



Bulletin de l'Alliance *Globodera*

Utilisation de marqueurs moléculaires pour l'identification de variétés de pommes de terre résistantes aux nématodes à kystes de la pomme de terre

Walter De Jong, Université de Cornell

Évaluation de la résistance aux nématodes

Dans cette édition:

Évaluation de la Résistance	1
Marqueurs Moléculaires	2
À Propos du Projet GLOBAL	3
De la Serre au Champ	4
Activités à Venir	4
Congrès Mondial de la Pomme de Terre	5

Il est difficile d'évaluer la résistance des pommes de terre aux nématodes à kystes de la pomme de terre (NKPT). D'abord, les NKPT sont des organismes nuisibles de quarantaine. Aux États-Unis, seuls deux établissements sont autorisés à étudier les NKPT, l'un en Idaho, l'autre dans l'État de New York. Ceux-ci doivent observer des règles phytosanitaires strictes pour empêcher toute fuite de ces organismes nuisibles.



Figure 1 : Examen des kystes présents sur les racines d'un plant de pommes de terre au cours d'un essai en serre. (Photo : X. Wang)



Figure 2: Bioessai en serre avec le nématode *G. rostochiensis* sur des variétés et des lignées avancées de pomme de terre. (Photo : X. Wang)

Ensuite, la conduite d'un test d'évaluation de la résistance des pommes de terre aux nématodes prend beaucoup de temps. Dans les essais typiques en serre d'inoculation de nématodes sur des plantes empotées, des plantules issues de culture tissulaire ou des tubercules sont plantés dans un sol infesté d'œufs de NKPT et laissés à pousser en serre de 12 à 16 semaines, voire plus, le temps que des kystes apparaissent sur les racines. L'étape suivante peut être aussi simple que de dégager les racines des plantes pour y observer la présence de kystes, ou aussi compliquée que de tamiser méticuleusement tout le sol pour récupérer et compter tous les kystes, chaque kyste mesurant environ ½ mm de diamètre. L'observation directe des racines fonctionne assez bien pour la race Ro1 du nématode doré dont les kystes ne se délogent pas aisément, mais ne convient pas au nématode à kystes

pâles ni à la race Ro2 du nématode doré, car leurs kystes se détachent facilement et demeurent dans le sol.

La difficulté d'évaluer la résistance est particulièrement grande pour les sélectionneurs des programmes d'amélioration génétique voulant obtenir des variétés de pommes de terre résistantes aux NKPT, car la plupart des établissements de quarantaine n'ont pas assez d'espace pour cultiver des centaines ou des milliers de variétés candidates chaque année, sans compter le personnel et les ressources nécessaires au traitement d'un aussi grand nombre d'échantillons.

Marqueurs moléculaires

En principe, il devrait être faisable d'évaluer la résistance des pommes de terre par l'analyse de leur ADN. Les gènes de résistance aux nématodes, comme tous les gènes d'ailleurs, sont encodés dans de courts segments d'ADN. Dans un monde idéal, nous connaîtrions les séquences d'ADN de tous les gènes de résistance aux nématodes et serions capables de prédire si les lignées de pomme de terre auront une résistance ou une susceptibilité aux nématodes, simplement par le séquençage de leur ADN. Malheureusement, nous ne sommes pas rendus là : d'une part, le séquençage complet de l'ADN d'une pomme de terre coûte encore trop cher, d'autre part, nous ne connaissons pas encore la séquence génétique de la plupart des gènes de résistance communément utilisés.

Or, à l'heure actuelle, nous pouvons effectuer des tests pour rechercher la présence de marqueurs moléculaires se trouvant à proximité de gènes de résistance connus. Grâce à la technologie actuelle, les généticiens moléculaires peuvent déterminer l'emplacement approximatif d'un gène de résistance, ce qui réduit son emplacement probable à une région d'une longueur d'environ un million de paires de bases. [À titre comparatif, la longueur d'un gène de résistance typique est d'environ 10 000 paires de bases, et celle du génome complet de la pomme de terre, d'environ un milliard de paires de bases d'ADN.] En raison du mode de transmission de l'ADN d'une génération à l'autre, des régions de l'ADN situées physiquement proches l'une de l'autre ont tendance à être héritées ensemble.

Sachant qu'un gène de résistance se trouve quelque part dans une région d'une longueur d'un million de paires de bases, il est possible de localiser ce gène indirectement – en ciblant n'importe quel autre segment d'ADN de cette région – puisque le segment d'ADN et le gène de résistance auront tendance dans n'importe quelle pomme de terre

à être tous les deux présents ou tous les deux absents. Pour qu'un segment ciblé soit utile, il doit être unique, c.-à-d. qu'il doit être absent des pommes de terre sensibles aux nématodes. Comme la plupart des gènes de résistance aux nématodes ont été puisés dans des espèces sauvages de pommes de terre et introduits par croisement relativement récemment dans des pommes de terre cultivées, l'ADN situé à proximité de la plupart des

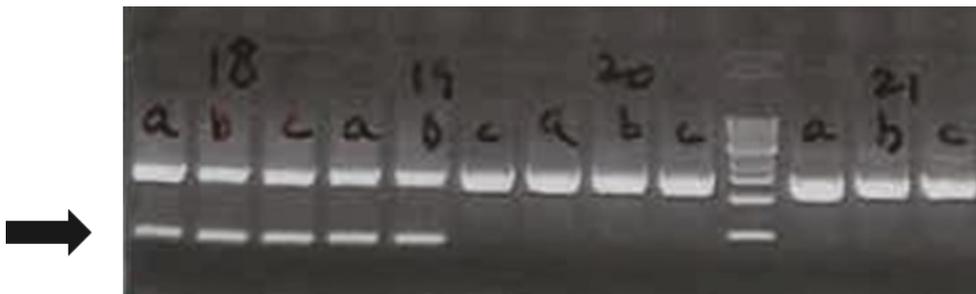


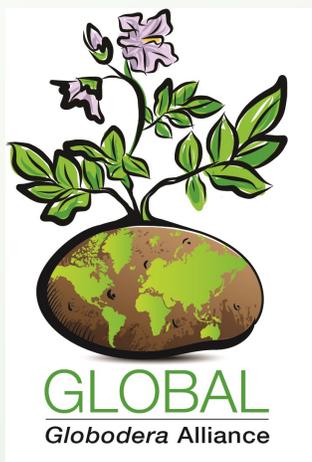
Figure 3 : Le marqueur 57R en action. La flèche de gauche montre un segment d'ADN présent dans la plupart des pommes de terre qui possèdent le gène de résistance *H1*. L'image montre des segments d'ADN de cinq échantillons de variétés qui ont le gène *H1* et de sept échantillons de variétés qui n'ont pas ce gène. La quatrième bande à partir de la droite contient une échelle de fragments d'ADN de différentes tailles. (Photo : W. DeJong)

gènes de résistance est aussi d'origine sauvage. Par conséquent, de nombreux segments situés à proximité d'un gène de résistance sont uniques et facilement différenciables de l'ADN des pommes de terre cultivées.

Le gène de résistance aux nématodes le plus répandu est le gène *H1*. Il provient de *Solanum tuberosum* subsp. *andigena*, une plante proche parente de la pomme de terre moderne (*S. tuberosum* subsp. *tuberosum*). Le gène *H1* confère des niveaux élevés de résistance à la race Ro1 du nématode doré, mais s'avère inefficace contre le nématode à kystes pâles et la race Ro2. Deux marqueurs servant à localiser des segments d'ADN situés à proximité du gène *H1* sont très utilisés, soit les marqueurs TG689 et 57R, mis au point respectivement aux États-Unis et en Europe. Selon de récents tests effectués par les scientifiques du programme d'amélioration de la pomme de terre de l'État de New York, en moyenne, le marqueur 57R est un peu plus précis que TG689; la présence de 57R prédisant correctement la résistance chez 99,7 % des sujets analysés, contre seulement 98,3 % pour le marqueur TG689. Or, aucun des deux marqueurs ne donne de bons résultats pour prédire la sensibilité des sujets aux nématodes (le marqueur 57R ne réussit à prédire la sensibilité que chez 47 % des sujets, contre 41 % pour le marqueur TG689), peut-être parce que d'autres gènes de résistance non liés à 57R et à TG689 étaient aussi présents dans certaines des pommes de terre testées. Malgré ces chiffres, ces deux marqueurs sont « suffisamment bons » pour être utilisés dans un programme régulier d'amélioration génétique de la pomme de terre, car les traits de résistance sont du plus grand intérêt pour les sélectionneurs. Les tests de dépistage des deux marqueurs coûtent à peine quelques dollars par échantillon et fournissent des résultats en quelques heures à peine, permettant de faire d'énormes économies de coûts et de temps par rapport aux tests d'inoculation avec des nématodes vivants.

À Propos du Projet GLOBAL GLOBAL est la contraction de "Globodera Alliance", un regroupement international de chercheurs, d'experts en transfert technologique et d'éducateurs ayant comme objectif commun l'éradication de *Globodera spp.* dans la culture de la pomme de terre.

Les membres du projet GLOBAL incluent des scientifiques de l'Université d'Idaho, de l'Université d'État de l'Oregon, de l'Université Cornell, du Département de l'Agriculture des États-Unis (USDA), d'Agriculture et Agroalimentaire Canada, de l'Institut James Hutton et de l'Institut National de Recherche Agronomique (INRA).



Pour des mises à jour sur le travail en cours visitez:

www.globodera.org

twitter.com/globoder.org

facebook.com/GloboderaAlliance

Ou contactez Louise-Marie Dandurand: imd@uidaho.edu

Inga Zasada: inga.zasada@ars.usda.gov

Financé par USDA-NIFA
de subvention: 2015-69005-23634

dollars par échantillon et fournissent des résultats en quelques heures à peine, permettant de faire d'énormes économies de coûts et de temps par rapport aux tests d'inoculation avec des nématodes vivants.

De la serre au champ

Dans leur pratique courante, les sélectionneurs du programme d'amélioration de la pomme de terre dans l'État de New York évaluent tous les clones qui ont survécu à deux années d'évaluation des performances agronomiques au champ à l'aide du marqueur 57R, afin de déceler ceux qui ont le plus de chance d'être résistants. En tenant compte du statut de résistance établi à l'aide du marqueur, ils déterminent les clones qui seront conservés après la troisième saison de culture en champ. Plusieurs années plus tard, ils effectuent des tests d'évaluation de la résistance ou de la vulnérabilité des plantes par inoculation de nématodes vivants sur tous les clones rendus près de l'étape de la commercialisation comme cultivar. Dans l'État de New York, où les variétés résistantes au nématode doré jouent un rôle crucial dans la lutte contre ce ravageur, il faut être certain à 100 % (et non à 98,3 % ou à 99,7 %) qu'une variété dite « résistante » l'est vraiment. ET seul un bioessai peut offrir ce niveau de certitude.

Il n'existe malheureusement aucun gène de résistance unique comparable au gène *H1* qui confère une résistance complète aux souches du nématode à kystes pâles présentes en Idaho. Par contre, les emplacements de plusieurs gènes d'effets plus faibles sont connus, et un marqueur (HC) pour détecter la présence de l'un ces gènes a été mis au point en Europe. Les marqueurs s'avèrent particulièrement utiles dans les cas où la résistance nécessite le concours de nombreux gènes, en partie parce que les inoculations ne peuvent pas toujours détecter la présence de gènes à faible effet, et en partie parce qu'elles détectent un faible niveau de résistance, elles ne permettent pas d'identifier les gènes à faible effet impliqués qui sont présents. Les sélectionneurs ont besoin d'outils pour localiser chaque gène indépendamment, afin de tenter ensuite d'incorporer tous ces gènes dans une même plante de pommes de terre. Le marqueur HC est un bon départ, mais les sélectionneurs auraient besoin d'autres marqueurs pour pouvoir créer efficacement de nouvelles lignées de pommes de terre qui ont des niveaux élevés de résistance aux nématodes. Dans la foulée de ces efforts, des chercheurs de l'État de New York ont découvert récemment un marqueur associé à un gène de *S. vernei* qui confère des niveaux modérés de résistance à la fois aux nématodes dorés et aux nématodes à kystes pâles. En Idaho, des chercheurs effectuent aussi des travaux semblables en vue de trouver d'autres mar-

Activités à venir:

Congrès annuel de la Potato Association of America 22-26 juillet 2018 — Boise, Idaho

Dans le cadre du Congrès annuel de la PAA, le projet Global présentera une conférence sur **les Impacts des organismes nuisibles de quarantaine sur l'industrie de la pomme de terre**. Pour plus d'information, consultez : www.uidaho.edu/paa2018

Congrès annuel de l'Organisation des nématologistes d'Amérique tropicale 19-23 août 2018 — Arequipa, Pérou

Dans le cadre du Congrès annuel de l'ONTA, le projet Global présentera une conférence sur le **nématode à kystes de la pomme de terre et** dressera un grand portrait de la propagation du NKPT. Pour plus d'information, consultez www.ontaweb.org/

Des scientifiques du projet Global au Congrès mondial de la pomme de terre



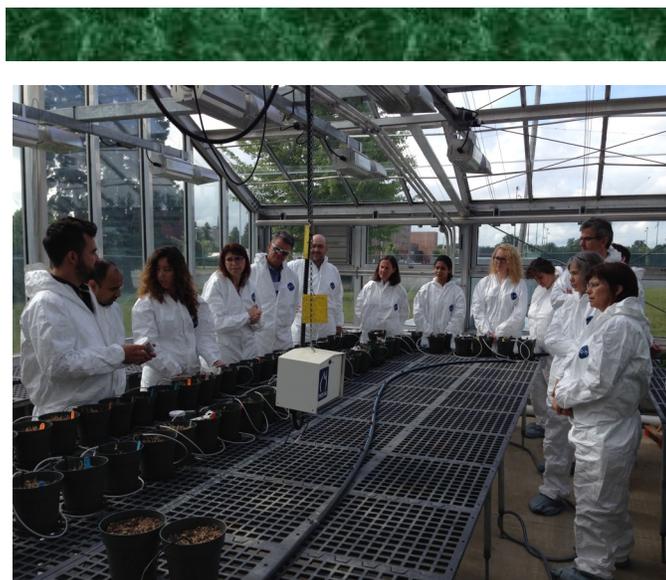
Le 10^e Congrès mondial de la pomme de terre a eu lieu à Cusco au Pérou, au centre de la diversité des pommes de terre. Environ 900 participants de partout dans le monde s'y étaient réunis pour communiquer des résultats de recherche des divers domaines liés à la pomme de terre. Le mot d'ouverture a été prononcé par le président du Pérou, Martín Vizcarra; par le vice-président, Mercedes Aráoz, par le gouverneur de la région de Cusco, par le maire de Cusco et par le ministre de l'Agriculture et de l'Irrigation. Toutes ces personnes ont entonné l'hymne national. Le haut rang des dignitaires présents témoignait de l'influence séculaire profonde exercée par la pomme de terre au Pérou. Le président du Congrès mondial de la pomme de terre Romain Cools et la directrice générale du Centre international de la pomme de terre Barbara Wells ont ensuite souhaité la bienvenue aux participants. Outre les discussions et échanges scientifiques, une journée de champ a été organisée pour visiter la station expérimentale de l'INIA (Institut national de l'innovation agricole) et le Parc de la pomme de terre. La station de recherche qui est spécialisée dans les variétés indigènes a montré la grande diversité génétique de milliers de variétés de pommes de terre. Le Parc de la pomme de terre est une aire du patrimoine bioculturel autochtone pour la conservation des variétés indigènes de pommes de terre andines et l'amélioration de la biodiversité dans cette région.

Les scientifiques du projet Global (Global pour *Globodera* Alliance), soit Jonathan Whitworth, Ph. D. et Rich Novy, Ph. D. de l'USDA-ARS ainsi que Joe Kuhl, Ph. D., de l'Université de l'Idaho, ont donné des conférences. Le Dr. Kuhl a parlé des travaux de recherche menés dans le cadre du projet Global. Ces travaux sont axés sur l'évaluation des risques posés par *Globodera* spp. et leur éradication des champs de pommes de terre aux États-Unis. Le Dr. Whitworth a donné une conférence intitulée « La recherche de gènes de résistance à trois espèces de *Globodera* dans des pommes de terre ». Le Dr. Novy a, pour sa part, donné une conférence sur la sélection et la mise au point de variétés de pommes de terre résistantes aux nématodes *Globodera* spp. produisant des tubercules de forme allongée de type russet pour l'Ouest des États-Unis.

Pour voir les affiches qui ont été présentées à la conférence par les chercheurs du projet GLOBAL, cliquez sur le lien suivant : <https://www.globodera.org/science-posters>

Les Investigateurs de GLOBAL

- Louise-Marie Dandurand, PhD, Univ. of Idaho, GLOBAL Director
- Inga Zasada, PhD, USDA ARS, GLOBAL Co-Director
- Vivian Blok, PhD, James Hutton Institute, Scotland
- Glenn Bryan, PhD, James Hutton Institute, Scotland
- Walter De Jong, PhD, Cornell University
- Dee Denver, PhD, Oregon State University
- Eric Grenier, PhD, Nat. Inst. of Agr. Research (INRA), France
- Pam Hutchinson, PhD, University of Idaho
- John Jones, PhD, James Hutton Institute, Scotland
- Joe Kuhl, PhD, University of Idaho
- Chris McIntosh, PhD, University of Idaho
- Benjamin Mimee, PhD, Agriculture and Agri-Food Canada
- Rich Novy, PhD, USDA ARS
- Mike Thornton, PhD, University of Idaho
- Xiaohong Wang, PhD, USDA ARS and Cornell University
- Jonathan Whitworth, PhD, USDA



Les scientifiques du projet GLOBAL visitent les serres de confinement biologique d'Agriculture et Agroalimentaire Canada, un organisme partenaire du projet GLOBAL. (I. Zasada)

Les Conseillers de GLOBAL

- Bill Brewer, Oregon Potato Commission
- David Chitwood, PhD, USDA ARS
- Lorin Clinger, potato grower
- Tina Gresham, PhD, USDA APHIS PPQ
- Russell Ingham, PhD., Oregon State University
- Andrew Jensen, PhD, Northwest Potato Research Consortium
- Jonathan M. Jones, USDA APHIS
- Daniel Kepich, USDA APHIS
- Patrick Kole, JD, Idaho Potato Commission
- James LaMondia, PhD, Connecticut Agricultural Experiment Station
- Brian Marschman, USDA APHIS PPQ
- Jon Pickup, PhD, Science and Advice for Scottish Agriculture (SASA)
- Bryan Searle, potato grower
- Andrea Skantar, PhD, USDA ARS
- Alan Westra, Idaho Crop Improvement Association
- Melanie Wickham, Empire State Potato Growers, Inc.
- Ryan Krabill, United States Potato Board

Les conseillers de GLOBAL se composent des personnalités de l'industrie de la pomme de terre, des régulateurs fédéraux et étatiques et des universitaires qui ont dédié leurs temps et efforts à ce projet. Nous les remercions!

Contactez-nous:

Pour plus d'information, commentaires ou suggestions, veuillez contacter Louise-Marie Dandurand, imd@uidaho.edu, ou Inga Zasada, inga.zasada@usda.ars.gov.