



## RÉSUMÉ

Face à la réduction des fumigants en cultures légumières, l'utilisation de matériel végétal résistant reste un des principaux moyens de protection pour les maladies vasculaires. Cependant cette alternative utilisée seule ou sans stratégie de durabilité peut se traduire par une adaptation des bioagresseurs et l'apparition de nouvelles races et de nouveaux cortèges de bioagresseurs. L'objet du projet VASCULÉG est d'abord d'identifier les maladies et ravageurs émergents actuellement dans les systèmes de production, ensuite de proposer des itinéraires innovants et durables reposant sur des combinaisons de techniques alternatives aux pesticides économiquement viables, respectueux de l'environnement et assurant la protection des plantes et enfin d'identifier de nouvelles sources de résistance, notamment polygéniques.

### PROTECTION AGAINST VASCULAR DISEASES IN VEGETABLE CROPS : VASCULÉG, A PROGRAMME IN PURSUIT OF SUSTAINABLE SOLUTIONS

Faced with the need to curtail the use of fumigants in vegetable crops, the use of resistant plant material is still one of the key means of protecting crops against vascular diseases. However, this alternative, when used alone or without a sustainability strategy, can result in adaptation of the bio-aggressors and the emergence of new races and new contingents of bio-aggressors. The aims of the VASCULÉG project are first to identify diseases and pests currently emerging in production system; then to propose innovative and sustainable alternatives to pesticides in the form of combinations of techniques that are economically viable, safe for the environment and able to protect plants; finally, to identify new sources of resistance, particularly polygenic.

1 - VASCULÉG : Maîtrise des maladies vasculaires telluriques en cultures maraîchères : comment préserver durablement l'efficacité du greffage et des résistances variétales par l'intégration de techniques complémentaires ?, projet soutenu financièrement par le Casdar et labellisé par le GIS PICLég.

# PROTECTION CONTRE LES MALADIES VASCULAIRES DES CULTURES LÉGUMIÈRES

## VASCULÉG<sup>1</sup>, UN PROGRAMME À LA RECHERCHE DE SOLUTIONS DURABLES

*L'évolution des pratiques du fait de la réduction des moyens de protection chimique disponibles et de l'arrivée d'innovation comme des résistances variétales n'est pas sans conséquences sur le cortège des bio-agresseurs et de leurs importances respectives. Les maladies vasculaires n'y font pas exception et c'est ainsi que l'on peut observer une augmentation des dégâts en culture en particulier liés aux fusarioses vasculaires et aux Verticillium.*



> MALGRÉ L'UTILISATION DU GREFFAGE LES CAS DE VERTICILLIUM SONT DE PLUS EN PLUS FRÉQUENT SUR AUBERGINE



## 60 ANS DE RECHERCHE

D'une manière générale, la protection chimique n'a jamais donné entièrement satisfaction pour ce type de pathogène. Aussi, avec plus ou moins de réussite, la recherche s'est orientée vers les résistances variétales. Les premiers travaux ont commencé dans les années 50 et se poursuivent à l'heure actuelle. Néanmoins, dans de nombreux cas, l'utilisation de ces résistances ont tendance à provoquer une adaptation du pathogène et de nouvelles races sont apparues contournant les gènes de résistances mis en œuvre.

## UNE BIOLOGIE SPÉCIFIQUE LES RENDANT DIFFICILEMENT CONTRÔLABLES

La spécificité des champignons et des bactéries provoquant des maladies vasculaires ou trachéomycoses est de se développer dans les vaisseaux et de réduire, voire empêcher, le transfert des éléments ce qui provoque, en cas de fortes demandes, des flétrissements voire des mortalités d'abord de certaines parties, puis de la totalité des plantes (Tableau 1). L'autre spécificité concerne la quantité d'inoculum primaire suffisante pour provoquer des dégâts: celle-ci est le plus souvent faible ce qui ce n'est généralement pas le cas des pathogènes provoquant des nécroses et des pourritures. Ainsi, à titre d'exemple, un microscélrote par gramme de sol suffit à induire plus de 5 à 15 % d'infection pour des cultures comme le fraisier (Harris et Yang, 1996), le chou-fleur (Xiao et Subbarao, 1998) ou l'artichaut (Bergebégal et al., 2007). Une faible augmentation de la concentration en inoculum provoque une augmentation importante des dégâts, et à partir de trois microscélrotés par gramme de sol ce sont près de 40 % des plantes qui sont infestées avec une diminution significative du rendement pour l'artichaut (Bergebégal et al., 2007). En revanche, les niveaux de populations que l'on peut retrouver dans les sols contaminés sont à des niveaux de populations beaucoup plus élevés.

Pour les *Fusarium oxysporum*, la situation est plus compliquée dans la mesure où les différentes espèces de *Fusarium* font parties de la microflore naturelle

**TABLEAU 1: LES PRINCIPALES MALADIES VASCULAIRES DES CULTURES LÉGUMIÈRES**

| Les pathogènes                                                            | Les cultures atteintes                                                                                                                                                                                                                       |
|---------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Bactéries</b>                                                          |                                                                                                                                                                                                                                              |
| <i>Clavibacter michiganensis</i> subsp. <i>michiganensis</i> <sup>1</sup> | Tomate                                                                                                                                                                                                                                       |
| <i>Clavibacter michiganensis</i> subsp. <i>sepedonicus</i> <sup>1</sup>   | Pomme de terre                                                                                                                                                                                                                               |
| <b>Champignons</b>                                                        |                                                                                                                                                                                                                                              |
| <i>Fusarium oxysporum</i> différentes formes spéciales                    | Melon, tomate, concombre, pastèque, céleris, épinard, betterave, haricots, choux, pois...                                                                                                                                                    |
| <i>Verticillium dahliae</i> , le plus fréquent en France                  | Tomate, aubergine, poivron, artichaut, cardon, melon, pomme de terre, laitue... Capable de provoquer des dégâts sur plus de 400 plantes différentes dont des adventices telles que la capselle bourse à pasteur, le séneçon, les laitrons... |
| <i>Verticillium albo-atrum</i>                                            | Poivron, pomme de terre, tomate, aubergine, laitue<br>Capable de provoquer des dégâts sur plus de 200 plantes différentes                                                                                                                    |
| <i>Verticillium longisporum</i> <sup>2</sup>                              | Crucifères: chou-fleur, colza...                                                                                                                                                                                                             |
| <i>Pythium tracheiphilum</i>                                              | Laitue, artichaut, choux chinois, mais aussi des adventices comme le séneçon                                                                                                                                                                 |

1: organisme de quarantaine.

2: Longtemps considéré comme une forme spéciale de *Verticillium dahliae*, aujourd'hui espèce spécifique à part entière.

du sol et ne sont pas toutes pathogènes. Les *Fusarium* non pathogènes peuvent représenter de 30 à 40 % de la mycoflore du sol (Rouxel et al., 1977). La quantification d'une forme spéciale est, pour le moment, laborieuse devant passer par une phase de biotest, même si des avancées sont effectuées avec les techniques moléculaires. Le niveau d'inoculum des sols peut être très différent d'une parcelle à l'autre: par exemple de 5 à 5 000 CFU/g de sol<sup>2</sup> pour *F. oxysporum* f. sp. *niveum* (Zhou et Everts, 2003). En théorie, comme pour le *V. dahliae*, il n'y a pas besoin d'une grande quantité d'inoculum pour provoquer une infection. Néanmoins, le niveau d'attaque est sous la dépendance, entre autres, de la quantité d'inoculum présent dans la parcelle considérée.

Les formes de conservation longue durée dans le sol sont les microscélrotés pour le *V. dahliae* qui peuvent survivre près de 13 ans dans le sol, et les chlamydospores pour le *F. oxysporum*. Par

2 - CFU = Number of colony forming units per gram, c'est-à-dire le nombre d'unités formant colonies (UFC) par gramme de sol.

contre, ce ne sont pas les seules formes d'infection possibles. Pour le *V. dahliae*, le mycélium « restant » après infection peut survivre pendant 1 à 2 ans. Et pour le *F. oxysporum*, les macroconidies et les microconidies sont également aptes à provoquer des infections, même si différents travaux ont montré que cette dernière forme est rapidement lysée au contact de la flore tellurique (Messian et al., 1965). De plus, les *F. oxysporum* ont une capacité à avoir un développement saprophytique, ainsi ils sont capables de survivre dans les sols en absence de plantes hôtes pendant une longue période, dix ans et plus. Le *F. oxysporum* f. sp. *melonis* a la capacité de coloniser les racines de différentes plantes non hôtes (Gordon et al, 1989) avec des différences entre elles; ainsi, le maïs serait moins favorable à *F. oxysporum* f. sp. *melonis* que le soja (Banihashemi et De Zeeuw 1975). Le *V. dahliae* peut coloniser les racines de nombreuses plantes et par conséquent, maintenir sa population sans aucun impact apparent sur des plantes comme par exemple sur les graminées, réputées non hôtes (Krikun et Bernier, 1990).

De plus, les *F. oxysporum* sont résistants



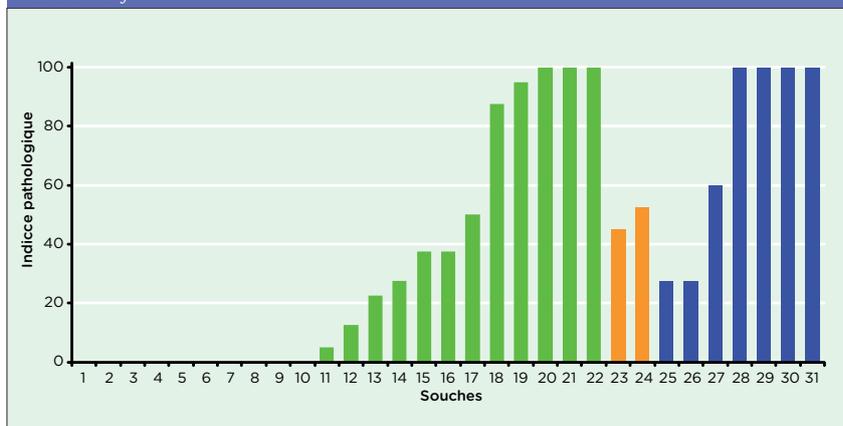
au gaz carbonique (Louvet et Bulit, 1964) ce qui explique en partie pourquoi on peut les retrouver à grande profondeur (1 m à 1,50 m) ce qui les rend difficilement accessible aux traitements chimiques et à de nombreuses méthodes de protection directes. Par contraste, la concentration en microsclérotés de *V. dahliae* diminue avec la profondeur, la majeure partie des microsclérotés viables se trouve dans les trente premiers centimètres (Atallah et al., 2011).

### INTERACTION AVEC LES AUTRES BIOAGRESSEURS DU SOL

Que se soit les *F. oxysporum* ou les *Verticillium* ceux-ci ont la capacité de pénétrer directement dans les racines. Dans le cas de *F. oxysporum* f. sp. *melonis*, la pénétration des hyphes mycéliens se fait préférentiellement au niveau du démarrage des racines secondaires. Alors que pour le *V. dahliae*, elle se fait préférentiellement au niveau des coiffes racinaires ou au niveau des intersections déjà âgées des racines secondaires. Par contre, différents travaux ont montré des interactions avec d'autres bioagresseurs du sol, en premier lieu les nématodes. Néanmoins, les travaux montrent des résultats contradictoires pour le *F. o. f. sp. melonis*. Un certain nombre d'études montre une réduction des dégâts causés par la fusariose lors de la présence de nématodes de type *Meloidogyne* (Orion et Netzer, 1981). Par contre d'autres études montrent une corrélation entre le pourcentage de plantes infestées par les *F. oxysporum* et les populations de nématodes, *Meloidogyne* en particulier et cela chez différentes cultures (Maheswari et al., 1997). Dans le cas du coton, cette interaction est dépendante de la race. Les dégâts induits par les races 1 à 3 de *F. oxysporum* f. sp. *vasinfectum* s'observent en présence de *M. incognita* (Hyer et al., 1979, DeVay et al., 1997). Dans ce cas, la protection contre les nématodes permet de juguler le *Fusarium*. Par contre, les infestations liées à la race 4 ne sont pas en relation avec la présence de nématodes (Bennett et al., 2011).

Dans les suivis faits sur des melons présentant des symptômes de dépérissement issus des différentes zones de production, il est fréquent d'isoler différents pathogènes sur les racines en asso-

**FIGURE 1 :** Test de pathogénicité *in vitro* sur plantules de melon de différents isolats de pathogènes isolés de racines de melon présentant des symptômes de fusariose entre 2003 et 2004, (vert : *Pythium* sp.; orange : *Pyrenochaeta terrestris* et bleu : *Didymella bryoniae*)  
Source : Cifl



ciation avec le *F. o. f. sp. melonis*. Parmi ceux-ci, citons : *Pythium* sp., *Phytophthora* sp., *Rhizoctonia solani*, *Colletotrichum coccodes*, *Macrophomina phaseolina*, *Didymella bryoniae* et même *V. dahliae*. Le pouvoir pathogène de ces isolats a été démontré (Villeneuve et Maignien, 2008) (Figure 1). Néanmoins se pose la question de leur rôle dans le processus infectieux : sont-ils présents parce que les plantes sont affaiblies par la présence du *F. o. f. sp. melonis* ou inversement leur présence affaiblissant les plantes la pénétration du *F. o. f. sp. melonis* et son développement dans les vaisseaux sont-ils favorisés ? Dans une étude sur les interactions entre le *R. solani* et le *F. oxysporum* sur soja, Datnoff et Sinclair (1988) montrent que l'infection des racines par *R. solani* est moins fréquente lors de la présence de *F. oxysporum*. Par contre, en présence de *R. solani* les infections par *F. oxysporum* sont plus fréquentes. Ils concluent que l'interaction semble être du type additif.

### MOYENS DE PROTECTION

Seul la désinfection des sols avec du bromure de méthyle permettait un niveau de protection correct. Toutefois pas sans inconvénients, en particulier différentes études ont montré la capacité des bioagresseurs à recoloniser rapidement les sols désinfectés, les maladies vasculaires n'y font pas exception comme cela a été montré pour *F. oxysporum* f. sp. *melonis* (Marois et al., 1983) Pour pallier cette situation, les producteurs ont re-

cours soit au hors sol, soit à l'utilisation de matériel végétal résistant (directement avec des variétés ou indirectement au travers du greffage). Le hors sol apporte une solution mais implique des choix technico-économique lourds dans un marché fortement concurrentiel qui limite en pratique la gamme des espèces sous serre (principalement tomate, concombre et fraise) et pour certains créneaux de production.

Compte tenu de la durée de survie dans le sol des formes de conservation de ces deux champignons, des capacités saprophytiques et de la sensibilité de certaines adventices, l'allongement de la rotation des cultures par l'introduction de cultures non hôtes ne donne que très peu de résultats. Il est nécessaire d'être pro-actif et de combiner les techniques de protection pour espérer avoir des résultats satisfaisants, surtout en cas de fortes pressions ou de conditions particulièrement favorables.

### LA RÉSISTANCE GÉNÉTIQUE CHEZ LES VARIÉTÉS

Face aux difficultés de protection contre les maladies vasculaires, très rapidement la recherche de résistances génétiques a fait l'objet de travaux. Pour le melon, les études ont commencé dans les années soixante à la station INRA de Montfavet (84) (Messiaen et al., 1962). Assez rapidement, il a été observé de nouvelles races face aux gènes mis en œuvre dans le matériel résistant (Risser et al., 1973). Concernant la tomate et la résistance à *V. dahliae*, c'est en 1951 que Schaible et al. ont mis en évidence



le locus Ve chez une espèce sauvage de tomate: *Solanum* (ex *Lycopersicon*) *esculentum* var UTAH 655. Mais dès 1957, une nouvelle race, désignée race 2, a été identifiée et aujourd'hui mise en évidence dans de nombreux pays.

Certains gènes mis en œuvre sont dominants, d'autres résistances sont polygéniques avec des facilités plus ou moins grandes pour les incorporer dans des variétés acceptées par le marché.

#### LA RÉSISTANCE GÉNÉTIQUE UTILISÉE AU TRAVERS DU GREFFAGE

Une manière d'utiliser les résistances génétiques plus rapidement est l'emploi du greffage. La technique, signalée dès le cinquième siècle en Chine et utilisée au Japon et en Corée à la fin des années 1920 pour les cultures sous abris (Lee et Oda, 2003), a été reprise par les Hollandais en 1947 pour la protection contre la fusariose du concombre et du melon (Louvet, 1955), puis développée sur tomate et aubergine pour se protéger de la fusariose vasculaire et de la verticilliose dans différents pays (Beyries, 1974; Louvet, 1976...). Suite au retrait du bromure de méthyle, mais aussi pour répondre à divers autres objectifs (résoudre des problèmes phytosanitaires telluriques, accroître la vigueur et le rendement des plantes, permettre la culture en conditions édaphiques limites - températures basses, salinité du sol...), le greffage tend à se généraliser en France et dans le monde (Cohen et al., 2007; Kubota et al., 2008; Rivard et Louws, 2008) (Tableau 2). Malgré que cette pratique représente la technique non chimique qui a le plus de potentiel, on assiste à une augmentation de la pression des maladies vasculaires (Garibaldi et Minuto, 2003; Blancard et al., 2007; Erard et Odet, 2008) et la mise en pratique du greffage a permis de mettre en exergue certaines limites :

- les porte-greffes disponibles ne présentent pas assez de résistances (aubergine, poivron, concombre) et sont insuffisamment caractérisés (pas d'inscription obligatoire au catalogue officiel, néanmoins des évolutions sont en cours);
- des problèmes phytosanitaires apparaissent après plusieurs années d'utilisation de cette technique (ex: contournement des résistances, émergence de nouveaux agents pathogènes...);
- le greffage, s'il répond ponctuellement aux besoins de la culture vis-à-vis de certains bioagresseurs spécialisés, ne per-

**TABLEAU 2 : SITUATION FRANÇAISE DES CULTURES POTENTIELLEMENT GREFFÉES**

|           |                                                                                                                                                                     |
|-----------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Tomate    | 90 % des cultures sous serres et abris sont greffées (sol et hors sol) sur porte-greffes hybrides de type KNVFFr                                                    |
| Concombre | 100 % des cultures sous serres sont greffées (en sol) sur porte-greffes hybrides de type Cucurbita ficifolia ou hybride C. maxima X C. moschata                     |
| Aubergine | 90 % des cultures sous abris sont greffées (en sol) sur porte-greffes hybrides de type KNVFFr et <i>Solanum torvum</i>                                              |
| Melon     | 90 % des cultures sous abris sont greffées (en sol) sur porte-greffes de type courge, développement en plein champ mais plutôt avec des porte-greffes de type melon |
| Poivron   | Des travaux d'expérimentation, mais pas de développement commercial                                                                                                 |
| Courgette | Des travaux d'expérimentation, mais coût trop élevé par rapport à la culture pour un développement de la technique.                                                 |
| Pastèque  | Technique utilisée                                                                                                                                                  |

met pas une gestion durable et globale des maladies et ravageurs polyphages présents dans les parcelles;

- des ajustements dans les itinéraires techniques (fertilisation, densité, irrigation, etc.) doivent être mis au point et validés pour mieux prendre en compte la réalité physiologique de cette nouvelle entité qu'est une plante greffée.

#### ÉVOLUTION DE L'AGRESSIVITÉ ET DES BIOAGRESSEURS RENCONTRÉS

Depuis une quinzaine d'années, les producteurs utilisent du matériel végétal présentant des résistantes. Ainsi pour le melon, toutes les variétés employées sont résistantes aux races 0 et 1 et une majorité à la race 2 de *F. o. f. sp. melonis*. Pour l'aubergine, c'est le greffage qui est utilisé principalement pour gérer les problèmes de *Meloidogyne* et de *V. dahliae*. Dans les deux cas, malgré l'utilisation de ces résistances, les producteurs se trouvent toujours confrontés à des problèmes de dépérissement racinaires. Pour l'aubergine, les travaux de Blancard et al. (2007) ont montré qu'il y avait d'une part, mise en place d'un cortège de bioagresseurs spécifiques aux porte-greffes (*Phytophthora nicotianae*, *Colletotrichum coccodes*, *Rhizoctonia solani* et *M. hapla*), mais aussi d'autre part, adaptation des « anciens » bioagresseurs, avec l'émergence de nouvelles races pour *V. dahliae* et *M. arenaria*. De plus, le greffage ne permet pas non plus de

répondre à la gestion des nématodes sur l'ensemble des cultures de la rotation à court et moyen termes.

Pour le melon, la prépondérance du *F. oxysporum* f. sp. *melonis* race 1.2 jaunissante a été montrée dans les différents bassins de production, même si, d'autres pathogènes peuvent être rencontrés et à l'origine de mortalité tels que *R. solani*, *Pythium* sp., *Didymella bryoniae* -stade sexué- (*Phoma cucurbitacearum* -stade asexué-), *Pyrenochaeta terrestris* (*Phoma terrestris*), *Phomopsis sclerotoides*, *Macrophomina phaseolina*, *V. dahliae*... (Villeneuve et Maignien, 2005). Ce résultat corrobore les études précédemment entreprises (Perchepied et Pitrat, 2004). Des cas de dépérissement ont été observés dans des parcelles cultivées avec des variétés greffées et des problèmes de *Fusarium* sp. et de *M. phaseolina* ont été mis en évidence sur les porte-greffes utilisés (Villeneuve, résultats non publiés). Par ailleurs, dans le cas de *F. oxysporum* f. sp. *melonis*, se pose le problème de la variabilité du pouvoir pathogène et de l'agressivité des souches nouvellement rencontrées. Elles présentent des niveaux d'agressivité globalement plus élevés que les souches de référence utilisées dans le cadre de l'inscription des variétés au Catalogue officiel (Villeneuve et al., 2008, 2009). Enfin, les travaux de Buffière et Taussig (2004) ont également mis en évidence l'importance de la qualité du greffage et de la plantation dans les risques d'affranchissement ou de fran-



chissement du point de greffe, facteurs permettant aux pathogènes « traditionnels » d'infester les plants d'aubergine ou de melon.

#### ACCOMPAGNER LA SOLUTION GÉNÉTIQUE

Face à ce constat, il apparaît clairement que la solution génétique ne doit pas être employée seule, mais s'accompagner d'autres techniques comme le respect de la prophylaxie, voire la mise en œuvre de pratiques spécifiques visant à s'occuper de la santé du sol, telles que les plantes de coupure, les agents de protection biologique, les extraits de plante, la biodésinfection, etc. De nombreuses études ont porté sur des techniques non chimiques, avec certains succès, mais globalement avec des efficacités le plus souvent insuffisantes en cas de fortes pressions parasitaires ou face à des souches particulièrement agressives.

Ces techniques, malgré des modes d'actions divers, jouent sur les équilibres biologiques des sols soit en modifiant les populations naturellement présentes, soit en essayant d'introduire de nouveaux agents.

Par les possibilités citons l'incorporation des résidus de certaines cultures (ex: brocoli...) ou de certaines plantes, (ex: *Cistus albidus*, *Lavandula stoechas*) qui en jouant sur les populations de micro-organismes présentent dans le sol, peuvent permettre une réduction du nombre de microsclérotés de *V. dahliae*; (Xiao et al., 1998; Lopez-Escudero et al., 2007); des résidus de laitue, en essais en pot, ont montré des effets intéressants vis-à-vis de *F. oxysporum* f. sp. *radicislycopersici* en culture de tomate (Jarvis et Thorpe, 1981), de même que l'effet allélopathique de laitue broyée et enfouie dans le sol réduit la densité d'inoculum primaire de *F. oxysporum* f. sp. *radiciscucumerinum* (Pavlou et Vakalounakis, 2005). L'utilisation de la vesce velue (*Vicia villosa*), ou de la moutarde brune (*Brassica juncea*) comme plante de couverture en hiver et incorporée au sol au printemps permet de réduire le niveau des attaques liées à *F. oxysporum* f. sp. *niveum* dans des cultures de pastèques, les résultats étant meilleurs lorsque la variété de pastèque utilisée présente un niveau de résistance modéré en comparaison avec des variétés sensibles (Zhou et Everts, 2004, Zhou et Everts, 2007,

► TABLEAU 3 : LES DIFFÉRENTS PARTENAIRES DU PROJET VASCULÉG

|                                                                          | Aubergine | Melon |
|--------------------------------------------------------------------------|-----------|-------|
| <b>Recherche</b>                                                         |           |       |
| INRA Avignon UMR Unité de Génétique & Amélioration des Fruits et Légumes | ✓         | ✓     |
| INRA Dijon UMR 1347 Agroécologie                                         | ✓         | ✓     |
| <b>Institut technique et stations régionales</b>                         |           |       |
| Ctifl Lanxade et Balandran                                               | ✓         | ✓     |
| ACPEL                                                                    |           | ✓     |
| APREL                                                                    | ✓         |       |
| Cefel                                                                    |           | ✓     |
| CEHM                                                                     |           | ✓     |
| Invénio                                                                  | ✓         |       |
| <b>Firmes semencières</b>                                                |           |       |
| ASL                                                                      |           | ✓     |
| Clause                                                                   |           | ✓     |
| Enza Zaden                                                               | ✓         | ✓     |
| Gautier semences                                                         | ✓         | ✓     |
| Monsanto                                                                 |           | ✓     |
| Rijk Zwaan                                                               | ✓         | ✓     |
| Sakata                                                                   |           | ✓     |
| Syngenta seeds                                                           | ✓         | ✓     |
| Takii                                                                    | ✓         | ✓     |
| Vilmorin                                                                 | ✓         |       |

Njoroge et al., 2008).

De même, l'utilisation des micro-organismes a été largement étudiée, surtout depuis la mise en évidence des sols résistants, notamment en France, dans la région de Chateaufort dont des agents de lutte biologique sont issus (Louvet et al., 1976). En particulier, le travail sur les isolats non pathogènes de *F. oxysporum* a révélé leur potentiel d'utilisation dans la prévention des maladies liées aux *Fusarium* (Alabouvette et al., 2007). Néanmoins, et bien que les résultats au laboratoire montrent un bon niveau d'efficacité, les réductions de maladie restent souvent insuffisantes en conditions de production d'où l'intérêt de les associer au greffage. De même, des apports de divers composts et amendements organiques à base de déchets végétaux (Hernandez et al, 2005; Yogev et al., 2006) montrent parfois des niveaux d'efficacité élevés en conditions de laboratoire, mais leur transfert au champ s'avère délicat en pratique. Cependant, ces travaux de recherche dégagent des pistes de travail à explorer... Les effets combinés de la solarisation et

de l'enfouissement de résidus de culture ont permis de contrôler le développement des populations de *M. phaseolina* et *F. oxysporum* f. sp. *cumini* en milieu semi arides (Israel et al., 2005).

Divers extraits de plantes ont montré également une certaine efficacité (Bowers et Locke, 2000): extrait d'ail sur pois chiche (*Cicer arietinum*) dans le cas du *F. oxysporum* f. sp. *ciceri* (Chand et Singh, 2005), extrait de pamplemousse sur glaïeul (*Gladiolus* sp.) dans le cas du *F. oxysporum* f. sp. *cyclaminis* (Orlikowski et al., 2001).

#### LE PROJET VASCULÉG

Si toutes ces techniques de protection non chimique prises une à une montrent une efficacité, elles s'avèrent le plus souvent présenter un manque de reproductibilité dans toutes les situations et dans de très nombreux cas sont insuffisantes. Aussi est-il nécessaire d'avoir une démarche globale, systématique, combinant différentes stratégies pour assoir les résultats, les rendre plus



fiables et si possible durable. C'est l'ambition du projet VASCUlég porté par le Ctifl qui a pour objet :

- de faire l'état des lieux de la situation phytosanitaire chez les producteurs et d'identifier les maladies et ravageurs émergents dans les systèmes de production utilisant des techniques alternatives à la désinfection chimique (en particulier le greffage) en sol ;
  - de chercher les meilleures combinaisons de techniques alternatives de protection pour proposer aux producteurs des systèmes de production innovants et durables, garantissant à la fois un niveau de protection élevé, le maintien de la performance technico-économique des exploitations et des pratiques respectueuses de l'environnement ;
  - de caractériser les interactions « hôtes-pathogènes », qui aboutissent à l'apparition de nouvelles races et/ou à des virulences supérieures ;
  - d'identifier de nouvelles sources de résistance au sein des ressources génétiques pour proposer du matériel végétal innovant et hautement résistant à utiliser en porte-greffes ou dans les programmes de sélection.
- Pour mener à bien ce projet sur trois ans 23 partenaires se sont regroupés (Tableau 3).

#### MIEUX CONNAÎTRE LA SITUATION CHEZ LES PRODUCTEURS

Du fait que depuis plusieurs années, les producteurs utilisent du matériel végétal possédant des facteurs de résistances, il apparaît important de déterminer avec précision la fréquence et la sévérité des maladies vasculaires, les surfaces concernées, les dégâts et les incidences économiques à partir de cas de maladies observées sur le terrain. Pour ce faire des échantillons sont envoyés au Ctifl à Lanxade par les différents partenaires. Après réception, les échantillons sont débarrassés et nettoyés à l'eau afin d'effectuer une observation fine du système racinaire. À l'issue de cette opération, le matériel végétal est choisi pour réaliser les isolats microbiologiques. Afin d'isoler les différents champignons pathogènes pouvant être inféodés aux problèmes de dépérissement un milieu généraliste est utilisé (PDA supplémenté d'ampicilline). Concernant les échantillons d'aubergines et ceux de melon pouvant potentiellement être colonisés par *V. dahliae*, un milieu

**TABLEAU 4 : EXPRESSION DE LA RÉSISTANCE DE LA GAMME DE VARIÉTÉS TÉMOINS UTILISÉES POUR LA DÉTERMINATION DE LA RACE DE *FUSARIUM OXYSPORUM* F. SP. *MELONIS* OU DE *V. DAHLIAE***

| Melon                                          |        |        |                                                           |          |                  |
|------------------------------------------------|--------|--------|-----------------------------------------------------------|----------|------------------|
| Gènes                                          | Race 0 | Race 1 | Race 2                                                    | Race 1-2 | Variétés         |
| Aucun gène de résistance                       | S      | S      | S                                                         | S        | Charentais T     |
| Fom-1                                          | R      | S      | R                                                         | S        | Védrantais       |
| Fom-2                                          | R      | R      | S                                                         | S        | Charentais Fom 2 |
| Fom-1 Fom-2                                    | R      | R      | R                                                         | S        | Margot           |
| Fom-1 Fom-2 + résistance polygénique récessive | R      | R      | R                                                         | r        | Isabelle         |
| Aubergine                                      |        |        |                                                           |          |                  |
| Gènes                                          | Race 1 | Race 2 | Variétés                                                  |          |                  |
| Aucun gène de résistance                       | S      | S      | Tomate: Marmande verte<br>Aubergine: Liu Yé Qié et LF3-24 |          |                  |
| Ve (Ve1)                                       | R      | S      | Tomate: Marmande VR                                       |          |                  |
| résistance polygénique récessive               | S      | r      | Tomate: IRAT L3 et Mel 26681 70 g                         |          |                  |

semi-sélectif est également utilisé (NP10). Pour l'identification des races de *F. oxysporum* f. sp. *melonis* et de *V. dahliae*, des biotests sont effectués en utilisant le matériel végétal ad hoc (Tableau 4). Si la notion de race est bien déterminée pour le melon, dans le cas du *V. dahliae* c'est moins vrai. Pour les champignons potentiellement isolés, leur pouvoir pathogène est testé soit *in vitro*, soit *in vivo* par biotest. Dans le premier cas, de jeunes plantules de melon sont inoculées deux semaines après leur germination en plaçant un explant de culture mycélienne âgée de 1 à 2 semaines contre la racine au niveau du quart supérieur. Dans le deuxième cas, l'inoculum est mélangé au substrat dans lequel on sème une variété sensible de melon. Pour les souches de *F. oxysporum* f. sp. *melonis*, l'agressivité est caractérisée par un biotest à partir de variétés de référence qui permettent de qualifier l'agressivité des souches par rapport au matériel végétal et qui servent de référence à l'inscription des variétés au catalogue officiel français (CTPS) : la variété Margot, résistante aux races 0, 1 et 2 et sensible race 1-2, la variété Lunasol, résistante aux races 0, 1 et 2 et présentant la résistance partielle minium à la race 1-2 pour déclarer une variété résistante à la race 1-2, la variété Manta, résistante aux races 0, 1 et 2 et présentant une résistance partielle à la race 1-2 intermédiaire entre Lunasol et Isabelle et la variété Isabelle, résistante

aux races 0, 1 et 2 et présentant la résistance partielle la plus élevée à la race 1-2. Les souches isolées sont comparées à une souche de référence : la souche Fom 1-2 tst (souche jaunissante).

#### ÉVALUATION D'UN ITINÉRAIRE TECHNIQUE PERMETTANT UNE GESTION DURABLE DES MALADIES VASCULAIRES

L'objet de cette action est de tester, en conditions de production et/ou sur sites expérimentaux, l'efficacité de la protection et la faisabilité de mise en œuvre de différentes combinaisons de techniques de protection.

Des expérimentations « système » sont mises en place de manière à évaluer l'efficacité des différentes méthodes de protection, seules ou en combinaison, vis-à-vis du *F. oxysporum* f. sp. *melonis* en culture de melon et du *V. dahliae* en culture d'aubergine.

Pour le melon, l'idée est d'utiliser un matériel génétique connu par rapport à de son comportement face au *F. oxysporum* f. sp. *melonis*, en particulier pour la race 1.2, le choix s'est porté sur la variété Lunasol. Compte tenu du cortège de bioagresseurs, le choix des autres techniques à expérimenter s'est porté sur :

- la biofumigation : utilisation du radis fourrager, *Raphanus sativus*, car certaines variétés, outre le fait qu'elles contiennent des glucosinolates, ont été sélectionnées



pour leur résistance aux nématodes de type *Meloidogyne*, comme Defender ;

- les plantes de coupure: les travaux de Zhou et Everts (2004 et 2007) ont montré que des cultures de vesce velue, *Vicia villosa*, permettent de réduire l'incidence du *F. oxysporum* f. sp. *niveum* dans des cultures de pastèque, *Citrullus lanatus*. Son emploi est en cours de test ;
- les micro-organismes: de nombreux travaux ont montré l'intérêt de l'association d'un *F. oxysporum* non pathogène et de *Pseudomonas fluorescens* pour réduire l'incidence des fusarioses vasculaires. La combinaison est testée selon la technique de biotisation, c'est-à-dire apport dans le substrat servant à l'élevage du plant.

Pour l'aubergine, la résistance aux bioagresseurs telluriques a pu être utilisée, pour le moment, grâce à sa compatibilité au greffage avec la tomate du fait qu'aucune résistance de bon niveau n'a été mise en évidence dans l'espèce *S. melongena*. Ainsi, ce sont les porte-greffes de la tomate, comme Beaufort ou Maxi-fort qui sont employés et avec lesquels aujourd'hui les producteurs ont des problèmes. Un projet financé dans le cadre des appels d'offre CTPS, a montré que diverses espèces de *Solanum* pouvaient présenter des niveaux de résistances intéressants vis-à-vis du *V. dahliae* race 1. L'intérêt de les utiliser réside dans le fait qu'à priori, les mécanismes de résistances risquent d'être différents de ceux mis en œuvre dans le cas du gène Ve issu d'un *S. pimpinellifolium*. Néanmoins, il reste certaines inconnues: comportement vis-à-vis de souches très agressives comme celles mises en évidence par Blancard et al. (2007) et de la race 2 de *Verticillium*, compatibilité de greffage...

#### INGÉNIERIE ÉCOLOGIQUE VISANT À COMPRENDRE, POUR LE CONTRÔLE, LE DÉVELOPPEMENT DES MALADIES VASCULAIRES DANS LE SOL DES PARCELLES MARAÎCHÈRES

Une connaissance fine des interactions hôte-pathogène permet de mieux appréhender les mécanismes mis en œuvre par le pathogène ou par la variété considérée dans le cas d'une agression par un bioagresseur d'où la possibilité d'adapter les techniques de protection. Ainsi des tests en conditions contrôlées et l'utilisation de méthodes moléculaires basées sur l'extraction de l'ADN du sol

(Edel-Hermann et al. 2008) vont permettre d'apporter des informations sur le développement et la survie de ces pathogènes en réponse à des pratiques culturales alternatives, mais également, sur les interactions entre ces champignons pathogènes et les autres organismes du sol et de la rhizosphère des plantes cultivées, ou enfin, sur les facteurs pédoclimatiques favorables ou défavorables au développement des champignons.

De même, des approches microbiologiques, biologiques, génotypiques et moléculaires vont être combinées pour, d'une part, caractériser les biotypes (races et forme spéciale) des souches isolées à partir des prélèvements de tissus infectés et, d'autre part, pour étudier la structuration et la variabilité génétique des souches isolées. Enfin ces techniques devraient permettre d'analyser l'incidence de l'utilisation continue d'un même porte-greffe dans un sol maraîcher sur la diversité intra-spécifique des populations de *F. oxysporum* et de *V. dahliae*.

Les biotests en conditions contrôlées et des observations histologiques mis en œuvre vont viser à évaluer les capacités de pénétration des champignons pathogènes dans différentes situations (ex: souches, génotypes plantes, présence flores antagonistes...), mais aussi, à suivre le niveau et la cinétique de colonisation dans la plante (racines, collets, vaisseaux...), ou enfin, analyser l'incidence de l'interaction plantes/pathogènes entre le melon et *F. oxysporum* f. sp. *melonis* sur l'adaptation du pathogène à la résistance de la plante et sur la durabilité des gènes de résistances.

#### RECHERCHE DE NOUVELLES SOURCES DE RÉSISTANCE

La résistance aux bioagresseurs est la solution la plus efficace pour se protéger contre les maladies vasculaires, mais pour cela il faut pouvoir disposer de sources de résistances qui soient utilisables en sélection de variétés ou de porte-greffes. Dans le cas du melon, les porte-greffes (hybrides interspécifiques *Cucurbita moschata* X *C. maxima*) assurent aujourd'hui une bonne protection vis-à-vis du *Fusarium*, mais ne semblent pas utilisables pour tous les créneaux de production. Aussi, il semble important de pouvoir disposer de résistances issues de *Cucumis melo* d'où un effort de recherche sur la résistance du melon lui-même.

Les collections variétales disponibles sur melon et *Solanaceae* (« aubergines », tomates « sauvages » et autres Solanacées envisagées comme porte-greffes) se sont étoffées avec de nouvelles accessions (Daunay et al., 1999) et il convient d'évaluer leur niveau de résistance. Ces ressources sont entretenues dans le cadre de réseaux nationaux associant l'INRA et la plupart des sélectionneurs privés. En utilisant les « nouvelles souches » de *F. oxysporum* f. sp. *melonis* race 1-2y ou 1-2w et de *V. dahliae*, présentant une agressivité et/ou une virulence différente des souches de référence, les biotests mis en œuvre vont permettre d'évaluer le niveau de résistance des accessions. Le choix de ces accessions testées est réalisé en fonction des données bibliographiques déjà acquises.

Une recherche des QTL impliqués dans la résistance aux souches de référence FOM TST (souche jaunissante) ou FOM d'Oléon 8 (souche flétrissante) a été réalisée sur une population de lignées recombinantes entre Védrantais (sensible) et Isabelle (résistant). Si Isabelle est résistante aux souches isolées au cours du projet, une étude du contrôle génétique pourra être réalisée sur les mêmes descendances. Ceci permettra d'identifier des QTL de résistances communes ou spécifiques aux différentes souches. Si Isabelle est sensible à certaines des nouvelles souches testées et que l'on découvre de nouveaux géniteurs de résistance de nouvelles populations seront développées au cours du projet, mais ne pourront pas être testées dans les délais du projet. Un transfert technologique aux sélectionneurs privés, partenaires du projet sera à poursuivre.

Dans la perspective de proposer de nouveaux porte-greffes de l'aubergine résistants aux nouvelles souches de *Verticillium*, la compatibilité au greffage de d'aubergine sera étudiée sur le matériel végétal identifié comme résistant.

L'ensemble des travaux entrepris dans le cadre du projet VASCULÉG devrait, d'une part, permettre de mieux comprendre certains mécanismes biologiques en jeu avec ces maladies vasculaires et, d'autre part, apporter à terme des solutions aux producteurs au travers de la meilleure combinaison de techniques à mettre en œuvre pour protéger leurs cultures contre ces bioagresseurs. ■

Pour connaître la bibliographie, merci de s'adresser à l'auteur : villeneuve@ctifl.fr