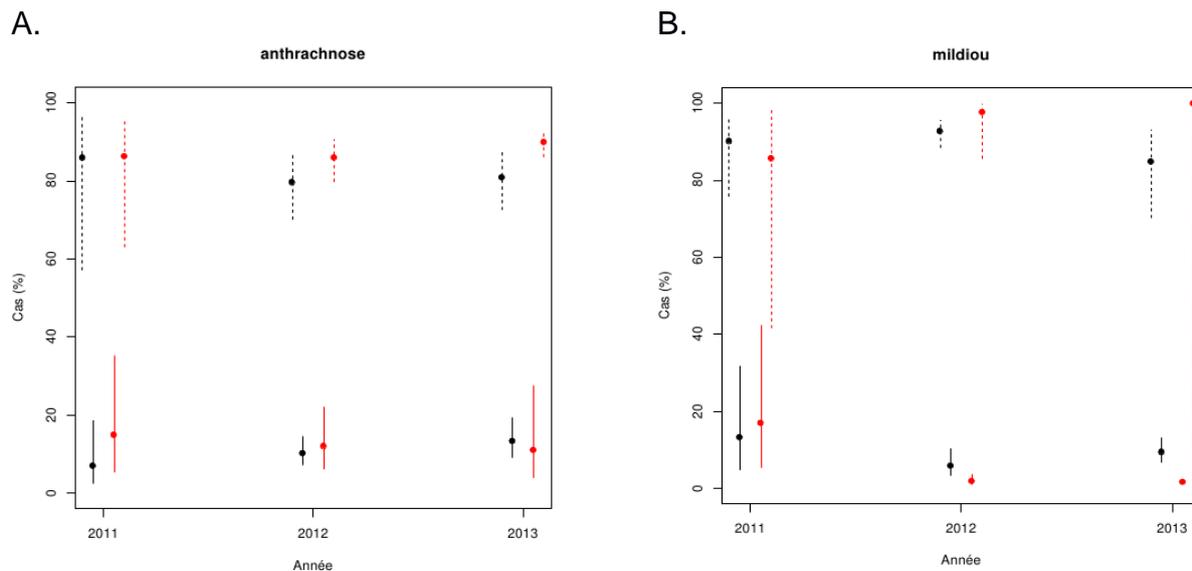


Figure 40: Moyennes estimées de l'incidence et du toilettage pour les symptômes de l'antracnose (A) et du mildiou (B). Les variables explicatives sont l'année et le type de culture. Les points représentent les moyennes et les traits l'intervalle de confiance autour de la moyenne

L'incidence de l'antracnose reste comprise entre 10 % et 20 % en moyenne, quelque soit l'année ou le type d'exploitation. Par contre, la fréquence de disparition des symptômes sur des lianes atteintes est élevée, proche de 80 %. La tendance à une augmentation graduelle de la prévalence des symptômes de l'antracnose (Figure 33) peut donc bien être interprétée comme un effet du vieillissement des lianes : chaque année, un petit nombre de lianes préalablement saines sont nouvellement infectées par cette maladie. Parmi les lianes nouvellement infectées, seules 80 % environ verront leurs symptômes disparaître. Le bilan est une augmentation légère du nombre de lianes infectées (prévalence) au cours des années. Il est remarquable de constater que la fréquence de disparition des symptômes reste stable pour

l'anthracnose (Figure 40A), alors qu'elle chute fortement en 2012 et 2013 pour la fusariose (Figure 39).

### **3.6.1.3 Incidence et disparition des symptômes du mildiou**

Concernant le mildiou, les résultats sont proches de ceux de l'anthracnose, mais il y a une incidence plus élevée en 2011 et proche de 20 % (Figure 40B), qui chute en 2012 et 2013 en dessous de 10 % en moyenne. Ces résultats confirment l'existence d'une épidémie de mildiou en 2011. La fréquence de disparition des symptômes est élevée chaque année et proche de 90 %. Comme pour l'anthracnose, je n'ai pas identifié de différences significatives selon les types d'exploitation. Le mildiou étant une maladie qui attaque principalement les gousses, la fréquence élevée de disparition des symptômes chaque année peut s'interpréter comme une pratique d'élimination des gousses malades, lors de la maturation des gousses ou lors de la récolte.

### **3.6.1.4 Conclusions**

Le suivi pluriannuel liane par liane dans différentes exploitations a permis d'avoir une mesure de l'incidence des symptômes. Les résultats confirment ceux obtenus sur la prévalence et montre des dynamiques temporelles très différentes selon les bio-agresseurs. Pour l'anthracnose, l'incidence reste constante et permet d'expliquer une augmentation graduelle de la prévalence due au vieillissement des lianes. Pour le mildiou, une épidémie s'est manifestée en 2011 : la prévalence augmente entre 2010 et 2011 (Figure 30), associée à une incidence plutôt élevée en 2011, et l'incidence diminue entre 2011 et 2012. La forte variation entre parcelles ne permet pas de conclure à des différences significatives entre années pour l'incidence, mais ces différences sont significatives pour la prévalence (Tableau 4). Cette épidémie pourrait s'expliquer par un climat plus humide sur l'ensemble de l'île en 2011 au moment de la formation des gousses. Cette hypothèse pourra être validée par la confrontation avec des données de pluviométrie. Enfin, pour la fusariose, l'évolution de l'incidence confirme les observations faites concernant la prévalence. Une diminution de la prévalence en 2011, associée à une faible incidence et une assez forte fréquence de disparition des symptômes est clairement caractérisable. Ainsi, la diminution du nombre de lianes atteintes en 2011

s'explique à la fois par le fait que les lianes saines en 2010 sont peu infectées, et que les lianes atteintes en 2010 semblent « guérir ». La disparition des symptômes pourrait être expliquée par une pratique de toilettage des lianes et d'élimination des feuilles sèches. En 2012 et 2013, la prévalence augmente de même que l'incidence. La fréquence de disparition des symptômes chute (Figure 39). Plusieurs hypothèses pour expliquer ce phénomène peuvent être émises :

(0) La faible incidence observée en 2011, pourrait être liée au fait que les parcelles échantillonnées en 2010 étaient déjà très atteintes par la fusariose. Elles ne sont donc pas représentatives de l'ensemble des ombrières de l'île. Comme la prévalence était déjà importante dans ces ombrières en 2010, il restait peu de tuteurs à infecter entre 2010 et 2011 d'où une faible incidence. Cependant, comme les exploitations étaient déjà fortement infectées en 2010, il était attendu que les tuteurs restants soient à leur tour infectés. Aussi, la faible incidence pourrait être liée soit à une action des producteurs, soit à des conditions environnementales particulières. D'autres analyses devront être mises en place pour répondre à cette question.

(1) Abandon des pratiques de soins aux lianes. En 2012 et 2013, les exploitants ont abandonné les pratiques de soins aux lianes. L'absence de toilettage diminue la fréquence des disparitions de symptômes et augmente l'incidence en augmentant la contamination par voie aérienne entre des lianes infectées et des lianes saines. La fréquence de disparition des symptômes ne change pas au cours des années pour l'anthracnose et le mildiou, ce qui peut être interprété comme le signe que les exploitants surveillent leurs lianes et éliminent les gousses atteintes par le mildiou de même que les lianes présentant des secteurs atteints par l'anthracnose. Pour ces deux maladies, je n'ai pas observé de signe d'abandon des soins.

(2) Augmentation de l'agressivité des souches de pathogène. La dynamique de l'agent pathogène est modifiée sous l'effet de la sélection naturelle ou de changements du climat. La progression de la maladie entre les racines et les lianes est plus rapide. L'effet du toilettage des lianes n'est plus visible entre deux passages de l'observateur. Cette hypothèse permet d'expliquer la diminution de fréquence de disparition des symptômes sur des pieds déjà atteints, mais pas l'augmentation de l'incidence sur des pieds sains.

(3) Augmentation de la prévalence de l'agent pathogène dans le substrat. L'apport de substrat contaminé au pied des lianes pourrait expliquer à la fois l'augmentation de l'incidence et la diminution de la fréquence des disparitions de symptômes car les lianes nettoyées pourraient être réinfectées par le substrat.

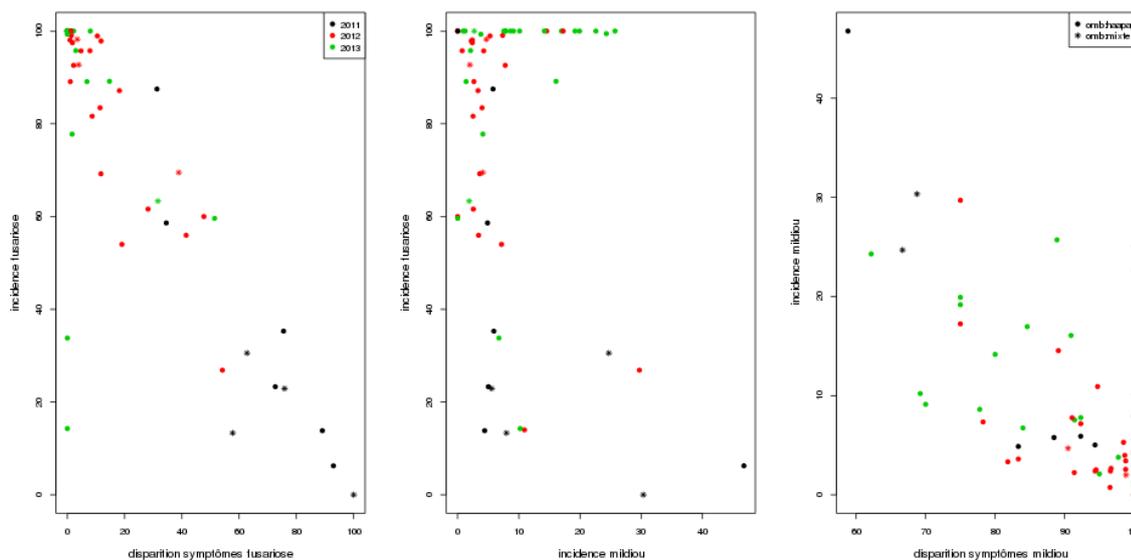


Figure 41: Relation entre l'incidence et le toilettage pour la fusariose et le mildiou. Les types de culture sont représentés par des symboles et les années par des couleurs

Pour préciser ces hypothèses, j'ai regardé la relation entre l'incidence et la disparition des symptômes pour la fusariose et le mildiou, ainsi que la relation entre l'incidence des symptômes du mildiou et celle des symptômes de la fusariose (Figure 41). Chaque point correspond à une parcelle et les couleurs identifient les années. Pour l'année 2011 (points noirs), il existe une corrélation négative entre l'incidence du mildiou et celle de la fusariose (Figure 41, au centre) qui confirme les résultats obtenus pour la prévalence (Figures 31-32). Cette corrélation disparaît en 2012 et 2013. En 2012, j'ai observé une faible incidence du mildiou, associée à une incidence de la fusariose forte mais variable entre parcelles. En 2012, l'incidence de la fusariose est très forte et proche de 100 % dans presque toutes les parcelles, alors que l'incidence du mildiou est plus variable, entre 0 et 30 %. Pour le mildiou, j'ai observé une corrélation faible mais négative entre l'incidence et la disparition des symptômes (Figure 41, à droite). En moyenne, les parcelles avec une faible incidence ont une forte fréquence de disparition des symptômes, indépendamment de l'année d'observation. Pour la fusariose (Figure 41, à gauche), la corrélation négative entre incidence et disparition des symptômes est bien meilleure, mais elle est induite en partie par des différences entre années. Cependant, même en 2012 et 2013, les exploitants pour lesquels la fréquence de disparition des symptômes est la plus forte ont les incidences les plus faibles. Si l'hypothèse (3) est vraie, je devrais trouver, pour ces exploitants, des différences concernant l'usage du substrat.

### 3.6.2. Renouvellements et arrachages

Grâce au suivi pluriannuel des parcelles, il apparaît que les exploitants ne conservent pas forcément les lianes de départ, mais pratiquent à la fois l'arrachage de lianes, ce qui diminue leur nombre de tuteurs exploitables, et le renouvellement, qui consiste à remplacer une liane par une nouvelle bouture. Ces pratiques ont été analysées à travers deux questions. Tout d'abord, je me suis demandé si le choix des lianes arrachées ou renouvelées était guidé par leur état sanitaire. Par la suite, j'ai cherché à savoir si la pratique de renouvellement des lianes était efficace, en termes de prévalence des symptômes l'année suivante.

#### 3.6.2.1. Facteurs de choix pour le renouvellement ou l'arrachage

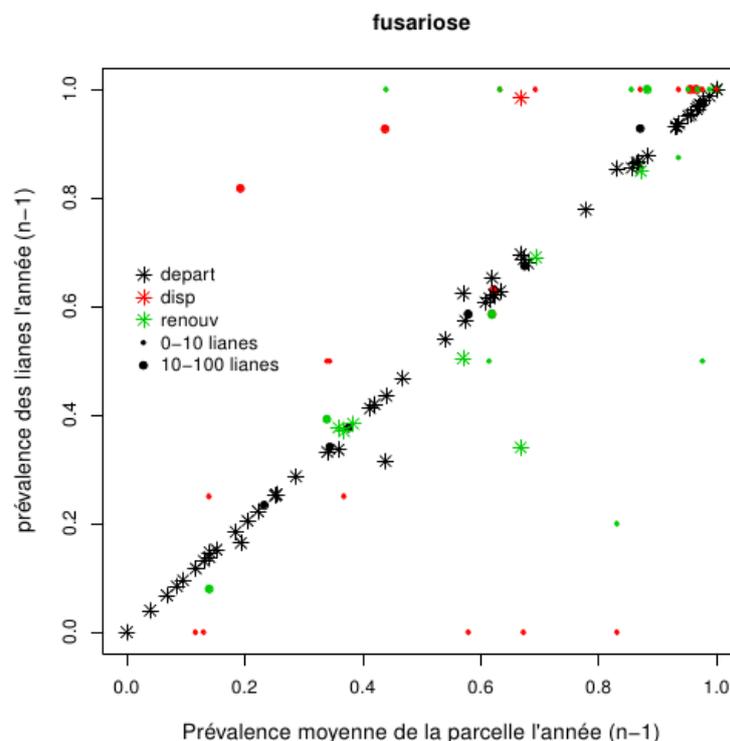


Figure 42: Relation entre la prévalence moyenne de la parcelle et la prévalence mesurée sur les lianes arrachées ou renouvelées. La taille des points est proportionnelle au nombre de tuteurs concernés (0-10, ou 10-100, ou >100). Le type de point correspond au traitement : liane de départ (depart), renouvelée (renouv) ou arrachée (disp)

La figure 42 montre la relation entre la prévalence moyenne de la parcelle et la prévalence des lianes de départ (en noir), arrachées (en rouge) ou renouvelées (en vert) pour la fusariose. Il est clair que la plupart des exploitants qui pratiquent l'arrachage ou le renouvellement le font sur moins de 10 lianes (Figure 42, petits points verts ou rouges). Seules 13 parcelles ont été modifiées de façon importante ( $>10$  lianes). La prévalence des symptômes sur lianes de départ, qui sont en général les plus nombreuses, est très bien corrélée à la prévalence moyenne de la parcelle. Pour ce qui concerne la prévalence des symptômes sur les lianes arrachées, j'ai noté une différence entre les exploitants qui arrachent quelques lianes ( $<10$ , petits points rouges) et les exploitants qui arrachent une fraction importante de leur exploitation ( $>10$ , gros points rouges). Lorsqu'une fraction importante des lianes a été arrachée, les exploitants choisissent de préférence des lianes atteintes par les symptômes de la fusariose : les points se trouvent au-dessus de la diagonale (Figure 42). La même analyse a été réalisée pour les autres bioagresseurs et aucun signal n'a été trouvé. Ainsi, les exploitants arrachent de préférence les lianes atteintes des symptômes de la fusariose.

Pour les renouvellements, j'ai observé que la plupart des gros points verts ( $>10$  lianes) se trouvent sur la diagonale (Figure 42). Les exploitants ne choisissent pas les lianes à renouveler sur la base de la présence des symptômes de la fusariose.

Il semble donc exister une différence entre les pratiques d'arrachage et de renouvellement des lianes. Les lianes arrachées sont préférentiellement des lianes atteintes des symptômes de la fusariose, alors que les renouvellements semblent se faire sur la base d'autres critères. Puisque il existe des coordonnées spatiales de chaque tuteur au sein des ombrières, il est possible d'utiliser le jeu de données pour tester si la répartition spatiale des lianes arrachées ou renouvelées est différente.

## 3.6.2.2. Efficacité du renouvellement

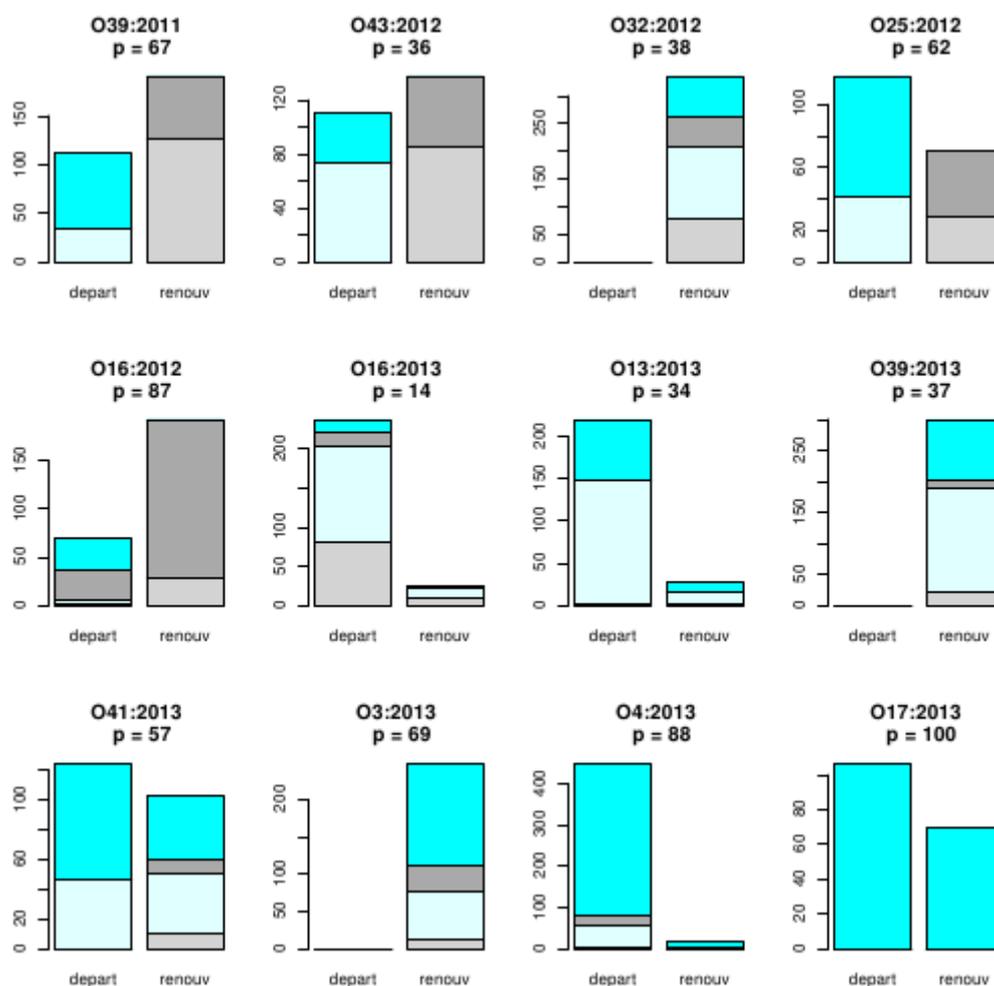


Figure 43: Efficacité du renouvellement. Barplot des modalités observées pour les symptômes sur les lianes de départ et les lianes renouvelées, pour les 12 parcelles ayant subi un renouvellement de plus de 10 tuteurs. Chaque parcelle est identifiée par le code de l'exploitant et l'année. Le chiffre p indique la prévalence moyenne mesurée l'année (n-1) sur la parcelle. Une couleur différente est attribuée à chaque modalité : sain=gris léger ; incid = bleu clair ; disp = gris foncé ; atteint = bleu.

La figure 43 montre le profil des 12 exploitations qui ont renouvelé plus de dix tuteurs. Le code couleur différencie le statut des lianes de l'année n et de l'année n+1 vis-à-vis des symptômes de la fusariose. En 2011 et 2012, le renouvellement a été efficace pour les exploitants O39, O43 et O25 : les tuteurs de départ sont atteints ou incidents (en bleu), alors que les tuteurs renouvelés sont sains (liane saine l'année n remplacée par une liane saine l'année n+1) ou les symptômes ont disparu (lianes atteintes l'année n remplacée par une liane saine l'année n+1). En revanche, l'exploitant O32 a renouvelé l'ensemble des lianes en 2012.

Environ 1/3 des lianes présentaient des symptômes en 2011. En 2012, 38 % des lianes présentent les mêmes symptômes. Pour cet exploitant, le renouvellement n'a pas amélioré l'état sanitaire de la parcelle. Le même résultat est obtenu pour tous les exploitants ayant renouvelé en 2013. Le cas le plus extrême est celui de l'exploitant O17 qui avait une prévalence de 100 % en 2012, et pour lequel l'ensemble des pieds renouvelés présente les mêmes symptômes que les lianes de départ en 2013. Une fois encore, ce résultat plaide en faveur d'un rôle important du substrat au pied des lianes pour la propagation de la maladie. Ce résultat n'est pas étonnant, étant donné que le champignon responsable de la fusariose effectue une partie de son cycle dans le sol au pied des lianes.



## Chapitre 2

# Chapitre 2 : Analyse multivariée de variables d'enquête socio-agro-économique auprès des producteurs de Raiatea

## 1. Introduction

La vanille tahiti se cultive dans des régions à climat chaud et humide. Elle nécessite un support d'accrochage et un certain ombrage. Historiquement, la culture a débuté en plein champ sur tuteurs vivants, des arbustes dont le feuillage est assez fin pour permettre un réglage facile de cet ombrage. C'est dans les années 2000 que la culture de la vanille sous ombrière sur tuteurs béton est apparue. Ce système de culture intensif avait pour but de faciliter l'accès aux parcelles de vanille mais aussi de réduire la prévalence des virus qui devenait très forte dans les cultures en plein champ.

Les techniques de culture sont restées les mêmes et comprennent le choix du terrain, l'installation, le bouclage, le toilettage des lianes, le pincement des boutures pour aider la floraison, le mariage des fleurs ou fécondation manuelle, le désherbage, la récolte. Un calendrier des travaux de la culture de la vanille a été mis à jour en 2012 (Figure 44). Pour provoquer la floraison, les producteurs pincement (ou cassent) les bouts pendants pour que de nouvelles boutures se forment avec des inflorescences. La bouture installée doit s'accrocher au tuteur et les producteurs « bouclent », c'est-à-dire qu'ils positionnent une nouvelle bouture arrivée au sol de telle façon que de nouvelles racines se forment.

SAISON HUMIDE		NOVEMBRE	DECEMBRE	JANVIER	FEVRIER	MARS	AVRIL
	Alimentation du vanillier	Apport	Chantier Apport	Apport	Apport	Apport	Apport
	Bouclage	X	X	X	X	X	X
	Toilettage des lianes	X	X	X	X	X	X
	Surveillance Maladies	X	X	X	X	X	X
	Désherbage	X	X	X	X	X	X
	Traitement préventif maladies fongiques	X		X		X	
	Sélection des gousses	X				X	X
	Récolte des gousses						
	Apports d'engrais naturels	X		X	X	X	X

SAISON SECHE		MAI	JUIN	JUILLET	AOÛT	SEPTEMBRE	OCTOBRE
	Alimentation du vanillier	Chantier Apport	Apport	Apport	Apport	Chantier Apport	Apport
	Bouclage	X	X	X	X	X	X
	Toilettage des lianes	X	X	X	X	X	X
	Surveillance Maladies	X	X	X	X	X	X
	Désherbage	X	X	X	X	X	X
	Traitement préventif maladies fongiques					X	
	Sélection des gousses					X	X
	Récolte des gousses	X	X	X	X		
	Nettoyage des lianes ayant déjà produit		X	X	X	X	
Sélection et pincements des lianes		X	X				
Sélection des fleurs			X	X			
Apports d'engrais naturels	X		X				

Figure 44: Calendrier des travaux pour la production de vanille en Polynésie française (Source: Fiche Technique n°7, EVT 2012)

La technique sous ombrière a permis d'augmenter la production de vanille les premières années de production. Toutefois depuis 2009, une chute constante de la production est observée. Cette chute apparaît liée aux pertes, en augmentation, dues aux bioagresseurs, comme cela a été montré dans le chapitre 1 pour la période 2010-2013. En particulier, les tuteurs sont de plus en plus affectés par la fusariose au fil du temps. Le mildiou a également fait des ravages en 2011. Est-ce que les évolutions observées concernant les bioagresseurs sont en lien avec les pratiques culturales? En particulier, les recommandations fournies aux producteurs sont-elles suivies? Si non, est-il possible d'inventorier les pratiques et d'en établir une typologie? Ces pratiques sont-elles stables d'une année à l'autre, pour un même producteur? Comment varient-elles entre producteurs?

Pour ce faire, j'ai mis en place, en parallèle de l'analyse de l'état sanitaire des exploitations (chapitre 1), un questionnaire relatif aux pratiques culturales. Ce questionnaire a été renseigné par les producteurs lors des visites des parcelles. L'enquête s'est déroulée sur quatre ans, de 2010 à 2013.

J'y ai cherché à comprendre pourquoi il y a autant de maladie au sein des exploitations. J'ai supposé que les pratiques jouent certainement un rôle. Donc, l'objectif du travail présenté dans ce chapitre est de décrire les pratiques culturales de la vanille et leur diversité. Par la suite, il sera possible, à l'aide d'outils mathématiques appropriés de les mettre en lien avec l'état sanitaire des parcelles.

Lors des visites des parcelles, un questionnaire (Annexe 1) sur les pratiques culturales du producteur a été complété. Ce questionnaire avait pour but de recenser les pratiques concernant les choix de substrat, les techniques d'entretien des lianes de vanille, les intrants, et également d'apprécier la situation climatique et environnementale. Antonin Labat en stage de Master avec mes encadrantes bio-mathématiciennes J. Legrand et C Dillmann au Moulon, a été recruté pour réaliser l'analyse statistique des résultats de l'enquête. Dans un premier temps, il a fallu nettoyer et simplifier les données de l'enquête pour permettre le traitement statistique. Ensuite, j'ai cherché à décrire les pratiques, mettre en évidence une éventuelle structuration des pratiques et en produire une typologie.

## **2. Population d'étude et méthode de collecte des données**

### **2.1. Réalisation de l'enquête**

Une enquête annuelle a été conduite en même temps que les relevés de bio-agresseurs chez les producteurs visités de 2010 à 2013 inclus, sur l'île de Raiatea. Au total, 134 questionnaires ont été passés chez 51 producteurs. Les données ont été collectées chez 15 producteurs en 2010, 46 en 2011, 35 en 2012 et 38 en 2013. Dix producteurs ont été suivis sur quatre années consécutives.

Après avoir relevé les maladies dans les parcelles, les producteurs ont été questionnés afin d'établir leurs pratiques.

Lors de chaque visite d'une exploitation, un questionnaire était rempli avec le producteur après avoir relevé la présence de signes cliniques de bio-agresseurs. Ce questionnaire avait pour but de récolter des informations sur le producteur, sa parcelle, l'environnement dans lequel elle se situe, ses techniques culturales : le compost utilisé, les traitements phytosanitaires et des informations sur l'état de sa production.

Les exploitations visitées correspondent aux producteurs qui ont accepté que j'entre dans leur parcelle et de répondre aux questionnaires sur leurs pratiques (Figure 2). J'ai cherché à avoir une bonne représentation spatiale de l'île de Raiatea en visitant au moins une exploitation par district.

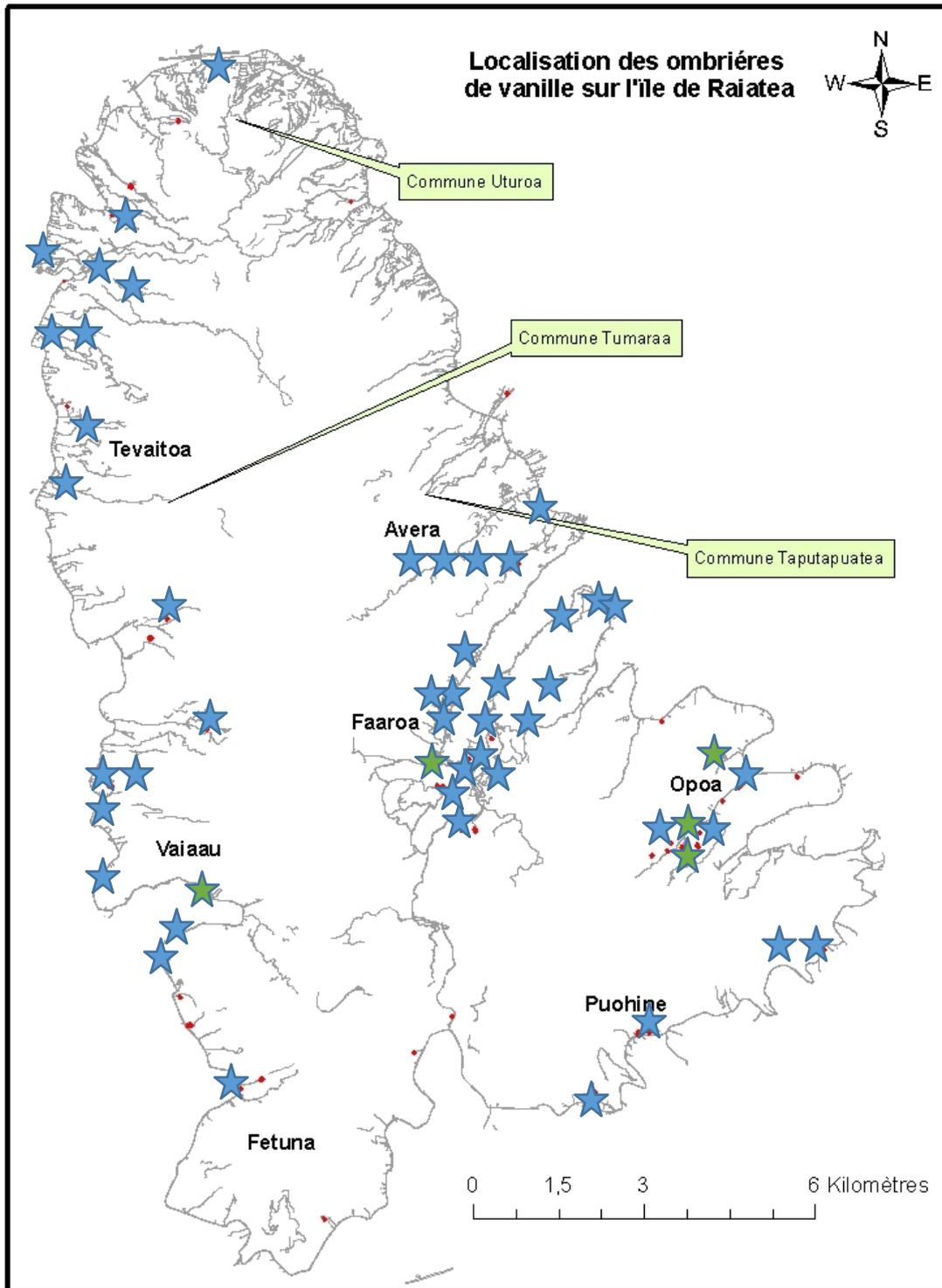


Figure 45: Localisation des ombrières  et parcelles traditionnelles visitées  . Les points rouges  sont les ombrières qui n'ont pas pu être visitées. (Source : Timeri A.)

Le questionnaire a été établi en utilisant les connaissances des techniques culturales nécessaires et recommandées par l'établissement. Les fiches des vulgarisateurs ont largement contribué à établir ce questionnaire. Le questionnaire d'origine est joint en annexe 1.

Lors des visites des exploitations, j'ai interrogé les producteurs (ou leur représentant) et rempli le questionnaire, sur papier de 2010 à 2012 et sur tablette électronique en 2013, à partir de leurs réponses. Dans certains cas, l'exploitant était absent et les réponses ont été établies avec l'aide de l'agent sanitaire, où alors directement par l'enquêteur en fonction des observations réalisées sur la parcelle. Le questionnaire comprend donc un certain nombre de données manquantes. Par exemple, en l'absence de l'exploitant, il a souvent été difficile d'établir quels intrants avaient été utilisés. Enfin, lorsque que les observations de la parcelle ne correspondaient pas aux réponses du producteur, des corrections étaient apportées (exemple, lorsque le producteur répondait qu'il ne faisait aucun traitement fongicide et que des traces de bouillie bordelaise étaient observées sur les lianes). J'ai choisi de traiter le problème des données manquantes dans le questionnaire en les considérant comme des réponses à part entière et en introduisant un niveau supplémentaire pour chaque variable : "Ne se prononce pas" (NSP).

En moyenne, il fallait consacrer 20 minutes pour que tout le questionnaire soit rempli.

## 2.2. Organisation de la base de données

La base de données est organisée en sept fichiers Excel enregistrés au format csv. Chaque fichier regroupe les réponses à une grande catégorie de questions :

- (1) Des informations générales sur les parcelles et les producteurs qui les exploitent ;
- (2) Les composantes et les conditions de stockages du substrat. Il s'agit du support de culture dans lequel poussent les racines ;
- (3) L'environnement des cultures ;
- (4) Les intrants utilisés. Il s'agit des différents produits apportés aux cultures, en l'occurrence les engrais, les insecticides et les fongicides ;
- (5) Les techniques de culture utilisées ;
- (6) Un ressenti global sur les signes de mauvaises santé des lianes de vanille de leurs différents organes, au niveau de l'exploitation ;
- (7) Les coordonnées GPS des parcelles.

Chaque ligne de ces fichiers contient les réponses pour un exploitant, une année donnée. La première colonne de chaque fichier, correspond à un identifiant propre à chaque exploitant-année. Cet identifiant permet de relier les fichiers entre eux. Les colonnes suivantes correspondent aux variables de la catégorie.

Au total soixante-dix variables ont été relevées.

### 2.3. Contenu du questionnaire

Les catégories (6) et (7) ne sont pas retenues pour la suite de notre analyse (Annexe 2). Des données de géolocalisation ont été récoltées dans le but de conduire une analyse spatiale dans le futur. Cette analyse spatiale n'a donc pas été effectuée ici. Les données appelées « état sanitaire » ou « production » (ou ressenti global sur les signes de mauvaises santé des lianes de vanille de leurs différents organes, au niveau de l'exploitation) n'ont pas été analysées pour décrire les pratiques car elles qualifient les conséquences de la prévalence des bio-agresseurs plus que les pratiques.

De ce fait, au total, **45 variables qualitatives** ont été incluses dans les analyses décrites dans ce chapitre: neuf pour les données générales (Tableau 19), 3 pour les données sur l'environnement (Tableau 20), 18 pour les données de techniques culturales (Tableau 21), onze pour les données sur le substrat (Tableau 22), quatre pour les données sur les intrants (Tableau 23).

Le jeu de données analysé est résumé ci-dessous sous la forme de tableaux.

La catégorie « données générales » permet d'obtenir des informations sur l'exploitant, les surfaces cultivées et la situation géographique des parcelles. La plupart des informations de cette catégorie ne sont pas variables d'une année à l'autre et ont été utilisées pour vérifier la saisie des données.

Tableau 19 : Les variables et modalités de la catégorie « données générales »

Question	Nom de la variable	Code	Interprétation
Dans quelle catégorie d'âge se trouve celui qui s'occupe de la parcelle	Age	1, 2, 3 ou 4	1 pour jeune et 4 très âgé
Qui est présent lors de la visite ?	Présence	P, A, famille, CEPIA	P pour présent, A pour absent, famille lorsque c'est la famille qui était présente et CEPIA lorsque c'est un employé
Quelle année a été installée la parcelle ?	Année plantation	2002 à 2010	
De quelle surface est la parcelle ?	Surface	288m <sup>2</sup> , 576, 1150 et 1920m <sup>2</sup>	
Quel est le nombre de tuteurs installés dans la parcelle ?	Nombre de tuteur	150, 250, 500 et 750 tuteurs	
Quelle variété est plantée ?	Variété	Haapape, Tahiti, mixte	
Dans quelle commune se trouve la parcelle ?	Commune	Uturoa, Taputapuata, Tumaraa	
Dans quel district se trouve la parcelle ?	District	Avera, Faaroa, Puohine, Miri Miri, Pufau, Vaiaau	
De quel côté se trouve la parcelle ?	Coté	Mer, montagne	

La catégorie « Environnement » comprend des données relatives à la pente et à l'humidité dans et autour de la parcelle. Les questions relatives à l'exposition de la parcelle et l'altitude (Annexe 2) n'ont pas été conservées dans cette catégorie car nous avons utilisé des données plus précises de localisation GPS, qui sont regroupées dans la catégorie GPS.

Tableau 20 : Variables et modalités de la catégorie « Environnement »

Questions	Nom de la variable	Code	Interprétations
L'exploitation est installée sur quel type de pente ?	Pente	0, 1, 2 ou 3	0 étant pas de pente et 3 pour une pente forte
Quel est le climat au sein de la parcelle ?	Climat : parcelle	Aéré, correct, humide, sec	
Quel est le climat autour de la parcelle ?	Climat : environnement	Correct, humide, pluvieux, sec, ventilé	

La catégorie « Techniques culturales » regroupe un ensemble de questions visant à établir les pratiques de soins et d'entretien des lianes. J'ai inclus dans cette catégorie des questions relatives au désherbage et à l'humidité de l'air ressentie lors des visites. A noter que les questions relatives à la porte et à l'ouverture de la toile « insect-proof » concernent le cas des cultures sous ombrière.

Tableau 21: Variables et modalités de la catégorie « techniques culturales »

Questions	Nom de la variable	Code	Interprétations
Est-ce que les outils et les mains sont désinfectés ?	Hygiène outils main	O, n, NSP	O pour oui, n pour non et NSP pour les données manquantes
La porte est –elle fermée ?	Porte fermée	O, n	O pour oui, n pour non
Est-ce que les lianes maladies sont éliminées ?	Elimination lianes	O, n	O pour oui, n pour non
Les lianes sont-elles remplacées ?	Remplacement lianes	O, n	O pour oui, n pour non
Le bouclage est –il fait correctement ?	Bouclage	C ou m	C pour correct et m pour mauvais
Est-ce qu'ils bouclent sur les tuteurs	Bouclage sur tuteur	0,1 ou 2	0 pour ne boucle pas, 1 pour quelques lianes sont bouclée ou 2 toutes les lianes sont bouclées
Est-ce qu'il boucle dans le compost	Bouclage dans compost	O ou n	O pour oui, n pour non
Est-ce que le bourgeon est bien orienté ?	Orientation bourgeons	O ou n	O pour oui, n pour non
Est-ce que le toilettage est effectué ?	Toilettage	O ou n	O pour oui, n pour non
Est-ce que le pincement est effectué ?	Pincement	O, n, NSP	O pour oui, n pour non et NSP pour les données manquantes
Est-ce qu'il marie toutes les fleurs ?	Mariage	1,2, 3 ou NSP	1 très peu de fleurs sont pollinisées, 2 la moitié des fleurs sont pollinisées, 3 toutes les fleurs sont pollinisées ou NSP pour les données manquantes
Est-ce que les 3 m de désherbage sont respectés ?	Désherbage 3m	O ou n	O pour oui, n pour non
Quel type de désherbage est réalisé ?	Désherbage ext	0, 1, 2 ou 3	0 pour aucun désherbage effectué, 1 pour de façon manuelle, 2 pour l'utilisation de machine mécanique, 3 pour l'utilisation d'herbicide chimique
Y a-t-il des drains dans la parcelle ?	Drains	O, n	O pour oui, n pour non
Est-ce qu'il y a des traces d'humidité dans la parcelle ?	Humidité int	O, n	O pour oui, n pour non
Est-ce qu'il y a des traces d'humidité autour de la parcelle ?	Humidité ext	O, n	O pour oui, n pour non
Est-ce que la toile insecte proof est ouverte ?	Toile insect ouvert	O, n	O pour oui, n pour non

La catégorie « substrat » vise à établir les pratiques concernant le substrat nutritif placé au pied des lianes. Il peut être composé de feuillage ou de bourre de coco, et être broyé ou non. J'ai également souhaité évaluer l'étendue et la qualité du stock de substrat présent sur l'exploitation.

Tableau 22: Variables et modalités de la catégorie « substrat »

Question	Nom de la variable	Code	Interprétations
Quelle est l'épaisseur de substrat au pied des lianes ?	Epaisseur	1, 2 ou 3	1 étant le moins épais et 3 le plus épais
Quelle est l'humidité du substrat au pied des lianes ?	Humidité	s, b ou e	Sec, bon, excès
Quel est l'âge du substrat se trouvant au pied des lianes ?	Age	1, 2 ou 3	1 étant le plus jeune et 3 le plus vieux
Y a-t-il une zone de stockage pour le compost ?	Stock	O ou n	O pour oui et n pour non
Y a-t-il un stock de déchets végétaux sur l'exploitation ?	Stock.déchets végétaux	0, 1, 2 ou ,3	0 étant l'absence de stock, et 3 la présence d'un très gros stock
Y a-t-il un stock de compost préparé sur l'exploitation ?	Stock.compost	0, 1 ou 2	0 étant l'absence de stock et 2 la présence d'un gros stock
Y a-t-il présence d'un stock de bourre de coco sur l'exploitation ?	Stock.coco	0, 1, 2 ou 3	0 étant l'absence de stock et 3 la présence d'un gros stock
Le stock de substrat présent sur l'exploitation est-il broyé ?	Stock.broyé	Rien, B ou NB	Rien s'il n'y a pas de stockage de substrat, B s'il est broyé et NB s'il est non broyé
Le substrat placé au pied des lianes est-il broyé ?	Broyé	B ou NB	B s'il est broyé et NB s'il est non broyé
Y a-t-il du feuillage dans el substrat placé au pied des lianes	Feuillage	A ou P	A pour absence et P pour présence
Quelle est la part de bourre de coco présent dans le substrat	Coco	1, 2 ou 3	1 s'il n'y en a pas et 3 si ce n'est pratiquement que ça)
Le substrat placé au pied des lianes est-il un mélange ?	Mélange	o ou n	O pour oui et n pour non

Concernant la dernière variable du tableau, 100 % des individus ont répondu non. Je l'ai retirée de l'analyse. En l'absence de cas où le substrat est un mélange il ne pourra rien être mentionné quant à l'effet de cette pratique.

La catégorie « intrants » vise à établir les pratiques en terme d'utilisation de fongicides et/ou d'insecticides.

Tableau 23: Variables et modalités de la catégorie « intrants »

Questions	Nom de la variable	Code	Interprétations
Des pesticides sont –ils utilisés ?	Pesti	O ou n	O pour oui, n pour non
Quel type de fongicide est utilisé ?	Fongicide	Bio, bio+chimique, chimique, n ou NSP	Bio pour des produits biologiques, bio + chimique pour l'utilisation de produits bio et aussi chimique, n pour ce qui n'en utilise pas et NSP pour une donnée manquante
Quel type d'insecticide est utilisé ?	Insecticide	Bio, bio+chimique, chimique, n ou NSP	Bio pour des produits biologiques, bio + chimique pour l'utilisation de produits bio et aussi chimique, n pour ce qui n'en utilise pas et NSP pour une donnée manquante
Des engrais sont-ils utilisés ?	Engrais	O, n ou NSP	O pour oui, n pour non et NSP pour les données manquantes

A noter que les quatre questions sont très fortement corrélées. Une réponse « n » à la question sur l'utilisation de pesticides entraîne forcément la même réponse concernant l'utilisation de fongicides ou d'insecticides.

### 3. Méthodes d'analyse

#### 3.1. Prétraitement des données

##### 3.1.1. Regroupement de variables et de modalités

Pour la plupart des variables que j'ai mesurées, je n'avais aucune information *a priori*. Une fois les réponses recueillies, il a fallu réaliser un pré-traitement des données, pour éliminer les variables redondantes, et le cas échéant, effectuer des regroupements de modalité pour éviter d'avoir des effectifs faibles ou nuls. J'ai également créé de nouvelles variables pour résumer une ou plusieurs variables de départ.

J'ai, dans un premier temps, travaillé catégorie par catégorie pour établir un jeu de données synthétiques. Dans cette première analyse, j'ai considéré chacune des variables séparément et

mesuré les effectifs de chaque modalité, dont le but éventuel de faire les regroupements de modalité. En effet, si une modalité d'une variable ne concerne qu'un tout petit nombre de producteurs/année, cette modalité ne sera pas informative dans la suite de l'analyse. La plupart des variables étant des variables catégorielles ordonnées, j'ai pu procéder à des regroupements de modalités. Par exemple, lorsqu'une variable était codée {1, 2, 3} correspondant à {un peu, moyennement, beaucoup}, j'ai choisi de regrouper les modalités 1 et 2, ou alors 2 et 3 pour aboutir à des modalités ayant des effectifs les plus équilibrés possible.

Dans un second temps, j'ai étudié l'ensemble des nouvelles variables pour établir une typologie des pratiques. Au cours de chaque étape, j'ai fait appel à des méthodes descriptives d'analyse multivariée.

### 3.1.2. Traitement des variables quantitatives

Les seules variables quantitatives disponibles sont pour la plupart issues de la catégorie « informations générales », comme la production estimée, le nombre de tuteurs et la surface, ou encore la borne kilométrique qui indique la distance entre l'exploitation et le centre-ville. Une autre série de variables quantitatives sont les coordonnées GPS.

Je ne disposais d'estimations de la production de vanille qu'en 2011. Ces estimations correspondaient à la production déclarée au comité de surveillance de la vanille mûre. Ces estimations sont difficiles à relier à des exploitations car certains producteurs ne déclarent rien, et d'autres déclarent leur production ainsi que celle de l'ensemble des membres de leur famille. J'ai donc décidé de ne pas considérer cette variable. Le nombre de tuteurs et la surface de l'exploitation sont des variables totalement liées, et dépendantes du type de culture. J'ai choisi de regrouper toutes ces variables en une seule variable discrète que l'on nomme "classe de surface", prenant également en compte le type de culture : ombrière ou traditionnelle. Cette variable possède quatre modalités : petit (culture sous ombrière contenant jusqu'à 150 tuteurs), moyen (culture sous ombrière contenant entre 151 et 266 tuteurs), grand (culture sous ombrière contenant plus de 266 tuteurs) et traditionnelle (parcelle traditionnelle caractérisée par des surfaces minimums de 1000m<sup>2</sup>).

Par ailleurs, plusieurs variables caractérisant géographiquement les cultures étaient à disposition. Sont connus la commune, le district ainsi que le côté de la route où sont situées les exploitations, la borne kilométrique et les coordonnées GPS de l'exploitation. J'ai décidé

de ne pas analyser ici les coordonnées GPS et la borne kilométrique mais uniquement les indications concernant la commune et le district.

## 3.2. Analyse multivariée

### 3.2.1. Analyse en Composantes Multiples (ACM)

Avant de mener une analyse sur l'ensemble des variables, je me suis intéressée aux relations entre variables à l'intérieur d'une même catégorie notamment dans le but d'éliminer les redondances entre variables.

J'ai utilisé l'ACM pour étudier la relation entre les données car c'est une méthode qui s'applique aux tableaux dans lesquels un ensemble d'individus (ligne) est décrit par des variables qualitatives (colonnes). De plus, elle permet de résumer la structure d'un jeu de données sur quelques axes.

J'ai cherché à établir d'éventuelles relations entre des variables. Si des pratiques sont communément faites avec d'autres alors il est possible d'établir une typologie. Cela permet également de réduire la dimension des potentielles variables explicatives pour établir le lien entre pratiques et état sanitaire.

Pour chaque catégorie de variables il y a un tableau de données à  $n$  lignes ( $n=134$ ) et  $p$  colonnes ( $p$ =nombre de variables de la catégorie). En est extraite une table appelée tableau disjonctif complet des indicatrices des  $p$  variables. Plus concrètement, si  $n_j$  est le nombre de

modalités de la variable  $j$ , ce tableau est un tableau à  $n$  lignes et  $P$  colonnes (avec  $P = \sum_j n_j$ ),

dont toutes les composantes valent soit 0 soit 1. Chaque modalité de chaque variable est alors considérée comme une variable binaire, numérotée de 1 à  $P$ . La première correspond à la première modalité de la première variable, la deuxième à la deuxième modalité de la première variable... la dernière à la dernière modalité de la dernière variable. Si  $t_{ik}$  le terme de la  $i$ -ème

ligne et de la  $k$ -ième colonne,  $t_{ik}$  vaut 1 si dans le profil de l'individu  $i$  est retrouvée la modalité  $k$ , et 0 sinon.

Ce tableau disjonctif est une généralisation de la table de contingence dans un cas à plus de deux variables. En supposant l'indépendance entre lignes et colonnes du tableau, il peut alors

être calculé une distance du Khi2, et représenter chaque case du tableau par sa contribution à cette distance. Une valeur élevée indique une différence importante entre les effectifs observés et les effectifs attendus sous l'hypothèse d'indépendance. Cela donne une matrice de données quantitatives sur laquelle est appliquée une ACP. L'ACM est une analyse des relations de dépendance entre variables qualitatives. La suite est assez classique :

- Identification des sous-espaces propres et calcul des valeurs propres.
- Évaluation des pourcentages d'inerties portées par chaque axe. Il peut être remarqué que le pourcentage d'inertie expliqué par chacun des axes est la plupart du temps bien moins bon que dans le cas d'une ACP classique.
- Choix de la dimension du sous-espace sur lequel on va projeter le plan d'expérience
- Calculs des nouvelles coordonnées des variables après la projection et les contributions de chacune de leurs modalités lors de la construction des axes.
- Projection des individus dans le nouveau système de coordonnées.
- Interprétation en termes de typologie.

Une dernière étape pourrait venir s'ajouter à celles-ci, à savoir :

- Extraction de variables synthétiques, résumant l'ensemble de l'information par les coordonnées d'un petit nombre d'axes de l'ACM.

Cette étape aurait l'avantage de réduire la dimension du plan d'expérience en garantissant une perte d'information minimale. Cependant toute interprétation en terme de pratiques devient compliquée voire impossible, car il est difficile de revenir aux variables de départ. Aussi j'ai choisi d'arrêter l'approche de l'interprétation des axes de l'ACM et l'analyse des corrélations entre variables, pour proposer ensuite un jeu de données dans lequel sont conservées du mieux possible les variables de départ, en éliminant uniquement les variables redondantes.

### 3.2.2. Classifications des individus

J'ai utilisé des méthodes de classification non supervisée, et en particulier la méthode des kmeans pour établir des groupes d'individus partageant un ensemble de pratiques. La méthode des kmeans est un algorithme qui permet de déterminer la meilleure partition des individus en k groupes. La partition est faite suivant un critère de minimisation de la variance intra-groupe. C'est une méthode itérative, qui peut s'avérer instable en fonction des conditions initiales, c'est à dire la constitution des groupes au départ. Il faut pour s'assurer une certaine stabilité des

résultats réaliser un nombre suffisant d'itérations, en changeant à chaque fois les conditions initiales. Le nombre de groupes est inconnu au départ. J'ai choisi une méthode itérative, en faisant varier ce nombre de groupes entre 1 et 10. L'algorithme utilisé est le suivant :

- variation de k entre 1 et 10 ;
- lancement de l'algorithme k-means pour chaque valeur de k.
- récupération des valeurs de la variance inter-groupe.
- représentation de la valeur du rapport entre la variance inter-groupe et la variance totale en fonction de k. Ce rapport sera appelé Vratio.
- ce rapport doit tendre vers 1 par valeur inférieure lorsque k tend vers n (i.e quand chaque individu constitue son propre groupe, la variance inter-groupe explique la totalité de la variance et la variance intragroupe est nulle)
- détermination ensuite de la valeur de k retenue, en suivant le critère du coude (i.e on maximise la quantité nommée Vratio en pénalisant par le nombre de groupe).

Cette méthode a été appliquée tour à tour pour chaque catégorie de variables. Elle a permis d'identifier des variables complètement redondantes. Elle a aussi permis d'identifier des variables fortement corrélées. Dans ce cas, j'ai créé de nouvelles variables, en agrégeant entre elles les modalités de deux ou plusieurs variables de départ.

### 3.2.3. Regroupements et suppressions de modalités

Les étapes décrites ci-dessus aboutissent, pour chaque catégorie, à un nouveau jeu de données. Pour certaines variables, des modalités ont été agrégées. Par ailleurs, l'analyse en composantes multiple a conduit à la définition de nouvelles variables, en agrégeant les modalités de plusieurs variables de départ. La dernière étape du pré-traitement des données a été une ultime étape de regroupement de modalités, dans le but de résoudre le problème des déséquilibres de modalité. Le critère retenu est de considérer que tout effectif inférieur ou presque égal à 10 est insuffisant. Ces modalités sont alors fusionnées avec la modalité la plus proche de la même variable. Cela dit, pour une variable dichotomique ou une variable dont presque tous les niveaux sont sous-représentés, les regroupements sont difficiles. Aussi, dans certains cas, j'ai été amenée à abandonner certaines variables.

### 3.2.4. Typologie des pratiques

L'analyse catégorie par catégorie a permis d'aboutir à un jeu de données simplifié avec moins de variables par catégorie et moins de modalités par variable. J'ai utilisé ce nouveau jeu de données pour réaliser une analyse multivariée avec l'ensemble des catégories. Pour cela, j'ai utilisé la même démarche que décrite précédemment.

Tout d'abord, une analyse en composantes multiples est réalisée pour définir des nouvelles variables qui maximisent les différences entre les producteurs/années. La relation entre les variables de départ et les nouvelles variables est étudiée pour comprendre la nature des corrélations entre variables. Enfin une classification non supervisée des producteurs/années à l'aide de ces nouvelles variables est conduite pour définir des groupes d'individus qui se différencient pour un ensemble de pratiques.

Toutes les analyses ont été réalisées par les statisticiens de l'INRA du Moulon (Christine Dillmann, Judith Legrand et Antonin Labat) avec le logiciel R. Les packages tels que MASS ont été utilisés.

## 4. Résultats

Les analyses préliminaires ont été réalisées pour toutes les catégories de variables. Les données brutes sont représentées en Annexe 3. A titre d'exemple, les résultats suivants sont ceux de la catégorie « substrat ». Ensuite, une typologie des pratiques sera présentée.

### 4.1 Etablissement d'un jeu de données synthétiques pour la catégorie substrat

La catégorie « substrat » est donnée à titre d'exemple. Toutes les catégories ont eu la même analyse.

Au départ, dans cette catégorie, 12 variables ont été relevées (Figure 46) : l'épaisseur au niveau des pieds des lianes, le type de substrat, la présence de stockage de compost et la forme du compost etc...

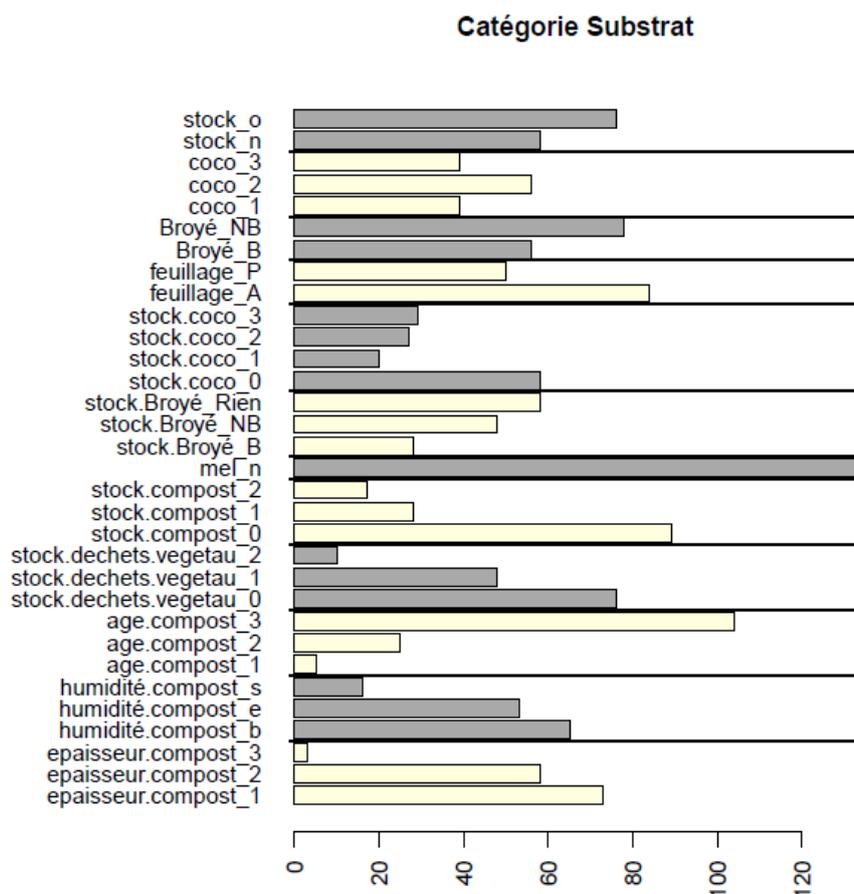


Figure 46 : Barplot des données brutes de la catégorie « substrat ». Douze variables composent cette catégorie. Pour chaque variable, la hauteur des barres donne le nombre d'observations (exploitation x année) dans chaque modalité.

Dans la figure 46, les classes sont à peu près équilibrées sauf pour la variable « age.compost », « stock.dechets.vegetaux » et « melange ». De ce fait, une première étape a consisté à regrouper les classes avant analyse.

Pour certaines variables tels que « coco », « stock.coco » il y a déjà eu un premier traitement. Sur le questionnaire, il s'agissait de pourcentages. Pour simplifier, un code a été choisi pour savoir si le coco était plus utilisé que le bois.

#### 4.1.1. Analyse multivariée

Dans un premier temps, le nombre d'axes à prendre en compte dans l'analyse a été choisi graphiquement à partir de l'histogramme de l'inertie des différents axes issus de l'ACM (Figure 47).

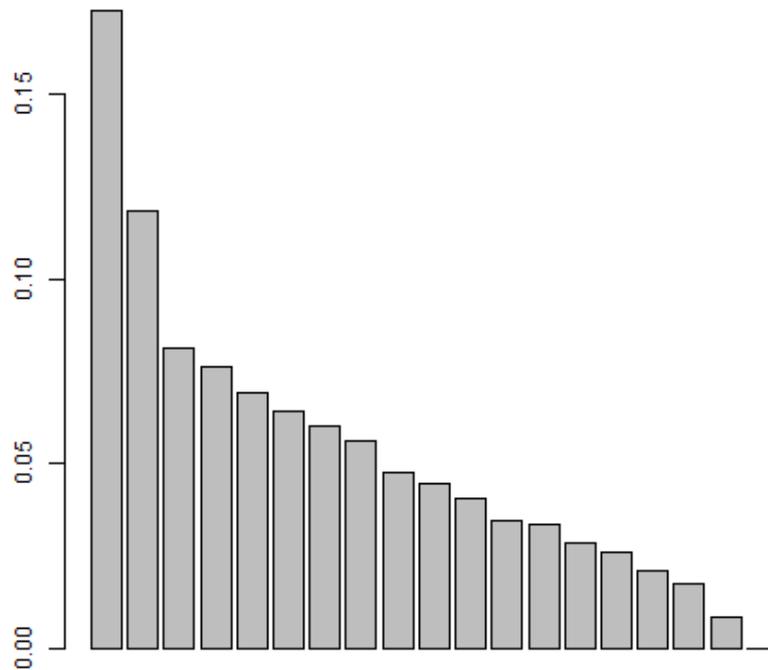


Figure 47: Inertie portée par chacun des axes issus de l'ACM. En abscisse, est représentée la valeur propre des axes rangés de manière décroissante. En ordonnée, est représenté le pourcentage d'inertie expliqué

Au vu de ce graphique, il a été décidé de ne conserver que les deux premiers axes qui correspondent à 31 % de l'inertie totale du nuage de points (axe 1:17% et axe 2:14%).

Les modalités de chacune des variables peuvent être représentées sur les deux axes principaux retenus (Figure 48).

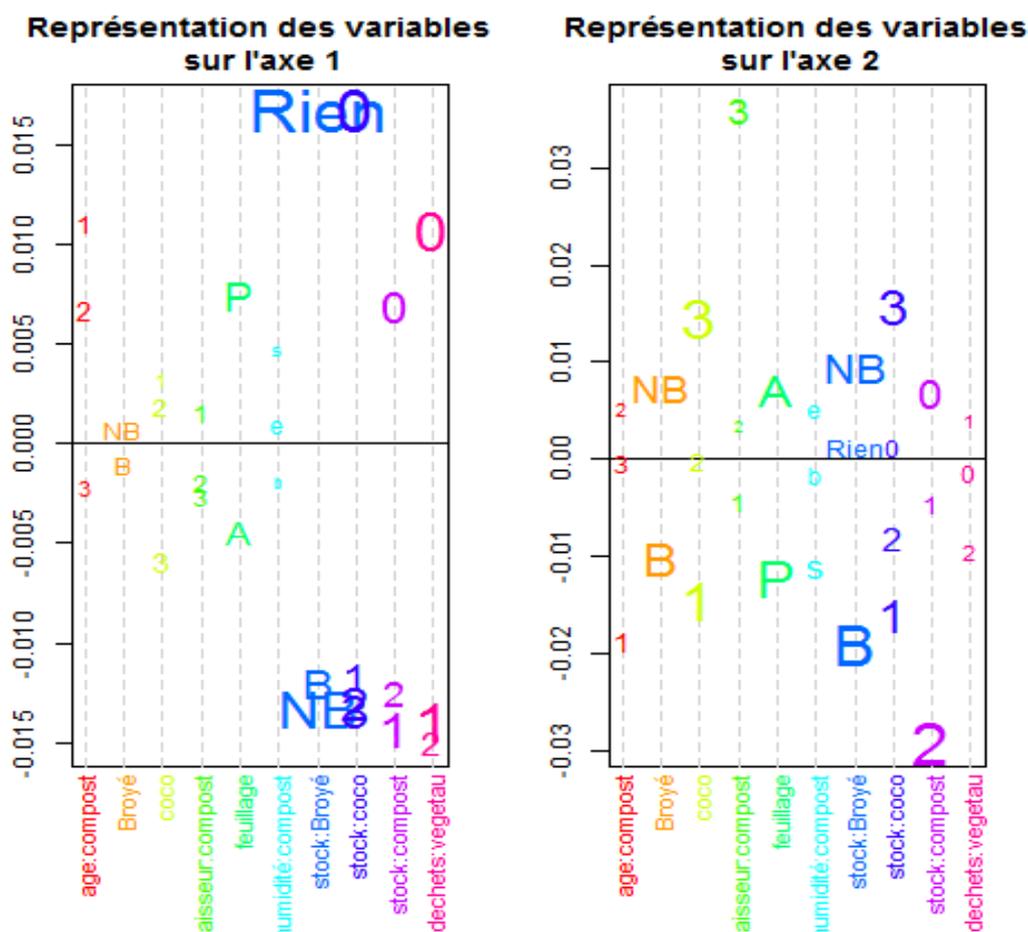


Figure 48: Représentation des variables sur les 2 axes principaux de l'ACM. En abscisse, les différentes variables de la catégorie substrat. En ordonnée, la coordonnée de chaque modalité sur l'axe correspondant de l'ACM. Pour chaque modalité, la taille des caractères traduit la contribution de celle-ci à la construction de l'axe considéré. Plus les caractères sont gros, plus la modalité est contributive.

Sur le premier axe de l'ACM une opposition des modalités est notée pour la variable stock broyé : entre en bas Broyé et Non Broyé et en haut Rien. De plus, ces modalités contribuent fortement à l'axe. Pour les 3 autres variables de stock, en haut est mentionné « absence de stock » et en bas « présence de stock », sans réelle différenciation entre les niveaux de présence des stocks. De plus, les modalités des différentes variables de stocks contribuent très fortement à cet axe. Il y a aussi opposition importante des 2 niveaux de feuillage, « Présent » et « Absent ». Il existe un gradient des modalités pour la variable coco avec, de bas en haut, d'un côté les niveaux 3 et de l'autre les niveaux 2 et 1. De même, il y a un gradient des modalités pour « âge substrat » avec, de haut en bas, d'un côté les niveaux 1 et 2 et de l'autre le niveau 3. Une opposition pour l'humidité du substrat est observable: en haut les mauvaises

conditions d'humidités (sec et excès) et en bas le niveau d'humidité correct. Enfin, une opposition des modalités est repérable pour « épaisseur substrat » avec, en haut, le niveau 1 et, en bas, les niveaux 2 et 3 qui sont très proches.

Finalement se retrouveront plutôt associés à des valeurs positives sur l'axe 1 de l'ACM les substrats peu épais, d'âge 1 et 2, constitués de matière non broyée, de feuillage et de pas ou peu de coco, présentant de mauvaises conditions d'humidité. Pour ces substrats, il n'existe pas de stockage du substrat et de ces composantes. Se retrouveront plutôt associés à des valeurs négatives sur l'axe 1 de l'ACM, les substrats épais à très épais constitués de bois broyé et de coco, mais sans feuillage. Pour ces substrats j'ai noté un stockage du substrat et de ces composantes.

Sur le deuxième axe de l'ACM une opposition pour la variable stock broyé des deux modalités est identifiée, en bas « Broyé » et en haut « Non Broyé ». La modalité « Rien » est presque à 0. La même opposition existe (Broyé/Non Broyé) pour la variable « broyé ». Il y a également un gradient des modalités pour la variable stock substrat avec en haut le niveau 0 et en bas les niveaux 1 puis 2. De même, il y a un gradient des modalités pour la variable coco. Le niveau 3 est positif, le niveau 2 presque nul (et avec une très faible contribution), et le niveau 1 est négatif. Il existe, pour la variable feuillage, une opposition des deux modalités, en haut « absence » et en bas « présence ». Pour l'âge du substrat une opposition des modalités différencie bien les niveaux 1 (en bas) et 2 (en haut) et un niveau 3 légèrement négatif (i.e du côté de 1). Enfin, un gradient des modalités pour l'humidité du substrat à noter. Cela dit, ces modalités ne sont pas parmi les plus contributives à cet axe. Finalement, il y a en bas les producteurs utilisant un substrat broyé avec peu de coco et du feuillage et à l'inverse en haut les producteurs avec un substrat non broyé et constitué essentiellement de coco.

L'axe 1 différencie les producteurs selon la présence de stock de compost ou non. L'axe 2 différencie les producteurs selon le type de stock, avec d'un côté les producteurs utilisant du feuillage, peu de coco, et des matières broyées, et de l'autre les producteurs utilisant surtout du coco, avec une bonne épaisseur de compost et la présence de stock.

Par la suite, j'ai considéré la projection des individus sur les axes 1 et 2 de l'ACM et recherché le nombre de groupes différents par la méthode des K-means. Le critère choisi est, pour un nombre de groupes donné, le rapport entre variance intra-groupe et variance totale. Le choix du nombre optimal de groupes se fait graphiquement, en utilisant le critère du

« coude ».

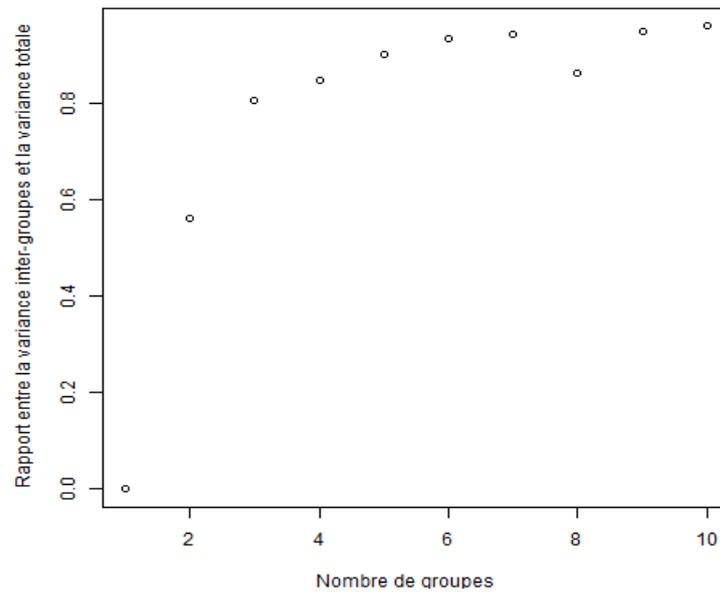


Figure 49: Rapport entre la variance intergroupe et la variance totale en fonction du nombre de groupes

Sur la figure 49, au-delà de 3 groupes, le ratio n'augmente plus beaucoup. En retenant trois groupes, 80 % de la variance totale est expliquée par la variance intergroupe. J'ai donc décidé que le nombre optimal de groupes différents pour la catégorie substrat est de trois groupes.

La figure 50 représente le nuage des individus dans le plan formé par les deux axes retenus, en identifiant le groupe d'appartenance pour chaque exploitant/année.

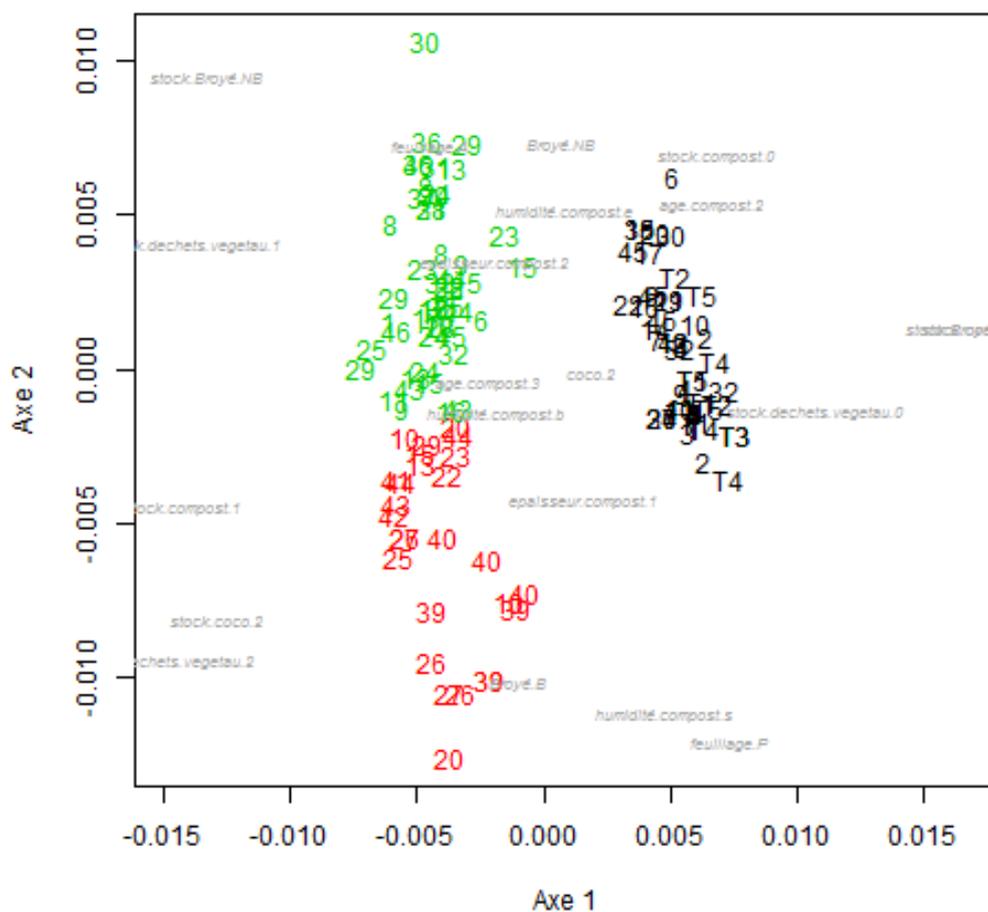


Figure 50 : Représentation des individus sur les 2 axes les plus significatifs de l'ACM. Les chiffres correspondent à un numéro attribué à chaque exploitant. Lorsque le chiffre est précédé de la lettre « T », il s'agit d'une exploitation traditionnelle. Le code couleur des producteurs est fait en fonction des groupes établis par la méthode du k-means.

Le groupe noir est constitué des producteurs avec des valeurs positivement corrélées à l'axe 1, c'est à dire les producteurs qui n'ont pas de stock pour leur substrat. Le groupe vert est constitué des producteurs avec des valeurs négatives sur l'axe 1 mais positives sur l'axe 2. Ils utilisent un substrat de matière non broyée, essentiellement de la coco. Le groupe rouge est constitué des producteurs avec des valeurs négatives sur l'axe 1 et 2. Ces producteurs utilisent de préférence un substrat broyé avec du feuillage et peu de coco.

Il est constaté une très forte redondance entre les 4 variables de stock (Fig 48) qui peuvent être regroupées en une seule, représentant la présence ou l'absence de stock.

- Serons donc conservées 7 variables dans cette catégorie (contre 11 initialement) :
  - o épaisseur substrat, variable à 3 niveaux : 1(les moins épais), 2 et 3 (les plus

- épais) ;
- humidité substrat, variable à 3 niveaux : b (=bonne), e (=excès) et s (=sec) ;
  - âge substrat, variable à 3 niveaux : 1 (=les plus jeunes), 2 et 3 (=les plus vieux) ;
  - feuillage, variable à 2 niveaux : A (=absence) et P (=présence) ;
  - broyé, variable à 2 niveaux : B (=broyé) et NB (=non broyé) ;
  - coco, variable à 3 niveaux : 1 (presque pas de coco) ,2 ,3 (presque que de la coco)
  - stock, nouvelle variable à 2 niveaux : oui et non. Cette variable reprend les 4 variables de stock elle vaut non s'il n'y a aucun stock sur l'exploitation et oui s'il y en a au moins 1.

#### **4.1.2. Regroupements et suppressions de modalités**

A partir du nouveau jeu de donnée, j'ai analysé les effectifs dans chaque modalité pour chaque nouvelle variable (Figure 51).

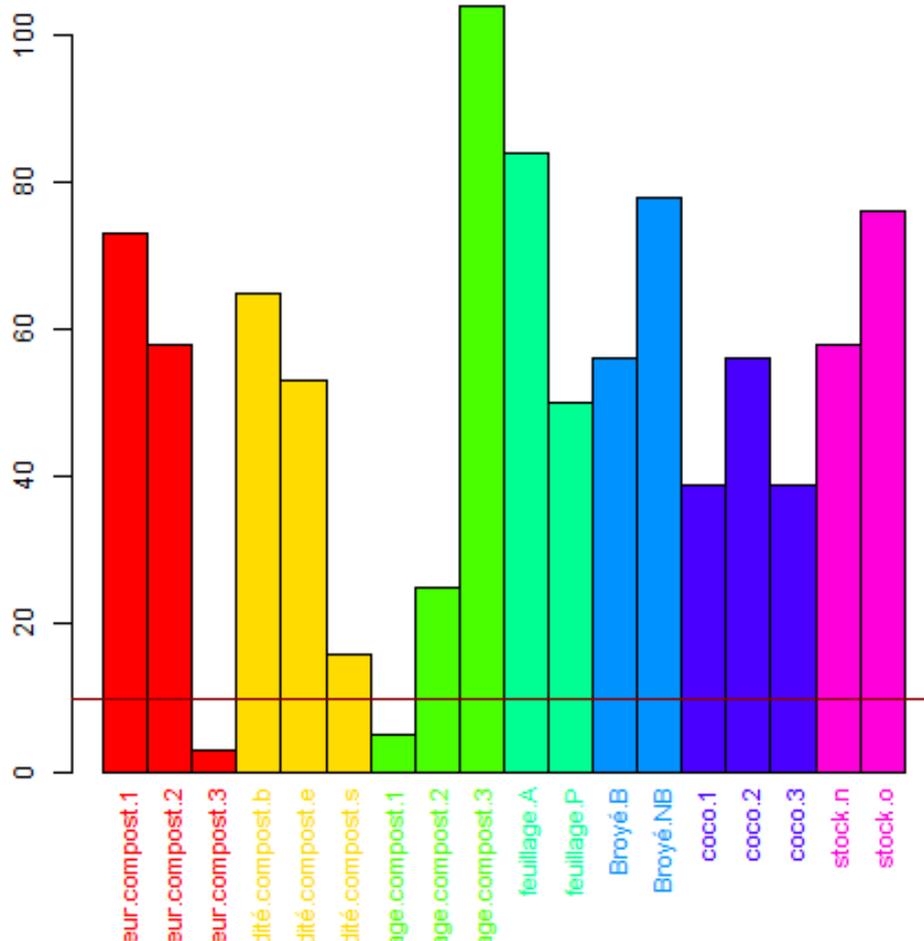


Figure 51: Nombre d'occurrences des modalités des variables de la catégorie substrat

La variable épaisseur du compost (couleur rouge) possède trois modalités:1, 2, 3, avec seulement trois individus présentant la modalité 3. Cette modalité a été fusionnée avec la modalité 2.

Pour la variable âge du substrat (couleur verte), qui possède 3 modalités:1, 2, 3, il y a seulement cinq individus présentant la modalité 1. Il est choisi de fusionner les niveaux 1 et 2. Pour les autres variables, les modalités ont des effectifs supérieurs à 10. Pour cette catégorie « substrat », j'ai retenu 7 nouvelles variables ayant chacune deux à trois modalités.

Au final, la catégorie substrat se compose de 7 variables, au lieu de 11 au départ, avec 2 modalités sauf pour la variable coco qui a 3 modalités (Figure 52).

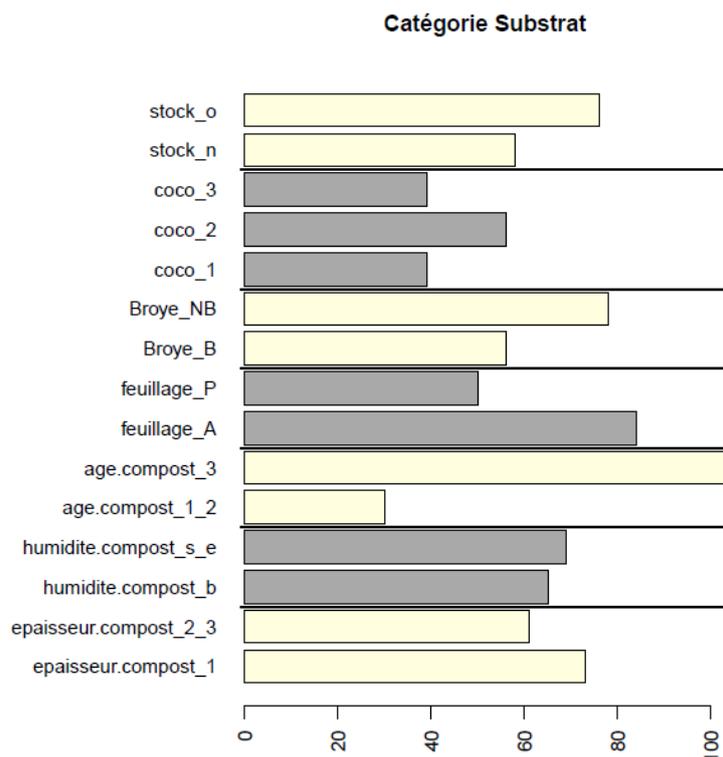


Figure 52: Résultats de l'analyse des variables de la catégorie « substrat ». Pour chaque variable, la hauteur des barres donne le nombre d'observations (exploitation x année) dans chaque modalité

### 4.1.3 Conclusion de la recherche de nouvelles variables synthétiques

#### 4.1.3.1. Catégorie information générale

Au départ, la catégorie générale est composée de neuf variables (Figure 53, gauche). Au final, seules cinq variables ont été retenues pour la suite de l'analyse (Figure 53, droite). Les variables telles que la présence lors de la visite, la catégorie d'âge, l'année de plantation et le type de parcelle n'ont pas été retenues car les effectifs étaient déséquilibrés.

Du fait du déséquilibre d'effectif pour la variable « classurf », il a été décidé de fusionner les ombrières de surface moyenne et petites en une seule modalité « classurf\_petit\_moyen » et de fusionner les ombrières de grande surface avec les traditionnelles car elles ont, elles aussi, une grande surface 1000m<sup>2</sup> au minimum. Les niveaux de pente 2 et 3 sont également fusionnés.

J'ai décidé de conserver l'ensemble des modalités de la variable « variété », même si la modalité « tahiti » possède un très faible effectif. Celle-ci n'a pas été fusionnée avec une autre modalité car elle a un sens. Il existe très peu, voir quasi pas, de parcelles qui ne cultivent que

la variété « tahiti ». Les producteurs préfèrent planter la variété « haapape » ou un mélange des variétés « tahiti » et « haapape » (parcelles mixtes).

Pour ce qui concerne le climat, il est le plus souvent humide, au sein ou à l'extérieur de la parcelle. Les autres modalités n'étant pas ordonnées les unes par rapport aux autres, il était difficile de faire des regroupements. Il a donc été décidé de conserver l'ensemble des modalités de la variable « climat », au sein de la parcelle ou à l'extérieur de la parcelle.

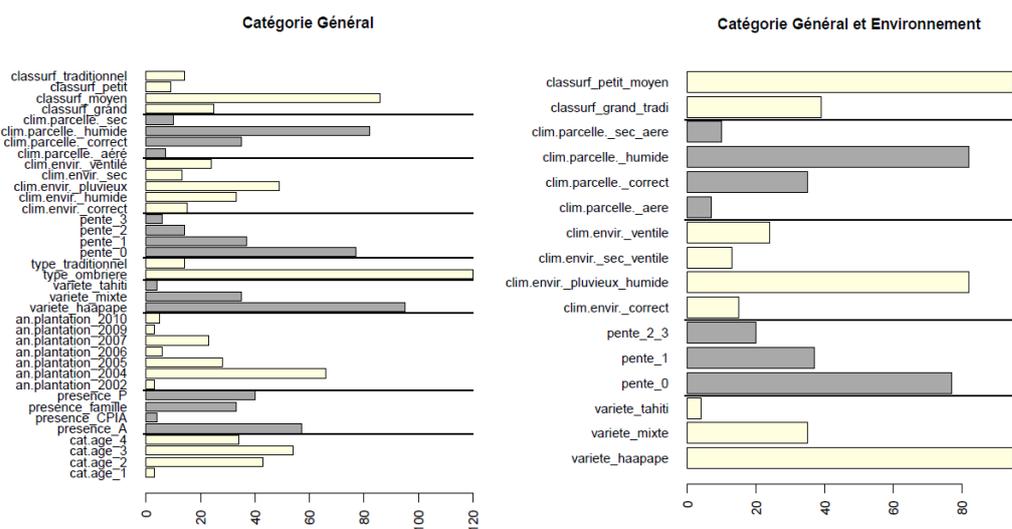


Figure 53: Barplot des modalités de chaque variable de la catégorie générale. Pour chaque variable, la hauteur des barres donne le nombre d'observations (exploitation x année) dans chaque modalité

#### 4.1.3.2. Catégorie techniques culturales

Au départ, la catégorie technique culturelle était composée de 18 variables (Figure 54.A). Au final, 11 variables sont conservées pour la suite de l'analyse (Figure 54.B). Les variables telles que le désherbage extérieur et le type de désherbage effectué ne sont pas retenues car une seule des deux modalités domine pour chaque variable. En effet, les producteurs respectent pour la plupart les 3 mètres de désherbage autour de la parcelle. Lorsqu'ils le font, il s'agit de désherbage principalement mécanique. La variable « pincement » n'est pas conservée car cette technique est pratiquée par la plupart des exploitants. Les variables « bouclage » dans le compost et bouclage sur le tuteur ont été fusionnées pour former la variable « bouclage » avec deux modalités, « correct » et « mauvais ». Pour la variable « mariage », les modalités 1 et 2 ont été fusionnées. Enfin, les variables « toile insect proof »

« ouverte ou fermée » et « porte ouverte ou fermée » sont fusionnées dans la variable « typeenv ».

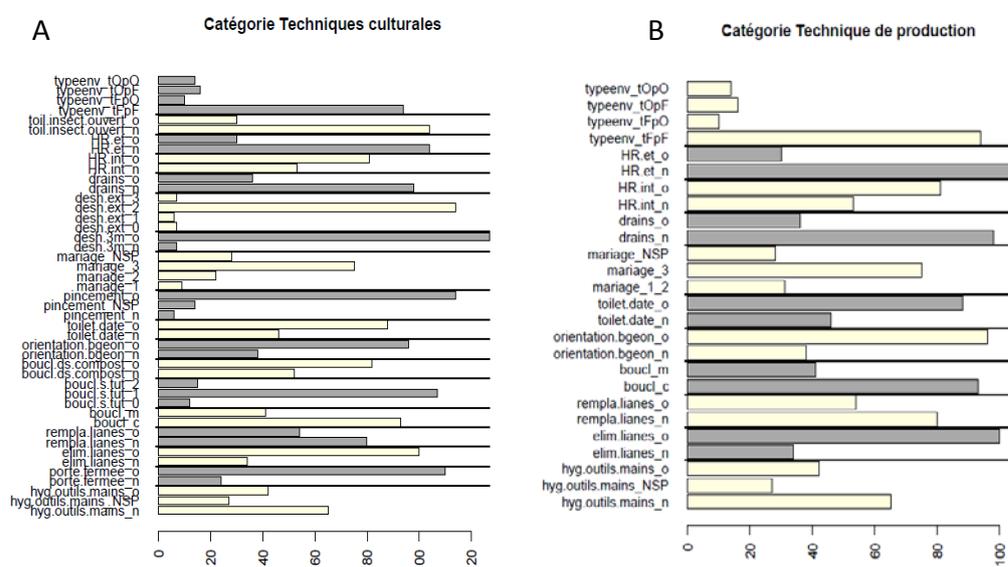


Figure 54: Barplot des modalités de chaque variable de la catégorie « techniques culturelles ». Pour chaque variable, la hauteur des barres donne le nombre d'observations (exploitation x année) dans chaque modalité.

#### 4.1.3.3. Catégorie Intrants

Au départ, la catégorie « Intrant » est composée de 4 variables (utilisation de pesticides, d'engrais, le type d'insecticide et le type de fongicide) (Figure 55.A) avec au minimum deux modalités (oui ou non pour l'utilisation de pesticides) et au maximum quatre modalités (NSP, non, chimique ou bouillie pour les variables insecticide et fongicide). J'ai souhaité préciser le type de traitement, en différenciant les parcelles traitées uniquement avec des produits chimiques, celles traitées uniquement avec des produits biologiques, et celles pratiquant un mélange des deux types de traitement (Figure 55.B).

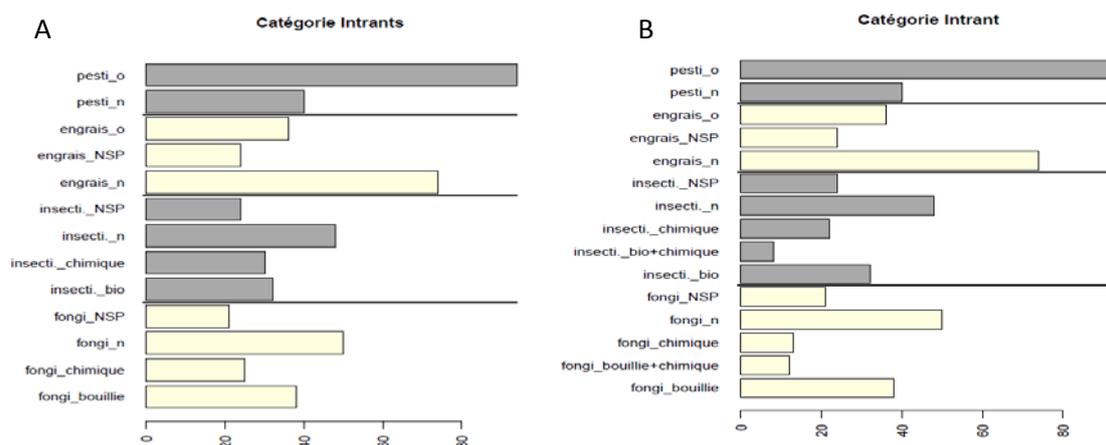


Figure 55: Barplot des modalités de chaque variable de la catégorie Intrants. A: les 4 variables de départ. B: les 4 variables conservées pour l'analyse. Pour chaque variable, la hauteur des barres donne le nombre d'observations (exploitation x année) dans chaque modalité.

Ces résultats montrent que les producteurs qui utilisent des pesticides sont plus nombreux que ceux qui n'en utilisent pas. Par contre, il y a une majorité d'exploitants qui n'utilisent pas de fongicides ou pas d'insecticides. Il peut donc en être conclu que la plupart des exploitants utilisent soit un insecticide, soit un pesticide, mais plus rarement les deux. De plus, il y a plus de producteurs qui n'utilisent pas d'engrais.

Le groupe de producteurs qui utilisent les insecticides « bio » sont un peu plus nombreux que le groupe de producteurs qui utilisent les insecticides chimiques. Le groupe de producteurs qui alternent les insecticides « bio » et chimiques forment un plus petit groupe.

Le groupe de producteurs qui utilisent de la bouillie bordelaise sont plus nombreux que ceux qui utilisent du chimique ou qui alternent les 2.

Sur les 134 parcelles visitées, 20 exploitants n'ont pas répondu aux questions sur l'utilisation d'intrants. Ces exploitants étaient absents, et aucun élément d'information n'était disponible dans la parcelle.

En conclusion, ce sont **27 nouvelles variables qualitatives** synthétiques réparties sur 4 catégories (5 pour la catégorie générale « environnement » ; 11 pour la catégorie « technique culturale » ; 4 variables pour la catégorie « Intran » et 7 variables pour la catégorie « substrat ») qui composent le jeu de données pour l'analyse multivariée. Seize variables qualitatives ont été éliminées. Au total, il reste 72 modalités différentes. La plupart des

variables ne comprennent que deux ou trois modalités. Seule la catégorie « intrants » (Figure 55) comporte des variables avec 5 modalités. Il s'agit des variables décrivant le type d'insecticide et de fongicide utilisé. Ces modalités ont été conservées car elles étaient toutes discriminantes lors de l'analyse de cette catégorie.

Les données comprennent 134 observations qui correspondent à 51 exploitations.

## 5. Étude multivariée sur l'ensemble des pratiques

Une Analyse en Composantes Multiples a été réalisée en suivant la même stratégie que pour l'étude catégorie par catégorie.

La figure 56 représente les observations et les variables sur les deux premiers axes de l'ACM, qui représentent 21 % de l'inertie totale (axe1 : 12 %, axe 2 :9%). Il existe clairement 5 groupes de modalités (Figure 56). Le premier groupe de modalités correspond à toutes les modalités NSP, avec des coordonnées négatives sur l'axe1. En l'absence de l'exploitant lors des visites, il était impossible de se prononcer sur l'usage de pesticides ou d'engrais, les pratiques d'hygiène des outils et de mains, et les pratiques de mariage des fleurs. Il y a toujours, aussi, des coordonnées négatives sur l'axe 1, un ensemble de mauvaises pratiques comme l'absence d'élimination des lianes, de toilettage, d'orientation du bourgeon, et un mauvais bouclage. A noter que ces pratiques sont associées à une forte humidité relative à l'extérieur de la parcelle. Les autres modalités ont des coordonnées positives sur l'axe 1, mais se distinguent par leurs coordonnées sur l'axe 2 de l'ACM (Figure 57 et 58). Le troisième groupe de modalités correspond aux grandes exploitations de type traditionnel, sans toile « insect-proof » ou avec la toile ouverte, situées plutôt sur une pente. Associé à ces modalités, il existe un environnement plutôt ventilé, une absence de stock de substrat et présence de feuillage dans le substrat (Figure 58). Le quatrième groupe de modalités correspond à toutes les bonnes pratiques de techniques culturales, avec des coordonnées légèrement positives sur l'axe 1 et des coordonnées nulles sur l'axe 2 (Figures 58). Enfin, le cinquième groupe correspond aux exploitations de surface moyenne ou petite, de type ombrière. Cette modalité est associée à un environnement plutôt humide, l'usage d'engrais, d'insecticides et de fongicides, et la présence de stock de substrat (Figure 58). Ce groupe de modalités a des coordonnées négatives sur l'axe 2 de l'ACM (Figure 58).

Pour mieux comprendre les contributions des variables aux axes, celle-ci sont également

représentées sur la figure 57 pour l'axe 1 de l'ACM, et sur la figure 58 pour l'axe 2.

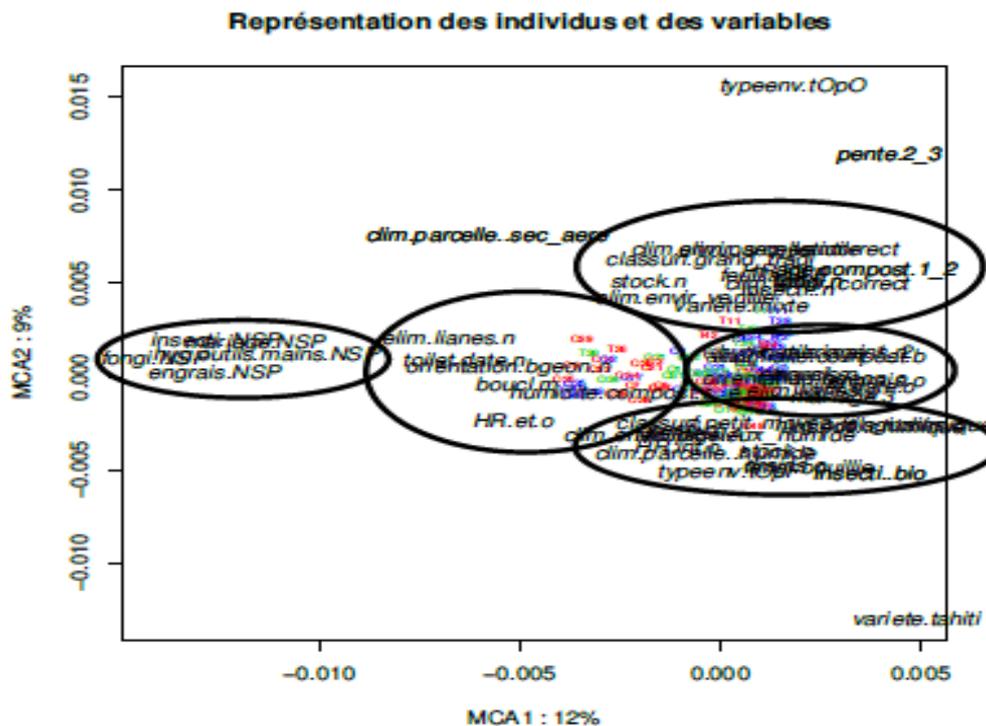


Figure 56 : Représentation des variables et des observations sur les deux premiers axes de l'analyse en composantes multiples. Les producteurs sont identifiés par le code de l'exploitation, avec une couleur représentant l'année d'observation (noir=2010, rouge=2011, vert=2012, bleu=2013). Les modalités de chaque variable sont représentées en italique.

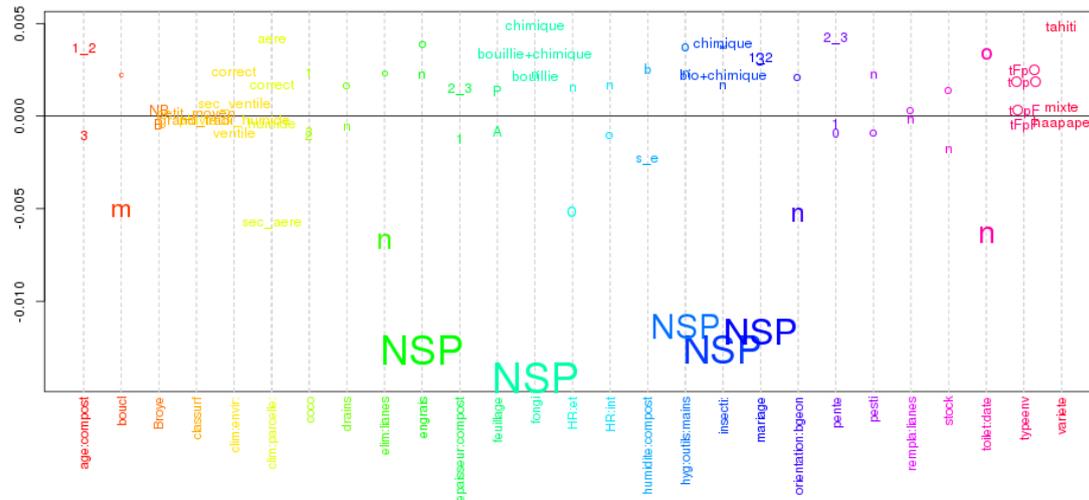


Figure 57: Contribution des variables à l'axe 1 de l'ACM. Les 27 variables synthétiques sont représentées en abscisse, dans l'ordre alphabétique. Pour chaque variable, la position de chacune de ses modalités sur l'axe 1 est en ordonnée. La taille des caractères utilisés pour représenter la modalité est proportionnelle à la contribution de la modalité à l'axe de l'ACM. Par exemple, pour la variable « engrais » (en vert), la modalité « NSP » contribue fortement à l'axe 1 et est associée à des valeurs négatives sur cet axe. Les modalités « o » et « n » sont associées à des valeurs positives, mais contribuent peu à l'axe. Les exploitations ayant une valeur négative sur l'axe 1 de l'ACM sont associées à la réponse « NSP » pour la variable « engrais ».

Sur le premier axe de l'ACM sont mentionnées en bas les 5 modalités NSP. Ceci n'est pas surprenant au vu de la nature des données manquantes, qui correspond aux producteurs absents ou à un agent sanitaire qui ne pouvait pas disposer de toutes les informations. Ainsi pour les variables engrais, fongicides, insecticides, hygiène et nombre de mariages l'axe 1 oppose les NSP aux autres modalités. De plus, les NSP ont beaucoup contribué à la construction de cet axe. Pour la variable de toilette, le « non » se trouve en bas avec une assez forte contribution, et en haut le « oui ». Il y a une opposition pour la variable élimination des lianes, entre, en bas le « non », qui contribue fortement, et en haut le « oui » avec une très faible contribution. Pour la variable de bouclage, il y a une opposition entre en bas ceux qui bouclent mal et en haut ceux bouclent bien. Ainsi les modalités associées à de mauvaises pratiques contribuent fortement à l'axe. Une opposition existe entre les deux modalités d'orientation des bourgeons. En bas le « non » contribue assez fortement et en haut le « oui » ne contribue pas beaucoup. De même, j'ai observé une opposition pour l'humidité extérieure. En bas sont référencées les mauvaises conditions d'humidité, avec une contribution non négligeable, et en haut l'humidité bonne. Finalement, cet axe oppose donc les exploitants



« présence de feuillage » contribue de manière assez importante à la construction de l'axe. Il y a une opposition pour les classes de surface entre « grand\_tradi », en haut, et « petit\_moyen », en bas. La modalité « grand\_tradi » a contribué à la construction de l'axe. Finalement sur cet axe s'opposent, en haut, les cultures traditionnelles de « pente 2\_3 » ayant un climat de parcelle non humide, sans humidité relative intérieure, qui n'utilisent pas de pesticide, qui ne font pas de stock pour leurs substrats et qui y mettent du feuillage.

La représentation des individus sur les axes 1 et 2 de l'ACM (Figure 59) montre un nuage de point. Celui-ci ne génère pas de structuration apparente en fonction des années d'observations. L'ensemble indique l'existence d'un continuum de pratiques. La technique des k-means a été utilisée pour faire apparaître des groupes de producteurs-années partageant des pratiques communes. Le meilleur classement est obtenu avec trois groupes. Avec ce classement, la variance inter-groupes représente 73 % de variance totale. La Figure 59 représente l'affectation des observations à ces trois groupes, sur les deux premiers axes de l'ACM.

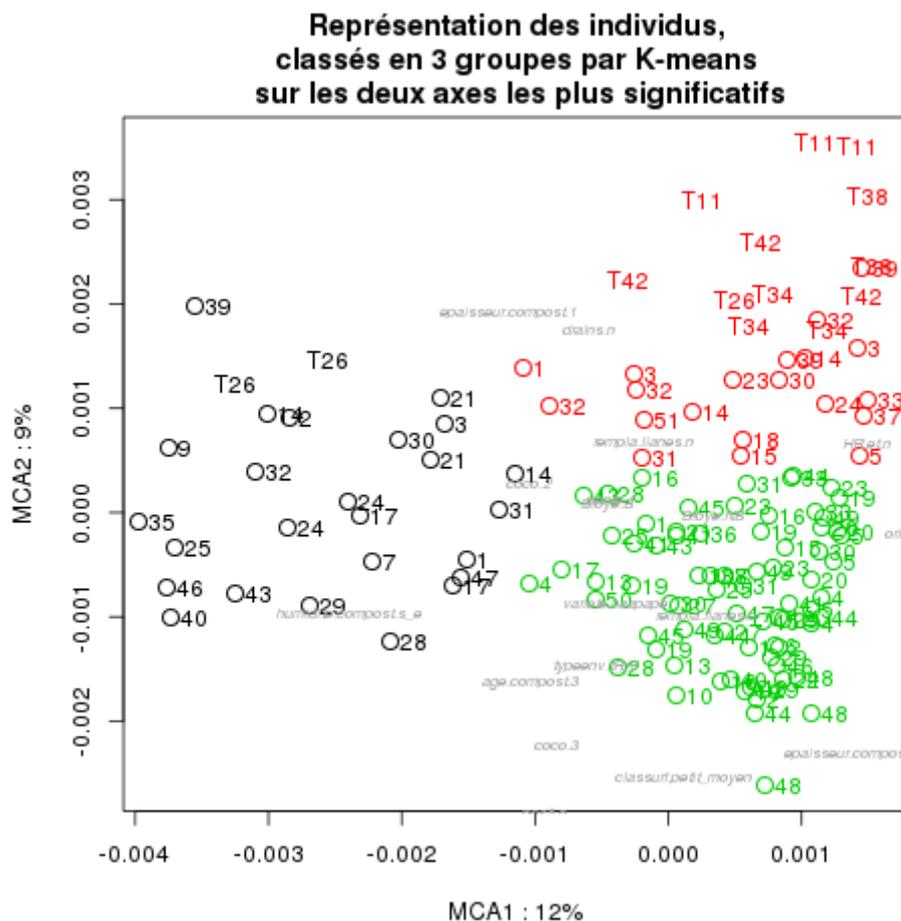


Figure 59: Représentation de l'affectation des parcelles dans les trois groupes de pratiques sur les axes 1 et 2 de l'Analyse en Composantes Multiples. Les parcelles sont représentées par leur code (« O » pour ombrière et « T » pour culture traditionnelle). Les couleurs représentent les groupes de pratique. Noir = NSP, vert = omb, rouge= tradi.

Les trois groupes se séparent selon leurs coordonnées sur les deux premiers axes de l'ACM. Le premier groupe (en noir sur la Figure 59) a des coordonnées négatives sur l'axe 1. Le second groupe (en vert sur la Figure 59) a des coordonnées positives sur l'axe 1 et négatives sur l'axe 2. Le troisième groupe (en rouge sur la Figure 59) a des coordonnées positives sur les deux axes et rassemble surtout des exploitations traditionnelles.

En se basant sur l'interprétation des axes, il est donc possible de réaliser une typologie des pratiques et de différencier trois groupes d'exploitations-années :

- **NSP** : ce groupe correspond aux parcelles pour lesquelles l'exploitant était absent lors des visites, et/ou qui se caractérise par un ensemble de mauvaises pratiques pour la technique de production : absence de toilettage, d'orientation du bourgeon, d'élimination des lianes,

mauvais bouclage des lianes. Le climat de la parcelle est plutôt de type « sec-aéré », mais avec une humidité relative importante au pied des lianes. Il semble que les producteurs ne fassent que passer dans ce groupe une année donnée. Il est difficile de dire qu'elle est la cause de ces "négligences" passagères. Les parcelles de ce groupe ont des coordonnées négatives sur l'axe 1 de l'ACM.

- **OMB** : ce groupe correspond aux exploitations de type ombrière de petite surface avec de bonnes pratiques pour les techniques culturales (toiletage, orientation du bourgeon, élimination des lianes, bouclage) et une tendance à avoir la toile ouverte. L'environnement est plutôt humide et la pente est faible. Les producteurs de ce groupe utilisent un substrat plutôt épais, et possèdent un stock de substrat. Enfin, ils font usage d'engrais, d'insecticides et de fongicides. Les producteurs qui cultivent encore la variété « tahiti » font partie de ce groupe. Ce groupe OMB regroupe la majorité des producteurs sous ombrière qui ont répondu au questionnaire et qui n'ont pas particulièrement de mauvaises pratiques. Les parcelles de ce groupe ont des coordonnées positives sur l'axe 1 de l'ACM et négatives sur l'axe 2 de l'ACM.

- **TRADI** : ce groupe correspond aux grandes exploitations de type traditionnel, situées plutôt sur des pentes, avec de bonnes pratiques pour les techniques culturales. L'environnement est plutôt ventilé et sec à l'intérieur des parcelles. Les producteurs de ce groupe n'utilisent pas d'engrais, ni de fongicides ou d'insecticides. Ils n'ont pas de stock de substrat et utilisent plutôt du feuillage que du coco. Le substrat est plutôt jeune. Les producteurs de ce groupe ont des coordonnées positives au niveau des axes 1 et 2 de l'ACM.

Pour mieux saisir la situation, il faut analyser les fréquences des modalités qui semblent caractériser ces groupes. Il s'agit de variables ayant fortement contribué à la construction des axes de l'ACM. C'est ce que montre la figure 60. Sur celle-ci, j'ai noté : groupe n° 1 pour le groupe TRAD, groupe n° 2 pour le groupe OMB et groupe n° 3 pour NSP.

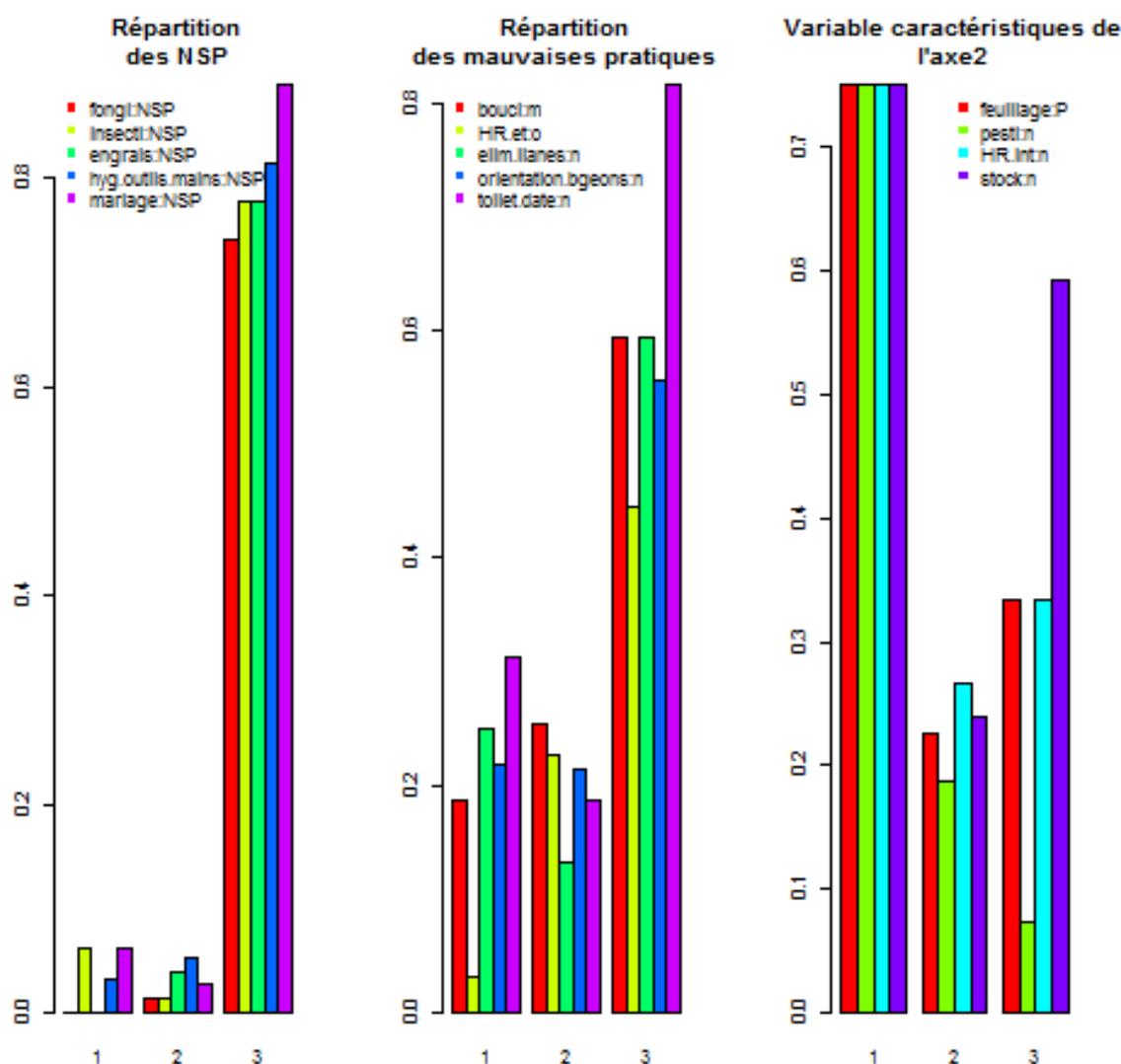


Figure 60: Fréquence d'observations des modalités caractéristiques des groupes de pratiques 1=TRAD, 2=OMB, 3=NSP

Ici, sur le premier graphique le présente la répartition des différentes modalités NSP dans les 3 groupes. Le groupe 3 (NSP) est fortement caractérisé par les variables NSP. Sur le second graphique, la répartition des modalités correspondant à de mauvaises pratiques est illustrée avec, encore une fois, un excès de mauvaises pratiques pour le groupe NSP. Le groupe 3 est caractérisé aussi par les mauvaises pratiques. Enfin sur le troisième graphique, la répartition des modalités ayant fortement contribué à la construction de l'axe 2 de l'ACM est présentée. Ces modalités caractérisent le groupe TRAD. Il existe tout de même des producteurs sous ombrières qui utilisent des pratiques proches de celles-ci. Ce groupe est caractérisé par la présence de feuillage dans le compost, l'absence de stock de compost et d'utilisation de pesticides et une exploitation qui n'est pas humide.

Il a ainsi été possible de définir trois grands groupes de pratiques qui différencient les parcelles selon l'utilisation d'intrants, de type de substrat et les techniques de production. A noter que les groupes de pratiques ne se superposent pas complètement aux types d'exploitations (Tableau 24).

Tableau 24: Répartition des exploitations selon leur type et leur groupe de pratique

Type d'exploitation	Groupe de pratique		
	NSP	OMB	TRADI
Ombrière	25	75	20
Traditionnel	2	0	12

Les 14 parcelles traditionnelles se retrouvent majoritairement dans le groupe TRADI, sauf 2 qui sont dans le groupe NSP. Ces deux parcelles correspondent à un même exploitant (T26) qui se trouve dans le groupe NSP en 2011 et 2012, puis dans le groupe TRADI en 2013. En regardant les données de l'enquête pour cet exploitant, j'ai constaté que ce changement correspondait à la présence de l'exploitant en 2013, mais aussi à une évolution des pratiques avec utilisation d'engrais et amélioration du remplacement et de l'élimination des lianes.

Les 120 parcelles de type « ombrière » se répartissent dans les trois groupes de pratiques. La majorité se retrouve dans le groupe OMB, mais 25 sont dans le groupe NSP et 20 dans le groupe TRADI. Il est tentant d'interpréter les ombrières du groupe TRADI comme des parcelles cultivées sans intrants, et les ombrières du groupe NSP comme des parcelles cultivées sans soins aux lianes. La figure 61 représente l'évolution des pratiques au cours des années pour les ombrières.

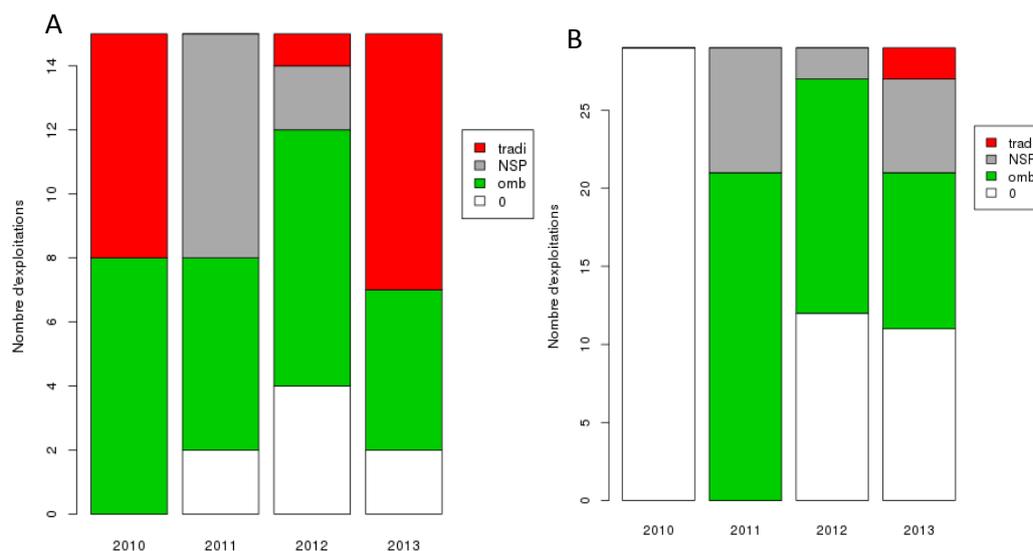


Figure 61: Répartition des ombrières dans les groupes de pratiques selon les années. A. Les 15 ombrières visitées à partir de 2010. B. Les 29 ombrières visitées à partir de 2011. Le groupe « 0 » correspond aux exploitations qui n'ont pas pu être visitées suite à un refus de l'exploitant. Les autres groupes de pratiques sont identifiés par un code couleur identique à celui de la figure 59.

J'ai constaté qu'en 2010, environ la moitié des ombrières visitées se retrouvaient dans le groupe TRADI. En 2011, deux producteurs ont refusé la visite, et les ombrières du groupe TRADI sont passées dans le groupe NSP. En 2012 et 2013, le nombre de parcelles du groupe NSP a diminué au profit des groupes TRADI et OMB. La même tendance a été notée pour les ombrières visitées à partir de 2011 : une forte proportion d'ombrières dans le groupe NSP en 2011, suivi d'une diminution en 2012 et 2013. Cette diminution s'est accompagnée de l'apparition de parcelles de type TRADI en 2013. Parmi les parcelles visitées, seules un tiers des exploitations environ sont attribuées de façon stable au groupe OMB.

Au final, j'ai distingué quatre types d'exploitations :

- les exploitations traditionnelles, qui restent relativement stables dans leurs pratiques et appartiennent au groupe TRADI, caractérisé à la fois par la surface (grande) et la localisation géographique (sur des pentes), et par l'absence d'utilisation d'intrants.
- les exploitations de type ombrières, qui pratiquent une agriculture de type intensive avec de l'apport de substrat au pied des lianes de type coco et l'utilisation d'intrants. Ces exploitations appartiennent de façon stable au groupe OMB et concernent environ 1/3 des ombrières visitées.

- les exploitations de type ombrières caractérisées par des pratiques fluctuantes en terme de soins aux lianes, de type de substrat et d'usage d'intrants. Ces exploitations sont plutôt dans la catégorie TRADI en 2010 (bonnes pratiques de soins mais peu d'intrants), et plutôt dans la catégorie NSP en 2011 (absence de l'exploitant lors des visites, mauvaises pratiques de soin), puis se répartissent entre les catégories NSP et TRADI en 2012 et 2013.
- les exploitations qui sont sorties de l'enquête par refus des visites.

## 6. Conclusion et discussion

L'objectif était de recenser les pratiques des producteurs de l'île de Raiatea, concernant les choix de substrat, les techniques d'entretien des lianes de vanille, l'utilisation des intrants, et également d'apprécier la situation climatique et environnementale. Après avoir synthétisé les données de l'enquête pour permettre le traitement statistique, j'ai pu aboutir à une typologie des pratiques. Bien qu'il y ait un certain continuum au sein des pratiques il a quand même été possible de caractériser 4 types de profils, présentés ci-dessus.

Cette typologie des pratiques est plutôt une typologie de l'absence de pratiques. En effet, les groupes qui ressortent de l'analyse sont caractérisés non pas par la qualité des soins apportés à la culture, mais par la présence ou l'absence de soins. Par exemple, j'ai différencié les producteurs qui n'utilisent pas d'insecticides des autres, car ils se caractérisent aussi par l'absence d'utilisation d'autres intrants et le choix du substrat au pied des lianes. Par contre, il a été difficile de différencier les producteurs, selon qu'ils utilisaient plutôt des insecticides chimiques ou biologiques. L'utilisation d'insecticides chimiques plutôt que biologiques n'est associée à aucune autre pratique.

L'augmentation de parcelles dans la catégorie NSP en 2011 est associée à une diminution de la prévalence de la fusariose, cette même année (chapitre 1). Deux interprétations sont possibles. D'une part, il est possible que l'intensité des soins soit proportionnelle à l'intensité des maladies. En l'absence de symptômes, les producteurs n'ont peut-être pas jugé utile d'apporter des soins à leur culture, cette année-là. L'autre explication est que les soins augmentent la prévalence des maladies fongiques, peut-être en augmentant les possibilités de diffusion des pathogènes par contact.

L'impression générale est tout de même une augmentation du désintéressement des agriculteurs pour leur exploitation. Difficile à partir de cette enquête de savoir si la pression pathogène en est la cause ou la conséquence.

J'ai cependant retenu la variabilité importante des pratiques au fil des ans. Cela montre que le producteur n'arrive pas à maintenir une conduite pour sa culture de vanille soit parce que les ressources ne lui permettent pas, soit à cause des aléas climatiques ou soit parce qu'il est dépassé par les travaux dont la culture de la vanille a besoin.

Les perspectives de ce travail, à moyen terme, seront de tenter de relier les pratiques avec l'état sanitaire des exploitations.

Culture sous ombrière



## Chapitre 3

# Chapitre 3 : Identification du pathogène responsable du dépérissement racinaire

## 1. Introduction

Le chapitre 1 a permis de montrer que (Figure 62) :

- les symptômes de dépérissement racinaire et du bas de la tige étaient, de loin, les plus importants par rapport aux autres typologies de symptômes analysées dans les vanilleraies de Raiatea ;
- ces symptômes étaient déjà présents au début de l'étude en 2010, mais à des niveaux variables selon les exploitations ;
- ces symptômes sont devenus généralisés et avec une incidence très forte quels que soient les lieux de production sur l'île de Raiatea ;

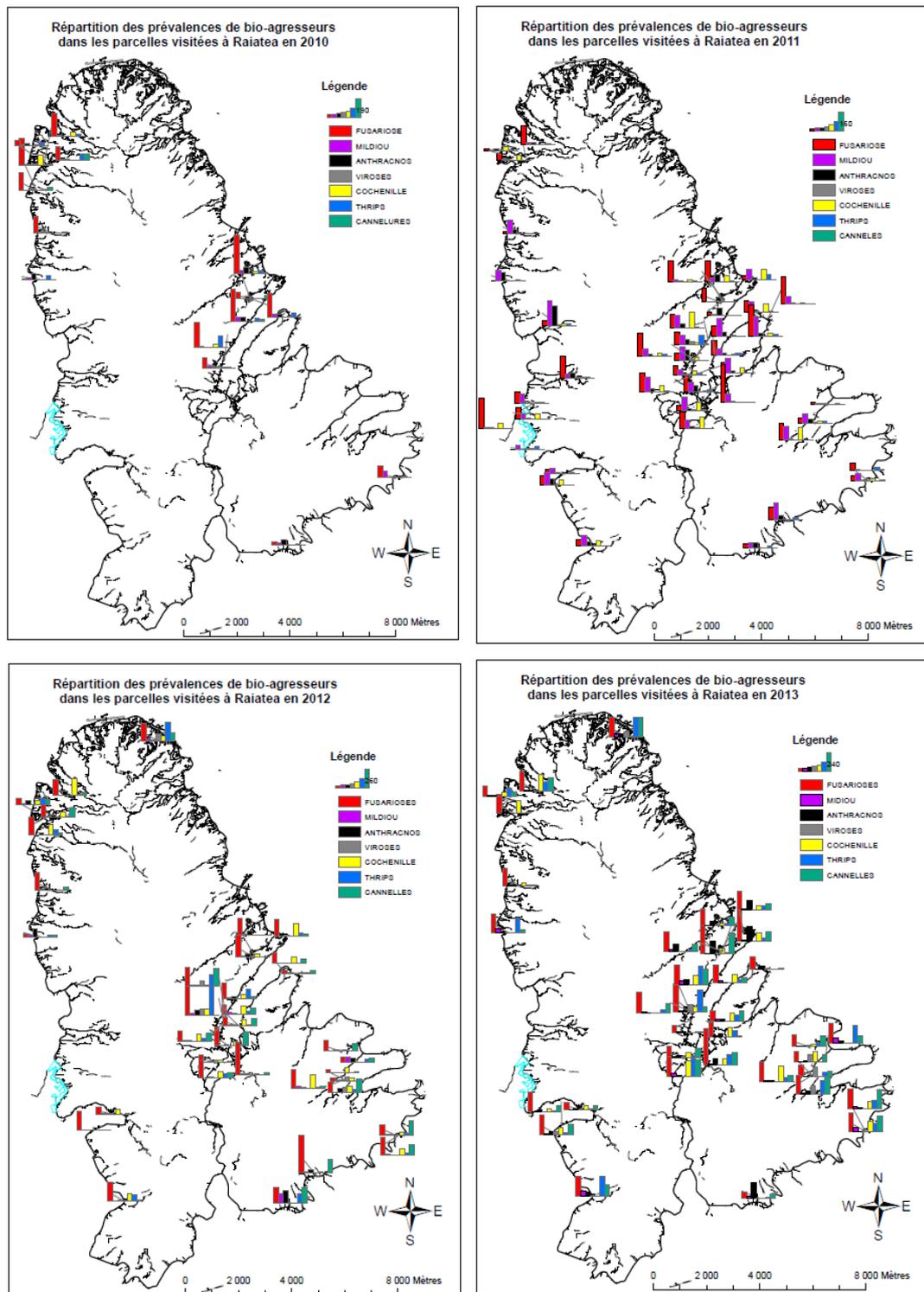


Figure 62: Progression de 2010 à 2014 des symptômes des bio-agresseurs sur les sites visités sur l'île de Raiatea. (Source : Timeri A.)

Ainsi, les résultats du chapitre 1 démontrent que la maladie responsable de ces symptômes n'a pas cessé de se propager et d'avoir un impact de plus en plus important pendant les quatre

années d'étude dans les lieux de production de vanille sur l'ensemble de l'île de Raiatea. L'incidence a atteint son niveau maximum entre 2012 et 2013 dans de nombreux sites de production, aboutissant à des renouvellements de lianes voire à l'arrêt de la production par de nombreux producteurs.

L'étude statistique d'un grand nombre de variables (chapitre 2), mises en relation puis agrégées sélectivement entre elles selon leur signification, a permis de décrire que quatre grands types de systèmes ou typologies de production de vanille pouvaient être identifiés selon que ces vanilleraies étaient ou non sous ombrières et qu'elles faisaient l'objet d'opérations techniques (compost, bouclage etc...) régulières et spécifiques, intensives ou non. La relation entre ces typologies et le risque sanitaire doit encore être étudiée, via la mise en confrontation avec des modèles adaptés. Plusieurs tentatives ont été conduites pendant la dernière année de ma thèse par Antonin Labat (Mémoire M1-UPsud Orsay, 2014) sans véritable succès. Un nouveau modèle est en cours de test (Dillmann et Legrand, communication personnelle).

La combinaison des principales conclusions des chapitres 1 et 2, rappelées ci-dessus, aboutit à la nécessité d'identifier précisément l'agent pathogène, de même que les éléments clés qui caractérisent la nature et la source de son inoculum, sa variabilité génétique, son processus infectieux et les différentes modalités pour aboutir à son contrôle, en pratique avec la volonté de respecter les normes EcoPhyto à venir.

Plusieurs publications et rapports font état du dépérissement des racines et du bas de la tige chez le vanillier Bourbon (*Vanilla planifolia*) (Alconero 1968 ; Tombe et Liew 2010), en Indonésie (Tombe et al 1993 ; Liew et al 2004 ; Pinaria et al 2010 ; Zaubin et al, 2010), en Inde (Sarma et al, 2010), et plus récemment à Madagascar et dans l'Océan Indien (Alabouvette et Grisoni, rapport de mission 2009, et communication personnelle). Ces travaux, souvent incomplets, indiquent que des *Fusarium* seraient responsables de ces symptômes (Tucker 1927, Alconero 1968). Les travaux les plus complets (Pinaria et al 2010, Tombe et Liew, 2010), faisant appel à l'isolement à partir de lésions, par l'intermédiaire d'un test de Koch complet. L'analyse génotypique, pour un marqueur moléculaire, identifie *Fusarium oxysporum forma spacialis vanillae* comme agent responsable de ces symptômes sur *Vanilla planifolia* (Pinaria et al, 2010). Peu d'études de génétique des populations et de variabilité du pouvoir pathogène, utilisant un échantillonnage rationalisé ont été rapportés. Jusqu'à ce jour, il était impossible de savoir si de nombreux pathotypes existaient ou non et si

c'était le cas, s'ils avaient des niveaux d'agressivité différents, quelles que soient les zones mondiales de production...

La présente étude, réalisée en parallèle et collaboration avec un travail en cours dans l'Océan Indien (S. Koyyappurath et M. Grisoni, UMR PVBMT La Réunion, communication personnelle) a été :

- tout d'abord de découper des lésions caractéristiques de dépérissement sur *Vanilla ×tahitensis* à Raiatea ;
- d'en caractériser les micro-organismes associés;
- de faire des isolements monospores des espèces fongiques potentiellement responsables des symptômes ;
- de faire des études morpho-anatomiques des spores ;
- de faire des cultures des souches fongiques ainsi isolées afin de réaliser des tests de Koch, à savoir tester la capacité de reproduction des symptômes initiaux à partir des souches ainsi isolées ;
- d'analyser s'il existait une variabilité qualitative et quantitative des symptômes entre les souches ainsi testées ;
- d'isoler l'ADN pour plusieurs de ces souches et de les génotyper pour plusieurs séquences ITS, EF1-alpha et IGS et ainsi positionner les différentes souches dans un arbre phylogénétique des *Fusarium* ;
- de savoir si ces souches étaient génétiquement homogènes ou hétérogènes sur Raiatea

Dans ce but, j'ai travaillé à Raiatea, au laboratoire de l'EVT, pour la récupération des lésions dans les lieux prospectés (Chapitre 1), pour l'isolement et l'observation morpho-anatomique des isolats fongiques et pour la préparation de l'ADN selon la méthode définie avec Valérie Laval et Hélène Batina (Bioger, Grignon). J'ai également travaillé à Grignon (Bioger) avec H. Batina et V. Laval pour l'apprentissage et la réalisation du génotypage des souches, de même que l'apprentissage du traitement des données de génotypage (nettoyage des séquences, « clustering », analyses phylogénétiques...). J'ai été en relation avec S. Koyyappurath et M. Grisoni (voir plus haut) pour l'analyse comparative de leurs données issues de souches isolées sur *Vanilla planifolia* dans l'Océan Indien par eux et des quelques souches isolées par mes soins à Raiatea sur *Vanilla ×tahitensis*. Ils m'ont aidé pour le développement du test de

pouvoir pathogène, pour l'analyse phylogénétique globale des *Fusarium* et pour le test cytologique d'envahissement du cylindre central. Ce travail n'avait jamais été réalisé auparavant à l'EVT sur *Vanilla × tahitensis*, avec cet ensemble d'outils et j'ai dû :

- mettre au point et valider le test d'inoculation sur vitro-plants ;
- mettre en place les outils pour faire les observations morpho-anatomiques ;
- mettre en place la procédure d'extraction d'ADN pour la réalisation du génotypage à Grignon.

## 2. Matériels et Méthodes

### 2.1. Echantillonnage

L'échantillonnage a été réalisé principalement dans les exploitations visitées à partir de 2010. Des prélèvements ont aussi été effectués dans les parcelles de l'établissement EVT (pépinière et pathothèque). Des échantillons tels que les racines souterraines et les tiges desséchées ou brunies ont été récoltés (Figure 63). Ils étaient placés dans des sacs en plastique avant d'être traités au laboratoire. Les gousses brunies et ramollies présentant une pourriture humide ont été prélevées également (Figure 64). Au total, ce sont 123 échantillons qui ont été récoltés. Le tableau 25 présente l'origine géographique des échantillons qui ont été retenus pour la suite de l'étude.

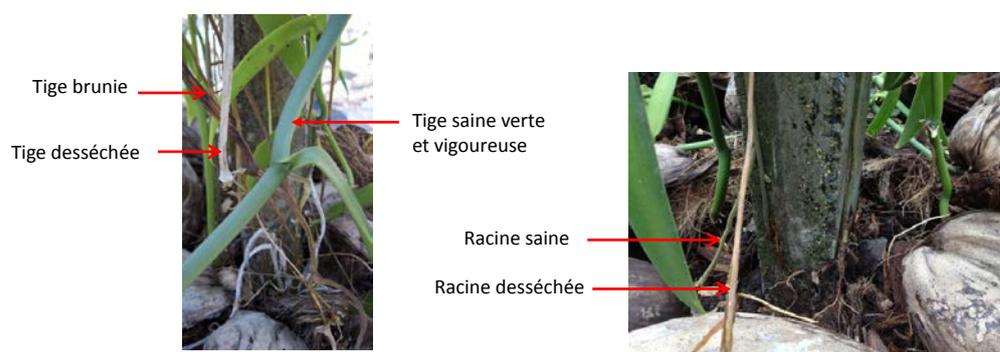


Figure 63: Types de symptômes pour les prélèvements sur tiges et racines desséchées (Photo : Timeri A.)



Figure 64: Type d'échantillons prélevés : gousses présentant une pourriture (brun non uniforme et présence de pustules blancs) (Photo : Timeri Atuahiva)

Tableau 25: Origine géographique des isolats utilisés dans l'étude. cc : cylindre central (Source : Timeri A.)

Isolats	Commune	District _ parcelle	latDEC	longDec	Age. Parcelle	Variété	type d'échantillon
1	Taputapuatea	Avera, Hamoa_ EVT	-16,7922	-151,4099	10	Tahiti	Racine souterraine - cc
2	Taputapuatea	Avera, Hamoa_ EVT	-16,7922	-151,4099	10	Tahiti	Racine souterraine - cc
3	Taputapuatea	Faaroa 13,5 c/mont_ producteur	-16,8349	-151,4191	9	Haapape	Racine souterraine - cc
4	Taputapuatea	Faaroa 13,5 c/mont_ producteur	-16,8349	-151,4191	9	Haapape	Racine souterraine - cc
5	Taputapuatea	Faaroa 17,5c/mer_ producteur	-16,8394	-151,4257	9	Haapape	Racine souterraine - cc
6	Taputapuatea	Opoa 29 c/mont_ producteur	-16,8386	-151,3754	6	Haapape	Racine souterraine - cc
7	Taputapuatea	Opoa 29 c/mont_ producteur	-16,8386	-151,3754	6	Haapape	Gousse
8	Tumaraa	Pufau 10,4 c/mont_ producteur	-16,7667	-151,4896	9	Haapape	Tige – cc
9	Tumaraa	Pufau 10,4 c/mont_ producteur	-16,7667	-151,4896	9	Haapape	Racine souterraine - cc
10	Uturoa	Uturoa_ EVT_pathothèque	-16,7277	-151,4515	1	Tahiti	Racine souterraine - cc
11	Uturoa	Uturoa_ EVT_pathothèque	-16,7277	-151,4515	1	Haapape	Racine souterraine - cc

## 2.2. Isolement des souches de *Fusarium*

Les échantillons prélevés ont été successivement plongés dans de l'eau osmosée, dans une solution d'hypochlorite de sodium (1 %) et à nouveau de l'eau osmosée pour éliminer les impuretés à la surface des échantillons. Après avoir été séchés sur du papier absorbant, des segments de cylindre central de racine et de tige comprenant le tissu nécrotique et le tissu sain ont été déposés sur milieu Potato Dextrose Agar (PDA, additionné d'antibiotique streptomycine) (PDA : 39g/L, Difco 213400 ; streptomycine : 100mg/L, Sigma S-9137) sous hotte aseptisée. Ces boîtes étaient ensuite incubées à 23 °C à une photopériode 12h lumière/12h obscurité. Au bout de 2-3 jours, du mycélium se développait. Un segment de gélose, sur lequel du jeune mycélium poussait, était repiqué sur une nouvelle boîte de PDA et incubé dans les mêmes conditions pendant 8 jours.

## 2.3. Purification et conservation des souches de *Fusarium*

La technique de l'isolement de monospores au microscope a été utilisée. Pour cela, du milieu gélosé (4 mL à 1,5 % d'agarose) a été coulé sur des lames placées ensuite à 7 °C. Pour ensemencher ces lames, 5 ml d'eau stérile ont été ajoutés dans chaque boîte contenant le mycélium repiqué. La surface du mycélium était grattée à l'aide d'une oeuze. La goutte restée sur l'oeuze était déposée puis balayée sur la lame gélosée. Ces lames étaient posées sur des barres en inox (au lieu de verre) pour éviter le contact avec le papier absorbant pour garder une humidité au sein de la boîte en plastique. Ces boîtes étaient mises à incuber à 4 °C pendant 24h. Sous le microscope, une spore germée et isolée était prélevée puis déposée sur une nouvelle boîte de PDA avec streptomycine. Une fois la souche de *Fusarium* isolée, je repiquais sur de nouvelles boîtes de PDA qui servaient au test de pouvoir pathogène et à l'extraction d'ADN. Les souches étaient également conservées dans du glycérol 20 % à 4 °C dans des microtubes de 1,5 mL.

## 2.4. Test de pouvoir pathogène

### 2.4.1. Le matériel végétal

Le pouvoir pathogène des différentes souches isolées identifiées comme étant du *Fusarium* a été réalisé sur vitroplants dans des conditions aseptiques. Cette technique a plusieurs avantages : les vitroplants ne risquent pas d'être contaminés par d'autres pathogènes contrairement au test en pot. La préparation des vitroplants permet d'obtenir des plantules homogènes en taille et en âge.

Pour notre étude, les vitro-plants de *V. ×tahitensis* variété « tahiti » T4-40 ont été utilisés comme matériel végétal pour les tests de pouvoir pathogène. Cette variété a été choisie car elle apparaît sensible sous ombrière, ce qui permet d'observer des symptômes si les souches sont pathogènes. Ces vitro-plants ont été mis en culture dans un milieu de multiplication Murashige and Skoog (MS) (Tableau 26) et cultivés pendant 4 mois en chambre de culture à 25 °C avec une photopériode 12h lumière/12h obscurité. Ensuite, les vitroplants ont été mis dans un milieu d'enracinement liquide pendant 1 mois. Le milieu d'enracinement a été du milieu MS sans hormone de croissance ni de Gelrite. La disponibilité en matériel végétal a permis de réaliser 3 réplifications par souche avec un témoin non inoculé.

Tableau 26 Composition du milieu de multiplication MS (Source: EVT multiplication in vitro et sevrage de la vanille de Tahiti)

Macro-éléments (mg/L)		Micro-éléments (mg/L)		Vitamines (mg/L)		Acides aminés (mg/L)	
NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>	1650	EDFS Na Fe EDTA	37	Pantothénate de calcium	1	Glycine	1
KNO <sub>3</sub>	1900	H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	6,2	Pyridoxine –HCL	1	Glutamine	100
MgSO <sub>4</sub> 7H <sub>2</sub> O	370	Mn SO <sub>4</sub> 4H <sub>2</sub> O	22,3	Thiamine-HCL	0,5		
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	170	Zn SO <sub>4</sub> 7H <sub>2</sub> O	8,6	Acide nicotinique	0,5		
Ca Cl <sub>2</sub> 2H <sub>2</sub> O	440	KI	0,84	Biotine	0,25		
		Na <sub>2</sub> Mo O <sub>4</sub> 2H <sub>2</sub> O	0,25	Myo-inositol	100		
		Cu SO <sub>4</sub> 5H <sub>2</sub> O	0,025				
		Co Cl <sub>2</sub> 6H <sub>2</sub> O	0,025				

### 2.4.2. L'inoculum

La préparation de l'inoculum a été inspirée d'Olivain (2006). Pour chaque souche monosporee de *Fusarium*, une solution de conidies de concentration  $10^6$  conidies/ ml a été préparée. Pour cela, chaque souche a été cultivée sur un milieu PDA en boîte de Petri en plastique de 8,5 cm de diamètre pendant 8 jours. Cinq ml d'eau stérile ont été déposés sur la culture. Le mycélium était ensuite gratté à l'aide de l'oeuse afin de libérer les spores. Les boîtes étaient mises à 5 °C pendant 15 minutes puis une heure à température ambiante pour stimuler la libération des spores. Le mycélium était gratté à nouveau à l'aide de l'oeuse, et le maximum de solution est transféré dans des micro-tubes de 1,5 ml. La concentration des solutions était ensuite déterminée à l'aide de la cellule de Malassez (Marienfeld ©) sous microscope (Olympus© BX 50). Quinze microlitres de la solution auparavant vortexée étaient déposés sur le quadrillage de la cellule.

En fonction du comptage, le volume de solution de spores adéquat pour obtenir une solution fille était prélevé et complété à 10 ml avec de l'eau ultra-pure stérile dans un flacon préalablement lavé à l'éthanol 70 %.

L'inoculum est ensuite conservé à température ambiante jusqu'à l'inoculation.

### 2.4.3. Méthode d'inoculation

L'inoculation a été effectuée sous hotte stérile (Ultraviolet et alcool). Les vitroplants de la variété « tahiti », âgés de 4 mois, sont d'abord sortis des flacons de milieu d'enracinement avec une pince stérilisée à l'alcool et au stérilisateur (Stéri250©). Ensuite les racines des plantules sont plongées dans l'inoculum, précédemment préparé, à  $10^6$  conidies/ ml pendant 5 minutes. Les témoins, quant à eux, étaient trempés 5 minutes dans de l'eau osmosée stérile. Une fois les plantules inoculées, elles étaient déposées dans un flacon contenant un milieu Hoagland modifié. Du parafilm était utilisé pour sceller les flacons afin d'empêcher la pénétration d'autres pathogènes. De plus, le sucre (saccharose et eau de coco) était retiré de la composition de ce milieu (Annexe 4). Les vitroplants étaient ensuite incubés dans la chambre de culture *in vitro* pendant 12 jours.

#### 2.4.4. Mesure des nécroses

L'évolution des nécroses était relevée tous les jours sur une durée de 12 jours, après inoculation. Au terme de ces 12 jours, le taux de nécrose était mesuré de la façon suivante :

$$\text{Taux de nécrose (\%)} = \frac{\text{taille du vitroplant (cm)}}{\text{partie nécrosée (cm)}} \times 100$$

Visuellement, les taux de nécrose correspondaient à l'échelle suivante :

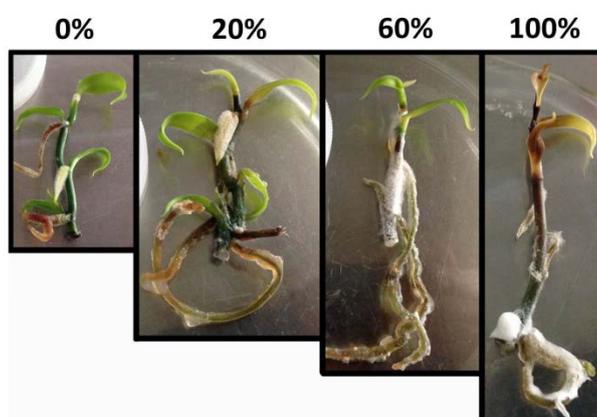


Figure 65: Echelle de taux de nécrose sur vitro-plant après 12 jours d'incubation (Photo : Timeri A.)

#### 2.5. Extraction d'ADN

Les ADNs des souches purifiées ont été extraits au laboratoire de l'établissement à Raiatea selon le protocole de l'INRA de Dijon (Edel et al, 2001) (Annexe 5). Des ajustements ont été effectués selon les réactifs et matériel à disposition. Du tampon de lyse (Tris-HCl, 50 mM, pH 7,5 ; EDTA, 50 mM ; 3 % SDS) était ajouté dans les boîtes de culture âgées de 8 jours. Une fois le mycélium gratté, les boîtes étaient incubées 30 min à 65 °C puis centrifugées. Les ADNs présents dans le surnageant ont ensuite été précipités dans de l'acétate d'ammonium

(7,5 M) et de l'isopropanol puis rincés dans de l'éthanol 70 %, séchés à l'air libre pendant 14h et enfin resuspendus dans 100 µl de tampon TE (Tris-HCl, 10 mM, pH 8 ; EDTA, 1 mM).

La quantité d'ADN extrait a été contrôlée par électrophorèse sur gel d'agarose.

Après dosage, les ADN ont été précipités dans l'acétate de sodium 3M avec l'éthanol absolu puis centrifugés à 15.000 g pendant 10 min à 4 °C. Une fois le surnageant éliminé, de l'éthanol 90 % a été ajouté pour une seconde centrifugation (15.000 g pendant 10 min à 4 °C). Cette fois-ci le surnageant a été éliminé par retournement sur papier absorbant puis au speed-vac pendant 7 min en « high », sans chauffage, pour obtenir de l'ADN sec.

Ces ADN déshydratés ont été ensuite envoyés à l'INRA de Grignon pour être séquencés. Une fois sur place, les ADNs ont été resuspendus dans 100µl de tampon AE puis les tubes d'ADN ont été vortexés vigoureusement. La quantité et la qualité des ADNg ont été re-estimées au Nanodrop (spectrophotomètre). Les profils de densité optique ont montré que l'ADNg n'était pas de bonne qualité. Des ARNs et des protéines semblaient rester dans les tubes. Cependant les ADNs ont été utilisés sans traitement préalable, pour les analyses à suivre.

## 2.6. Amplification de gènes d'intérêt taxonomique par PCR

Dans notre étude, 3 régions ont été amplifiées par PCR. La région ITS (Internal Transcribed Spacer) de l'ADN ribosomique avec les primers ITS1 (5'-CTTGGTCATTTAGAGGAAGTAA-3') et ITS2 (5'-GCTGCGTTCTTCATCGATGC-3') (White et al 1990) où un fragment de 400 bp environ était attendu. La partie 5' du facteur d'élongation EF-1α. La partie codante et les introns ont été amplifiées avec les primers EF-1 (5'-ATGGGTAAGGAAGACAAGAC-3') et EF-2 (5'-GGAAGTACCAGTGATCATGTT-3') qui s'hybrident dans la partie conservée (exons) (O'Donnell et al 1997) où un fragment de 652 bp était attendu. D'autres couples de primers (EF1\_Fusa\_F/ Ef1\_Fusa\_R et EF595F/Ef1\_Fusaspp-R) ont également été testés mais les amplifications n'étaient pas celles attendues. Le couple de primers EF1/EF2 est donc celui qui a été gardé pour le reste des analyses. Une partie de la région IGS (Intergenic Spacer) a été amplifiée uniquement pour les souches de *F. oxysporum* avec les primers PNFo (5'-CCCGCCTGGCTGCGTCCGACTC-3')

et PN22 (5'-CAAGCATATGACTACTGGC- 3') (Edel et al 2001) pour lesquels un fragment de 1700 bp était attendu.

Les PCR ont été réalisées dans un volume réactionnel final de 25µL constitué de 13,3µL d'eau stérile, 2,5 µl de Tampon 10X, 1 µL de chaque dNTP (dNTP 2µM), 0,75 µL de chaque primer (10 µM) et 0,2 µL de GoTaq® Flexi DNA Polymerase (Promega) et 5 µL d'ADN à 4 ng/µL.

Les amplifications ont été optimisées et réalisées sur 35 cycles. Le thermocycleur a été programmé pour une dénaturation initiale à 95 °C pendant 3min, suivi d'une hybridation pendant 30 secondes et d'une élongation à 72 °C. Les températures d'hybridation et les temps d'élongation étaient spécifiques pour chaque couple de primers comme précisé dans le tableau 27.

La qualité et la spécificité de chaque amplification a été vérifiée par électrophorèse en gel d'agarose 2 % où 5 µL de chaque produit PCR a été déposé pendant 1 heure à 100 V.

Tableau 27: Température d'hybridation et temps d'élongation des primers

Primers	Température d'hybridation	Temps d'élongation
ITS1F/ITS4	52 °C	45''
EF1/EF2	54 °C	45''
PNFo/PN22	56 °C	1'45''

## 2.7. Séquençage et analyse des données

Chaque produit de PCR a été séquençé par la société Eurofins (Allemagne). Les fragments de PCR ont ainsi été séquençés sur les 2 brins d'ADN, avec les primers utilisés lors des PCR (envoyés en même temps que les échantillons d'ADN).

Les chromatogrammes obtenus ont ensuite été analysés grâce au logiciel CodonCode. Les données de qualité de pics de chromatogrammes sont fournies par le logiciel. La qualité de chaque séquence a ainsi été vérifiée manuellement et éventuellement ré-annotée.

Les séquences consensus obtenues par Codon code sont celles qui sont utilisées pour la suite des analyses. La séquence retenue correspond à la portion (séquençée pour les deux brins d'ADN) en bleu sur la figure 66. Cette séquence est très 'sûre'. J'ai cherché à obtenir un

maximum d'information sur la variabilité des séquences. Les portions flanquantes dont la qualité est sûre (en vert sur la figure 66) ont été rajoutées. Les parties en rouge sur le schéma ne font pas parties des séquences consensus car de faible qualité sur les chromatogrammes.



Figure 66: Région amplifiée par PCR (Source : Hélène Batina, Grignon 2012)

Les alignements de séquences ont été réalisés grâce au logiciel Codoncode et au logiciel Multalin disponible sur internet.

L'identification des souches a été réalisée par BLAST de la base de données NCBI et Fusarium MLST database.

L'analyse phylogénétique des séquences a été réalisée avec le logiciel MEGA (Tamura et al 2011 ; Tamura et al 2013) avec l'aide de M. Grisoni.

### 3. Résultats et Discussions

#### 3.1. Symptomatologie observée

Le symptôme le plus observé dans les parcelles visitées à Raiatea est un dessèchement total des lianes sur les tuteurs (Figure 67). Les symptômes sur *V. ×tahitensis* variétés « tahiti » et « haapape » sont similaires à ceux sur *V. planifolia* (Figure 68). A Raiatea, ces symptômes de dépérissement sont très importants. Ils sont en augmentation très préoccupante et ressemblent à ceux déjà décrits en Indonésie (Liew et al 2004 ; Zaubin et al 2010), voire en Inde (Bhai et Dhanesh 2008 ; Sarma et al 2010) et récemment dans l'Océan Indien (Thomas et al 2002 ; Pinaria et al 2010).



Figure 67: Dessèchement de lianes sur tuteurs vivants (A); et sur tuteurs bétons (B) (Photo : Timeri A.)



Figure 68: Dépérissement des racines et des tiges de *Vanilla planifolia* (Photo : Michel Grisoni, flèches bleues pour les symptômes caractéristiques)

La question posée est : s'agit-il du même agent pathogène ? Appartient-il bien à l'espèce *Fusarium oxysporum* ?

### 3.2. Isolement du pathogène

En postulant que le pathogène responsable était le même que sur *V. planifolia*, c'est-à-dire *Fusarium oxysporum*, il a fallu plusieurs isolements pour aboutir à des isolats de *Fusarium oxysporum*. Les premiers isolements, correspondant à des lésions « jeunes », ont abouti à des isolats de *Fusarium equiseti* (Figure 69A). Ce n'est pas surprenant que cette espèce ait été isolée au niveau des racines car elle stimulerait l'allongement de celles-ci. C'est le cas chez le cresson (Bryan et al 1961). Suite à ce résultat, des lésions avec des nécroses plus « avancées » ont été isolées. L'identification moléculaire a montré que ces isolats correspondaient à *Lasiodiplodia theobromae* (Figure 69B). Cette espèce est connue comme pathogène de cultures tropicales provoquant des branches séchées en particulier sur manguier (Khanzada, 2004). Sur cette culture, ce pathogène est associé également à *Fusarium solani*. Ce n'est qu'avec les lésions « intermédiaires » correspondant à des sections comprenant les parties « saine et nécrosée » qu'il a été possible d'isoler *Fusarium oxysporum* (Figure 69C).



Figure 69: A : *Fusarium equiseti* : échantillons avec symptômes « jeunes » (encore vert à certains endroits), spores septées sur milieu PDA, morphologie du mycélium sur PDA ; B : *Lasiodiplodia theobromae* : échantillons avec symptômes « avancés » (organes totalement brunis présentant des pustules) : Spores sur milieu SNA; morphologie du mycélium sur PDA. C : *Fusarium oxysporum* : échantillons avec symptômes intermédiaire (partie nécrosée et saine sur la même portion de l'organe; morphologie du mycélium sur PDA (Photos : Timeri A.)

Le fait de ne pas avoir trouvé rapidement le pathogène responsable était dû à un mauvais choix initial des lésions. Les échantillons et précisément les sections isolées étaient soit symptomatiquement trop avancées ou soit trop précoces. Le fusarium est donc identifié sur les sections « intermédiaires » en partie saine/en partie malade. Donc lorsque les lianes présentent des organes desséchés, il est trop tard. Il faut alerter lorsqu'il y a des lésions « intermédiaires ». Mais il n'est pas facile de le voir à moins de suivre minutieusement les tuteurs quotidiennement, ou bien être expert pour ce type de pathologie.

En conclusion, l'état initial des zones de prélèvement des lésions expliquent les échecs d'identification rencontrés au départ. En tous cas, les premiers résultats ont montré qu'il y avait une population importante de micro-organismes dont certains étaient bien représentés même s'ils ne sont pas responsables de la symptomatologie. Les erreurs liées aux premiers

prélèvements ont permis de cibler les prélèvements sur des tissus moins malades, en zone d'interface avec les tissus sains.

Dans la suite de l'analyse, je n'ai pas fait de test de pouvoir pathogène avec les premiers isolats *F. equiseti* et *L. theobromae*. En revanche, je les ai conservé à -4 °C dans du glycérol à 20%, comme pour toutes les souches que j'ai isolées et monosporeées.

### 3.3. Identification de souches de *Fusarium*

C'est le type de mycélium aérien et généralement blanc au départ puis violet à pourpre sur un milieu de culture nutritif tel que le PDA qui m'a mis sur la piste de *Fusarium oxysporum* (Figure 69C) (Leslie & Summerell, (2006). N'ayant pas de milieu sélectif à disposition tel que Carnation Leaf Agar (CLA), l'observation des spores a été effectuée sous microscope avec des isolats âgés de 8 jours, cultivés sur milieu PDA et avec streptomycine (antibiotique). Les macroconidies pluricellulaires, de forme allongée, courbées en fuseau caractéristiques des *Fusarium* n'ont pas été observées. En revanche, de nombreuses microconidies étaient observables. Les mesures de spores étant chevauchantes entre espèces, il m'a été difficile de distinguer les différentes espèces de *Fusarium*. Seule la couleur du mycélium m'a permis de supposer qu'il y avait différentes espèces dans les échantillons. Il y avait des isolats avec un mycélium jaune rasant qui semblait être du *Fusarium solani* (Figure 70). Cette espèce étant connue également comme présente sur vanillier, j'ai décidé d'en garder des échantillons pour la suite de l'analyse. Pour vérifier les isolats, une identification moléculaire était nécessaire.

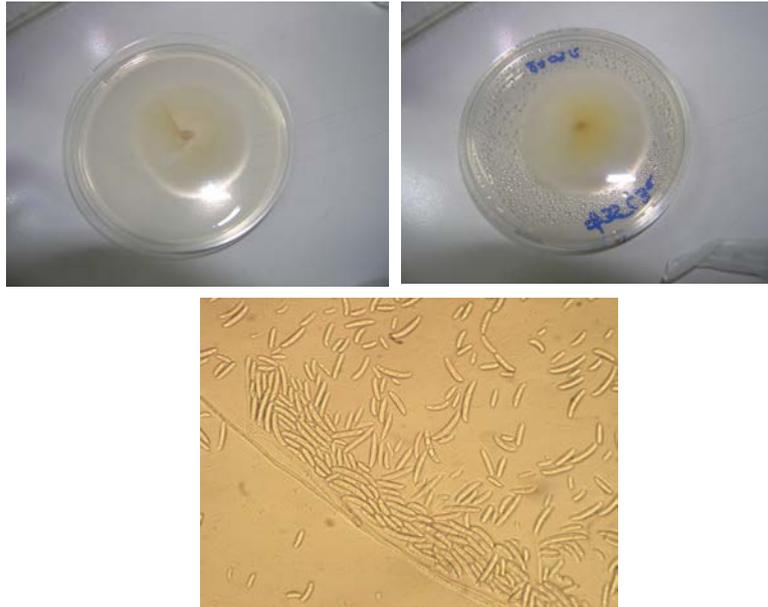


Figure 70 : Mycelium jaune rasant et spores apparentées à *Fusarium solani*. Mycelium sur PDA+ streptomycine. Photos prises dessus la boîte en haut à gauche, dessous la boîte en haut à droite, et conidies observées au microscope. (Photos : Timeri A.)

Les résultats d'identification sont dans le tableau 28.

Les isolats de *Fusarium*, issus de parcelles différentes de Raiatea, validés par les tests de Koch sont présentés dans la figure 71. *Fusarium oxysporum* est l'espèce la plus répandue. Elle représente 70 % des isolats. *Fusarium solani* est moins présente et représente 20 % des isolats. D'autres espèces telles que *F. ramigeranum*, *F. proliferatum* ont été isolées, en faible pourcentage.

Tableau 28 : Identification des souches isolées à Raiatea. Les caractéristiques des isolats sont répertoriées dans le tableau 25. Un isolat a plusieurs « noms ou codes selon le laboratoire où il a été étudié. (Source : Timeri A., Hélène B. et Michel G.).

Numéro d'isolat	code du laboratoire de Raiatea	code du laboratoire de l'INRA de Grignon	Code du laboratoire du CIRAD	Identification des espèces par "Fusarium MLST database" du CBS
1	8.o	A1	FsP01	<i>F. solani</i>
	8.i	A2		
2	19.o	B1	FoP02	<i>F. oxysporum</i>
	19.i	B2		
3	26.o	C1	FopP03	<i>F. oxysporum</i>
	26.i	C2		
4	31.o	D1	Fo04	<i>F. oxysporum</i>
	31.i	D2		
5	35.o	E1	FsP05	<i>F. solani</i>
	35.i	E2		
9	45.o	F1	FcP06	<i>F. concentricum</i>
	45.i	F2		
	53.o	G1	Fo07	<i>F. oxysporum</i>
	53.i	G2		
6	58.o	H1	Fo08	<i>F. oxysporum</i>
	58.i	H2		
	64.2R.o	I1	Fr09	<i>F. concentricum</i>
	64.2R.i	I2		
	64.4M.o	J1	Fo10	<i>F. oxysporum</i>
	64.2R.i	J2		
8	40.o	x	FoP11	<i>F. oxysporum</i>
	40.i	x		
7	59.o	x	FoP12	<i>F. oxysporum</i>
	59.i	x		

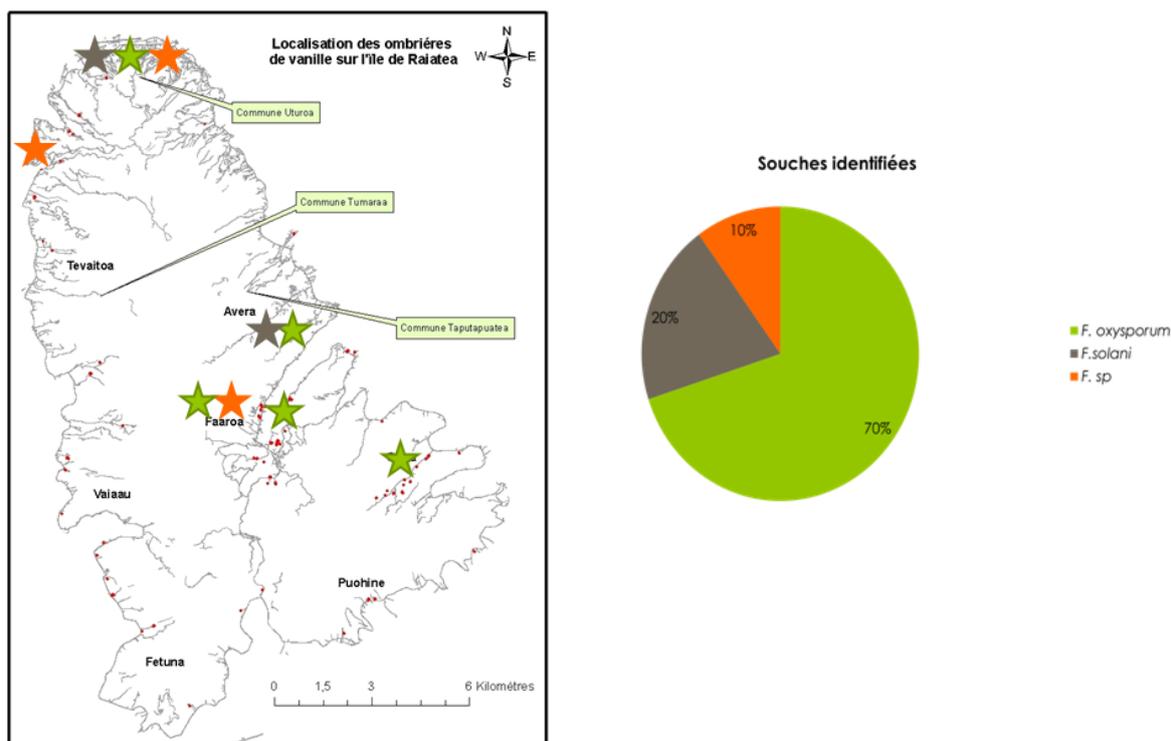


Figure 71: Localisations et répartition des espèces de *Fusarium* isolées de vanillier puis testées et validées par test de Koch. (Source : Timeri A.)

### 3.4. Mise en place d'un test du pouvoir pathogène d'isolats de vanillier tahiti à Raiatea

Il a fallu mettre au point un test de pouvoir pathogène pour vérifier si les souches isolées étaient responsables du dépérissement des racines et des tiges du vanillier tahiti. Cela a pris deux années pour mettre au point un protocole efficace et reproductible. Des difficultés se sont présentées et les premiers résultats n'étaient pas concluants.

En parallèle de la mise en place du test du pouvoir pathogène, Sandra Lepers, généticienne a laboratoire de l'EVT a tenté avec une stagiaire, Bénédicte Delarue, d'expérimenter deux protocoles : un « sous ombrière » et un en « culture *in vitro* ». Son but est de réduire la sensibilité aux maladies en créant de nouvelles variétés par croisement génétique. Les caractères recherchés pour les hybrides sont : la qualité aromatique, la résistance aux maladies et aux aléas climatiques.

Le premier test a consisté à inoculer des plants en pot. Ce n'était pas l'idéal car les boutures ne prenaient pas racine dans la perlite. Les contaminations extérieures venaient également compromettre le test (Delarue, 2011). Les souches isolées n'ont pas été génotypées. Il est certain que ces souches de *Fusarium* n'étaient pas pathogènes d'où l'intérêt de multiplier le nombre de souches testées lors du test de sensibilité au *Fusarium*, afin d'être certain d'obtenir une souche pathogène. Le second test a été fait sur vitroplant par trempage en blessant la racine, mais les dégâts étaient importants dès le second jour. D'autres essais ont été tentés, en 2012, sur tige et sans succès également.

Mais c'est grâce à ces résultats que j'ai pu approfondir mes recherches. Je me suis principalement basée sur le protocole de Le Guen, 2011. C'est à partir de là que j'ai pu récolter et aboutir à une identification de *Fusarium* pathogène.

### 3.5. Génotypage

Le génotypage des souches isolées, validées par le double test de Koch successif, alterné avec le génotypage, démontre que l'agent responsable des symptômes est *Fusarium oxysporum f sp vanillae* (Figure 72). D'autres espèces ont été caractérisées. Parmi elles, seules les souches de *F. solani* se sont révélées générer des symptômes lors du test de Koch, mais avec des symptômes différents de *Fusarium oxysporum f sp vanillae*. Les symptômes générés par *F. solani* sur vitro-plants sont « secs » alors qu'ils sont de nature molle avec *Fo f sp vanillae*, et les positions attaquées sur la tige sont différentes, plus hautes avec *F. solani* et plus basses avec *Fo f sp vanillae*.

Tous les isolats (123 échantillons récoltés) n'ont pas été génotypés, car contrairement à ce qui a été réalisé à la Réunion, je n'ai pas pu calculer le pourcentage de souches *Fo* non pathogènes puisque je ne les ai pas criblées d'abord par génotypage pour savoir si elles appartenaient, ou non, à *Fo* avant de faire les tests de pouvoir pathogène et donc de décider qui était pathogène ou non et avec quelle agressivité ? J'ai fait la démarche inverse, car je voulais avant tout identifier l'agent pathogène responsable du dépérissement racinaire et du bas des tiges.

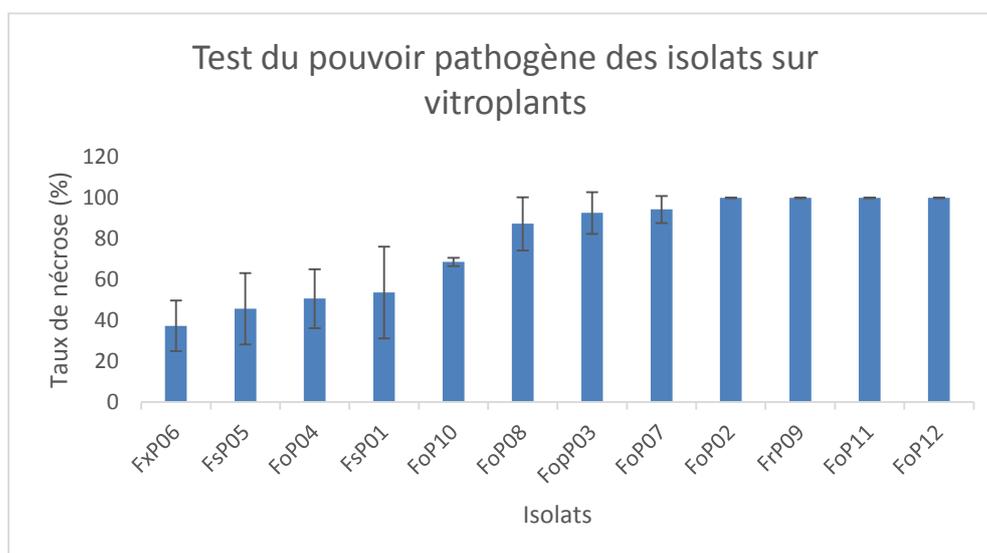


Figure 72 : Mesure d'agressivité des isolats de Raiatea après double Koch. (Source :Timeri A.)

### 3.6. Position phylogénétique et diversité des isolats de *Fusarium* du vanillier tahiti de Raiatea

Afin, d'estimer la diversité génétique des isolats, des arbres phylogénétiques ont été établis.

#### 3.5.1. Avec ITS

La séquence ITS montre que parmi les isolats des 3 espèces de *Fusarium* : *F. oxysporum*, *F. solani* et *F. concentricum* semblent les mêmes sauf l'isolat C1 qui après double Koch s'avère être une autre espèce. Cette souche sera prochainement re-génotypée (Figure 73). C'est pour cela que j'ai choisi une autre séquence, EF1-alpha, qui est plus discriminante (Alabouvette, communication personnelle).

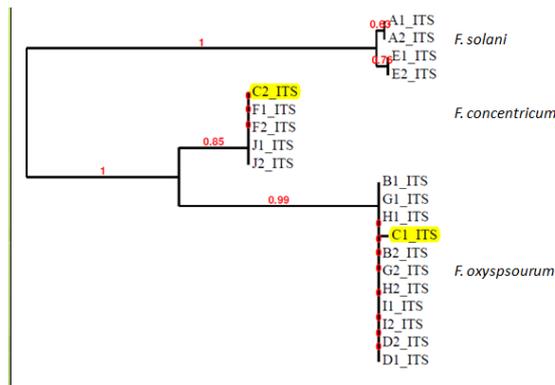


Figure 73: Arbre phylogénétique établi pour les isolats de Raiatea avec la séquence ITS. Une lettre correspond à un isolat et le chiffre « 1 » à l’isolat d’origine et « 2 » à l’isolat après douche Koch. Sont surlignés en jaune les artéfacts. Les isolats devraient être identiques et être très proches. Ce n’est pas le cas de C1 et C2. (Source Timeri A.) La méthode utilisée est la Maximum Likelihood. Phénogramme réalisé sur le site Phylogeny.fr (Source : Timeri A.)

### 3.5.2. Avec EF1-alpha

Un second arbre phylogénétique a été réalisé avec la séquence EF-1alpha avec les isolats de Raiatea et quelques isolats de la Réunion. Les souches polynésiennes ne semblent pas différentes des souches réunionnaises (Figure 74).

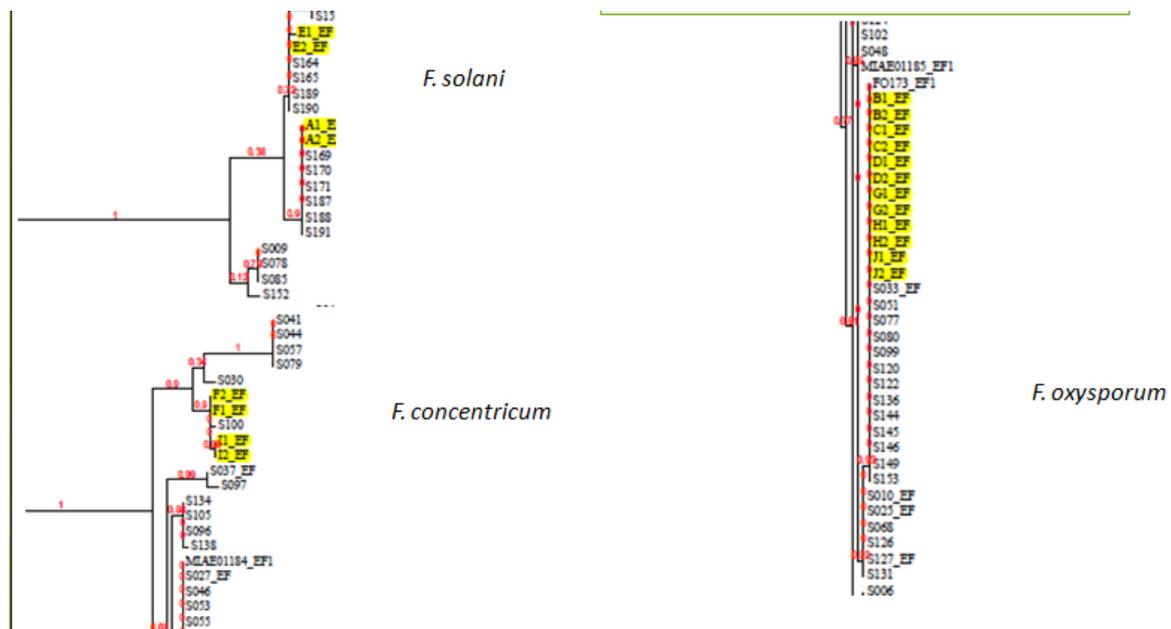


Figure 74: Arbre phylogénétique établi avec EF1 alpha. Toutes les souches de la Réunion commencent par la lettre « S ». Celles de Raiatea correspondant à celles qui sont en jaune (A1 à J2). La méthode utilisée est la Maximum Likelihood. Phénogramme réalisé sur le site Phylogeny.fr (Source : Timeri A.)

Un troisième phénogramme a été réalisé avec tous les souches des Comores, Indonésie, du Mexique, de la Réunion et de Polynésie (Raiatea) (Figure 75). Il se dégage une grande diversité des souches de la Réunion [9 haplogroupes composé de 123 souches] comparée à celles de l'Indonésie [5 haplogroupes (3 clades selon Pinaria) à partir des 10 souches séquencées]. En revanche les souches polynésiennes, 6 *F. oxysporum* isolés, à partir de lianes différentes (« tahiti » et « haapape »), d'âges différents, d'ombrières différentes (4) sont monoclonales, 100 % identiques entre elles. Les souches de Raiatea se situent dans un groupe remarquablement cosmopolite (Réunion, Mexique, Comores et Indonésie) (Figure 75).

Malgré un petit nombre d'isolats testés et séquencés issus d'ombrières différentes, localisations différentes, variétés différentes, la diversité génétique observée est faible et même nulle entre les isolats de *F. oxysporum* de Raiatea (Figure 76). En revanche les 130 isolats séquencés issus de parcelles différentes sous-bois, de lieux différents de l'île la Réunion, de Madagascar montrent quant à eux une diversité importante au sein de l'espèce *F. oxysporum*.

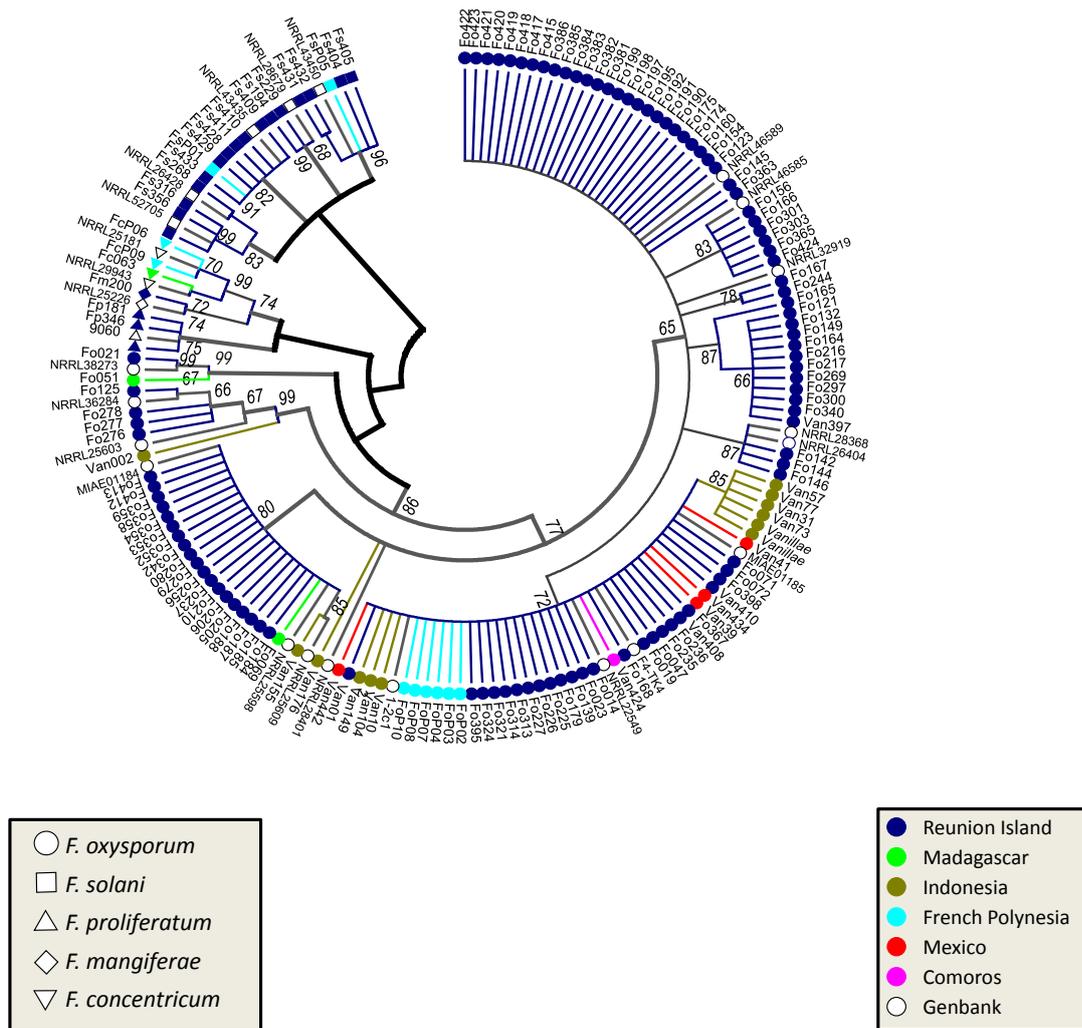


Figure 75 : Arbre phylogénétique établi avec 662 isolats, basé sur les séquences EF1alpha ayant chacune 174 bp avec la méthode Maximum Likelihood. Phénogramme réalisé avec MEGA 6 (Tamura et al, 2013). (Source : Michel Grisoni)

### 3.5.3. Avec IGS

Un quatrième phylogramme avec la séquence IGS a été réalisé uniquement pour les souches de *F. oxysporum*. La figure 76 indique l'existence d'erreurs. Les ADNs correspondant à ces souches seront prochainement ré-extraits pour connaître la source de ces erreurs.

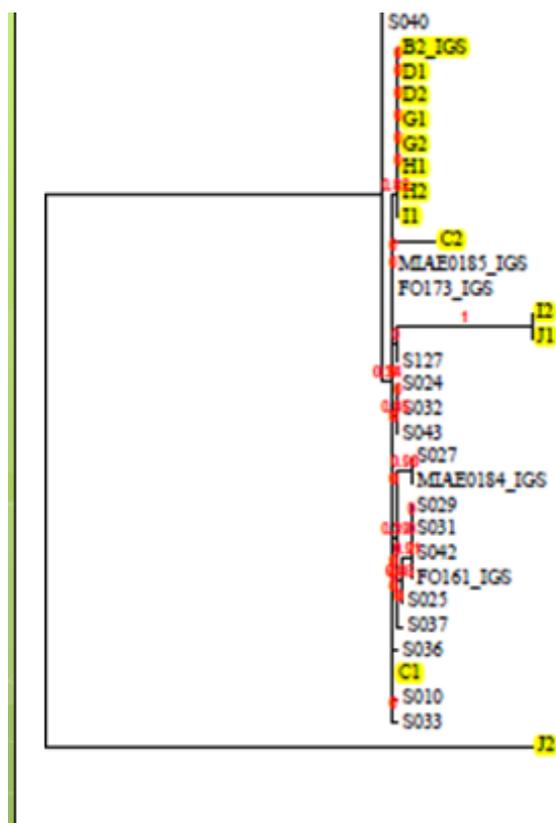


Figure 76: Arbre phylogénétique réalisé avec quelques isolats de la Réunion (nom de souche : Sxxx) et des souches de *Fusarium* reçues de l'INRA de Dijon (MIAE01184, MIAE01184, FO161 et FO173). La méthode utilisée est la Maximum Likelihood. Phénogramme réalisé sur le site Phylogeny.fr (Source : Timeri A.)

### 3.6. Test de la souche « Raiateaïenne » la plus agressive sur *planifolia*

Une des souches, la FoP12, a été envoyée à Montpellier pour que des tests soient réalisés sur *V. planifolia* par S. Koyyappurath. Cette souche très agressive isolée à Raiatea, s'est avérée être aussi limitée aux tissus racinaires (Figure 77) que les souches isolées en Indonésie, à Madagascar et à l'île de la Réunion (S. Koyyappurath et al, en préparation). Elle a été intégrée, avec les autres souches isolées à Raiatea, toutes phylogénétiquement très apparentées, dans une même nouvelle espèce que les autres souches de l'Océan Indien ayant le même comportement. La nouvelle espèce a été appelée *Fusarium oxysporum* f sp *radicivanillae*.

L'infection de FoP12 isolée à Raiatea, validée par double test de Koch sur *Vanilla ×tahitensis* et *Vanilla planifolia*, a été suivie par différentes approches de microscopie. Il s'est avéré qu'au cours de son infection sur *V. planifolia* et *V. ×tahitensis*, après 7 jours d'incubation, les tissus du cortex externe étaient macérés et dénaturés, alors que les tissus conducteurs (cylindre central) n'étaient pas affectés (Figure 77). Cette observation confirme que cette souche est bien pathogène et très agressive à la fois sur *V. planifolia* et sur *V. ×tahitensis*. Elle permet d'identifier cet isolat comme *Fusarium oxysporum f sp radicis-vanillae*. Ce qui en fait une nouvelle espèce. Cette espèce apparaît responsable de l'essentiel des symptômes de fusariose des racines et du bas de la tige sur les vanilles du monde entier. C'est un résultat totalement nouveau et original pour une pathologie majeure et ravageuse sur la vanille dans le monde.

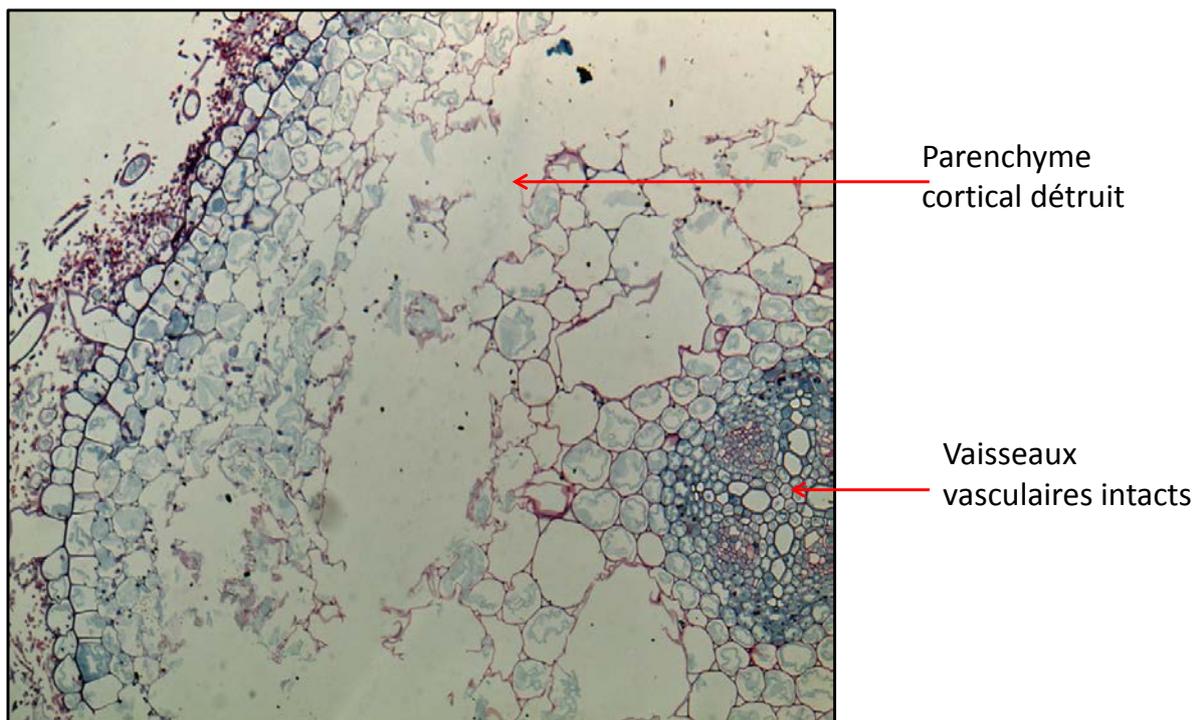


Figure 77: Coupe histologique de racine de *V. planifolia* avec la souche Fo12. Le parenchyme est totalement détruit. Seuls les vaisseaux vasculaires ne sont pas atteints. Il ne s'agit pas de trachéomycose car le pathogène ne pénètre pas dans le xylème (S. Koyyappurath et al, en cours de rédaction)

### 3.7. *Fusarium solani*

Lors du criblage, tel que décrit au paragraphe 3.3, deux souches de *F. solani* ont été identifiées pathogènes sur *V. ×tahitensis*. Elles ont été également doublement testées par le test de Koch et génotypées à chaque cycle de test de Koch. Les symptômes sur vitro-plants se présentent davantage sous forme de pourriture sèche située à un endroit plus élevé sur la tige, comparé aux symptômes de pourriture molle provoqués par *Fo f sp radicis-vanillae* sur le bas de la tige et les racines, sur ces mêmes vitro-plants.

*Fusarium solani* est souvent cité comme associé aux symptômes de dépérissement chez la vanille, pas toujours avec la même importance que *F. oxysporum*. Il va être important d'analyser l'importance de cette pathologie à *F. solani* par rapport à celle due à *Fo f sp radicis-vanillae* ? Ces 2 pathologies sont-elles indépendantes, interdépendantes ? Si elles sont inter-dépendantes laquelle vient avant l'autre ? Viennent-elles en même temps ? Quels sont les cycles génétiques et infectieux de *F. solani* ? En quoi se rapporte-t'il à celui de *Fo f sp radicis-vanillae*... ?

## 4. Conclusions et perspectives

Le dépérissement des racines et des tiges est le problème sanitaire le plus répandu sur l'île de Raiatea, comme rapporté dans les autres zones de production de vanille dans le monde, ces dernières années. Quoique peu nombreuses, les souches validées *Fusarium oxysporum f sp radicis-vanillae* par le test de Koch puis génotypage, à Raiatea, correspondent à des lieux d'échantillonnage éloignés et à des ombrières appartenant à des propriétaires différents. Et pourtant elles sont très apparentées. Ceci suggère, contrairement à ce qui est observé dans l'Océan Indien (S. Koyyappurath et al, en préparation) qu'il y a peu de variabilité à Raiatea. Ceci devra être approfondi car c'est potentiellement important pour le développement de méthodes de contrôle à venir vis-à-vis de cette pathologie via la résistance génétique en combinaison avec la réalisation de bonnes pratiques culturales.

Le *Fusarium oxysporum f sp vanillae* isolé à Raiatea est un *Fusarium oxysporum*. Il est très apparenté aux autres *Fo* pathogènes du vanillier, comme en Indonésie (Liew et al 2004 ; Tombe et al 1993 ; Tombe et al 1993 ; Zaubin et al 2010), en Inde (Sarma et al 2010), ou encore dans l'Océan Indien (S. Koyyappurath et al, en préparation). Enfin, l'introduction de la souche la plus virulente de Raiatea dans les tests d'invasion systémique sur racine-tige a montré que cette souche comme toutes les souches de l'Océan Indien testées, se limitait au dessèchement des racines et de la base de la tige, ce qui a amené à l'intégrer dans la nouvelle espèce dénommée *Fusarium oxyporum f sp radicis vanillae*.

Cette souche étant génotypiquement très apparentée aux autres souches de Raiatea, davantage qu'elle ne l'est aux souches de l'Océan Indien, a amené à considérer que toutes les souches isolées à Raiatea, et responsables des symptômes liés à la dévastation des exploitations de vanille, appartenaient également à cette nouvelle espèce *Fusarium oxyporum f sp radicis vanillae*.



# Discussion générale et perspectives



## Discussion générale et perspectives

L'évolution actuelle de la consommation alimentaire mondiale, et particulièrement en Occident, donne l'accent sur les produits naturels et/ou d'origine naturelle (Hilmer et al 2010). Ainsi dans le domaine des arômes alimentaires, voit-on une recrudescence d'intérêt et de demande pour les produits d'origine naturelle, comme la menthe au lieu du menthol ou encore la vanille au lieu de la vanilline, dans les produits laitiers mais aussi les pâtisseries. Ces productions, qui avaient été délaissées au profit de synthèses chimiques assez faciles de leurs molécules aromatiques dominantes, se voient-elles de nouveau fort demandées, ce qui stimule le développement de ces cultures dans les zones de production (Hilmer et al, 2010).

En ce qui concerne la vanille en Polynésie française, celle-ci, après avoir connu un pic de production dans les années 1950, (300 t en 1949, Petard, 1986) a été délaissée dans les « îles sous le vent » au moment de l'apogée du Centre Nucléaire Français dans le Pacifique (CFP), nombre de producteurs des îles ayant été attirés par la manne financière liée à l'emploi auprès du CFP, particulièrement sur Tahiti (Lepers et Dron, 2010). Lors de l'abandon, en 1993 du CFP par la France, la Polynésie s'est retrouvée dans l'obligation de retrouver des ressources financières pour compenser ce manque à gagner d'une part et d'autre part trouver de nouveaux viviers d'emplois, et ce si possible par une re-distribution des populations dans les îles, notamment dans les « îles sous le vent » où la production de vanille avait été si importante.

Après une enquête de faisabilité (Lepers et Dron, 2010), la Présidence polynésienne confia au SDR (M. Wong à compter de 1996) un projet de relance de la vaniliculture polynésienne, d'abord en réactivant les anciennes vanilleraies naturelles sous tuteur vivant, puis en lançant un vaste programme de cultures intensives sous ombrières (Lepers et Dron, 2010).

La première préoccupation a été celle de l'importance des viroses (Richard et al 2009, Grisoni et al 2010). En effet, les vanilleraies, en sous-bois et en ombrage naturel avaient été laissées à l'abandon pendant plusieurs décennies. Elles ont servi de base pour les nouvelles boutures. Il était donc important, les viroses se transmettant via les boutures et certains insectes (Grisoni et al 2004 ; Richard et al 2009), de connaître le niveau d'infestation dans les sites ressources de boutures, de connaître le taux de vexion par les insectes, les plantes réservoirs de virus dans l'environnement des plantations... Grisoni (Grisoni et al 2004 ; Richard et al 2009 ;

Grisoni et al 2010) ayant montré que les viroses étaient devenues communes à Raiatea et dans les « îles sous le vent », donc que la majorité des boutures étaient virosées et que les vecteurs étaient présents, a proposé avec le soutien du SDR, des outils de diagnostic à développer pour le contrôle sanitaire des boutures, combiné à un système de production sous ombrière, ayant des filets « insect proof ». C'est l'ensemble de ce procédé qui a été retenu lors de la création de l'EPIC-EVT (Etablissement Vanille de Tahiti), à sa création par la Présidence de la Polynésie française en 2003. L'EVT a ainsi créé un service de contrôle sanitaire des lianes à planter, combiné à une recommandation/munie d'aides bancaires/ de plantation de lianes certifiées sans virus, sous des ombrières « insect proof ». Les viroses ayant été analysées dans l'approche présentée au Chapitre 1 du présent travail, il apparaît clair que ce problème sanitaire est devenu secondaire et plutôt rare dans les sites de production sous ombrière, nombreux, suivis pendant cette étude à Raiatea. Ceci signifie que la procédure certifiée mise en place pour le contrôle des viroses a été efficace et ceci n'est pas le moindre succès de la politique sanitaire mise en place par le SDR, et reprise ensuite par l'EVT.

Toutefois, les problèmes phytosanitaires sont rarement définitivement réglés. Si le problème viral est maintenant bien contrôlé, d'autres pathologies/ravageurs ont continué de se manifester dont certaines comme la cochenille, ou le dépérissement des racines et du bas de la tige sont apparues et devenues de plus en plus préoccupantes en vanilleraie naturelle et en ombrière, dès le début de mon travail. La cochenille, totalement absente des vanilleraies de Polynésie en 1998 est devenue très commune dans de nombreux sites de production comme le montre le chapitre 1. Elle nécessite traitements et arrachages des zones les plus envahies. Ce ravageur était déjà connu dans l'Océan Indien où il a fait l'objet d'études biologiques et d'essais de modalités de contrôle chimiques (huiles, plutôt efficaces lorsque bien utilisées) et d'essais d'utilisation d'agents de lutte biologique (Richard et al 2003 ; Quilici et al, 2010). Une autre pathologie fortement signalée dans plusieurs zones de production de la Planète (Tombe et al 1993 ; Tombe et al 1997 ; Tombe et Liew, 2010, Pinaria et al 2010) s'est révélée préoccupante à Raiatea à la fin des années 2000. Il s'agit d'un dépérissement des racines et du bas de la tige, aussi bien sous ombrière qu'en plantation naturelle sous tuteurs vivants.

Vu l'augmentation rapide de cette symptomatologie, c'est ce sujet qui m'a été confié pour mon doctorat avec trois parties qui correspondent aux trois chapitres de résultats, à savoir

- un suivi de cohortes, individu par individu, au niveau sanitaire pour plusieurs pathologies. Ce suivi a été réalisé au niveau d'un nombre important et représentatif de sites de production, hors production forestière en sous-bois.
- une enquête multi-critères des pratiques culturelles conduites par les producteurs, avec volonté de la poursuivre par une recherche d'ordre relationnelle, entre des typologies de conduite agricole et des risques sanitaires
- une identification rigoureuse de l'agent responsable des symptômes de dépérissement racinaire et du bas de la tige du vanillier Tahiti à Raiatea.

La première partie correspondait à la nécessité de faire un point précis concernant la situation sanitaire des vanilleraies dans les « îles sous le vent ». Par souci d'efficacité, j'ai choisi de suivre un ensemble d'exploitations selon deux typologies. Ces deux typologies sont :

- a. un système de production naturel « extensif », sur tuteurs vivants
- b. un système de production « intensif », sous ombrière sur tuteurs en béton.

J'ai retenu ces deux typologies, car ce sont les deux seules qui permettaient un traitement statistique solide, ce qui n'était pas le cas des plantations sous forêt, pour lesquelles la représentation schématique spatiale des individus dans les parcelles était impossible.

Une fois ce choix réalisé, des schémas de quadrillage des parcelles et ombrières ont été faits pour noter individu par individu, carré par carré, et parcelle par parcelle, les différentes pathologies et leur incidence individuelle et globale. Les critères de notation ont été définis pour chaque pathologie, avec des notations par deux notateurs, l'un d'entre eux, à savoir moi-même, étant toujours présent comme témoin de contrôle de mesure. A ma connaissance, ce type de travail a rarement été réalisé, jusqu'à présent en pathologie végétale, contrairement au suivi de cohortes d'individus en santé publique humaine ou encore en santé animale (Barnouin et Sache, 2010 ; Roumagnac et al 2010 ; Sache, 2010). Ce fut un travail très lourd, annuellement, de notations, de saisie, de nettoyage des données puis de traitement des données pour lesquelles j'ai été particulièrement soutenue et encadrée par l'équipe de statistique et modélisation de l'INRA-UPsud le Moulon (Antonin Labat, Judith Legrand et Christine Dillmann). La saisie a été effectuée manuellement les trois premières années et sur tablette la dernière année, ce qui a grandement facilité les choses pour le nettoyage et le traitement des données. J'ai appris à rédiger les scripts avec les collègues du Moulon, mentionnés auparavant, et à comprendre les étapes de traitement de ces données, de même que leur mise en forme pour les rendre le plus explicite possible. Le bilan de ce travail de

suivi sanitaire de cohortes individuelles au sein de parcelles, est très novateur à ma connaissance d'après la littérature. Il a permis de dégager de grands traits de l'évolution sanitaire des parcelles de production de vanille tahiti dans le temps (4 ans de suivi) et dans l'espace (neuf parcelles suivies sur 4 ans et près d'une vingtaine sur 3 ans), et ceci à différents niveaux d'échelle spatiale au sein de chaque parcelle. Il a été également tenu compte, à cause des renouvellements de lianes, de l'état phénologique des lianes au moment des notations. De nombreuses photos ont été prises à différents niveaux d'échelles, et des échantillons ont été récoltés, à chaque passage. Ainsi, j'ai pu générer une base de données extrêmement riche et assez complète du suivi spatio-temporel de plusieurs pathologies, au niveau de ces exploitations pendant 3 à 4 ans. Ce type de base de données me semble assez unique en pathologie végétale, pas seulement sur vanille, d'après ma connaissance de la bibliographie (Savary 1987 ; Avelino et al 2006). Elle doit permettre de mieux comprendre et approfondir certaines observations, corrélations et associations, comme la forte corrélation entre présence de cochenilles et fort développement du dépérissement racinaire, ou encore ente cannelures et dépérissement racinaire. Il avait déjà été proposé que la présence de cannelures sur la tige était annonciatrice d'un manque d'alimentation en eau et donc probablement d'une occlusion des vaisseaux par *Fusarium* (Tombe et Liew, 2010). Il se trouve que le *Fo f sp radiceis-vanillae*, identifié et caractérisé dans le chapitre 3, n'apparaît pas responsable d'occlusion du cylindre central. Toutefois la capacité du pathogène à envahir le cortex périphérique réduit certainement l'apport d'eau au cylindre central d'où effectivement une rapide problématique d'apport en eau dans la partie aérienne. Ce type de symptôme de cannelures sur tige s'avère très corrélé aux symptômes sur racines (mon travail de thèse, Chapitre 1 ; Liew et al 2004 ; Tombe et Liew, 2010). En ce qui concerne la cochenille, la base biologique de la corrélation est plus problématique, si ce n'est qu'il est possible de penser que la pullulation de la cochenille, sur les parties aériennes, affaiblisse très fortement la plante et favorise le développement de parasites en attente dans l'environnement de la plante. C'est peut être le cas pour *Fo f sp radiceis-vanillae* dont l'implication généralisée à l'échelle mondiale, semble démontrer sa présence dans la majorité des substrats de culture. Ce type d'hypothèse pourrait être aisément testé expérimentalement. De bonnes pratiques, doivent permettre assez facilement (huiles en particulier) de se débarrasser de la cochenille. Ce point des pratiques est un élément important que je re-discuterai plus loin en reprenant les leçons issues du chapitre 2, concernant plus précisément leur analyse. En effet, il existe clairement une très grande diversité de pratiques chez les producteurs avec des extrêmes, en termes de soins apportés aux vanilleraies. Le fait d'avoir un tel développement de cochenilles est très préoccupant, car il est

connu que ce ravageur, certes ennuyeux pour la production se contrôle fort bien. Ceci, pourtant, s'est avéré ne pas être le cas dans beaucoup de situations en plantation naturelle ! Et la situation s'est souvent avérée plus grave sous « ombrière ». Cela signifie qu'un minimum de recommandations de conduite de la vanilleraie n'est pas suivi et qu'il y a urgence à continuer à conduire des sessions de formation-suivi des producteurs concernant les pratiques à risques (Wong et al, 2003).

Cette approche, par suivi spatio-temporel de cohortes, a aussi permis de montrer le comportement différent et différentiel entre les pathologies qui ont été observées. Par exemple, il y a eu un pic de pourriture/mildiou à *Phytophthora* en 2011, mais celui-ci ne s'est pas renouvelé ni étendu les années suivantes. Il faudrait regarder les conditions climatiques au moment de cette poussée de mildiou de 2011, répartie dans la majorité des lieux de production analysés. Il est probable que la pluviométrie et l'état de l'eau, spécifiquement à ce moment là puissent avoir été favorables au développement du mildiou, pour lequel il faudra étudier la relation entre climat et situation de crise, pour mieux prévenir ces « accidents ». Ce type de contrôle est déjà bien développé pour d'autres mildious, sur vigne, pomme de terre et tomate notamment de même que pour d'autres pathologies fongiques très dépendantes des conditions climatiques (Sache, 2010). Le développement de la maladie, en fonction du climat, peut être modélisé et des recommandations ciblées faites pour les traitements phytosanitaires (Sache, 2010).

En ce qui concerne le dépérissement des racines, la suspicion est qu'il s'agissait d'un problème sanitaire majeur sur vanilleraie. Cela n'a fait que se confirmer pendant les quatre années d'études. Non seulement cette pathologie était déjà très présente lors de ma première année de surveillance/suivi, mais elle s'est amplifiée pendant les trois années suivantes. Cela a généré de nombreux remplacements de lianes, des abandons d'ombrière, des diminutions de soins et d'attention... en particulier les deux dernières années de mon suivi longitudinal de cohortes. C'est clairement, et de loin, la pathologie la plus importante sur vanille tahiti à Raiatea et la cause principale et majeure du désintérêt progressif des producteurs pour la filière. Mon travail a permis de caractériser, de manière statistique et rigoureuse, grâce à l'étude de cohortes de lianes, cette incidence de la maladie dans toutes les régions de l'île, sur les deux typologies de production retenues. Il permet de faire un constat arithmétique, avec cette évolution constante dans l'espace, dans le temps et de questionner les causalités d'un tel phénomène. Ils ne peuvent résider qu'au niveau des conditions et pratiques culturelles, point que j'ai décidé d'aborder dans le chapitre 2, avec un travail d'enquête multi-critères.

Pour conclure sur le chapitre 1, et en particulier la méthodologie novatrice en pathologie végétale, via le suivi de cohortes d'individus végétaux au sein d'un système de production (plantation naturelle sous tuteurs vivants, ou sous ombrière sur tuteurs artificiels), je soulignerai les points suivants :

- elle permet de suivre plante à plante, en fonction de son évolution phénologique et des pratiques, dans l'espace et dans le temps, l'évolution d'un cortège de maladies. Il est possible de suivre la sévérité des maladies « plante à plante » ;
- elle permet d'identifier ou non, des relations de synergies, antagonisme... entre les pathologies ;
- elle permet de tester les modalités de conduite d'une culture, individu par individu, et leurs effets sur la situation sanitaire.

Cette méthodologie s'est révélée extrêmement puissante et a permis de générer une base de données très fournie pour d'autres études. Cette base de données est utilisée dans le cadre d'une Unité d'enseignement (UE) de Master en bio-statistiques (Dillmann et collaborateurs) à Orsay, ce que j'ai trouvé très satisfaisant car démontrant sa qualité, sa solidité et sa richesse.

Les résultats du Chapitre 1 ayant démontré que le dépérissement des racines et de la base de la tige était bien le problème sanitaire le plus important et le plus menaçant pour la vanilleraie de Raiatea, il m'est apparu important d'analyser quelles pouvaient en être les causes originales et les facteurs aggravants ? Pour cela, il a été décidé de conduire une enquête multi-critères, de type sociologique, auprès des producteurs. Les éléments détaillés de la stratégie, la feuille d'entretien et les modalités de saisie pour le traitement important travail de rédaction de scripts informatiques, de nettoyage de données, à la manière du travail du Chapitre 1, et de traitements statistiques sous R ont bénéficié d'une aide importante d'Antonin Labat (Etudiant Master 1 en Bio-mathématiques pour un stage de 5 mois entre avril et août 2014), Judith Legrand (Maître de conférence en Bio-mathématiques à Orsay) et Christine Dillmann (Professeur en Bio-Mathématiques à Orsay). J'ai beaucoup appris, mais n'ai pas encore compris tous les développements qui ont abouti à la genèse des outils de traitement de données. Néanmoins, j'ai bien compris la pertinence, l'intérêt et aussi les applications de ces outils pour générer des typologies de critères réunis définissant, par exemple, certaines pratiques, qu'il devient ensuite possible

de confronter à la situation sanitaire et donc dégager des typologies de pratiques plus ou moins à risques. Le travail n'est clairement pas terminé. Il nécessite de nouveaux développements bio-mathématiques, et des confrontations avec des modèles, comme dans ce même type d'approche en épidémiologie animale et humaine (Bouyer et al, 2010). Ceci doit être réalisé avec les collègues de l'Unité « statistiques et modélisation » de l'Unité du Moulon qui m'ont encadrée.

Ces études multi-critères présentent les conséquences de leurs avantages. Je signifie par là, que la multitude des critères intégrés a pour vertu de les intégrer et d'en identifier le poids réciproque, mais cela ne peut avoir lieu qu'en ayant :

- les effectifs *ad hoc*, pour chaque élément analysé, en vue des traitements statistiques qui suivront ; et surtout pas trop de biais introduits
- des critères de différenciation et de quantification des réponses des producteurs bien appropriés (exemple de la question du toilettage que je discuterai ci-dessous)
- des outils statistiques et des capacités à éliminer certains critères ne donnant aucun signal pertinent. Il faut assembler les autres critères pour ne ressortir que quelques typologies d'itinéraires techniques. Ceux-ci pourront, une fois bien caractérisés et validés, être utilisés pour être confrontés aux données de situations sanitaires. Il deviendra alors possible d'engager l'étude relationnelle entre « pratiques » et situation sanitaire. Ceci se fera par l'intermédiaire d'ajustements à des modèles.

Le travail réalisé a clairement progressé dans ce sens, mais n'a pu encore être suffisamment abouti pour finaliser ce type de relation. Les quatre typologies, TRAD (Traditionnel), OMB (intensif-stable), OMB-NSP (de TRAD à OMB d'une année à l'autre sous ombrière), et ABSENT (pas ou plus de données pour ces ombrières) n'ont été caractérisées que très récemment et n'ont pu, avec les outils bio-mathématiques suffisants être confrontés aux données sanitaires. Je voudrais néanmoins discuter d'un résultat qui devra être approfondi, car il nous a beaucoup interpellé. Il s'agit de l'intervention appelée « toilettage », qui est une intervention pratiquée par les producteurs lorsqu'ils observent des symptômes sur les lianes. Ils enlèvent les parties nettement malades. J'ai signalé cette intervention dans ma fiche d'observation (Chapitre 1) sans lui donner de valeur arithmétique précise si ce n'est OUI/NON. Je m'en suis aperçue en essayant de regarder ce qui se passait dans l'environnement de lianes qui présentaient des symptômes l'année n-1 et plus de symptômes l'année n. Cette disparition de symptômes avait certainement

son importance, au moins sur les deux premières années de mon étude, à savoir : les plantes voisines des plantes n'ayant plus de symptômes (toiletées et guéries ?) développaient beaucoup moins la maladie que dans les contextes opposés. Comme il a été possible de regarder cela tous les ans et sur différentes pathologies, comme l'antracnose ou le mildiou, il est clair que les différentes maladies ne présentent pas les mêmes comportements. La fusariose, pour laquelle il semble y avoir un effet de pertes de symptômes sur les risques du voisinage les deux premières années, voit cette caractéristique disparaître les deux dernières années, alors que cette caractéristique se maintient bien pour l'antracnose et le mildiou sur les 4 années. Si la quantification et l'assurance de toilettage avaient effectivement été anticipées, ce résultat pourrait être validé et il serait vraisemblablement possible d'affirmer que l'inoculum fongique de *Fusarium* est devenu tellement important, en 3 ans, que l'effet de voisinage a été complètement perdu. Ceci signifie, comme c'est toujours le cas en épidémiologie (Zadoks, 1999), que les études doivent se faire à la fois par réduction d'échelle et aussi par agrandissement d'échelle afin de bien cerner les différentes dimensions. Dans ce travail, j'ai commencé avec un « zoom » large au niveau du nombre de critères, en faisant une surveillance annuelle combinée avec des enquêtes « sociologiques ». Maintenant, avec quelques critères qui se dégagent, il va devenir possible de les travailler de manière quantitative en association avec des producteurs volontaires sur quelques ombrières caractéristiques de chacune des quatre typologies, au moins des trois premières.

Ceci indique que cette approche combinée entre suivi spatio-temporel de cohortes de lianes de vanille en plantation et analyse multi-critères des pratiques culturelles représente une aide à l'orientation des prises de décision et des orientations de recherche à approfondir. Cette approche combinée constitue une véritable force pour avoir une analyse sanitaire, en temps réel, des systèmes de production et donc développer, à terme, des stratégies d'intervention pour chacune des pathologies.

Bien entendu, ces approches de contrôle des pathologies ne peuvent être poursuivies sans connaissance précise des agents pathogènes, de leur biologie, de leur cycle biologique et infectieux, de leur diversité génétique... (Agrios, 2005). C'est ce que je me suis appliquée à faire dans le chapitre 3. Les symptômes de dépérissement racinaire de la vanille bourbon (*Vanilla planifolia*) sont depuis longtemps associés à une pathologie due à *Fusarium* (Tucker 1927, Tombe et Liew 2010). Néanmoins, la plupart des publications mentionnaient d'autres pathogènes dont plusieurs espèces au sein des *Fusarium* (Tucker,

1927, Tombe et Liew 2010). Une des raisons de cette confusion était liée au fait que ces travaux, beaucoup plus anciens, avaient identifié l'(les) agent(s) causal (aux) uniquement sur la base d'identification morpho-anatomiques à partir d'isolements plus ou moins sélectifs (milieu de cultures) à partir de lésions. Et comme souvent, dans une lésion, surtout si elle est âgée, plusieurs micro-organismes, et souvent pas ceux à l'origine de la lésion, se développent, ce qui entraîne des erreurs d'identification (Tombe et Liew 2010). Néanmoins, depuis un certain temps, des travaux plus complets, résidant notamment sur des tests de Koch avec des tests de pouvoir pathogène robustes (Pinaría et al 2010) ont permis de confirmer l'existence de *Fusarium* pathogènes dans ce type de pathologie et le plus souvent un *Fusarium oxysporum* qui a été nommé *forma specialis vanillae* par Tucker 1927, Alconero, 1968. Cet agent pathogène a été identifié comme associé aux symptômes de dépérissement dans plusieurs régions du monde où la production de vanille bourbon est importante (Mexique, Caraïbes, Océan Indien, Indonésie, Inde). D'autres *Fusarium*, notamment *Fusarium solani*, *Fusarium proliferatum* ... ont également été mentionnés comme présents, mais leur contribution au pouvoir pathogène est restée controversée (Tombe et Liew, 2010). Toutefois, plusieurs publications soulignent *F. solani*, comme souvent présents dans les lésions et l'associent à cette pathologie, et ce de manière répétée dans la littérature (Tombe et Liew 2010). Pratiquement aucune étude ne fait référence à la diversité du pouvoir pathogène et à la diversité génotypique des souches isolées, jusqu'à présent, si ce n'est un travail sous presse de l'équipe d'E Liew (Pinaría et al, sous presse). Mon travail a montré que *Fusarium oxysporum f. sp. radialis-vanillae* était bien l'agent majoritairement responsable du dépérissement racinaire et du bas de la tige de la vanille Tahiti (*Vanilla ×tahitensis*) comme c'est également bien le cas sur la vanille bourbon (*Vanilla planifolia*) (Pinaría et al 2010 ; Koyyappurat et al en cours de rédaction), à Raiatea. Des expériences croisées avec l'équipe de Michel Grisoni à l'île de la Réunion ont permis de montrer, en zone non productrice à Montpellier, que les souches isolées sur vanille tahiti étaient pathogènes sur vanille bourbon et réciproquement. Il a même été montré qu'une souche isolée à Raiatea, atypique car isolée de gousse, se révélait être la plus pathogène de toutes les souches isolées à Raiatea mais aussi dans l'Océan Indien (Koyyappurat et al en cours de rédaction). Ainsi, il apparaît bien que la fusariose du vanillier est généralisée à l'ensemble des zones de production de vanille, que ce soit de la vanille bourbon (très majoritaire, à 97% de la production mondiale partout dans le monde sauf en Polynésie française) ou la vanille Tahiti (minoritaire, à 2% environ de la production mondiale essentiellement en Polynésie française et un peu en Indonésie et en

Papouasie/Nouvelle-Guinée) qui a fait plus précisément l'objet de mon travail de thèse. Il apparaît également que *Fo f sp radidis-vanillae* est l'agent majoritaire de cette maladie en très forte expansion, et principale responsable, actuellement, de la limitation voire diminution des surfaces de production, quelles que soient les types de production, en particulier intensives (Pinaría et al 2010 ; Tombe et Liew et al 2010 ; Koyyappurat et al en cours de rédaction) sous ombrières, dans toutes les zones de production à l'échelle mondiale. La « fusariose » a été signalée dès la mise en production de la vanille dans les zones de production (Madagascar, Mexique, Caraïbes) selon Tucker, 1927) au début du XXème siècle. Elle avait également été signalée en Polynésie (Bouriquet, 1954), mais jamais à des niveaux aboutissant à la nécessaire restriction de la production, comme c'est devenu le cas depuis le début des années 2000. Le suivi longitudinal, spatio-temporel, de cohortes dans les lieux de production, dans le Chapitre 1 de mon manuscrit, permet de bien comprendre cette vitesse extrêmement rapide de développement de la maladie à Raiatea. L'intensification a probablement participé à l'amplification de l'inoculum et à l'augmentation des dégâts, quoique la maladie soit également présente, de manière notable, dans des systèmes de production moins intensifs, sous tuteurs vivants.

Il faut encore affiner le traitement des données et les typologies d'itinéraires techniques (voir discussion Chapitre 2), confronter ces données à des modèles... mais ce travail permettra petit à petit de laisser entrevoir des pistes d'itinéraires techniques à privilégier, ou non, vis-à-vis de cette pathologie préoccupante. Il est clair qu'un travail va devoir être dédié au substrat et donc au compost, et à sa composition microbienne, favorable ou non à la multiplication des souches pathogènes de *Fo f sp radidis-vanillae*, voir *Fusarium solani*, dont le rôle dans la maladie reste suspect sur vanille tahiti, à Raiatea. Les études nécessiteront un inventaire des microbes majeurs présents dans ces composts, de chercher des relations entre types de composts, comme les compositions microbiennes et les conditions favorables ou non au développement de la maladie. Des approches, comme celles développées avec succès sur l'œillet (Alabouvette, communication personnelle), impliquant une flore compétitrice, notamment à partir de *Fo* non pathogènes pourra également être envisagée, comme des ensemencements de compost avec des flores microbiennes qui pourraient être défavorables aux souches pathogènes (Alabouvette, communication personnelle). Par ailleurs, des outils de diagnostic peuvent maintenant être développés à partir des outils moléculaires qui ont été utilisés pour identifier *Fo f sp radidis-vanillae*. Au même titre que pour les viroses (Richard et al 2009) cela permettra de

se prémunir de l'introduction de lianes contaminées, lors des replantations. Bien sûr la démonstration que *Fo f sp radialis-vanillae* ne colonise pas le cylindre central (Koyyappurat et al, en cours de rédaction) est assez encourageante. Toutefois, une analyse systématique sera nécessaire pour s'en assurer d'autant que la souche la plus agressive a été isolée de gousses. Ceci signifie que ce champignon, lorsqu'il est très agressif, peut se retrouver sur toutes les parties de la plante, y compris aériennes.

Bien que l'étude de génétique des populations ait été très limitée pour l'instant à Raiatea, le but ayant été avant tout d'identifier l'espèce pathogène responsable des symptômes, il n'en reste pas moins que la dizaine de souches de *Fo f sp radialis-vanillae* identifiées et caractérisées dans différents lieux de production aux « quatre coins » de l'île de Raiatea se sont révélées très monomorphes génétiquement, de manière très opposée à ce qui a été constaté en Indonésie (Pinaría et al sous presse) ou encore dans les lieux de production de l'Océan Indien, Madagascar, Réunion, Mayotte, Comores (Koyyappurat et al en cours de rédaction). Une étude de plus grande envergure va devoir être maintenant conduite avec des isolements plus systématiques dans les lieux prospectés lors de cette thèse et dans les îles voisines de Tahaa, Huahine et Moorea, également productrices de vanille tahiti, afin de confirmer ou infirmer cette première indication de faible diversité génétique au sein de *Fo f sp radialis-vanillae* à Raiatea, plus globalement dans les zones de production de vanille tahiti en Polynésie française. Ce travail est essentiel car il participera à définir les méthodes d'exploitation de la résistance génétique d'une part, de contrôle aux frontières de possibles introductions d'autre part et enfin de principe de précaution dans les conduites des cultures de vanille.

- si le monomorphisme des souches de *Fo f sp radialis-vanillae* est confirmé, cela signifie que l'agent pathogène est peu diversifié génétiquement et que le développement de variétés résistantes de *Vanilla tahitensis* vis-à-vis d'une souche contrôlera rapidement la maladie sur l'ensemble des exploitations de Raiatea, voire en Polynésie.
- s'il est finalement trouvé une grande diversité génétique au sein des souches, alors la situation sera similaire aux autres régions du monde, et l'approche de la résistance génétique sera plus complexe à mettre en place. Elle devra être nécessairement combinée avec une prophylaxie, des méthodes de conduite adaptées au contrôle de la maladie. Les méthodes de prophylaxie et les itinéraires techniques associés sont encore à tester et approfondir.

En ce qui concerne la résistance génétique, il a été observé par le passé une base génétique de résistance dans des espèces différentes, *Vanilla pheantha* (Theis et Jimenez, 1957), mais également *Vanilla pompona* (vanillon, cultivé pour les cosmétiques, dans les Antilles) (Koyyappurat et Grisoni, communication personnelle). Un croisement entre *Vanilla ×tahitensis* et *Vanilla pompona*, dont la descendance est actuellement étudiée pour la résistance, a été réalisé à Raiatea par Sandra Lepers et ses collaborateurs (communication personnelle), dans le cadre de l'ANR Vabiome (UMR PVBMT la Réunion, EVT Polynésie, IBP UPSud-Orsay, Parc National Guadeloupe, Conservatoire Mascarin Mayotte-La Réunion). Bien qu'encore préliminaires, les premiers résultats semblent mettre en évidence quelques locus à effets forts sur la ségrégation de la résistance à *Fo f sp radicis-vanillae* chez *Vanilla pompona* et donc transmissible à *Vanilla ×tahitensis* et *Vanilla planifolia*. Cette dernière espèce est l'une des 2 parents de *Vanilla ×tahitensis* (Lubinski et al, 2008). Ceci signifie que si le scénario 1 sur la monomorphie génétique de *Fo f sp radicis-vanillae* à Raiatea est validé, alors des nouveaux variants résistants de *Vanilla ×tahitensis* pourraient être disponibles à la production d'ici 5 à 10 ans, ce qui génèrera un fort espoir pour l'avenir, sachant qu'il faudra également travailler, d'ici là, sur les itinéraires techniques et le contrôle microbien des substrats.

Donc pour conclure, voici les principaux messages qui me semblent issus de ce travail :

- j'ai validé l'importance de *Fusarium oxysporum forma specialis radicis-vanillae*, comme agent principalement responsable du dépérissement des racines et du bas de la tige de la vanille tahiti.
- en raison du nombre de souches étudiées génotypiquement, il est encore difficile de dire si ce pathogène est vraiment monomorphique génétiquement à Raiatea, mais plusieurs indices l'indiquent fortement (entre 5 et 10 lieux de prélèvements différents sur les lieux de production différents et éloignés de manière maximale sur l'île de Raiatea).
- j'ai identifié un autre *Fusarium*, *Fusarium solani*, souvent présent dans les lésions à partir desquelles j'ai fait les isollements. Il est pathogène, mais présente des symptômes différents dans le cadre du test de Koch réalisé sur vitro-plants. Il s'agit de pourritures sèches, non molles, comme celles que j'ai observées lors des tests avec les souches de *Fo f sp radicis-vanillae*. Le rôle réel, « en pratique », de *Fusarium solani*

dans le développement de la maladie dite fusariose des racines et du bas de la tige reste controversé et devra être approfondi. Il faudra étudier le processus infectieux, le cycle de vie et l'interaction, ou non, avec *Fo f sp radialis-vanillae*.

- J'ai apporté mon aide, via la transmission de la souche (FoP12) à Sayuj Koyyappurat (doctorant avec M. Grisoni, UMR PVBMT-Saint Pierre de la Réunion) pour démontrer « l'universalité » de l'espèce « *radialis* »-*vanillae*, non colonisatrice du cylindre central, comme responsable de la fusariose de la racine et du bas de la tige de la vanille. Nous avons ainsi contribué à l'identification d'une nouvelle espèce, via sa biologie spécifique limitée à la destruction du cortex externe racinaire, sans systémie vasculaire. Ceci aura un impact, notamment sur le suivi du contrôle de replantation des boutures. Cette expérience, réalisée à Montpellier-Cirad/INRA/hors zone de production/, a également permis de montrer que les souches isolées dans l'Océan Indien sur *Vanilla planifolia* étaient pathogènes sur *Vanilla planifolia* et *Vanilla ×tahitensis* avec des niveaux de pouvoir pathogène sur vitro-plants, assez similaires. Ceci donne un caractère « universel » à ce pathogène et à la maladie qu'il génère, sur les deux vanilliers majoritairement cultivés pour leurs arômes alimentaires, *bourbon* et *tahiti*, dans des régions du monde très différentes.
- j'ai développé des outils d'investigation originaux en pathologie-épidémiologie végétale en observant, de manière spatio-temporelle, des parcelles de production de vanille par suivi individuel des lianes pour différentes pathologies de manière simultanée. Ceci correspond aux approches de suivi de cohortes en épidémiologie humaine et animale.
- j'ai, avec mon encadrement – en particulier à la station du Moulon-, développé des scripts permettant de traiter statistiquement, sous R, ma base de données d'observations des pathologies (en cohorte) et d'enquête auprès des producteurs. A ma connaissance, ce genre d'approche a été peu utilisé en pathologie végétale. La base de données constitue, en soi, une richesse considérable pour le traitement et la comparaison des données.
- j'ai suivi, avec précision, le développement et l'évolution de plusieurs pathologies, par suivi de cohortes individuelles de lianes de vanille tahiti (variétés « *Tahiti* » et « *Haapape* »), dans un ensemble de sites de production, pendant 4 ans pour une quinzaine de sites de production et 3 ans pour une quarantaine de sites, incluant les sites précédents. Entre autres, j'ai pu démontrer et quantifier l'incidence grandissante du dépérissement du système racinaire et du pied de la tige, donc de la fusariose due à

*Fo f sp radicis-vanillae*, dans tous les milieux de production de l'île de Raiatea. J'ai également suivi les autres pathologies majeures dans ces productions et caractérisé plusieurs éléments de leur développement épidémique en production, leurs synergies, antagonismes....

- via l'enquête sociologique multi-critères, à l'aide d'outils mathématiques développés par mon encadrement (Judith Legrand et Christine Dillmann) et l'aide d'Antonin Labat au Moulon-Orsay, j'ai pu commencer à caractériser des typologies d'itinéraires techniques de production de vanille tahiti et les confronter à la réalité sanitaire, en particulier vis-à-vis de la fusariose des racines et du bas de la tige. Bien qu'encore préliminaire, et nécessitant des approfondissements statistiques et d'ajustement à des modèles, j'ai pu identifier 4 typologies d'itinéraires techniques, caractérisés en fonction de critères multiples différenciant des cultures sous tuteurs naturels, bien entretenues à relativement faibles intrants, des cultures sous ombrières, intensives et impliquant « beaucoup » d'intrants, des cultures sous ombrières pour lesquelles les itinéraires sont très variables d'une année à l'autre (de très faible à très importante intervention), et une modalité liée aux abandons de production-interdictions de visites des lieux d'exploitation. Une fois approfondis, ces travaux permettront de définir des approches de conduite(s) de production de vanille tahiti mieux adaptées au contrôle, notamment en travaillant sur la composition microbienne des composts et les risques de blessures des racines et du bas de la tige, très propices à l'infection par *Fo f sp radicis-vanillae*.

Les questions initiales qui avaient été posées lors du démarrage de mon travail de thèse étaient :

1. quel est l'agent responsable du dépérissement de la tige de la vanille tahiti, dont l'importance apparaissait grandissante lors que j'ai commencé ?
2. quelle est la réelle incidence de la maladie dans les lieux de production de vanille tahiti à Raiatea ?
3. y a-t-il des pratiques de production à risque vis-à-vis du développement du dépérissement racinaire et du bas de la tige de la vanille tahiti ?

Il me semble avoir précisément répondu aux questions 1 et 2, en apportant la preuve que

1. l'agent responsable de cette pathologie était essentiellement *Fo f sp radicis-vanillae*, avec un rôle potentiel à vérifier pour *Fusarium solani* ?

2. que cette pathologie provoque effectivement des dégâts en constante augmentation dans les lieux de production de vanille tahiti à Raiatea, mesurables de manière détaillée. Elle se développe très rapidement, limitant la période de production à 1 ou 2 ans voire même empêchant, de plus en plus, la mise en production à 2 ans des lianes, d'où l'abandon progressif de la production par de nombreux producteurs ces trois dernières années, pendant la période de mon étude.
3. Sans être définitivement conclusive sur ce point, j'ai (avec l'aide essentielle de mon encadrement) développé des outils mathématiques et statistiques pour définir des typologies d'itinéraires techniques/systemes de production qu'il a été possible de confronter avec des situations sanitaires.



**Références**

**bibliographiques**

## Références bibliographiques

- Alconero, R. (1968), Infection and development of *Fusarium oxysporum f. sp. vanillae* in roots, *Phytopathology*, 58, 1281-1283.
- Alconero, R. (1968). Natural and artificial infection of vanilla roots by *Fusarium oxysporum f.sp. vanillae* and *Rhizoctonia spp.* *Phytopathology*, 58, 553.
- Agrios, G.N. (2005). *Plant Pathology*. 5ed., Elsevier Academic Press, San Diego, 922p.
- Avelino, J., Zelaya, H., Merlo, A., Pineda, A., Ordonez, M., Savary, S. (2006) The intensity of a coffee rust epidemic is dependent on production situations. *Ecological modelling* 197 431–447
- Barnouin J. et Sache. *Les maladies émergentes. Epidémiologie chez le végétal, l'animal et l'homme*. Quae, Synthèses, 444pp
- Beajeau J. (2002). Petite histoire de l'introduction et de la fructification du vanillier (*Vanilla planifolia* Jacks. ex Andrews) au jardin botanique de l'Université de Liège et à l'île de La Réunion. Extrait de *Natura Mosana* 55 (4), 73 – 85
- Bory, S., Brown, S., Duval, M. F., & Besse, P. (2010). Evolutionary Processes and Diversification in the Genus *Vanilla*, 2, 15- 29 in Odoux & Grisoni Eds *Vanilla*, CRC Press
- Bouriquet, G. (1954). *Le vanillier et la vanille dans le monde*. Editions Paul Lechevalier, Paris, 748p.
- Bouriquet G (1954) Culture 429-458 ; dans *le vanillier et la vanille dans le monde*, R Portères Ed, Le Chevalier, Paris
- Bouriquet, G. 1959. Une base de la parfumerie : la vanille. *La France et ses Parfums* 2, 1-10
- Bouriquet, G. (1963), La culture du vanillier hors de ses zones traditionnelles, *Cahiers de la Maboké (CAF)*, 1963/07, vol. 1, p. 33-41.
- Bouyer J., Hémon D., Cordier S., Derieunic F., Stucker I., Stengel B. et Clavel J. (2010) *Epidémiologie. Principes et méthodes quantitatives*, Lavoisier, 498pp
- Brunschwig C. (2009). Contribution à la caractérisation phytochimique et sensorielle de la vanille de Tahiti (*Vanilla tahitensis*). Thèse de Doctorat, Université de la Polynésie française, Papeete.
- Brunschwig C., Collard F.X., Bianchini, J.P., Raharivelomanana P., Evaluation of chemical variability of cured vanilla beans (*Vanilla tahitensis* and *Vanilla planifolia*). (2009) *Natural Product Communications*, 4(10), 1393-1400

- Costantin J, Bois D. 1915. Sur trois types de vanilles commerciales de Tahiti. Comptes rendus de l'académie des Sciences de Paris 161: 196-202.
- Delarue, B. (2011). Développement de la lutte contre la fusariose sur *Vanilla ×tahitensis* en Polynésie française : lutte culturale et test de sensibilité au *Fusarium*. Mémoire de fin d'étude. ISTOM Ecole supérieure d'Agro-Développement International, 121p.
- Dequaire J. (1976). L'amélioration du vanillier à Madagascar, Journal d'agriculture tropicale et de botanique appliquée, T. XXIII, 140-158
- Edel, V., Steinberg, C., Gautheron, N., Recorbet, G., Alabouvette, C. (2001), Genetic diversity of *Fusarium oxysporum* populations isolated from different soils in France. Fems Microbiology Ecology, 36, 61-71.
- Farreyrol, K., Pearson, M.N., Grisoni, M., Leclercq-Le Quillec F. (2001). Severe stunting of *Vanilla tahitensis* in French Polynesia caused by Cucumber mosaic virus (CMV), and the detection of the virus in *V. fragrans* in Reunion Island. Plant Pathology 50, 414
- Florence J, Guérin M. 1996. A propos de la vanille à Tahiti. L'orchidée 13 :84-87
- Fouché, J.G. & Jouve, L. (1999). *Vanilla planifolia*: history, botany and culture in Reunion Island. Agronomie, 19, 689–703
- Grisoni M., Davidson F., Hyrondelle C., Farreyrol K., Caruana M.L. & Pearson, M, (2004). Nature, incidence and symptomatology of viruses infecting *Vanilla tahitensis* in French Polynesia. Plant Disease, 88, 119-124.
- Grisoni, M., Pearson M. & Farreyrol K. (2010). Virus diseases of Vanilla. Vanilla, 8, 97-116. in Odoux, E. & Grisoni M. ,Eds Vanilla, CRC Press
- Hernandez-Hernandez J. (2010) Mexican vanilla production 1-50; dans Handbook of Vanilla Science and Technology, Havken-Frankel, Belanger et Faiths Eds, J Wiley et fils
- Hernandez-Hernandez J. (2010) Vanilla diseases 51-83 ; dans Handbook of Vanilla Science and Technology, Havken-Frankel, Belanger et Faiths Eds, J Wiley et fils
- Hernandez-Hernandez J. & Lubinski P. (2010) Cultivation systems dans Odoux et Grisoni Eds Vanilla, CRC Press
- Hilmer J.M., Hammerschmidt F.J. & Lösing, G. (2010). Authentication of vanilla Products, 15, 237-249. In Odoux & Grisoni Eds Vanilla, CRC Press
- Hojsgaard, S. (2006). The R Package geepack for Generalized Estimating Equations. Journal of Statistical Software, 15(2),1-11.
- Huguenin, B. (1962). Rapport de mission en Polynésie française (du 12.9.62 au 20.10.62) (p. 44).

- Le Bellec, F. (2002). La culture du vanillier. Guadeloupe (FR) : document technique CIRAD-FLHOR,. 17p.
- Le Guen, R. (2011). Etude de la diversité génétique de *Fusarium oxysporum f. sp. vanillae* à La Réunion, agent du dépérissement des racines des vanilliers (*Vanilla* spp.) et mise au point d'une méthode d'évaluation des interactions entre souches du champignon et génotypes de vanilliers. Mémoire de stage. Ecole Supérieure d'Agriculture d'Angers, Angers (France).
- Lepers, S. (2010). Etude de la diversité génétique et de la structure du génome des vanilliers cultivés en Polynésie française. Thèse de doctorat, Université Paris XI.
- Lepers-Andrzejewski, S., C. Brunschwig, F.X. Collard, & M. Dron. (2010). Morphological, chemical, sensory and genetic specificities of tahitian vanilla. p. 205—228. In E. Odoux and M. Grisoni (ed.). *Vanilla*. CRC Press, New York.
- Lepers-Andrzejewski, S., & Dron, M. (2010). Vanilla production in French Polynesia, 361-368 dans Odoux et Grisoni Eds *Vanilla*, CRC Press
- Lepers-Andrzejewski, S., Causse, S., Caromel, B. (2012). Genetic Linkage Map and Diversity Analysis of Tahitian Vanilla ( $\times$ , Orchidaceae). *Crop Science*, 52 (2), 795-806.
- Leslie, J. F., & Summerell, B. A., (2006), *The Fusarium Laboratory Manual*, 1 ed., Blackwell Publishing, Iowa, 388p.
- Liew, E. C. Y., Rondonuwu, F., Pinaria, A., Sembel, D. T., Summerell, B.A., and Burgess, L. W. 2004. *Fusarium* stem rot of vanilla in North Sulawesi. (Abstr.) *Phytopathology* 94(suppl.):S61.
- Lubinsky, P., Bory, S., Hernandez, J., Kim, S., Gomez-Pompa, A. (2008), Origins and dispersal of cultivated vanilla (*Vanilla planifolia jacks*. [Orchidaceae]), *Economic botany*, 62, 127-138.
- O'Donnell, K., & Cigelnik, E. (1997). Two Divergent Intragenomic rDNA ITS2 Types within a Monophyletic Lineage of the Fungus *Fusarium* Are Nonorthologous. *Molecular phylogenetics and evolution*, 7, 103-116.
- O'Donnell, K., Kistler, H.C., Cigelnik, E., Ploetz, R.C. (1998), Multiple evolutionary origins of the fungus causing Panama disease of banana: Concordant evidence from nuclear and mitochondrial gene genealogies. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 95, 2044-2049.
- Odoux, E., & Grisoni M. (2010). *Vanilla*, 1 ed., CRC Press Taylor & Francis Group, Boca Raton, United States of America, 387p.

- Olivain, C., & Alabouvette, C. (1997), Colonization of tomato root by a non-pathogenic strain of *Fusarium oxysporum*, *New Phytologist*, 137, 481-494.
- Olivain, C., Humbert, C., Nahalkova, J., Fatehi, J., L'Haridon, F., Alabouvette, C., (2006), Colonization of tomato root by pathogenic and nonpathogenic *Fusarium oxysporum* strains inoculated together and separately into the soil, *Applied and environmental microbiology*, 72, 1523-1531.
- Pan, W. (2001). Akaike's Information Criterion in Generalized Estimating Equations. *Biometrics*, 57(1), 120-125.
- Petard, P. (1986) *Plantes utiles de Polynésie française et raau Tahiti. Haere po no tahiti*, Papeete, 354p.
- Pinaria, A., Burgess, L. W., & Liew, E. C. Y. (2008). *Fusarium* species associated with vanilla stem rot in Indonesia. *Journal of Plant Pathology*, 90, S3.86.
- Pinaria, A.G. (2009). *Fusarium-vanilla*, University of Sydney, Sydney. 146p.
- Pinaria AG, (2010). *Vanilla Stem Rot in Indonesia: Pathogen Diversity, Population Structure and Origin*. PhD Thesis, The University of Sydney, Sydney, Australia.
- Pinaria, A.G., Liew, E.C.Y. & Burgess, L.W. (2010), *Fusarium* species associated with vanilla stem rot in Indonesia, *Australasian Plant Pathology*, 39, 176–183.
- Portères, R. (1951). Nouvelles espèces et observations sur le vanillier de Tahiti. *Bulletin de la Société Botanique de France* 6, 639-640.
- Portères, R. (1954). Le genre *Vanilla* et ses espèces, in: Bouriquet, G., *Le vanillier et la vanille dans le monde*, Editions Paul Lechevalier, Paris, pp. 94-290.
- Prentice, R.L. & Zhao, L.P. (1991). Estimating equations for parameters in means and covariances of multivariate discrete and continuous responses. *Biometrics*, 47, 825-839.
- Quilici S., Richard A. & Le Roux K. (2010) Bio-ecology and control of an emerging vanilla pest, the scale *Conchaspis angraeci* 141-146 dans Odoux et Grisoni Eds *Vanilla*, CRC Press
- Richard A, Rivière C, Ryckwaert P, Come B. et Quilici S. (2003). Un nouveau ravageur de la vanille, la cochenille *Conchaspis angraeci*. Etude préliminaire à la mise en place d'une stratégie de lutte raisonnée à la Réunion. *Phytoma la défense des végétaux*, 562, 36-39.
- Richard A., Farreyrol K., Rodier B., Leoce-Mouk-San K, Wong M., Pearson M. & Grisoni M. (2009). Control of virus diseases in intensively cultivated plots of french polynesia. *Crop Protection*, 28, 870-877
- Roumagnac P., Robene-Soustrade I., Humeau L., Gagnevin L., Chiroleu F., Jeuffault E. & Pruvost O. (2010) Le dépérissement bactérien des alliées, émergence d'une phyto-

- bactériose 211-220. Dans Les maladies émergentes, Barnouin et Sache coordinateurs, Quae, Synthèses
- Sache, I., (2010). Les maladies émergentes affectant les végétaux ,2 ,21-29. Barnouin J. et Sache. Les maladies émergentes. Epidémiologie chez le végétal, l'animal et l'homme. Quae, Synthèses, 444pp
- Sarma, Y., Thomas, J., Sasikumar, B., Varadarasan, S. (2010), Vanilla Production in India. In: Vanilla.
- Savart, J.M. 2003. Vanille et parfums. Bulletin de la Société de Pharmacie de Bordeaux 142, 163-170
- Savary, S. (1987). Enquête sur les maladies fongiques de l'arachide (*Arachis hypogaea*) en Côte-d'Ivoire. I. Méthodes d'enquête et étude descriptive: les conditions culturales et les principales maladies. Netherlands Journal of Pathology, 93,167-188
- Soto Arenas, A.M. (2003). in Pridgeon AM, Gribb PJ, Chase MW, Rasmussen FN *Vanilla* in Genera *Orchidacearum*. Vol. 3. Orchidoideae (part2). Oxford University Press
- Soto Arenas, M.A., Dressler, R.L. (2010), A revision of the Mexican and Central American species of *Vanilla plumier* ex Miller with a characterization of their ITS region of the nuclear ribosomal DNA, Lankesteriana, 9, 285-354.
- Stehlé H. (1954). Chapitre V. Ecologie in Le vanillier et la vanille dans le monde, Encyclopédie biologique: 291-334, Paul Lechevalier Ed, Paris
- Tamura, K., Peterson, D., Peterson, N., Stecher, G., Nei, M., Kumar, S. (2011). MEGA 5: Molecular Evolutionary Genetics Analysis using Maximum Likelihood, Evolutionary Distance, and Maximum Parsimony Methods. Molecular Biology and Evolution, 28, 2731-3739
- Tamura, K., Stecher, G., Peterson, D., Filipski, A., and Kumar, S. (2013). MEGA 6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 6.0. Molecular Biology and Evolution, 30, 2725-2729.
- Theis, T., & Jiménez, F. A. (1957). A vanilla hybrid resistant to fusarium root rot, Phytopathology, 47, 579-581.
- Thomas, J., Vijayan, A.K, Bhai, R.S. (2002). Vanilla disease in India and their management. Indian Journal of Arecanut Spices & Medical Plants, 4, 143-149.
- Tombe, M., Komoto, Y. & Tezuka N. (1993). Identification and cultural types of *Fusarium* isolates from *Vanilla* in Indonesia. Industrial Crop Research Journal, 6, 1-5.
- Tombe, M., Sitepu, D., Mogi, S. (1997). Present status of biological control research of vanilla stem rot disease in Indonesia. In 'Proceedings of the 4th international workshop

- on plant growth promoting rhizobacteria, Sapporo, Japan'. (Eds A Ogoshi, K Kobayashi, Y Homma, F Kodama, N Kondo, S Akino) pp. 13–21. (OECD: Paris)
- Tombe, M., & Liew, E.C.Y. (2010). Fungal diseases of vanilla, 8, 125-137. In: *Vanilla*. Odoux, E. & Grisoni, M., CRC Press
- Tsao, P. H., & Mu, L. (1987). Phytophthora blight and root rot of vanilla in French Polynesia : occurrence and causal species, Manila Phillipines
- Tucker, C. M. (1927). Vanilla root rot. *Journal of Agricultural Research*, 35, 1121–1136.
- Wald, A. (1943). Tests of Statistical Hypotheses Concerning Several Parameters When the Number of Observations is Large. *Transactions of the American Mathematical Society*, 54 :426-482.
- White, T. J., Bruns, T., Lee, S., and Taylor, J. (1990). Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. Pages 315-322 in: *PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications*. D. H. G. M.A. Innis, J.J. Sninsky & T.J. White, ed. Academic Press, New York (USA).
- Wong C., Wong M. & Grisoni M. (2003). Culture de la vanille. Fiches techniques, 37 pp, SDR Polynésie française.
- Zadoks, J.C., (1999). Reflections on space, time and diversity. *Annual Review Phytopathology*, 37, 1-17
- Zaubin R. Tombe, M. & Liew, E.C.Y. (2010). Vanilla production in Indonesia. *Vanilla*, 19, 283-293 dans Odoux & Grisoni Eds *Vanilla*, CRC Press

[GenBank, Blast, http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi](http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi)

<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>

<http://multalin.toulouse.inra.fr/multalin/multalin.html>).

<http://phylogeny.lirmm.fr/phylo.cgi/index.cgi>)

<http://www.cbs.knaw.nl/fusarium/defaultinfo.aspx?Page=Home>)



**Annexes**

## Annexes

**Annexe 1** : Le questionnaire d'enquête (Timeri A.)

	<b>Enquête agro-pathologique</b>	Réf. DCS :.....
	<b>Questionnaire</b>	Date :...../...../20..... Début d'Intervention :....h..... <input type="checkbox"/> Plan de la parcelle

**Vanilliculteur :**

**NOM** :.....**Prénom** : .....

N°EVT :.....

Ile : ..... Commune :.....Référence géographique : .....

Adresse Postale :.....

N° de Tél. : Vini :.....-.....-..... Domicile : .....-.....-..... Professionnel :.....-.....-.....

**Plantation sous Ombrière**

**Plantation Traditionnelle**

Date de plantation: ...../...../.....

Date de plantation :...../...../.....

288 m<sup>2</sup>

1152 m<sup>2</sup>

Nbr de tuteurs :.....

576 m<sup>2</sup>

1920 m<sup>2</sup>

Surface en m<sup>2</sup>.....

Variété : Haapape.....tuteurs

Variété : Haapape..... tuteurs

Tahiti.....tuteurs

Tahiti.....tuteurs

**1- ÉTAT DE LA PRODUCTION**

-Présence de bouts « pendants », durant la période de production :  OUI  
 NON

-Présence de dégâts sur les boutons de fleurs :  OUI  
 NON

-Taches sur les gousses :  OUI  NON

-Chute de gousses :  OUI  NON  - 10 %  de 25% à 50%  +75%

**2- ÉTAT DES LIANES**

**-Respect de l'hygiène de travail :**

- désinfection des outils et des mains :  OUI  NON
- fermeture de la porte (culture sous ombrière) :  OUI  NON
- élimination des lianes malades :  OUI  NON
- remplacement des lianes malades :  OUI  NON

**-Vigueur des lianes :**

Couleur :  Bon  Moyen  Mauvais  
 (Vert) (25 à 50% des tuteurs jaunes) (75% des tuteurs jaunes)

Cannelures :  Non  10 % des tuteurs  25% à 50% des tuteurs  75% des tuteurs

Epaisseur des touffes :  - de 3 bouts pendants  3-10 bouts pendants  +10 bouts pendants

**-Symptômes de maladies : (noter les tuteurs malades sur le plan)**

-Fusariose:  OUI  NON Nbr tuteurs :.....

-Mildiou / Phytophthora (pourriture molle) :  OUI  NON Nbr tuteurs :.....

-Anthracnose (tache brune et sèche) :  OUI  NON Nbr tuteurs :.....

**-Présence d'insectes :**

-Cochenilles :  OUI  NON Nbr tuteurs :.....

-Piqûres d'insectes (Thrips) :  OUI  NON Nbr tuteurs :.....

-Autres nuisibles (*limaces, souris, oiseaux, etc.*) :  OUI  NON  
 Nbr tuteurs :.....

**3- ETAT DU COMPOST****Compost aux pieds des lianes :**

-Composition :  Aucun compost

Bourres de coco .....%

Bois .....%

Feuillage .....%

Autres .....%

Matières organiques non broyées (tronc, bourre de coco etc...).....%

- Nature du compost : (*profond, superficiel, boueux*).....

.....

- Epaisseur du compost dans les bacs :  insuffisant <5cm  suffisant 20cm  excès 40cm

- Humidité du compost dans les bacs (test de la poignée):  bon  sec  
 excès

- Age approximatif du compost:  
 0 – 2 mois  3 - 6 mois  + de 6 mois

**Compost de l'aire de compostage :**

-Stock de déchets végétaux:  0  de 0 à 20 m<sup>3</sup> + de 20 m<sup>3</sup>

-Stock de compost:  0  de 0 à 10 m<sup>3</sup> + de 10 m<sup>3</sup>

-Composition:  bourres de coco .....%  
 bois .....%  
 Feuillage .....%  
 autres .....%  
 Matières organiques non broyées (*tronc, bourre de coco etc.*).....%

-Mélange du compost :  Non 1 fois/mois  2 fois/mois

**4- DONNEES ENVIRONNEMENTALES**

Exposition de la parcelle: ..... Altitude :..... Pente :.....

pH mesuré : acide..... neutre.....  Basique.....

Condition de végétation de l'année :.....

.....  
 .....

Evènements anormaux des dernières années :

- climatiques (sècheresses, fortes pluies, pics de froid etc...) :.....  
 .....

- biologiques (attaques de maladies ou ravageurs) :.....  
 .....

Nature des cultures précédentes (*en cas d'assolement ou de reconversion*) :.....

.....  
 Nature des cultures avoisinantes :.....

.....  
 Conditions climatiques environnantes : (*pluvieux, sec, ventilé,*).....

Conditions climatiques au sein de la parcelle : (*humide, sec, aéré etc...*)  
 .....

Répartition spatiale des plantes, densité de plantation.....  
 .....

## **5- TECHNIQUE ET ENTRETIEN DE LA CULTURE**

- Nutrition des plantes :  Engrais minéraux  Engrais organique
- Maîtrise du bouclage :  Correct  Mauvais
- Bouclage sur tuteurs :  Aucun  Quelques uns  Tous
- Bouclage dans le compost :  OUI  NON
- Bonne orientation du bourgeon :  OUI  NON
- Toilettage des lianes :  OUI Dernier toilettage le: ..... /...../ 20.....  
 NON Pourquoi :.....
- Pincements de bouts pendants :  OUI  NON
- Nbr de fleurs mariées / tuteur :  50%  75%  100%
- Désherbage autour de la vanillère (bande de 3 m):  OUI  NON  
 Dernier désherbage le ... /... /20....
- Type de désherbage **Extérieur** :  Aucun  Manuelle  Mécanique  Chimique
- Si chimique produits utilisés actuellement ou antérieurement:  Paraquat  Glyphosate  Autres  
 Dernier traitement le:..... /...../20.....
- Maîtrise du dosage :  OUI  NON
- Fréquence du traitement si CHIMIQUE :  1 fois/trimestre  + 1fois/trimestre
- Désherbage dans les allées :  OUI  NON  
 Dernier désherbage le : .../.../20....
- Type de désherbage **Intérieur** :  Aucun  Manuelle  Mécanique  Chimique
- Présence de drains :  OUI  NON
- Présence de signe d'excès d'humidité dans l'ombrière :  OUI  NON

Si OUI :  eau stagnante  
 Sol boueux  
 Autres :.....

-Présence de signe d'excès d'humidité autour de l'ombrière :  OUI   
NON

Si OUI :  eau stagnante  
 Sol boueux  
 Autres :préciser.....

-Insecte proof ouvert :  OUI  NON

-Couverture au sol :  toile de paillage  gravier  soupe de corail   
Autres : ...

**6- TRAITEMENTS PHYTOSANITAIRES APPLIQUES**a) Produits phytosanitaires :Fongicides :  OUI  NONChimiques : Bio : 

<b>Produits commerciaux</b>	<b>Matière active</b>	<b>Doses</b>	<b>Fréquence utilisée</b>	<b>Méthode utilisée</b>	<b>Date de dernière utilisation</b>

Insecticides :  OUI  NONChimiques : Bio : 

<b>Produits commerciaux</b>	<b>Matière active</b>	<b>Doses</b>	<b>Fréquence utilisée</b>	<b>Méthode utilisée</b>	<b>Date de dernière utilisation</b>

b) Engrais :Chimiques : Bio : 

<b>Produits commerciaux</b>	<b>Matière active</b>	<b>Doses</b>	<b>Fréquence utilisée</b>	<b>Méthode utilisée</b>	<b>Date de dernière utilisation</b>

**7-LA (LES) MALADIE(S)**Localisation sur la plante :  racines.....%  Tiges.....%  feuilles.....% Fleurs.....%  Gousses.....%  Bgeons apicaux.....%  Bgeons axillaires :.....%





**Annexe 1 : Tableau d'échantillonnage**

Prélèvement le ...../...../20.....

<b># Echantillon</b>	<b>Rangée - Tuteur</b>	<b>Type d'échantillon</b>	<b>Symptômes</b>
<i>Simone HART (SH) 1</i>	<i>R 01 – T07</i>	<i>Bourgeon apical</i>	<i>Mildiou</i>
<i>SH2</i>			
<i>SH3</i>			
<i>SHx</i>			

**Annexe 2** : Catégories non retenues pour l'analyse

**Annexe 2A** : Treize variables et leurs modalités de la catégorie (6) ressenti global sur les signes de mauvaises santées des lianes de vanille, des différents organes au niveau de l'exploitation « Evaluation/ production acienne appellation »

Questions	Nom de la variable	Code	Interprétations

**Annexe 2B** : Variables et modalités de la catégorie (7) Coordonnées GPS des parcelles

« GPS »

Questions	Nom de la variable	Code	Interprétations
Quelles sont les coordonnées de la parcelle ?	Centroïde X		
	Centroïde Y		
Sur quelle pente se situe la parcelle ?	Pente_ moyenne		
A quelle altitude se trouve la parcelle ?	Altitude _ moyenne		

Il n'y a pas de code pour cette catégorie car les données sont issues du logiciel Arcgis qui conserve toutes les coordonnées des parcelles. Cette base de données est gérée par le SDR.

**Annexe 3** : Analyses préliminaires : Compte rendu de la réduction de dimension (Source Antonin L.)

Cette annexe reprend les résultats relatifs à la recherche de dépendance et à la rectification des déséquilibres d'effectifs.

**Introduction**

On part d'une situation avec 55 variables qualitatives réparties en 6 catégories :

- Des informations générales sur les parcelles et les agriculteurs qui les exploitent.
- Les composantes et les conditions de stockages des « composts ».
- Les environnements des cultures.
- Les produits utilisés lors des traitements.
- Des « ressentis » sur l'état global de la production dans chacune des exploitations.
- Les techniques de culture utilisées.

**Recherche de dépendances**

Par des analyses en composantes multiples, on aimerait pouvoir étudier les relations entre les variables d'une même catégorie et comprendre la structuration des données pour pouvoir éventuellement réduire le nombre de variables ou tout du moins modifier ces variables en vue de la construction d'un modèle statistique explicatif de l'incidence. Nous verrons ici les résultats de ces ACM et leurs interprétations. L'étude de chaque catégorie débute par une représentation univariée, on choisit ensuite la dimension du sous-espace où l'on projette le nuage des variables, puis on analysera la représentation de celles-ci sur les axes sélectionnés. Enfin, on regardera la représentation des individus, répartis en groupes, sur les deux axes principaux des ACM.

On ne représentera donc les individus que sur les deux axes les plus porteurs d'inertie. En effet avec l'ACM, les pourcentages d'inertie expliqués par les valeurs propres décroissent très vite et très vite, il ne porte plus d'informations. De plus, nous ne souhaitons pas récupérer les variables synthétiques fournies par l'ACM.

Comme on l'a dit on montrera également, sur les graphiques des individus, le résultat du clustering réalisé dans chaque catégorie. Pour ce faire, nous utiliserons :

- Pour choisir le nombre de groupe un critère de variance inter-groupe sur variance totale en « pénalisant » (cette pénalisation se fait à la main) par le nombre de groupe.
- Pour faire les groupes l'algorithme du k-means.

Si cela est utile, on aura aussi les diagrammes en bar de fréquences par groupe des modalités observées de certaines variables.

Dans la représentation des variables, la taille des caractères de chaque modalité montrera leur contribution relative aux axes. Plus le nom de la modalité sera gros plus la variable contribuera à l'axe et inversement.

Sur les graphes des individus, on aura une coloration en fonction de leur groupe respectif.

On avait, à l'origine, des données manquantes pour certaines variables. La fonction ACM de R ne prend pas en compte les NA, or nous pensons que l'information qui est : l'agriculteur n'a pas souhaité répondre, est une vraie observation qui doit être prise en compte dans lors des

analyses. Pour se faire les données manquantes (NA) ont été changées en une nouvelle modalité : ne se prononce pas (NSP)

### **Recherche des déséquilibres d'effectifs**

Dans le cadre du modèle gaussien le nombre de coefficients à estimer, est égal au nombre de variables plus un. Dans un modèle de régression logistique, tel que celui que nous allons essayé d'ajuster sur les données, le nombre de coefficients à estimer est égal au nombre de modalités au total moins le nombre de variables plus un. Chaque coefficient est associé à une modalité d'une variable, sauf un qui correspond à un profil type et donc à une combinaison de modalités pour lesquels on n'évalue pas de coefficient propre.

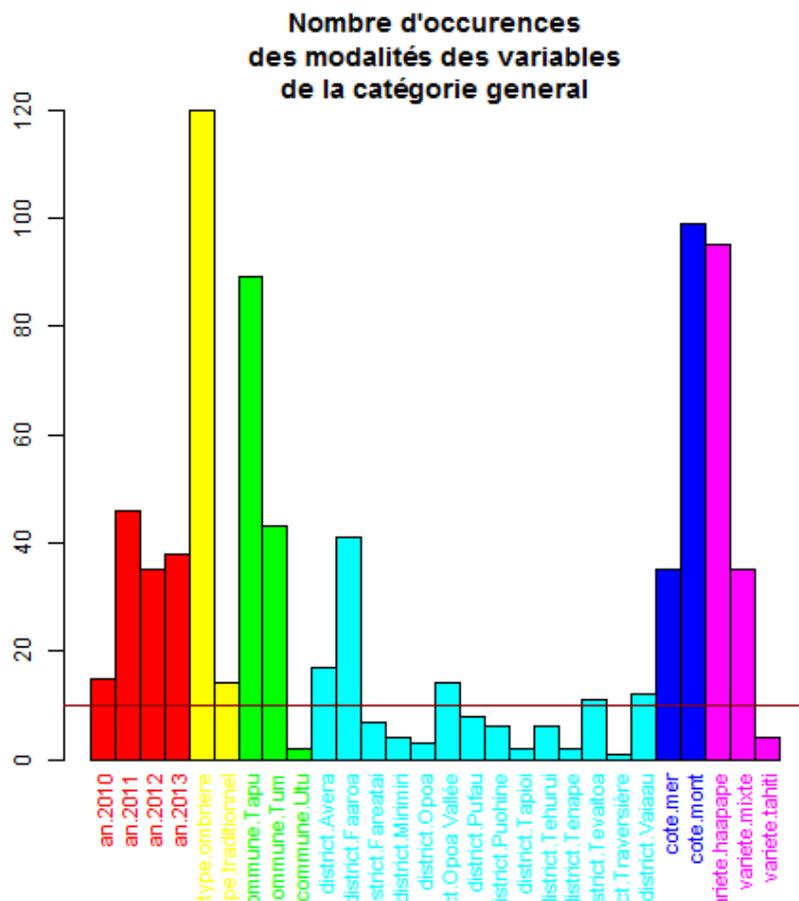
La précision des méthodes d'estimation est inversement proportionnelle à l'effectif de la classe pour laquelle on essaye d'estimer le coefficient. Ainsi des variables ayant des modalités trop déséquilibrées vont donner lieu à des intervalles à l'évaluation de paramètre dont les intervalles de confiance sont beaucoup trop larges pour être satisfaisants.

De plus, l'interprétation de l'effet d'une modalité d'une variable sous représentée est très hasardeuse. On risque de prendre en compte des effets de confusions ou d'imputer à cette modalité un rôle qui n'est pas le sien.

On comprend donc qu'en prévision de la modélisation il est impératif de ne pas avoir de variable avec des effectifs trop faibles dans certaines modalités. Un critère qui peut être pris en compte est de ne pas admettre qu'il y est des modalités avec des effectifs inférieurs à 10. C'est, à peu de chose près, le critère que l'on va utiliser.

## Général+Agric

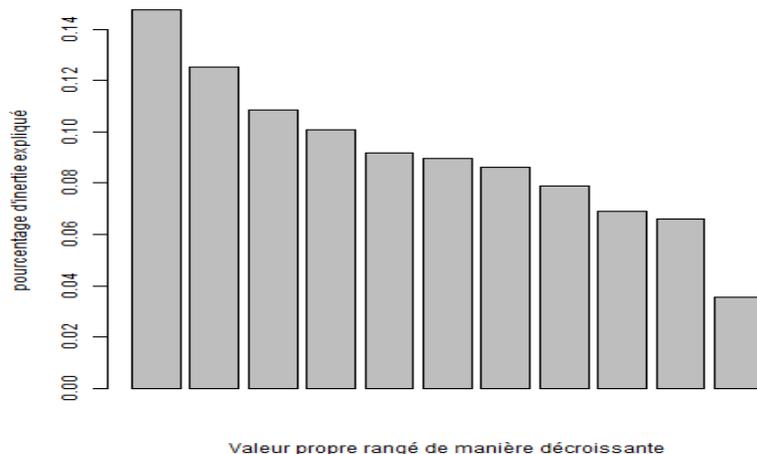
### Analyse univariée



On a de très faibles effectifs pour une modalité de la variable commune et une modalité de la variable variété. Ceci ne sera pas sans conséquence dans l'ACM qui est une méthode très sensible au faible effectif. Les surfaces moyennes étant fortement majoritaires cela fera grimper la contribution de cette modalité aux axes.

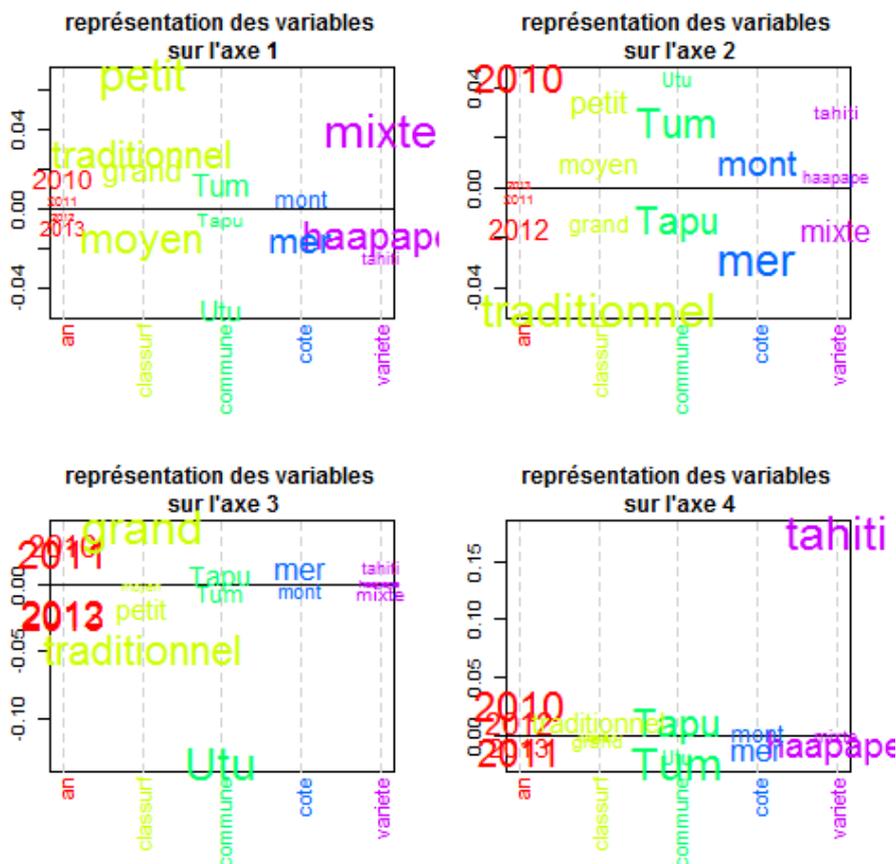
Pour la variable district, on voit qu'il faudrait regrouper presque toutes les modalités. Cela dit, le district n'est qu'un découpage administratif et ne traduit pas, selon l'experte, de différence dans les pratiques (au sens large). De plus, pour identifier les caractéristiques géographiques d'un agriculteur on dispose déjà de la commune, du côté de la route où se trouve l'exploitation et de la pente moyenne. On choisit donc de supprimer purement et simplement cette variable avant même l'ACM.

Sélection des axes



Nous aurions envie de prendre 4 axes, mais le 4ème étant tiré par la variété « tahiti » et le 3ème par la commune Utu. On ne retient donc que 2 axes.

Interprétation de l'ACM

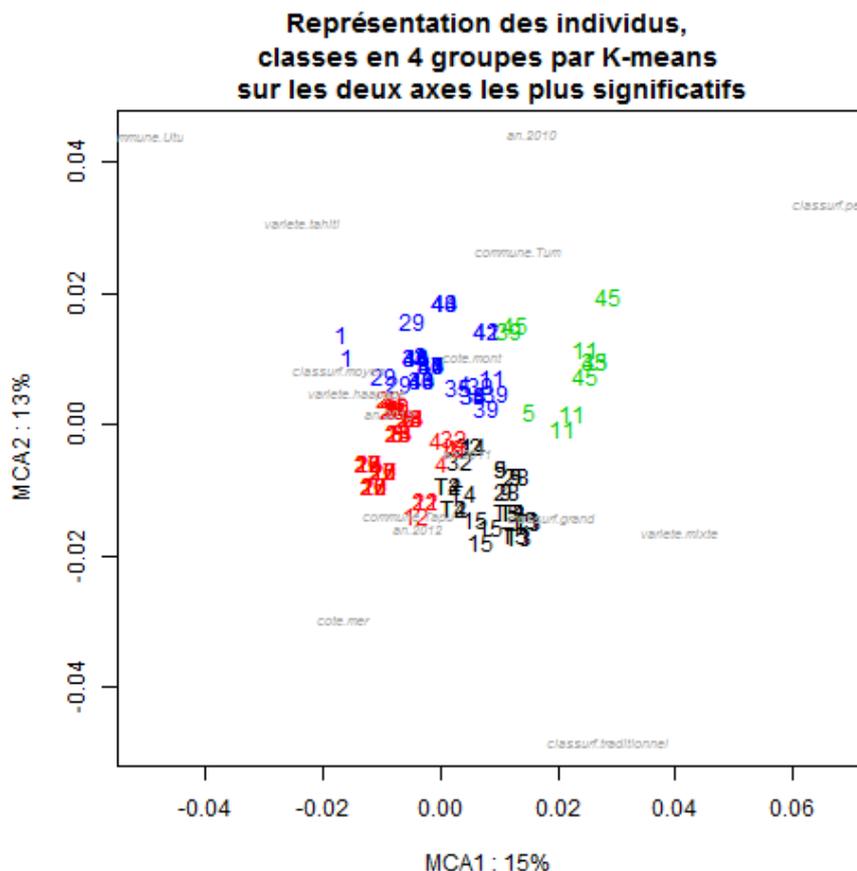


**L'axe1 :**

- Opposition des agriculteurs qui cultivent des variétés mixtes à ceux qui cultivent des variétés pures.
- Opposition de la classe de surface moyenne aux autres classes de surfaces.
- Le côté mer a une contribution assez importante sur cet axe et elle est légèrement négative.
- La commune Utu ressort beaucoup, mais cela n'est sans doute dû qu'au déséquilibre d'effectif dans cette modalité. On n'observe pas de réelles discriminations pour les autres modalités.
- Se retrouveront plutôt en haut les cultures de taille petite, grande et traditionnelle de Tum coté montagne et cultivant des variétés mixtes.
- Se retrouveront plutôt en bas les cultures de tailles moyennes de Tapu et Utu coté mer et cultivant des variétés pures.

**L'axe2 :**

- Oppose encore les agriculteurs qui cultivent des variétés mixtes à ceux qui cultivent des variétés pures.
- Oppose les petites surfaces (=petit+moyen) aux grandes surfaces (grandes+traditionnelles). On a même sur cet axe un « gradient » des surfaces.
- Utu ressort beaucoup, mais cela n'est sans doute dû qu'au déséquilibre d'effectif dans cette modalité. Les communes Tum et Tapu sont bien séparées.
- Opposition des cotés mer et montagne
- Se retrouveront plutôt en haut les cultures de tailles petites et moyennes de Tum et Utu, côté montagne et cultivant des variétés pures.
- Se retrouveront plutôt en bas les cultures de tailles grandes et traditionnelles de Tapu coté mer et cultivant des variétés mixtes.



### Conclusion de la catégorie :

La modalité Utu de la variable commune pose problème, car, on a une seule ombrière (qui correspond à 2 individus). On décide de retirer le niveau Utu et de le confondre avec Tum. L'exploitation qui se trouve à Utu est la n°1, elle ressort donc dans un groupe (le bleu) qui est composé à presque 78 % de cultures se trouvant à Tum. De plus, si l'on considère l'individu Utu comme étant Tum ou Tapu cela ne change pas grand-chose (mise à part pour cet individu) au nuage des individus (le résultat de ce « test » n'apparaît pas ici).

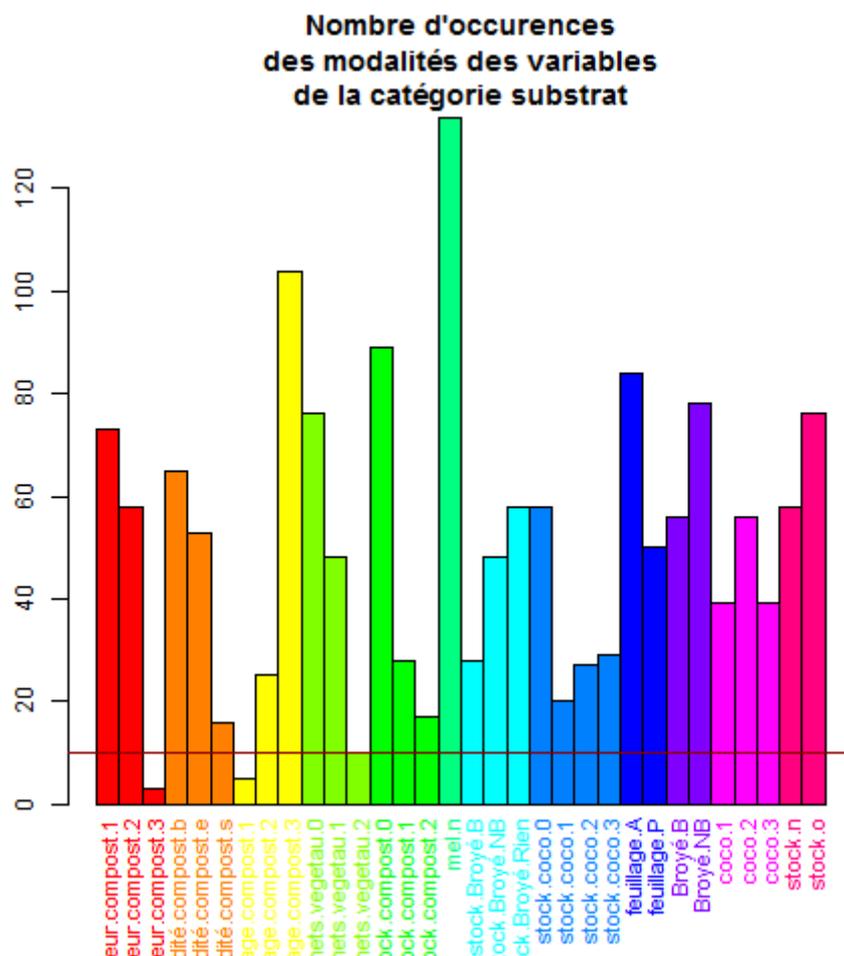
Ceci n'est pas forcément définitif, on pourra par la suite (dans le modèle) essayer de le confondre avec Tapu et regarder si cela change fondamentalement les résultats.

On ne va rien dire d'autre quant aux corrélations entre variables. On a donc dans cette catégorie 5 variables :

- An (=année de visite) variable à 4 niveaux : 2010, 2011, 2012 et 2013.
- Commune variable à 2 niveaux : Tapu et Tum.
- Variété variable à 3 niveaux : mixte, haapape et tahiti. (L'effectif très faible pour modalité tahiti reste problématique dans la perspective d'une analyse multivariée, il faudra sans doute la retirer. En effet, il sera impossible de savoir s'il y a un effet tahiti
- Classe de surface (surface + nombre de tuteurs + type d'exploitation) à 4 niveaux : petit, moyen, grand (ce sont les trois modalités possibles pour une culture sous ombrière) et traditionnel.
- Côté (=côté de la route ou se trouve l'exploitation) variable à 2 niveaux : mer montagne

## Compost

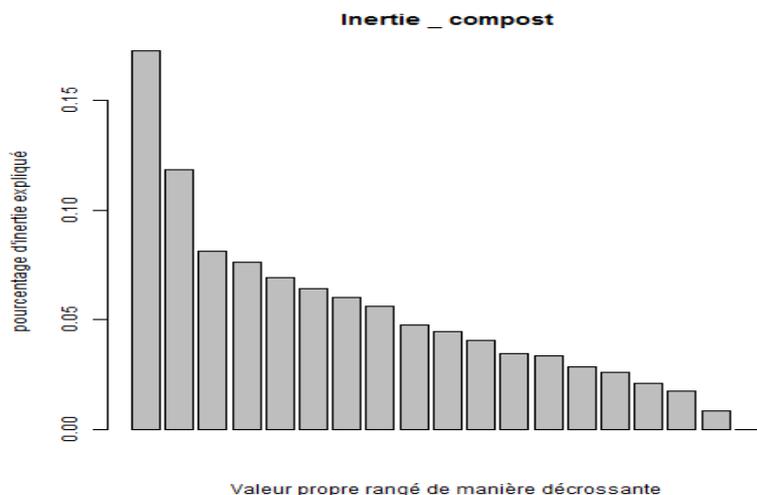
### Analyse univariée



On a encore une fois des modalités très déséquilibrées pour certaines variables ce qui va se ressentir dans l'ACM. Ainsi pour l'épaisseur de compost, 3 est sous représenté. Dans l'âge des composts 1 est sous représenté.

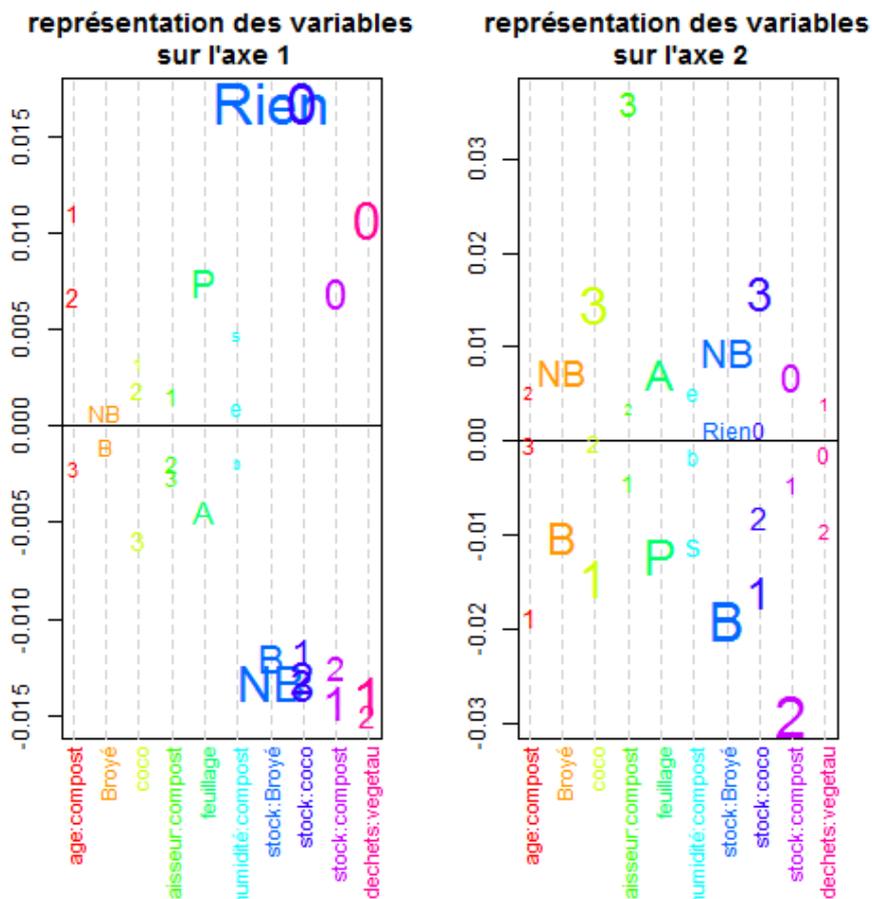
Durant le comité de thèse de Timeri, il était apparu plus correct de nommer cette catégorie substrat. Nous prendrons en compte ces problèmes de vocabulaire lors de la création de la nouvelle table.

Sélection des axes



On choisit de retenir 2 axes.

Interprétation de l'ACM



⑩ **L'axe 1 :**

⑩ Opposition des modalités pour la variable stock broyée, en bas Broyé et Non Broyé et en haut Rien (ce qui correspond à pas de stock). De plus, ces modalités contribuent fortement à l'axe.

⑩ Pour les 3 autres variables de stock, on voit en haut l'absence de stock et en bas la présence de stock sans réelle différenciation entre les niveaux de présence des stocks. De plus, les modalités des différentes variables de stocks contribuent très fortement à cet axe.

⑩ Opposition importante des 2 niveaux de feuillage Présent et Absent.

⑩ Gradient des modalités pour coco avec de bas en haut, d'un côté les niveaux 3, 2 et 1 et de l'autre le niveau 0.

⑩ Gradient des modalités pour âge compost avec, de haut en bas, d'un coté les niveaux 1 et 2 et de l'autre le niveau 3. On a donc en bas les composts les plus vieux.

⑩ Opposition pour l'humidité du compost, on retrouve en haut les mauvaises conditions d'humidités (sec et excès) et en bas l'humidité bonne.

⑩ Opposition des modalités pour épaisseur compost avec en haut, le niveau 1 et , en bas, les niveaux 2 et 3. Les niveaux 2 et 3 sont très proches.

⑩ Se retrouveront plutôt en haut les composts peu épais, d'âge 1 et 2 constitué de matière non broyée, de feuillage et de pas ou peu de coco, présentant de mauvaises conditions d'humidités. Pour ces composts, on n'a pas de stockage du compost et de ces composantes.

⑩ Se retrouveront plutôt en bas les composts épais à très épais constitués de bois broyé et de coco, mais sans feuillage. Pour ces composts on a stockage du compost et de ces composantes.

⑩ **L'axe 2 :**

⑩ Opposition pour la variable stock broyé des deux modalités, en bas Broyé et en haut Non Broyé. La modalité Rien est presque à 0. On retrouve la même opposition (Broyé/Non Broyé) pour la variable broyé.

⑩ Gradient des modalités pour stock compost avec en haut le niveau 0 et en bas les niveaux 1 puis 2.

⑩ Gradient des modalités pour coco. Le niveau 3 est positif, le niveau 2 presque nul (et avec une très faible contribution) et le niveau 1 est négatif.

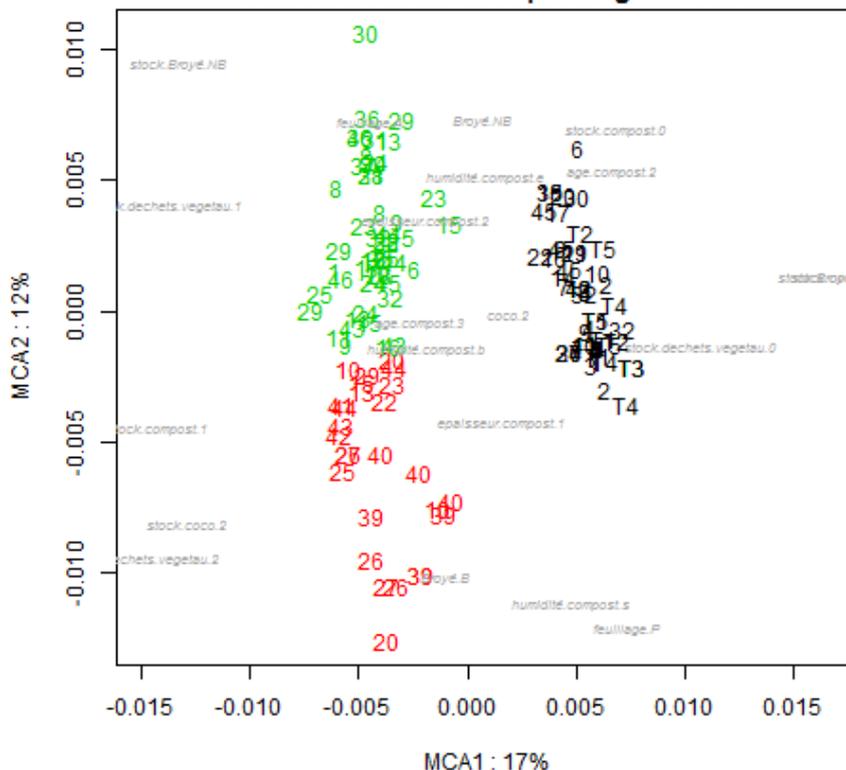
⑩ Opposition pour la variable feuillage de deux modalités, en haut absence et en bas présence.

⑩ Opposition des modalités d'âge du compost avec bien séparés les niveaux 1 (en bas) et 2 (en haut) et un niveau 3 légèrement négatif (i.e du côté de 1).

⑩ Gradient des modalités pour humidité compost. Cela dit, ces modalités ne sont pas parmi les plus contributives à cet axe.

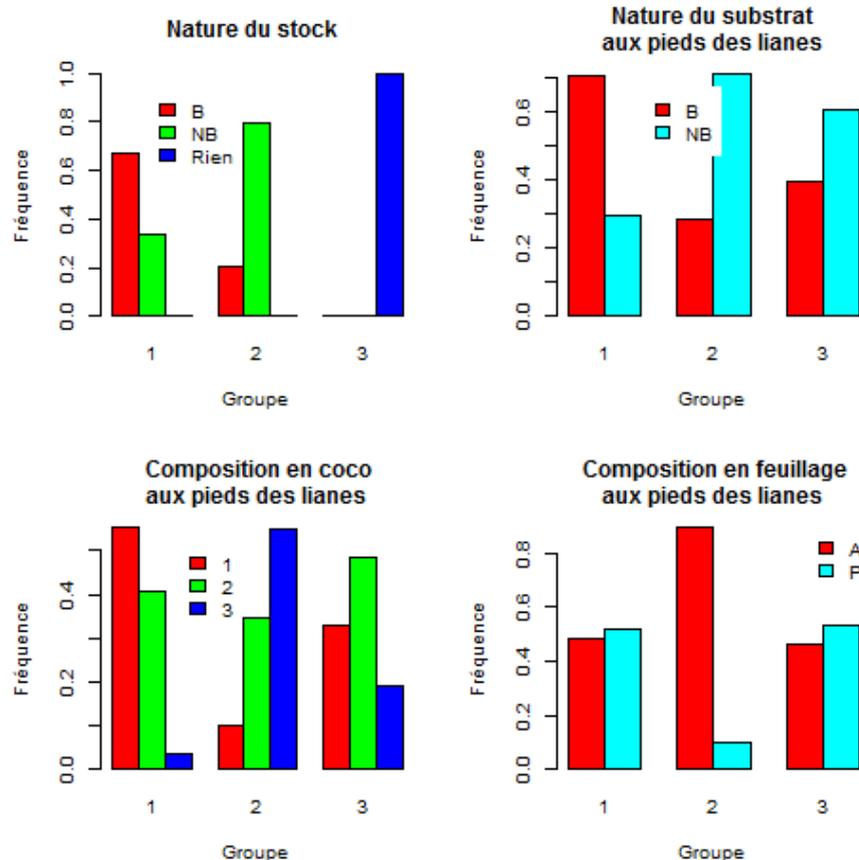
⑩ On retrouvera en bas les agriculteurs utilisant un compost broyé avec peu de coco et du feuillage et à l'inverse en haut on retrouvera les agriculteurs avec un compost non broyé et constitué essentiellement de coco.

**Représentation des individus, réparti en 3 groupes par K-means sur les deux axes les plus significatifs**



⑩ On voit très clairement ici, en noir, les agriculteurs qui n'ont pas de stock pour leur compost et en rouge et vert, ceux qui en ont. Dans le groupe de gauche on retrouve en vert un groupe avec un compost constitué de matière non broyée qui est essentiellement de la coco. En rouge, ceux qui ont un compost broyé avec du feuillage et peu de coco. Cela va bien dans le sens de ce que l'on a vu précédemment.

⑩ En regardant les fréquences des modalités dans chacun des groupes on a (avec noir :=groupe n°3, vert :=groupe n°2, rouge :=groupe n°1) :



⑩ Un agriculteur est dans le groupe noir si et seulement si il a la modalité Rien pour la variable stock broyé (i.e si il n'a pas de stock).

⑩ Les groupes rouge et vert regroupent tous les agriculteurs ayant du stock (broyé ou non). Le groupe rouge est constitué à 65 % d'individus ayant un stock broyé et de 70 % d'individus utilisant un compost broyé. À l'inverse, le groupe vert est constitué à 80 % d'individus ayant un stock non broyé et de 70 % d'individus utilisant un compost non broyé.

#### ⑩ Conclusion de la catégorie :

⑩ Les 4 variables de stock peuvent être regroupées en une seule. Comme on le voit grâce à l'axe1 de l'ACM.

⑩ Pour la variable épaisseur du compost, on voit que seul 3 individus présentent la modalité 3. On choisit donc de regrouper les modalités 2 et 3 en 2\_3.

⑩ Pour la variable âge du compost seul 5 individus présentent la modalité 1. On choisit donc de regrouper les niveaux 1 et 2 en 1\_2

⑩ On ne va rien dire d'autre quant aux corrélations entre variables. On a donc dans cette catégorie 7 variables :

⑩ Épaisseur compost, variable à 2 niveaux : 1(les moins épais), 2\_3 (les plus épais).

⑩ Humidité compost, variable à 3 niveaux : b (=bonne), e (=excès) et s (=sec).

⑩ Âge compost, variable à 2 niveaux : 1\_2 (=les plus jeunes), 3 (=les plus vieux).

⑩ Feuillage, variable à 2 niveaux : A (=absence) et P (=présence).

⑩ Broyé, variable à 2 niveaux : B (=broyé) et NB (=non broyé).

⑩ Coco, variable à 3 niveaux : 1 (presque pas de coco), 2, 3 (presque que de la coco).

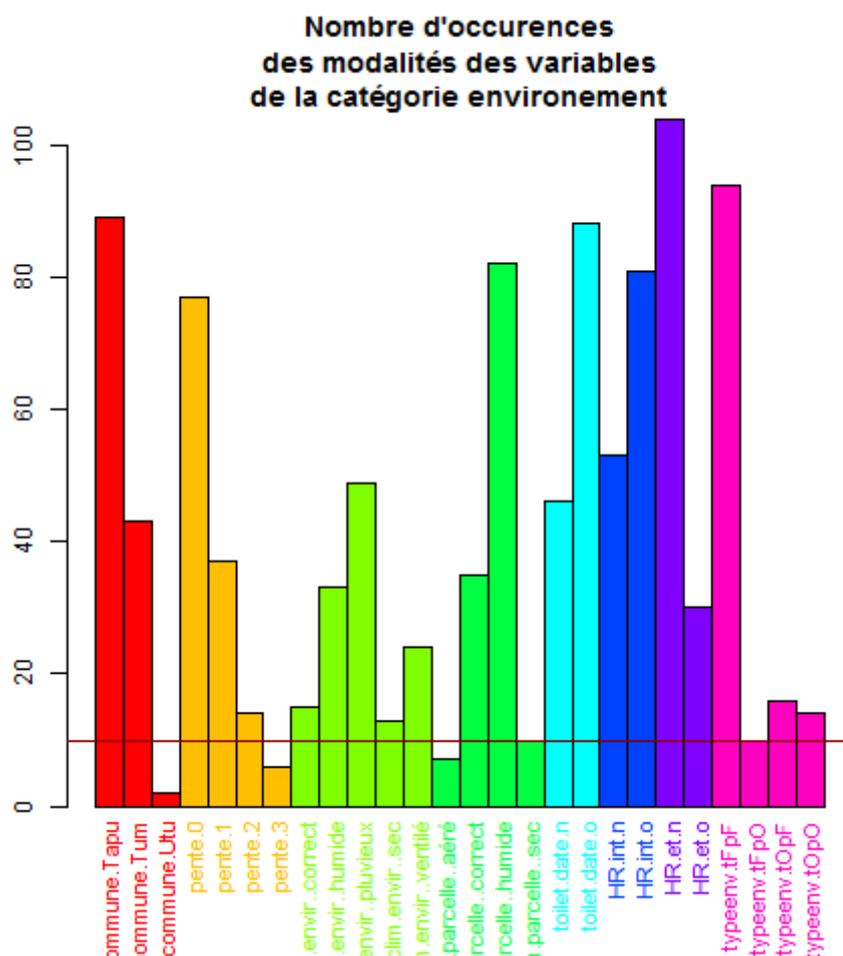
⑩ Stock, nouvelle variable à 2 niveaux : oui et non. Cette variable reprend les 4 variables de stock elle vaut non s'il n'y a aucun stock sur l'exploitation et oui s'il y en a au moins 1.

## Environnement

### Analyse univariée

Cette catégorie était à l'origine composée de seulement 3 variables (pente, climats parcelles et climat environnement). On s'aperçoit qu'il y a d'autres variables d'environnements réparties dans les autres catégories. Il serait judicieux de les analyser ensemble. C'est ce que l'on fait ici. Nous allons récupérer dans la catégorie générale les variables communes (à deux modalités, i.e Utu=Tum), la variable côté ainsi que la variable type de culture. Dans la catégorie technique on récupère toilet.date (toiletage des lianes), toile à insecte ouverte et porte fermée ainsi que les humidités relatives intérieures et extérieures.

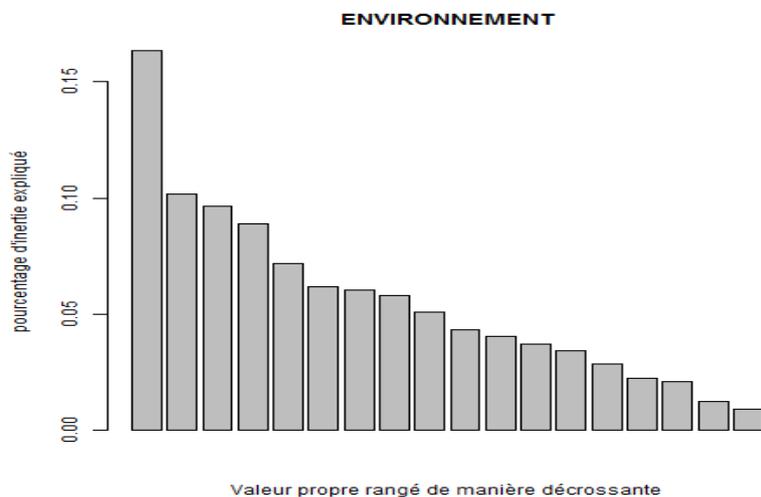
Nous condenserons les variables type de culture, toile insecte ouverte et porte fermée en une seule variable typeenv (=type d'environnement). On a, en théorie, 5 modalités : traditionnelle (les traditionnelles n'ont ni porte ni toile), ombtOpO (=ombrière avec toile ouverte et porte ouverte), ombtFpO (=ombrière avec toile fermée et porte ouverte), ombtOpF (=ombrière avec toile ouverte et porte fermée), ombtFpF (=ombrière avec toile fermée et porte fermée). En réalité, il n'y a que 4 modalités, car aucun individu ne présente la modalité ombtOpO (ie ombtOpO=traditionnelle).



On a encore une fois des modalités déséquilibrées pour certaines variables ce qui va se ressentir dans l'ACM. Ainsi, pour le climat des parcelles, aérée, est sous-représentée. Dans les pentes, 3 est sous-représenté.

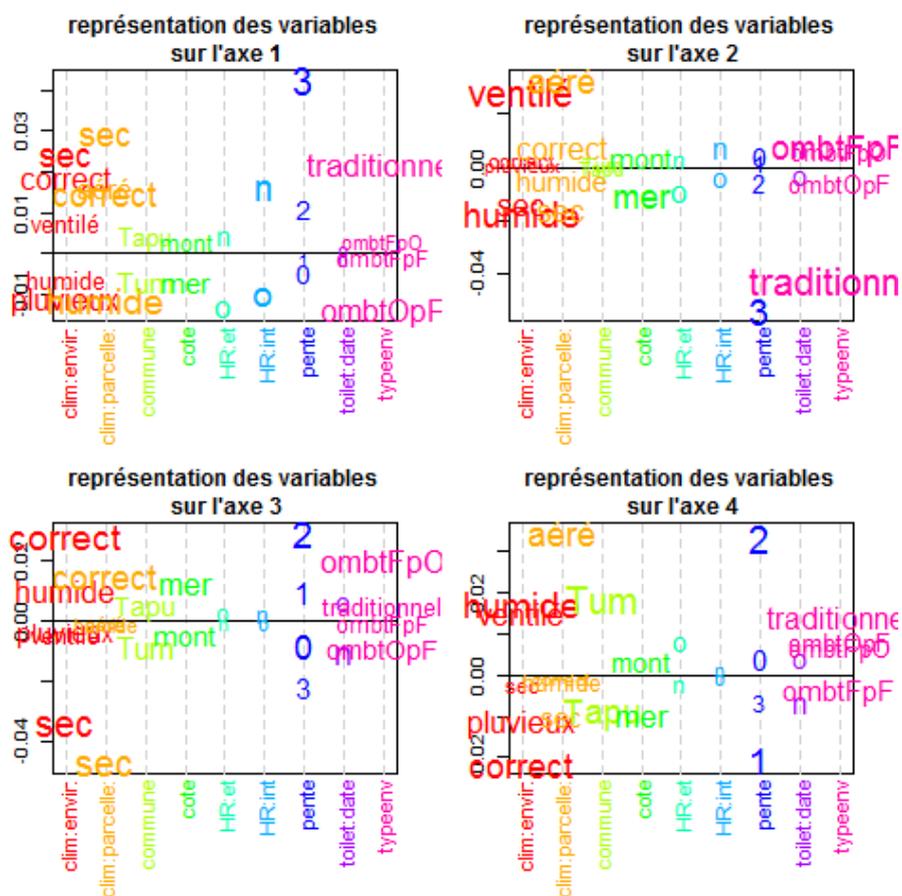
Un autre problème apparaîtra par la suite, lors de la construction d'un modèle. Les 6 terrains ayant une pente de 3 sont toutes des cultures traditionnelles (il y a en tout 14 traditionnelles).

Sélection des axes



On choisit de conserver 4 axes.

Interprétation de l'ACM



⑩ **L'axe 1 :**

- ⑩ Opposition pour la variable HR.int des deux modalités, en haut non et en bas oui.
- ⑩ Gradient des climats des parcelles, en bas humide et en haut ventilé et correct (presque confondus), puis sec.
- ⑩ Gradient des pentes, en bas 0 et 1 (très proche) et en haut 2 puis 3
- ⑩ Gradient de climats aux abords des cultures avec, en bas pluvieux et humide (assez proches). Et en haut ventilé puis correct puis sec.
- ⑩ Opposition pour la variable typeenv entre en haut traditionnelle et en bas ombtOpF. Les deux autres modalités ne ressortent pas vraiment sur cet axe.
- ⑩ Légère opposition entre Tum en bas et Tapu en haut pour la variable commune.
- ⑩ Légère opposition entre montagne en bas et mer en haut pour la variable cote.
- ⑩ Légère opposition entre les deux modalités de HR.et avec en haut le non et en bas le oui.
- ⑩ On retrouvera en bas les exploitations plutôt humides, pentues et avec la porte fermée. En haut les exploitations plutôt sèches et pentues avec la porte ouverte (ou sans porte).

⑩ **L'axe 2 :**

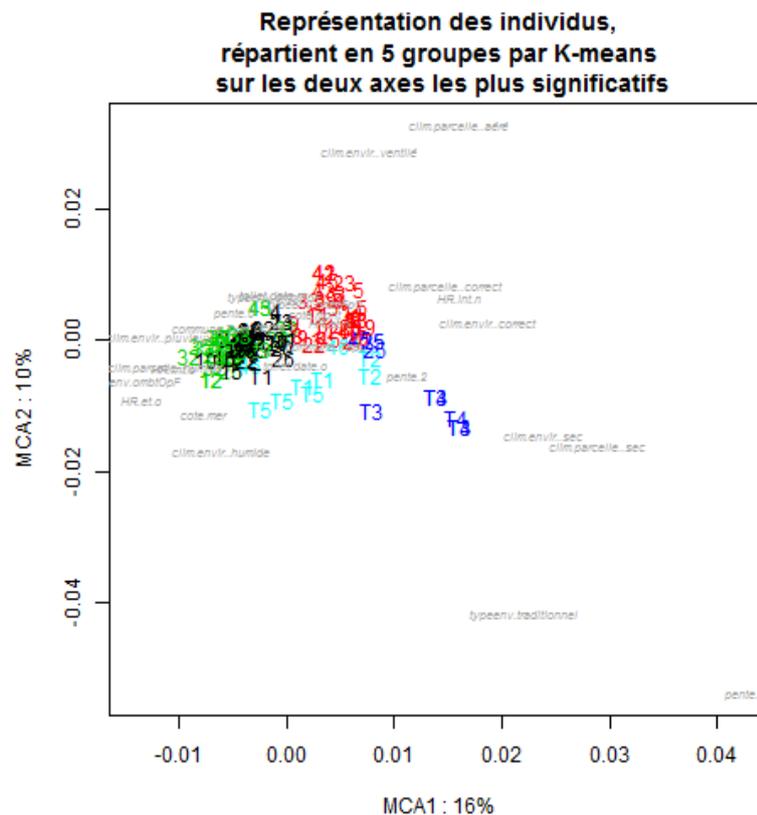
- ⑩ Opposition pour la variable typeenv avec en haut les modalités ombtFpO et ombtFpF (qui sont presque confondus) et en bas ombtOpF puis traditionnelle. C'est donc une opposition entre les toiles ouvertes et les toiles fermées.
- ⑩ Gradient des pentes avec ,presque confondus, les niveaux 0 et 1 en haut, puis en bas 2 et en fin 3.
- ⑩ Opposition entre les modalités de HR.int en haut non et en bas oui
- ⑩ Opposition entre les modalités de toilet.date en haut non et en bas oui.

⑩ **L'axe 3 :**

- ⑩ Opposition entre en bas les pentes extrêmes (0 ou 3) et en haut les autres (1 et 2).
- ⑩ Opposition entre mer et montagne. En haut plutôt côté mer, en bas côté montagne.
- ⑩ Opposition de, en haut Tapu et en bas Tum, pour la variable commune.

⑩ **L'axe 4 :**

- ⑩ Opposition de Tum en haut et Tapu en bas, pour la variable commune.
- ⑩ Opposition pour la variable typeenv entre en bas la modalité ombtFpF et en haut le reste. C'est donc une opposition entre tout fermé et ouvert.



⑩ **Conclusion de la catégorie :**

⑩ Comme on l'a déjà vue, on va fusionner pour la variable commune les niveaux Utu et Tum en Tum.

⑩ Pour pente on a un déficit d'effectif pour la modalité 3, seulement 6 individus. On va donc fusionner les modalités 2 et 3 en 2\_3.

⑩ Pour les deux variables de climat (environnement et parcelle) il semble que le classement des individus dans l'une ou l'autre des classes, ne reposant pas sur des mesures quantifiables, peut être discutable. En effet, en fonction des conditions climatiques au moment de la visite (météo, heure de la journée...), la frontière entre par exemple humide et pluvieux semble un peu floue. De plus, il y a des déséquilibres d'effectifs. On choisit donc pour la variable climat de la parcelle de fusionner sec et aéré en sec\_aéré. Pour le climat de l'environnement on fusionne sec et ventilé en sec\_ventilé et pluvieux et humide en pluvieux\_humide.

⑩ On aura donc dans cette catégorie 9 variables :

⑩ Climat environnement variable à 4 niveaux : aéré, correct, humide, sec

⑩ Climat parcelle variable à 5 niveaux : ventilé, correct, humide, pluvieux, sec

⑩ Pente variable à 3 niveaux : 0 (=pas de pente), 1, 2\_3 (=pente très forte)

⑩ Commune variable à 2 niveaux : Tum et Tapu (extraite de la catégorie générale)

⑩ Côté variable à 2 niveaux : mer et montagne (extraite de la catégorie générale)

⑩ toilet.date (toiletage des lianes) variable à 2 niveaux : oui et non (extraite de la catégorie technique)

⑩ HR.int (humidité relative intérieure) variable à 2 niveaux : oui et non (extraite de la catégorie technique)

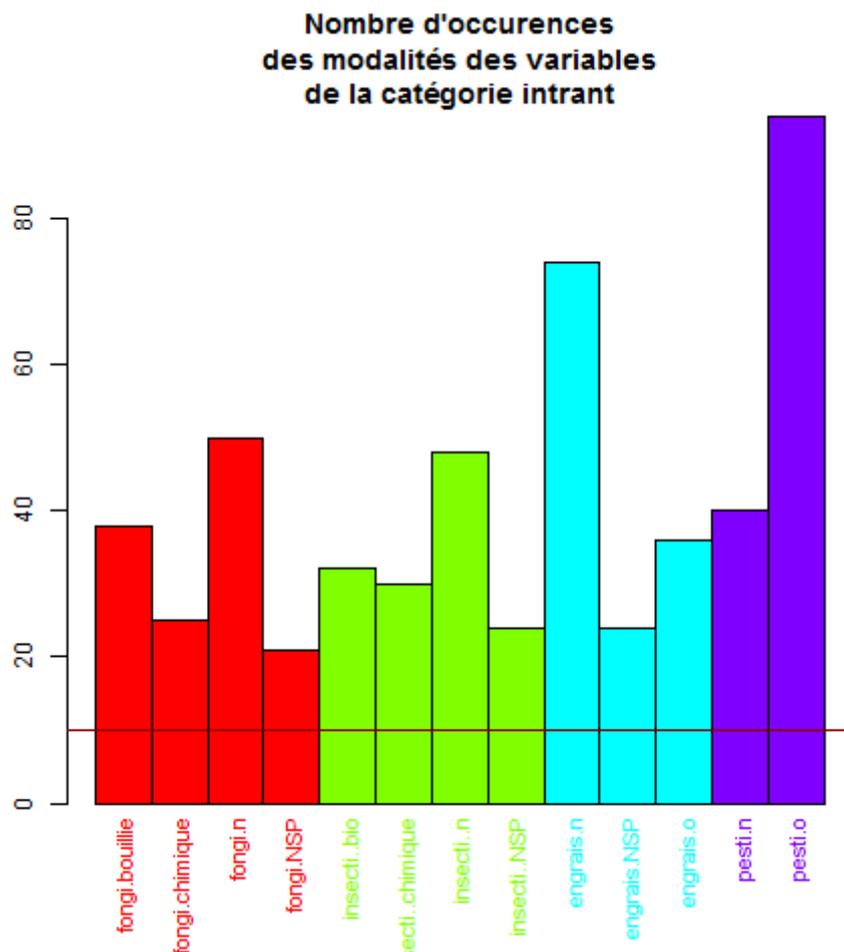
⑩ HR.ext variable à 2 niveaux : oui et non (extraite de la catégorie technique)

⑩ Enfin, on crée une nouvelle variable typeenv regroupant le type de cultures (extrait de général), l'ouverture ou non de la porte et l'ouverture ou non de la toile insectproof (extraient de la catégorie technique). On a 4 modalités : traditionnelle, ombtFpO, ombtOpF, ombtFpF.

## Phyto

### Analyse univariée

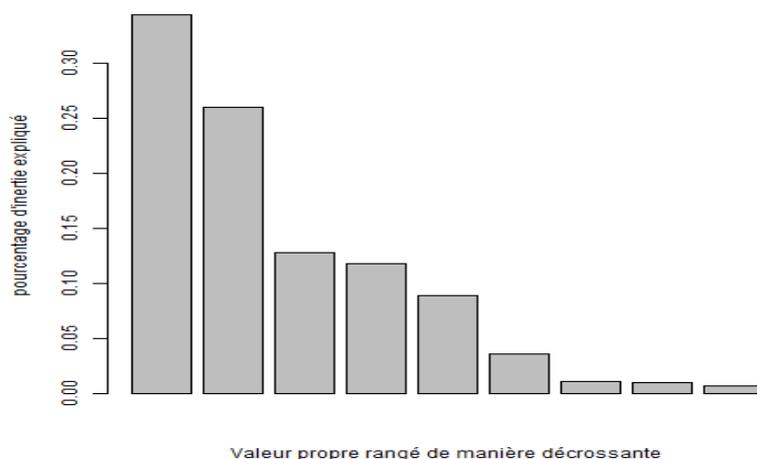
Dans cette catégorie, les variables fongicides et insecticides comptaient à l'origine un niveau supplémentaire bio+chimique. On choisit de confondre cette modalité avec la chimique. Cela ne nous semble pas entraîner une perte importante d'information.



Même si l'on a des déséquilibres entre les différentes modalités de chacune des variables, aucune n'a d'effectifs trop faibles. Ainsi les axes ne devraient pas être trop tirés par des déséquilibres d'échantillonnage.

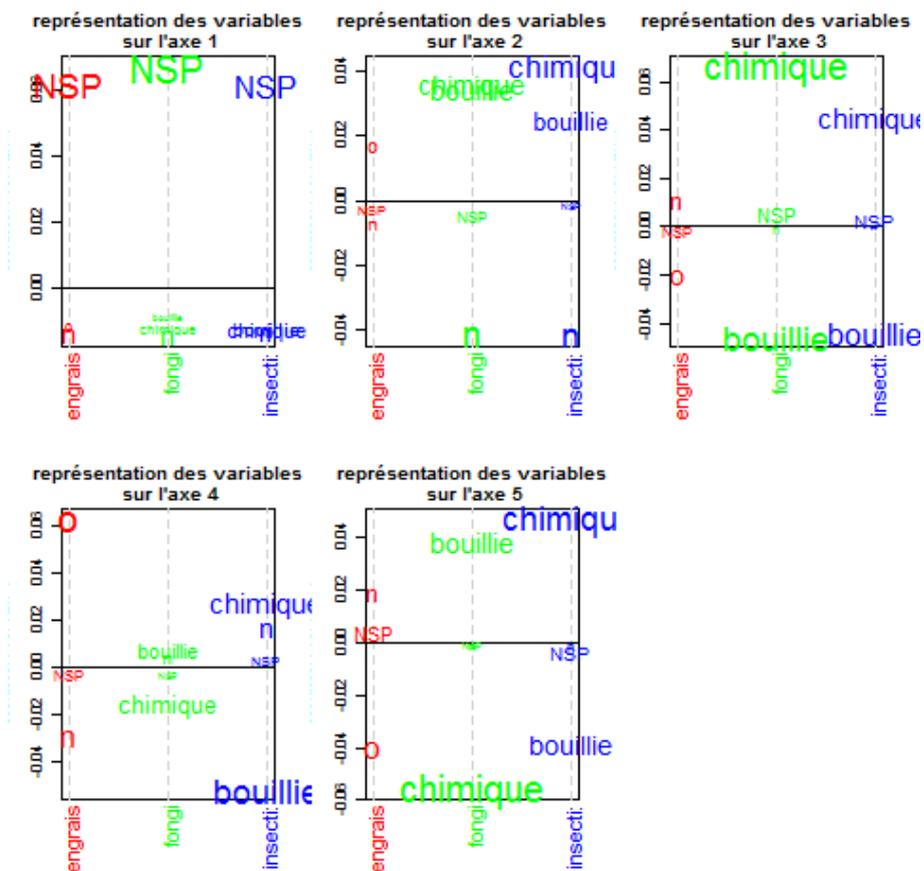
Durant le comité de thèse de Timeri, il était apparu plus correct de nommer cette catégorie intrant et de considérer que les insecticides et fongicides dits bio étaient en réalité de la bouillie bordelaise. Ces problèmes de vocabulaire sont ici réglés.

Sélection des axes



On choisit de prendre 5 axes.

Interprétation de l'ACM



**⑩ L'axe 1 :**

⑩ Pour les trois variables, on a en haut la modalité NSP et en bas, presque confondus, les autres modalités. On a donc une opposition entre ceux qui n'ont pas répondu et les autres.

⑩ Pour cet axe si on additionne les contributions des trois modalités NSP ont à plus de 80 % de la contribution totale.

⑩ On a donc une opposition de ceux qui disent utiliser des traitements, et les autres.

**⑩ L'axe 2 :**

⑩ On a pour la variable insecticide un « gradient » avec tout en bas, la modalité non et tout en haut la modalité chimique. La modalité bouillie sort positive (i.e du même coté que chimique). La modalité NSP à une coordonnée très légèrement négative, et sa contribution à l'axe est quasi nulle.

⑩ On a pour la variable fongicide en haut les modalités chimiques et bouillies, qui sont presque confondus. Tout en bas, on retrouve la modalité non. Comme pour la variable insecticide la modalité NSP ressort très légèrement négative et contribue très peu à la construction de l'axe.

⑩ La variable engrais est très peu contributive pour cet axe. On retrouve cependant une opposition comparable à celle observée pour les deux autres variables. En haut la modalité oui et en bas les modalités NSP (très légèrement négative) puis, non.

**⑩ L'axe 3 :**

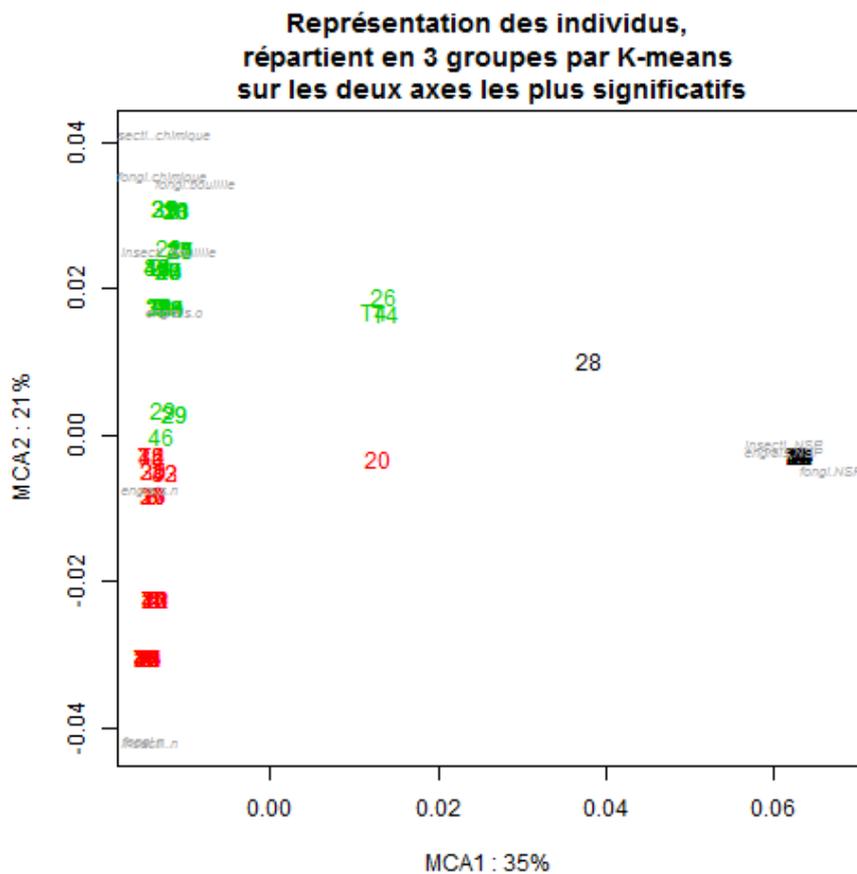
⑩ Pour les variables fongicides et insecticides on a tout en haut la modalité chimique et tout en bas la modalité bouillie. Reste au milieu, quasiment indifférencié, les modalités NSP et non qui contribuent très peu à l'axe.

⑩ Pour la variable engrais, on retrouve en haut le non, très légèrement négative NSP et en bas le oui. Encore une fois, engrais est beaucoup moins contributive que les deux autres variables.

⑩ On a donc une opposition entre ceux qui traitent avec des produits chimiques et ceux qui traitent à la bouillie bordelaise.

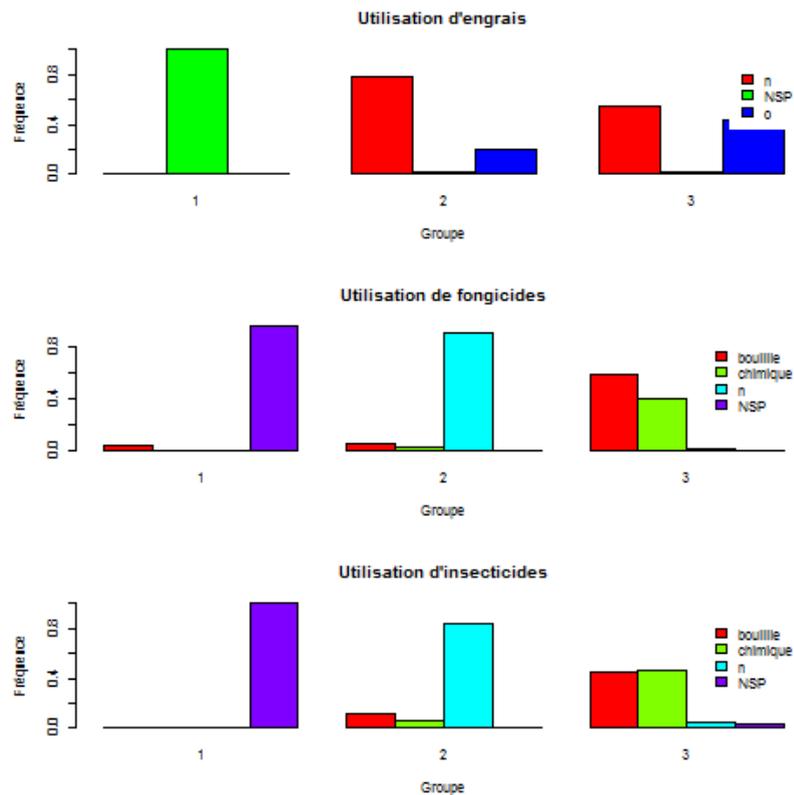
**⑩ L'axe 4 :**

⑩ Pour la variable engrais, qui est ici la plus contributive, on a en haut le non, très légèrement négative NSP et en bas le oui.



⑩ Le critère de choix du nombre de groupe suggérait plutôt de prendre 6 groupes. Il semble qu'une partition en 3 groupes soit intéressante et plus facile à interpréter.

⑩ En regardant les fréquences des modalités dans chacun des groupes, on a (avec noir :=groupe n°3, vert :=groupe n°2, rouge :=groupe n°1) :



- ⑩ Le groupe 1 est donc celui de ceux qui ne se prononcent pas.
- ⑩ Le groupe 2 est celui de ceux qui ne mettent ni fongicides ni insecticides (ils ont tendance à ne pas non plus mettre d'engrais)
- ⑩ Le groupe 3 est celui de ceux qui mettent des insecticides et des fongicides.

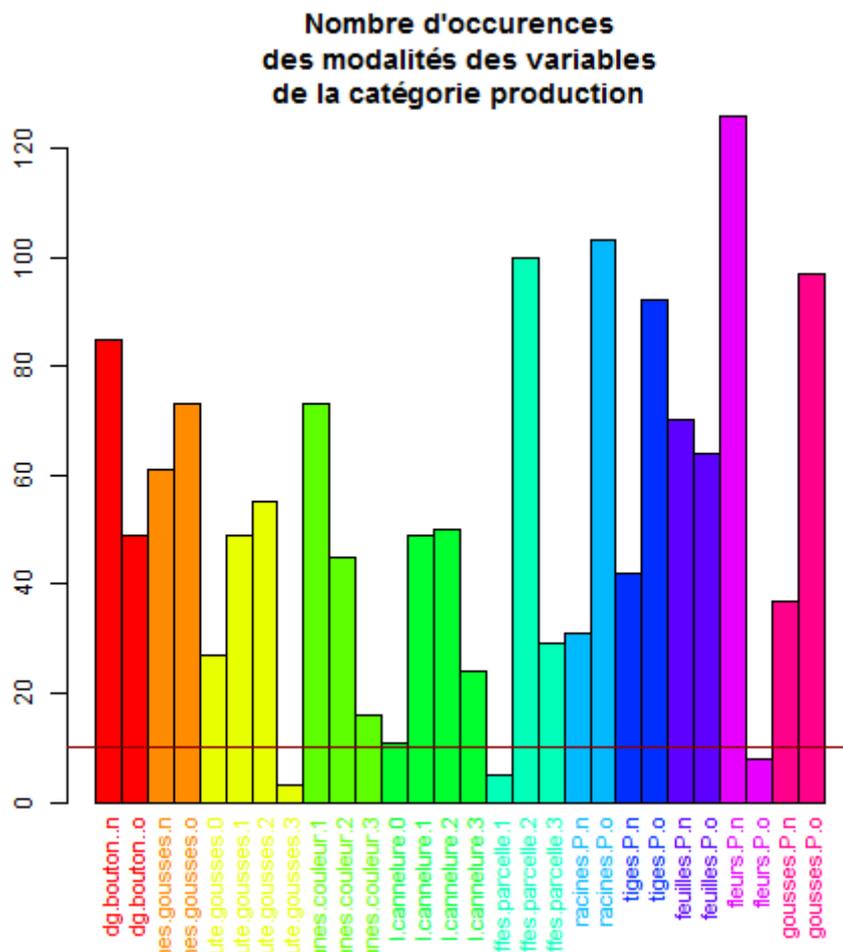
⑩ **Conclusion de la catégorie :**

- ⑩ On a choisi (sans considérer l'ACM) de retirer pour les variables fongicides et insecticides, de remplacer la modalité bio+chimique par chimique, ainsi on supprime un niveau. Ce choix ne semble pas entraîner une grosse perte d'information.
- ⑩ On introduit une nouvelle variable pesticide « regroupant » fongicides et insecticides. C'est une variable à 2 niveaux : non ( si fongicide et insecticide valent non) et oui (sinon)
- ⑩ On aura donc dans cette catégorie 4 variables :
- ⑩ Fongicide variable à 4 niveaux : non (=pas de fongicides), bouillie bordelaise (=ancien bio), chimique et NSP
- ⑩ Insecticide variable à 4 niveaux : non (=pas d'insecticides), bouillie bordelaise (=ancien bio), chimique et NSP
- ⑩ Pesticide variable à 3 niveaux : non (=pas de pesticides), oui et NSP
- ⑩ Engrais variable à 2 niveaux : non (=pas d'engrais) et oui

## Production

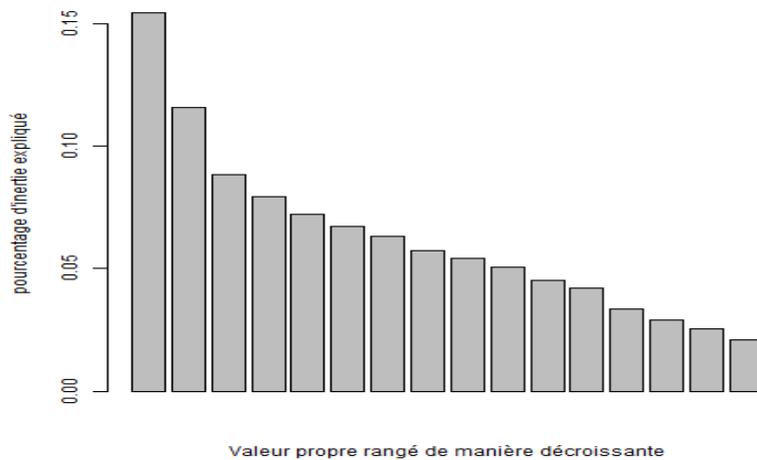
### Analyse univariée

Cette catégorie comptait à l'origine 2 variables supplémentaires. Ces variables étaient : présence de dégât sur les bourgeons axillaires et présence de dégât sur les bourgeons apicaux. Il s'agissait de variables dichotomiques, codées oui, non, dont les niveaux étaient très déséquilibrés. De plus, l'à priori de l'experte était que ces variables devaient être sans aucun lien avec la Fusariose, qui est un champignon du sol. On les a donc supprimés.



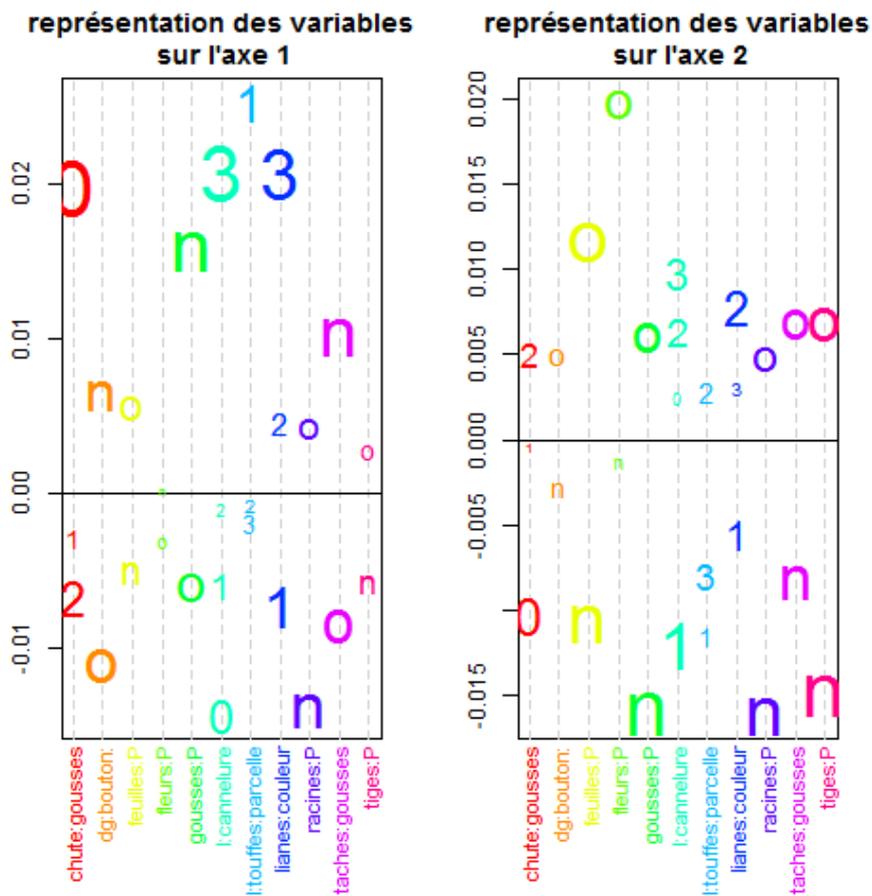
On observe que pour trois variables on a des problèmes d'effectifs dans une modalité. Cela risque d'apparaître dans l'ACM. Il s'agit chute.gousses (niveau 3) de lianes.touffes.parcelles (niveau 1) et de présence autre que la Fusa sur les fleurs (niveau oui)

Sélection des axes :



On choisit de prendre 2 axes.

Interprétation de l'ACM



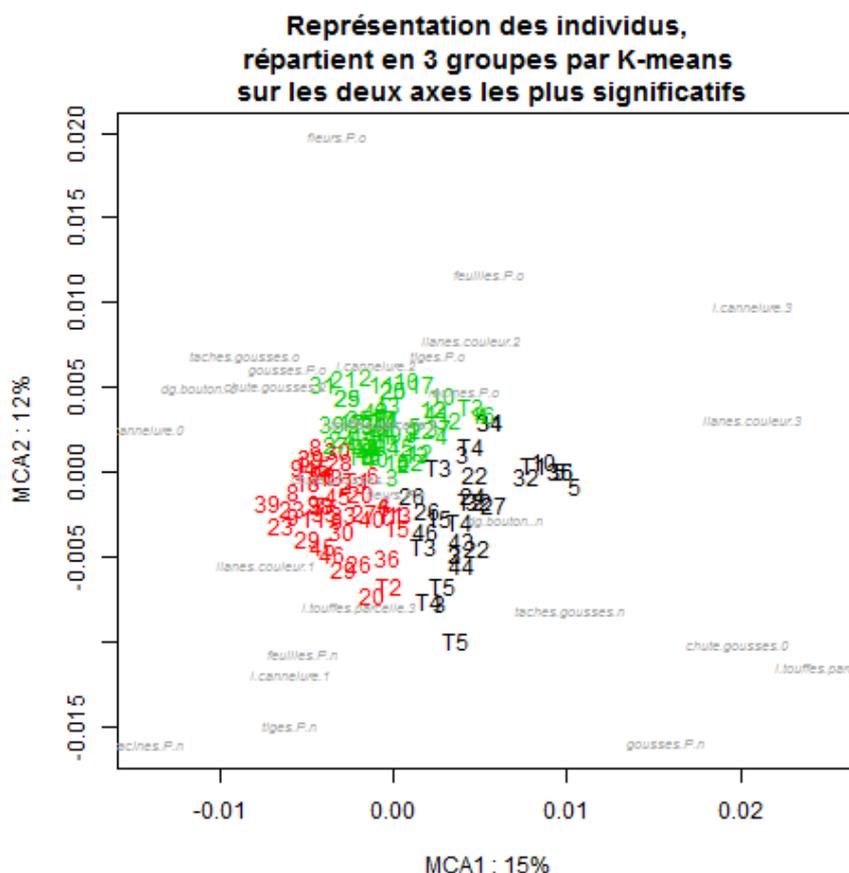
⑩ **L'axe 1 :**

⑩ Les niveaux 3 de l.cannelure et de lianes.couleur ressortent ensemble et elles ont fortement contribué à la construction de cet axe. Les niveaux 1 ressortent aussi ensemble de l'autre coté mais avec une contribution moindre.

⑩ On voit qu'en haut on aura les agriculteurs avec chutes gousse de niveau 0, pas de dégâts sur les boutons, pas d'infections sur les gousses et pas de tâches sur celles-ci. Cependant, cela ne semble pas correspondre à une opposition bonne santé contre mauvaise santé. En effet , on voit que ces individus « en bonne santé » sont plutôt de niveaux 3 pour les cannelures la couleur des lianes ce qui est signe de mauvaise santé. Ainsi, il semble plutôt que l'on est une opposition entre ceux qui ont des gousses et ceux qui n'en ont plus.

⑩ **L'axe 2 :**

⑩ On a ici une opposition avec en haut toutes les modalités reflétant réellement la mauvaise santé d'une exploitation (des dégâts sur les boutons, des tâches sur les gousses et présence de pathogènes sur les feuilles, les fleurs, les gousses, les racines et les tiges).



⑩ Les individus semblent être plus regroupés en haut à gauche autour de la modalité 2 de lianes.touffes.parcelles. Ceci n'est pas surprenant cette modalité étant fortement majoritaire

⑩ **Conclusion de la catégorie :**

⑩ On retire la variable fleurs.P, car elle est beaucoup trop déséquilibrée et que les fleurs sont presque toutes saines.

⑩ Pour la variable chute des gousses seules trois individus présentent la modalité 3. On choisit de fusionner les niveaux 2 e 3 en 2\_3.

⑩ Pour la variable l.touffes.parcelle seul, cinq individus présentent la modalité 1. On

choisit de fusionner les niveaux 1 et 2 en 1\_2.

⑩ On va créer une nouvelle variable oFusa (= autre que Fusa) à de modalité : oui, non. Elle vaudra oui si au moins l'un de ces organes est touché par autre chose que la Fusa et oui sinon.

⑩ En combinant l'interprétation des deux axes, on va créer une nouvelle variable etatsanit (=état sanitaire) qui sera une variable à 3 niveaux 1,2 et 3 (1 étant le meilleur et 3 le plus mauvais). C'est en réalité ce qu'on fait en récupérant les groupes donnés par k-means (pour 3 groupes). Elle prendra en compte les couleurs et les cannelures des lianes.

⑩ On aura donc dans cette catégorie 6 variables :

⑩ Dégâts sur les boutons, variable à 2 niveaux : oui et non

⑩ Tâches sur les gousses, variable à 2 niveaux : oui et non

⑩ Chutes des gousses, variable à 3 niveaux : 0 (le moins de chutes) ,1 et 2\_3 (le plus de chutes)

⑩ l.touffes.parcelle, variable à 2 niveaux: 1\_2 (le moins de touffes) et 3(le plus de touffes)

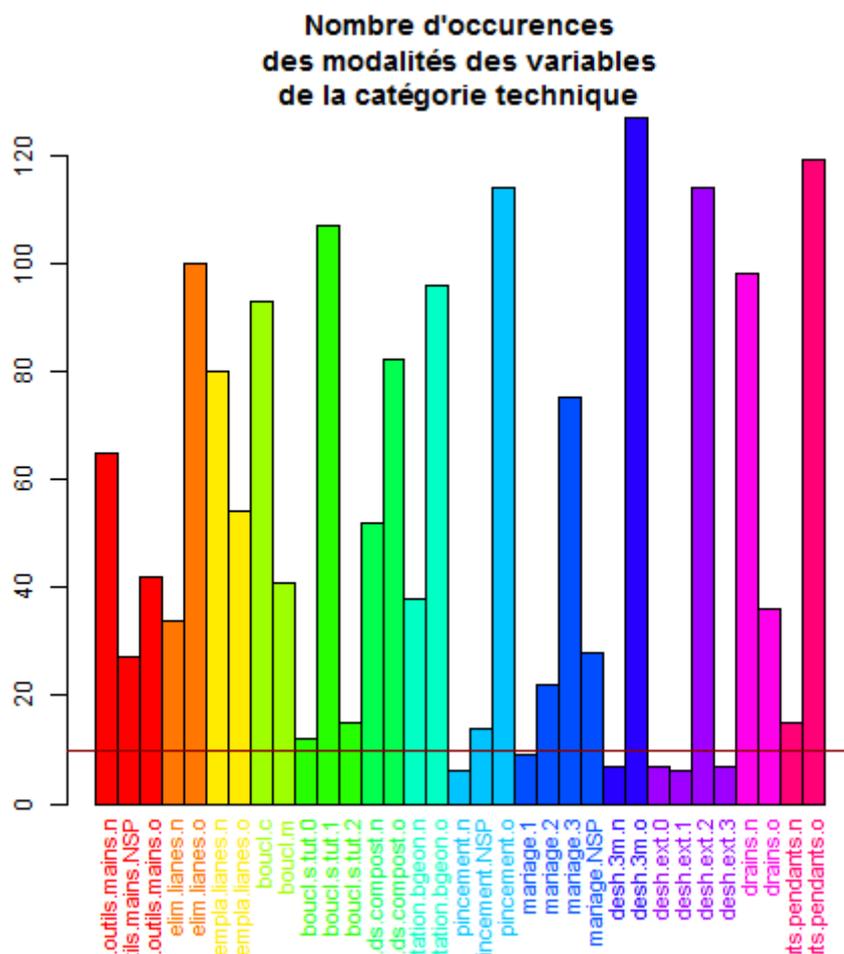
⑩ Autre que Fusa, variable à 2 niveaux : oui et non (touché et pas touché)

⑩ État sanitaire, variable à 3 niveaux : 1 (le meilleur),2 et 3 (le moins bon)

⑩ Une question se pose à propos de cette catégorie. Le but visé étant de construire un modèle statistique explicatif de l'état sanitaire. Est-il judicieux de conserver ce relevé « à la louche » de l'état sanitaire ? On risquerait d'expliquer l'état sanitaire par l'état sanitaire ce qui n'est pas très intéressant. On dispose de plus d'un état des lieux beaucoup plus précis avec le relevé des pathogènes pieds par pied.

## Techniques

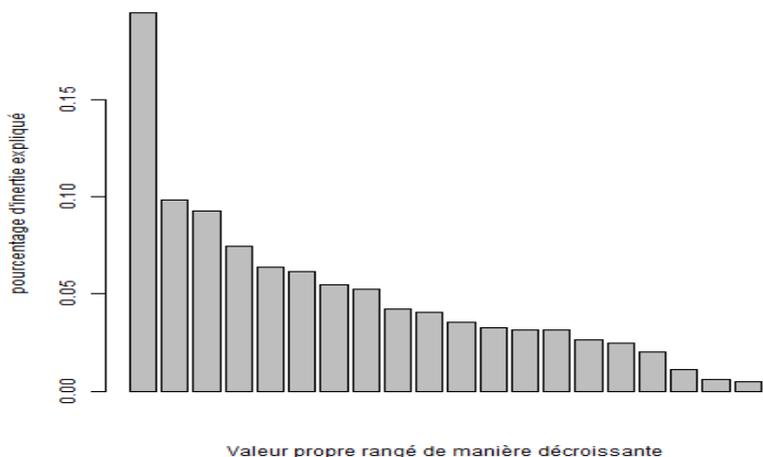
### Analyse univariée



Initialement, il y avait, en plus, dans cette catégorie les variables humidité relative intérieure et extérieure, toile insecte ouverte, porte fermée, et toilette. Après réflexion, on a choisi de transférer ces variables dans la catégorie d'environnement.

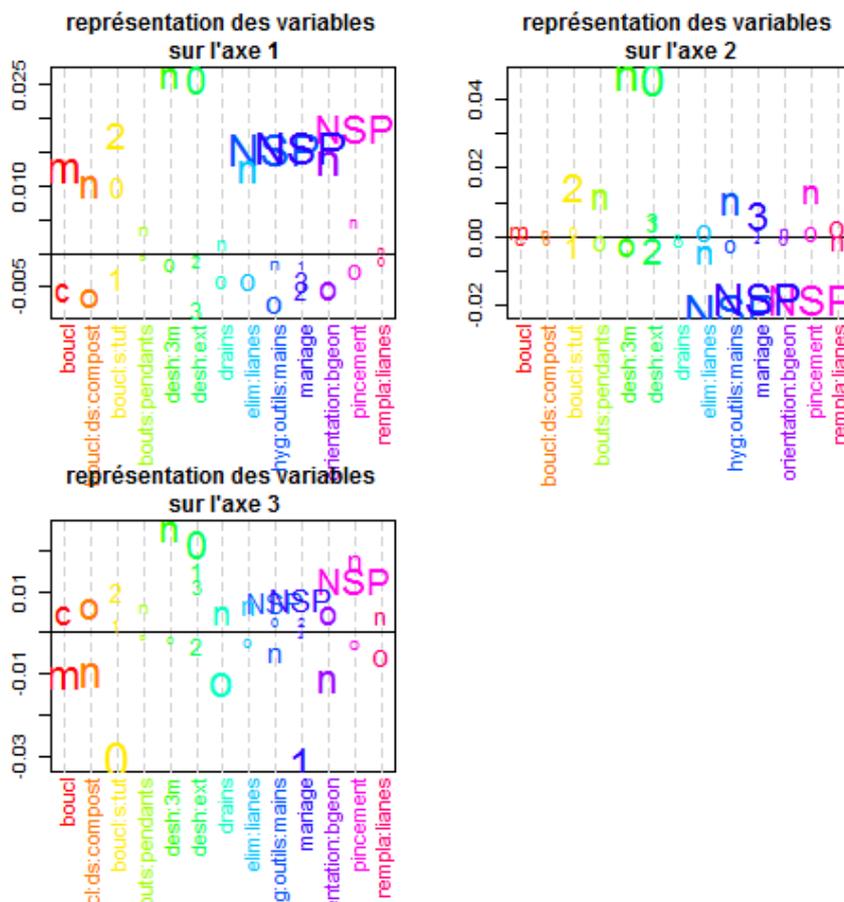
On remarque un très faible effectif dans pincement (niveaux non) désherbage à 3m (niveau non), désherbage extérieur (niveaux 0,1 et 3), et bouts pendants (niveau non)

Sélection des axes



On choisit 3 axes même si le premier explique un pourcentage de l'inertie beaucoup plus importante que les autres.

Interprétation de l'ACM



⑩ **L'axe 1 :**

- ⑩ Opposition des modalités pour la variable orientation des bourgeons. On retrouve en haut la modalité non et en bas la modalité oui.
- ⑩ Opposition pour les variables mariage et hygiène des outils et des mains entre en haut NSP et en bas les autres modalités.
- ⑩ Opposition pour la variable bouclage entre en haut la modalité mauvaise et en bas la modalité correcte.
- ⑩ Opposition pour la variable bouclage dans compost entre en haut la modalité non et en bas la modalité oui.
- ⑩ Opposition pour la variable bouclage sur tuteur entre en haut les modalités 0 puis 2 (qui sont bien séparées) et en bas la modalité 1.
- ⑩ Opposition pour les variables élimination des lianes et drains avec en haut la modalité non et en bas la modalité oui
- ⑩ Opposition pour les deux variables de désherbage entre en haut, pas de désherbage et en bas désherbage.

⑩ **L'axe 2 :**

- ⑩ Opposition pour les deux variables de désherbage entre en haut, pas de désherbage et en bas désherbage.
- ⑩ Opposition pour la variable hygiène des outils et des mains avec en haut la modalité non, légèrement négative la modalité oui, et tout en bas NSP.
- ⑩ Opposition pour la variable mariage entre, en bas la modalité NSP et en haut la modalité 3. Les modalités 1 et 2 sont très proches, presque centrées et très peu contributives.
- ⑩ Les variables élimination des lianes et remplacement des lianes sont assez contributives. Cela dit leur modalité oui et non ne sont que très légèrement séparées (en haut le oui et en bas le non).

⑩ **L'axe 3 :**

- ⑩ Pour les trois variables de bouclage, on retrouve en bas celles qui ne bouclent pas (ou mal) et en haut celles qui bouclent.
- ⑩ Opposition pour la variable drains avec en haut la modalité non et en bas la modalité oui.
- ⑩ Opposition pour la variable orientation des bourgeons avec en haut la modalité oui et en bas la modalité non.
- ⑩ Opposition pour la variable mariage entre, en haut la modalité NSP et en bas la modalité 1. Les modalités 2 et 3 sont assez proches, presque centrées et très peu contributives.



## **Conclusion générale de l'étude catégorie par catégorie**

On a maintenant 36 variables réparties en 6 catégories. On a donc éliminé 19 variables. De plus, la segmentation par catégories est, elle, certainement meilleure. En particulier la catégorie environnement qui à était « enrichie » de plusieurs variables. Cela dit, le but à terme étant de ne plus considérer ces variables par catégorie cela n'est pas très important.

On a bien réduit le nombre de variables même si l'ordre de grandeur reste le même.

On pourra éventuellement encore réduire ce nombre en prenant en compte la remarque faite sur la catégorie production. En effet, il est peut-être inutile (voir dangereux) de prendre en compte ces variables dans un modèle explicatif de l'état sanitaire.

**Annexe 4 :** Composition du milieu Hoagland modifié (EVT, Culture In vitro)

<b>Eléments</b>	<b>Quantité</b>
Solution mère d'éléments minéraux	45 ml
Levure de bière	2g
Agar agar	10g
Solution mère de fer ESDF	10ml
Eau osmosée	qspf 1L
<b>Composition de la solution mère d'éléments minéraux</b>	
Ca(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> 4H <sub>2</sub> O	10g
KNO <sub>3</sub>	16g
MgSO <sub>4</sub> 7H <sub>2</sub> O	10g
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	3,6g
Solution mère d'oligo-éléments	20 ml
Eau	Qspf 900ml
<b>Composition de la solution mère de fer EDFS</b>	
NaFe EDTA	0,734g
Eau	Qspf 200ml
<b>Composition de la solution mère d'oligo-éléments</b>	
H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	2,86g
MnCl <sub>2</sub> 4H <sub>2</sub> O	1,81g
ZnSO <sub>4</sub> 7H <sub>2</sub> O	0,22g
CuSO <sub>4</sub> 5H <sub>2</sub> O	0,08g
(NH <sub>4</sub> ) <sub>6</sub> MO <sub>7</sub> O <sub>24</sub> 4H <sub>2</sub> O	
Eau	Qspf 1L

# Annexe 5 : Protocole d'extraction d'ADN ( INRA de Dijon)

 <p>UMR1063 Mycologie et Phytopathologie 17 rue Sully - 21068 DIJON 21062 Dijon Cedex</p>	<p><b>MODE OPERATOIRE</b></p> <p>Code : MO-048</p> <p>Date d'émission : juillet 2003</p> <p>Version : 1</p> <p>Nombre de pages : 2</p>
	<p><b>Extraction d'ADN de <i>Fusarium</i> : minipréparation</b></p>

Suivi des modifications du mode opératoire : ce MO correspond à MO-97-Miniprep 1 (1997).

- 1- **Matériel** : extraction ADN, *Fusarium*, minipréparation
- 2- **Objectif / Principe** :  
Ce mode opératoire décrit une méthode rapide d'extraction d'ADN de *Fusarium* utilisable dans des réactions d'amplification par PCR (polymerase chain reaction).
- 3- **Références** :  
Edel, V., C. Sienberg, N. Griesler, G. Rescher, C. Althoff, 2001. Genetic diversity of *Fusarium oxysporum* populations isolated from different soils in France. FEMS Microbiology Ecology 36:61-71.
- 4- **Durée de l'expérience** : 1/2 jour
- 5- **Matériel nécessaire** : bain-marie à 65°C, centrifugeuse pour microtubes

**Produits nécessaires :**

- Tampon de lyse :
  - ✓ 50 mM Tris-HCl pH 7,5
  - ✓ 50 mM EDTA
  - ✓ 3% SDS
- Tampon TE :
  - ✓ Tris HCl 10 mM pH 8
  - ✓ EDTA 1 mM
- Acétate d'ammonium 7,5 M
- Isoopropanol : conservé à température ambiante
- Ethanol à 70% : conservé à -20°C.

Ces 3 solutions sont autoclavées à 120°C pendant 30 min ou à 110°C pendant 45 min et conservées à température ambiante. Elles sont ensuite utilisées dans des conditions non stériles.

- 6- **Méthode** :  
Cultiver chaque souche de *Fusarium* sur milieu potato dextrose agar (MI-012) en petite boîte de Pétri (diamètre 5 cm) pendant 5 à 12 jours.
  - Lyse  
Pour chaque souche, déposer 1 ml de tampon de lyse dans la boîte de Pétri. Gratifier la surface de la culture fongique à l'aide d'une spatule plate. Dans un microcône de 1,5 ml, récupérer 300 µl de mélange mycélium-spores-tampon de lyse. Après chaque souche, essuyer la spatule avec un mouchoir en papier puis la flambée.

Rédigé par : Véronique Edel-Hiermann	Véifié par : Nadine Gautheron	Approuvé par : Dominique Chénay
---	----------------------------------	------------------------------------

UMR 1063 – MO-048 – 1/2

Lorsque les mélanges mycélium-spores-tampon de lyse ont été préparés pour toutes les souches, agiter tous les microtubes au vortex.  
Incuber les microtubes au bain-marie à 65°C pendant 30 min (ce temps peut varier de 10 à 40 min), Agiter à nouveau les microtubes au vortex.  
Centrifuger à 12000 g pendant 10 min à 4°C. Prélever la phase supérieure (environ 400 µl) et transférer dans un nouveau microcône. Pour cela, sortir au maximum 10 microtubes de la centrifugeuse, prélever les phases supérieures, puis sortir les 10 tubes suivants, etc.

• **Précipitation des ADNs**

Aux 400 µl de surnageant, ajouter 200 µl d'acétate d'ammonium 7,5 M et 600 µl d'isopropanol. Retourner les tubes pour mélanger (ne pas mélanger au vortex). Centrifuger 15 min à 12000 g à 4°C.  
Verser les surnageants en retournant chaque microcône une seule fois (ne pas faire de va-et-vient envers-androit). Ajouter 100 µl d'éthanol à 70% (conservé à -20°C). Centrifuger 5 min à 12000 g à 4°C.  
Verser les surnageants en retournant chaque microcône une seule fois et laisser les microtubes à l'envers sur du papier absorbant. Après quelques minutes, retourner les microtubes sur un porbit, et laisser sécher les colots d'ADN à température ambiante ou à 37°C. Il est également possible de les sécher à l'aide d'un cône-tige. Lorsque les colots sont secs, ajouter 100 µl de tampon TE.  
Stocker les suspensions d'ADN dans des microtubes à vis à 4°C.

7- **Réactifs, chimiques, éléments de sécurité**

Tris	Formule chimique	Type de danger	Prévention	Phrase de risque*	Phrase de conseil de précaution
Tris (Tris(hydroxyméthyl) aminométhane)	C <sub>4</sub> H <sub>9</sub> NO <sub>3</sub>	Irritant	éviter	R36/37/38	S36-39
Tris(hydroxyméthyl)aminométhane, Acide Chlorure de sodium (solutus alcoolés)	C <sub>4</sub> H <sub>9</sub> N <sub>3</sub> O <sub>3</sub> ·xH <sub>2</sub> O	Irritant	éviter	R36	S36
SDS (Sodium Dodecyl Sulfate, Sodium lauryl sulfate)	NaCl	Irritant	éviter	R36/37/38	S36-39
Isoopropanol	C <sub>3</sub> H <sub>7</sub> O <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	Irritant	Contacter un spécialiste (si possible)	R22-26/27/28	S26-28
Ethanol (alcool éthylique, Ethanol)	CH <sub>3</sub> COHCH <sub>3</sub>	Toxique, Inflammable, Irritant	Contacter un spécialiste	R	S7-1/2-3/2/3/6
Ethanol (alcool éthylique, Ethanol)	CH <sub>3</sub> CH <sub>2</sub> OH	Inflammable, Irritant	Contacter un spécialiste, Éviter l'inhalation	R11	S7-1/6

\* Voir ECHYS-002

8- **Evacuation des déchets**

Déchets solides, microbiologiques et moléculaires : ils doivent être entreposés dans des sacs à autoclave dans votre laboratoire.  
Pour la destruction des champignons, ces sacs seront fermés avec du scotch, et emmenés par vos soins dans le container situé vers le hangar de la serre.  
Déchets chimiques : entreposer dans les contenants spécifiques dans chaque laboratoire, veiller à séparer les toxiques des non toxiques.

UMR 1063 – MO-048 – 2/2