

OUTIL DE SELECTION EVALUANT LA SENSIBILITE VARIETALE A LA MALADIE DES NECROSES ANNULAIRES DES TUBERCULES CAUSEE PAR LE VIRUS Y DE LA POMME DE TERRE

Karine Charlet-Ramage¹, Camille Kerlan²

Le variant Y^{NTN} du virus Y de la pomme de terre (PVY) (Le Romancer *et al*, 1994) transmissible par pucerons, provoque la maladie des nécroses annulaires superficielles des tubercules de pomme de terre (PTNRD) (Beczner *et al*, 1984). La maladie est économiquement préjudiciable à la culture de pomme de terre de semence et de consommation à l'échelle mondiale. La lutte génétique se révèle être la plus efficace, elle repose sur une sélection variétale en amont de la filière.

Afin de sélectionner du matériel résistant ou tolérant, les créateurs de variétés nouvelles peuvent aujourd'hui utiliser un outil validé. Il permet d'évaluer en conditions naturelles, le comportement de géotypes en cours de sélection et révèle ainsi un critère supplémentaire indispensable, pour mener à bien une réflexion sur le choix des géotypes avant toute inscription au catalogue officiel français.

1. MATERIEL

1.1. Matériel végétal

Sept variétés de pomme de terre sont utilisées en tant que témoins positifs et négatifs de la PTNRD. Les géotypes testés appartiennent aux sélectionneurs français de variétés nouvelles ; leur nombre est en augmentation chaque année (49 en 1996, 120 en 2004).

1.2. Inoculum

L'inoculum est un isolat viral référencé PVY^{NTN} Frorl, il dérive d'un isolement réalisé en 1983 dans une culture de pomme de terre du centre de la France. Il a été bien caractérisé et il est conservé à l'unité BiO 3P du centre INRA de Rennes.

Il est apporté sur le dispositif sous forme de tubercules infecteurs. Ces tubercules sont produits en conditions contrôlées l'année précédant l'expérimentation :

Des tubercules sains d'une variété fortement sensible à la PTNRD sont plantés en pot dans un terreau stérile, sous serre. Au stade végétatif de 4 feuilles, la plante est inoculée mécaniquement par frottis avec l'isolat viral conservé sur un plant de *Nicotiana tabacum*. Le virus est ainsi transmis aux tubercules naissants, qui une fois récoltés serviront d'infecteurs.

2. METHODES

2.1. Chronologie : L'expérimentation est présentée sous forme de schéma chronologique en page suivante (figure 1).

2.2. Conditions expérimentales

L'expérimentation est réalisée en plein champ dans la région sud-ouest de la France. Le choix géographique est dû à la présence d'un potentiel d'espèces aphidiennes vectrices du PVY.

¹ INRA, UMR BiO3P, 35650 Le Rheu

² G NIS, 44 rue du Louvre, 75001 Paris

Il est également dû aux conditions environnementales favorables au développement de la maladie, notamment la température.

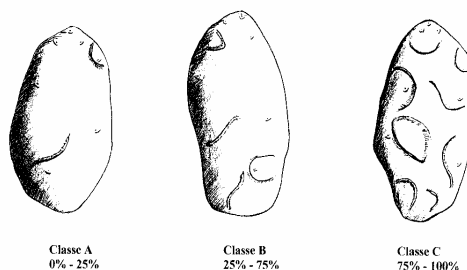
Le dispositif de l'essai alterne les rangs de géotypes à tester et les rangs dits « infecteurs ». Les variétés témoins sont répétées une fois, à raison de 10 tubercules par variété. Les géotypes sont évalués avec 10 tubercules sans répétition et ils sont disposés de manière aléatoire au sein de la surface de l'essai

2.3. Notations en végétation et sur tubercules

2.3.a. Lors des notations en cours de culture, la levée des plantes ainsi que l'état sanitaire général sont appréciés. Chaque géotype est observé sur l'ensemble des 10 pieds. Les plantes exprimant des viroses sont comptabilisées, avec une description des symptômes. Ils peuvent être de plusieurs natures :

- mosaïque
- gaufrage et frisolée
- nécroses nervaires, lésions nécrotiques (halos, feuilles de chêne...)
- bigarrure (nanisme, mosaïque, rigidité, nécroses, gaufrage...)

2.3.b. Les notations sur tubercules sont effectuées à la récolte et deux mois après une période de conservation à température ambiante et en semi obscurité. Les tubercules sont notés individuellement. La sévérité de la PTNRD est appréciée en répertoriant les tubercules atteints en trois classes A, B et C selon le pourcentage de la surface nécrosée.



Ces notations sont exploitées par un calcul de pourcentage de tubercules nécrosés et par un calcul d'Indice de Maladie (IM). Cet indice, allant de 0 à 1 est plus représentatif de la sévérité de la maladie, dans le sens où il prend en compte le nombre de tubercules nécrosés et le pourcentage de surface nécrosée ; il est calculé en appliquant la formule suivante :

$$\frac{(\text{nombre de tubercules nécrosés} \times \text{coefficient A}) + (\text{nb tub} \times \text{coeff. B}) + (\text{nb tub} \times \text{coeff. C})}{\text{Nombre total de tubercules}} \times \frac{1}{0,875}$$

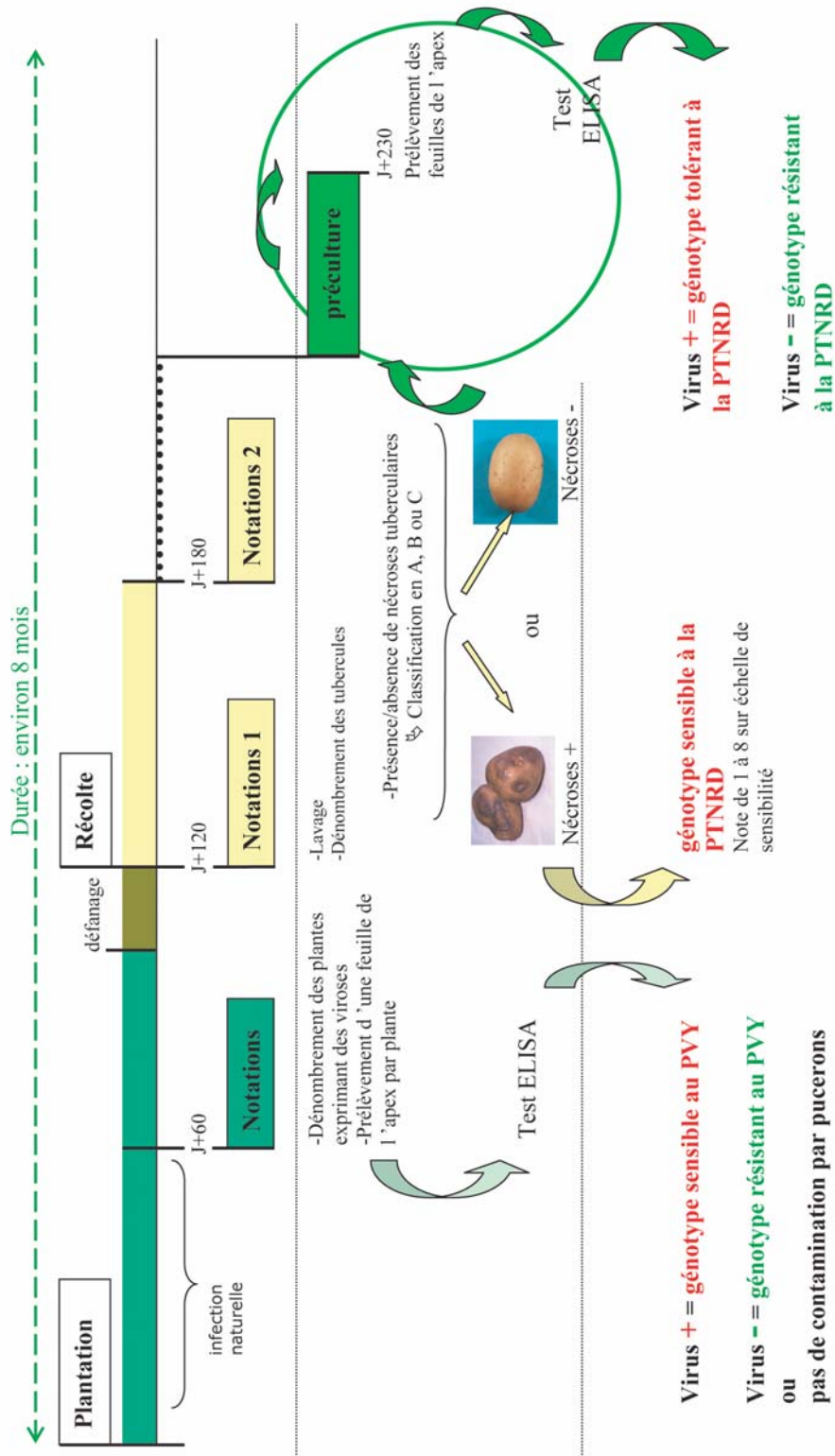
Les coefficients sont pour la classe A de 0,125, pour B de 0,50 et pour C de 0,875.

note	indice de maladie
1	0.875 - 1
2	0.750 - 0.875
3	0.625 - 0.750
4	0.500 - 0.625
5	0.375 - 0.500
6	0.250 - 0.375
7	0.125 - 0.250
8	0 - 0.125
9	0

Avec cet IM, les géotypes sont classés sur une **échelle de sensibilité à la PTNRD** allant de 9 (non sensible) à 1 (très sensible).

2.4 Préculture

Tous les géotypes n'exprimant pas le phénotype de nécroses sur tubercules (note 9) subissent une préculture. Elle est réalisée après la deuxième notation sur tubercules sur un échantillon de 25% des tubercules-fils pour chaque géotype.



Chronologie de l'expérimentation

La préculture est une opération qui consiste à mettre en culture des œilletons prélevés sur tubercules (un œilleton est égal à un œil, soit un germe). Le prélèvement s'effectue à l'aide d'une gouge. Un traitement de levée de dormance des œilletons est effectué par de l'acide gibbérellique avant leur plantation dans un terreau stérile et sous serre hermétique aux pucerons. Ce traitement provoque la levée du repos végétatif et entraîne la germination ainsi qu'une forte multiplication virale et une distribution plus homogène du virus dans les différents tissus. La fiabilité des tests de détection du virus est ainsi portée à un niveau optimal.

2.5. Contrôles sérologiques en cours de culture et en préculture

Afin d'évaluer le comportement des géotypes, il est indispensable de rechercher la présence du virus sur les plantes en cours de culture et sur les tubercules notés indemnes de nécroses (note 9).

Le test sérologique utilisé est le DAS-ELISA (Double Antibody Sandwich – Enzyme-Linked Immunosorbent Assay). Il permet de détecter le virus Y^N auquel appartient le variant Y^{NTN}.

- **En végétation**, le test est réalisé sur les feuilles prélevées lors de la notation.
- **En préculture**, chaque apex des plantules issues des œilletons est prélevé, puis testé en sérologie.

Ces contrôles sérologiques permettent de déterminer pour chaque géotype, sa **résistance** (géotype ayant la capacité d'empêcher la pénétration du virus) ou sa **tolérance** (géotype pouvant acquérir le virus, permettre sa multiplication et sa capacité à envahir toute la plante, mais n'exprimant aucune nécrose tuberculaire).

2.6. Validation de l'outil

Les variétés témoins de la PTNRD annuellement évaluées depuis 1996, ont donné des résultats validant la fiabilité de l'outil en matière d'homogénéité d'infection par transmission aphidienne, de reproductibilité des résultats et de conservation dans le temps du comportement face au virus (sensibilité et tolérance).

3. RESULTATS ET INTERPRETATION

3.1. Comportement des variétés témoins

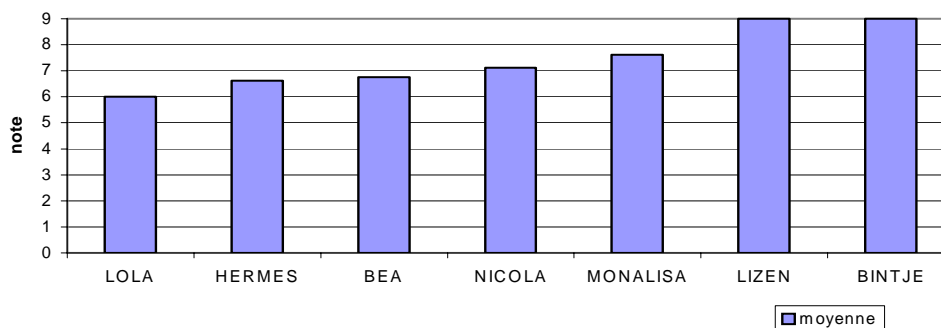
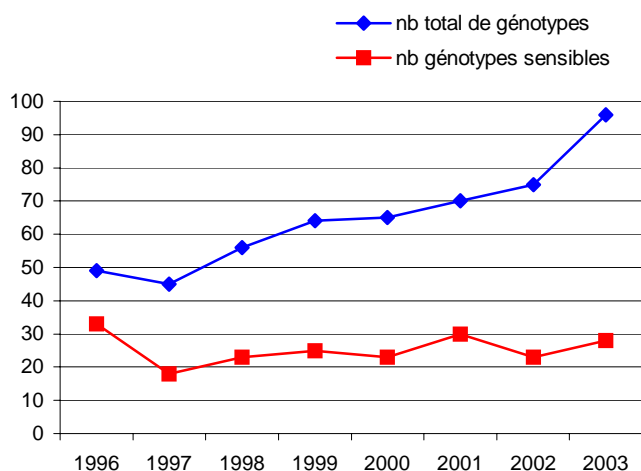


Figure 2 : Evaluation moyenne du comportement des sept variétés témoins de 1996 à 2003 (la note est déterminée en fonction de l'indice de maladie, cf 2.3.b).

3.2. Bilan sur huit années d'expérimentation

653 génotypes et variétés ont pu être testés et leur comportement à la PTNRD a été défini.



- La différence entre les deux courbes montre bien la **diminution du nombre de génotypes français sensibles**, l'outil commence donc à porter ses fruits sachant que dix années sont nécessaires pour créer une variété de pomme de terre et pour pouvoir la commercialiser.

Figure 3 : Evolution de la sensibilité du matériel français (en ordonnée le nombre de génotypes testés annuellement)

3.3. Devenir des génotypes après évaluation

Une enquête réalisée en 2001 avait pour objectif de mettre en évidence les premiers résultats concrets de l'intérêt d'un tel outil (Figure 4). Nous avons répertorié le nombre de génotypes conservés dans le schéma de sélection, le nombre de génotypes éliminés ainsi que les raisons de leur élimination, soit uniquement pour la sensibilité à la PTNRD, soit pour d'autres critères.

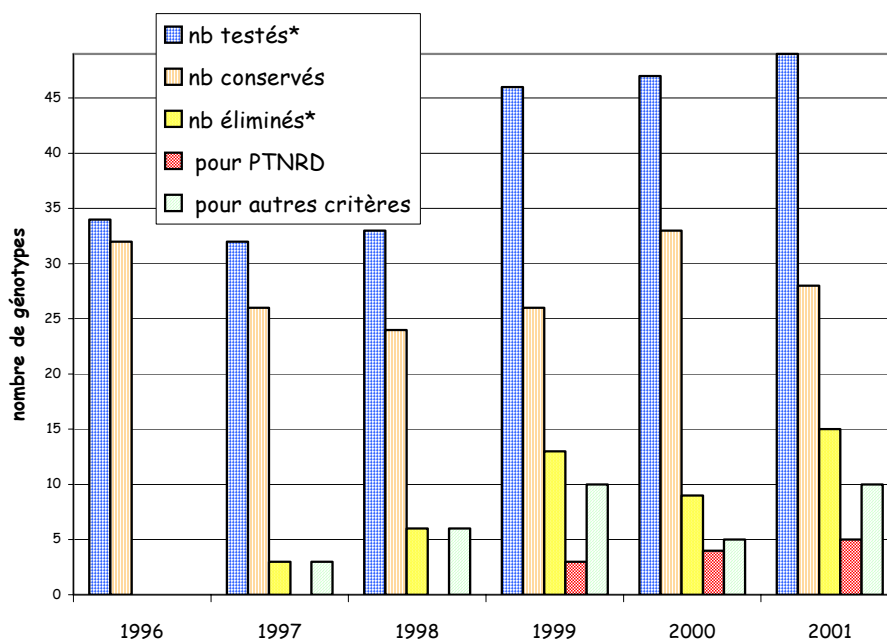


Figure 5 : Devenir des génotypes après évaluation (enquête réalisée après six années d'expérimentation)

*NB : l'histogramme est établi à partir de données partielles communiquées par les sélectionneurs.

Depuis 1996, la quantité de matériel testé augmente, ceci étant révélateur d'une **demande importante** de la part des sélectionneurs.

- L'augmentation du nombre d'hybrides éliminés - de surcroît du nombre d'hybrides éliminés uniquement sur un critère de sensibilité à la PTNRD - montre bien que la maladie des nécroses tuberculaires est de plus en plus prise en compte dans le schéma de sélection variétale. Ce nombre d'hybrides éliminés demeure cependant faible.

4. CONCLUSION

L'essai de sensibilité variétale à la PTNRD est utilisé annuellement par les sélectionneurs français depuis 1996 ; il est satisfaisant et correspond à leurs attentes. Les conditions de l'essai répondent également de façon assez optimale à l'objectif fixé. Outre sa première mission, celle de définir un comportement variétal, cet outil a permis également d'améliorer les connaissances en matière de symptomatologie sur feuillage et sur tubercules. Il a également engendré une réflexion plus profonde des sélectionneurs en rendant ce critère dévalorisant pour le génotype, voire éliminatoire dans le cas d'une sensibilité très prononcée. De plus, le fait que le caractère de tolérance puisse avoir des conséquences non négligeables sur la dissémination du virus, est un élément dont les sélectionneurs sont de plus en plus conscients aujourd'hui. **L'impact de cet essai est tel sur le schéma de sélection variétale qu'il est devenu un outil de sélection indispensable.**

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Beczner L, Horvath J, Romhanyi I, Förster H (1984) Studies on the etiology of tuber necrotic ringspot disease in potato. *Potato Res* 27 : 339-352
- Clark MF, Adams AN (1977) Characteristics of the microplate method of enzyme-linked immunosorbent assay. *J Gen Virol* 34 : 475-483
- Le Romancer M, Kerlan C, Nedellec M (1994) Biological characterization of various geographical isolates of potato virus Y inducing superficial necrosis on potato tubers. *Plant Pathol* 43 : 138-144