



Lutte génétique contre l'*Aphanomyces* du pois

L'identification de régions génomiques de résistance vis-à-vis de l'oomycète a permis leur introgression dans de nouvelles variétés, favorisant une meilleure gestion du risque.

ANNE MOUSSART⁽¹⁾, CLÉMENT LAVAUD^(2*) ET MARIE-LAURE PILET-NAYEL⁽²⁾

(1) Terre Inovia. (2) Inrae, UMR Igepp (Institut de génétique, environnement et protection des plantes), *détaché de KWS-Momont.

L'aphanomyces, ou pourriture racinaire, est la maladie tellurique la plus nuisible sur pois de printemps. L'agent pathogène, *Aphanomyces euteiches*, est un oomycète qui peut se conserver 10 à 20 ans dans le sol. Lorsque les conditions climatiques sont favorables (printemps doux et pluvieux), il pénètre dans le système racinaire des plantes et s'y multiplie, occasionnant une pourriture des tissus, qui perturbe la fixation symbiotique, la nutrition et, par conséquent, la croissance et le développement des plantes. Si l'attaque est importante, celles-ci jaunissent, se nanifient et des foyers de maladie apparaissent dans la parcelle. La nuisibilité dépend du niveau de contamination de la parcelle, des conditions climatiques, et est d'autant plus importante que la culture est attaquée à un stade jeune. Le pois d'hiver, proche de la floraison lorsque les conditions climatiques sont favorables à l'agent pathogène, échappe partiellement à cette maladie. En revanche les pertes de rendement peuvent atteindre 100% pour le pois de printemps.

Gestion actuelle du risque *Aphanomyces*

Des méthodes culturales préventives

Il n'existe actuellement aucune méthode de lutte opérationnelle mais des solutions



< Symptômes d'*Aphanomyces* : racines saines (à gauche) et malade (à droite).

sont proposées aux agriculteurs pour gérer durablement le risque *Aphanomyces*. Cette gestion du risque se fait sur la base de la connaissance du niveau de potentiel infectieux de la parcelle. Le pois de printemps, très sensible à la maladie, ne doit par exemple pas être cultivé lorsque le potentiel infectieux est supérieur à 1 sur une échelle de 0 (agent pathogène non détecté) à 5 (parcelle fortement contaminée). Au-delà de ce seuil, le risque de perte de rendement est élevé, en particulier si les conditions climatiques sont favorables. La connaissance du potentiel infectieux permet éga-

lement de choisir les autres légumineuses qui peuvent être cultivées sans risque dans la parcelle, que ce soit en culture principale ou en couvert. Il existe en effet une variabilité inter- et intraspécifique de sensibilité à la maladie chez les légumineuses autres que le pois. Jusqu'à présent, seul un test biologique (le test *Aphanomyces*) réalisé à partir d'un échantillon de sol permettait de connaître ce potentiel infectieux. L'outil Eva, récemment mis au point par Terres Inovia et disponible gratuitement en ligne (<https://tinyurl.com/4mrcm7dz>), permet désormais d'évaluer le risque à partir d'un cer-

RÉSUMÉ

♦ **CONTEXTE** - La maladie tellurique liée à l'oomycète *Aphanomyces euteiches* occasionne des pertes de rendement qui peuvent atteindre 100% sur pois de printemps en cas de forte attaque. Il n'existe pas de méthode de lutte opérationnelle.

La connaissance du potentiel infectieux (test biologique ou

outil d'évaluation Eva) permet de choisir le type de pois (ou d'autres légumineuses) qu'il est possible de cultiver dans la parcelle.

♦ **ÉTUDE** - Depuis une vingtaine d'années, des travaux de génétique et sélection sont menés en collaboration étroite entre Inrae UMR Igepp, le Groupe-

ment des sélectionneurs de protéagineux (GSP) et l'institut technique Terres Inovia.

♦ **RÉSULTATS** - Différents projets de recherches (PeaMUST, CasDar Armen, Faso-Peamas Faso-Dora) ont permis des avancées déterminantes : identification des régions génomiques et marqueurs molé-

culaires associés à la résistance partielle, introgression et cumul de ces régions dans des lignées agronomiques, identification de gènes et combinaisons de régions génomiques limitant les pertes de rendement dues à la maladie.

Les retombées de ces travaux sont visibles, avec l'inscription des premières variétés de pois

de printemps améliorées ('Poseidon', 'Kagnotte', 'Karacter'). Leur utilisation nécessite la mise en place de stratégies de gestion durable des résistances.

♦ **MOTS-CLÉS** - *Aphanomyces euteiches*, oomycète, sélection, résistance variétale, gestion du risque.



tain nombre d'informations (département, historique en pois, type de sol, irrigation). L'outil classe la parcelle dans un risque faible (moins de 5 % de risque d'avoir un potentiel infectieux supérieur à 1) ou élevé (60 % de risque d'avoir un potentiel infectieux supérieur à 1), et oriente l'agriculteur dans ses choix afin de préserver le rendement en pois et l'état sanitaire de la parcelle. Le test biologique *Aphanomyces* reste intéressant à utiliser et complémentaire de l'outil Eva puisqu'il permet de connaître précisément le potentiel infectieux de la parcelle. Il est à noter que le calculateur Eva a été développé au format API et qu'il est accessible via la plateforme API-Agro (<https://platform.api-agro.eu>).

Des avancées déterminantes en génétique et sélection

Identification de régions génomiques associées à la résistance

La résistance variétale constitue une piste privilégiée pour préserver les plantes du risque *Aphanomyces*. Depuis une vingtaine d'années, des travaux de génétique et sélection sont en effet menés en collaboration étroite entre Inrae UMR Igepp, le Groupement des sélectionneurs de protéagineux (GSP) et l'institut technique Terres Inovia. Le criblage d'environ 1 700 accessions de *Pisum* effectué dans les années 2000 a permis d'identifier un nombre restreint de sources de résistance partielle à *Aphanomyces* dans la variabilité naturelle étudiée. À partir de ces sources, plusieurs régions du génome contrôlant la résistance au champ, dont l'une à effet majeur et les autres à effets mineurs, ont été identifiées par analyse statistique d'association entre marqueurs (SSR⁽²⁾, SNP⁽³⁾) et phénotypes, dans plusieurs populations biparentales et une collection de lignées de pois ségrégeant pour la résistance. Une accumulation de régions génomiques de résistance a par ailleurs été observée dans les lignées du GSP les plus résistantes. Il a donc été suggéré de cumuler ces régions dans du matériel agronomique pour créer des variétés présentant un niveau de résistance accru et potentiellement plus durable.

Identification des marqueurs moléculaires

Dans cet objectif, des marqueurs moléculaires SNP ont été développés en masse depuis dix ans pour tracer les principales régions du génome associées à la résistance dans les programmes de sélection. L'essor des technologies de séquençage des génomes a permis d'identifier des marqueurs en haute densité sur le génome du pois, qui a été séquencé en 2019 dans le cadre d'un consortium international coordonné par Inrae – UMR Agroécologie. Dans le cadre des projets Faso-Peamas (2016-2021) et Investissement d'avenir PeaMUST (2012-



2



3

▲ Efficacité des résistances pour limiter la nuisibilité : essais au champ (photo 2) et en conditions contrôlées (projet Armen) (photo 3).

2020), ces marqueurs ont été utilisés pour caractériser des panels de ressources génétiques ou des populations de cartographie génétique. Ces données, associées à des données d'évaluation de ces matériels génétiques, ont permis de préciser finement la localisation et les intervalles de confiance des régions génomiques de résistance. Elles ont également permis de les comparer à des régions associées à la résistance à d'autres stress du pois.

Ainsi, des marqueurs étroitement liés aux principales régions génomiques de résistance à *Aphanomyces* ont été identifiés ces dernières années et transférés aux sélectionneurs, permettant parfois de rompre des liaisons génétiques défavorables avec certains gènes non souhaités en sélection des protéagineux (exemple, gène impliqué dans la production d'anthocyanes). Le ou les gènes causaux sous-jacents à la région génomique présentant l'effet le plus fort est/sont en cours d'identification. Dans le cadre du projet PPR-Cultiver et Proté-

ger Autrement Specifics (2021-2027), les mécanismes moléculaires associés à cette région génomique majeure de résistance seront élucidés, afin de mieux pouvoir les exploiter pour améliorer la résistance dans les futures variétés.

Transfert des résistances dans des lignées agronomiques

Exploitant ces marqueurs moléculaires, un programme de rétrocroisements assistés par marqueurs a été mené à Inrae pour tester l'effet de différentes combinaisons de régions génomiques de résistance, une fois transférées dans des lignées de pois agronomiques de types printemps et hiver. Une centaine de lignées d'introgession, comportant zéro, une ou différentes combinaisons de deux ou trois régions génomiques de résistance dans les mêmes fonds génétiques, a été ainsi obtenue. Dans le cadre du projet PeaMUST, ces lignées ont été évaluées pour la résistance à la fois en conditions contrôlées et au champ, sur un réseau multi-local



et pluri-annuel de pépinières infestées sur des sites Inrae et GSP. Les évaluations ont permis de confirmer l'efficacité de plusieurs combinaisons de régions génomiques incluant la région à effet majeur, pour diminuer la sévérité de la maladie. Elles ont montré l'action de plusieurs de ces régions génomiques, individuellement ou en combinaison, sur le retard de l'apparition des symptômes et/ou sur la réduction de la colonisation de la plante par l'agent pathogène.

Dans le cadre du projet Faso-Dora (2019-2022), des méthodologies sont en cours de développement afin d'évaluer l'action des régions génomiques pour limiter la reproduction de l'agent pathogène et l'attraction des spores dans le sol par les exsudats racinaires. D'autres méthodologies sont également développées pour évaluer l'effet de ces régions génomiques sur l'architecture et la vigueur du système racinaire. Une association a en effet été montrée dans certains génotypes entre un niveau accru de résistance et une biomasse accrue du système racinaire, au niveau de la région génomique majeure de résistance identifiée.

Cumul et niveau de résistance

Par ailleurs, dans le cadre du projet Dora, de nouvelles lignées d'introgression combinant jusqu'à cinq régions génomiques de résistance ont été produites par intercroisements de lignées comprenant chacune deux ou trois de ces régions. Leur évaluation pour la résistance en conditions contrôlées a montré que les lignées présentant les niveaux de résistance partielle les plus élevés ne contenaient pas toujours le plus grand nombre de régions génomiques de résistance. Néanmoins, certaines lignées d'introgression combinant quatre régions génomiques de résistance ont montré des niveaux accrus de résistance partielle, constituant ainsi de bons géniteurs pour la sélection.

De moindres pertes de rendement

Une vingtaine de lignées d'introgression porteuses de deux ou trois régions génomiques de résistance ayant montré une réduction de la sévérité de la maladie ont été étudiées pour leur potentiel à limiter les pertes de rendements en conditions fortement contaminées au champ. Ces lignées ont été évaluées pendant trois années (2017-2019) en conditions de semis de printemps au sein de micro-parcelles de rendement fortement contaminées versus saines, sur un réseau de cinq sites d'expérimentation du GSP dans les régions Centre-Val de Loire et Hauts-de-France. Des différences signifi-

catives de rendements ont été observées entre parcelles saines et contaminées, quel que soit le site d'expérimentation, malgré une sévérité de maladie très variable entre les trois années. Les résultats ont montré que les lignées possédant la région génomique de résistance à effet majeur, seule ou en combinaison avec d'autres régions du génome, subissaient le moins de pertes de rendement.

Le comportement d'une sélection de lignées d'introgression comportant une ou deux régions génomiques de résistance et de variétés a été analysé en serre grâce à une nouvelle méthodologie mise au point dans le cadre du projet CasDar Armen (2016-2019). Cette méthodologie permet d'évaluer la nuisibilité de la maladie

en termes d'impact sur la croissance et le développement végétatif et reproducteur des plantes, ainsi que l'efficacité de la résistance et des composantes génétiques les contrôlant pour limiter cette nuisibilité. Les essais mis en place ont permis de révéler des différences de comportements selon les lignées, en lien avec leur contenu en régions génomiques de résistance et leur fond génétique d'introgression. Les génotypes les moins touchés par la maladie étaient les lignées d'introgression porteuses de régions génomiques de résistance. Par ailleurs, les résultats obtenus en serre ont été comparés avec ceux obtenus au champ sur le réseau multi-local de parcelles saines et fortement contaminées du GSP. Une bonne corrélation a été mise en évidence entre les écarts de rendements mesurés en serre et ceux mesurés au champ. Ces écarts de rendement ont été également corrélés au niveau de résistance intrinsèque du matériel végétal, mesuré en enceinte climatique à un stade jeune. Ces résultats suggèrent que les comportements observés des lignées évaluées sur parties aériennes résultent au moins en partie de leur niveau partiel de résistance intrinsèque sur parties racinaires. Ce niveau partiel de résistance reste toutefois insuffisant et doit être encore augmenté en sélection, pour éviter des pertes de rendement importantes en situation de forte pression de maladie.

Premières variétés avec une note de préservation du rendement

L'ensemble des résultats ainsi obtenus depuis vingt ans en France sur la génétique de la résistance à *Aphanomyces* chez le pois ont été transférés aux sélectionneurs du GSP en temps réel. Les outils et ressources développés sont en cours d'utilisation dans les programmes de sélection privée pour

la création de variétés résistantes. Les méthodologies mises au point pour évaluer le potentiel des nouvelles variétés à préserver leur rendement en conditions contaminées sont également disponibles et utilisables dans les processus de sélection, d'inscription et de post-inscription, ce qui présente un intérêt majeur pour évaluer le progrès génétique mais également pour adapter les recommandations d'usage des futures variétés. Ainsi, les nouvelles variétés candidates à l'inscription revendiquant un bon comportement vis-à-vis d'*Aphanomyces* sont évaluées pour leur potentiel à préserver leur rendement au sein d'une expérimentation spéciale du CTPS⁽⁴⁾ sur un réseau multi-local de parcelles contaminées versus saines. Elles peuvent également être évaluées pour leur résistance en conditions contrôlées et leur potentiel à limiter la nuisibilité de la maladie en serre.

Les premières retombées de ces travaux sont désormais visibles puisque le CTPS a attribué en 2020 une note de préservation du rendement à trois variétés de pois de printemps : 'Poseidon' (Agri-obtentions, inscription 2015), 'Kagnotte' (KWS Momont, inscription 2019) et 'Karacter' (KWS Momont, inscription 2020). Ces trois variétés présentent une note de 3 sur une échelle de préservation du rendement de 1 (nulle) à 9 (très bonne), toutes les autres variétés de pois de printemps actuellement cultivées ayant une note de 1.

Préserver la durabilité des résistances

De nombreux contournements de résistances génétiques sont observés chez les plantes, notamment vis-à-vis de pathogènes du sol. La mise en place de stratégies de gestion durable des principales régions génomiques de résistance à *Aphanomyces*, en cours d'intégration dans les schémas de sélection, devient une préoccupation montante et incontournable avec l'inscription des premières variétés améliorées.

Dans cet objectif, Inrae s'intéresse depuis plusieurs années, en collaboration avec Terres Inovia, à la diversité et à l'évolution des populations d'*Aphanomyces euteiches*. La diversité génétique d'une collection de plus de 200 isolats d'*A. euteiches* échantillonnés dans les principaux bassins de production français du pois a été analysée à l'aide de vingt marqueurs SSR. Les résultats ont montré une faible diversité génétique des

(1) Résistance partielle : ne bloque pas mais limite le développement de symptômes de pourriture sur racines.

(2) SSR : Simple Sequence Repeat.

(3) SNP : Single Nucleotide Polymorphism.

(4) CTPS : Comité technique permanent de la sélection.



> Variété 'Karacter' améliorée pour son comportement vis-à-vis de la maladie (à gauche) et variété sensible (à droite).



Photo : A. Moussart - Terres Inovia

populations pathogènes. Néanmoins, des différences d'agressivité sur légumineuses ont été identifiées entre les isolats et ces différences ont été confirmées sur des lignées d'introgession de pois comportant une ou plusieurs régions génomiques de résistance. Les isolats les plus agressifs ont ainsi généré des symptômes de pourriture racinaire sur les lignées de pois comportant la région génomique majeure de résistance, combinée ou non à une ou deux autres régions, suggérant un risque potentiel d'érosion de l'effet de cette région génomique. En revanche, ces isolats agressifs ont généré peu de symptômes sur des lignées de pois cumulant une diversité de régions génomiques de résistance, dont la région majeure, suggérant l'efficacité de ce cumul pour préserver la durabilité de la résistance.

Par ailleurs, l'évolution du potentiel infectieux du sol et des populations de l'agent pathogène a été étudiée dans un essai expérimental au champ mené dans le cadre du projet régional Feader PEI-Agri/Région Bretagne Prograilive (2016-2020). Le taux d'isolats agressifs présents dans le sol, ainsi que le potentiel infectieux du sol, ont augmenté modérément après quatre années successives de culture d'une

lignée partiellement résistante porteuse de trois régions génomiques de résistance. En revanche, le potentiel infectieux du sol n'a que faiblement augmenté à l'issue de quatre années de monoculture d'une lignée de pois cumulant diverses régions génomiques de résistance, ou de cultures alternées de lignées d'introgessions de pois partiellement

résistantes et d'une féverole très résistante. L'essai sera prolongé pendant trois années supplémentaires dans le cadre du projet Specifics, afin de confirmer ces résultats. D'ores et déjà, ces résultats encouragent le cumul de régions génomiques de résistance dans les futures variétés et l'alternance des cultures pois-féverole dans les rotations, pour préserver la durabilité de la résistance partielle du pois à *Aphanomyces*.

La génétique intégrée dans la gestion du risque

Ces avancées majeures vont permettre d'améliorer de façon significative la gestion du risque par l'intégration de la composante génétique. Le gain apporté par les premières variétés de pois de printemps améliorées

reste pour le moment insuffisant pour qu'elles soient cultivées dans des parcelles moyennement à fortement contaminées. En revanche, ces variétés présentent un réel intérêt pour sécuriser les rendements dans les parcelles faiblement contaminées (PI < 1) en cas de conditions climatiques particulièrement favorables à la maladie et sont désormais conseillées dans ces parcelles.

La poursuite des travaux de sélection et en particulier

du cumul de régions génomiques impliquées dans la résistance laisse penser que les futures variétés permettront à moyen terme de décaler le seuil de risque et ainsi de rendre possible la culture du pois de printemps dans un plus grand nombre de parcelles, sans pénaliser le rendement. Le développement de nouveaux schémas de sélection, exploitant

la génomique et une diversité de sources de résistance, pour le cumul de régions génomiques à effets mineurs additionnellement à celle à effet majeur, devrait permettre de faciliter et d'accélérer les progrès vers la création de variétés présentant des niveaux élevés de résistance. Ainsi, en plus de préserver le rendement, l'amélioration variétale devrait permettre de limiter la multiplication du pathogène et donc préserver l'état sanitaire des parcelles. Les outils développés par Terres Inovia, en particulier Eva pour la gestion du risque *Aphanomyces* et MyVar⁽⁵⁾ pour le choix variétal, intègrent en temps réel ce progrès génétique afin d'optimiser le potentiel des variétés dans un souci de durabilité des systèmes. □

POUR EN SAVOIR PLUS

CONTACTS : marie-laure.pilet-nayel@inrae.fr
a.moussart@terresinovia.fr

(5) Disponible gratuitement, MyVar permet d'accéder rapidement à toutes les références de Terres Inovia sur les variétés de pois et d'optimiser son choix variétal (<https://www.terresinovia.fr/p/myvar-outil-varietes>).

REMERCIEMENTS Les auteurs remercient les personnes ayant contribué aux travaux cités dans l'article, en particulier : Aurore Desgroux, Isabelle Glory, Stéphane Jumel, Théo Leprevost, Gwenola Le Roy, Angélique Lesne, Henri Miteul, Anne Quillever-Hamard, Jean-Philippe Rivière, Pierrick Vetel, (Inrae Igepp - Institut de génétique, environnement et protection des plantes), Christophe Le May (L'Institut Agro-Agrocampus-Ouest, UMR Igepp), Virginie Bourion (Inrae, UMR Agroécologie), le GSP : Groupement des sélectionneurs de protéagineux, Coralie Brier et Marie-Noëlle Even (Terres Inovia).

Les futures variétés devraient à moyen terme de décaler le seuil de risque.