

# Projet BRASSIDEL

**Criblage d'une collection de brassicacées sauvages et cultivées afin d'identifier des sources de résistance à la mouche du chou Delia radicum pour les variétés de brassicacées légumières**

*Mai 2017-Avril 2020*

*Chef de projet* : Anne Marie CORTESERO

**UMR IGEPP - Rennes**

*Réponse à l'appel à projets 2016 CASDAR « Semences et sélection végétale »  
axe I – Caractérisation des ressources génétiques en vue de leur exploitation pour  
de nouveaux usages.*



# Objectifs

- ✓ Identifier et mieux exploiter le **potentiel du matériel végétal** comme levier agronomique pour la **protection des cultures contre les insectes**
- ✓ Explorer ce potentiel chez les **brassicacées** afin d'identifier des sources de résistance contre un ravageur de première importance en cultures légumières : la **mouche du chou**
- ✓ Identifier des **ressources génétiques résistantes** et/ou des **biomarqueurs** pour cribler du matériel végétal

# Le ravageur cible



La mouche du chou, *Delia radicum*

# Le ravageur cible



**Les femelles pondent au collet des plantes**



**Les larves creusent des galeries dans les racines et s'y développent**



**La nymphose a lieu dans le sol**

# Le ravageur cible



**Exemples de dégâts provoqués par la mouche du chou**

# Le ravageur cible



**Des pertes qui peuvent être totales en l'absence de traitement**

# Résistance à la mouche du chou : quels leviers ?

Résistance = fct(colonisation + consommation)



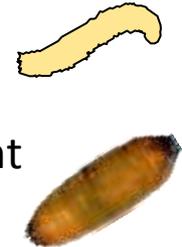
## COLONISATION

Attraction  
Répulsion  
Ponte



## CONSOMMATION

Nutrition  
Développement



# Résistance à la mouche du chou : quels leviers ?

Résistance = fct(colonisation + consommation)



## COLONISATION

Attraction  
Répulsion  
Ponte

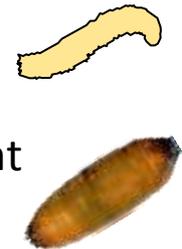
**Antixénose**

*Travaillé dans d'autres projets  
(e.g. FlyIPM)*



## CONSOMMATION

Nutrition  
Développement



**Antibiose**

*Des travaux antérieurs  
prometteurs*

# Résistance à la mouche du chou : quels leviers ?

## Antibiose

**Résistance** par antibiose mise en évidence chez :

*Brassica fruticulosa*,

*Brassica incana*,

*Brassica villosa*,

*Brassica spinescens*

*Sinapis alba*



Avec parfois de **grandes variations** entre accessions chez ces espèces

Ellis et al 1999, Jyoti et al 2001, Felk et al 2005, Shuhang et al 2016

**Evaluer cette antibiose chez un grand nombre d'accessions sauvages et cultivées et identifier les traits métaboliques qui l'expliquent**

## **Étapes = actions**

1. Définition du protocole expérimental
2. Screening au champ
3. Recherche de biomarqueurs
4. Validation au champ
5. Coordination et COPIL

# ACTION 1 : Définition du protocole expérimental

## IGEPP

### **Objectif :**

Déterminer le protocole expérimental à mettre en œuvre dans les actions suivantes

Nombre d'œufs

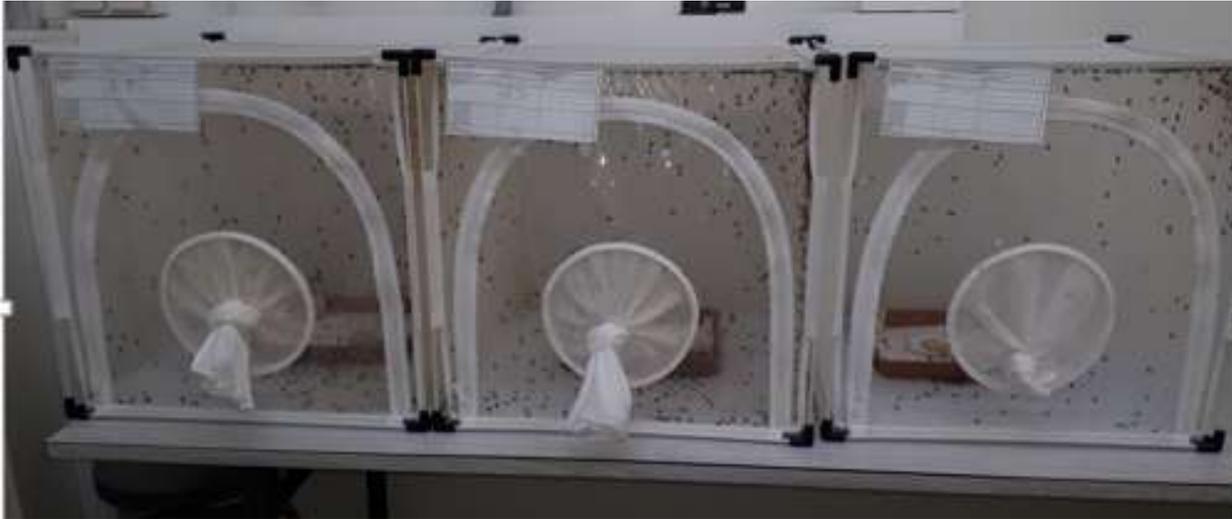
Méthode d'inoculation

Nombre de plantes

Traits des plantes à caractériser

Périodes de caractérisation

# ACTION 1 : Définition du protocole expérimental

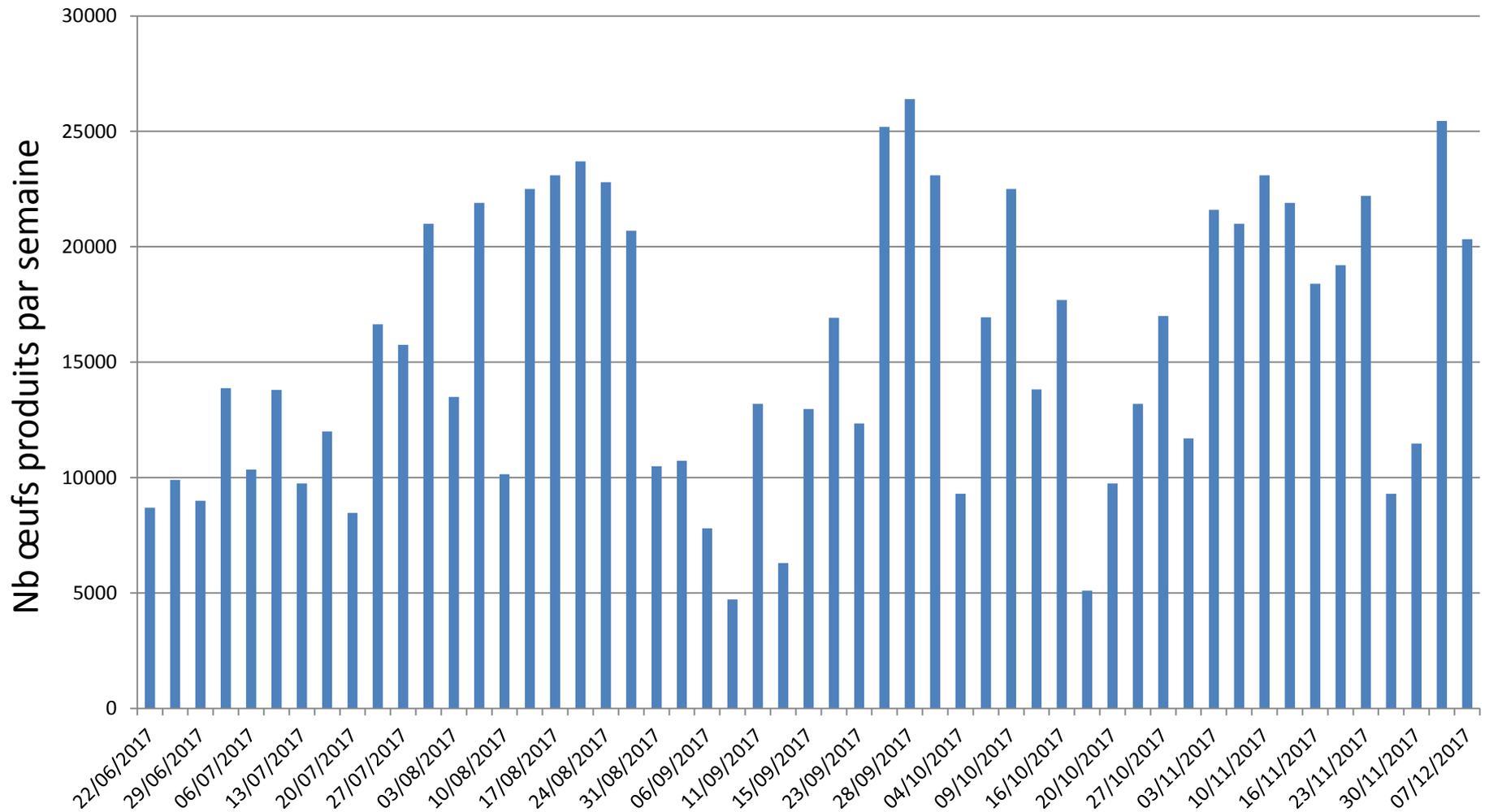


Mise en place d'une usine à mouches



Et à œufs!

# ACTION 1 : Définition du protocole expérimental



Production hebdomadaire d'œufs avant et pendant la période du premier screening

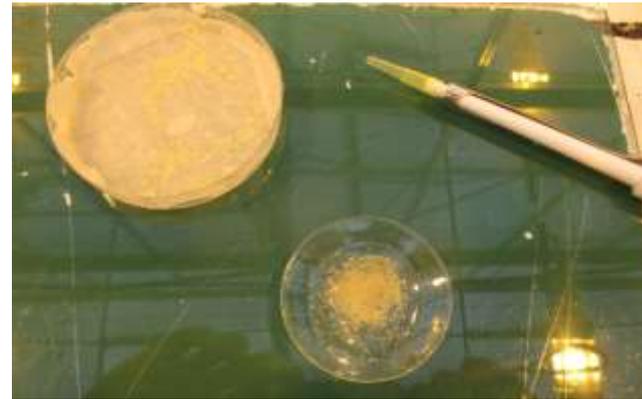
# ACTION 1 : Définition du protocole expérimental

❶ Plantes produites par les partenaires (serre ou tunnel)

Stade 5-6 feuilles



❷ Infestation manuelle  
20 œufs par plante



❸ Plantes transplantées et placées en serre, tunnel ou plein champ  
(Protection des infestations naturelles par des filets)

❹ Evaluation 3 et 5 semaines après infestation

# ACTION 1 : Définition du protocole expérimental

Espèce	Variété	Nb accessions
<i>B. oleracea</i> (15)	Parthénon	
	Sauvages	9
	Cultivés anciens	5
<i>B. macrocarpa</i>		2
<i>B. nigra</i>		2
<i>B. fruticulosa</i>		7
<i>B. villosa</i>		2
<i>B. juncea</i>		2
<i>S. alba</i>		4
<i>C. sativa</i>		3

**15 plantes par accession**

10 infestées

5 saines

**2 répétitions par partenaires**

(1 semaine d'intervalle)

Chaque accession :

testée par 2 à 10 partenaires

Notation des parties aériennes et racinaires

Echelle de 1 (aucun dégât) à 4 (dégâts irréversibles/plante morte)

## ACTION 2 : Screening « au champ »

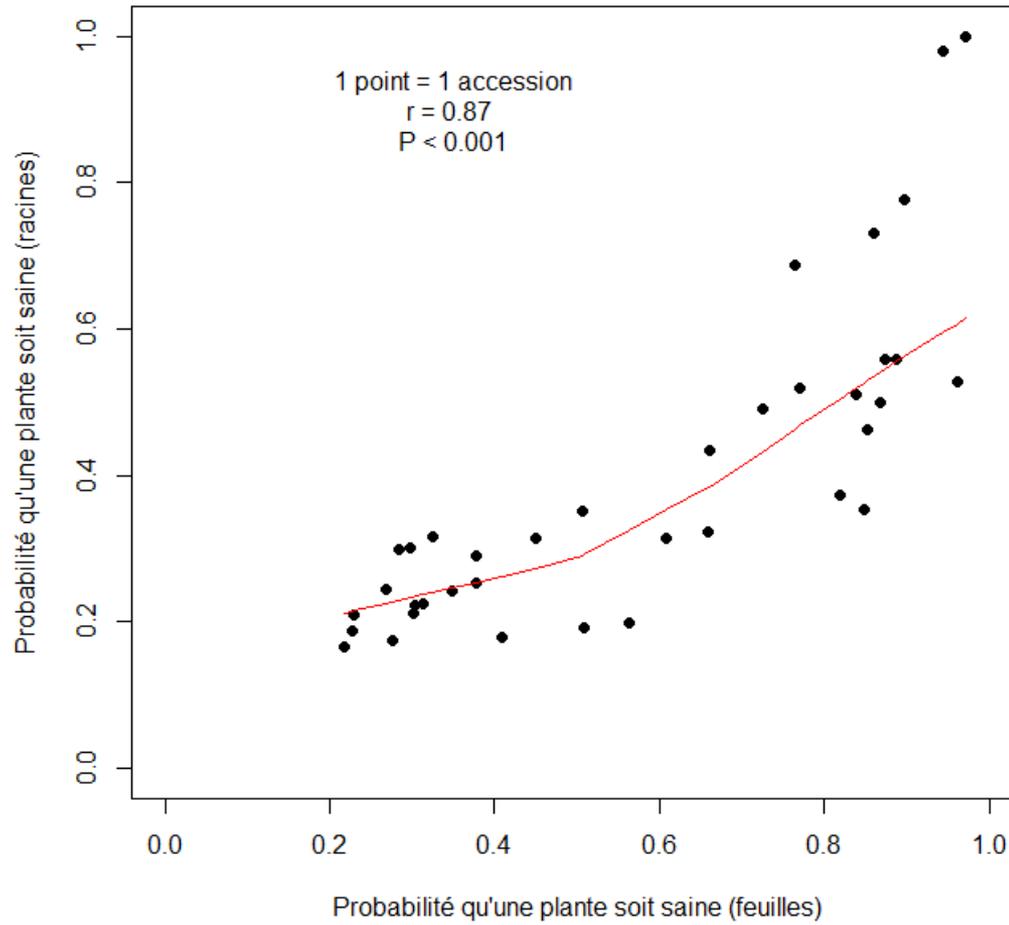
10 partenaires (37 accessions en 2017)

Partenaires	Serre	Tunnel pleine terre	Plein champ
CATE	x		
OBS	x		
Terre d'essais	x		
Syngenta	x		
Gautier		x	
Rijk Zwaan		x	
Sakata		x	
Ctifl			x
HMClause			x
Vilmorin			x

# ACTION 2 : Screening « au champ »

2017

## Corrélation notations racines/feuilles



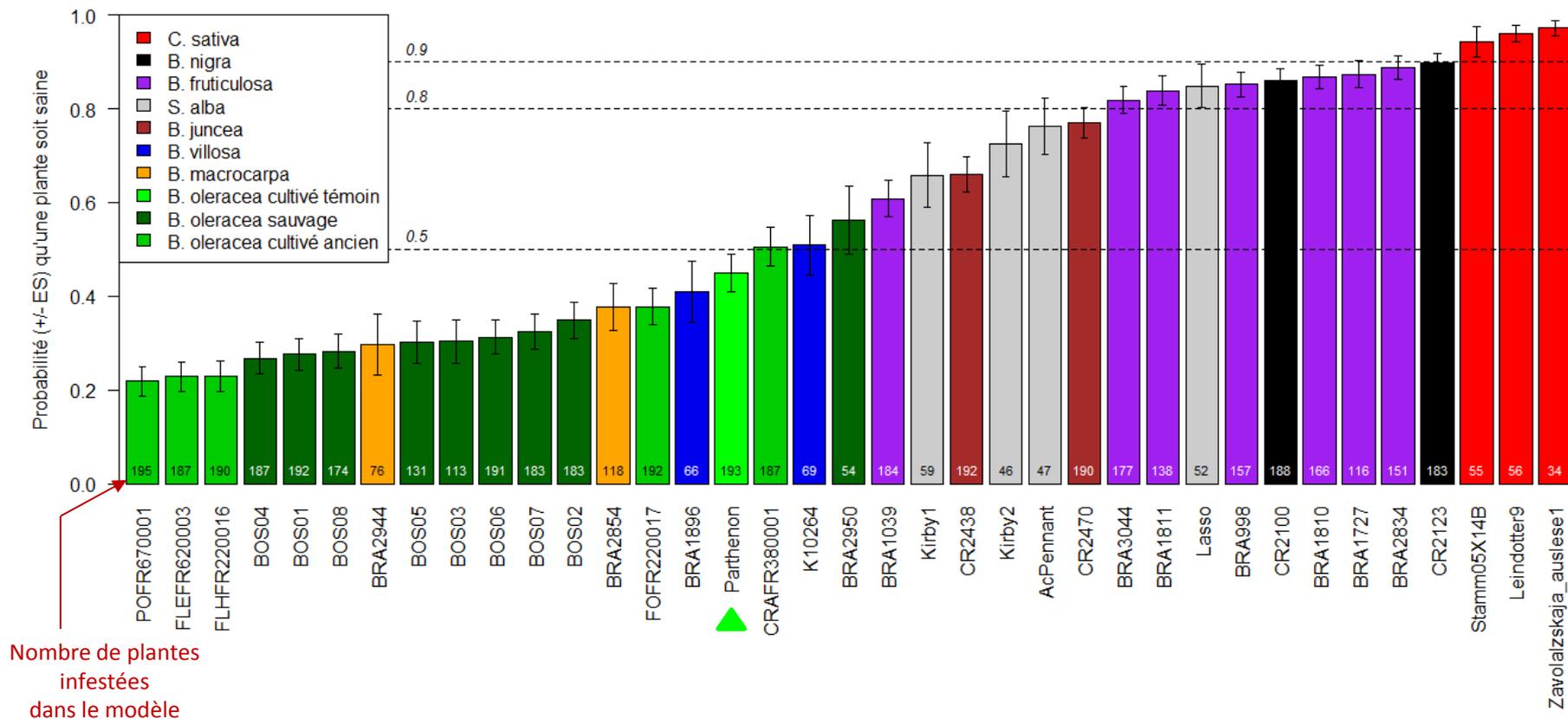
Bonne corrélation => utilisation des notations aériennes (plus simples!)



# ACTION 2 : Screening « au champ »

2017

## Evaluation de la résistance des accessions

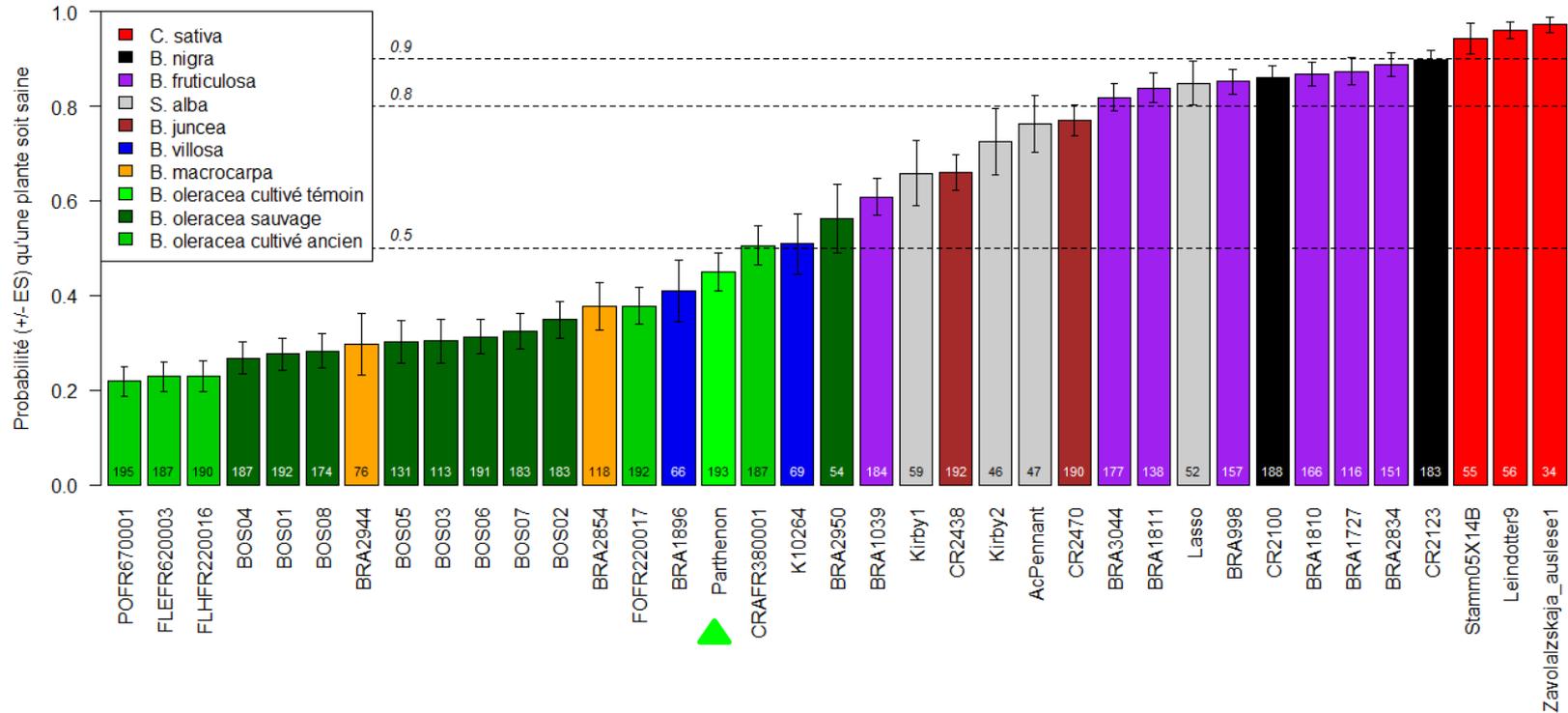


**Analyse statistique (partie aérienne) :** Modèle intégrant le partenaire, la répétition au sein de chaque partenaire et la condition (pot, serre pleine terre, plein champ)

# ACTION 2 : Screening « au champ »

2017

## Evaluation de la résistance des accessions



- ✓ un gradient de résistance entre les accessions
- ✓ les choux sont dans les choux, toutes les accessions résistantes viennent d'autres espèces
- ✓ les accessions les plus résistantes sont les 3 camelines (*Camelina sativa*), les 2 moutardes noires (*Brassica nigra*) et la plupart des *Brassica fruticulosa*

## ACTION 2 : Screening « au champ »

### Choix des accessions pour screening 2018 (N=32)

Espèce		2017 Champ	2018 Labo	Nouvelles
<i>B. oleracea</i> (12)	<b>Parthénon</b>			
	Raves	1		2
	Fourragers	1		2
	Pommés	1		
	Sauvages	1		3
<i>B. rapa</i> (3)				3
<i>B. nigra</i> (4)		1	3	
<i>B. fruticulosa</i> (4)		3	1	
<i>B. juncea</i> (2)		1		1
<i>B. carinata</i> (1)				1
<i>S. alba</i> (6)		1		5
<i>C. sativa</i> (1)				1

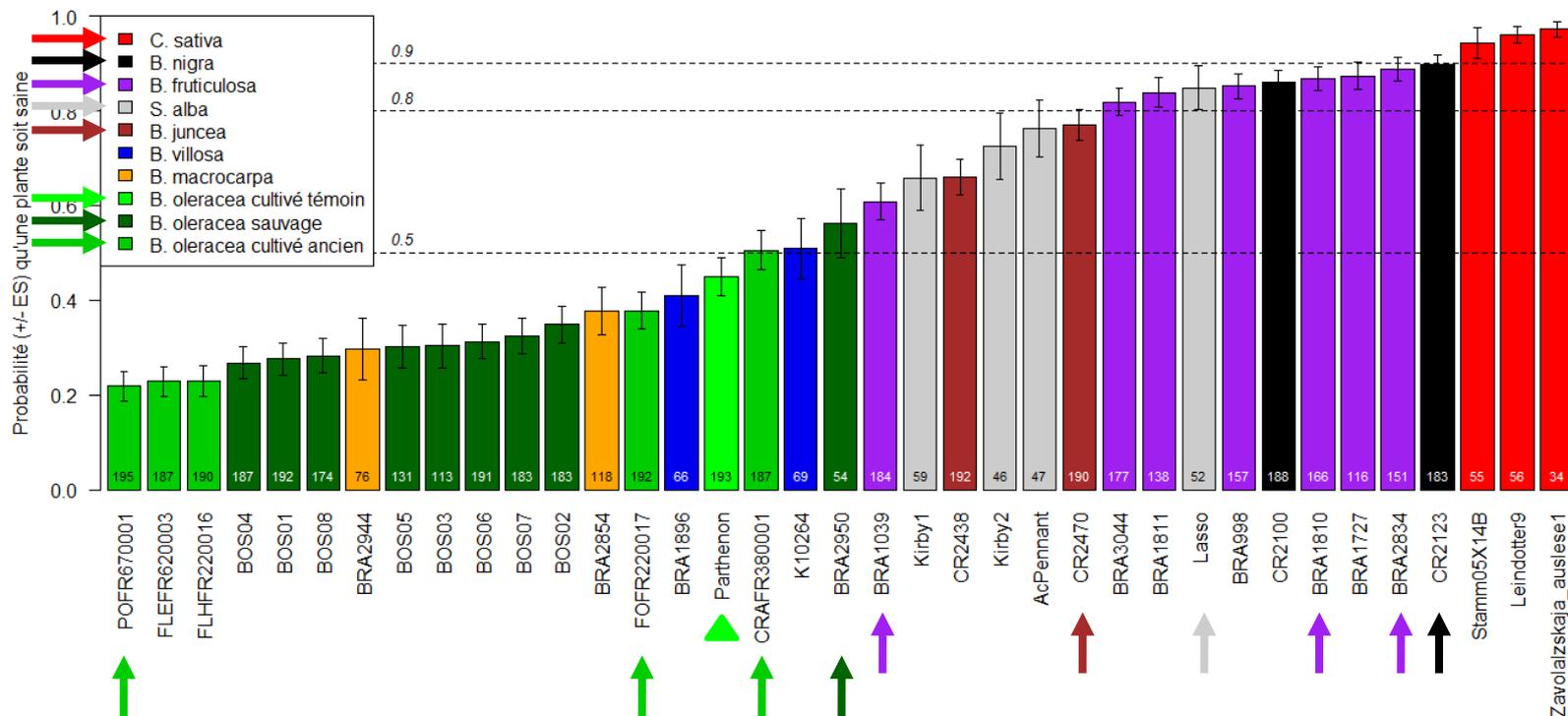
# ACTION 2 : Screening « au champ »

2018

## Choix des accessions pour screening 2018 (N=32)

Principes généraux :

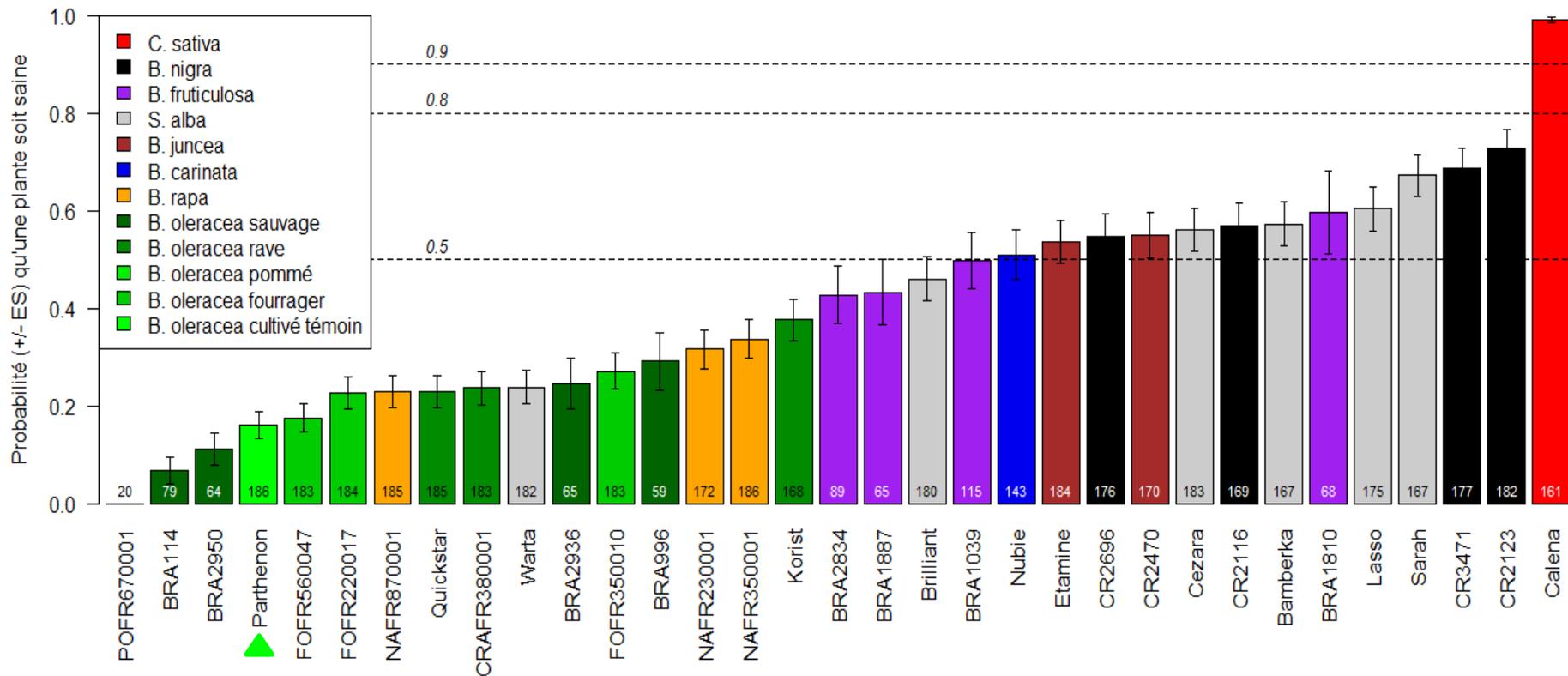
- (i) Continuer à explorer au sein de *B. oleracea*
- (ii) Continuer à tester d'autres espèces en moyenne intéressantes mais à la résistance variable
- (iii) Tester quelques nouvelles espèces



# ACTION 2 : Screening « au champ »

2018

## Evaluation de la résistance des accessions

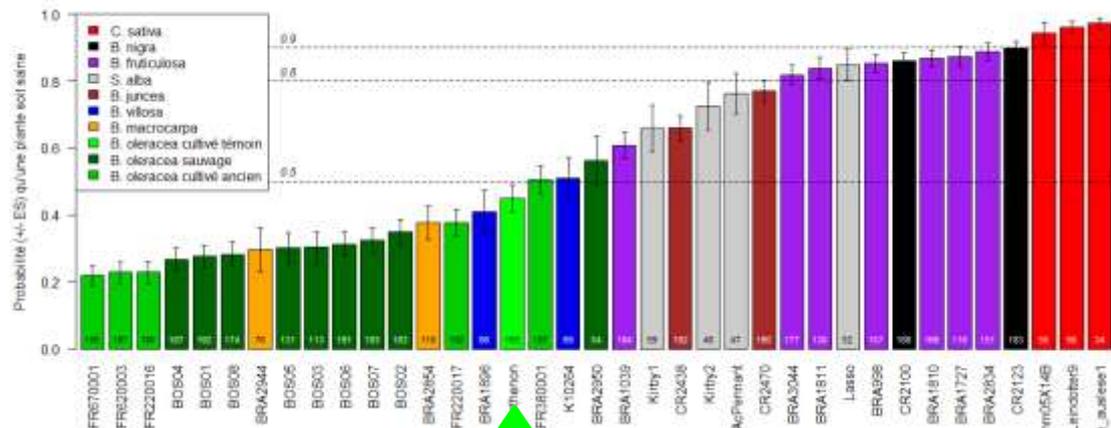


- ✓ On retrouve un gradient de résistance entre les accessions
- ✓ Les choux sont toujours dans les choux
- ✓ Les accessions les plus résistantes sont la cameline (*Camelina sativa*), les 2 moutardes noires (*Brassica nigra*) et 2 moutardes blanches (*Sinapis alba*)

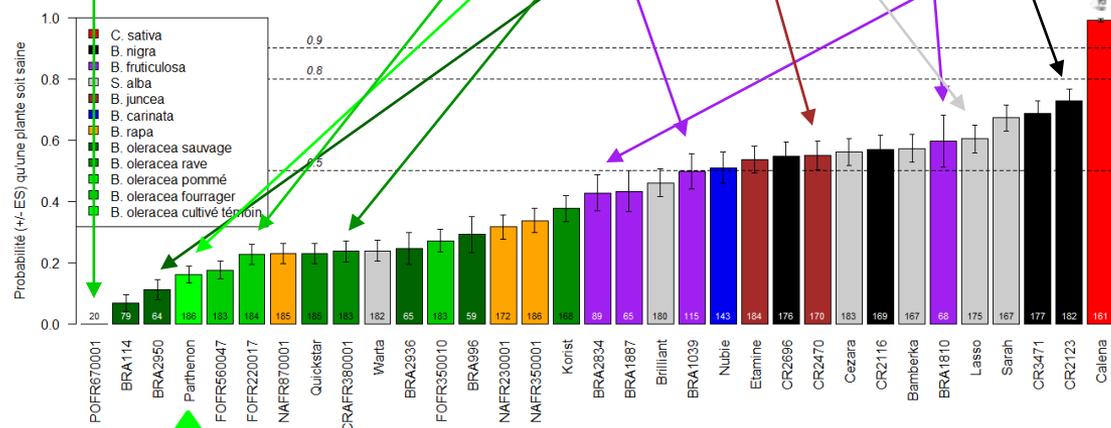
# ACTION 2 : Screening « au champ »

## Comparaison notations 2017/2018

2017



2018

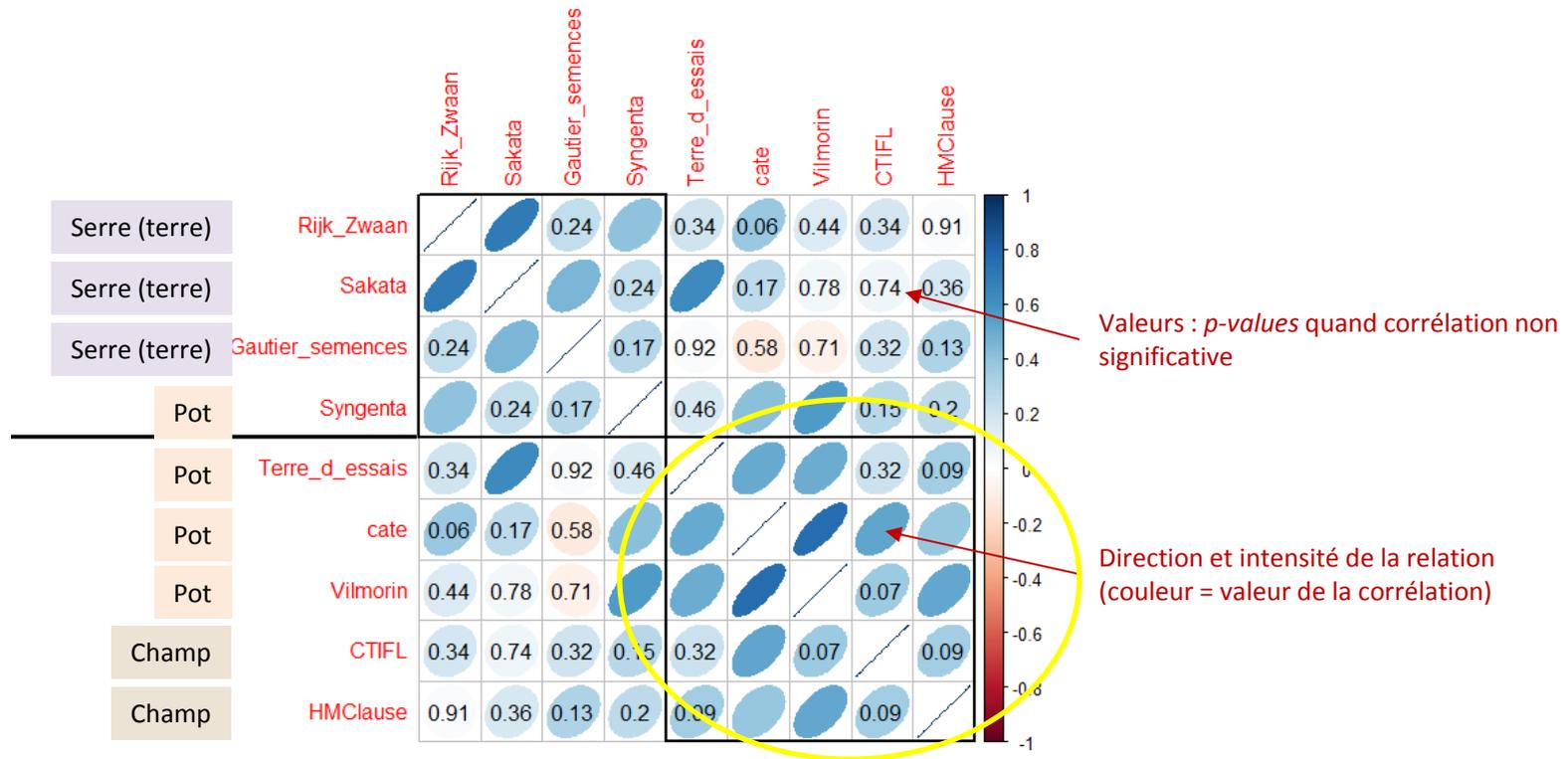


- ✓ La cameline reste très résistante
- ✓ Les choux sont encore plus dans les choux
- ✓ *B. fruticulosa* est plus variable
- ✓ Les moutardes et *B. nigra* sont intéressantes

# ACTION 2 : Screening « au champ »

2018

## Corrélations des notations entre partenaires



Notations un peu moins cohérentes entre partenaires

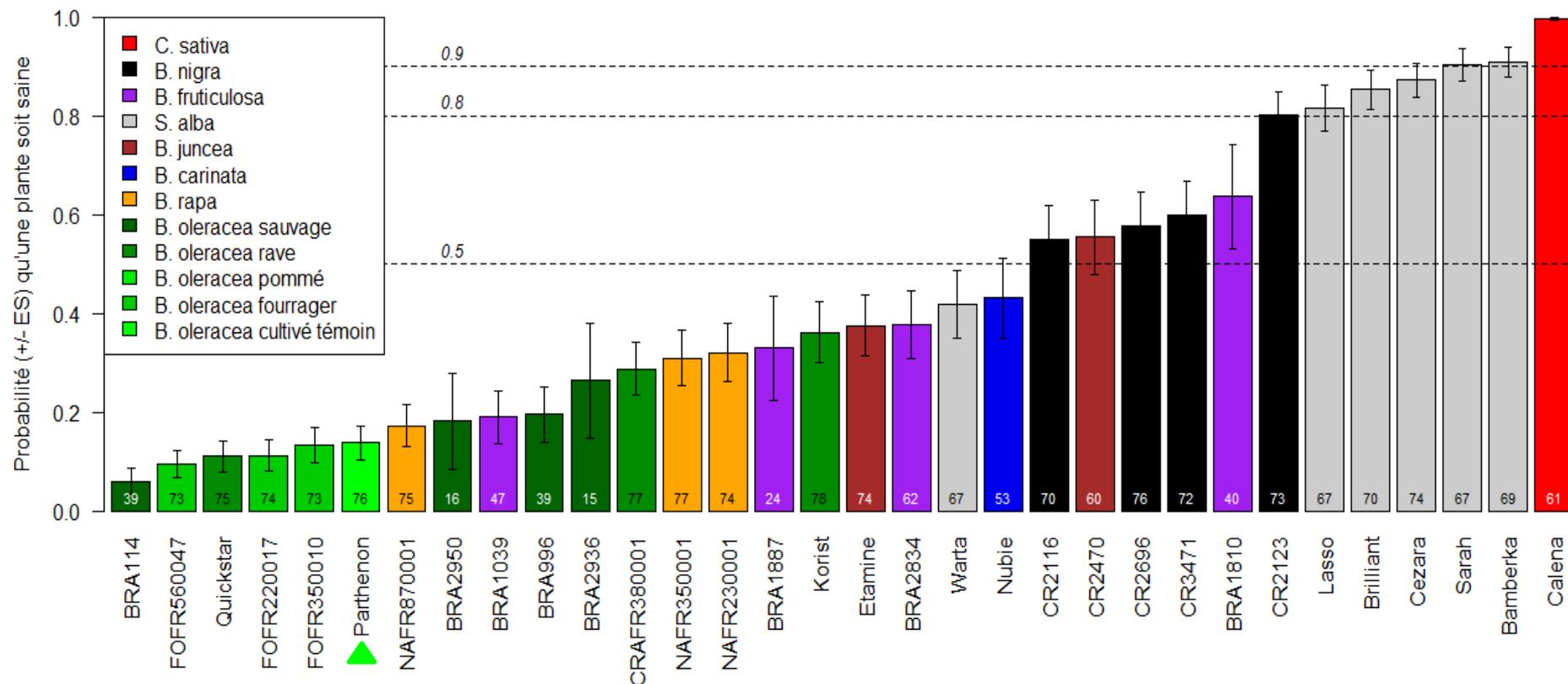
=> variabilité environnementale plus forte ?

=> différences graines (populations) ?

# ACTION 2 : Screening « au champ »

2018

## Résultats des partenaires dont les notations corrèlent le mieux (CATE, CTIFL, HM Clause, Terres d'essais Vilmorin)

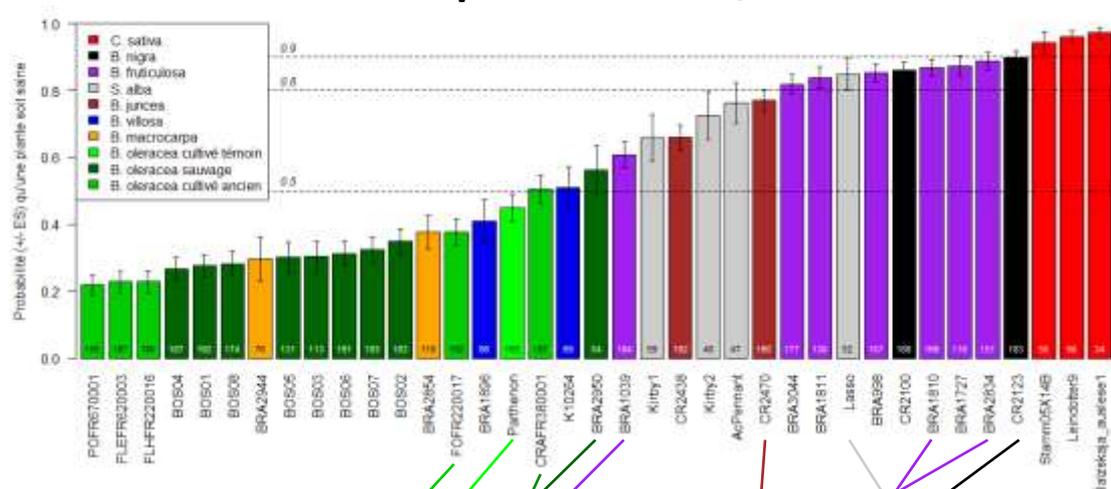


- ✓ On retrouve un gradient de résistance entre les accessions
- ✓ Les choux sont toujours (toujours!) dans les choux
- ✓ Les accessions les plus résistantes sont la cameline (*Camelina sativa*), 1 moutarde noire (*Brassica nigra*) et **5 moutardes blanches** (*Sinapis alba*)

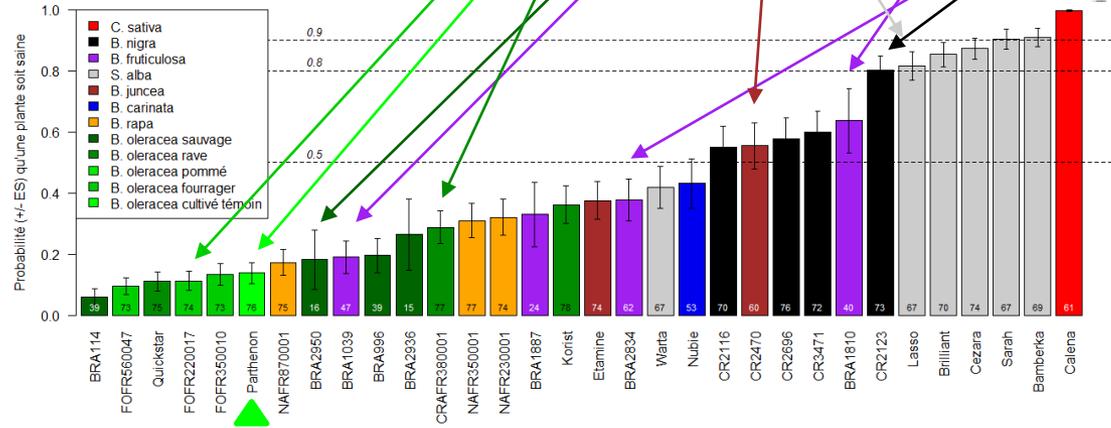
# ACTION 2 : Screening « au champ »

## Résultats des partenaires dont les notations corrèlent le mieux (CATE, CTIFL, HM Clause, Terres d'essais Vilmorin) Comparaison 2017/2018

2017



2018



- ✓ Le potentiel de *B. fruticulosa* n'est pas confirmé
- ✓ Le potentiel des moutardes et de *B. nigra* en confirmé

# ACTION 3 : Recherche de biomarqueurs

## Stations expérimentales et IGEPP

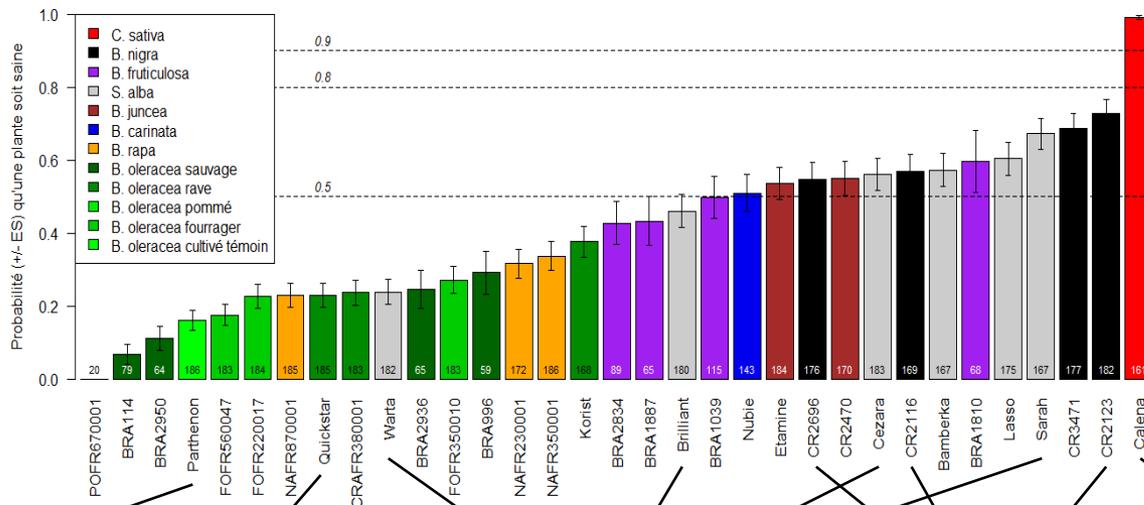
### **Objectif :**

Déterminer quels caractères conduisent à une meilleure résistance/tolérance  
Déterminer des biomarqueurs de résistance à la mouche du chou

# ACTION 3 : Recherche de biomarqueurs

## Choix des accessions pour évaluations 2018 (N=14)

Base = screening automne 2018



**Brocoli**  
(*Brassica oleracea*)  
Parthénon  
(témoin sensible)

**Chou rave**  
(*Brassica oleracea*)  
Quickstar  
CRAFR380001  
+  
CRAHU000002  
CRAHU000003

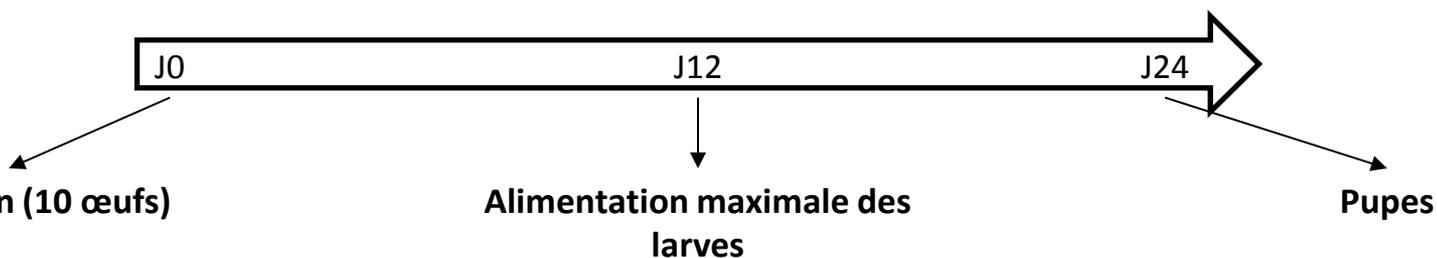
**Moutarde blanche**  
(*Sinapis alba*)  
Brilliant  
Cezara  
Sarah  
Warta  
+ Verte

**Moutarde noire**  
(*Brassica nigra*)  
CR2116  
CR2123  
CR2696

**Cameline**  
(*Camelina sativa*)  
Calena  
(témoin résistant)

# ACTION 3 : Recherche de biomarqueurs

## Protocole expérimental (milieu contrôlé)



### Infestation (10 œufs)

Variables mesurées :

- nombre de feuilles saines
- hauteur
- longueur totale du système racinaire (analyse photo)
- symptômes aériens

*+ prélèvements de racines pour analyses chimiques*

N = 15 plantes

### Alimentation maximale des larves

Variables mesurées :

- nombre de feuilles saines
- hauteur
- longueur totale du système racinaire (analyse photo ImageJ, Rootgraph)
- symptômes aériens

*+ prélèvements de racines pour analyses chimiques*

N = 15 plantes saines +  
15 infestées

### Pupes

Variables mesurées :

- nombre de feuilles saines
- hauteur
- longueur totale du système racinaire (analyse photo)
- symptômes aériens
- nombre de pupes
- volume des pupes

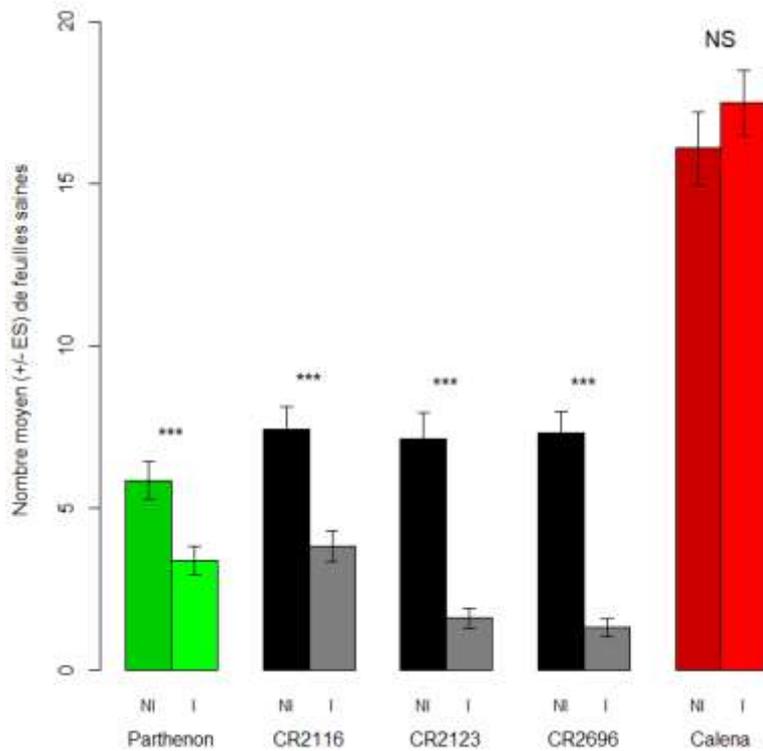
*+ prélèvements de racines pour analyses chimiques*

N = 15 plantes saines +  
15 infestées

# ACTION 3 : Recherche de biomarqueurs

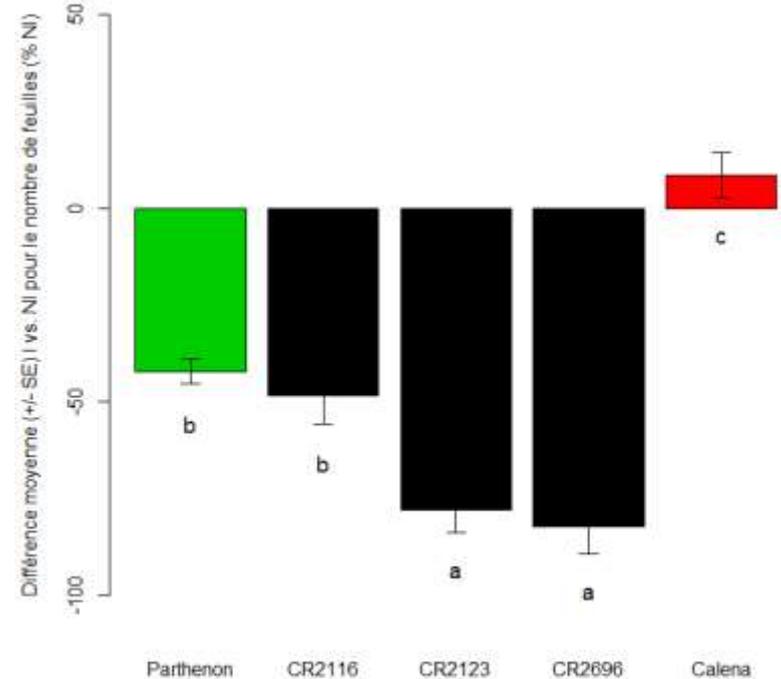
## Résultats moutarde noire (*Brassica nigra*)

Nombre de feuilles saines à J24



Infestées (I) vs. non infestées (NI)

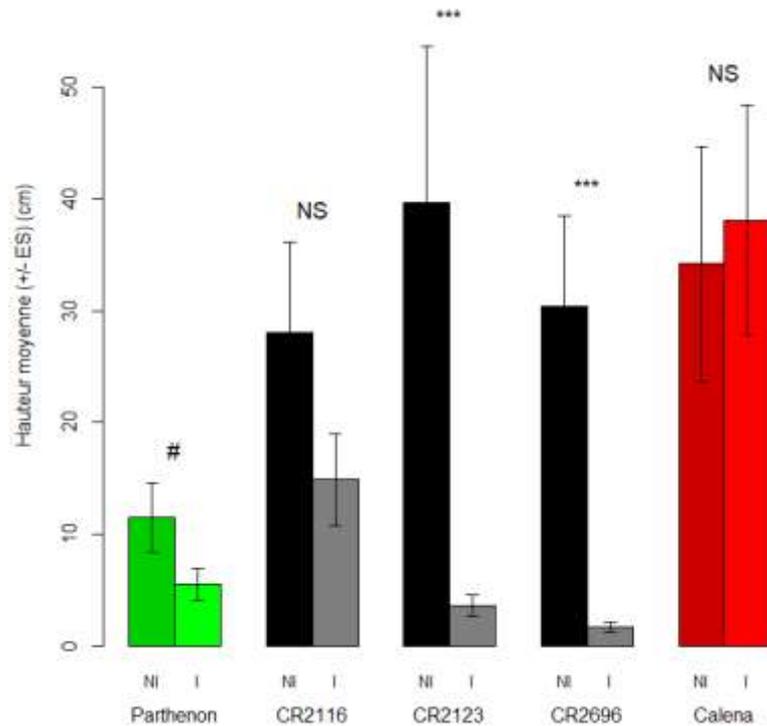
Différence entre plantes infestées et non infestées



# ACTION 3 : Recherche de biomarqueurs

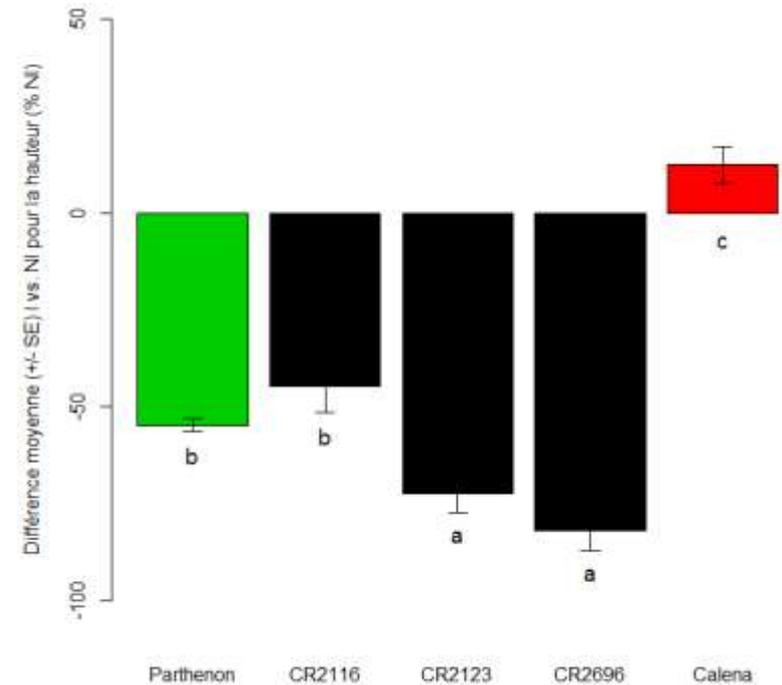
## Résultats moutarde noire (*Brassica nigra*)

Hauteur à J24



Infestées (I) vs. non infestées (NI)

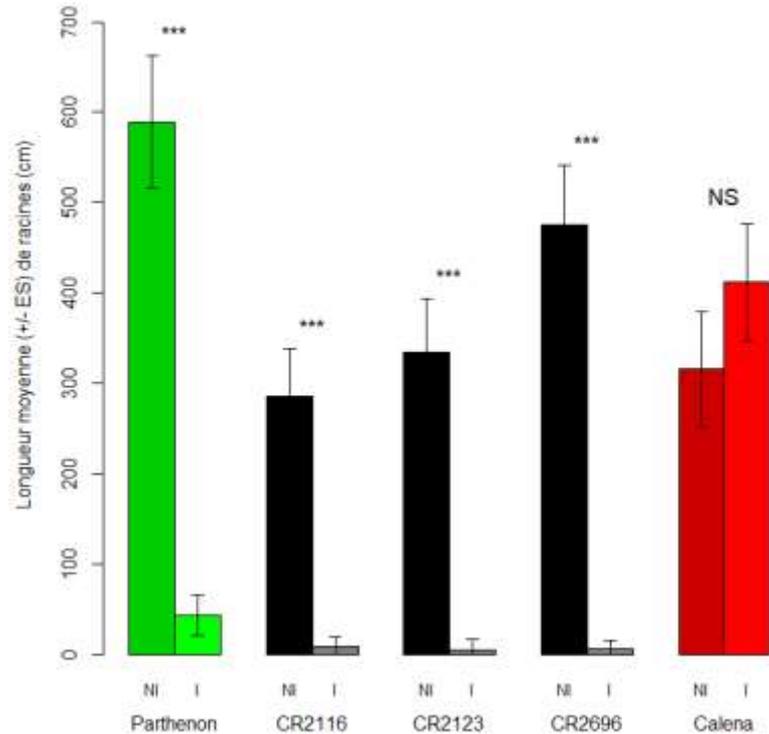
Différence entre plantes infestées et non infestées



# ACTION 3 : Recherche de biomarqueurs

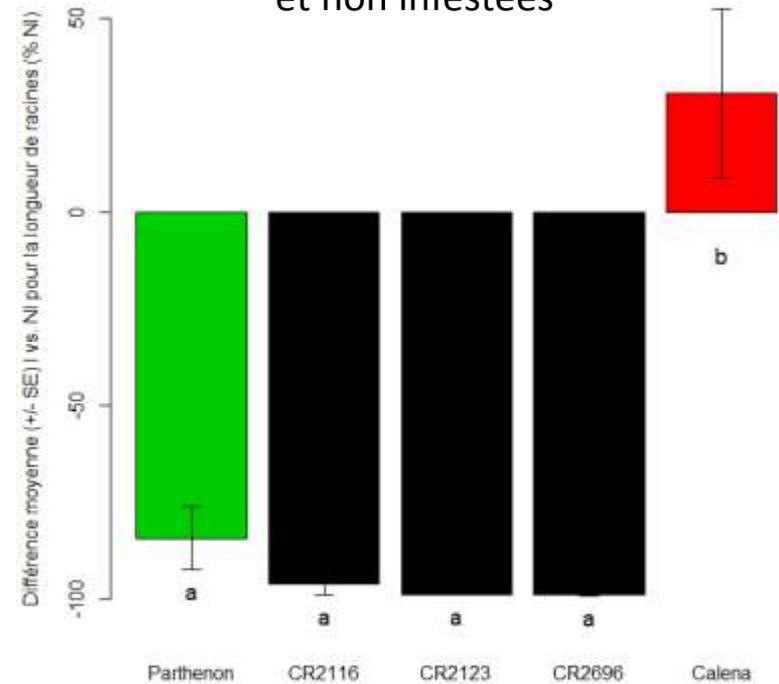
## Résultats moutarde noire (*Brassica nigra*)

Longueur totale du système racinaire à J24



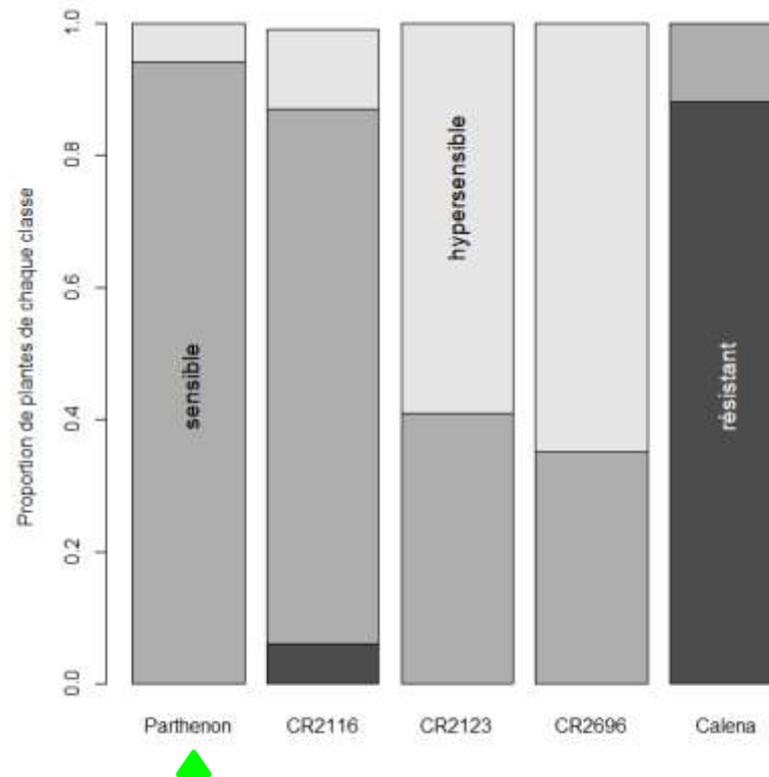
Infestées (I) vs. non infestées (NI)

Différence entre plantes infestées et non infestées



# ACTION 3 : Recherche de biomarqueurs

**Intégration des 4 variables mesurées**  
(% nb feuilles, % hauteur, % lg racines, symptômes)  
et calcul d'un **indice allant d'hypersensible à résistant**

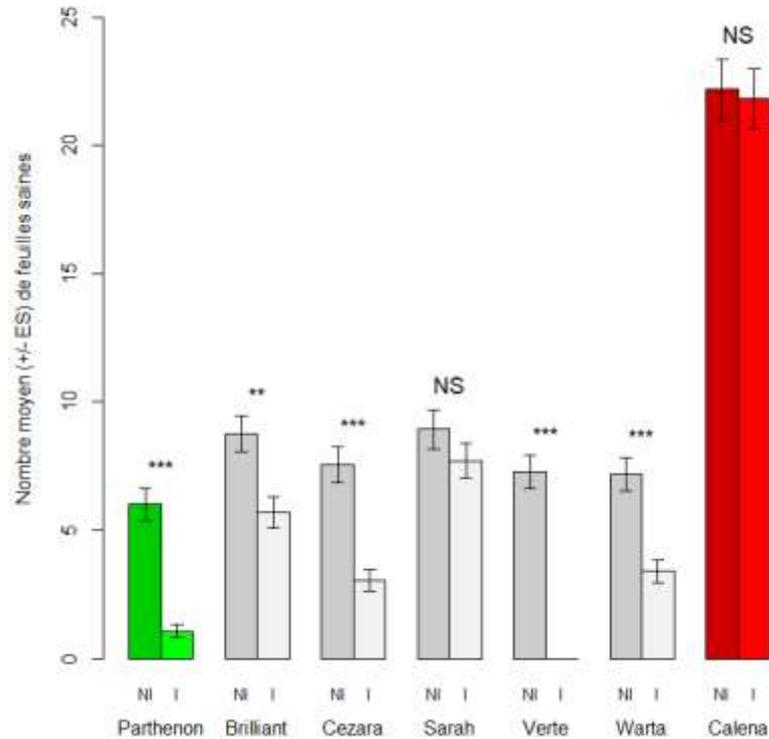


Les trois moutardes noires sont sensibles à hypersensibles

# ACTION 3 : Recherche de biomarqueurs

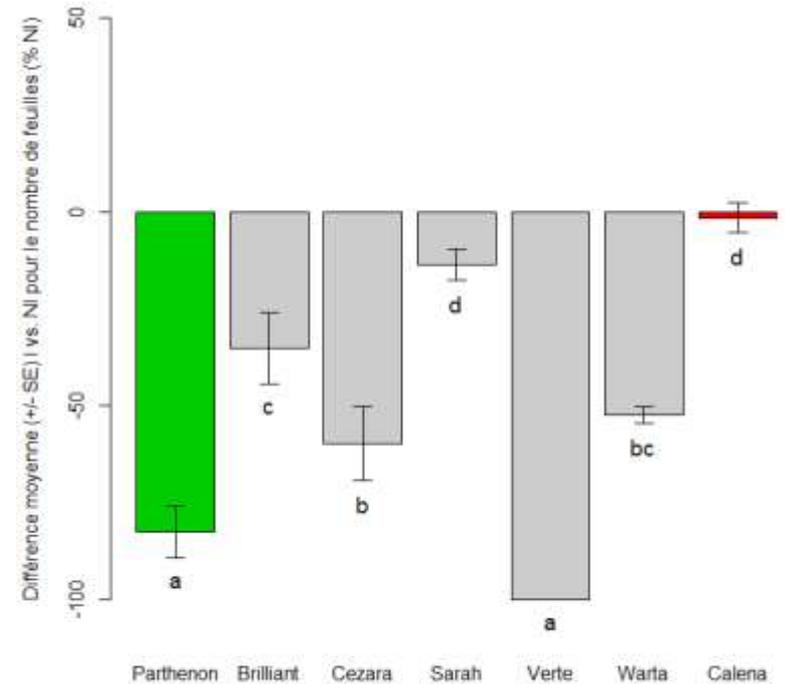
## Résultats moutarde blanche (*Sinapis alba*)

Nombre de feuilles saines à J24



Infestées (I) vs. non infestées (NI)

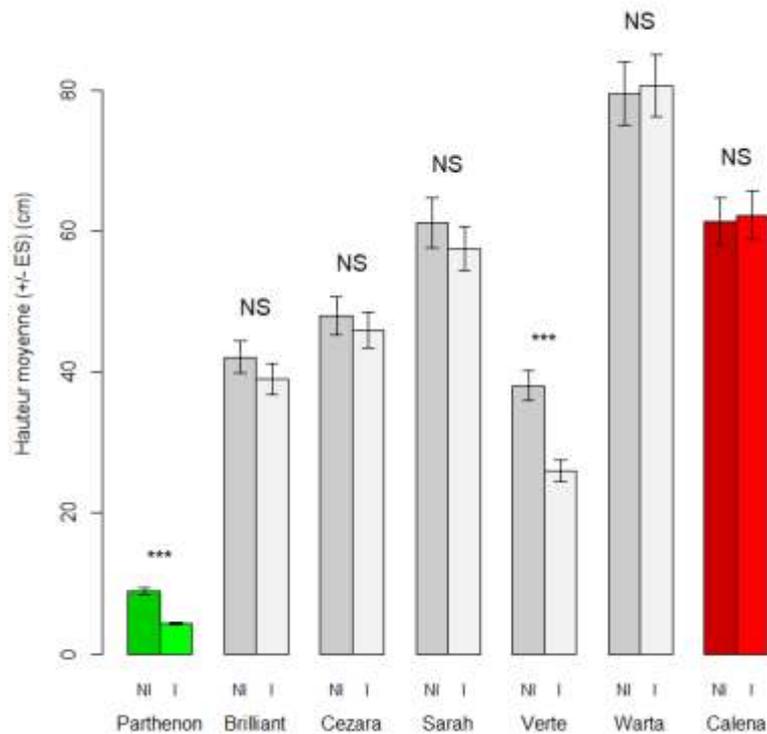
Différence entre plantes infestées et non infestées



# ACTION 3 : Recherche de biomarqueurs

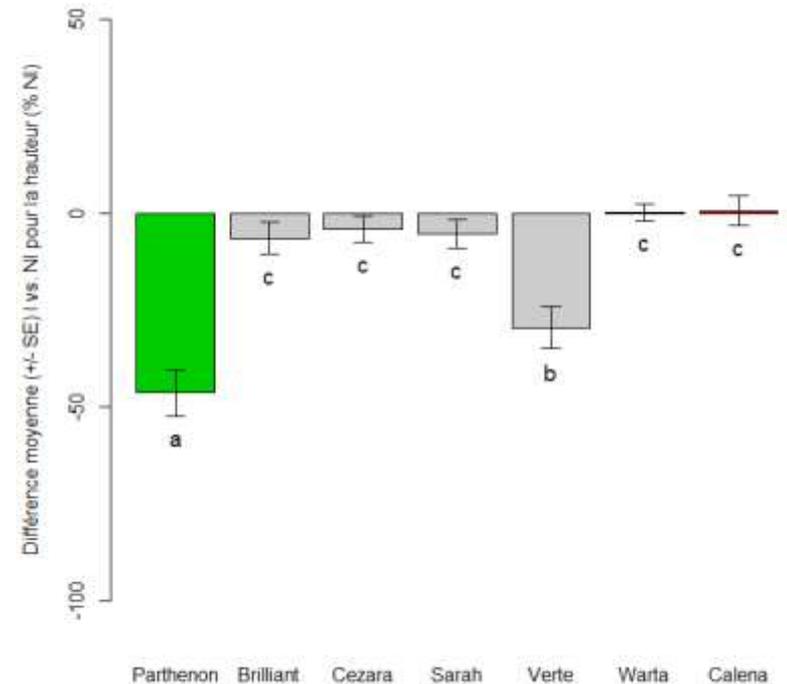
## Résultats moutarde blanche (*Sinapis alba*)

Hauteur à J24



Infestées (I) vs. non infestées (NI)

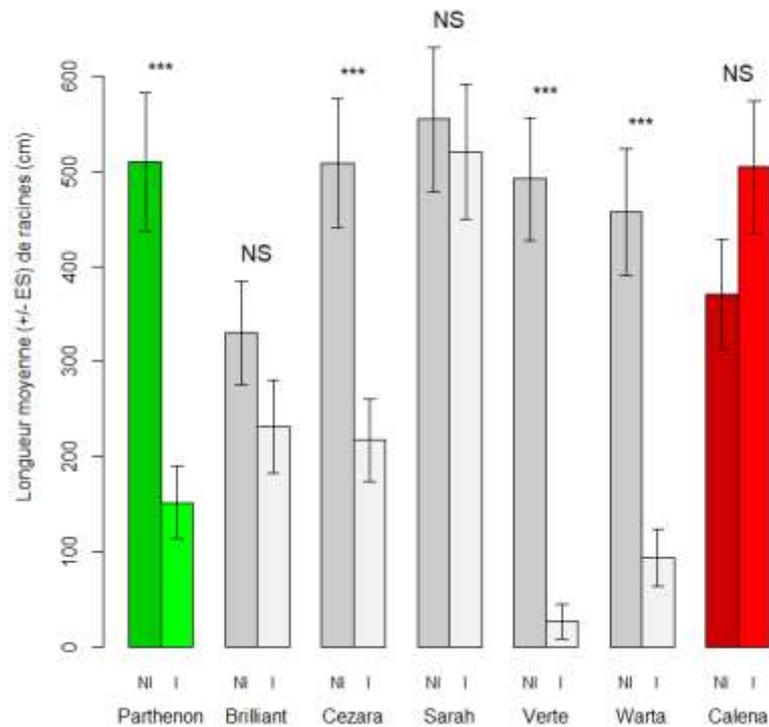
Différence entre plantes infestées et non infestées



# ACTION 3 : Recherche de biomarqueurs

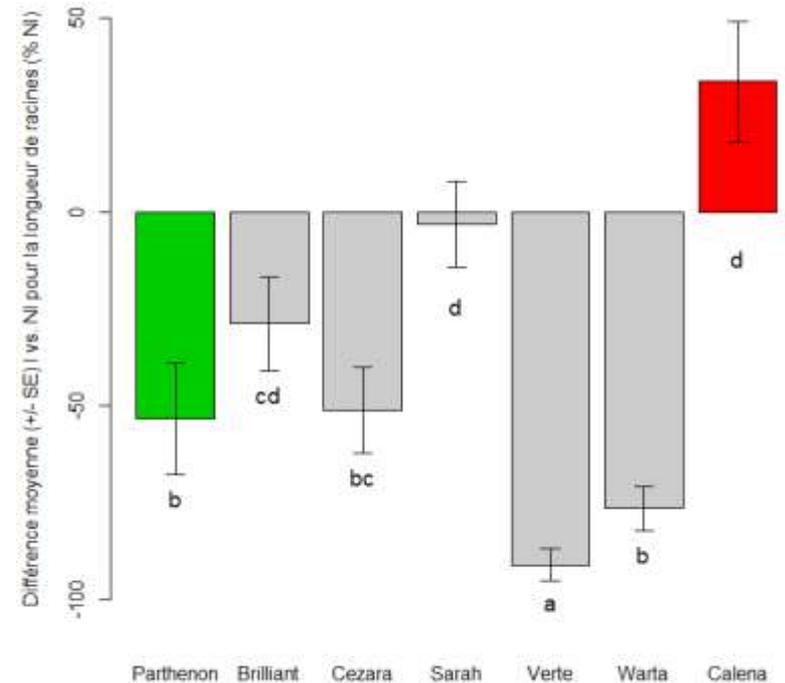
## Résultats moutarde blanche (*Sinapis alba*)

Longueur totale du système racinaire à J24



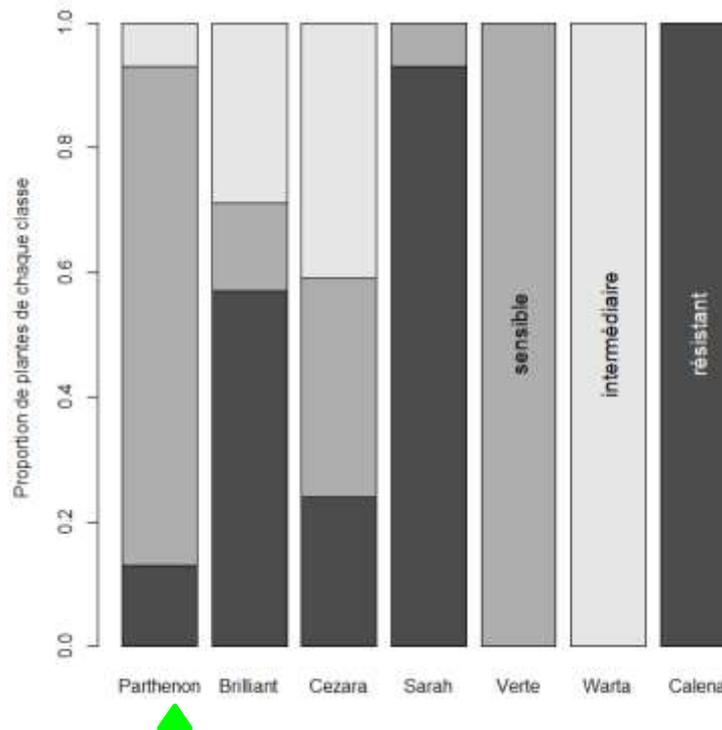
Infestées (I) vs. non infestées (NI)

Différence entre plantes infestées et non infestées



# ACTION 3 : Recherche de biomarqueurs

**Intégration des 4 variables mesurées**  
(% nb feuilles, % hauteur, % lg racines, symptômes)  
et calcul **d'un indice allant d'hypersensible à résistant**



- ✓ Il y a bien de la résistance dans la moutarde blanche
- ✓ Confirmation du potentiel très résistant de Sarah et de la moindre résistance de Warta parmi les moutardes blanches
- ✓ La nouvelle accession Verte est encore plus sensible que Parthénon

# ACTION 4 : Validation au champ

## Stations expérimentales Bretagne et IGEPP

### **Objectif :**

Valider les résultats obtenus en conditions de production et de fort risque mouche

### **Méthodologie :**

Accessions les plus intéressantes implantées dans les conditions de culture classiques

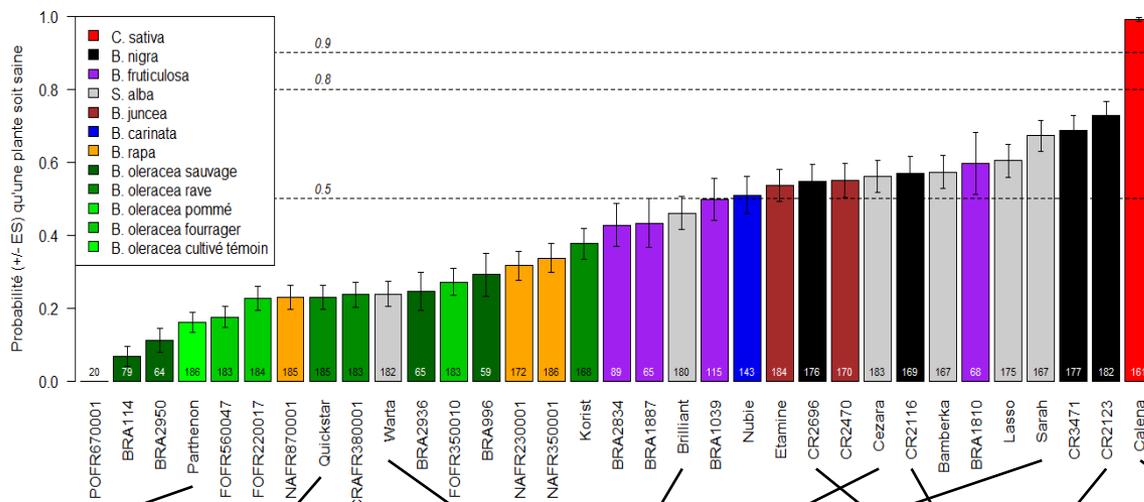
Infestation naturelle par la mouche (pas de protection), 2<sup>ème</sup> vol

Mesures de traits de plantes (survie, feuilles, état des racines,...)

# ACTION 4 : Validation au champ

## Choix des accessions pour validation champ 2018 (N=14)

Base = screening automne 2018  
(idem labo)



**Brocoli**  
(*Brassica oleracea*)  
Parthénon  
(témoin sensible)

**Chou rave**  
(*Brassica oleracea*)  
Quickstar  
CRAFR380001  
+  
CRAHU000002  
CRAHU000003

**Moutarde blanche**  
(*Sinapis alba*)  
Brilliant  
Cezara  
Sarah  
Warta  
+ Verte

**Moutarde noire**  
(*Brassica nigra*)  
CR2116  
CR2123  
CR2696

**Cameline**  
(*Camelina sativa*)  
Calena  
(témoin résistant)

# ACTION 4 : Validation au champ

14 accessions au global, 11 testées par partenaire

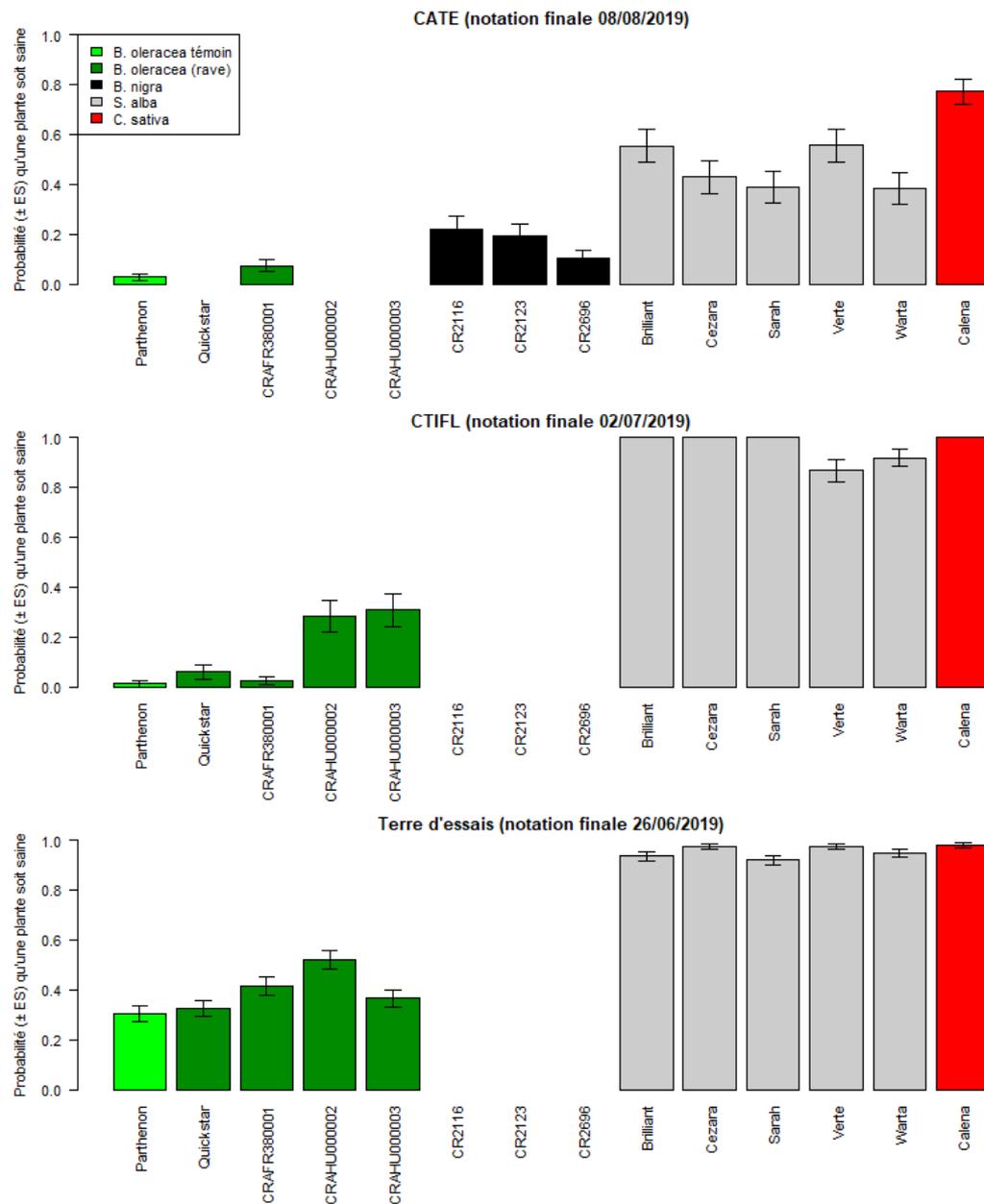
	Caté	CTIFL	Terre d'essais
Témoin sensible (brocoli Parthénon)	✓	✓	✓
Choux raves :			
- CRA FR38 0001	✓	✓	✓
- CRA HU00 0002	✗	✓	✓
- CRA HU00 0003	✗	✓	✓
- Quickstar	✗	✓	✓
Moutardes blanches :			
- Brilliant	✓	✓	✓
- Cezara	✓	✓	✓
- Sarah	✓	✓	✓
- Verte	✓	✓	✓
- Warta	✓	✓	✓
Moutardes noires :			
- CR 2116	✓	✗	✗
- CR 2123	✓	✗	✗
- CR 2696	✓	✗	✗
Témoin résistant (cameline Calena)	✓	✓	✓

# ACTION 4 : Validation au champ

## Résultats notation racinaire uniquement

(80-250 plantes/accession)

- ✓ Les choux raves ont un potentiel très limité
- ✓ La moutarde noire a un potentiel faible
- ✓ La moutarde blanche confirme son potentiel très élevé.
- ✓ Pas vraiment de différences marquées entre accessions de moutarde blanche, toutes sont très résistantes



# Conclusion

- ✓ Objectif initial : screener un gd nb d'accessions (>300) en exploitant les ressources génétiques du CRB BraCySol (== *Brassica oleracea*)
- ✓ Mais : peu de résistance chez *B. oleracea* (même sauvages, mais quelles sauvages?)
- ✓ Difficulté d'aller chercher de la variabilité sur des traits liés aux insectes (peu d'infos à priori, peu de bases de départ, évaluations complexes)
- ✓ + difficulté de trouver des graines et des ressources homogènes
- ✓ Nécessité de multiplier les individus résistants

# Conclusion

- ✓ Moutarde blanche potentiel évident éloignée des Brassica (hybrides avec *B. napus* existent)
- ✓ Intérêt de la cameline (mais à des années lumières des Brassica!)
- ✓ Les composés responsables du différentiel observé restent à étudier (intérêt biomarqueurs pour screening)
- ✓ Résistance ou tolérance ??  
*Résultats 2019 avec notations plantes + mouches à venir*



*Merci de votre attention*

