



Conseil économique et social

Distr. générale
8 janvier 2020
Français
Original : anglais

Commission économique pour l'Europe

Comité directeur des capacités et des normes commerciales

Groupe de travail des normes de qualité des produits agricoles

Section spécialisée de la normalisation des plants de pommes de terre

Quarante-septième session

Genève, 16-17 mars 2020

Point 8 de l'ordre du jour provisoire

Stabilité des cultures de tissus et renouvellement des variétés

Renouvellement des variétés en culture tissulaire – Aperçu soumis par l'Afrique du Sud*

Document soumis par le secrétariat

Le document ci-après a été établi par la délégation d'Afrique du Sud. La Section spécialisée est invitée à examiner la pertinence du protocole et la possibilité de l'appliquer à d'autres pays.

Le présent document est soumis conformément à la section II c) du document ECE/CTCS/2017/10, à la section VII a du document ECE/CTCS/2018/2 et au paragraphe 20.37 du document A/74/6 (sect. 20), et Supplément.

* Le présent document a été soumis à la date susmentionnée pour des raisons techniques.



Service de certification des pommes de terre d'Afrique du Sud – Mode opératoire normalisé pour le renouvellement des variétés

1. Contexte

La pomme de terre étant une culture à multiplication végétative, elle doit être maintenue au stade végétatif pour que les producteurs puissent se procurer du matériel sain. Le matériel ne peut être multiplié à l'infini, et doit être renouvelé régulièrement, en raison du risque de variation somaclonale. Le renouvellement des clones pour la propagation à grande échelle et la multiplication des semences est un gros travail qu'il ne faut pas sous-estimer, dans la mesure où la propagation d'une variété déterminée provient de cinq tubercules. Il faut donc s'assurer avec le plus grand soin que les clones sélectionnés correspondent aux caractéristiques typiques de la variété à renouveler et qu'ils sont exempts de maladies.

Il existe deux cas dans lesquels il faut remplacer ou renouveler une variété de pomme de terre : lorsqu'une variété a été multipliée *in vitro* pendant 12 générations et lorsqu'une variété de pomme de terre présente un défaut pendant la multiplication en plein champ.

La méthode de renouvellement ou de remplacement d'une variété importée qui est préconisée consiste toujours à se procurer un nouveau clone auprès d'une entreprise spécialisée dans l'obtention végétale. Cependant, lorsqu'il faut renouveler une variété, toutes les mesures possibles doivent être prises pour réduire au minimum le risque lié au renouvellement des clones.

Lorsqu'un clone présente un défaut, il est immédiatement retiré de la production, qui se poursuit alors avec les clones restants. Lorsqu'une variété est parvenue à la douzième génération *in vitro*, le service de certification des pommes de terre (SCP) en est informé par le site de conservation, par l'entreprise qui les commercialise ou par les deux à la fois. Le SCP recherchera alors dans sa base de données nationale le plant qui convient, sur lequel il sélectionnera les nouveaux clones. Pendant la phase de sélection et d'initiation, les clones existants peuvent encore être utilisés pour d'autres multiplications jusqu'à la dix-huitième génération. Les clones ne seront remplacés qu'à l'issue du processus de renouvellement, sur instruction du SCP.

2. Portée

Le SCP coordonnera un processus de sélection dans la banque de gènes de cinq clones au minimum pour le renouvellement du matériel. Les clones sélectionnés doivent être conformes aux caractéristiques typiques de la variété à renouveler et doivent être exempts de maladies.

3. Références

Les documents suivants servent de référence au mode opératoire normalisé pour le renouvellement des variétés :

- Protocole de 2013 ;
- Système sud-africain de certification des semences de pommes de terre de 2013 ;
- Mode opératoire normalisé pour la mise au point et l'analyse du matériel conformément au mécanisme approuvé par l'ICCSP (Independent Certification Council for Seed Potatoes).

4. Processus de renouvellement du matériel

Le processus de renouvellement du matériel dans la banque de gènes comprend 13 phases, qui seront supervisées par le SCP, qui sera chargé de déléguer certaines tâches à d'autres parties prenantes et de communiquer des informations en retour sur le déroulement du projet. Le processus ne sera considéré comme achevé que lorsque cinq clones de la variété nouvellement sélectionnée auront été confiés à la banque de gènes ou au détenteur de la variété aux fins de leur utilisation par des clients commerciaux pour la production de semences de pommes de terre.

Les parties intéressées (les personnes intéressées par la variété ou leurs représentants compétents pour identifier la variété) accompagneront le SCP à chaque phase. Toutes les autres parties concernées pourront participer à la sélection et au renouvellement du matériel et se verront confier certaines responsabilités. Ces parties peuvent comprendre le directeur technique du SCP, les responsables de la certification, le propriétaire de la variété, l'obteneur, le directeur de la banque de gènes, le directeur de la recherche de Potatoes South Africa, le directeur technique de Plantovita et le producteur.

Le renouvellement du matériel comporte les 13 phases suivantes :

1. Choix d'un lieu adapté et de plants admissibles
2. Première évaluation sur le terrain et sélection
3. Deuxième évaluation sur le terrain et sélection
4. Dépistage des virus dans les feuilles
5. Récolte des tubercules
6. Évaluation des tubercules
7. Sélection des clones
8. Culture *in vitro*
9. Dépistage des bactéries
10. Dépistage des virus
11. Évaluation des pousses sous lumière diffuse
12. Tests ADN
13. Approbation et remise des clones sélectionnés

4.1 Choix d'un lieu adapté et de plants admissibles

Des lieux adaptés et des plants admissibles seront choisis en utilisant la base de données du SCP. Il est important de choisir un lieu éloigné d'éventuelles sources d'infection avec un faible taux de maladies.

Des clones seront sélectionnés à partir d'unités enregistrées où ont été plantées des semences de pommes de terre certifiées exemptes de maladies de génération 1 ou de génération 2, ce qui facilite l'identification phénotypique, mais à un stade suffisamment précoce pour réduire le risque d'infection. Les minitubercules/matériel de génération 0 plantés peuvent s'écarter de la description phénotypique spécifique de la variété ; c'est pourquoi des plants de la génération 1 ou de la génération 2 présentant des caractéristiques de maturité constituent le matériel préconisé.

4.2 Première évaluation sur le terrain et sélection

Le SCP aidera les parties intéressées à sélectionner 20 plants de pomme de terre de la variété devant être renouvelée lorsqu'ils auront atteint une taille de 20 à 30 cm. Seront sélectionnés les plants qui constituent des exemples typiques, selon la description de la variété donnée par l'Union internationale pour la protection des obtentions végétales (UPOV) ou par le propriétaire de la variété. Ces plants seront clairement signalés et les

plants se trouvant de part et d'autre des plants sélectionnés seront retirés afin que leurs tubercules ne se mélangent pas avec ceux des plants sélectionnés au moment de la récolte.

4.3 Deuxième évaluation sur le terrain et sélection

Une deuxième évaluation aura lieu environ un mois après la première sélection, au stade de la floraison des plants de pommes de terre. C'est alors que l'on peut le mieux reconnaître la variété, sur la base de la couleur des fleurs. Cependant, certaines variétés ne fleurissent pas.

Les caractéristiques morphologiques de chaque plant seront évaluées. Des caractéristiques comme la couleur des plants, la forme des feuilles, la croissance des plants, la couleur des tiges, etc. seront évalués pour s'assurer que les clones sélectionnés constituent bien une forme typique de la variété en question.

Pendant cette évaluation, les 20 plants/clones sélectionnés seront examinés soigneusement par le SCP et par les parties intéressées responsables qui chercheront à détecter une infection par un virus, d'autres maladies et/ou des écarts par rapport à la variété. Toute plante hors-type ou infectée sera retirée de la sélection.

4.4 Dépistage des virus dans les feuilles

À la fin de la période de végétation normale, des échantillons de feuilles seront prélevés un par un par un responsable du SCP sur les clones sélectionnés restants et soumis chez Plantovita à des tests de dépistage du virus Y de la pomme de terre (PVY) et du virus de l'enroulement de la pomme de terre (PLRV), en utilisant le logiciel ELISA comme outil de gestion pour éliminer tout matériel infecté par un virus avant l'initiation.

Les feuilles composées de chacune des fanes seront coupées une par une et emballées ensemble, par plant, dans un sac de prélèvement Bioreba, sur lequel leur origine sera clairement indiquée, et seront placées dans un sac isotherme. Les feuilles de chacun des plants seront testées une par une. Les clones sélectionnés sur lesquels la présence de PVY ou de PLRV aura été détectée seront éliminés. Les parties restantes des clones seront détruites directement après le prélèvement des échantillons de feuilles sur les plants sélectionnés.

4.5 Récolte des tubercules

Au bout de deux semaines (± 14 jours) ou dès que la peau des tubercules s'est formée, tous les tubercules de chaque clone seront prélevés manuellement par un responsable du SCP. Chaque tubercule de clone sera placé dans un sac en polypropylène qui sera étiqueté, fermé et transporté chez Plantovita.

Plantovita disposera le matériel dans une chambre froide sécurisée pendant deux semaines, qui préservera la santé des clones sélectionnés et dans laquelle leur identité sera maintenue.

4.6 Évaluation des tubercules récoltés

Dès réception du matériel par Plantovita, le SCP fixera avec les parties intéressées une date à laquelle les tubercules des clones sélectionnés seront évalués, sur la base de la description que l'UPOV donne de la variété en question. Les clones seront ensuite classés en fonction du nombre de caractéristiques correspondant à la variété qu'ils représentent, ce qui peut inclure le nombre de tubercule par plant, la distribution par taille des tubercules, le rendement, les maladies transmises par le tubercule, la qualité des tubercules, la forme, la profondeur de l'œil, la couleur, les défauts internes, etc.

4.7 Sélection des clones

Tous les clones sélectionnés seront conservés dans les locaux de Plantovita, mais les cinq clones supérieurs, c'est-à-dire ceux qui présentent le plus grand nombre de caractéristiques correspondant à chaque variété, feront l'objet d'une culture tissulaire pour remplacer les précédents clones de la variété se trouvant dans la banque de gènes. Deux

tubercules sélectionnés de chaque clone seront envoyés au centre de culture et les autres tubercules du même clone seront placés dans l'installation des germes exposés à la lumière.

Le centre de culture conservera les tubercules sélectionnés sur chaque clone dans un réfrigérateur pendant environ deux semaines, puis les en sortira pour les faire germer. L'un des tubercules sélectionnés sera gardé en réserve pour une culture *in vitro*.

4.8 Culture *In vitro*

Le stolon et le talon d'un tubercule choisi sur chaque clone sélectionné seront testés pour détecter la présence de l'organisme responsable du flétrissement bactérien, *Ralstonia* spp.

On pourra ensuite suivre l'une des deux méthodes suivantes : l'initiation directe des germes ou l'initiation des bouturages de tige.

4.8.1 Initiation directe des germes

Les germes du tubercule sélectionné de chaque clone sélectionné seront coupés et initiés *in vitro*, par stérilisation superficielle du matériel et placement dans un milieu de culture stérile.

4.8.2 Initiation des bouturages de tiges

Les yeux du tubercule sélectionné sur chaque clone sélectionné seront prélevés et plantés dans une serre anti-insectes approuvée par l'ICCSP. Les bouturages de tige de ces plants seront stérilisés superficiellement et initiés dans une culture tissulaire en vue de leur propagation.

4.9 Dépistage des bactéries

Tout le matériel cultivé *in vitro* doit être testé pour détecter la présence de l'organisme responsable du flétrissement bactérien, *Ralstonia* spp., de l'organisme responsable de la pourriture molle *Enterobacteriaceae* (SRE) et la présence de contamination microbienne en général. Tout clone infecté sera éliminé et le processus recommencera avec un autre des clones sélectionnés conservé chez Plantovita et répondant aux conditions requises.

4.10 Dépistage des virus

Tout le matériel cultivé *in vitro* doit être soumis à un dépistage pour détecter la présence d'une infection virale. L'enroulement de la pomme de terre (PLRV) et le virus Y de la pomme de terre (PVY) doivent être testés par réaction en chaîne par polymérisation (PCR). Tous les autres virus, PVX, PVM, PVA, PVS et TSWV seront testés à l'aide d'ELISA. Tout clone présentant une infection sera éliminé et le processus recommencera avec un autre des clones sélectionnés conservé chez Plantovita et répondant aux conditions requises.

4.11 Évaluation des pousses sous lumière diffuse

Les tubercules prélevés sur chacun des clones sélectionnés dont l'un des tubercules a été utilisé pour l'initiation *in vitro* serviront à la description des germes sous lumière diffuse. Le SCP disposera les tubercules clairement étiquetés sous une lumière diffuse, dans une salle dans laquelle les germes seront exposés à la lumière chez Plantovita, afin qu'ils puissent se développer. Le SCP sera chargé de l'évaluation des germes des tubercules sous lumière diffuse en collaboration avec les parties intéressées. Tous les clones non conformes à la description type des germes sous lumière diffuse de la variété à renouveler seront éliminés.

4.12 Tests ADN

Des test ADN seront effectués à titre de mesure de sécurité supplémentaire pour s'assurer que le matériel est conforme au type. Les profils ADN de plusieurs variétés produites commercialement sont disponibles. Le matériel des clones traités *in vitro*, dont un

autre tubercule prélevé sur le même clone a fait l'objet d'une évaluation sous lumière diffuse, sera ensuite comparé aux profils existants ou au matériel répertorié (dans la banque de gènes) qui constitue la norme de la variété en question. Tout clone s'écartant de la norme sera retiré du matériel sélectionné.

4.13 Approbation et remise des clones sélectionnés

Une fois la correspondance au type confirmée par les observations de terrain, les évaluations des germes exposés à la lumière diffuse réalisées, les empreintes génétiques relevées et l'évaluation des tubercules achevée, et après que les clones ont été soumis à tous les tests de dépistage des maladies, le matériel pourra être transmis à la banque de gènes et être mis à la disposition des clients commerciaux pour la production de semences.

Le SCP présentera un rapport écrit sur la sélection, le renouvellement et la mise à disposition de la variété à des fins commerciales, sur la base duquel les clones se trouvant dans la base de la banque de gènes pourront être remplacés.

5. Critères d'introduction dans la banque de gènes

Les éléments suivants font partie des critères d'introduction dans la banque de gènes ou des étapes à suivre à cette fin :

- Sélection de cinq clones
 - Prélèvement de tubercules issus du même clone pour identification des germes sous lumière diffuse
 - Sélection d'un tubercule pour initiation des plantules *in vitro*
 - Test de dépistage du stolon et du talon pour la détection de bactéries
 - Prélèvement de germes (du côté latéral) ou d'yeux
 - Initiation directe
 - Croissance dans une serre anti-insectes
 - Test de dépistage des virus dans les feuilles
 - Stérilisation superficielle des tiges
 - Initiation des bourgeons
 - Culture *in vitro*
 - Profilage ADN
 - Test de dépistage des bactéries et des virus
 - Transmission à la banque de gènes après attestation de la pleine conformité
 - Mise à disposition du matériel
-