

CARIE ABBLE (2015-2018)

Carie commune :

Etude de la variabilité des populations en France et développement d'un test de résistance variétale pour l'inscription des variétés de blé tendre en Agriculture Biologique

V. CADOT , G. ORGEUR , L. LE DARE ; J. BRACHET , C. GALON; T. BALDWIN , J. GOMBERT, L. FONTAINE
P. DU CHEYRON , J. BRUYERE, OSTES, J. CHAMPION, J.P. MAIGNIEL, A. MAILLIARD, V. GRIMAUULT



Séminaire CASDAR Semences, 03 décembre 2019, Paris

Contexte et Objectifs

- **Carie commune** (*Tilletia caries* & *laevis*) en réémergence
- **Dissémination rapide** par les semences et le sol
- Importantes **pertes de rendement**, jusqu'à 80%
- **Détérioration de la qualité sanitaire**, odeur fétide des semences cariées



non utilisables en meunerie

- **Résistance variétale peu travaillée** → 10% de variétés résistantes
- Sensibilité variétale pose un **problème** d'importance en **AB**
- Traitement des semences conventionnelles → Pas en accord avec le plan EcoPhyto



Objectifs :

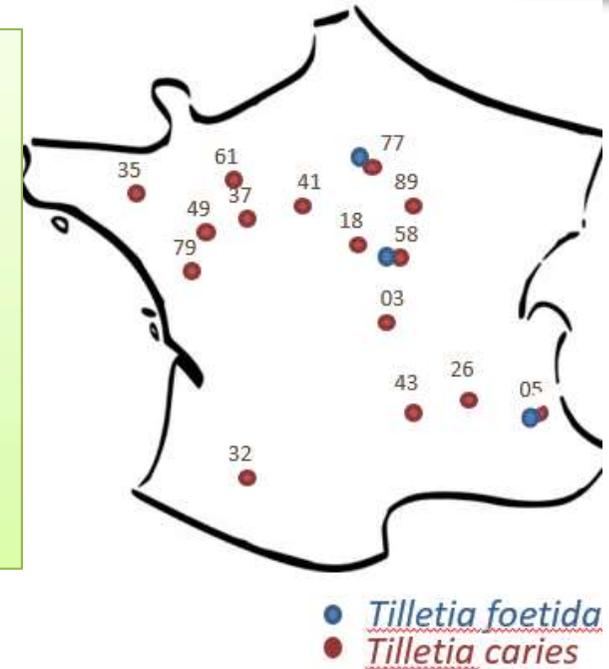
Disposer **d'un test de résistance à la carie commune fiable, rapide, vis-à-vis des virulences prédominantes en France**, pour les variétés de blé tendre AB pour l'inscription CTPS au Catalogue français

Collecte des souches & Identification des espèces de carie

- 26 souches collectées & caractérisées dans 15 dpts en 2015 principalement sur blé tendre
- 20 souches sélectionnées pour multiplication de l'inoculum
- Identification des espèces de carie
- Taux de viabilité (Coloration)
- Département d'origine
- Variétés

Carie commune :

- *Tilletia caries* **prédominante (100%)**
- *T. laevis (foetida)* : **en mélange (15,4%) avec *T. caries***
- Pas de carie naine (*T. controversa*)



Carie commune

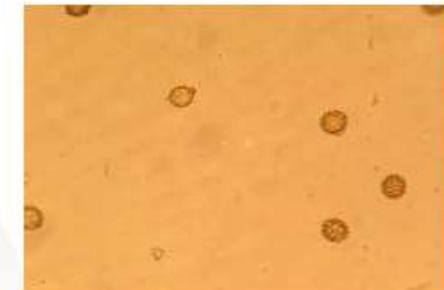


T. caries
Spores réticulées:
brun rougeâtre



T. laevis
Spores lisses,
brun olivâtre

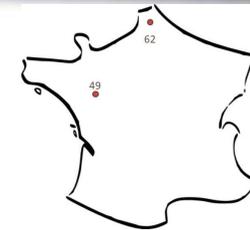
Carie naine



T. controversa
Spores réticulées avec gaine,
jaune à brun rougeâtre

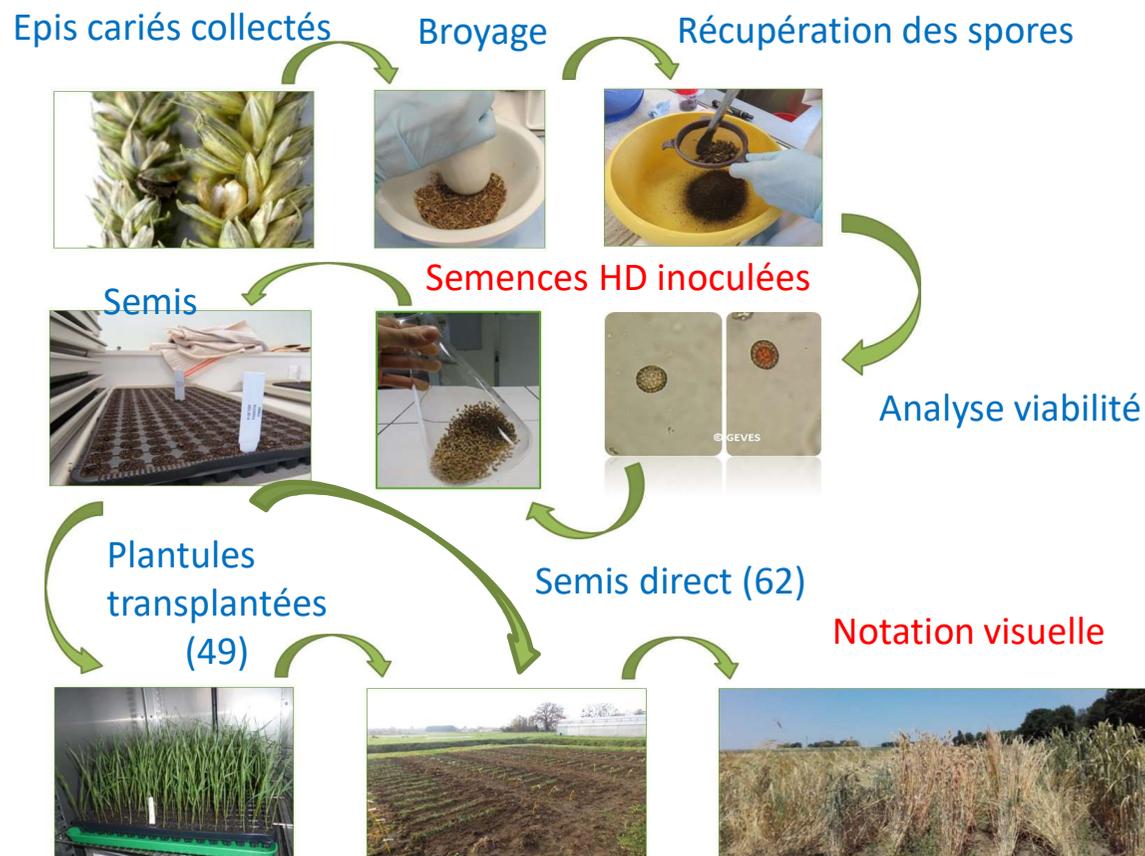
Méthode d'identification des virulences avec les Hôtes Différentiels

- **Inoculation de 15 hôtes différentiels (HD) avec les 20 souches sur 2 sites**
 - FNAMS 49 : 25 plantules contaminées/HD x 3rep x 11 souches
 - FREDON 62 : semis direct de 150 pltes/HD x 3 rep x 10 souches
- **Notation au champ, au stade laiteux : % épis cariés**



HD (Goates, 2012)

n°	Ref/Déno	Gènes de résistance
1	Heines VII	Bt-0
2	Sel. 2092	Bt-1
3	Sel. 1102	Bt-2
4	Ridit	Bt-3
5	CI 1558	Bt-4
6	Hohenheimer	Bt-5
7	Rio	Bt-6
8	Sel. 50077	Bt-7
9	PI 173438/Eg	Bt-8
10		Bt-8, 9, 10+
11	Eg/PI 178383	Bt-9
12	Eg/PI 178383	Bt-10
13	Eg/PI 166910	Bt-11
14	PI 119333	Bt-12
15	Thule III	Bt-13
16	Doubbi	Bt-14 (tetrapl.)
17	Carlton	Bt-15 (tetrapl.)



Caractérisation des virulences de *T. caries* en France

HD	Hôtes différentiels	Gènes de résistance	Souches pathogènes de <i>Tilletia caries</i>																				Fréquence des virulences : V+(V) >=5% épis cariés		
			FNAMS 49										FREDON 62												
			S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10	S11	S12	S13	S14	S15	S16	S17	S18	S19	S20		S1	
	Département		49	18	61	49	05	41	89	43	35	26	26	79	32	77	89	89	58	26	26	61	49		
1	Heines VII	Bt-0	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	100%
2	Sel. 2092	Bt-1	A	A	A	V	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	(A)	A	A	A	A	V	10%	
3	Sel. 1102	Bt-2	V	A	A	(V)	V	A	A	(V)	A	A	A	A	(A)	A	(A)	(A)	(A)	A	A	V	24%		
4	Ridit	Bt-3	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	(A)	A	A	(A)	(A)	A	A	A	A	A	A		
5	CL 1558	Bt-4	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	(A)	A	A	A	A		
6	Hohenheimer	Bt-5	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	(A)	A	A	A	(A)	(A)	A	(A)	A	(A)		
7	Rio	Bt-6	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	(A)	A	V	(A)	A	(A)	(A)	A	A	A	5%	
8	Sel. 50077	Bt-7	V	(A)	V	V	V	A	V	(V)	V	A	V	A	(A)	A	V	(A)	(A)	(A)	(A)	V	48%		
9	PL 173438/Eg	Bt-8	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	(A)	(A)	A	(A)	(A)	A	(A)	(A)		
11	Eg/PL 178383	Bt-9	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	(A)	(A)	A	(A)	(A)		
12	Eg/PL 178383	Bt-10	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	(A)	(A)	A	(A)	(A)		
13	Eg/PL 166910	Bt-11	A	A	A	A	A	A	A	A	A	(A)	A	A	A	A	A	A	(A)	(A)	A	(A)	(A)		
14	PL 119333	Bt-12	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A		
15	Thule III	Bt-13	A	A	A	A	A	(A)	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A		
17	Carlton	Bt-15	V	(A)	A	(A)	A	A	V	(A)	(V)	(V)	(A)	A	(A)	(A)	A	A	(A)	(A)	A	(A)	(A)	19%	

A : 0% épis cariés ; (A) : <=5% épis cariés ; 5<(V)<=10% épis cariés ; V : >10% épis cariés

- Virulences prédominantes → Bt-7 (48%), puis Bt-2 (24%) & Bt-15 (19%) : Souche S1 sélectionnée pour tests de résistance
- Virulences évolution à surveiller: Bt-1 & Bt-6
- Aucune virulence trouvée sur Bt-12, mais faible effectif pour le 62



GEVES

Groupe d'Étude et de contrôle des Variétés Et des Semences

Connaissances antérieures

- Il existe différentes virulences dans l'UE, ...

Origine des populations de la carie commune	Années de notation	Gènes de résistance Bt efficaces contre les populations de carie commune
Hongrie	1991-1997	<i>Bt5, Bt6, Bt8, Bt9, Bt10</i>
Europe	2000-2002	<i>Bt3, Bt5, Bt6, Bt8, Bt9, Bt11, Bt12, Bt13</i>
Autriche & Allemagne	2005-2006	<i>Bt4, Bt5, Bt6, Bt8, Bt9, Bt10, Bt11, Bt12, Bt14</i>
Pologne	2004-2005	<i>Bt4, Bt8, Bt11</i>
Roumanie	2005-2006	<i>Bt5, Bt8, Bt9, Bt10, Bt11, Bt12, Bt13</i>
Lituanie	2008-2009	<i>Bt4, Bt5, Bt6, Bt8, Bt9, Bt11, Bt12</i>

Connaissances limitées en France:

**2 populations locales 2010-2011 :
Virulence contre Bt7 et dans une
moindre mesure contre Bt15**

(Contrat branche, 2012 Arvalis).

Virulences prédominantes contre **Bt 1, 2, 3, and 7**

Matanguihan et al. 2011



GEVES

Groupe d'Étude et de contrôle
des Variétés Et des Semences

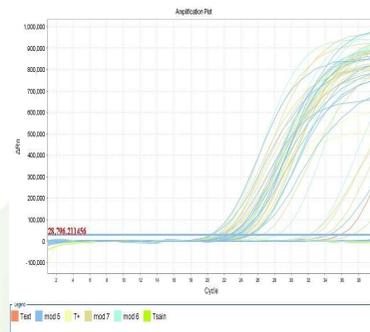
Mise au point d'un test de résistance à la carie commune

Objectifs :

1. Valider une méthode de PCR en temps réel pour la détection de *Tilletia spp.*
2. Evaluation de la résistance variétale au champ au stade adulte des variétés AB
3. Comparer le test labo au stade précoce et le test au champ au stade adulte



Inoculation et semis en conditions contrôlées
(Virulences prédominantes en Fce)



qPCR

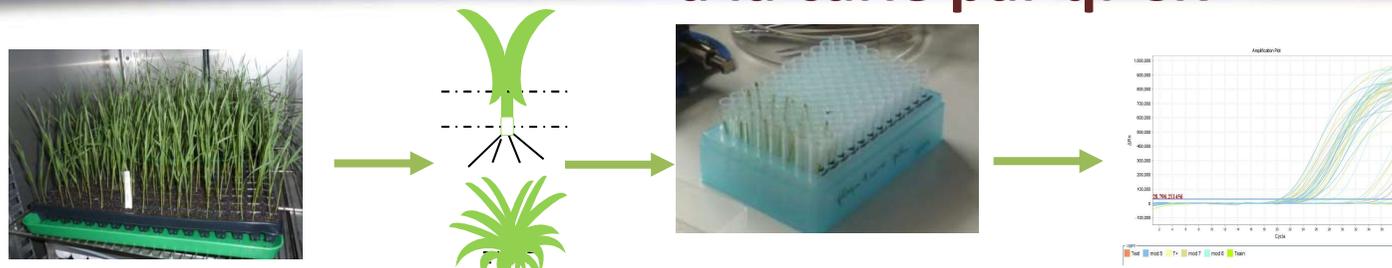


Repiquage des plantules contaminées



Notation épis cariés

Mise au point d'un test de résistance précoce à la carie par qPCR



Plantules contaminées

Stades de prélèvement

Extraction ADN

qPCR-SYBR Green

Variétés témoins

- Inoculation des semences avec souche S1
- 4 variétés témoins
- Effectif : 15 plantules /variété x 2 rep
- Organe cible pour PCR : tige

Facteurs testés :

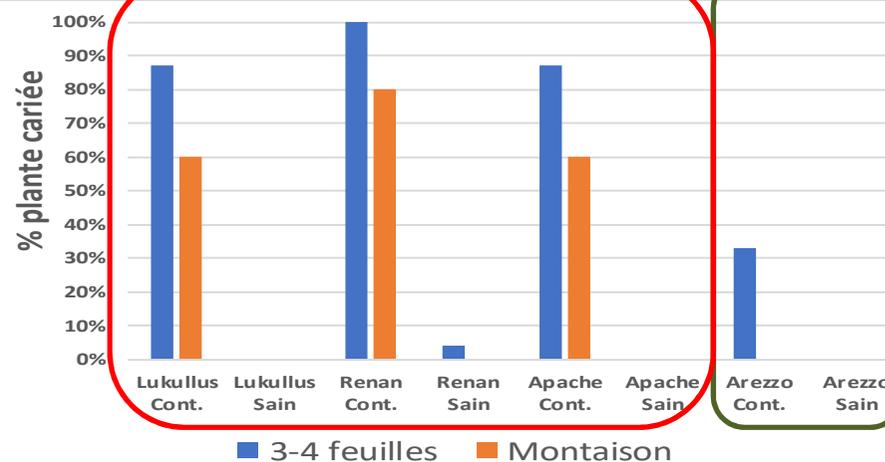
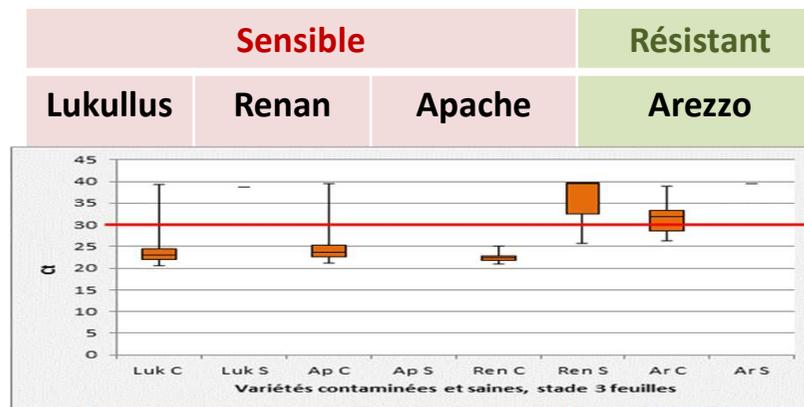
- Stades prélèvement : 2-3 feuilles & montaison
- Concentrations : $c= 10^3$ & 10^4 spores/Semence

Résultats:

- ✓ **Stade 2-3 feuilles**
- ✓ **$c=10^4$ spores/semence**
- ✓ **Choix des témoins S et R**
- ✓ **Seuil Ct : Cycle threshold**

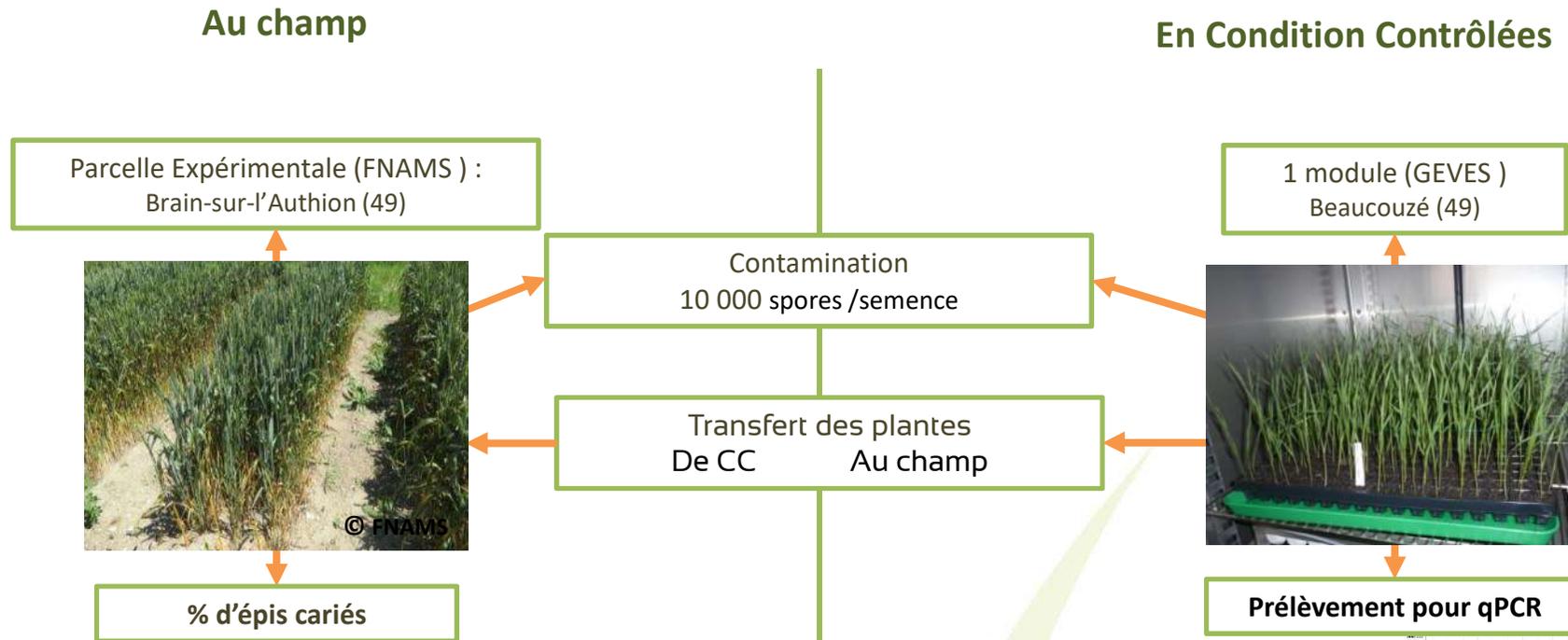
Méthode permet de distinguer

Plantules saines vs infectées Variétés Sensibles vs résistantes

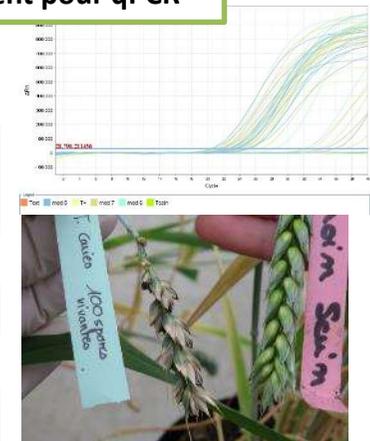


Cont : variétés infectés / S : variétés saines

Evaluation de la résistance des témoins : comparaison champ stade adulte vs labo stade précoce



	Stade Adulte au champ		Stade 3 feuilles par qPCR	
	FNAMS 49 Semis en CC	FREDON 62 Semis directement	FNAMS 49 Semis en CC	FREDON 62 Semis directement
Lukullus	44%	1%	53%	7%
Renan	60%	37%	87%	53%
Apache	40%	28%	Non Testé	Non Testé
Arezzo	1%	1%	20%	20%



Validation de la méthode de détection par qPCR avec seuil de détection Ct fixé selon témoins
Prédiction des futures symptômes (résultats en 7 semaines vs 7 mois)

Evaluation des résistances des variétés AB les plus cultivées, en France, vis-à-vis des virulences prédominantes

- 10 variétés sélectionnées : témoins, variétés les +cultivées en AB, en étude CTPS

Nom de la variété	Niveau de Résistance	Statut	Classement variétés cultivées AB en France 2017 (>100 ha)
Renan	Sensible	Témoins sensible carie et CTPS AB	1
Arezzo	Résistant	Témoin résistant français	
Togano	Inconnu	Témoins CTPS AB	2
Rubisko	Inconnu	Témoins CTPS	3
Tilliko	Résistant	Témoin Résistant autrichien	
Energo	Sensible	Variété AB	4
Lennox	Inconnu	Variété AB cultivée en France	5
Adesso	Inconnu	Variété AB cultivée en France	6
Ghayta	Inconnu	Variété AB cultivée en France	7
Var AB CTPS	Inconnu	Variété en étude année 1 CTPS	

- Souche S1 cumulant les virulences prédominantes Bt-2, Bt-7 et Bt-15
- Inoculation des semences : $c=10^4$ SpS
- Plantules contaminées élevées à la SNES, transférées :
 - au champ dans 2 sites : Arvalis-91 et CA 26 : 3 rep X1 m
Notation : **taux d'épis cariés**
 - en labo : test qPCR : 15 plantules*2 semis au stade 2-3 feuilles

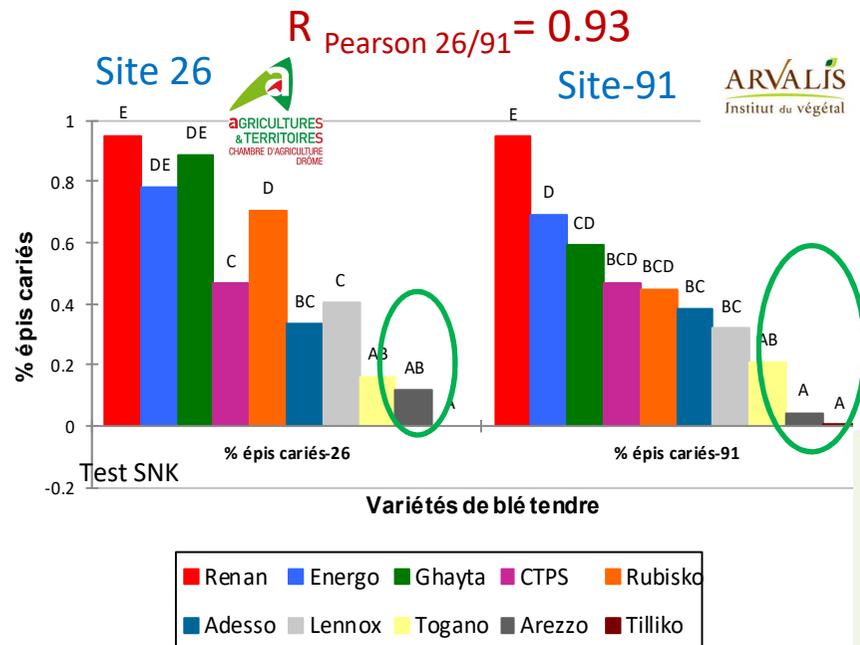


Comparaison du test de résistance : au champ stade adulte et en labo stade 2-3 feuilles (qPCR)

Tests au champ : 2 essais

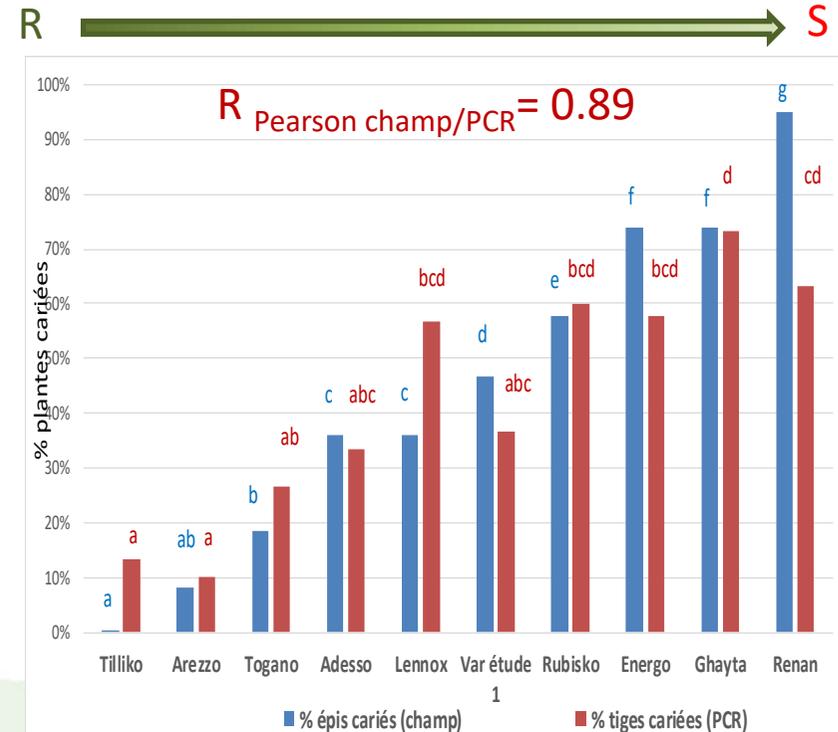
Analyse Type III Sum of Squares (% épis cariés) :

Source	DDL	F	Pr > F
Variété	9	50.104	< 0,0001
rep	2	0.820	0.448
Site	1	6.435	0.015
Variété*Site	9	1.893	0.083



Forte corrélation du classement de la résistance variétale entre les 2 sites

Tests au champ / qPCR



- Forte corrélation entre le test qPCR et le test au champ
- Cohérence du classement de la sensibilité variétale
- Avec qPCR : prédiction des futurs symptômes en 7 semaines vs 7 mois au champ

Conclusions et perspectives

- **Prédominance de *Tilletia caries* en France**
- **3 virulences majeures en France : principalement sur Bt-7 (48%), puis Bt-2 (24%) et Bt-15 (19%)**
Surveillance de l'évolution des virulences sur Bt-1 (10%) et Bt-6 (5%)
- **Développement d'un protocole fiable au champ et en labo**
- **Perspectives : confirmer en 2020 la corrélation de la résistance plantule/adulte sur panel variétés AB + autres sources de résistance**
- **Valorisation de l'outil PCR :**
 - Évaluation de la **résistance variétale à la carie commune**
 - évaluation de l'**efficacité de traitement**
- **Possibilité d'exploiter ce test résistance variétal :**
 - pour l'**inscription des variétés de blé tendre déposées en AB,**
 - **en expérimentation spéciale** pour les **variétés conventionnelles** déposées au CTPS
 - **en offre de service**
- ➡ **Effet booster sur la sélection de variétés résistantes, par cumul et diversification des gènes de résistance efficaces pour une résistance durable**
- ➡ **Diminution des traitements de semences des variétés (plan Ecophyto)**



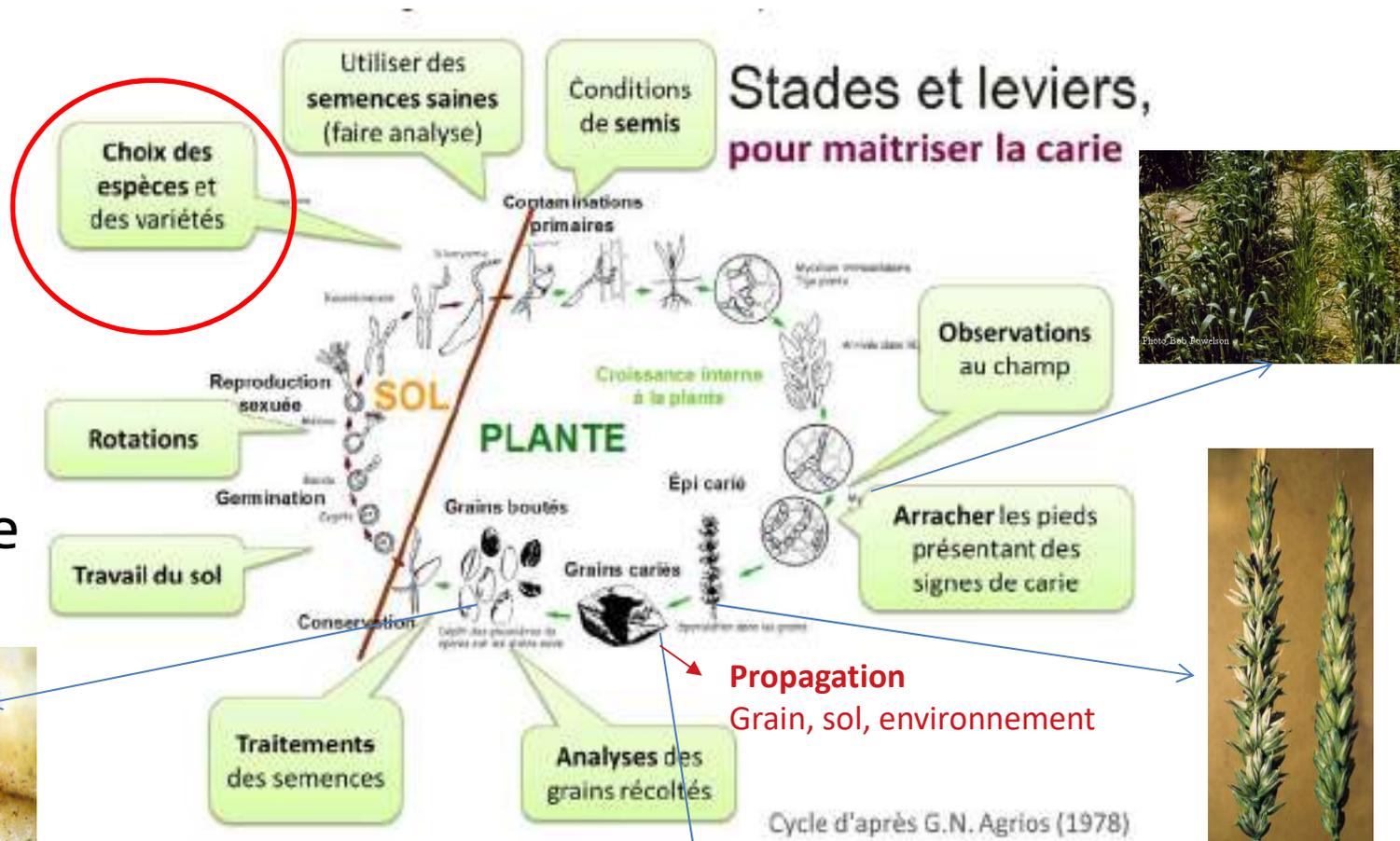
GEVES

Groupe d'Étude et de contrôle
des Variétés Et des Semences

Associer la résistance variétale à d'autres leviers de lutte

Résistance
variétale

Rotation
diversifiée,
avec espèce
- sensible



Surveiller la
qualité de la
récolte

Valorisation

● 6 Communications orales

1. Journée des céréales au GEVES , le 12/12/2017
2. Journée d'information technique, Céréales et Protéagineux, 14 mars 2018, Paris.
3. Stage Vetgro Sup encadré par l'ITAB, dans le cadre du programme européen Liveseed
4. XXth International Workshop on the Smuts and Bunt, du 29 Mai au 1er 01 Juin 2018, à Utah State University, Logan, Utah
5. CIMA Déc 2018
6. Journée d'information technique, Céréales et Protéagineux, 13 mars 2019

● 2 Publications écrites + 1 à venir :

1. CIMA 2018,
2. PNDAR
3. En cours : Innovations agronomique

● 3 posters + 1 à venir

1. Phloème 2018, 24-25 janvier 2018, Paris
2. Eucarpia Céréales 19-21 mars 2018, Clermont Ferrand
3. 5th Conference on Cereal Biotechnology and Breeding & Eucarpia Cereals Section, Budapest, 5-8 Nov 2019, Hungary
4. A venir : Phloème 2019, 29_30 janvier 2020, Paris



GEVES

Groupe d'Étude et de contrôle
des Variétés Et des Semences

Remerciements



Liberté • Égalité • Fraternité

RÉPUBLIQUE FRANÇAISE

MINISTÈRE

DE L'AGRICULTURE,
DE L'AGROALIMENTAIRE
ET DE LA FORÊT

avec la contribution financière du
compte d'affectation spéciale
« Développement agricole et rural »



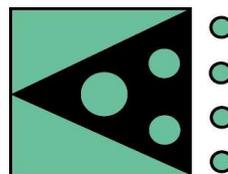
GEVES

Expertise & Performance

- **SNES** : Geoffrey Orgeur,
Lorine Le Dare, Valérie Grimault
- **BioGEVES** : Thomas Baldwin,
Julie Brachet, Clémence Galon,
- **SEV** : Valérie Cadot,
Jean-Philippe Maigniel

Institut du végétal

- Philippe Du Cheyron



FNAMS

- Julie Gombert



la santé des végétaux

- Julien Bruyère
- Sandrine Ostes



AGRICULTURES
& TERRITOIRES
CHAMBRE D'AGRICULTURE
DRÔME

- Jean Champion



l'Institut de l'agriculture
et de l'alimentation biologiques

- Laurence Fontaine
- Stéphanie Klaedtke



© GEVES

MERCI POUR VOTRE ATTENTION