



**HAL**  
open science

## Outil de détection de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cyclaminis* et biocontrôle de la Fusariose du cyclamen

Marc-Antoine Cannesan, Christophe Lecomte, Véronique Edel-Hermann, Agnès Langlois, Claude Alabouvette, Fabien Robert, Christian Steinberg

### ► To cite this version:

Marc-Antoine Cannesan, Christophe Lecomte, Véronique Edel-Hermann, Agnès Langlois, Claude Alabouvette, et al.. Outil de détection de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cyclaminis* et biocontrôle de la Fusariose du cyclamen. *Innovations Agronomiques*, 2018, 63, pp.373-383. 10.15454/1.5191191878882002E12 . hal-01839191

**HAL Id: hal-01839191**

**<https://hal.science/hal-01839191v1>**

Submitted on 13 Jul 2018

**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

## Outil de détection de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cyclaminis* et biocontrôle de la Fusariose du cyclamen

Cannesan M-A.<sup>1</sup>, Lecomte C.<sup>2</sup>, Edel-Hermann V.<sup>2</sup>, Langlois A.<sup>3</sup>, Alabouvette C.<sup>4</sup>, Robert F.<sup>5</sup>, Steinberg C.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> ASTREDHOR Seine Manche, 32 rue Alfred Kastler, F-76130 Mont Saint Aignan

<sup>2</sup> INRA Dijon, UMR 1347 Agroécologie, 17 rue Sully, F-21065 Dijon,

<sup>3</sup> ASTREDHOR Seine Manche, 22 rue de Normandie, F-76640 Fauville en Caux

<sup>4</sup> AGRENE, 47 rue C. Pierrot, F-21000 Dijon

<sup>5</sup> ASTREDHOR, 44 rue d'Alesia, F-75682 Paris Cedex 14

**Correspondance** : marc-antoine.cannesan@astredhor.fr

### Résumé

La fusariose vasculaire du cyclamen est une maladie causée par le champignon tellurique *Fusarium oxysporum* f. sp. *cyclaminis*. C'est une des maladies majeures du cyclamen qui conduit inévitablement à la mort de la plante. En cas d'infestation, des pertes peuvent atteindre jusqu'à 50 % de la production. Actuellement, il n'existe pas de moyens de lutte contre cette maladie. C'est dans ce contexte que le projet FuCy a débuté, associant l'institut technique de l'horticulture, ASTREDHOR, l'INRA de Dijon et la société Agrene. Les objectifs de ce programme étaient d'identifier un marqueur spécifique de la forme spéciale *cyclaminis* pour développer un outil de détection du pathogène et de tester des agents de lutte biologique efficace contre ce champignon du sol. Concernant l'outil moléculaire, un fragment d'ADN spécifique de l'agent pathogène a été mis en évidence par amplification aléatoire d'ADN polymorphe au sein d'une collection de souches représentatives de la diversité de *F. oxysporum* f. sp. *cyclaminis*. Un couple d'amorces spécifiques a ainsi été élaboré et validé sur une collection de 138 souches appartenant à différents taxons. Ce couple d'amorces détecte spécifiquement le champignon pathogène dans la plante quel que soit son stade phénologique ou dans le substrat et la solution de fertilisation, ce qui en fait un outil moléculaire spécifique de choix pour la prophylaxie et le diagnostic précoce. Parallèlement, des bioessais ont été réalisés sous serre, afin de tester la possibilité d'utiliser des bactéries et des champignons seuls ou en combinaison comme agents de biocontrôle de *F. oxysporum* f. sp. *cyclaminis*. Deux produits donnent des résultats encourageants contre ce pathogène même si un travail de recherche complémentaire reste nécessaire afin de valider ces travaux.

**Mots-clés** : cyclamen, *Fusarium oxysporum* f. sp. *cyclaminis*, marqueur moléculaire, biocontrôle

**Abstract:** Tools for detection of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cyclaminis* and biological control of *Fusarium* in cyclamen

*Fusarium* wilt of cyclamen is one of the most damaging diseases of cyclamen caused by the soil-borne fungus *Fusarium oxysporum* f. sp. *cyclaminis*. This disease leads to the death of cyclamens. Losses can reach more than 50% of the production. Presently no methods for fusarium control are available. In this context, a project was developed in collaboration with ASTREDHOR the French institute of horticulture, INRA of Dijon and the company Agrene. The project had two goals: i) designing a *Fusarium oxysporum* f. sp. *cyclaminis* specific molecular marker allowing to detect the disease, and ii) identifying efficient biological control agents. A specific molecular marker was identified by random amplified polymorphic

DNA within a collection of strains representative of *F. oxysporum* f. sp. *cyclaminis* diversity. A specific primer pairs was designed and validated on a large multi-taxa collection of fungal strains. This pair of primers specifically detects the pathogenic fungus in the plant regardless of its phenological stage or in the substrate and the fertilization solution, making it a powerful molecular tool for prophylaxis and early diagnosis. Alongside, greenhouse bioassays were performed to test putative bacterial and fungal biocontrol agents (BCA), alone or in combination. Two products were selected for the ability to reduce the disease but validation is required before they are used in production.

**Keywords:** cyclamen, *Fusarium oxysporum* f. sp. *cyclaminis*, molecular marker, biological control

## Introduction

La fusariose vasculaire causée par *Fusarium oxysporum* f. sp. *cyclaminis* (Focy) est l'une des maladies les plus nuisibles sur cyclamen (Michielse *et al.*, 2009). Lorsque le ravageur est présent dans le substrat, il est capable de pénétrer dans les racines du végétal, puis de coloniser les tissus jusqu'aux vaisseaux du xylème. Il poursuit sa progression en obstruant les vaisseaux et en limitant ainsi le transfert de la sève. Sur les feuilles du cyclamen, la maladie se manifeste par l'apparition de chloroses sur le feuillage, d'abord unilatérales puis généralisées. Les conséquences sont un flétrissement général du végétal puis la mort de la plante (Figure 1 et 2) (Elmer *et al.*, 2002 et 2004). Même si le pathogène peut être présent au stade de jeune plant, les symptômes caractéristiques se manifestent le plus souvent en fin de cycle de culture et souvent après une période de fortes températures (>30°C), pendant plusieurs jours consécutifs. Lors de l'apparition des premiers symptômes, le cyclamen est condamné et doit être extrait de la culture et détruit pour limiter les contaminations supplémentaires. La fusariose a été décrite en 1930, pour la première fois dans les environs de Berlin (Rouxel *et al.*, 1974). Depuis, on note que tous les pays producteurs du cyclamen sont touchés par ce ravageur. En conditions favorables, ce pathogène peut engendrer jusqu'à plus de 50 % de pertes en production.



**Figure 1 :** Symptômes caractéristiques de la fusariose sur cyclamen. Crédit Photo : Arexhor Seine-Manche

STADE 0 : Absence de symptômes visibles, plante saine



STADE 1 : Apparition des symptômes, flétrissement et/ou chlorose, sur plus d'une feuille



STADE 2 : Symptômes sur au moins 50% des feuilles



STADE 3 : Plante morte

**Figure 2** : Echelle indiquant l'évolution des symptômes caractéristiques de la fusariose sur cyclamen. (Crédit Photo : Arexhor Seine-Manche)

*Fusarium oxysporum* est un champignon d'origine tellurique, appartenant à l'espèce complexe *F. oxysporum species complex* qui héberge une très grande diversité de souches. Cette espèce appartenant à la famille des *Nectriaceae* est placée dans le phylum des ascomycètes. Le sol est un réservoir qui regroupe une multitude de souches de *F. oxysporum* qui peuvent être saprophytes, phytopathogènes, mais aussi antagonistes d'autres agents pathogènes (Alabouvette *et al.*, 1998 ; Fravel *et al.*, 2003). Les *F. oxysporum* pathogènes ont la capacité d'infecter de très nombreuses espèces de plantes, à l'exception des Poacées. Cependant, l'interaction entre une souche de *F. oxysporum* phytopathogène et sa plante hôte est en général très spécifique, ce qui a conduit à définir des formes spéciales en fonction de l'espèce végétale qu'elles sont capables d'infecter. Des races peuvent également être identifiées au sein des formes spéciales lors de contournement de gènes de résistance présents chez les plantes hôtes. *Fusarium oxysporum* est capable de survivre plusieurs années dans le sol grâce à ses structures de conservations : les chlamydo-spores. Les microconidies et les macroconidies (Figure 3) sont deux types de sporulation qui permettent la dissémination du pathogène (Nelson *et al.*, 1981).



**Figure 3** : Macroconidies en forme de fuseau de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cyclaminis* (crédit photo INRA Dijon)

A ce jour, seules les mesures prophylactiques sont proposées aux producteurs afin de prévenir l'introduction et la dissémination du champignon dans les exploitations horticolas car il n'existe pas de solution chimique curative et efficace (Morel Diffusion, 2012). Ces mesures incluent principalement l'utilisation de jeunes plants sains, l'entretien et la désinfection du matériel de production (semoir, poterie, système d'irrigation), mais également la destruction des plantes symptomatiques. Les facteurs de production tels que la nature du substrat (rapport tourbe / matière organique), le pH, la gestion du climat dans les serres de production (arrosage et gestion climatique), le pathogène se développant particulièrement bien dans des conditions chaudes, influent également sur l'expression de la maladie. Les plantes doivent être vigoureuses car un stress physiologique favorisera l'infection par le pathogène des plantes fragilisées (Gullino *et al.*, 2015).

ASTREDHOR Seine Manche a mené en 2009 et 2011 un travail en collaboration avec le laboratoire mutualisé de l'ITL (Institut Technique du Lin) sur la constitution d'une collection d'isolats de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cyclaminis* à partir de centaines d'échantillons de plants de cyclamen provenant de producteurs normands et de différents fournisseurs. Ces prélèvements effectués sur jeunes plants ont confirmé la présence du pathogène sur 1 à 2% des échantillons analysés, avec des variétés qui apparaissent plus sensibles que d'autres (comptes rendus AREXHOR Seine-manche, Langlois *et al.*, 2009-2010-2011).

Dans la mesure où il n'est pas possible de discriminer phénotypiquement les souches pathogènes des non pathogènes, lors des isollements, des tests de pathogénicité sont nécessaires, ce qui rend la procédure lourde et laborieuse (Cariou, 2010). C'est pourquoi la recherche d'un marqueur moléculaire associé aux isolats pathogènes de *F. oxysporum* pour mettre au point un test de diagnostic simple et plus fiable que les isollements en boîte de Pétri s'avérerait nécessaire.

Les travaux présentés dans cet article sont les résultats du projet Fucy (fusariose du cyclamen : détection préventive et contrôle biologique) porté par ASTREDHOR, l'Institut technique de l'horticulture, et mené en collaboration entre l'INRA de Dijon et la société Agrene sur des financements Casdar (Compte d'affectation spécial Développement Agricole et Rural – AAP IP 2012). Ce projet conduit sur 3 ans a été associé au recrutement d'un doctorant en la personne de Charline Lecomte qui a soutenu sa thèse le 19 mai 2016.

Ce projet s'est articulé en deux volets dont les objectifs étaient les suivants :

1. Identifier un marqueur moléculaire spécifique de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cyclaminis*, responsable de la fusariose du cyclamen pour permettre sa détection précoce en production;
2. Identifier un ou plusieurs agents de lutte biologique efficaces contre le pathogène

## 1. Identification d'un marqueur moléculaire spécifique de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cyclaminis* (Focy), pour permettre sa détection précoce en production

### 1.1 Collection de souches et diversité génétique

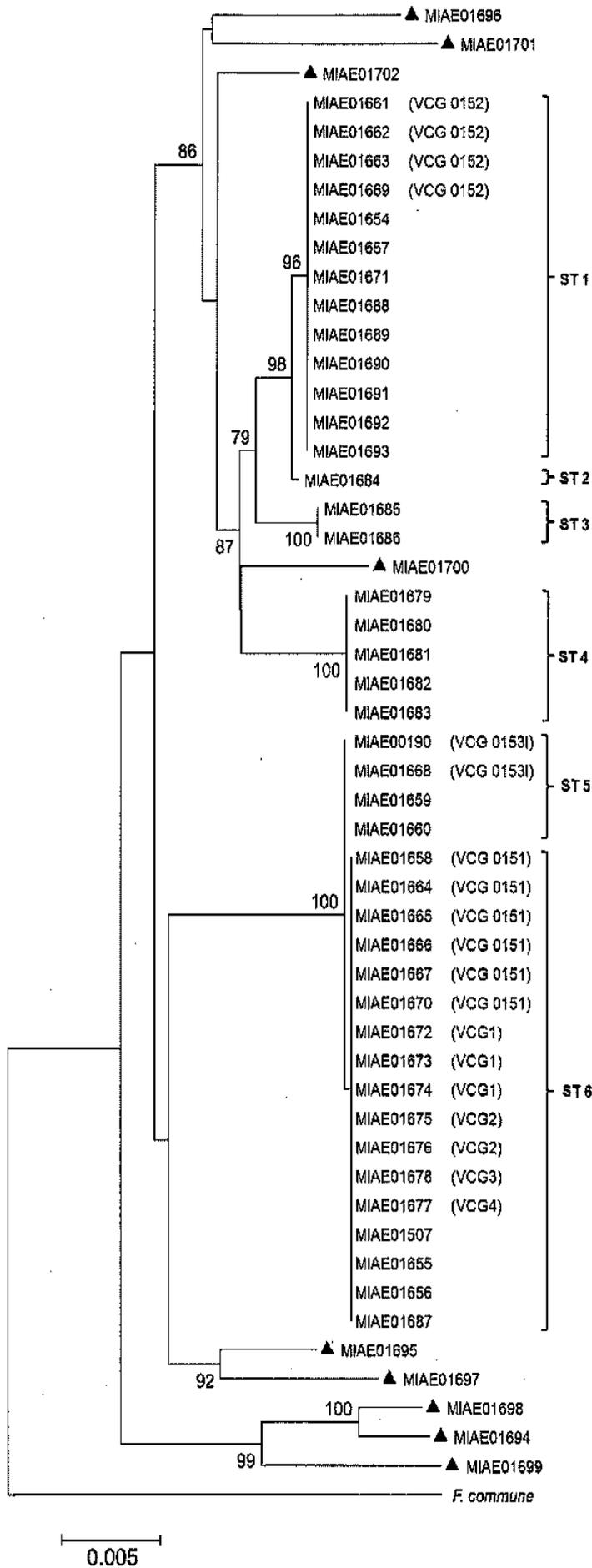
Le développement d'un outil de détection spécifique de Focy a nécessité la constitution d'une collection de souches de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cyclaminis* représentative de la diversité de la forme spéciale. 27 souches de Focy de collections internationales et 24 souches provenant de plantes symptomatiques prélevées lors des campagnes de collectes réalisées par ASTREDHOR Seine Manche ont étoffé cette collection. Le pouvoir pathogène des souches ou isolats collectés a été vérifié grâce à des essais d'inoculation sur plantes en serre (Figure 4).



**Figure 4** : Expérimentation menée dans les serres expérimentales d'Astredhor Seine-Manche afin de tester le pouvoir pathogène des souches Focy (Crédit Photo : Arexhor Seine-Manche)

Ce test de pathogénicité a révélé que sur les 24 souches isolées, 15 d'entre elles présentaient une virulence significative. Les 9 autres souches ont été considérées comme endophytes car n'ayant induit aucun symptôme. L'identité des isolats pathogènes a été vérifiée au niveau moléculaire. La diversité génétique de cette collection a été analysée en comparant les séquences du gène codant l'*EF-1 $\alpha$*  (facteur d'élongation de la traduction) et les séquences pleines longueurs de l'espaceur intergénique (ITS) de l'ADNr.

La collection des 42 souches au total héberge une grande diversité génétique qui se répartit en 6 génotypes (Figure 5). Il n'a pas été montré en revanche de lien entre le génotype, l'origine de la souche et la virulence de cette dernière. Les 9 autres souches non pathogènes représentent par ailleurs 9 génotypes distincts de Focy, ce qui souligne la très grande diversité génétique au sein de l'espèce *F. oxysporum* (Lecomte *et al.*, 2016).

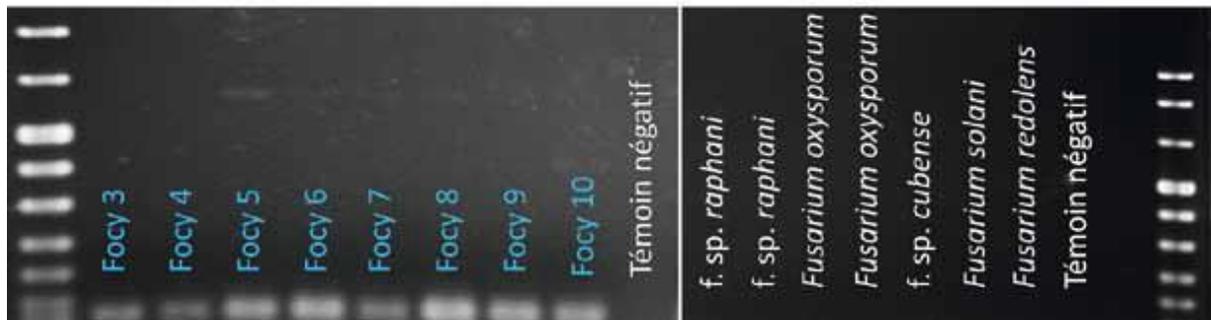


**Figure 5 :** Arbre phylogénétique des souches de *Fusarium oxysporum* isolées de cyclamens. Les souches sont groupées selon leurs types de séquences (ST). Les triangles représentent les isolats non pathogènes, (Lecomte *et al.* 2016).

## 1.2 Développement d'un outil moléculaire de détection de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cyclaminis*

La recherche d'un outil de détection et de quantification a été effectuée en suivant une approche RAPD-SCAR (Random Amplification of Polymorphic DNA- Sequenced Characterized Amplified Region).

Par rapport aux travaux précédents concernant la diversité génétique chez Focy, un fragment d'ADN spécifique a été recherché par amplification aléatoire d'ADN polymorphe. Pour cela, une collection de 138 souches microbiennes, incluant 42 Focy, provenant des deux collections citées précédemment a été utilisée. Un fragment d'ADN de 1650 pb exclusivement présent dans les profils Focy a été identifié (Figure 6), séquencé et aligné avec des séquences similaires dans une base de données. Un couple d'amorces a été dessiné et validé lors de la mise au point du test PCR correspondant. Ce couple d'amorces permet de détecter l'ADN de Focy *in planta* à des seuils relativement bas, jusqu'à 50 pg d'ADN de Focy en PCR conventionnelle, et jusqu'à 5 pg en PCR en temps réel.



**Figure 6** : Test indiquant la présence (bande blanche) ou l'absence du morceau d'ADN spécifique de Focy (absence de bande blanche) chez différents microorganismes. Les noms notés en bleu correspondent à différentes souches de Focy. Les témoins négatifs correspondent à un traitement à l'eau stérile. Les autres noms correspondent à d'autres formes spéciales de *F. oxysporum* (*f. sp. raphani* pathogène du radis et *f. sp. cubense* pathogène du bananier) et d'autres espèces appartenant au genre *Fusarium* ; (Cannesan et Lecomte, 2015)

L'utilisation de ce couple d'amorces par PCR en temps réel permet de détecter le pathogène dans les micro-tubercules fournis par les semenciers et dans la plante avant l'apparition des symptômes causés par la fusariose, mais également dans l'eau et dans les substrats de culture, ce qui en fait un outil de détection et diagnostic précoce exploitable pour une prophylaxie contrôlant tous les intrants de la production des cyclamens (Lecomte *et al.*, In prep). Le premier objectif de ce projet a donc été pleinement atteint.

## 2. Identifier des agents de lutte biologique efficaces contre le pathogène

### 2.1 Tests de confrontations sur gélose : FoCy vs BCAs

Précédant les essais en serre, une étude de confrontation des agents de biotisation *versus Fusarium oxysporum* f. sp. *cyclaminis* a été réalisée. Pour cela, un disque de 5 mm de diamètre d'une des différentes souches de Focy a été placé à 1 cm de l'extrémité d'une boîte de pétri sur milieu PDA gélosé. Un disque de 5 mm de diamètre d'un des trois BCA est placé ensuite à 1 cm de l'extrémité de la boîte de pétri à l'opposé de la souche de Fo, (selon Mayo *et al.*, 2015 ; Figure 11). 5 souches de Fo différentes et 3 BCA différents (*Bacillus amyloliquefaciens*, *Gliocladium catenulatum*, *Trichoderma atroviridae*) ont été testés représentant donc 15 modalités auxquels s'ajoutent 8 témoins (BCA et Fo cultivés seuls). Les tests de confrontation ont été effectués en 5 réplicats.

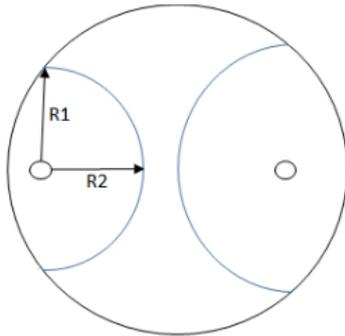
Les boîtes de pétri ont ensuite été placées en culture à température ambiante pendant 9 jours ou jusqu'à ce que la boîte soit entièrement recouverte (variable selon la vitesse de croissance des souches). La taille des souches est alors mesurée tous les jours afin de suivre la croissance de celles-

ci. Des boîtes contenant uniquement l'une des deux souches à la même position ont été réalisées comme témoins.

Selon le schéma de la Figure 7, les mesures de R1 et R2 ont été effectuées pour chaque souche de Fo et de BCA. Ces mesures permettant de calculer le pourcentage d'inhibition à partir de la moyenne des 5 répétitions de chaque condition (Mayo *et al.*, 2015).

$$\text{Calcul du Pourcentage d'inhibition} = [(R1-R2)/R1]*100$$

Plus ce pourcentage est élevé et plus le BCA est efficace. Des courbes de croissance sont réalisées grâce à la mesure R2.



**Figure 7** : Schéma représentant les mesures effectuées lors du test de confrontation (Mayo *et al.*, 2015).

Les résultats de ces tests de confrontation ont montré une inhibition de la croissance des différentes souches de FoCy en présence de *Bacillus amyloliquefaciens* et de *Gliocladium catenulatum* au bout de 9 jours de culture. *Bacillus amyloliquefaciens* possède une action inhibitrice largement supérieure à celle de *Gliocladium catenulatum*. En effet, au bout de 9 jours en présence de *Bacillus amyloliquefaciens*, la croissance du pathogène en direction du BCA est inhibé de 20 à 30%, alors qu'elle est de 10 à 15% d'inhibition pour *Gliocladium catenulatum*. Les souches Focy14, Focy9 et Focy43T3 se sont avérées les plus sensibles à *Bacillus amyloliquefaciens*. La souche Fo47 non pathogène est inhibée de 25% après 9 jours de culture.

*Trichoderma atroviridae* a présenté une croissance rapide, en quatre jours il a colonisé toute la boîte. Le pathogène ne semble pas être inhibé de manière progressive par ce BCA mais par un arrêt net de sa croissance. En effet, la taille des souches de FoCy n'augmente plus dès qu'il y a eu contact avec *Trichoderma atroviridae*.

Ainsi nous avons mis en avant que les 3 BCA montrent une inhibition de Focy en condition *in vitro*.

## 2.2 Screening d'agents de biocontrôle (BCA)

Les fongicides actuellement autorisés contre *Fusarium sp.* sont peu nombreux et d'une efficacité insuffisante pour préserver l'état sanitaire de la culture. On peut prendre l'exemple du TOPSIN 70 WG (thiophanate-méthyl 704g/kg) qui est homologué sur « bulbes ornementaux » contre les fusarioses ou sur « cultures florales et plantes vertes » contre les « champignons autres que Pythiacés », qui est l'un des seuls produits pouvant être utilisé en production mais en préventif. De plus, bien qu'il existe des différences de sensibilité, il n'y a pas de variétés de cyclamen « connue » résistante à la fusariose proposée sur le marché (Elmer *et al.*, 2004 ; Lecomte *et al.*, 2016).

C'est dans ce contexte de recherches de solutions alternatives aux produits phytosanitaires que plusieurs micro-organismes seuls ou en associations ont été testés. Il s'agit en général d'utiliser des champignons et/ou des bactéries qui vont protéger les plantes à travers des interactions de type parasitisme, compétition nutritive, induction des réactions de défense ou antibiose avec les microorganismes pathogènes. On parle de « biotisation des substrats », cette pratique est en développement dans la filière horticole. L'utilisation de ces substrats contenant ou auxquels on ajoute

des microorganismes antagonistes bénéfiques permet ainsi d'envisager des réponses à des impasses en matière de protection des cultures, notamment dans le cas de maladies telluriques, qui, une fois déclarées, sont très difficiles à éradiquer.

Dans ce programme, 7 produits commercialisés en tant qu'agents de biotisation ont été sélectionnés et testés (Figure 8). Une première année d'expérimentation nous a permis de screener les produits aux efficacités les plus intéressantes, que ce soit des produits de protection des plantes ou classés dans les matières fertilisantes. Pour la réalisation de ces essais, une souche de *F. oxysporum f. sp. cyclaminis* virulente a été utilisée et différents rapports Focy/BCA ont été expérimentés (Figure 9).

Code des produits	Composition	Allégation	Concentration annoncée (en UFC/g de produit) <sup>a</sup>	Concentration effective (en UFC/g de produit)
1	<i>Gliocladium sp.</i>	Produit de protection des plantes (PPP)	2.10 <sup>8</sup>	2.10 <sup>8</sup>
2	<i>Bacillus sp.</i>	Matière fertilisante	2.10 <sup>9</sup>	2,4.10 <sup>8</sup>
3	<i>Glomus sp.</i>	Matière fertilisante	4.10 <sup>3</sup>	Non vérifié
4	<i>Pseudomonas sp.</i> et <i>Trichoderma sp.</i>	Matière fertilisante	10 <sup>9</sup> (bactérie) et 4.10 <sup>6</sup> (champignon)	10 <sup>9</sup> (bactérie) et 9.10 <sup>6</sup> (champignon)
5	<i>Trichoderma sp.</i>	Confidentiel	10 <sup>9</sup>	10 <sup>9</sup>
6	<i>Fusarium sp.</i>	Aucune	10 <sup>7</sup>	10 <sup>5</sup>
7	<i>Trichoderma sp.</i>	PPP	10 <sup>7</sup>	2,7.10 <sup>8</sup>

**Figure 8** : Composition et concentration des produits de biocontrôle ou de matières fertilisantes utilisés dans ces essais

Concentration apportée en Focy (UFC/L de substrat)	Concentration apportée en produit (ALB) (UFC/L de substrat)	Rapport de concentration Focy/ALB évalués
10 <sup>5</sup>	10 <sup>6</sup>	1/10
	10 <sup>7</sup>	1/100
10 <sup>6</sup>	10 <sup>7</sup>	1/10
	10 <sup>8</sup>	1/100

**Figure 9** : Concentrations apportées en Focy et en produits, et rapports de concentration correspondant

Cette première phase a permis de sélectionner 3 BCA qui ont donné des résultats encourageants face au *Fusarium oxysporum f.sp cyclaminis*, dont ceux à base de *Gliocladium catenulatum.*, de *Bacillus amyloliquefaciens* et une souche de *Trichoderma atroviridae*.

### 2.3 Tests d'efficacité des 3 BCA sélectionnés

La seconde étape aura été de tester ces BCA lors d'expérimentations multifactorielles. En effet, ces essais ont croisé l'utilisation de ces 3 BCA à 3 doses (10<sup>6</sup>; 10<sup>7</sup> et 10<sup>8</sup> UFC/L de substrat), versus l'inoculation de deux souches (Focy43T3 et Focy14) de Focy virulentes à 2 doses également (10<sup>5</sup>; et 10<sup>6</sup>). Avec tous les témoins correspondants, cet essai comportait 1520 plantes pour 38 modalités (Figure 10). Toutes les plantes ont été notées pour chaque série de notation.

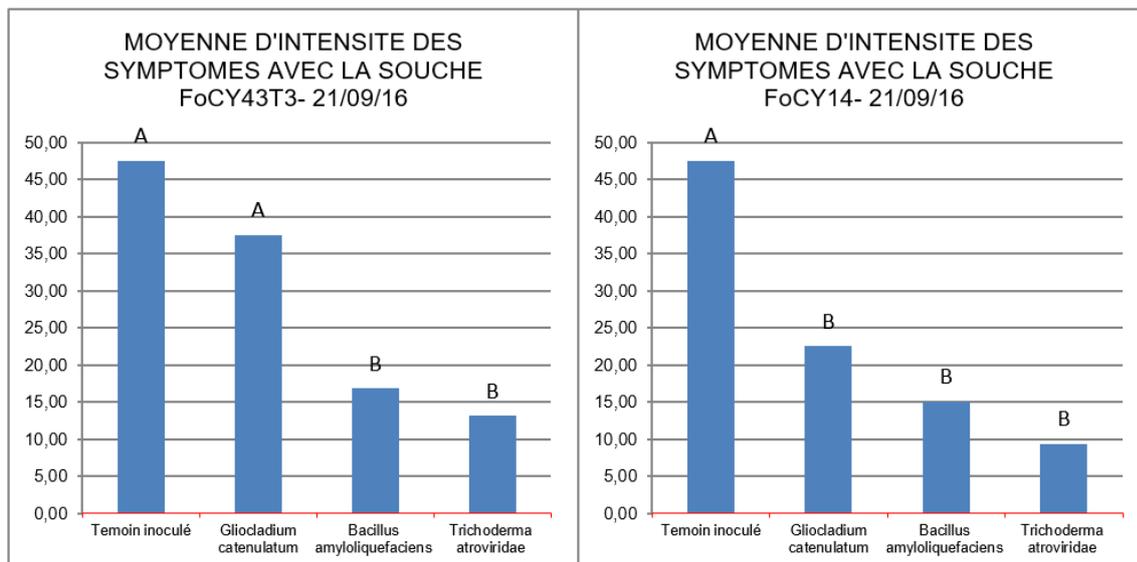
	Concentration à 10 <sup>6</sup>	Concentration à 10 <sup>7</sup>	Concentration à 10 <sup>8</sup>	Sans apport de BCA
40 plantes inoculées avec FoCy43T3 10 <sup>5</sup>	x	x		x
40 plantes inoculées avec FoCy14 10 <sup>5</sup>	x	x		x
40 plantes inoculées avec FoCy43T3 10 <sup>6</sup>		x	x	x
40 plantes inoculées avec FoCy14 10 <sup>6</sup>		x	x	x
40 plantes témoin	x	x	x	x

**Figure 10** : Diagramme d'inoculation et d'apport en BCA

Les essais de biotisation sont des essais complexes, où les résultats finaux sont l'expression de l'interaction de multiples facteurs. Post inoculation, les conditions météorologiques sont extrêmement importantes pour l'expression du pathogène et ce, quelle que soit la concentration de FoCy apportée au départ. En effet, si les conditions post inoculations sont chaudes (plusieurs jours successifs avec des pics au-delà de 30 °C et des nuits douces à au moins 15 degrés), alors le pathogène s'exprime largement. En revanche, nous n'avons pas observé de différences quant à la virulence supposée entre les 2 souches, contrairement à la dose 10<sup>6</sup> occasionnant bien plus de dégâts que la dose 10<sup>5</sup>.

En ce qui concerne les BCA le produit contenant *Trichoderma atroviridae* et celui contenant *Bacillus amyloliquefaciens* ont montré de bons résultats pour les deux souches étudiées en fin d'essai, avec une efficacité pour le premier de plus de 75% et pour le second, une efficacité moyenne de près de 66%. La modalité *Gliocladium catenulatum* a montré quant à elle des résultats plus hétérogènes avec une efficacité aux alentours de 50% face à la souche FoCy14 mais seulement de 21% face à la souche FoCy43T3 (Figure 11).

En ce qui concerne les rapports BCA vs FoCy, en moyenne, nous n'avons pas noté de différences d'intensité de virulence dans les rapports 1 pour 10 et 1 pour 100 pour *Bacillus amyloliquefaciens* et *Gliocladium catenulatum*. En revanche, pour *Trichoderma atroviridae*, le produit semble plus efficace à la dose 10<sup>6</sup> et dans un rapport de 1 pour 100, (plus que dans un rapport 1 pour 10 à 10<sup>7</sup> où l'infection est plus importante).



**Figure 11** : Intensité des symptômes de FocY par souche pathogène en fonction des différents BCA

Un premier essai réalisé en 2015 sur le site Bourguignon avait mis en avant le produit contenant du *Bacillus amyloliquefaciens* comme le BCA ayant la meilleure efficacité. En perspectives, il serait intéressant de confirmer ces données tout en creusant les notions de rapport d'unités de BCA versus les unités de pathogènes qui semblent être une des clés dans les mécanismes de compréhension des relations des communautés microbiennes des sols et donc de la pathogénicité qui en résulte.

## En conclusion

Le programme FuCy a permis de développer avec succès un outil de détection spécifique de FocY, et ce dernier permettra aux producteurs de vérifier désormais la qualité sanitaire de leurs jeunes plants, mais également les supports de culture tels que l'eau d'arrosage ou le substrat. Concernant la lutte biologique, 2 BCA (*Bacillus amyloliquefaciens* et une souche de *Trichoderma atroviridae*) montrent des résultats très intéressants. Cependant, des essais complémentaires sont nécessaires avant de pouvoir proposer leur utilisation aux producteurs.

## Références bibliographiques

- Alabouvette C., Schippers B., Lemanceau P., Bakker P.A., 1998. Biological control of fusarium wilts: Toward development of commercial products. *Plant-Microbe Interactions and Biological Control*. (Edited by Greg J. Boland • L. David Kuykendall) Marcel Dekker, Inc New York • Basel. pp. 15-36.
- Cannesan M.A., Lecomte C., 2015. Fusariose du cyclamen : connaître, détecter et prévenir. *Le lien horticole* N°951-02 Décembre 2015.
- Cariou E., 2010. Appui au diagnostic, Annexe 4 Compte Rendu Technique programme du CASDAR: Amélioration du dispositif recherche-développement par la mise en convergence d'instituts agricoles de cultures spécialisées, 21p.
- Elmer W.H., 2002. Influence of Inoculum Density of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cyclaminis* and Sodium Chloride on Cyclamen and the Development of Fusarium Wilt. *Plant Disease* 86, 389-393.
- Elmer W.H., McGovern R.J., 2004. Efficacy of integrating biologicals with fungicides for the suppression of Fusarium wilt of cyclamen. *Crop Protection* 23, 909- 914.
- Fravel D., Olivain C., Alabouvette C., 2003. *Fusarium oxysporum* and its biocontrol. *New phytologist*. 157, Issue 3: 493–502.
- Gullino M.L., Daughtrey M.L., Garibaldi A., Elmer W.H., 2015. Fusarium wilts of ornamental crops and their management. *Crop Protection*. 7, 50-59.
- Langlois A., Raynal F., 2009. Rapports techniques Arexhor Seine Manche. 2009. « diagnostic précoce de Fusarium sur cyclamen ».
- Langlois A., Raynal F., 2010. Rapports techniques Arexhor Seine Manche. 2010. « diagnostic précoce de Fusarium sur cyclamen ».
- Langlois A., Raynal F., 2011. Rapports techniques Arexhor Seine Manche. 2011. « diagnostic précoce de Fusarium sur cyclamen ».
- Lecomte C., Edel-Hermann V., Cannesan M.A., Gautheron N., Langlois A., Alabouvette C., Robert F., Steinberg C., 2016. *Fusarium oxysporum* f. sp. *cyclaminis*: underestimated genetic diversity. *Eur J Plant Pathol* January 2016, 1-11.
- Mayo S., Gutiérrez S., Malmierca M.G., Lorenzana A., Campelo M.P., Hermosa R., Casquero P.A., 2015. Influence of *Rhizoctonia solani* and *Trichoderma* spp. In 20 growth of bean (*Phaseolus vulgaris* L.) and in the induction of plant defense-related genes. *Front. Plant Sci*. 6:685.
- Morel diffusion, 2012 La Fusariose [en ligne] (Page consultée le 04/12/2017) <http://www.cyclamen.com/fr/professionnel/maladies/8/25>
- Michielse C.B. and Rep M., 2009. Pathogen profile update: *Fusarium oxysporum*. *Molecular plant pathology*, 10 (3), 311–324.
- Nelson P.E., 1981. Life cycle and Epidemiology of *Fusarium oxysporum*. In *Fungal Wilt Diseases of Plants*. (Edited by Marshall E. Mace, Alois A. Bell and Carl H. Beckman) ACADEMIC PRESS. New York, London, Toronto, Sydney and San Francisco. pp.51-80.
- Rouxel F., Grouet D., 1974. Première observation de la fusariose vasculaire du cyclamen en France. *Ann. Phytopathology*. 6, 475-478.

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