

PROJETS CASDAR

NEMATOOLS ET CALISO

Afin d'anticiper des risques potentiels, la FN3PT est partenaire de deux projets de recherche financés par le Casdar. L'un porte sur les nématodes réglementés - Nematools - et l'autre sur la bactérie responsable de la maladie du "Zebra Chip" sur pomme de terre - Caliso.

La pomme de terre est une culture sensible à de nombreux bio-agresseurs. Certains d'entre eux, absents ou présents de façon limitée sur le territoire européen, constituent une menace sérieuse pour les cultures de pomme de terre par les dégâts qu'ils peuvent provoquer et les difficultés rencontrées pour les éradiquer. Le mode de multiplication végétatif de la pomme de terre, l'intensification des échanges commerciaux, les changements clima-

tiques et des pratiques culturales, la restriction de l'utilisation des produits phytosanitaires multiplient le risque d'introduction ou de dissémination de ces parasites et l'émergence de nouvelles maladies. Afin d'anticiper ces risques, la FN3PT est partenaire de deux projets de recherche financés par le Casdar, l'un portant sur les nématodes réglementés et l'autre sur la bactérie responsable de la maladie du "Zebra Chip" sur pomme de terre. /

NEMATOOLS

Les nématodes réglementés, *Meloidogyne chitwoodi* et *M. fallax* pour les espèces à galles et *Globodera pallida* et *G. rostochiensis* pour les espèces à kystes, sont des parasites difficiles à éradiquer. Les enjeux internationaux importants associés à un recours de plus en plus limité aux traitements du sol, conduisent à renforcer les méthodes prophylactiques visant à prévenir l'introduction et la dissémination de ces ravageurs et repenser les stratégies de lutte afin de préserver l'état sanitaire privilégié du territoire national.

C'est dans ce contexte que le projet Nematools a été déposé en réponse à un appel à projet lancé par le ministère de l'Agriculture, de l'Agro-alimentaire et de la Forêt pour l'année 2014.

Ce projet intitulé "Développement d'outils pour la maîtrise durable du risque nématodes en plant de

pomme de terre et cultures en rotation - Nematools", est porté par l'UMT InnoPlant et la FN3PT en est le chef de file en tant qu'ITA. Il a été lancé fin 2014 pour une durée de 42 mois. Les autres partenaires impliqués dans le projet sont l'Inra (UMR Igepp Le Rheu, Isa d'Antibes et SadAPT de Rennes) et l'Anses-LSV-Unité de nématologie, Le Rheu.

Le projet se décline en cinq actions qui doivent répondre aux deux objectifs suivants :

- Développer de nouveaux outils de détection et quantification de ces nématodes, afin de mieux évaluer les risques de dissémination de ces bio-agresseurs liés aux process agricoles et industriels;
- Élaborer de nouvelles techniques de maîtrise de ces risques depuis



Boursouffures sur tubercule causées par les nématodes à galles du genre *Meloidogyne*.

Action 1

ÉTUDE LA DIVERSITÉ GÉNÉTIQUE CHEZ *M. CHITWOODI* ET *M. FALLAX*

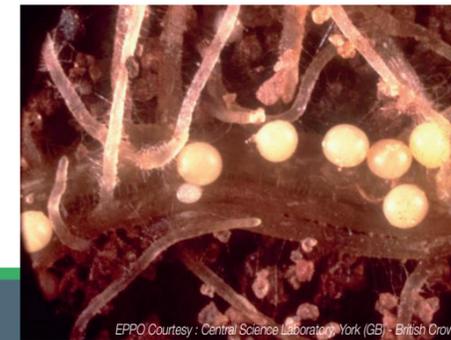
Meloidogyne chitwoodi et *M. fallax* ont des gammes d'hôtes très larges et sont décrites comme des espèces présentant une assez forte variabilité. Ces données suggèrent que des populations écologiquement différenciées puissent l'être aussi génétiquement. Il est donc important de décrire la variabilité génétique intra-spécifique pour mieux cerner le contour des espèces mais aussi étudier l'existence (ou pas) d'une structuration spatiale. Cette connaissance permettra aussi de renseigner les flux entre populations dans et entre pays. L'approche envisagée pour mener cette étude est de développer des marqueurs microsatellites à partir des espèces cibles mais aussi de tester d'autres marqueurs développés sur des espèces proches, comme *M. incognita*. Les marqueurs sélectionnés seront ensuite utilisés pour génotyper un ensemble de populations de nématodes collectés de plantes hôtes et d'origine géographique différentes afin de maximiser la diversité.

l'évaluation de l'efficacité de modes de traitement de

matrices contaminées jusqu'à l'étude de nouveaux moyens de lutte.



Présence de galles causées par *Meloidogyne spp.* sur le système racinaire des plantes hôtes.



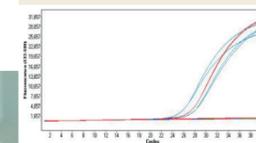
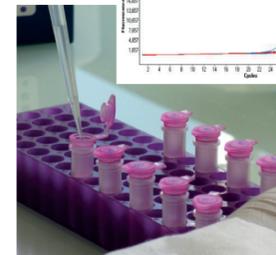
Kystes de nématodes du genre *Globodera* sur racines de plante hôte.

Action 2

DÉVELOPPER DE NOUVEAUX OUTILS DE DÉTECTION ET QUANTIFICATION

Pour pouvoir comprendre et maîtriser les risques de dissémination des nématodes, il est nécessaire de se doter d'outils permettant de détecter la présence de ces bio-agresseurs dans les différentes matrices produites lors de la culture ou lors des process industriels. Ce volet vise donc à développer un outil moléculaire de PCR temps réel, si possible quantitatif, permettant la détection de *M. chitwoodi* et *M. fallax* dans des matrices aussi variées que les tubercules de pomme de

terre, le sol, les effluents... Pour cela, des analyses de séquences génomiques seront conduites pour identifier la zone la plus pertinente et y décrire les amorces et sondes spécifiques des deux espèces cibles. L'outil développé sera ensuite évalué et caractérisé pour ses performances techniques selon le référentiel PM7/98 - Eppo, 2014 en vigueur au niveau européen.



Des variétés adaptées à vos marchés !

Conservation

Liberta
Passion
Platina
Divaa
Ferrari



Chips

Crisper
Crescendo
Crocky



Frites

Fritelle
Crocky
Divaa



Primeur

Gazelle
Iodéa
Perline



Export

Touareg
Eldorado
Ferrari
Gazelle



Grenaille

Perline
Pépîte
Tendresse
Iodéa



Vapeur

Pépîte
Tentation
Gourmet
Tendresse
Grenadine
Printaline



Bio

Passion
Tentation



www.van-rijn.fr

Van Rijn France
6, allée des Gibessières
78580 Bazemont
France

Tél. +33 1 34 75 08 85
Fax. +33 1 34 75 08 86
Mob. +33 6 07 96 46 04

m.hoogterp@van-rijn.fr

NEMATOOLS SUITE

Prélèvement de sol sur un engin agricole lors d'un chantier d'arrachage pour caractériser les microorganismes présents.



Action 3

ANALYSER LE RISQUE DE DISSÉMINATION DES NÉMATODES

1/ associé aux pratiques agricoles

Trois axes de travail sont envisagés pour évaluer la contribution du matériel agricole à véhiculer les parasites dans et entre parcelles :

- Réalisation d'enquêtes auprès d'agriculteurs pour caractériser les règles de circulation du matériel agricole et identifier les moyens d'optimiser l'utilisation du matériel afin de limiter les contaminations entre parcelles tout en permettant la réalisation des chantiers agricoles.
- Mise en place d'expérimentations utilisant des particules de plastique colorées afin de quantifier la capacité de transport des nématodes en fonction des outils de travaux du sol utilisés, du type de sol et de la rotation pratiquée.
- Caractérisation des agents (pathogènes ou non) telluriques présents dans la masse terreuse déplacée par les engins agricoles. Pour cela, des

échantillonnages de terre sont effectués sur les engins et sont ensuite analysés par des méthodes de séquençage haut débit pour identifier les profils de micro-organismes présents.

2/ associé aux pratiques industrielles

La terre, les déchets végétaux, les effluents... générés par différentes structures (usines de transformation, stations expérimentales...) peuvent constituer des moyens de dissémination des nématodes. Afin d'évaluer les risques inhérents à ces structures, un guide d'entretiens a été élaboré afin de recueillir des données sur le transport et la réception des marchandises, les process industriels et le traitement des déchets. L'analyse de ces entretiens doit permettre d'évaluer les risques et élaborer à terme un guide de bonnes pratiques.

Action 4

ÉVALUER L'EFFICACITÉ DES MODES DE TRAITEMENT EN LABORATOIRES ET STATIONS EXPÉRIMENTALES

Les produits issus des industries, stations expérimentales... font parfois l'objet de traitements mais il y a peu d'information sur leur efficacité pour tuer les nématodes éventuellement présents. L'objectif de ce volet est d'évaluer l'efficacité de procédés de désinfection sur la survie des nématodes. Les tests sont conduits au laboratoire pour les traitements par chloration et action thermique et sur des sites industriels pour les procédés de lagunage, de compostage et de méthanisation. Le modèle nématode à kystes (forme la plus résistante) est retenu pour mener ces essais et *Globodera tabacum*, espèce non réglementée, est choisie. À l'issue des différents traitements, la viabilité des kystes est évaluée selon leur capacité à éclore ou non. Les procédés de désinfection les plus prometteurs seront ensuite évalués au laboratoire sur les espèces réglementées afin de proposer à terme, des recommandations sur les méthodes de désinfection applicables.

Action 5

VERS DE NOUVEAUX MOYENS DE LUTTE

Dans un contexte d'agriculture durable et productive, proposer des mesures de gestion des foyers est important, tout comme anticiper le développement des nématodes en étudiant des moyens efficaces et respectueux de l'environnement tels que la résistance génétique et les solutions alternatives. Ainsi, la capacité de trois clones issus de *Solanum schenckii* et six issus de *S. sparsipilum*, retenus respectivement pour leur résistance à *M. chitwoodi* et *M. fallax* (projet européen Dream), à empêcher la multiplication des nématodes sera évaluée en conditions contrôlées (serre S2). Il est également prévu de génotyper du matériel tétraploïde vis-à-vis du marqueur de résistance à *M. fallax* (QTL MfaXIIsp1) puis de phénotyper les hybrides porteurs de ce marqueur. Une deuxième approche est d'étudier, en conditions contrôlées, l'effet de plantes de la rotation et de plantes de coupure (orge, blé, avoine, haricot, moutarde, radis fourragers, phacélie, roquette) sur le niveau d'infestation des sols. Les connaissances acquises lors de cette étude vont contribuer à identifier les espèces végétales et les cultivars permettant de réduire les niveaux d'infestation des parcelles. Le développement de ces pathosystèmes permettra aussi de tester d'autres moyens alternatifs comme l'utilisation de produits de biocontrôle.

Conclusion : Les résultats feront l'objet de publications scientifiques et de vulgarisation pour valoriser les avancées réalisées mais aussi de formations et réunions techniques à destination des professionnels (de la filière pomme de terre mais aussi d'autres filières concernées), des laboratoires, des industriels, des acteurs du développement agricole et des pouvoirs publics. Un séminaire est prévu en fin de projet pour présenter les principaux résultats obtenus.



Évaluation en serre confinée de l'effet de différentes cultures sur le niveau de contamination des sols par *M. chitwoodi* et *M. fallax* (FN3PT-Sipre).

CALISO

Coloration violacée de la zone apicale des plantes causée par la bactérie *Ca. L. solanacearum*.

Candidatus Liberibacter solanacearum est une bactérie phytopathogène émergente, responsable de désordres végétatifs sur solanacées et sur apiacées. Elle est transmise par des insectes vecteurs, les psylles. Sur pomme de terre, les souches des haplotypes A et B transmises par *Bactericera cockerelli* sont responsables de la maladie du "Zebra Chip" qui sévit sur le continent américain et en Océanie. Ces souches et leur vecteur sont inscrits sur la liste A1 de l'OEPP et listés en France comme organismes nuisibles de catégorie 1 par arrêté ministériel du 15 décembre 2014. En Europe, seules les souches des haplotypes C, D et E ont été signalées sur apiacées (carotte, céleri et persil) ; elles sont transmises princi-

palement par *B. trigonica* et *Trioza apicalis*. L'impact de la maladie et son apparition sur apiacées en Europe ont conduit à la mise en œuvre d'un programme de recherche, Caliso, associant à la fois des filières professionnelles, des instituts publics et l'Anses. Ce projet intitulé "Détection et épidémiologie de *Candidatus Liberibacter solanacearum*, bactérie transmissible à la semence et responsable de désordres végétatifs sur apiacées et solanacées" a été déposé en réponse à l'appel à projet du Casdar "Semences et sélection variétale" de 2015. Ce projet d'une durée de 36 mois a débuté début 2016 et associe à côté de l'Anses-LSV-UBVO, porteur du projet, la FN3PT, la Fnams, le CTIFL, l'UFS



Taches nécrotiques et stries du tissu interne d'un tubercule causées par la bactérie *Ca. L. solanacearum*.

et l'Inra – UMR BGPI. Ce projet est soutenu par Vegepolys et le RMT VegDiag.

Caliso a pour vocation de répondre à trois grands objectifs :

- Mettre à disposition des professionnels et des services de contrôle officiels une méthode de détection de la bactérie permettant de contrôler la qualité sanitaire des semences de carotte et des plants de pomme de terre ;
- Estimer la prévalence et caracté-

riser la maladie et les vecteurs associés sur apiacées et le cas échéant sur pomme de terre en France ;

- Étudier la biologie de l'insecte *Bactericera trigonica* afin d'explorer des méthodes de lutte efficaces permettant la production de semences de carotte saines en respectant les exigences du plan EcoPhyto.

Pour répondre à ces objectifs, trois actions de recherche sont abor-

UNE FAMILLE EN OR !

CLISSON & DENNIEL s'associent pour vous proposer un large choix de variétés de plants de Pommes de Terre adaptées à toutes vos cultures.

FAITES LA DIFFÉRENCE AVEC NOS VARIÉTÉS :

Retrouvez également nos semences bio : Dolreine®, Primlady®, Maiwen... et plus de 20 autres variétés disponibles !



SOLEIA
FRITES-PURÉE

DOLREINE
Variété Reine
VAPEUR-RISSOLÉES-SAUTÉES

PRIMLADY
Variété Rikéa
PRIMEUR

VITELLOTTE
PURÉE-CHIPS

MAIWEN
en collaboration avec DOUARZEN
PRIMEUR

NAIMA
En collaboration avec Gopex
CHAIR BLANCHE

SARL DENNIEL > Creach Carnel
29460 IRVILLAC FRANCE
Tel : 0033 (0)2 98 25 84 25
guillaume.denniel@orange.fr

CLISSON SAS > CS 50206
79206 PARTHENAY Cedex FRANCE
Tel : 0033 (0)5 49 95 11 66
info@clissonsas.com
www.legroupeclisson.fr

CLISSON
ASSOCIÉS AU POTAGER DEPUIS 1930

Actigerm
Le goût de l'excellence

CALISO SUITE

Prélèvement de plantes (cultivées et adventices) et capture d'insectes (psylles) en parcelles pomme de terre et apiacées afin de connaître la répartition de la bactérie sur le territoire, sa gamme d'hôtes et les insectes vecteurs.

Action 1 MÉTHODOLOGIE DE DÉTECTION ET DE PROSPECTION

Cette action vise à définir les méthodes de détection et de prospection les plus fiables pour mettre en évidence la bactérie dans l'environnement. Il est donc prévu d'évaluer les critères de performance de différentes méthodes d'extraction d'acides nucléiques reposant, soit sur l'utilisation de kits commerciaux, soit sur des protocoles couramment utilisés au laboratoire (protocole CTAB). Les méthodes sélectionnées sur la base d'essais préliminaires réalisés par l'Anses seront appliquées sur différentes matrices, carotte ou pomme de terre (tubercule, feuilles). Les méthodes les plus prometteuses seront ensuite transférées auprès des laboratoires d'analyses des partenaires afin qu'une évaluation inter-laboratoire puisse être mise en place pour valider la méthode la plus performante.

Cette action vise aussi à définir une méthode de prospection permettant de couvrir l'ensemble des zones de production concernées par la maladie sur le territoire français. Les spécificités de chacune des cultures concernées (pomme de terre, carottes porte-graine, d'industrie, de consommation et autres apiacées) doivent être prises en compte afin de définir pour chacune des protocoles d'échantillonnage adaptés dans lesquels sont décrits les symptômes recherchés, la période du contrôle, le nombre de prélèvements à réaliser... Deux fiches signalétiques décrivant la maladie et les symptômes observés sur pomme de terre et sur apiacées ainsi que des protocoles d'échantillonnage ont été rédigés. L'ensemble de ces documents constitue le socle des études épidémiologiques et est disponible sur le lien suivant :

www.anses.fr/fr/content/le-projet-caliso

Action 2 ÉPIDÉMIOLOGIE

Quatre volets sont abordés dans cette action.

- Le premier vise à connaître la répartition de la bactérie sur le territoire français dans les zones de production des secteurs concernés. Des prospections en parcelles pomme de terre et carotte seront conduites, en concertation avec les inspecteurs terrain, pour collecter des plantes présentant les symptômes caractéristiques décrits sur les fiches signalétiques. En l'absence de symptôme, les plantes seront prélevées au hasard sur les parcelles. Des adventices présentes sur les parcelles et susceptibles de constituer des plantes réservoirs seront également prélevées. Une détection moléculaire de la bactérie sera effectuée par les laboratoires équipés.
- Un inventaire faunistique sera réalisé en même temps que la prospection des plantes, afin d'identifier les psylles présents dans les parcelles pomme de terre et apiacées. Les insectes collectés seront ensuite identifiés par voies morphologique et moléculaire par le partenaire Inra.
- Le troisième volet s'attache à caractériser la diversité intra-spécifique chez *Ca. L. solanacearum* par une approche de type MLSA. Les séquences obtenues sur les extraits positifs permettront d'explorer la diversité génétique et le potentiel évolutif de la bactérie. Ce travail est pris en charge par l'Anses.
- L'apparition des haplotypes apiacées dans plusieurs pays européens pose question quant à leur transmission à la pomme de terre. Des essais seront mis en place dans des environnements naturels où la bactérie et ses vecteurs sont présents et sur plusieurs sites afin de diversifier les vecteurs présents et les conditions pédoclimatiques. Un premier essai a été mis en place par la FN3PT et le CTIFL en 2016.

Action 3 BIOLOGIE DU VECTEUR ET NUISIBILITÉ

Le premier objectif est d'acquérir des éléments sur la biologie de *Bactericera trigonica* en effectuant des piégeages d'adultes et des suivis de pontes et larves par observation directe sur des plantes de quelques parcelles de carotte. Le deuxième objectif consiste à étudier la nuisibilité du complexe psylle-bactérie sur la carotte porte-graine par la mise en place d'essais sous serre et en plein champ. Cette action est pilotée par la Fnams.

Conclusion : Ce projet devrait permettre d'approfondir les connaissances sur la répartition de la bactérie et ses vecteurs sur le territoire français ainsi que sur le risque éventuel de colonisation de différents hôtes solanacées (dont la pomme de terre) par les haplotypes apiacées. Le travail portant sur la caractérisation des souches et les méthodes de détection de la bactérie va permettre aux professionnels et aux pouvoirs publics d'avoir à disposition des outils performants pour maintenir une biovigilance vis-à-vis de ce parasite émergent et garantir un bon état sanitaire des cultures.

ANNE-CLAIRE LE ROUX, FN3PT

