



**HAL**  
open science

## Etude de la résistance partielle de la carotte à *Alternaria dauci* par une approche de phénotypage multi critères

Valérie Le Clerc, Elodie Auperpin, Anita Suel, David Rousseau, Etienne Belin, Pascal Poupard, Lisa Jeanne Lambert, Linda Voisine, Latifa Hamama, Tristan Boureau, et al.

### ► To cite this version:

Valérie Le Clerc, Elodie Auperpin, Anita Suel, David Rousseau, Etienne Belin, et al.. Etude de la résistance partielle de la carotte à *Alternaria dauci* par une approche de phénotypage multi critères. 2016, pp.101-109. 10.15454/1.4721101706751174E12 . hal-02516459

**HAL Id: hal-02516459**

**<https://univ-angers.hal.science/hal-02516459>**

Submitted on 23 Mar 2020

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



Distributed under a Creative Commons Attribution - NonCommercial - NoDerivatives 4.0 International License

## Etude de la résistance partielle de la carotte à *Alternaria dauci* par une approche de phénotypage multi critères

Le Clerc V.<sup>1</sup>, Auperpin E.<sup>1</sup>, Suel A.<sup>1</sup>, Rousseau D.<sup>2</sup>, Belin E.<sup>3</sup>, Poupard P.<sup>4</sup>, Lambert J.<sup>3</sup>, Voisine L.<sup>4</sup>, Hamama L.<sup>4</sup>, Boureau T.<sup>4</sup>, Berruyer R.<sup>4</sup>, Barrot L.<sup>5</sup>, Prieur R.<sup>6</sup>, Briard M.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Institut de Recherche en Horticulture et Semences - UMR 1345, Agrocampus Ouest, SFR 4207 QuaSaV, 42 rue Georges Morel, 49071 Beaucouzé Cedex, France

<sup>2</sup> Creatis, CNRS UMR 5220 – INSERM U1044 – Université Lyon 1 – INSA Lyon

<sup>3</sup> Laboratoire d'Ingénierie des Systèmes Automatisés (LISA) Université d'Angers, 62 avenue Notre Dame du Lac, 49000, Angers, France

<sup>4</sup> Institut de Recherche en Horticulture et Semences - UMR 1345, Université d'Angers, SFR 4207 QuaSaV, 42 rue Georges Morel, 49071 Beaucouzé Cedex, France

<sup>5</sup> Vilmorin, Centre de recherche La Costière, 30210 Ledenon, France

<sup>6</sup> HMClause, 1 Chemin du Moulin des Ronzières 49800 La Bohalle, France

Correspondance : valerie.leclerc@agrocampus-ouest.fr

### Résumé

La création de variétés présentant un niveau de résistance fort et durable passe inmanquablement par la mise en œuvre de méthodes de phénotypage toujours plus discriminantes, reproductibles et pouvant être mises en œuvre sur de grands effectifs. Les méthodes actuelles de phénotypage font encore très souvent appel à une notation visuelle des symptômes. Nous rapportons ici la mise en œuvre de différentes méthodes de phénotypage alternatives permettant de caractériser, soit la phase asymptomatique par l'utilisation de nouvelles technologies telles que la qPCR, la thermographie ou la mesure de fluorescence de chlorophylle, soit la phase symptomatique à l'aide de tests en conditions contrôlées. Les avantages et les limites de ces méthodes sont abordés.

**Mots-clés** : Evaluation variétale, *Daucus carota*, Alternariose, phase asymptomatique

### Abstract: Study of partial resistance of carrot to *Alternaria dauci* through multi-criteria phenotyping

The development of carrot varieties with a high and durable level of resistance inevitably requires implementation of highly discriminating phenotyping methods, reproducible and which can be implemented on large numbers of plants. Current methods of phenotyping are still very often based on visual scoring of symptoms. We report various methods of alternative phenotyping to characterize either the asymptomatic phase by use of new technologies such as qPCR, thermography or chlorophyll fluorescence measurement or the symptomatic phase in using tests under controlled conditions. Advantages and limitations of these methods are discussed.

**Keywords**: varietal evaluation, *Daucus carota*, leaf blight, asymptomatic phase

### Introduction

La carotte est le légume racine le plus consommé dans le monde. La France est le 2<sup>ème</sup> pays producteur de semences de carotte au niveau mondial, après les Etats-Unis et le 3<sup>ème</sup> pays européen producteur de carottes racines. Le champignon pathogène, *Alternaria dauci*, est responsable de la maladie foliaire la plus préjudiciable sur carotte, causant des dégâts sur carotte de consommation ainsi qu'en production de

semences. Les acteurs de la filière cherchent à développer des stratégies de lutte contre ce pathogène en associant différentes approches, dont la lutte génétique (Ben-Noon *et al.*, 2001). Développer des variétés présentant un niveau de résistance fort et durable est l'un des objectifs principaux des sélectionneurs de l'espèce. Une des voies les plus prometteuses consiste à orienter les recherches vers une stratégie de cumul de résistances partielles dans un même génotype. La mise en évidence de QTLs dans différentes descendances (Le Clerc *et al.*, 2009; 2015) a permis de confirmer le caractère polygénique de cette résistance. Cependant, ces facteurs de résistance ciblent uniquement la phase symptomatique de l'interaction. Or, nous formulons l'hypothèse que la combinaison de facteurs de résistance permettant de représenter les différentes phases du cycle infectieux serait plus efficace pour contrôler la maladie que de s'appuyer sur la seule prise en compte de cette phase symptomatique.

Comme le propose Danan (2009), la décomposition de la résistance en facteurs de résistance élémentaires peut être effectuée à plusieurs niveaux : selon l'organe infecté et selon le stade du processus infectieux. Cette décomposition a montré son efficacité pour l'étude de la résistance polygénique à *Phytophthora capsici* chez le piment basée sur la mesure de la longueur de nécrose le long de la tige (Lefebvre et Palloix, 1996) ainsi qu'à la rouille des céréales et du peuplier, où la résistance a été subdivisée en composantes épidémiologiques comme le taux de sporulation ou la période de latence (Parlevliet et Ommeren, 1975 ; Dowkiw *et al.*, 2003). Nous avons pour notre part opté pour la décomposition des différentes phases de l'interaction carotte/*A. dauci* en mettant en œuvre des méthodes de phénotypage permettant de cibler les phases asymptomatique et symptomatique.

En effet, **l'utilisation conjointe de plusieurs méthodes de phénotypage** permettant d'**appréhender les différentes étapes de l'interaction carotte-*A. dauci*** (germination des spores, pénétration du champignon, colonisation des tissus de la plante, nécroses des tissus, ...) de façon plus quantitative, devrait révéler un plus grand nombre de QTLs (impliqués dans différents mécanismes) ou tout au moins, préciser la position des QTLs obtenus par phénotypage classique et permettre de décomposer plus finement les sources de résistance évaluées.

La démarche que nous avons proposée consistait donc à **décomposer la résistance en facteurs de résistance élémentaires**, en mettant en œuvre une approche de phénotypage « multicritères ». Un des objectifs finaux était de proposer aux sélectionneurs différentes méthodes de phénotypage, permettant la mise en évidence de facteurs de résistance complémentaires pouvant être combinés dans un même génotype par pyramidage. Les méthodes développées doivent permettre de phénotyper un très grand nombre de génotypes. Dans le présent article, après avoir fait un état des lieux des méthodes de phénotypage existantes permettant de caractériser l'interaction carotte/*A. dauci*, nous présenterons et discuterons de l'intérêt d'un certain nombre de nouvelles méthodes de phénotypage que nous avons testées pour caractériser la phase asymptomatique et symptomatique de cette interaction.

## **Méthodes de phénotypage de la résistance de la carotte à *Alternaria dauci* existantes en 2010**

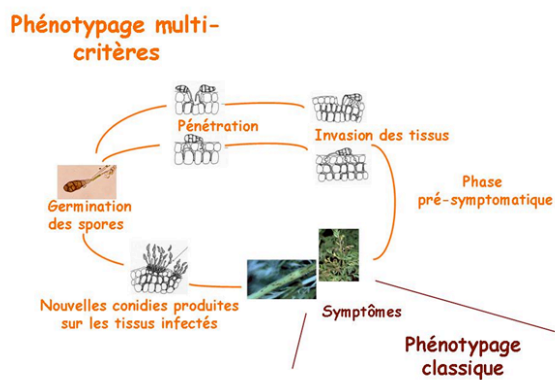
La **méthode de phénotypage** de la résistance de la carotte à *A. dauci* « classiquement » utilisée par les chercheurs et les sélectionneurs consiste à évaluer les génotypes soit **au champ** en conditions naturelles d'infestation, soit en conditions contrôlées **sous tunnel** après inoculation. Dans les deux cas, une notation visuelle sur une échelle allant généralement de 0 (pour un génotype ne présentant aucun symptôme) à 9 (pour un feuillage complètement grillé) décrite par Pawelec *et al.*, (2006) est attribuée à chaque génotype représenté par 150 à 300 plantes (Figure 1). La première notation est effectuée lorsque le témoin sensible de l'essai obtient une note de 6-7. Une deuxième notation est envisageable 15 jours après.



**Figure 1.** Phénotypage de la résistance de la carotte à *A. dauci* au champ (a) et sous tunnel (b), avec identification d'un génotype sensible (c) et d'un génotype partiellement résistant (d)

Le phénotypage dans ces deux environnements contrastés permet d'obtenir des résultats complémentaires en terme de détection de QTLs de résistance (Le Clerc *et al.*, 2009) ; l'évaluation au champ permettant de cibler probablement des QTLs plus généralistes puisque la plante est confrontée à un mélange de souches du champignon que l'évaluation en tunnel réalisée après inoculation avec une souche. Cette méthode de phénotypage est robuste puisqu'elle a permis de caractériser des QTLs de résistance dans différents fonds génétiques et de les retrouver sur différentes années (Le Clerc *et al.*, 2015). Toutefois, cette méthode cible uniquement la phase symptomatique, ce qui limite la détection de facteurs de résistance qui peuvent intervenir de façon plus précoce au cours de l'interaction. Par conséquent, de nouvelles méthodes ciblant les phases précoces de l'interaction ont été développées (Figure 2).

#### Cycle de développement d'*A. dauci* sur carotte



**Figure 2.** Positionnement du phénotypage « classique » et des méthodes de phénotypage « multi-critères » selon les phases de développement d'*Alternaria dauci* sur la carotte.

**Le comptage du nombre de tubes germinatifs par spore** cible les phases précoces de l'interaction. Cette méthode doit permettre d'évaluer l'aptitude à la pénétration du champignon en fonction du génotype de la plante. L'utilisation d'un fluorophore, le Solophényl Flavine, marqueur de la paroi fongique permet de visualiser les spores du champignon sous microscope à fluorescence (Hoch *et al.*, 2005). En 2010, Boedo *et al.* ont montré que le nombre de tubes germinatifs par spore était significativement inférieur chez une variété sensible (Presto) par rapport à celui observé chez deux variétés partiellement résistantes (Boléro et Texto) 24 heures après inoculation par une souche d'*A. dauci*. Nous avons confirmé ces résultats en comptant un nombre de tubes germinatifs significativement

plus important chez 3 géotypes partiellement résistants (I2, K3 et H4) par rapport à un géotype parent sensible H1, avec en moyenne 3,82 tubes germinatifs pour H1 contre 4,90 ; 5,02 et 5,29 pour I2, K3 et H4, respectivement. Cette méthode est intéressante pour comprendre les mécanismes de résistance précoce. Dans le cas présent, il semble que le champignon rencontrerait plus de résistance à pénétrer dans les feuilles d'un géotype résistant que dans celles d'un géotype sensible, ce qui l'amènerait à réitérer l'émission de tubes germinatifs plusieurs fois. Cependant, cette méthode ne permet pas de discriminer les géotypes résistants entre eux. Ceci rend inapplicable cette méthode à un programme de sélection où les différents niveaux de résistance doivent être distingués les uns des autres (ici H4 est intermédiaire entre le sensible H1 et les deux autres résistants I2 et K3). De plus, cette méthode, très lourde de mise en œuvre, n'est pas envisageable en l'état pour faire du phénotypage haut-débit.

**L'évaluation du taux d'envahissement des tissus par qPCR** permet également de cibler la phase pré-symptomatique et plus particulièrement, le **degré d'envahissement des tissus de la plante par le champignon**. Boedo *et al.* (2010) ont montré que 15 jours après inoculation, la masse fongique est significativement plus importante chez le géotype sensible Presto que chez deux géotypes résistants, Boléro et Texto. L'optimisation du protocole qPCR permet d'utiliser des plaques PCR 384 puits, un volume réactionnel réduit, et une extraction d'ADN avec le kit PL2-PL3 de la société Macherey Nagel. Une analyse réalisée sur six géotypes de carotte a montré que, bien que l'AUDPC (aire sous la courbe de progression de la maladie) basée sur les notes visuelles soit fortement corrélée à la quantité de pathogène *in planta* avec un coefficient de détermination de 0,98, le dosage qPCR d'*A. dauci* apparaît beaucoup plus variable que l'AUDPC et l'analyse statistique ne permet de différencier que 3 groupes au sein des géotypes contre 4 avec la méthode classique (Tableau 1).

**Tableau 1** : Comparaison de l'évolution de la maladie et du dosage *in planta* d'*A. dauci* par QPCR pour un géotype sensible (H1), trois partiellement résistants (H4, I2, et K3) et deux témoins commerciaux (B : variété Boléro résistante et P : variété sensible Presto) inoculés selon la méthode par goutte (Boedo *et al.*, 2010)

Genotypes	AUDPC <sup>1</sup>	Dosage QPCR
H1	3,1 <sup>a</sup>	0,91 <sup>a</sup>
Presto	2,9 <sup>b</sup>	0,79 <sup>ab</sup>
H4	2,7 <sup>c</sup>	0,51 <sup>bc</sup>
I2	2,6 <sup>cd</sup>	0,48 <sup>c</sup>
Bolero	2,5 <sup>d</sup>	0,39 <sup>c</sup>
K3	2,5 <sup>d</sup>	0,36 <sup>c</sup>

**Un test d'inoculation en gouttes sur feuille non détachée** a également été développé par Boedo *et al.* (2010) permettant de caractériser la résistance des géotypes à *Alternaria dauci*. Ce test miniaturisé est réalisé en serre en analysant 5 plantes par géotype. Il est aussi discriminant que le test en plein champ et peut être réalisé à un moment de l'année où les tests en extérieur ne sont pas possibles.

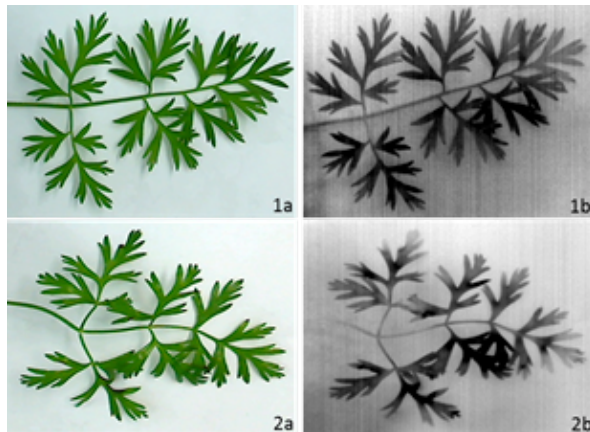
## Nouvelles méthodes de phénotypage de la phase asymptomatique

Plusieurs outils de phénotypage disponibles et développés dans le cadre du projet Phenotic à Angers sur d'autres pathosystèmes ont été testés sur l'interaction carotte/*A. dauci* tels que **la thermographie** et **la mesure de fluorescence de chlorophylle**, deux techniques d'imagerie non conventionnelle utilisées dans des études d'interactions plantes-pathogènes (Chaerle *et al.*, 2007). La thermographie permet d'imager des modifications de chaleur qui peuvent survenir en surface de la feuille lors de stress biotiques ou abiotiques, comme par exemple lors de l'interaction entre un virus (CMV) et le tabac (Chaerle *et al.*, 2007) ou le haricot et la bactérie responsable de la maladie de la graisse commune (*Xap*) (Bove, 2011). Dans ce dernier cas, l'inoculation de la bactérie provoque très rapidement une augmentation de perméabilité des membranes dans feuilles infectées, la destruction de parois cellulaires conduisant à une évaporation d'eau et un refroidissement des surfaces foliaires observables

4 jours après inoculation. Ces modifications biochimiques et physiologiques observées bien avant l'apparition des symptômes correspondent aux surfaces nécrosées visibles quelques jours plus tard. Un logiciel associé à une caméra thermographique convertit les niveaux de température apparente en niveaux de gris sur une image. Nous avons appliqué cette méthode à des plantes de carotte en pot. Après inoculation des plantes par une souche d'*Alternaria dauci* selon la méthode décrite par Pawelec *et al.* (2006), nous avons réalisé une cinétique d'acquisition d'images thermographiques.

Des mesures de fluorescence de chlorophylle ont également été réalisées sur plantes entières au stade 3 à 4 feuilles vraies, sur des feuilles de carotte prises une à une ou regroupées en canopée et sur feuilles détachées. Le rendement maximum de fluorescence du photosystème II ( $Q_{y_{max}}$ ) qui reflète la performance de ce photosystème, peut notamment être évalué. Au cours d'une infection par un pathogène, lorsque les photosystèmes II qui interviennent dans les mécanismes de la photosynthèse en absorbant les photons de la lumière sont perturbés, la phase photochimique de la photosynthèse l'est également et les mesures de fluorescence de la chlorophylle peuvent renseigner sur le niveau de stress subi par la plante. Ces deux méthodes sont utilisées comme étant prédictives des symptômes.

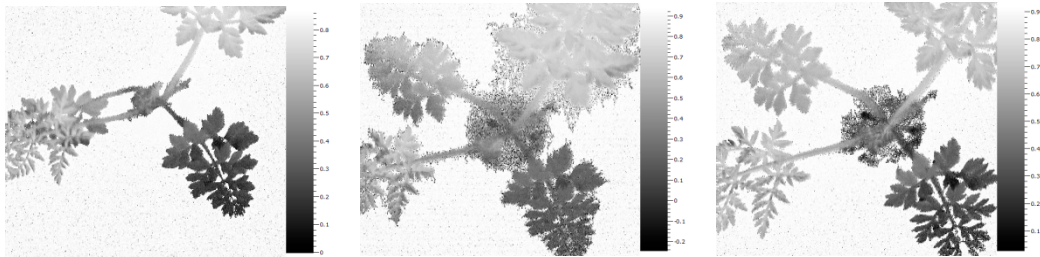
Dans notre cas, nous nous sommes heurtés à des problèmes d'ordre technique ou liés à la nature du matériel végétal lui-même. Les mesures obtenues par thermographie ou par fluorescence ne se sont pas révélées prédictives des symptômes. Des contrastes de température ont notamment été observés en thermographie mais de façon concomitante et non antérieurement à l'apparition des symptômes. De plus, des contrastes ont pu être observés chez les feuilles non inoculées, ceci étant probablement dû à un éloignement plus ou moins important entre la foliole et la caméra, problème qui s'est avéré difficile à résoudre du fait de la non platitude de cette feuille (Figure 3).



**Figure 3.** Photographies de feuilles F3, d'un génotype sensible à *A. dauci*, issues de plantes non inoculées (1a, 1b) ou de plantes 10 jours après inoculation (2a, 2b), en spectre visible (a) versus spectre infra-rouge (b). Les zones plus foncées observées par thermographie 10 jours après inoculation (2b) correspondent aux zones de nécroses observées en lumière visible.

L'imagerie de fluorescence ne nous a pas non plus permis d'observer une surface foliaire importante. En effet, l'illumination des feuilles à différentes profondeurs n'est pas homogène, une feuille saine plus éloignée de l'objectif recevant moins de lumière, apparaît avec un faible rendement de fluorescence de chlorophylle comme s'il s'agissait d'une feuille infectée (Figure 4). Par ailleurs, les différentes parties de la feuille se chevauchent et peuvent facilement bouger. Après plusieurs acquisitions de la même feuille, les aires enregistrées étaient variables, variabilité liée à la difficulté de positionner les feuilles de la même façon étant donné leur découpage très fin. L'acquisition sur feuilles détachées ne s'est pas non plus avérée optimale car même si nous avons observé une décroissance du niveau de  $Q_{y_{max}}$  moyen entre J3 et J6 après inoculation, cela peut être dû à l'impact du flétrissement et de la sénescence de la feuille sur le rendement chlorophyllien des feuilles détachées et non uniquement dû, au niveau de progression de la maladie. Bien que nous ayons testé différents milieux pour accroître leur survie, les feuilles détachées de la carotte semblent trop fines, trop fragiles et trop productrices de polyphénols

pour permettre leur conservation pendant la période nécessaire à la mise en œuvre de la mesure (actuellement 6 jours).



**Figure 4** : illustration de problèmes pour optimiser la résolution tout en gardant les feuilles dans le champ lors de mesure de fluorescence maximale  $Q_{y_{max}}$  sur feuilles de carotte saines en faisant varier le paramètre hauteur de plante (Lambert, 2012). Le rendement de fluorescence maximal des feuilles varie avec la profondeur : les 4 feuilles saines présentent en effet différents niveaux de gris donc différents niveaux de  $Q_{y_{max}}$  (échelle à droite des images).

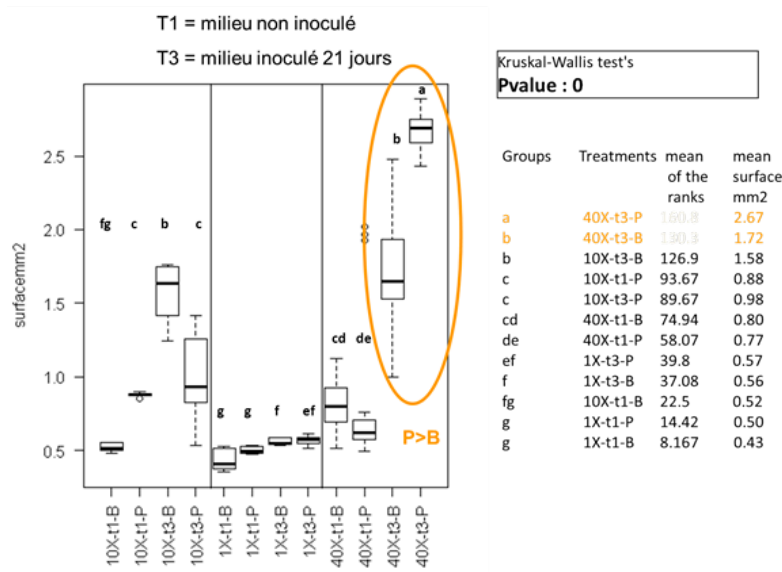
Ainsi, le matériel végétal lui-même, à savoir feuille très découpée et très sensible à la dessiccation et donc au flétrissement ont été des facteurs limitants. Toutefois, le suivi de fluorescence sur feuille détachée reste le plus prometteur, la feuille étant à plat, cela permet de s'affranchir des problèmes de profondeur et de résolution. Reste ensuite à développer un test qui permette d'observer des changements très rapides de fluorescence après inoculation, et qui permette de discriminer nos génotypes tout en étant représentatif du niveau global de résistance de la plante.

### Nouvelles méthodes de phénotypage de la phase symptomatique

Lecomte (2013) a montré que la résistance partielle de la carotte à *A. dauci* serait due en partie à la résistance aux toxines. Des **filtrats bruts de culture** du champignon ont été testés sur cultures cellulaires de différents génotypes résistants et sensibles de carotte afin d'évaluer leur toxicité. Les génotypes sensibles se sont montrés particulièrement affectés dans leur propension à former des embryons somatiques contrairement aux génotypes résistants. Les filtrats bruts de culture d'*A. dauci* sont donc susceptibles de contenir des toxines. Effectuer un tel test sur un grand nombre de génotypes est impossible, les filtrats ont donc été testés sur feuilles détachées.

Deux types de filtrats bruts de culture d'*A. dauci* (culture pendant 9 j (T2) ou 21 jours (T3)) ont été testées sur des feuilles F3 de plantes résistantes et sensibles au stade 5-6 feuilles et ce, à différentes concentrations 1X, 10X et 40X (Figure 5). Des acquisitions d'image ont été réalisées 3 jours après inoculation à l'aide d'un appareil photo fixé sur une loupe binoculaire et analysées à l'aide du logiciel ImageJ.

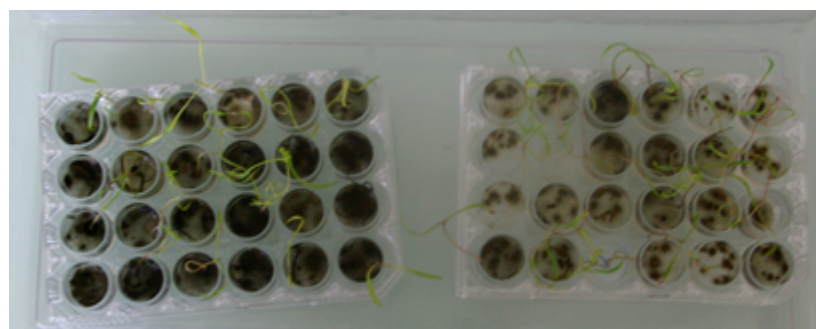
Globalement, les surfaces nécrosées augmentent avec la concentration du filtrat brut. Avec la concentration 40X et le traitement T3, la surface atteinte est significativement supérieure pour Presto par rapport à celle de Boléro. Avec le traitement T2 à 40X, il n'y a pas de différence significative entre Presto (sensible) et Boléro (résistant). Par contre, avec la concentration 10X et ce, quel que soit le traitement T2 ou T3, le classement variétal est inversé et n'est pas en accord avec ce que l'on connaît du niveau de résistance des deux variétés. Ces tests doivent être poursuivis pour s'assurer de la reproductibilité des résultats mais également de la fiabilité de mesures des surfaces nécrosées, le détournement des symptômes étant effectué de façon manuelle mais l'utilisation d'une macro est envisageable. Ils pourront aussi être couplés à l'analyse de la fluorescence de chlorophylle pour une étude de la phase asymptotique car le délai beaucoup plus court pour la mesure serait peut-être compatible avec une survie suffisante de la feuille (voir paragraphe précédent).



**Figure 5.** Mesures (en mm<sup>2</sup>) des surfaces nécrosées et chlorosées après application de filtrats bruts de culture de 21 jours sur la variété sensible (Presto- P) et résistante (Boléro- B)

Caractériser la résistance à un stade précoce représente indéniablement un gain de temps en sélection. Dans cette optique, nous avons développé un test miniaturisé et précoce d'évaluation de la résistance des variétés de carotte, en inoculant des plantules de carotte au stade cotylédons et nous avons évalué indirectement cette résistance en caractérisant le développement de l'agent pathogène dans chaque puits. Pour ce faire, les semences de carotte sont désinfectées et mises à germer sur un milieu de culture dans des plaques Elisa, dans des mini-serres à raison de deux à 3 plaques par génotype. Les mini-serres sont placées en phytotron. L'inoculation en spray a lieu au stade cotylédons déployés et la lecture se fait quelques jours plus tard par observation des plantules et du milieu de culture.

Les premiers essais se sont révélés très prometteurs. Les observations faites à la loupe binoculaire à J+7 après inoculation montrent que sur les plantules du génotype sensible, du mycélium est observable sur l'hypocotyle ainsi que quelques spores sur l'hypocotyle et les cotylédons. Pour le génotype partiellement résistant, quelques spores ont été observées à la base de l'hypocotyle mais en aucun cas, sur les cotylédons. Le champignon s'est développé de façon très différente sur les plaques contenant les génotypes résistants, d'une part, et le génotype sensible, d'autre part. En effet, à J+7 post-inoculation, le champignon s'est développé sur le milieu en présence du génotype sensible mais beaucoup moins en présence du génotype partiellement résistant (Figure 6). L'hypothèse est que le génotype résistant libérerait des métabolites dans le milieu, qui ralentiraient la croissance du champignon. A J+10 post-inoculation, la différence entre cupules avec les deux génotypes est moins flagrante. Les plantules commencent à dépérir et le champignon peut poursuivre son développement.



**Figure 6.** Observation à J+7 après inoculation avec *A. dauci* du test en plaques sur un génotype sensible (à gauche) et un génotype partiellement résistant de carotte (à droite).

Ces essais sont à poursuivre car seuls deux essais sur trois ont conduit aux mêmes conclusions, le 3<sup>ème</sup> n'ayant pas permis de distinguer les génotypes. Il est possible que l'homogénéité des mini-serres utilisées soit en cause. Des analyses complémentaires sont nécessaires.



## Conclusion

L'évaluation de la résistance des variétés aux bioagresseurs est une étape incontournable pour les chercheurs souhaitant caractériser et comprendre les mécanismes de résistance, indispensable également en sélection pour le développement de variétés durablement résistantes et au cœur même du processus d'inscription variétale. Les nouveaux outils ou méthodes développées doivent être reproductibles et apporter un plus par rapport aux méthodes de phénotypage existantes pour un couple hôte/pathogène donné. Pour le couple carotte/*A. dauci*, nous recherchons notamment des méthodes quantitatives, utilisables en amont du phénotypage visuel au champ ou en tunnel, et permettant l'analyse d'un grand nombre de plantes. Parmi la palette très large de méthodes de phénotypage que nous avons testées, certaines sont intéressantes pour progresser dans la compréhension de l'interaction mais sont encore difficilement envisageables pour du phénotypage de masse. Pour d'autres, il est nécessaire d'optimiser le protocole avant d'envisager le phénotypage d'un grand nombre de géotypes qui peuvent être évalués lors des essais d'inscriptions variétales ou dans des programmes de recherche et de sélection. Chaque nouvel outil de phénotypage doit prendre en compte les contraintes inhérentes au matériel végétal lui-même, ce qui nécessite de nombreux ajustements. Le développement de la plateforme de phénotypage Phenotic à Angers (<http://laris.univ-angers.fr/fr/activites-scientifiques/projets/plateformes-1/plateforme-phenotic-1.html>) devrait permettre de faire aboutir certains des projets engagés sur carotte.

## Remerciements

Les auteurs tiennent à remercier toutes les personnes qui ont participé à ce projet, Sabrina Marquès, Sébastien Huet, Linda Voisine, Mickaël Lecomte (IRHS), Perrine David et Monique Henry (HMClause) ainsi que Bernard Peyre (Vilmorin) et l'INEM de l'IRHS Angers. Ce projet a bénéficié de subventions du Ministère de l'Agriculture (AAP CTPS 2010-2013).

## Références bibliographiques

- Ben-Noon E., Shtienberg D., Shlevin E., Vintal H., Dinooor A., 2001. Optimization of chemical suppression of *Alternaria dauci*, the causal agent of *Alternaria* leaf blight in carrots. *Plant Disease* 85, 1149–1156.
- Boedo C., Berruyer R., Lecomte M, Bersihand S., Briard M, Le Clerc V, Simoneau P, Poupard, P., 2010. Evaluation of different methods for the characterization of carrot resistance to the *alternaria* leaf blight pathogen ("*Alternaria dauci*") revealed two qualitatively different resistances. *Plant Pathology* 59, 368-375.
- Bove, 2011. Développement d'une méthodologie de quantification de symptômes sur plantes, basée sur l'imagerie de fluorescence de chlorophylle. Mémoire de fin d'études M2. AgroParis tech. 52p.
- Chaerle L., Leinonen H. G. J. Ilkka, Hamlyn G. J, Van Der Straeten D, 2007. Monitoring and screening plant populations with combined thermal and chlorophyll fluorescence imaging. *Journal of Experimental Botany* 58, 773-784.
- Danan S., 2009. Diversité structurale des locus de résistance à *Phytophthora infestans* chez la pomme de terre et Synténie chez les solanacées. Thèse de doctorat, 230 p.
- Dowkiw A., Husson C., Frey P., Pinon J., Bastien C., 2003. Partial resistance to *Melampsora larici-populina* leaf rust in hybrid poplars: genetic variability in inoculated excised leaf disc bioassay and relationship with complete resistance. *Phytopathology* 93, 421-427.
- Hoch H.C., Galvani C.D., Szarowski D.H., Turner J.N., 2005. Two new fluorescent dyes applicable for visualization of fungal cell walls. *Mycologia* 9, 580–588.
- Lambert, 2012. Caractérisation de la distribution spatiale de pathogènes à la surface de feuilles de plantes par fluorescence de chlorophylle. Mémoire de Master M2 PSI. Université d'Angers, 20p.

Lecomte, 2013. Analyse des mécanismes de défense de la carotte (*Daucus carota*) face au champignon pathogène *Alternaria dauci*, responsable de l'alternariose ou brûlure foliaire. Thèse de doctorat de l'Université d'Angers, 219p.

Le Clerc V., Pawelec A., Birolleau-Touchard, C. Suel, A. Briard, M., 2009. Genetic architecture of factors underlying partial resistance to *Alternaria* leaf blight in carrot. *Theoretical and Applied Genetics* 118, 1251-1259.

Le Clerc V., Marques S., Suel A., Huet S., Hamama L., Voisine L., Auperpin E., Jourdan M., L. Barrot, Prieur R., Briard M., 2015. QTL mapping of carrot resistance to leaf blight with connected populations: stability across years and consequences for breeding. *Theoretical and Applied Genetics* DOI 10.1007/s00122-015-2576-z.

Lefebvre V., Palloix A., 1996. Both epistatic and additive effects of QTLs are involved in polygenic induced resistance to disease. A case-study: the interaction Pepper- *Phytophthora capsici* Leonian. *Theoretical and Applied Genetics* 93, 503-511.

Parlevliet J.E., Ommeren A., 1975. Partial resistance of barley to leaf rust, *Puccinia hordei*. II. Relationship between field trial, micro plot tests and latent period. *Euphytica* 24, 293-303.

Pawelec A., Dubourg C., Briard M., 2006. Evaluation of carrot resistance to *Alternaria* leaf blight in controlled environments. *Plant Pathology* 55, 68-72.

Cet article est publié sous la licence Creative Commons (CC BY-NC-ND 3.0)



<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/3.0/fr/>

Pour la citation et la reproduction de cet article, mentionner obligatoirement le titre de l'article, le nom de tous les auteurs, la mention de sa publication dans la revue « Innovations Agronomiques », la date de sa publication, et son URL)