

OUTIL D'OPTIMISATION DE LA SELECTION DANS LA RECHERCHE CHEZ LA POMME DE TERRE DE RESISTANCE AUX NEMATODES A KYSTE *Globodera pallida* et *Globodera rostochiensis*

Claudia Rouaux¹ et Didier Fouville¹

La sélection variétale de pomme de terre résistant à *Globodera* sp, parasites de quarantaine, consiste à rechercher des gènes de résistance et à les transférer dans du matériel tétraploïde d'intérêt agronomique. Une résistance polygénique a été trouvée chez *Solanum vernei* (espèce diploïde) dont l'hérédité est telle que la probabilité de détecter, par des tests individuels, des génotypes résistants issus de croisements est très faible. Le souci majeur d'un sélectionneur étant de disposer en un minimum de temps de génotypes résistants, nous avons développé un **test de descendance préalable au test individuel**, qui a offert une aide intéressante pour la sélection de résistances polygéniques.

1. MATERIEL ET METHODES

1.1. Le matériel

- Pots 9 X 9 cm
- Loupe binoculaire
- Agrafes universelles galvanisées VR16 (préparation de l'inoculum)
- Homogénéisateur TURBULA (voir photo ci-contre)
- Filtres en disque diamètre 10 cm (extraction acétone) et diamètre 19 cm (extraction Elutriateur)



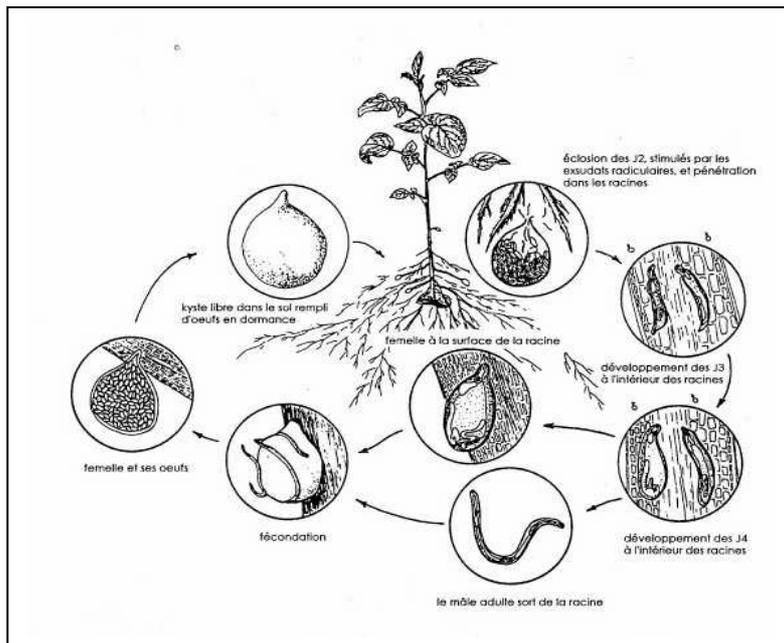
1.2. Le matériel végétal

Les plants sont obtenus soit par tubercules issus de graines pour le test de descendance, soit par tubercules reproduits par voie végétative pour les tests individuels. La variété Désirée est utilisée comme témoin sensible dans les deux cas.

1.3. L'inoculum

Ces nématodes sont des parasites telluriques enkystés contenant 200 à 1000 œufs. L'éclosion des œufs contenus dans les kystes est favorisée par l'humidité et par des exsudats radiculaires de pomme de terre. La jeune larve éclore perfore l'épiderme des racelles de la plante-hôte, pénètre dans les tissus, progresse à travers les cellules et induit la formation d'une cellule nourricière : un syncytium. Au bout de vingt jours, les mâles sortent des racines tandis que les femelles grossissent et deviennent piriformes. Ceci induit l'éclatement de l'épiderme mais les femelles restent fixées à l'hôte par la tête. La reproduction sexuée entraîne le développement des œufs dans la femelle qui se transforme en kyste et meurt. Ces kystes se détachent alors et restent dans le sol. Leur durée de vie est supérieure à cinq années.

¹ UMR Bio3P, INRA, Domaine de la Motte, BP 35327 Le Rheu Cedex 35653
rouaux@rennes.inra.fr - fouville@rennes.inra.fr



La population *G. pallida* Chavornay utilisée pour ces tests est originaire de suisse. Le test individuel peut également être réalisé avec une autre espèce : *G. rostochiensis*, population Ecosse et dont la source de résistance chez la pomme de terre est monogénique

Cycle du nématode

1.4. Préparation de l'inoculum et mise en culture

Dix kystes par plante à tester sont regroupés dans un sachet fabriqué avec un tulle d'un maillage de 250 µm et fermé avec une agrafe à grillage de clôture. L'ensemble des sachets pour la mise en place d'un test est réhydraté dans un récipient d'eau du robinet pendant trois jours à température ambiante avant d'être déposé dans un pot à demi rempli d'un mélange 2/1 de terre végétale tamisée (tamis de 4 mm de maillage) et de sable de rivière. Le tubercule est posé sur le sachet de kystes et l'ensemble est recouvert du même mélange de substrat. Un arrosage est effectué à la base des pots. Cette réhydratation par capillarité évite ainsi au sol de se compacter lors des trois mois de culture. Les conditions de culture en serre S2 sont de 20°C et 16 h de photopériode.

1.5. Descriptif des tests de résistance et extraction des kystes néoformés

1.5.a. Les tests de descendance

Quarante tubercules issus d'un même croisement végétal sont plantés isolément en pot et inoculés. Après 3 mois de culture, arrêt d'irrigation et sénescence des plantes, le substrat sec contenu dans les pots est regroupé en 4 lots de 10 plantes. Une première homogénéisation par tamisage avec un tamis métallique de 2 mm de maillage est effectuée pour ces 4 lots en prenant la précaution d'éliminer les tubercules néoformés et racines qui pourraient gêner l'homogénéisation. Cet ensemble est pesé avant de subir pendant 7 minutes une deuxième homogénéisation grâce à un appareil TURBULA. Pour finir, un dixième du poids de substrat de chaque lot est pesé et les kystes sont dénombrés par comptage sous la loupe binoculaire.

1.5.b. Les tests individuels

Quatre tubercules issus d'un génotype identifié comme résistant à l'issue du test de descendance sont plantés isolément en pot et infestés. Après culture, les kystes de chaque pot seront dénombrés.

1.5.c. L'extraction du substrat à l'élutriateur de Kort (photo ci-contre)

Afin d'extraire les kystes du substrat, on réalise une extraction à l'aide d'un élutriateur de Kort après réhydratation du sol. Le substrat est entraîné dans l'appareil à travers un tamis de 2mm par aspersion d'un jet d'eau. Un courant ascendant permet de faire remonter les kystes et un peu de matière organique sur un tamis de 250µm. Le refus de tamis est alors récupéré dans un filtre à papier puis mis à sécher.



1.5.d. L'extraction du refus de tamis à l'acétone

Une différence de densité dans l'acétone entre les kystes et la matière organique d'extrait sec de substrat permet de regrouper dans le haut du col d'une fiole jaugée de 200 ml, les kystes avec un minimum de matière organique. Il suffit ensuite de verser le haut du contenu de cette fiole dans un cône à filtre en papier pour récupérer les kystes et les dénombrer sous la loupe binoculaire.

2. RESULTATS ET ANALYSES STATISTIQUES

Un génotype est considéré comme résistant lorsqu'il ne permet pas l'accomplissement du cycle du nématode et donc sa multiplication

2.1. Les tests de descendance

Avec les comptages effectués sur les quatre lots issus d'un même croisement, une moyenne géométrique (Mg) de kystes formés et un écart-type sont calculés pour hiérarchiser, en fonction de leur degré de résistance, les différents croisements testés.

2.2. Les tests individuels

Avec les comptages des quatre répétitions du génotype à testé, un % de résistance est établi selon la formule suivante par rapport à un témoin sensible Désirée:

$$100 (1 - (\text{Mg du génotype testé} / \text{Mg du témoin Désirée}))$$

L'élaboration d'une note officielle est obtenue selon la formule suivante :

$$9 - 7 (\text{Log}(\text{Mg du génotype} + 1) / \text{Log}(\text{Mg Désirée} + 1))$$

| code | test de descendance | | | | | | test individuel | |
|------|--------------------------|-----|-----|-----|------------|------------|-----------------------|-----------|
| | Nombre de kystes par lot | | | | Mg | écart type | % de génotypes gardés | Mg |
| N°1 | 45 | 83 | 29 | 53 | 49 | 23 | 64 | 11 |
| N°2 | 20 | 82 | 95 | | 54 | 40 | 72 | 35 |
| N°3 | 134 | 77 | 120 | 71 | 97 | 31 | 55 | 41 |
| N°4 | 89 | 164 | 121 | 92 | 113 | 35 | 24 | 49 |
| N°5 | 161 | 81 | 109 | 293 | 143 | 94 | 22 | 50 |

Tableau 1 : Recherche de géniteurs possédant une résistance de type polygénique à *G. pallida*

| Test individuel | | | | | | | |
|-----------------|--------------------------------|-----|-----|-----|-------|-----------------|-------|
| Code | Nombre de kystes par tubercule | | | | Mg | % de résistance | Note* |
| N°1 | 0 | 0 | 0 | 2 | 0 | 100 | 9 |
| N°2 | 320 | 235 | 412 | 488 | 350,7 | 42,1 | 2,6 |
| N°3 | 0 | 0 | 1 | 2 | 0 | 100 | 9 |
| N°4 | 285 | 308 | 292 | 400 | 318,2 | 47,5 | 2,7 |
| Désirée | 433 | 530 | 720 | 820 | 606,7 | 0 | 2 |

*indice européen échelle de 2 à 9 (2 : témoin sensible - 9 : résistant)

Tableau 2 : Recherche de géniteurs possédant une résistance de type monogénique à *G. rostochiensis*. Le test de descendance ne se justifie pas ici car la résistance étant de nature monogénique, elle ne peut être que totalement ou pas du tout transmise. Ce tableau fait apparaître 2 géniteurs résistants : les N°1 et N°3.

3. CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES

Ces deux tests répondent assez bien aux exigences présentées par les sélectionneurs. L'ensemble des travaux d'extraction et de dénombrement nécessite environ 4h00 de travail en moyenne pour un croisement en test de descendance (40 génotypes) et 2h30 pour les quatre répétitions d'un test individuel. Un nombre important de génotypes non résistants seront ainsi éliminés à l'issue du premier test.

On dispose donc pour *G. pallida* avec le test de descendance d'un outil rapide permettant de faire un choix entre plusieurs croisements concernant la meilleure transmission des formes de résistance polygéniques existantes. On dispose pour *G. pallida* et *G. rostochiensis* d'un test individuel européen permettant la validation des différentes sources de résistance. Des sélectionneurs privés français disposent aujourd'hui de matériel sélectionné par ces deux méthodes. Ces deux tests, toujours d'actualité, sont encore utilisés, et ce depuis plusieurs années dans le cadre d'un contrat entre notre unité et un sélectionneur.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Mugniéry D, Balandras C (1986) Test de résistance de descendance de pomme de terre à *Globodera rostochiensis* Woll. *Potato Reseach* 29, 131-140.