

# GÉRER LA DIVERSITÉ DES RÉSISTANCES VARIÉTALES DU POMMIER PAR L'ANALYSE GÉNÉTIQUE DE LA DIVERSITÉ DES POPULATIONS DE TAVELURE

Pierre Gladieux, Valérie Caffier, François Laurens, Bruno le Cam (INRA, Angers)  
Xiu-Guo Zang ( Université d'agriculture de Shandong, Taian, Chine), Mohamed Sbaghi (INRA  
Kenitra, Maroc), Rosa-Maria Valdebenito-Sanhueza ( EMBRAPA, Bento Gonçalves, Brésil),  
Isabel Roldan-Ruiz ( ILVO, Melle, Belgique)

La tavelure du pommier, causée par le champignon ascomycète *Venturia inaequalis*, est présente dans pratiquement toutes les régions de production de pommes, où elle constitue la maladie la plus dommageable. Au cours de ma thèse, j'ai établi une collection de plusieurs milliers d'échantillons de tavelure prélevés sur les pommiers sauvages d'Europe et d'Asie centrale, ainsi que sur des variétés cultivées du monde entier. Par l'analyse d'empreintes génétiques réalisées sur ces échantillons, j'ai obtenu des informations sur l'origine, les voies de dissémination et la diversité des populations de tavelure. Ces résultats nous permettent d'identifier de possibles réservoirs de souches néfastes, et ils apportent des connaissances indispensables pour favoriser le maintien dans le temps de l'efficacité de la résistance à la tavelure des nouvelles variétés de pommiers. Ce travail contribue ainsi à éviter que les sources de résistances disponibles dans les rares populations de pommiers sauvages accessibles aux sélectionneurs ne se trouvent rapidement épuisées.

Le pommier (*Malus x domestica*) est l'espèce fruitière la plus importante des régions tempérées, de par le volume de la production de pommes et la place qu'elle occupe dans le cœur des peuples qui le cultivent. Le pommier est, avec le rosier, une des rares plantes dont l'introduction dans de nouvelles régions s'est toujours accompagnée d'influences remarquables sur la culture et le folklore des populations humaines autochtones. Les noms de villages, de résidences, la poésie, les expressions du langage, la musique, la mythologie... portent autant de marques de la position particulière de cette plante et de son fruit dans la culture occidentale. Ce succès, constant depuis des millénaires, tient à la richesse de formes, de couleurs, d'odeurs, et de saveurs de la pomme, mais aussi à l'adaptation particulière du pommier au climat des régions tempérées. Cette diversité s'est maintenue au cours du temps grâce au travail de sélection et de croisement opéré par l'être humain. Aujourd'hui conduite par des scientifiques, la domestication du pommier a produit plusieurs milliers de variétés dans le monde en moins de 10000 ans d'histoire. C'est la redécouverte des lois de Mendel, au début du siècle dernier qui a permis la sélection de la plupart des cultivars productifs aujourd'hui cultivés à l'échelle industrielle dans les régions tempérées du monde entier.

L'existence d'une variation naturelle dans la résistance aux maladies est l'un des premiers traits à héritabilité mendélienne à avoir été décrit chez les plantes. Certaines plantes, populations ou espèces possèdent en effet des gènes de résistance, dits « majeurs », qui constituent une sorte de système immunitaire face à l'attaque par un pathogène donné. Ces gènes leur permettent de détecter le microorganisme pathogène et d'arrêter très rapidement sa progression en mettant en place des réactions de défense comme la production de substances antimicrobiennes ou la nécrose des tissus entourant les points d'infection. Chez le pommier, une vingtaine de gènes de résistance ont été identifiés à ce jour, dont une dizaine de gènes conférant une forte résistance à la tavelure (Figure 1). Cette maladie, causée par le champignon filamenteux *Venturia inaequalis*, est présente dans pratiquement toutes les régions où le pommier est cultivé, où elle est la plus dommageable pour la production. Dans les régions les plus humides, le contrôle de la tavelure nécessite jusqu'à 25 applications de fongicides par an, avec toutes les conséquences négatives engendrées, en termes de coût pour l'exploitant ou de risque pour la santé humaine et les écosystèmes. Pourtant, la production mondiale de pommes repose actuellement sur un nombre relativement restreint de variétés qui présentent presque toutes le même défaut notable : elles sont sensibles à la tavelure. L'obtention de variétés durablement efficaces à la tavelure est donc un enjeu crucial, tant du point de vue financier qu'environnemental.

Une première limite à l'obtention de variétés résistantes se situe dans la qualité agronomique des sources de résistance. La plupart des caractères de résistances majeurs ont été identifiés dans des espèces sauvages qui produisent de petits fruits de faible qualité organoleptique (voire non comestible). Le transfert de ces caractères par croisements classiques est aussi limité par la durée de la phase juvénile du pommier, l'auto-incompatibilité reproductive et l'impossibilité de reproduire exactement l'état hétérozygote de la variété dont on veut améliorer la résistance. Ces contraintes peuvent être contournées en utilisant les techniques de génie biologique, mais la culture de pommiers transgéniques ne semble pas être, pour l'instant et à tort ou à raison, une alternative possible en Europe occidentale.

Qu'ils aient été obtenus par croisement classique ou par transgénèse, il n'en reste pas moins que les nouvelles variétés doivent encore résister au crible impitoyable que représentent les populations de tavelure installées dans le paysage depuis des siècles. C'est en effet l'émergence de souches virulentes de tavelure qui est la cause fondamentale de la perte d'efficacité des variétés résistantes : le champignon peut évoluer génétiquement et s'adapter à la résistance de sa plante hôte. En fait, certaines souches peuvent porter des mutations génétiques qui leur permettent d'éviter les systèmes de défense des pommiers résistants (de la même manière que les pathogènes humains échappent au système immunitaire par des mutations dans leurs parties antigéniques). Ces mutations possèdent souvent de lourds effets collatéraux pour le pathogène, ce qui fait que ces souches ne sont généralement pas présentes dans les vergers avant la plantation des variétés résistantes ou alors à des fréquences trop faibles pour être détectées. Même si elle est pénalisée, par exemple dans sa capacité à se reproduire végétativement ou sexuellement, la souche de tavelure mutante se retrouve seule, sans concurrence, sur une variété que les autres populations de tavelure sont incapables d'infecter. C'est ce phénomène qui peut conduire à l'émergence de souches virulentes, lesquelles peuvent à leur tour atteindre de nouveaux vergers et conduire au contournement rapide de la résistance de la plante sur de grandes surfaces, réduisant à néant l'efficacité du gène de résistance utilisé.

Les contournements de résistance sont bien documentés chez des cultures annuelles intensives comme le blé dur ou l'orge. Depuis longtemps, les pathogènes contraignent les sélectionneurs à des cycles répétés de remplacements de variétés, nécessitant l'introgession régulière de nouvelles résistances. Ces contournements en série privent la production agricole d'une approche élégante qui permettrait de réduire très sensiblement le recours aux traitements. De manière plus inquiétante, ils font poindre le risque, à moyen terme, d'un épuisement progressif des sources de résistances disponibles pour l'amélioration des plantes cultivées, car l'éradication des souches contournant une résistance est beaucoup trop coûteuse, voire tout simplement impossible. Tout cela a progressivement amené les sélectionneurs à adopter une approche plus systémique dont le principe est d'utiliser les connaissances apportées par les sciences de l'écologie et de l'évolution pour maîtriser l'évolution des populations de tavelure (on pourrait dire « domestiquer ») et pouvoir ainsi bénéficier durablement de la diversité des sources de résistances chez le pommier.

Dans ce contexte, Bruno Le Cam, chercheur à l'INRA d'Angers a initié un programme de recherche visant à

comprendre comment les populations de tavelure évoluent face aux résistances introduites dans les variétés. L'enjeu est d'obtenir des connaissances qui pourront être utilisées pour toutes les grandes cultures, mais avec un focus particulier sur le pommier, qui présente, avec le poirier et d'autres rosacées, une longue tradition de création variétale dans l'Anjou. Ce programme de recherche, développé avec Valérie Caffier, s'inscrit plus largement dans les activités menées par des chercheurs du centre INRA d'Angers, des Unités mixtes de recherche (UMR), Pavé et GenHort, qui visent à développer de nouvelles variétés de pomme, pour accompagner la variété Ariane (F. Laurens, CE Durel, Y Lespinasse), et à mettre en place des systèmes de gestion du déploiement spatial des nouvelles variétés visant à rallonger leur efficacité dans le temps et l'espace (CE Durel, B Le Cam, N Sapoukhina). Atteindre un tel degré de maîtrise nécessite notamment de connaître les populations de tavelure susceptibles d'être des « réservoirs » de souches capables de devenir émergentes, et de développer des modèles informatiques permettant d'aider les sélectionneurs et les producteurs dans leurs choix (Quel type de résistance sera difficile à contourner pour le pathogène ? Quels caractères de résistances combiner dans une même variété ? Comment organiser et déployer ces variétés du verger au bassin de production ?...). Ces modèles doivent être alimentés par une connaissance approfondie de la structure génétique des populations de tavelure. Le niveau de diversité génétique (existe-t-il des « réservoirs » de diversité ?) et le mode de reproduction (Sont-elles partout capables de se brasser par reproduction sexuée ?), l'origine et les voies de propagation dans le monde sont des informations cruciales pour pouvoir prédire le potentiel de nuisibilité des populations du pathogène.

C'est dans ce cadre-là que s'inscrit mon travail de thèse, réalisé dans l'équipe de Bruno Le Cam, et financé par le Ministère de l'Enseignement supérieur et de la Recherche. Une partie de mon travail avait pour objectif de reconstruire l'histoire biogéographique et la biologie des populations de tavelure du monde entier installées sur les variétés cultivées, et sur deux espèces de pommiers sauvages constituant des ressources génétiques de choix pour l'amélioration du pommier cultivé (*Malus sieversii* et *Malus sylvestris*).

Le pommier sauvage d'Asie centrale, *Malus sieversii*, possède naturellement une très grande diversité de formes, de goûts, de couleurs de fruits et d'adaptations pédo-climatiques. Il ressemble beaucoup à *Malus x domestica*, et il est à ce titre considéré comme son principal ancêtre (Figure 2). *Malus sieversii* existe sous la forme de forêts, parfois en association avec d'autres fruitiers, dans une zone qui s'étend des bords Iraniens de la Caspienne aux montagnes du Tian Shan, qui se

partagent entre la province Chinoise du Xinjiang Ouïgour et le Kazakhstan. Sa domestication a débuté il y a plus de 10000 ans en Asie centrale et elle a été progressivement poursuivie le long de vieilles routes commerciales aujourd'hui nommées Routes de la Soie, avant qu'il n'atteigne l'Europe, sous la forme du pommier cultivé que nous connaissons aujourd'hui. Le pommier cultivé s'est alors retrouvé en contact avec *Malus sylvestris*, le pommier sauvage Européen (Figure 3). *Malus sylvestris* aurait ainsi pu contribuer à la diversité du pommier domestique, bien que son apport ait certainement été mineur relativement à son cousin d'Asie centrale. *Malus sylvestris* est une espèce solitaire, héliophile, qui produit de petites pommes amères difficilement comestibles (sauf pour les peuples Européens de la préhistoire qui l'appréciaient sous forme de cidre). *Malus sieversii* comme *Malus sylvestris* pourraient constituer une ressource utile pour l'amélioration des variétés cultivées et plusieurs collectes de ressources génétiques ont d'ailleurs été entreprises dans cet objectif notamment par des équipes Américaines et plus récemment par l'UMR GenHort d'Angers. En particulier, *Malus sieversii* présente l'avantage d'être génétiquement très proche du pommier domestique, ce qui peut limiter les problèmes de perte de qualité agronomique habituellement rencontrés lors de l'utilisation de variétés sauvages pour l'amélioration de plantes cultivées.

Au cours de ma thèse, nous avons établi une collection de plus de deux mille souches de *V. inaequalis* représentant 28 vergers provenant de 12 pays des 5 continents (Chine, Iran, Azerbaïdjan, Suède, France, Espagne, Maroc, USA, Canada, Brésil, Nouvelle-Zélande, Afrique du Sud) pour les pommiers cultivés, et 8 forêts pour les pommiers sauvages (France pour *M. sylvestris*, Kazakhstan et Xinjiang Ouïgour pour *M. sieversii*). Les échantillons de tavelure ont été collectés dans le cadre d'une collaboration scientifique internationale pilotée depuis Angers, ainsi que grâce à l'aimable participation de collègues du monde entier et d'agents de l'ONF. Une fois collectées, les souches ont été isolées, cultivées sur milieu nutritif, caractérisées avec un système d'empreintes génétiques, puis conservées dans une mycothèque. Les données obtenues ont été soumises à des analyses statistiques pour évaluer la validité de modèles d'évolution génétique des populations, et en dériver des paramètres qui nous informent sur la biologie et l'histoire des populations.

Nous avons ainsi montré que *Venturia inaequalis* est originaire d'Asie centrale, comme *Malus sieversii* avec lequel il aurait co-évolué pendant des millénaires. La maladie aurait ensuite été massivement introduite en Europe par les échanges le long des Routes de la Soie, où elle se serait installée à la fois sur le pommier sauvage *Malus sylvestris* et les variétés cultivées. Les introduc-

tions auraient ensuite été moins fréquentes dans les autres continents, où le pommier a été importé plus récemment lors de la colonisation et des Grandes Découvertes. Ces conclusions dérivent de l'analyse de la variation génétique des populations : les estimations montrent que les populations d'Asie centrale, et dans une moindre mesure d'Europe, sont celles qui présentent les plus forts niveaux de diversité génétique, alors que la variation détectée dans le reste du monde ne représente qu'une fraction de celle qui existe dans ces populations sources (Figure 4).

En dépit de ces différences régionales, la diversité est globalement forte dans les populations de *Venturia inaequalis*, lorsque l'on compare à d'autres champignons phytopathogènes. Cette forte diversité est d'autant plus problématique qu'elle est combinée à de forts niveaux de brassage génétique par reproduction sexuée, et à de forts flux migratoires à l'intérieur des régions de production. Collectivement, ces facteurs confèrent à *Venturia inaequalis* un fort potentiel d'adaptation, et font poindre le risque d'un contournement rapide des nouvelles variétés résistantes. Parmi les mesures qui peuvent être efficaces pour réduire le niveau de diversité et de brassage des populations de tavelure, on peut citer la destruction de la litière foliaire hivernale. C'est en effet sur les feuilles mortes que le champignon se conserve l'hiver et réalise sa phase de reproduction sexuée hivernale, et ces feuilles contaminées peuvent aussi être transportées par le vent d'un verger à l'autre.

Les populations de tavelure présentes sur *Malus sieversii* et *Malus sylvestris* ne constituent pas un véritable danger pour la survie de ces populations sauvages; la tavelure n'est généralement mortelle que pour les individus très affaiblis. En revanche, nos données génétiques montrent d'importants phénomènes de migration entre les populations pathogènes des pommiers sauvages et cultivés, traduisant la proximité génétique et spatiale des plantes hôtes correspondantes. Nous avons en effet observé lors de nos campagnes d'échantillonnage que des vergers étaient plantés à quelques kilomètres des populations de pommiers sauvages. L'existence de ces phénomènes migratoires fait des pommiers sauvages des réservoirs d'inoculum qui devront absolument être pris en compte dans les stratégies régionales de contrôle de la tavelure et de déploiement des nouvelles variétés résistantes. Étant donné qu'il n'est raisonnablement pas possible de traiter chimiquement les pommiers sauvages pour en éradiquer la tavelure, une solution prudente pour protéger les variétés cultivées de ces réservoirs d'inoculum serait d'éviter d'installer des vergers à proximité des forêts hébergeant des pommiers sauvages.

En particulier, du fait de leur caractère ancestral et de leur plus long temps d'évolution, les populations de tavelure présentes sur *Malus sieversii* constituent une menace pour la production. Ces populations ont évolué pendant des millénaires avec les pommiers sauvages, et elles sont ainsi susceptibles d'avoir développé des mécanismes efficaces pour les infecter. En particulier, des souches capables de contourner les gènes de résistance existant chez *Malus sieversii* sont susceptibles d'être déjà présentes en Asie Centrale. Il est donc impératif d'empêcher l'introduction de souches de tavelure d'Asie centrale dans le reste du monde, si l'on veut utiliser *Malus sieversii* comme une source d'amélioration de la résistance des pommiers cultivés.

Pourtant, paradoxalement, ces souches constituent aussi une ressource aux nombreuses applications. La base de données d'empreintes génétiques et la mycothèque que nous avons constituées pourront par exemple servir à identifier les souches les plus dangereuses et empêcher leur propagation. Elles pourront aussi être utilisées par les sélectionneurs pour choisir les souches les plus représentatives et les plus pathogènes, et ainsi permettre un dépistage efficace de la résistance de jeunes pommiers issus de plans de croisements. Les pommiers capables de résister à ces souches auront ensuite plus de chance d'être résistants à l'inoculum local, dont la diversité génétique n'est qu'une fraction de celle qui existe en Asie centrale. Un travail de thèse sur ce sujet a d'ailleurs débuté récemment à l'INRA d'Angers.

En conclusion, ce travail constitue la première étude de large ampleur sur un pathogène de plantes pérennes (les seules études comparant populations des compartiments sauvages et cultivés déjà publiées jusqu'alors ont porté sur la septoriose du blé, le mildiou de la pomme de terre et le charbon du maïs). Au-delà de ces applications pour la protection des pommiers, cette thèse a aussi permis d'établir des données de référence sur un pathogène invasif qui pourront ensuite être utilisées, lorsque le corpus de connaissance deviendra suffisant, pour développer des modèles qui permettront d'assister les instances phytosanitaires internationales en quantifiant le risque qu'un pathogène donné s'installe et devienne dommageable en dehors de la région où il était circonscrit jusqu'alors.

En tout cela, mon travail de thèse s'inscrit pleinement dans le cadre de la gestion de la biodiversité végétale. Seule une connaissance approfondie de l'écologie et de l'évolution des populations de pathogènes permettra de protéger les ressources génétiques utiles à l'amélioration des plantes cultivées, dans un contexte d'incertitude quant aux grands changements bioclimatiques et à la conservation des espèces sauvages dans leur habitat naturel. L'obtention d'une nouvelle variété pouvant prendre plus de 40 ans pour des espèces pérennes comme le

pommier, l'enjeu ici est bien d'éviter que des années de travail de sélection ne se trouvent ruinées par l'émergence de souches fortement pathogènes, et plus généralement de préserver les rares ressources génétiques dont nous disposons pour améliorer la résistance des plantes cultivées aux pathogènes.

#### Références :

- Kellerhals M., Angstl J., Pfammatter W., Rapillard Ch., Weibel F.** 2004. Portrait des variétés de pommes résistantes à la tavelure. Revue suisse Vitic. Arboric. Hortic. Vol. 36 (1): 29-36.
- Juniper B.E., Mabblerley D.J.** 2006. The Story of the Apple. Timber Press.
- Gladieux P.** Biogéographie et Biologie des Populations de *Venturia inaequalis*, Champignon Invasif Responsable de la Tavelure du Pommier. Thèse de Doctorat, Université d'Angers.

Gérer la biodiversité végétale au jardin  
10<sup>e</sup> colloque scientifique de la SNHF

30 mai 2008