

## TEST DE RESISTANCE VIS-A-VIS DE LA MALADIE DE L'ENCRE SUR TIGES EXCISEES DE CHATAIGNIER

Ramos Guedes-Lafargue Maria<sup>1</sup>, Franzini René<sup>1</sup>, Laigret Frédéric<sup>1</sup>

La châtaigneraie, traditionnelle française constituée de l'espèce *Castanea sativa*, est sensible à deux maladies cryptogamiques qui sont la maladie de l'encre (causée par *Phytophthora cinnamomi* et *P. cambivora*) et le chancre de l'écorce (causée par *Cryphonectria parasitica*). Depuis 1986, un programme d'amélioration génétique est réalisé à l'UREFV en utilisant les espèces *C. crenata* et *C. mollissima*, avec l'objectif de créer et de sélectionner des châtaigniers performants sur le plan fruitier et d'un meilleur niveau de résistance à la maladie de l'encre que les cultivars interspécifiques INRA existant actuellement (Salesses, 1993a). L'utilisation de tests d'évaluation du comportement vis-à-vis de l'encre est nécessaire pour préciser le comportement du matériel existant, définir la valeur des géniteurs, des résistances (Salesses, 1993b) et sélectionner parmi les hybrides créés.

### 1. MATERIEL ET METHODES

#### 1.1. Préparation du matériel végétal

Le matériel végétal est prélevé sur des arbres âgés de 6 à 7 ans implantés en parcelle d'étude. On utilise des tiges, rameaux de l'année excisés, maintenues en survie au laboratoire en conditions contrôlées (Salesses, 1993c). Ces tiges doivent être en croissance au moment du prélèvement, c'est-à-dire début juin en ce qui concerne l'espèce châtaignier. On prélève 6 à 8 rameaux par génotype. Chaque échantillon est identifié, et placé dans un récipient contenant de l'eau dans l'attente de la réalisation du test.

Les tiges sont décapitées au-dessous de la 6<sup>e</sup> ou 7<sup>e</sup> feuille à compter du bourgeon terminal. On laisse sur le rameau 3 ou 4 feuilles que l'on tronque avec des ciseaux pour faciliter la survie du matériel. Les tiges peuvent parfois être raccourcies à leur base afin d'homogénéiser tous les échantillons à une hauteur de 30 cm environ.

En même temps, des témoins de sensibilité (une variété de *Castanea sativa*) et de résistance (un cultivar de *C. crenata* et/ou un hybride interspécifique) sont prélevés et le matériel est préparé de façon identique.

#### 1.2. Préparation de l'inoculum ou du matériel "bioagresseur"

Le matériel fongique utilisé est une souche de *Phytophthora cinnamomi* (isolat 9) fournie par l'UMR BIOGECO (Département EFPA, Centre INRA de Bordeaux). Cet isolat a été isolé à Ainhoa au Pays Basque sur *Quercus rubra* en mars 1988.

L'inoculum est constitué de cylindres de 4mm de diamètre prélevés à l'emporte-pièce, à la périphérie d'une culture de la souche fongique en croissance depuis 8 jours sur milieu V8 gélosé. La croissance du champignon se déroule dans une étuve à 26°C et à l'obscurité.

#### 1.3. Inoculation et incubation

La tige décapitée est entourée d'un petit tube de papier aluminium qui sert à maintenir le pathogène. La pastille contenant le mycélium du pathogène est placée sur la section de la tige.

---

<sup>1</sup> INRA, CR Bordeaux, UREFV, 71 av. Edouard-Bourleaux, BP81, 33883 Villenave d'Ornon Cedex.

On s'assure que le champignon est bien en contact avec le végétal en enfonçant le manche d'une lancette lancéolée dans le tube de papier aluminium. Un autre capuchon d'aluminium fermé à une extrémité est placé sur l'ensemble de façon à conserver une bonne humidité relative autour de l'inoculum. La tige est ensuite placée dans du sable de rivière soigneusement désinfecté. Pour chaque génotype à évaluer, 6 rameaux sont inoculés et ils sont répartis aléatoirement en deux blocs à raison de 3 répétitions par bloc.

L'incubation est réalisée dans une pièce climatisée avec 90% d'humidité relative obtenue grâce à un humidificateur de type « Défensor », un éclairage journalier de 16 heures et une température de 25°C. La température ne doit pas dépasser 30°C, car ce seuil bloque la croissance du pathogène.

#### 1.4. Système de notation

La lecture se fait 10 jours après l'inoculation. Les capuchons d'aluminium, sont ôtés et on mesure la longueur de la nécrose due au pathogène depuis le point d'inoculation (Photo 1). La notation est effectuée en mm avec un pied à coulisse. Pour chaque tige, on note le génotype, les blocs et les répétitions.



**Photo 1** : Test sur tiges excisées : exemple de nécrose développée sur un hybride (*C. sativa* x *C. crenata*) relativement sensible, 10 jours après inoculation.

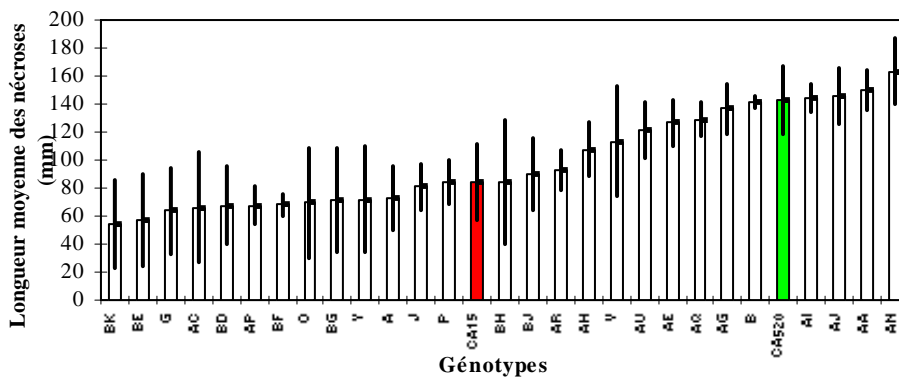
#### 1.5. Interprétation des résultats

Tous les rameaux inoculés doivent présenter des nécroses. Si ce n'est pas le cas, alors la contamination ne s'est pas faite et le matériel est éliminé. Les témoins de sensibilité et de résistance doivent présenter des longueurs de nécrose très différentes (<80 mm pour les résistants et >150 mm pour les sensibles). Ce point permet de vérifier que l'incubation s'est réalisée dans de bonnes conditions expérimentales : la croissance du pathogène ne s'est pas bloquée. Une analyse de variance permet de vérifier les effets répétitions et blocs de l'essai réalisé. Si ces effets sont non significatifs au seuil de 5%, on peut effectuer un test de comparaison du comportement de chaque hybride par rapport aux deux témoins sur les données moyennes. Le test de Newman et Keuls ou le test de Dunnett permettent de classer les hybrides les uns par rapport aux autres et par rapport aux témoins.

## 2. RESULTATS ET INTERPRETATION

Le résultat présenté ci après est un essai réalisé en 2002 sur 27 génotypes hybrides (*Castanea sativa* x *C. crenata*) et (*C. sativa* x *C. mollissima*). Le témoin de sensibilité est la variété *C. sativa* Montagne (Ca 520) et le témoin de résistance est le cultivar interspécifique le plus planté actuellement dans les nouveaux vergers de châtaignier : Marigoule (Ca 15).

L'analyse de variance montre un effet bloc et répétition non significatif au seuil de 5%. Les dimensions des nécroses sont significativement différentes entre elles. Elles varient de 53mm à 163 mm, les longueurs des nécroses des témoins étant de 84mm pour Ca15 et 142.6 mm pour Ca520 (figure 1).



**Figure 1 :** Longueur moyenne des nécroses, en mm, provoquées par *Phytophthora cinnamoni* sur différents génotypes de châtaignier

Le test de Dunnett par rapport au témoin de résistance conduit à classer les clones de châtaignier de la façon suivante :

- les très sensibles : V, AU, AE, AQ, AG, B, AI, AJ, AA, AN,
- les peu sensibles, autant que le témoin Marigoule : AH, AR, BJ, BH, P, J, A, BG, Y, O, BF, AP, BD, AC, G,
- les très peu sensibles : BE et BK.

Seuls les génotypes peu et très peu sensibles continueront à être évalués sur des critères fruitiers et agronomiques.

### 3. CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Ce test sur rameaux de l'année excisés a été développé dans le cadre d'un programme d'amélioration génétique et de sélection du châtaignier afin de pouvoir déterminer le comportement d'arbres adultes vis-à-vis du pathogène. Les arbres adultes peuvent être des hybrides à évaluer ou des ressources génétiques dont il faut connaître le niveau de résistance pour les utiliser dans des plans de croisement.

### RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Salesses G., Chapa J., and Chazerans P., 1993a. The chestnut in France – Cultivars – Breeding programs. Proceedings of the International Congress on Chestnut, Spoleto, Italy, October 20-23, 331-337.
- Salesses G., Chapa J., and Chazerans P., 1993b. Screening and breeding for ink disease resistance. Proceedings of the International Congress on Chestnut, Spoleto, Italy, October 20-23, 545-549.
- Salesses G., Ronco L., Chauvin J.E., and Chapa J., 1993c. Amélioration génétique du châtaignier. Mise au point de tests d'évaluation du comportement vis-à-vis de la maladie de l'encre. L'Arboriculture Fruitière. 458: 23-31.