

COMPORTEMENT VARIÉTAL DE POMME DE TERRE VIS-A-VIS DES POURRITURES MOLLES ET DE LA JAMBE NOIRE : Test au champ et en conditions contrôlées

Claudine Pasco¹

Les bactéries pectinolytiques du genre *Erwinia* provoquent sur pomme de terre des dommages à la fois en végétation (jambe noire) et en conservation (pourritures molles). Le symptôme de **jambe noire** a pour origine la macération du tubercule de semence après levée de la plante. Il est caractérisé par une pourriture brune foncée à noire de la base de la tige. Il est associé ou non à un flétrissement, un enroulement et un jaunissement du feuillage, voire même à un manque à la levée. La pourriture molle se caractérise par une pourriture humide granuleuse de couleur blanche à crème. Des pigments bruns à noirs se développent souvent en périphérie du tissu malade. En conservation, **les pourritures molles** peuvent entraîner la contamination rapide des tubercules avoisinants. Etant donné les pertes importantes que peuvent occasionner ces maladies et en l'absence de lutte chimique, il est important de disposer d'un outil pour évaluer le comportement des variétés vis à vis de ces deux maladies.

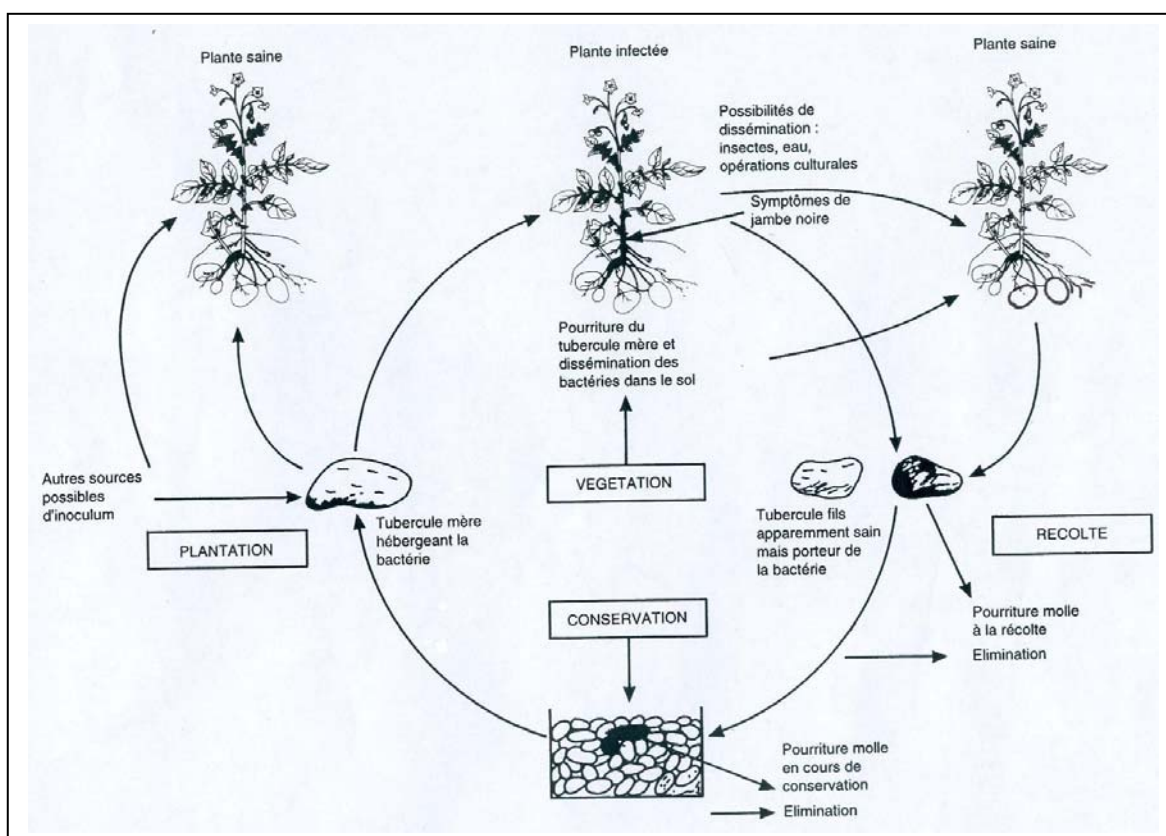


Figure 1 : Différentes phases de l'infection de la pomme de terre par *Erwinia carotovora atroseptica* (Extrait de Mieux comprendre la pomme de terre Ed. INRA, Novembre 1996).

¹ UMR BiO3P, INRA, Domaine de la Motte, BP 35327, 35653 Le Rheu Cedex, pasco@rennes.inra.fr

L'apparition et la nature des symptômes dépendent essentiellement de l'environnement (température et humidité du sol). La figure 1 illustre les différentes phases du cycle d'infection. Le tubercule assure pour une bonne part la conservation et la transmission des bactéries. La contamination s'effectue soit par le stolon de la plante mère malade, les bactéries se logent alors au niveau du talon ; soit par le sol en contaminant les lenticelles des tubercules fils. Les tubercules contaminés vont pourrir en conservation ou transmettre la maladie aux plantes filles après plantation, si les conditions environnementales sont satisfaisantes. Le test proposé ici permet d'évaluer le comportement de variétés de pomme de terre vis-à-vis de la jambe noire et des pourritures molles à la fois au champ et en conditions contrôlées.

1. MATERIEL ET METHODES

1.1. Matériel

- Tubercules de variétés témoin connues
- Tubercules à tester 35-45 mm conservés à 10°C
- Parcelle en périmètre irrigué (sprinkler)
- Clayettes, piquets + étiquettes (champ)
- Milieu King B coulé en boîte de Pétri
- Divers contenants pour la suspension
- Souche type d'*Erwinia carotovora atroseptica*
- Enceinte à 20°C munie d'un éclairage
- Pots (Ø 18 cm), plateaux, (serre)
- Etiquettes, tuteurs (serre)
- Produits insecticides pour la serre + pulvérisateur
- Mélange 1/3 tourbe + 1/3 sable + 1/3 terre, stérilisé en vapeur fluante pendant une heure.
- Tampon PBS (0,8 % NaCl ; 0,02 % KH₂PO₄ ; 0,29 % Na₂PO₄, 12 H₂O ; 0,02 % KCl ; pH 7,2).

***Enceinte raccordée au vide** : il s'agit ici d'un ancien autoclave que l'on a raccordé à une pompe à vide. Compte tenu du grand volume de tubercules à inoculer, il faut un grand contenant.

- Spectrophotomètre
- Anse de platine
- Sable + sacs plastiques épais
- Enceinte raccordée au vide* + seau
- Sacs en papier (récolte)
- Solution nutritive (NPK 15/10/15)
- Etuve à 27°C
- Produits de traitement pour le champ

1.2. Préparation du matériel végétal

Les tubercules sont lavés soigneusement à l'eau courante, puis triés afin d'éliminer les tubercules atteints de gale commune, de rhizoctone ou autres pourritures apparentes. Ils sont ensuite mis à germer en clayettes pendant 2 à 3 semaines à 20°C dans la pénombre.

1.3. Préparation de l'inoculum

Les bactéries sont ensemencées par stries sur milieu King B gélosé**, puis incubées à 27°C pendant 24 heures. La suspension bactérienne est préparée par inondation et grattage de la surface des cultures dans du tampon PBS puis ajustée à 2.10^7 , 2.10^8 et 2.10^9 bactéries par mL après mesure de la densité optique au

****Composition type (g/litre)** :
Peptone de viande 10,0 ; Magnésium sulfate 1,5 ; di-hydrogenophosphate 1,5 ; Agar-agar 12,0. Ou alors utiliser le milieu sous forme déshydratée prêt à l'emploi (réf. MERK 1.10989).

Conservation des bactéries :

- soit en tubes de milieu gélosé coulé en pente (0,3 % extrait de levure, 0,5 % peptone, 1,5 % agar) et maintenus à température ambiante.
- soit mises en suspension dans de l'eau stérile diluée au demi avec du glycérol puis conservées à 4°C.

spectrophotomètre (longueur d'onde de 350 nm). La concentration exacte en Colony Forming Units (CFU) est déterminée par comptage visuel des colonies après étalement de séries de dilution sur milieu King B et incubation à 27°C pendant 24 heures.

1.4. Inoculation

Il existe 2 modes d'inoculation utilisables indifféremment en conditions contrôlées ou au champ : brassage avec du sable ou infiltration sous vide (Hélias *et al.* 2000).

1.4.a. Inoculation par brassage des tubercules : des échantillons de 50 tubercules sont placés dans un sac plastique avec 250 g de sable stérilisé et 1 litre de suspension bactérienne (remplacée par du tampon PBS pour les témoins). Les sacs sont secoués manuellement pendant 5 minutes pour permettre aux tubercules d'être blessés par le sable infecté (micro blessures permettant la pénétration des bactéries). Après brassage, les tubercules sont maintenus dans les sacs pendant 15 min, puis mis à sécher pendant trois à quatre heures à l'air libre avant plantation.

1.4.b. Inoculation par infiltration sous vide : Avant inoculation, les tubercules sont placés toute une nuit à 15-20°C, dans des sacs plastiques fermés contenant 1 litre d'eau stérile. Ce procédé permet aux lenticelles de s'ouvrir et facilite ainsi l'entrée des bactéries. 50 tubercules (ou plus selon la taille des tubercules) sont ensuite placés dans un seau, qui est lui-même situé à l'intérieur d'une enceinte raccordée au vide. Les tubercules sont recouverts de la suspension bactérienne (remplacée par du PBS pour les témoins). Un vide de 1 bar est appliqué pendant 20 minutes. Les tubercules sont ensuite mis à sécher pendant trois à quatre heures à l'air libre.

1.5. Dispositif expérimental et culture des plantes

1.5.a. Plantation au champ

Les tubercules sont plantés courant Avril suivant un dispositif en Split-plot, avec les doses d'inoculum comme blocs principaux (Témoin non inoculé, Dose 1 et Dose 2) et les variétés comme sous blocs. Chaque parcelle élémentaire est constituée de 2 rangs de 10 tubercules inoculés, séparés par 1 rang de Charlotte (ou autre variété) non inoculée. Chaque variété est représentée par trois parcelles élémentaires dans chaque sous bloc. Une irrigation par sprinkler est appliquée 2 fois par semaine de mi-Mai à mi-Août (mais ajustée suivant la pluviométrie). La quantité d'eau apportée à chaque arrosage est de 12 à 13 litres par m². La culture est menée suivant les conditions habituelles d'une production de pomme de terre de consommation : buttage environ un mois après plantation, désherbages chimiques et traitements anti-mildiou. Un défanage chimique est effectué début Août pour stopper la végétation.

1.5.b. Plantation en enceinte à 20°C

En parallèle, 10 tubercules de chaque modalité sont plantés en enceinte régulée à 20 à 22°C (conditions optimales pour le développement des deux types de symptômes : jambe noire et pourritures molles). En effet, si les conditions de température sont trop élevées au champ, *Eca* ne s'exprimera pas ou peu. Les tubercules sont plantés à raison d'un tubercule par pot dans du mélange terreux, selon le même dispositif qu'au champ (blocs + variétés témoins). Les plantes reçoivent 16 heures de lumière par jour et sont arrosées suivant leur besoin avec de l'eau. Une solution d'engrais (NPK) est apportée tous les 2 arrosages à une concentration finale de 2 g/L. Des traitements insecticides sont effectués si besoin pour lutter contre les aleurodes et les pucerons. En serre, les plantes sont maintenues jusqu'à sénescence.

1.6. Notation des symptômes

1.6.a. En végétation : en cours de végétation, l'évolution des symptômes (non-levée, chlorose, flétrissement/décoloration, jambe noire et mort) est observée entre mi-Mai et fin Juillet, par une notation sur chaque plante à 4 dates échelonnées. En serre, il est possible de suivre la progression des symptômes de jambe noire en mesurant l'extension des nécroses sur les tiges et d'ouvrir celles-ci en fin de culture afin de noter la présence de jambe noire interne.

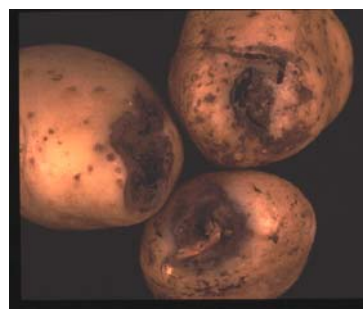
1.6.b. Sur les tubercules fils : en Septembre, les tubercules fils sont récoltés pied par pied dans des sacs en papier. Après lavage, ils sont triés pour la présence de pourritures molles puis pesés. Le pourcentage de tubercules pourris est noté ou pour plus de précision, suivant des classes de contamination en fonction de l'étendue de la pourriture observée (0 %, 1-20 %, 21-40 %, 41-60 % de la surface du tubercule pourris...) pour chaque pied.

1.7. Interprétation des résultats

Les fréquences de plantes dans les différentes classes de symptômes sont calculées à chaque date de notation, pour chaque cultivar, chaque dose de bactéries et chaque mode d'inoculation. Les fréquences de plantes dans chaque classe de tubercules fils sont calculées, ainsi que la moyenne du nombre de tubercule par plante et le poids moyen des tubercules dans chaque classe. L'effet de la date de notation, du mode d'inoculation et de la concentration d'inoculum est analysé par une analyse statistique (ANOVA). Les pertes de rendement pour chaque classe de symptômes sont calculées par comparaison avec le rendement obtenu avec les plantes témoins non inoculées.

2. RESULTATS ET INTERPRETATION

Les notations des symptômes plante à plante montrent que la progression de la maladie se traduit par un passage de chlorose et/ou flétrissement à un dessèchement partiel ou total de la plante. Cependant, on observe souvent un rétablissement des plantes dont une partie des tiges avait été précocement attaquée. En fait, les parties mortes disparaissent et de nouvelles tiges apparemment saines se forment mais le rendement de ces plantes reste très souvent faible. Le rendement varie en fonction des types de symptômes et des dates de notations.



Pourritures molles sur Bintje

Voici quelques résultats obtenus au champ (figure 2) qui montrent l'effet de l'inoculation sous vide sur le nombre de tiges par plante et le taux de non levée (figure 3) chez trois variétés de pomme de terre témoins et sept génotypes.

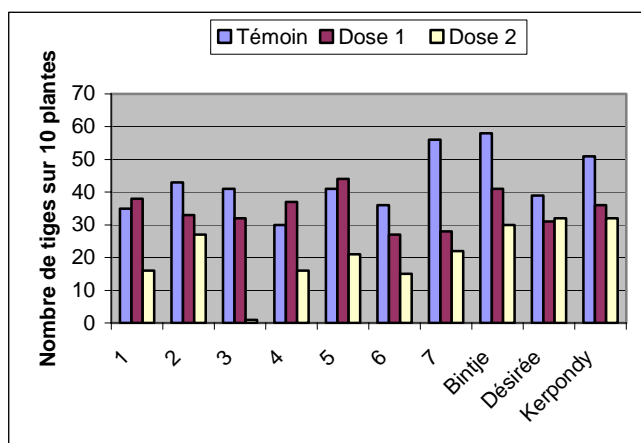


Figure 1 : Effet de l'inoculation sur le nombre de tiges total de 10 plantes



Jambe noire sur Bintje obtenu au champ

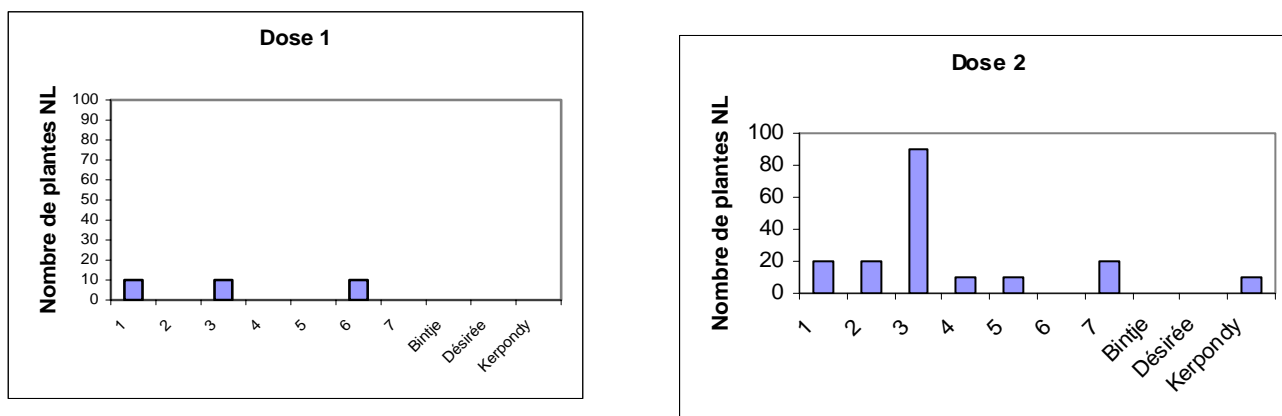


Figure 2 : Effet de la dose de bactéries sur le nombre de plantes non levées (NL)

3. CONCLUSION ET PERSPECTIVES

La technique d'inoculation par brassage avec du sable a été utilisée pendant plusieurs années avec et sans apport d'irrigation afin de montrer l'importance des conditions environnementales (température et humidité) dans l'expression de ces deux maladies. La seconde technique a été utilisée pour mieux apprécier les voies de contamination du tubercule mère vers les tubercules fils, mais aussi pour voir s'il y avait une relation entre le type de symptôme observé en végétation et le rendement, en vue de réaliser des études épidémiologiques plus approfondies. Elle a aussi permis d'évaluer sur deux années, le comportement d'une gamme de génotypes dont la sensibilité sur tubercules avait été évaluée par la technique d'inoculation sur tubercule entier (cf autre article).

En conditions favorables à l'expression des symptômes, la première technique d'inoculation s'avère plus sévère que la seconde, car elle blesse les tubercules en surface ainsi que les germes s'ils sont déjà sortis. La seconde correspond davantage à une contamination naturelle car les bactéries se trouvent à l'état latent dans les lenticelles et elle a l'avantage de ne pas blesser les germes déjà formés. Elle est aussi plus facile à mettre en œuvre mais elle demande un équipement spécifique raccordé au vide. D'autre part, en conditions météorologiques sèches peu favorables à la maladie, elle sera sans doute plus efficace que l'inoculation avec le sable. Les bactéries restent alors à l'abri dans les lenticelles.

Ces deux techniques peuvent être transposées aux autres espèces d'*Erwinia* (*Erwinia carotovora carotovora* et *Erwinia chrysanthemi*), mais aussi à d'autres bactéries responsables de pourritures.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Hélias V, Andrivon D, Jouan B (2000) Development of symptoms caused by *Erwinia carotovora* ssp. *Atroseptica* under field conditions and their effects on the yield of individual potato plants. *Plant pathology* 49: 23-32.