

## TESTS DE RESISTANCE DU MELON A LA FUSARIOSE VASCULAIRE

*Didier Besombes et Nathalie Giovinazzo<sup>1</sup>*

*Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis* est présent dans de nombreux pays. Il est bien souvent dommageable et peut provoquer la mortalité de l'ensemble des plantes d'une parcelle. De ce fait c'est une des maladies les plus graves sur Melon.

Quatre races ont été décrites pour lesquelles des gènes de résistance ont été trouvés : Fom-1 (résistance à la race 0 et à la race 2), Fom-2 (résistance à la race 0 et à la race 1) et une résistance partielle polygénique pour la race 1-2.

### 1. MATERIEL ET METHODES

#### 1.1. Préparation de l'inoculum

L'entretien des souches se fait par repiquage alterné sur milieu synthétique gélosé et sur milieu avoine (45g flocons d'avoine broyés, 15g gélose qsp 1 litre).

Une semaine avant l'inoculation, prélever un morceau de gélose (surface de mycélium d'environ 0,5 cm<sup>2</sup>) que l'on met dans 1 erlen de milieu MS50 (cf composition ci-dessous). Mettre en agitation en chambre de culture (20 à 23°C, 10 h de jour).

Solutions de base (pour 1 litre d'eau distillée)	
Solution A :	Nitrate de calcium 100 g, Nitrate de potassium 25 g
Solution B :	Sulfate de magnésium 25 g
Solution C :	Phosphate monopotassique 25 g
Solution D :	Phosphate bipotassique 25 g
Solution E :	Acide citrique 25 g, Acide malique 25 g
Oligoéléments :	Fer (Sequestrène 138) 40 g, Sulfate de manganèse 3 g, Sulfate de cuivre 3 g, Sulfate de zinc 3 g, Borax 6 g

Milieu synthétique liquide (MS50)		Milieu synthétique gélosé	
Solution A	20 ml		10 ml
Solution B	20 ml		10 ml
Solution C	20 ml		5 ml
Solution D	-		5 ml
Solution E	1 ml		1 ml
Oligoéléments	1 ml		1 ml
Saccharose	50 g		5 g
Malt	5 g		1 g
Gélose	-		20 g
Eau distillée	qsp 1 litre		qsp 1 litre

<sup>1</sup> INRA, Station de Génétique et d'Amélioration des Fruits et Légumes, BP 94 - 84143 Montfavet Cedex

Le milieu synthétique liquide est mis en fioles de ligne (100 ml dans une fiole de 500 ml) qui sont autoclavées 20 min à 120 °C.

Le jour de l'inoculation, filtrer l'inoculum au travers d'un morceau de gaze. Diluer 10ml de filtrat au 1/10<sup>e</sup> avec de l'eau permutée et vérifier par comptage à la cellule de Malassez la concentration de l'inoculum. Ajuster la concentration à environ 10<sup>6</sup> microconidies/ml. Pour la méthode par trempage prévoir une quantité suffisante d'inoculum (700 ml par terrine).

## 1.2. Inoculation et incubation

### 1.2.a. Méthode par repiquage

Cette méthode permet de tester les gènes majeurs de résistance (*Fom-1* et *Fom-2*) avec les races 0, 1 et 2.

Les graines sont semées dans des terrines remplies de sable désinfecté à la vapeur (8 lignes de 10 graines/terrine). Penser à inclure les témoins sensibles et résistants dans une terrine du test. Lorsque les plantules sont au stade "cotylédons étalés", elles sont arrachées ; les racines sont lavées dans de l'eau pour enlever le sable. L'extrémité des racines est coupée avec l'ongle (environ 1,5 cm). Les plantules sont mises à tremper dans la suspension de *Fusarium* pendant environ 2 min. Elles sont ensuite repiquées dans du terreau dans une nouvelle terrine (6 lignes de 10 plantules/terrine). L'incubation a lieu en chambre climatisée (18°C la nuit et 25°C le jour avec 12 h de jour). Il faut éviter les températures trop élevées (> 30°C). Les plantes du témoin sensible sont mortes environ 15 jours après l'inoculation.



**Photo 1 :** Test de résistance du melon à la fusariose vasculaire : Coupe des racines avec l'ongle (technique par repiquage)

### 1.2.b. Méthode par trempage

Cette méthode est utilisable pour tester la résistance partielle polygénique qui contrôle la race 1-2. Elle permet également de mettre en évidence les gènes majeurs de résistance (*Fom-1* et *Fom-2*).

Les graines sont semées dans des terrines de terreau (6 lignes de 10 graines/terrine). Lorsque les plantules sont au stade "cotylédons étalés" – "première feuille pointante", les terrines sont placées dans un bac contenant 700 ml de la suspension de *Fusarium*. Après absorption de cette suspension par le terreau, les plantes sont mises en incubation dans les mêmes

conditions que précédemment. Les plantes du témoin sensible sont mortes environ 3 semaines après l'inoculation.

### 1.3. Notation

En règle générale une première lecture est effectuée lorsque les témoins sensibles présentent des symptômes nets de jaunissement et/ou de flétrissement. Une deuxième lecture est faite lorsque tous les témoins sensibles sont morts.

L'échelle de notation comprend 3 niveaux :

- Résistant = plante verte, développement normal
- Intermédiaire = plante jaune, présence de nécroses, arrêt de croissance
- Sensible = plante morte

### 1.4. Interprétation des résultats

Variétés	Allèles	Race 0	Race 1	Race 2	Race 1-2
Charentais T		S	S	S	S
Charentais Fom-1	<i>Fom-1</i>	<b>R</b>	S	<b>R</b>	S
Charentais Fom-2	<i>Fom-2</i>	<b>R</b>	<b>R</b>	S	S
Printadou, Margot	<i>Fom-1 Fom-2</i>	<b>R</b>	<b>R</b>	<b>R</b>	S
Isabelle	<i>Fom-1 Fom-2</i> + <i>Polygénique récessive</i>	<b>R</b>	<b>R</b>	<b>R</b>	<b>r</b>

S = Sensible

R = Résistant

r = Résistance partielle

**Tableau 1** : Expression de la résistance d'une gamme de variétés témoins.

A partir des notations individuelles des plantes on classe chaque lot testé dans une des catégories suivantes :

- lot résistant : toutes les plantes se comportent comme le témoin résistant,
- lot sensible : toutes les plantes se comportent comme le témoin sensible,
- lot intermédiaire : la majorité des plantes sont du niveau « Intermédiaire »,
- lot en disjonction : présence de plantes sensibles et de plantes résistantes.

## 2. RESULTATS ET INTERPRETATION

Code	nombre plantes	Résistant	Intermédiaire	Sensible	Conclusion
<b>928</b>	19	15	4	0	R
<b>1030</b>	20	20	0	0	R
<b>1052</b>	20	0	1	<b>19</b>	S
<b>charentais Fom-1</b>	15	15	0	0	R
<b>charentais Fom-2</b>	20	0	0	<b>20</b>	S

**Tableau 2** : extrait des résultats d'un test de résistance au *Fusarium* race 2.

Dans l'exemple repris dans le tableau 2 les plantes ont été inoculées avec une suspension de spores de *Fusarium* race 2. Cela se vérifie au vu des résultats des témoins : le Charentais Fom-1 possédant le gène de résistance à cette race présente 15 plantules bien vertes alors que le Charentais Fom-2 qui possède le gène de résistance à la race 1 n'a que des plantules sensibles. La variété numéro 1030 est déclarée résistante avec 100% de plantules vertes. Le numéro 928 est également déclaré résistant, les 4 « douteux » (plantules jaunes) pouvant être dus à une différence d'état physiologique ou d'une taille des racines trop sévère lors de la réalisation du test. Si ces 4 plantules avaient été sensibles (plantules mortes) le lot aurait été déclaré « en disjonction ». Enfin la variété numéro 1052 est déclarée sensible avec 19 plantules mortes et une avec un fort jaunissement.

### 3. CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Ce test est utilisé en routine dans le laboratoire notamment dans le cadre des vérifications des déclarations des obtenteurs auprès du GEVES. Il sert également pour la recherche de résistances et divers programmes d'analyse génétique. Actuellement il est utilisé dans le cadre d'une thèse sur « l'identification de QTL impliqués dans la résistance au *Fusarium* race 1-2 chez le melon ».

Pour les races 0 et 1 ce test est très fiable et simple à lire avec la technique par repiquage. Dans le cas de la race 2 il peut y avoir quelques difficultés avec certains génotypes. En effet l'utilisation d'une souche agressive permettant d'avoir une réponse nette des témoins peut gêner l'expression de la résistance dans certains types de variétés.

Enfin ce test présente parfois des difficultés d'interprétation avec la technique par trempage pour la race 1-2. Cette technique ayant pour but de tester une résistance partielle polygénique le choix du type et du nombre de témoins revêt une grande importance. On peut ainsi constater une hétérogénéité d'un test à l'autre dans la réponse des variétés témoins. Les raisons de cette hétérogénéité n'ayant pas été identifiées (terreau, inoculum, stade des plantules...) cette technique reste donc perfectible.

### REFERENCE BIBLIOGRAPHIQUE

Blancard D, Lecoq H, Pitrat M (1991) Maladies des Cucurbitacées. Co-édition INRA – Revue Horticole.