

3^{ème} Carrefour de l'UMT InnoPlant

Biocontrôle et génétique, leviers de l'Agroécologie

Parmi les volets du programme UMT InnoPlant pour sa 2^{ème} période de labellisation (2018-2022), nous abordons dans notre précédente édition de nouveaux aspects comme les approches "système", le numérique et les outils innovants de pilotage. Nous évoquons dans cette partie deux leviers essentiels de l'agroécologie, les produits de protection issus du biocontrôle et la génétique.

Le programme de recherche Combicontrol fait appel à deux principes innovants du biocontrôle, en l'absence de produits de lutte conventionnels contre les bactéries des genres *Pectobacterium* et *Dickeya*. Il a fait intervenir plusieurs partenaires de recherche fondamentale et appliquée de 2016 à 2019 et arrive en phase de développement industriel.

En matière de génétique, les partenaires de l'UMT s'attachent notamment à la stabilité et durabilité des résistances aux pathogènes. Nous revenons ici sur deux exemples, concernant la résistance au mildiou et aux nématodes.

Combicontrol, contre les bactéries des genres *Pectobacterium* et *Dickeya*

Le programme Combicontrol s'appuie sur une combinaison stratégique de deux méthodes pour lutter contre les bactéries macergènes des genres *Pectobacterium* et *Dickeya*, agents de la jambe noire et des pourritures molles (anciennement Erwinias). Elle fait appel au biocontrôle selon deux stratégies : le quorum-sensing, blocage de la communication entre bactéries et l'antibiose, élimination des bactéries pathogènes par l'émission de molécules toxiques sélectives.

Le préalable nécessaire à toute stratégie de lutte est de bien caractériser les bactéries en cause, de comprendre leur dynamique et l'évolution éventuelle des populations. Alors que l'on s'intéressait précédemment à un nombre restreint d'espèces, l'étude récente des bactéries présentes dans les champs de pommes de terre et les eaux de surface a permis de décrire 6 nouvelles espèces de bactéries des genres *Pectobacterium* et *Dickeya* : *Dickeya lacustris*, *D. undicola*, *D. punjabense*, ainsi

que *Pectobacterium aquaticum*, *P. fontis*, *P. versatile*. En France, on observe une plus forte présence relative des *Pectobacterium* (80 %) contre *Dickeya* (20 %). Contre ces bactéries, seules des mesures prophylactiques sont actuellement déployées (désinfection du matériel agricole, arrachage des pieds présentant des symptômes, rotation des cultures et utilisation de semences certifiées).

Quorum-sensing

Pour lutter contre les bactéries agents de pourriture molle, les premières questions auxquelles le consortium de chercheurs devait répondre étaient axées sur **le mode d'induction** des facteurs de virulence de ces bactéries pathogènes. On sait maintenant qu'elles ont besoin de communiquer entre elles via des signaux chimiques pour induire leur attaque de façon concertée. Ce mode de communication est appelé **quorum-sensing (QS)** et nécessite l'accumulation de molécules signal dans l'environnement proche des bactéries pathogènes et ce jusqu'à un seuil qui, une fois atteint, va enclencher la production d'enzyme pectinolytiques (protéases, cellulases, pectinases) induisant la dégradation des tissus végétaux. La première stratégie de biocontrôle développée est basée sur la dégradation de ces signaux QS pour désactiver l'attaque des pathogènes.

Le programme Combicontrol (2016-2019) a associé la FN3PT/Inov3PT, la SIPRE, le CNRS Gif-sur-Yvette, l'Institut d'écologie et des sciences de l'environnement de Paris et l'université de Lyon



Denis Faure, du CNRS à Gif-sur-Yvette, qui participe aux programmes depuis 2007.

Pour cela, il a été décidé d'utiliser des bactéries naturellement présentes dans le sol et capables de détruire le signal.

Un travail sur les méthodes d'interprétation de ces phénomènes biologiques est souvent nécessaire. Ainsi, les signaux de communication ont été caractérisés ainsi que leur rôle dans le pouvoir pathogène. A suivi un travail sur la caractérisation des activités enzymatiques impliquées dans la protection. Il a fallu également évaluer des biostimulants, puis mettre en place des essais en parcelles pour le suivi des populations de pathogènes au champ.

Un criblage de molécules chimiques a été réalisé sur la base de leur capacité anti-quorum-sensing pour réduire l'expression des facteurs de virulence chez *Pectobacterium*. Deux inhibiteurs du quorum-sensing ont été identifiés.

La stimulation dans le sol de bactéries bénéfiques comme *Rhodococcus erythropolis* (R138) via des biostimulants a fait l'objet d'un dépôt de brevet international en 2008 (publiée sous le n° WO 2008/090479 le 31 juillet 2008).

Antibiose

De 2012 à 2015, l'autre méthode de lutte, le **bio antagonisme (antibiose)** a été étudiée par le développement de pathosystèmes en serre.

En effet, les bactéries des genres *Bacillus* et



Flétrissement associé à un symptôme de jambe noire.

Quorum-sensing

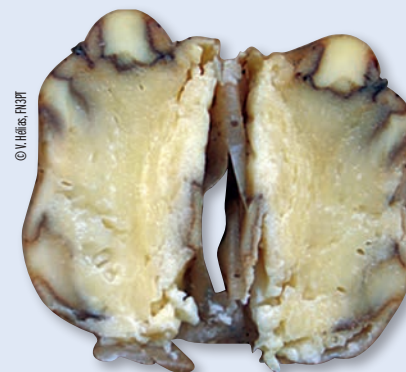


© A. Berry-Croin-LEM, 2012

Activité de biocontrôle de l'agent *R. erythropolis* après inoculation sur tubercule : Il dégrade les signaux permettant l'agressivité de *P. atrosepticum*. (voir tubercule en bas à droite)

Pseudomonas sont les plus efficaces pour produire des composés toxiques vis-à-vis d'autres bactéries. Un important travail préalable de screening des souches a été réalisé en laboratoire.

In vitro, il a fallu étudier la diversité des populations et des agents pour apprécier leur efficacité sur l'ensemble des populations. Six bactéries, des genres *Pseudomonas* ou *Bacillus*, ont été d'abord retenues. →



Symptômes de pourriture molle dus à *Pectobacterium*.

Sans introduction du pathogène *P. atrosepticum*

Avec introduction du pathogène *P. atrosepticum*



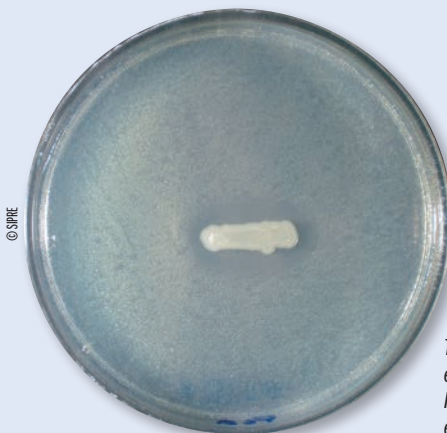
SOIGNEZ LES CAUSES ET NON LES CONSÉQUENCES

AUGMENTE le démarrage racinaire, le sécurise, développe rapidement la synergie Bactéries et mycorhizes présentes.





Tests de confrontation
entre la bactérie pathogène
D. dianthicola
et une bactérie antagoniste.



Tests de confrontation
entre la bactérie pathogène
P. atrosepticum
et une bactérie antagoniste.

Puis, les essais menés en serre ont montré l'efficacité d'une combinaison de trois *Pseudomonas* pour diminuer les symptômes de jambe noire causés par *D. dianthicola* et une transmission à la descendance. La séquence du génome de ces agents de lutte biologique a été déterminée.

En 2018, parmi les trois agents bactériens testés **en conditions contrôlées, l'agent PA14H7** a présenté la meilleure efficacité d'inhibition contre le panel de 41 souches testé (de *Pectobacterium/Dickeya* avec 3 répétitions) soit 123 boîtes par antagoniste. Il reste désormais à travailler sur les doses à appliquer, quand et comment les appliquer pour obtenir des différences significatives et une reproductibilité des pathosystèmes. La décision de ne développer que le meilleur agent identifié, ou une association des trois agents bactériens sélectionnés est en cours de discussion.

Couplage des méthodes au champ

Enfin, la possibilité de coupler les deux stratégies de lutte contre ces pathogènes pectinolytiques est également en cours d'expérimentation en plein champ.

Des essais menés à Achicourt ont consisté à tester la combinaison en parcelles expérimentales de **ces agents de biocontrôle, en cultures pures non formulées, avec un protocole de traitement** (dose, nombre et timing des traitements, avec apport ou non de biostimulant). Les efficacités ont été observées sur les plantes, ainsi que le niveau de transmission de ces bactéries pectinolytiques à la descendance. L'objectif est en effet de parvenir

à maintenir les agents de biocontrôle dans le sol afin qu'ils aient des effets sur la descendance (les tubercules fils). Cela demande de travailler sur la formulation car pour l'instant l'inoculum est produit en interne et une stabilisation des bactéries reste nécessaire. L'équipe est en recherche d'un partenaire industriel pour prendre en charge le développement de ce produit.

Les perspectives sont prometteuses même si les applications concrètes ne sont pas encore pour demain. Combicontrol est déjà un premier projet ANR (de l'agence nationale de la recherche) sur des pathogènes de la pomme de terre, associant des partenaires académiques (INRA/CNRS) avec des partenaires de recherche appliquée (FN3PT et SIPRE). Un partenariat industriel devrait suivre.



Essais Combicontrol en petites parcelles à Achicourt.

Parallèlement, ces travaux ont permis d'évoluer dans le mode d'évaluation des stratégies de biocontrôle : Plutôt que de se cantonner à la seule lecture des symptômes bactériens au champ qui parfois passent inaperçu, l'évaluation se base aussi sur l'analyse des lots replantés, pour évaluer l'effet sur les éventuelles recontaminations bactériennes d'année en année par analyse PCR sur les tubercules récoltés. ✨



Virginie Gobert de la FN3PT-Inov3PT.
Les tests au champ sont menés à Achicourt.

Projet Casdar GECONEM

Le projet Casdar GECONEM (2019-2023) s'attache à la gestion collective des résistances variétales aux nématodes à kyste et à la durabilité des résistances.

Globodera pallida et *G. rostochiensis* sont des parasites de quarantaine à lutte obligatoire, suscitant une surveillance du territoire. Les surfaces reconnues infestées par *G. pallida* et *G. rostochiensis* sont de plus en plus importantes (720 ha en 2016 selon les données de la DGAL). Si la France garde une situation relativement préservée en ce qui concerne ces parasites, il faut rester vigilant.

De nombreuses variétés possédant le gène *H1* (issu de *Solanum andigena*) sont résistantes à *G. rostochiensis*. Il est possible d'observer des situations de contournement de cette résistance et un remplacement de ce nématode par *G. pallida*. Peu de variétés résistantes à *G. pallida* sont inscrite au catalogue français, elles proviennent toutes de la source de résistance *S. vernei* qui confère une résistance partielle. Le déploiement intensif de cette source de résistance a favorisé l'apparition de populations virulentes au champ, une situation inquiétante où l'on trouve des femelles en nombre important (Mwangi et al 2019). Les nématologistes de INRAE-IGEPP ont également observé des contournements de cette source de résistance en condition de laboratoire dès 2013.

État des lieux des populations

Dans ce contexte, les objectifs du projet GECONEM sont premièrement de faire en un état des lieux de la présence de *Globodera pallida* et/ou *G. rostochiensis* sur le territoire français et sur la présence ou pas de populations capables de se multiplier sur des variétés résistantes, pour prédire les risques et proposer une gestion collective optimisée. Une cartographie des relations entre les différents acteurs sera faite à l'échelle d'une filière (la coopérative de Noirmoutier),

d'un territoire et au niveau national, pour identifier des pistes de gestion collective des résistances au nématode.

Des outils moléculaires vont être utilisés pour identifier les espèces de nématodes présentes. Pour caractériser leur niveau de virulence, les populations échantillonnées vont être testées en condition de biotest vis-à-vis d'une gamme de variétés de référence résistantes à l'une ou l'autre des deux espèces ou aux deux.

La recherche de marqueurs moléculaires associés aux facteurs de résistance devrait permettre de les suivre plus efficacement et plus précocement dans les schémas de sélection.

Il faut également exploiter de nouvelles ressources, à partir des collections d'espèces apparentées maintenues dans le CRB BrACySol sur le site de Ploudaniel. Les généticiens de l'UMR IGEPP travaillent principalement sur deux pistes. La première est de créer du matériel végétal à partir de la source *S. sparsipilum*. Cette source de résistance est originale puisque quand les deux facteurs génétiques qui confèrent la résistance (l'un à effet fort et l'autre à effet faible) sont associés, les nématodes sont bloqués précocement. Cette combinaison est plus difficile à contourner. La deuxième piste est d'associer le facteur de résistance à effet faible identifié chez *S. sparsipilum* aux facteurs de résistance identifiés chez la source de résistance *S. vernei*. Ces nouvelles constructions, associées à un mode d'action différent, supposé plus durable, ouvrent des alternatives à l'utilisation du matériel d'origine *S. vernei* uniquement.

Le programme devrait se conclure par la mise à disposition de matériel original efficace et durable. ✨



Marie-Claire Kerlan, de l'INRAE UMR IGEPP, pilote le projet GECONEM.

Le projet réunit deux unités de l'INRAE (l'UMR IGEPP et l'UMR SADPT), l'Anses, la DGAL, la FN3PT/RD3PT, Arvalis - Institut du végétal et l'ACVNPT



+20% du carbone assimilé par les plantes
(étude réalisée par l'INRA de Versailles)

**LA "PLAINE"
CONFIANCE**

**PLUS DE
25 ANS
DE RECHERCHE
ÉCO-RESPONSABLE**

MADE IN FRANCE

Projet PoTStaR: stabilité des résistances variétales au mildiou

L'enjeu du projet PoTStaR piloté par l'INRAE-IGEPP de Ploudaniel et financé dans le cadre des actions Recherche du plan Écophyto, est d'identifier des résistances au mildiou stables dans le temps et dans l'espace. En effet, la résistance variétale au mildiou est un levier essentiel pour une production de pommes de terre avec moins de fongicides.

La génétique constitue un levier important pour lutter contre *Phytophthora infestans*, agent du mildiou. Dans le genre des *Solanum* tubéreux, il existe de nombreux gènes R de résistance au mildiou. Actuellement 35 gènes R ont été identifiés au sein d'espèces apparentées, et certains ont été introduits dans des variétés commerciales. La résistance conférée par ces gènes est très efficace, cependant des cas de contournement sont souvent observés après quelques années d'exploitation de ces variétés (exemple Eden inscrite en 2000). D'autres sources de résistance, dites partielles, sont conférées par plusieurs gènes, présents sur l'ensemble des chromosomes. Ce type de résistance est beaucoup moins facilement contourné et donc plus stable dans le temps et dans différents environnements.

L'équipe INRAE-IGEPP de Ploudaniel qui gère une collection de géniteurs de résistance pour la pomme de terre (maintenue au sein du CRB BrACySol), et les partenaires du projet (ACVNPT, FN3PT/RD3PT et Arvalis) ont effectué en 2017 et 2018 une évaluation multi-sites (sur 5 lieux) de la résistance au mildiou de 287 géniteurs.

L'évaluation s'appuyait sur des essais à 2 répétitions, chaque génotype à tester étant placé entre des rangs de Bintje. Quatre des essais étaient conduits sans aucune protection fongicide et un essai a reçu une à 2 applications en début de culture. Chaque semaine, des notations de l'importance de la destruction du

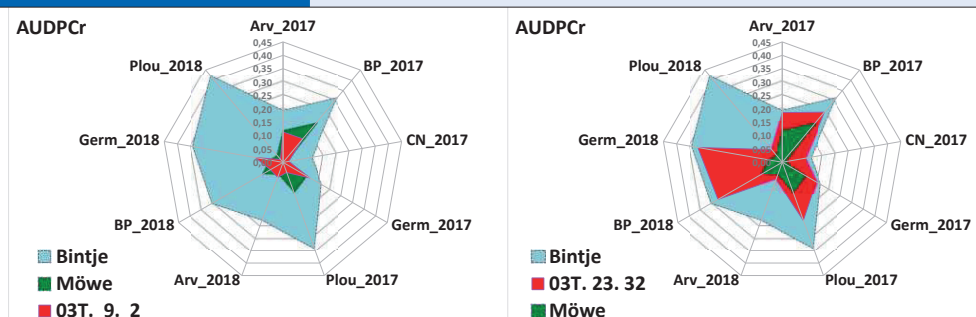
feuillage par le mildiou étaient réalisées ce qui a permis le calcul de l'aire sous la courbe de progression de la maladie (AUDPC: plus la valeur de cette variable est grande, moins il y a de résistance et inversement) et de paramètres informant sur le moment de l'infection et sur la vitesse de progression de la maladie (Δt et Δa). Une analyse factorielle multiple a distingué 3 clusters, qui correspondent à 3 niveaux de résistance au mildiou, en référence à des témoins connus. Le groupe des plus résistants (avec Sarpo Mira et Cephora) est issu à 90 % des programmes focalisés sur la résistance au mildiou. Le groupe intermédiaire rassemble une moitié de géniteurs issus de ces mêmes programmes, les autres provenant d'autres programmes (résistance aux nématodes, pectobactéries, virus...). Le groupe des plus sensibles renferme quant à lui 10 % de géniteurs pourtant issus de programmes mildiou.

Stabilité dans l'espace et dans le temps

Chaque géniteur a été observé dans les 5 sites en 2017 et 4 en 2018, et comparé à Möwe, variété moyennement résistante et à Bintje variété sensible. Leurs profils sont représentés par des graphiques en radar illustrant leur comportement dans les différents lieux/années d'expérimentation.

Une répartition régulière autour du centre indique une résistance stable dans l'espace et plus l'aire colorée est faible, plus la variété est résistante. Par exemple, dans le graphique ci-contre, le géniteur 03T.9.2 montre un bon niveau de résistance quel que soit le lieu, alors que pour 03T.23.32 les réponses sont différentes en fonction des lieux.

La deuxième phase de l'étude concerne l'évolution du comportement des géniteurs résistants au mildiou dans le temps. Parmi les 287 géniteurs utilisés dans le projet, 122 provenaient de programmes de résistance au mildiou et avaient été expérimentés pendant 2 années consécutives sur le site INRAE-IGEPP de Ploudaniel sur la période 1992-2011. Ces données, qui ont été ajustées pour tenir compte, des différences annuelles de pression de maladie et des changements de souches, ont été comparées à celles produites sur ce même site en 2017 et 2018.

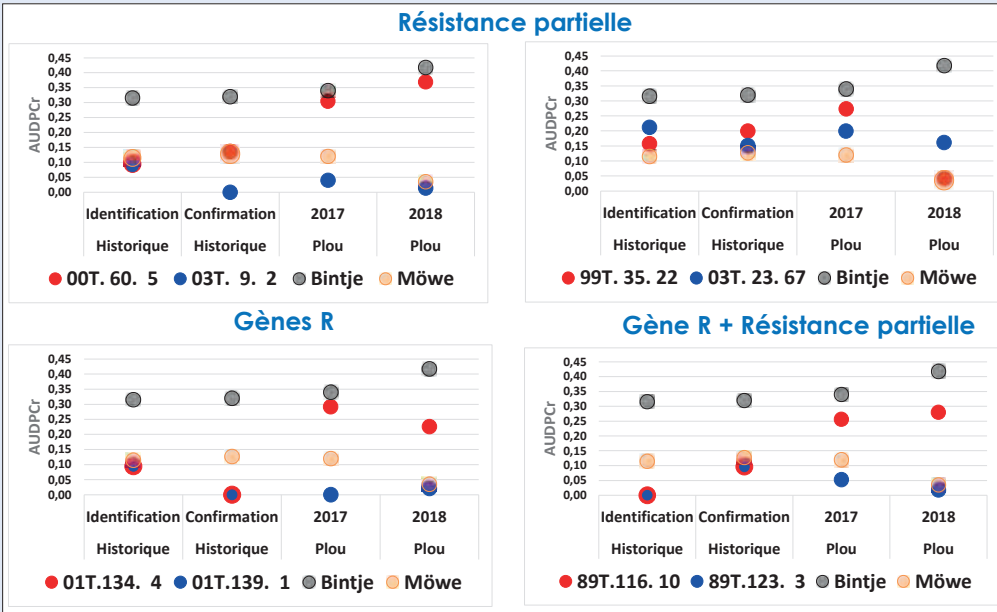


Représentation des résistances des hybrides analysés

La représentation des hybrides évalués, en rouge est visualisée en comparaison avec Bintje en bleu et Möwe en vert. Plus le niveau de résistance est élevé, plus la surface rouge est faible. Quand les branches de l'étoile sont irrégulières, la résistance est instable.



Roland Pellé, INRA-IGEPP, suit l'évaluation des résistances variétales.



Évolution dans le temps du comportement des géniteurs résistants au mildiou

Les graphiques ci-dessus montrent les valeurs d'AUDPCr (valeur faible = résistance, valeur forte = sensibilité) obtenues pour deux témoins, Bintje (sensible), Möwe (moyennement résistante), et pour quelques géniteurs. La valeur plus faible de Möwe en 2018 est expliquée en grande partie par une moindre pression de maladie. Cette variété possède un niveau assez élevé de résistance partielle (et pas de gènes R), cela montre que dans ce cas ce type de variétés est capable de contrôler efficacement la maladie. Ce n'est pas vrai pour la variété sensible Bintje. Concernant les géniteurs, on observe des comportements variables en fonction du temps. Les géniteurs 03T.9.2 et 03T.23.67 (résistance partielle), 01T.139.1 (gènes R) et 89T.123.3 (combinaison gènes R et résistance partielle) ont conservé un bon niveau de résistance. Alors que pour 00T.60.5 et 99T.35.22 (résistance partielle), 01T.134.4 (gènes R) et 89T.116.10 (combinaison gènes R et résistance partielle) on constate une perte de niveau de résistance. Ces modifications de comportement sont en partie expliquées par les évolutions du mildiou.

En effet, en 2007-2008 on a observé un changement important des populations de mildiou présentes sur le site INRAE-IGEPP de Ploudaniel avec disparition de souches (1_A1 et 2_A1) et apparition de nouvelles (6_A1 et 13_A2). Le bilan des deux analyses montre que sur les 122 géniteurs issus des programmes de résistance au mildiou, 62 ont montré une résistance stable dans le temps et dans l'espace : 8 géniteurs possèdent des gènes R, 6 présentent de la résistance partielle, et 48 présentent une combinaison des deux types de résistance. Ce matériel génétique peut être utilisé par les sélectionneurs dans leurs programmes de création variétale. En parallèle, un travail d'identification de marqueurs moléculaires associés à ces résistances est réalisé afin d'améliorer l'efficacité des schémas de sélection. L'adaptation des souches de mildiou à ces facteurs de résistance est aussi un axe de recherche dans le projet PoTStaR. Enfin, ce jeu de données conséquent pourra être utilisé pour modéliser les épidémies du mildiou en tenant compte du type de résistance, de l'effet du climat et des souches de mildiou. ✨

ECOBIOS® BY SOFRAPAR

**C'EST BEAU...
C'EST GROS...
C'EST ECOBIOS® !**

PLUS DE 25 ANS DE RECHERCHE ÉCO-RESPONSABLE

MADE IN FRANCE

MEILLEURE homogénéité des calibres.
Biomasse +17%