

DISPOSITIF D'ÉVALUATION PRÉCOCE DE LA RÉSISTANCE DU POMMIER À LA TAVELURE (*Venturia inaequalis*)

Bernard Petit¹, Pascale Expert², André Fouillet¹, Luciana Parisi² et François Laurens¹

Le pommier est la première espèce fruitière cultivée en France, la plus importante de ses maladies est la tavelure, un champignon ascomycète (*Venturia inaequalis*) qui provoque une défoliation précoce, des tâches sur les fruits qui peuvent aboutir à leur déformation, les déclassant ainsi pour la commercialisation.

La maîtrise de la tavelure en verger nécessite un programme phytosanitaire important, coûteux et dommageable pour l'environnement.

L'évaluation précoce en conditions contrôlées par un test rapide et fiable du niveau de sensibilité à la tavelure permet de sélectionner des géniteurs portant des résistances totales ou partielles afin de les inclure dans des programmes de création variétale. L'objectif final est d'obtenir des pommiers avec un niveau de résistance satisfaisant et durable pour l'arboriculture.

Le gène de résistance à la tavelure V_f a été mis en évidence en 1943. Il a fallu 50 ans pour créer des variétés porteuses du gène V_f et qui satisfassent les exigences commerciales. Dans les années 90 une race de *Venturia inaequalis* contourne le gène V_f . Cette nouvelle race (6) est encore peu répandue en Europe. L'année 1995 voit apparaître une autre race (7) qui aujourd'hui est répandue dans les vergers du nord de l'Europe.

1. MATÉRIEL ET MÉTHODE

1.1. Le matériel végétal

Les variétés sont greffées fin janvier sur un porte-greffe vigoureux (MM 106), et placées en serre dans des pots de 1 litre avec un substrat de croissance composé essentiellement de terreau de feuilles et de tourbe blonde à pH 6,5. Pour avoir un matériel homogène, il est nécessaire de réaliser 10 greffes pour en utiliser 5 dans le test. Une période de trois semaines à 12–15°C permet une soudure effective entre le greffon et le porte-greffe. Une augmentation de la température (20°C) permettra ensuite aux bourgeons dormants des variétés greffées de pousser. Les tests sont réalisés après 10 à 12 semaines lorsque les pousses mesurent de 5 à 20 cm. L'état sanitaire des plantes a une grande importance, aussi des traitements préventifs sont réalisés 15 jours avant l'inoculation contre les acariens, les pucerons et l'oïdium. Ils n'affectent pas le développement de la tavelure. Pour prendre en compte l'hétérogénéité des conditions de la serre, les variétés sont réparties de façon aléatoire dans 6 blocs (répétitions). Des variétés et clones de différentes espèces de *Malus* sont inclus dans chaque expérimentation comme témoins. Elles sont choisies pour leurs comportements différents vis-à-vis des souches de tavelure testées :

- Gala, témoin de sensibilité à la tavelure
- Golden Delicious, sensible à la plupart des races mais résistante à la race 7
- *Malus floribunda* 821, clone d'origine du gène V_f , résistant à la race 1 et à la race 6

¹ UMR GENHORT, INRA, INH, UA Dépt. GAP

² UMR PAVE, INRA, INH, UA Dépt. SPE

Centre INRA d'Angers – 42, rue Georges Morel – 49071 BEAUCOUZE CEDEX

1.2. Préparation de l'inoculum et inoculation des pommiers

1.2.a. L'inoculum

• **Obtention des souches de *Venturia inaequalis* et multiplication sur feuilles**

Les souches sont isolées en verger à partir de tâches sporulantes de tavelure sur feuille ou fruit. Les spores récupérées par grattage au scalpel, mises en suspensions, sont étalées sur boîtes de Pétri. Chaque spore isolée est prélevée et mise en culture donne une souche. Chaque souche ainsi obtenue est rentrée sous numéro en collection dans des tubes gélosés en chambre climatique à 4°C.

Une première multiplication est réalisée sur milieu malt liquide en fioles de Roux. Une suspension de spores est obtenue dix à douze jours après. Pour la production d'une grande quantité de conidies, la suspension est pulvérisée sur de jeunes plants de pommier sensibles issus du croisement Golden Delicious X Granny Smith. Les conditions favorables au développement du pathogène (chambre climatique 20°C -HR= 80 à 99%) vont nous permettre dix jours après, de récupérer une grande quantité de feuilles tavelées (porteuses de spores). Celles-ci sont séchées à température ambiante et congelées à -20°C, elles serviront de base pour la préparation de l'inoculum.

• **Préparation de l'inoculum**

Les feuilles « tavelées » issues de la multiplication sur jeunes plants sensibles, sont immergées et brassées dans un bêcher d'eau distillée. Le mélange est filtré avec une gaze pour éliminer les débris végétaux. Au microscope, on compte à la cellule de Mallassez les spores en suspension et on ajuste si nécessaire la dilution. Pour les tests, nous utilisons 300.000 spores/ml. Des gouttes sont déposées dans des boîtes de Pétri avec milieu gélosé, pour évaluer 24h après le pourcentage de germination des conidies au microscope.

1.2.b. Conditions environnementales

Les tests sont réalisés en serre permettant la maîtrise des conditions environnementales. Celle-ci permet d'autre part de garantir un bon confinement pour éviter la dissémination des souches virulentes de tavelure (sas, blouses et sur-chaussures jetables). Les conditions optimales nécessaires au développement de la tavelure sont :

- une température entre 17 et 18°C. Elle est maintenue en fonction des conditions extérieures par : chauffage, ombrage (durant les fortes insulations), cooling et brumisation. Les tests sont réalisés au printemps et/ou à l'automne pour s'affranchir des fortes températures.

- une hygrométrie maintenue entre 80 et 100% assurée par : un arrosage au sol et une brumisation. Durant les premières 48 heures après l'inoculation, une bâche en plastique est disposée sur les plants pour maintenir une humectation pendant la période de germination du champignon pour pénétrer dans le végétal, (Chevalier et al. 1991).

1.2.c. Inoculation

L'inoculation est réalisée par brumisation, avec un pulvérisateur domestique. Le but est de déposer sur le végétal une fine pellicule (rosée) de suspension. Le dépôt doit être homogène sans lessiver les conidies par de trop grosses gouttelettes.

1.3. Lecture des symptômes de résistance

Les conidies déposées sur les limbes vont émettre un tube germinatif et pénétrer entre le limbe et la cuticule. Les variétés sensibles ne réagissent pas à cette attaque et le mycélium se développe par tâches concentriques sur la feuille au bout de 7 à 8 jours. A l'inverse, les variétés qui portent une résistance vont déclencher différents types de réactions qui freineront plus ou moins le développement du champignon. Les symptômes sont visibles macroscopiquement de 10 à 13 jours après l'inoculation. Trois types de notation sont utilisés pour apprécier le degré de résistance des variétés.

1.3.a. Grille de notation des symptômes (d'après Chevalier et al. 1991)

Note	Description des réactions
0	Aucune réaction ni sporulation ne sont visibles sur les feuilles. La plante est résistante à la race testée.
1	Une réaction est visible sous forme de piqûre d'épingle due à un affaissement des cellules autour de l'impact de la tavelure. Aucune sporulation n'est visible. La plante est résistante.
2	Aucune sporulation n'est visible macroscopiquement, les feuilles réagissent, elles se crispent voire se nécrosent. La plante est résistante.
3a	On observe une réaction des feuilles qui se gaufront ou se crispent, avec une légère sporulation qui est séchante. La plante est considérée comme résistante.
3b	sporulation qui tend plus ou moins à s'étendre. La plante est considérée comme moyennement sensible, elle réagit mais ne bloque pas totalement le développement de la tavelure.
4	Aucune réaction visible, la tavelure se développe de manière importante sur le limbe. Cette plante est sensible.

Tableau 1 : Classes et symptômes correspondants

1.3.b. Sévérité de la sporulation (Croxal et al., 1952 modifiée par Parisi et al., 1993)

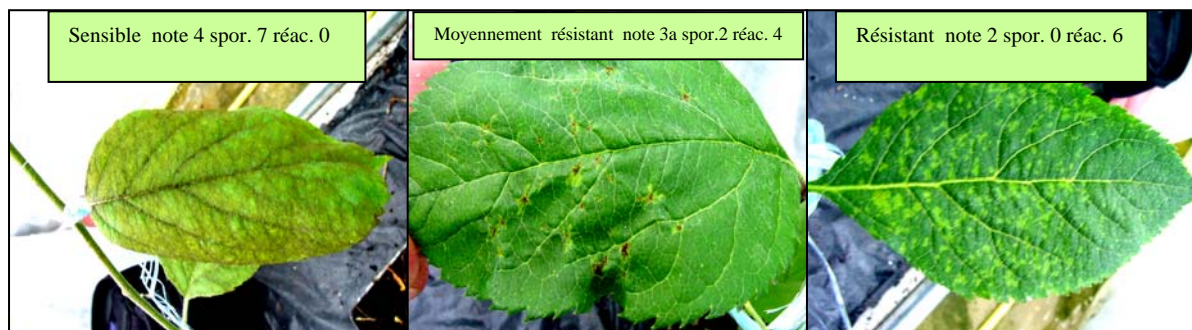
Cette échelle estime le % de surface sporulante sur la feuille. Elle est exponentielle, avec de nombreuses classes à faible pourcentage.

classe	0	1	2	3	4	5	6	7
% de la surface sporulante	0%	0,1 à 1%	1,1 à 5%	5,1 à 10%	10,1 à 25%	25,1 à 50%	50,1 à 75%	75,1 à 100%

Tableau 2 : Echelle de notation de la sévérité de la sporulation

1.3.c. Sévérité des réactions

Afin de conforter notre système de notation des symptômes de résistances, nous évaluons l'importance des surfaces qui réagissent. Cette notation suit la même échelle que celle proposée dans le tableau 2.



photos : quelques exemples de symptômes observés

2. RESULTAT ET INTERPRETATION

2.1. Résultat de l'observation macroscopique des symptômes

Entre 1998 et 2003 plus d'une centaine de variétés et de géniteurs ont été testés avec différentes souches. Les résultats se sont montrés très fiables, en effet les symptômes sont observés, par variété inoculée avec une même souche, plusieurs années (Laurens et *al*, 2004). Nous présenterons ici quelques-uns des résultats les plus marquants ainsi que ceux obtenus sur quelques variétés récemment créées par l'INRA d'Angers.

	1996, race 1 souche 104			1998, race 6, souche 302			2001, race 7, souche 1066			2003, souche NL24		
	Symptôme	sporulat°	réact°	Symptôme	sporulat°	réact°	Symptôme	sporulat°	réact°	Symptôme	sporulat°	réact°
Golden D.	4	5	0	4	3	0	3b	3	4	4	7	0
Gala	4	4	0	4	5	0	4	6	0	4	7	0
<i>Malus flo. 821</i>	0	0	0	0	0	0	4	7	0	4	2	0
Belle Fille de l'Indre	4	7	0	4	4	0	4	5	0	4	5	0
La Paix	2	0	4	3b	2	4	2	0	5	--	--	--
Pdt Roulin	3a	2	3	3a	2	4	1	0	3	--	--	--
Ariane	2	0	2	4	3	0	3b*	1	3	4	7	0
Doriane	2	0	3	3b	6	3	3b*	4	2	4	6	0

* symptôme de type Vg (nécrose en étoile)

Tableau 3 : Niveau de résistance des variétés, sévérités, des symptômes et de la sporulation

2.2. Interprétation des observations (tableau 3)

Golden Delicious et Gala sont bien connues pour leur sensibilité à la tavelure en verger. Elles sont utilisées comme témoins sensibles dans la plupart de nos tests. Sur Golden on observe des symptômes de résistance à la race 7 avec peu de sporulation et une forte réaction. Le champignon est freiné dans sa progression. En effet, Golden est porteur du gène Vg qui apporte une résistance à cette race.

M.floribonda 821 est résistant aux races 1 et 6 mais sensible à la race 7.

Belle Fille de l'Indre, une variété locale, est très sensible à l'ensemble des races.

La Paix, Président Roulin, variétés anciennes, ont un comportement assez intéressant vis à vis des différentes races de tavelures. En effet on ne distingue pas de résistance totale aux races testées, mais plutôt une résistance de type partiel.

Ariane et Doriane sont 2 nouvelles variétés créées à l'INRA d'Angers. Elles sont porteuses du gène Vf et donc résistantes à la race 1. Elles sont toutes les 2 fortement sensibles aux souches 302 et NL24, et présentent des symptômes de résistances de type Vg (nécrose en étoile). La nouvelle race NL24 provoque une sporulation intense sur les variétés testées (tableau 3). Toutefois nous avons trouvé, dans le matériel testé, des variétés résistantes à cette nouvelle race.

3. CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Ce test nous donne entière satisfaction pour la fiabilité et à la rapidité de réponse. Il permet ainsi d'évaluer de manière précoce la résistance/sensibilité de variétés vis à vis de la tavelure. Les objectifs majeurs du programme d'amélioration développé à l'INRA d'Angers sont d'augmenter la résistance durable de géniteurs potentiels en combinant une résistance monogénique et polygénique. La méthodologie du test présenté dans cet article pourrait être

adaptée pour caractériser des hybrides au stade semis vis-à-vis de plusieurs souches de tavelure. En complément, des travaux de recherches sont également réalisés pour évaluer la faisabilité et l'efficacité de la sélection assistée par marqueurs moléculaires (SAM) pour combiner différents mécanismes de résistance.

REMERCIEMENTS

Les auteurs remercient François Lebreton, Lysiane Leclout, Michel Boucourt pour le travail réalisé sur ces essais et leur souci constant de les perfectionner.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Chevalier M., Lespinasse Y. and Renaudin S. A microscopic study of different classes of symptoms coded by the V_f gene in apple for resistance to scab (*Venturia inaequalis*). Plant Pathology (1991) 40, 249-256
- Croxal H. E., Gwynne D.C., and Jenkins J.E. The rapid assessment of apple scab on leaves. Plant Pathology (1952) 1, 39-41.
- Parisi L. et al. (1993) A new race of *Venturia Inaequalis* virulent to apples with resistance due to the V_f gene. Phytopathology 83 :533-537
- Laurens F.*, Chevalier M., Dolega E., Genari F., Goerre M., Fischer C., Kellerhals M., Lateur M., Lefrancq B., Parisi L., Schouten H., and Tartarini S., 2004. Local european cultivars as sources of durable scab resistance in apple. Acta Horticulturae, (sous presse)
- Expert P. et al, (2005) Dispositif d'évaluation des niveaux de sensibilité des variétés de pommier à la tavelure en verger. *Le Cahier des Techniques* de l'INRA, numéro spécial