



HAL
open science

Les premiers pas vers l'étiologie et l'épidémiologie d'une maladie multifactorielle et en expansion : la fusariose de l'ail (*Allium sativum* L.)

Pierrick Ricard

► To cite this version:

Pierrick Ricard. Les premiers pas vers l'étiologie et l'épidémiologie d'une maladie multifactorielle et en expansion : la fusariose de l'ail (*Allium sativum* L.). Sciences du Vivant [q-bio]. 2017. dumas-01618306

HAL Id: dumas-01618306

<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-01618306v1>

Submitted on 6 Nov 2017

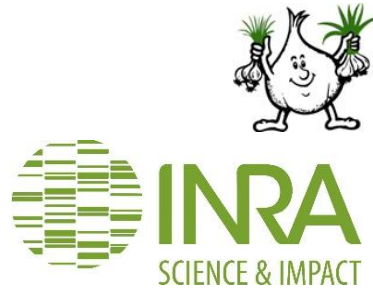
HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

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.

AGROCAMPUS
OUEST

CFR Angers

CFR Rennes



prosemail



Année universitaire : 2016 - 2017

Spécialité : Horticulture

Spécialisation : Fruits et Légumes,
Alimentation et Marchés (FLAM)

Mémoire de fin d'études

- d'Ingénieur de l'Institut Supérieur des Sciences agronomiques, agroalimentaires, horticoles et du paysage
- de Master de l'Institut Supérieur des Sciences agronomiques, agroalimentaires, horticoles et du paysage
- d'un autre établissement (étudiant arrivé en M2)

Les premiers pas vers l'étiologie et l'épidémiologie d'une maladie multifactorielle et en expansion : la fusariose de l'ail (*Allium sativum* L.)

Par : Pierrick RICARD



Soutenu à Angers le 8 septembre 2017

Devant le jury composé de :

Président : Emmanuel GEOFFRIAU

Maître de stage : Louis-Marie BROUCQSAULT

Enseignant référent : Valérie LE CLERC

Autres membres du jury :

Anne-Laure BOUTIGNY, chargée de projets scientifiques et techniques, ANSES

Les analyses et les conclusions de ce travail d'étudiant n'engagent que la responsabilité de son auteur et non celle d'AGROCAMPUS OUEST

Fiche de confidentialité et de diffusion du mémoire

Confidentialité

Non Oui si oui : 1 an 5 ans 10 ans

Pendant toute la durée de confidentialité, aucune diffusion du mémoire n'est possible ⁽¹⁾.

Date et signature du maître de stage ⁽²⁾ :

A la fin de la période de confidentialité, sa diffusion est soumise aux règles ci-dessous (droits d'auteur et autorisation de diffusion par l'enseignant à renseigner).

Droits d'auteur

L'auteur ⁽³⁾ Pierrick RICARD

autorise la diffusion de son travail (immédiatement ou à la fin de la période de confidentialité)

Oui Non

Si oui, il autorise

- la diffusion papier du mémoire uniquement⁽⁴⁾
- la diffusion papier du mémoire et la diffusion électronique du résumé
- la diffusion papier et électronique du mémoire (joindre dans ce cas la fiche de conformité du mémoire numérique et le contrat de diffusion)

Date et signature de l'auteur :

Autorisation de diffusion par le responsable de spécialisation ou son représentant

L'enseignant juge le mémoire de qualité suffisante pour être diffusé (immédiatement ou à la fin de la période de confidentialité)

Oui Non

Si non, seul le titre du mémoire apparaîtra dans les bases de données.

Si oui, il autorise

- la diffusion papier du mémoire uniquement⁽⁴⁾
- la diffusion papier du mémoire et la diffusion électronique du résumé
- la diffusion papier et électronique du mémoire

Date et signature de l'enseignant :

⁽¹⁾ L'administration, les enseignants et les différents services de documentation d'AGROCAMPUS OUEST s'engagent à respecter cette confidentialité.

⁽²⁾ Signature et cachet de l'organisme

⁽³⁾ Auteur = étudiant qui réalise son mémoire de fin d'études

⁽⁴⁾ La référence bibliographique (= Nom de l'auteur, titre du mémoire, année de soutenance, diplôme, spécialité et spécialisation/Option) sera signalée dans les bases de données documentaires sans le résumé

REMERCIEMENTS

Six mois, ça passe bien trop vite... et comme tout le monde j'imagine, je clôture mes études en rédigeant mon mémoire tout en commençant par cette partie. Outre la crainte d'oublier certaines personnes, j'appréhende de mal gérer votre ordre d'apparition. Merci donc de ne pas trop en tenir compte.

Je tiens à remercier, d'abord, Louis-Marie Broucqsault (FNAMS) pour son encadrement et sa volonté de suivre mon projet tout au long de ces six mois, et cela, malgré son emploi du temps extrêmement chargé ! Merci pour son regard critique et constructif.

Merci à Raphaël Reboul (Président de Prosemail) de m'avoir donné l'opportunité de réaliser ce stage. De même, merci à Fabien Folcher (GIE l'Ail Drômois), Hélène Hunyadi (Prosemail), Sarah Franco (GIE l'Ail Drômois), Charles Lemaire (Top semence), Blaise Rolland (Top semence), Hervé Hel (Alinéa Top'alliance) et Céline Vezian (Alinéa Top'alliance) pour la transmission de nombreuses connaissances, pour leurs conseils, leurs réponses à mes interrogations et leur disponibilité.

Un grand merci à Christel Leyronas (INRA d'Avignon) pour son encadrement et surtout pour m'avoir permis de travailler régulièrement à l'INRA PACA d'Avignon au sein de l'unité de pathologie végétale. Bien que non prévue au début de mon stage, la réalisation de toutes ces manipulations était très intéressante. Enfin, merci pour son regard critique, sa rigueur scientifique et pour la relecture. Merci à Magali Duffaud et à Claire Troulet, techniciennes à l'INRA d'Avignon pour leur aide. Merci à l'ensemble du personnel pour leur accueil et pour avoir réussi à supporter ce « doux parfum » d'ail... mais finalement, votre odorat est préparé pour les trois ans de thèse maintenant !

Merci à Christian Etourneau (FNAMS) pour m'avoir prêté des sondes HOBO pour mes expérimentations. Sarah, je ne t'oublie pas non plus ! Je souhaite, en outre, remercier tous les producteurs avec qui j'ai pu échanger durant ces six mois. Merci à vous pour avoir mis à ma disposition certaines de vos parcelles pour la réalisation de ce travail.

Merci à Valérie Le Clerc, mon enseignante référente, pour ses conseils et sa disponibilité.

Merci à toutes les personnes qui m'ont accordées du temps et m'ont permis ces échanges enrichissants dans la réflexion de mon travail. Je pense notamment à Éric Pierre (INRA de Montferriet-sur-Liez), Benjamin Coussy (FNAMS), Jean-Baptiste Thibord (Arvalis), Pierre Taupin (Arvalis), Yves Pousset (Arvalis), Christian Steinberg (INRA de Dijon) et Yisa Ochoa (Université Autónoma Agraria Antonio Narro, Saltillo Coahuila (Mexique)).

Merci à Olivier, Christian, Réjane, Sandrine, Sylvianne, Chloé et Simon pour leur bonne humeur et pour cette bonne ambiance au sein de la FNAMS, propice au travail.

Enfin, je tiens à remercier mes parents et ma sœur pour leur soutien tout au long de mes études et quelles que soient mes décisions, comme partir à l'autre bout de la France pour intégrer l'école par exemple. Merci également à mes amis les plus proches pour tous ces bons moments à l'école, pendant le stage et pour ceux à venir !

TABLE DES MATIERES

Remerciements	i
Table des matières	iii
Glossaire	vii
Liste des abréviations	ix
Liste des annexes	xi
Liste des tableaux	xiii
Liste des figures	xv
Avant-propos	xvii
Introduction	1
I. Synthèse bibliographique : la fusariose de l'ail, une maladie multifactorielle et en expansion	5
A. L'ail, une culture mineure en France, mais à forte valeur ajoutée	5
1. Une plante bulbeuse de la famille des <i>Amaryllidaceae</i>	5
a. L'ail, une monocotylédone à reproduction végétative	5
b. La production d'ail : répartition et importance économique	7
2. Une culture très spécifique	9
a. Règles de production	9
b. Itinéraire technique de culture	11
3. Une plante aux propriétés aromatiques nombreuses mais néanmoins sensible à certains pathogènes	11
a. Les molécules aromatiques de l'ail cultivé	11
b. Les ravageurs et les agents pathogènes de l'ail	13
B. La fusariose de l'ail	15
1. Dégâts observés en production d'ail	15
a. Description et période d'apparition des symptômes	15
b. Les agents responsables de la maladie	15
c. Des symptômes très proches de la fusariose : le Waxy breakdown	17
2. Impacts économiques de la fusariose de l'ail : pertes de production et crainte des mycotoxines	17
3. Le genre <i>Fusarium</i> : caractéristiques et identification	19
a. Un genre très diversifié	19
b. Méthodes d'identification des <i>Fusarium</i> de l'ail	21
i. Méthode d'identification par caractérisation phénotypique	21
ii. Méthode d'identification par caractérisation moléculaire	21
c. L'évaluation de la pathogénicité des <i>Fusarium</i> de l'ail	23

4. Épidémiologie de la fusariose : cycle de développement du pathogène et facteurs d'influence	23
a. Cycle de vie des <i>Fusarium</i>	23
b. Influence des facteurs climatiques sur le développement	25
c. Les plantes hôtes.....	25
d. Les cécidomyies, des insectes souvent dommageables aux cultures	27
i. Les cécidomyies, une famille très diversifiée	27
ii. <i>Clinodiplosis cilicrus</i> , l'espèce identifiée en culture d'ail	29
5. Les méthodes de lutte contre la maladie	29
II. Objectifs de travail.....	31
A. Étiologie : caractérisation des agents pathogènes responsables de la maladie	31
B. Épidémiologie : caractérisation de facteurs environnementaux à influence potentielle sur l'apparition de la maladie	31
III. Matériel et méthodes	33
A. Caractérisation de souches fongiques isolées de bulbes fusariés.....	33
1. Objectifs et hypothèses	33
2. Matériel fongique.....	35
a. Origine des souches de <i>Fusarium</i> de l'étude	35
b. Préparation du matériel fongique	35
3. Matériel végétal.....	37
4. Inoculation artificielle de <i>Fusarium</i> sur ail	37
a. Expérimentation 1 : étude de trois méthodes d'évaluation du pouvoir pathogène de <i>Fusarium</i> sur ail	37
i. Méthode EB : explant et blessure.....	37
ii. Méthode T : trempage dans une suspension de spores	37
iii. Méthode SB : dépôt de suspension de spores sur blessure	39
b. Expérimentation 2 : l'élaboration des premiers tests de comparaison de la pathogénicité de certaines souches de <i>Fusarium</i>	39
5. Suivi et évaluation des symptômes	39
6. Analyses des données	41
B. Caractérisation de facteurs environnementaux à influence potentielle sur l'apparition de la maladie	43
1. Etude des conditions climatiques de production	43
a. Objectifs et hypothèses.....	43
b. Dispositif expérimental.....	43
c. Analyses des données.....	45
2. Etude du pouvoir infectieux du sol.....	47
a. Objectifs et hypothèses de travail	47
b. Dispositif expérimental.....	47

c.	Analyses de terre et évaluation du pouvoir infectieux du sol	49
d.	Analyses des résultats	49
3.	La pression entomologique en culture : évaluation de la présence de cécidomyies	49
a.	Objectifs et hypothèses.....	49
b.	Dispositif expérimental.....	51
c.	Suivi et observations.....	51
d.	Analyses des données.....	51
IV.	Résultats.....	53
A.	Caractérisation de souches fongiques isolées de bulbes fusariés.....	53
1.	Analyse des modalités témoins	53
2.	Analyses comparatives des trois méthodes d'inoculation (expérimentation 1).....	53
a.	Etude descriptive : rapidité et faisabilité de mise en place	53
b.	Évaluation de la capacité à créer un symptôme : fiabilité des méthodes.....	55
3.	Analyses comparatives de quelques souches de <i>Fusarium</i> (expérimentation 2)	55
a.	Etude descriptive des coupes de caïeux inoculés	55
b.	Comparaison de l'étendue des zones symptomatiques	57
c.	Ré-isolement des souches inoculées.....	57
B.	Caractérisation de facteurs environnementaux à influence potentielle sur l'apparition de la maladie	59
1.	Etude des conditions climatiques de production	59
a.	Comparaison des données 2016-2017	59
b.	Description des variations climatiques : analyse de moyennes journalières	59
c.	Description des variations climatiques : distinction jour/nuit	61
2.	La pression entomologique en culture : évaluation de la présence de cécidomyies	61
V.	Discussion et perspectives	63
A.	Caractérisation de souches fongiques isolées de bulbes fusariés.....	63
1.	Mise en place d'un test fiable et répétable d'évaluation du pouvoir pathogène de <i>Fusarium</i> sur ail (expérimentation 1)	63
a.	La présence d'un <i>Fusarium</i> endophyte	63
b.	Comparaison des trois méthodes d'inoculation testées.....	65
2.	Les premiers résultats d'évaluation du pouvoir pathogène de certaines souches de <i>Fusarium</i> sur ail (expérimentation 2)	67
3.	Perspectives de travail	67
a.	Trouver un matériel végétal sain pour les futures inoculations	67
b.	Affiner les conditions de production de spores en milieu liquide.....	69

B. Caractérisation de facteurs environnementaux à influence potentielle sur l'apparition de la maladie	71
1. L'étude des conditions climatiques de production	71
2. La pression entomologique en culture : évaluation de la présence de cécidomyies	73
Conclusion	77
Bibliographie	79
Sitographie	83
Annexes.....	I

GLOSSAIRE

Activité de l'eau : notée a_w et comprise entre 0 et 1, elle estime la part de l'eau libre dans un produit, c'est à dire disponible par exemple pour la croissance de micro-organismes. Plus elle est élevée et plus il y a d'eau disponible pour le développement de ces micro-organismes (source : <https://www.agro-agri.fr/mesures-Aw-dans-agroalimentaire.html>).

Chlamydo-spore : Spore de conservation de certains champignons souvent munie d'une paroi épaisse qui leur permet de subsister d'une année sur l'autre dans le sol ou les débris végétaux en décomposition (<https://www7.inra.fr/hyp3/pgloss/3---096.htm>).

Conidiophore : hyphe mycélien spécialisé et supportant les spores issues de la reproduction asexuée.

Endophyte : organisme qui se développe à l'intérieur des tissus végétaux.

Épidémiologie : étude des facteurs de développement d'une maladie.

Étiologie : étude des causes d'une maladie.

Explant : fragment d'organisme extrait de l'animal vivant, et qui, placé dans un milieu favorable, y reprend sa croissance (source : Larousse dictionnaires).

Humidité relative : (syn. hygrométrie) quantité d'eau sous forme gazeuse présente dans l'air.

Inoculum primaire : élément vivant du pathogène, capable de contaminer la plante hôte et responsable de la première contamination.

Locus, pluriel **loci** : désigne la localisation d'une région précise d'ADN sur un chromosome.

Macroconidie : spore cloisonnée, issue de la reproduction asexuée d'un champignon.

Monocotylédone : parmi les Angiospermes, plantes présentant un seul cotylédon sur l'embryon.

Mycélium : ensemble des structures filamenteuses (thalle) constituant les éléments végétatifs d'un champignon.

Mycophage : se dit d'un organisme qui mange les champignons.

Périthèce : fructification renfermant les asques de certains champignons ascomycètes.

Rhizosphère : région du sol directement influencée par les racines d'une plante.

Saprophyte : se dit d'un organisme se nourrissant de matière organique morte.

Semence : désigne la partie du végétal permettant sa multiplication (graine, caïeu, etc.)

Spore : organe de dissémination des champignons et donnant naissance à un nouveau mycélium.

Trachéomycose : maladie fongique vasculaire causée, chez les végétaux, par divers champignons parasites qui obstruent le système vasculaire de la plante et entraînent, par conséquence, la mort des tissus.

LISTE DES ABREVIATIONS

ADN : Acide DésoxyriboNucléïque

ANIAIL : Association Nationale Interprofessionnelle de l'Ail

AOC : Appellation d'Origine Contrôlée

CIFRE : Conventions Industrielles de Formation par la Recherche

CIRM : Centre International de Ressources Microbiennes

CTIFL : Centre Technique Interprofessionnel des Fruits et Légumes

FAO : Food and Agriculture Organization of the United Nations

FNAMS : Fédération Nationale des Agriculteurs Multiplicateurs de Semences

IGP : Indication Géographique Protégée

INRA : Institut National de Recherche Agronomique

ITS : Internal Transcribed Spacer

PCR : Polymerase Chain Reaction

PDA : Potato Dextrose Agar

PDB : Potato Dextrose Broth

Prosemail : Association des producteurs de plants certifiés d'ail et d'échalote

SOC : Service Officiel de Contrôle et de Certification

LISTE DES ANNEXES

Annexe I : Les différentes variétés d'ail proposées pour le marché amateur en France (source : http://plant-certifie-ail.org/pages/fichesvar.php).....	III
Annexe II : Règlement technique de la production et du contrôle des plants certifiés d'ail	IV
Annexe III : Liste des organismes nuisibles dits de qualité pour les plants d'ail et moyens de lutte (source : Tricard, 2016).....	XIV
Annexe IV : Teneurs maximales autorisées en mycotoxines de type DON dans les denrées alimentaires exprimées en µg/kg (source : Fremy et al., 2009, p.124).....	XVI
Annexe V : Vues aériennes du parcellaire d'étude et localisation des zones de mesure ...	XVII
Annexe VI : Distances entre les plaques engluées au sein d'une même zone d'étude	XX
Annexe VII : Description du parcellaire d'étude	XXI
Annexe VIII : Récapitulatif des dates de début et de fin de l'étude par parcelle	XXII
Annexe IX Évolution de la surface symptomatique moyenne de caïeux après inoculation de souches de <i>Fusarium</i> par les méthodes EB (explant + blessure) et SB (suspension + blessure) (expérimentation 1).....	XXIII
Annexe X : Évolution de la température et de l'hygrométrie de six parcelles de production d'ail disposant des deux modes de culture (sous filet et hors filet) pour la période du 16 mai au 09 juillet 2017	XXIV
Annexe XI : p-values de l'ANOVA (1) réalisée par parcelle et par variable d'étude (température et hygrométrie) en fonction du facteur « mode de culture » (sous filet et hors filet anti-insectes). Encadrés rouges en cas de significativité (risque $\alpha = 5\%$).....	XXV

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Normes sanitaires établies par le SOC pour la production de semences d'ail certifiées (Source : règlement technique de la production et du contrôle des plants certifiés d'ail ; annexe II).....	8
Tableau 2 : Les huit espèces de <i>Fusarium</i> référencés par la communauté scientifique comme pathogène de l'ail (<i>Allium sativum</i> L.) (source : Pierrick Ricard, 2017)	14
Tableau 3: Les différentes mycotoxines produites par quelques espèces de <i>Fusarium</i> (source : Fremy et al., 2009).....	16
Tableau 4 : Références bibliographiques des différentes techniques d'inoculation de <i>Fusarium</i> sur ail en laboratoire afin de procéder à une évaluation de la pathogénicité des souches (source : Pierrick Ricard, 2017)	22
Tableau 5 : Origine des souches fongiques isolées de différents bulbes d'ail de la récolte 2016	34
Tableau 6 : Taux de sporulation estimé des souches de <i>Fusarium</i> en milieu PDB à J+6 à 21°C et condition de luminosité artificielle (photopériode de 12h). Estimation par comptage de spores à l'aide de cellules de Malassez.....	34
Tableau 7 : Pourcentage de caïeux non sains, issus des modalités témoins des différentes séries d'inoculation, ayant du mycélium à sa surface	52
Tableau 8 : p-values des tests statistiques étudiant l'effet d'un facteur sur l'étendue de la surface symptomatique moyenne (risque $\alpha = 5\%$). Encadré bleu (A) : effet du facteur « méthodes EB & SB » sur les souches 3 et 6A. Encadré rouge (B) : effet du facteur « expérimentation 1 & 2 » sur les souches 6A et F. prolifératum par la méthode EB	54
Tableau 9 : p-values issues du test non paramétrique de Kruskal-Wallis au risque $\alpha = 5\%$ de mesure de l'effet du facteur « souche » sur la variable « surface symptomatique moyenne »	56
Tableau 10 : Moyennes journalières de la température et de l'hygrométrie avec distinction jour/nuit pour chaque parcelle d'étude suivant le mode de culture et écarts moyens.....	60
Tableau 11 : p-values de l'ANOVA (1) des moyennes journalières des variables d'étude (température et hygrométrie) avec distinction jour/nuit en fonction du facteur « mode de culture » (sous filet et hors filet anti-insectes). Encadrés rouges en cas de significativité (risque $\alpha = 5\%$).....	60

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Parcelle de production de plants d'ail de printemps (variété Arno) (source : Pierrick Ricard, Drôme, 22/05/2017)	4
Figure 2 : Tête d'ail de la variété Ibérose. A : vue de face ; B : vue depuis le plateau racinaire ; C : bulbe constitué de caïeux autour de la tige florale (variété à bâton) (source : Pierrick Ricard, FNAMS Étoile-sur-Rhône, 10/06/2017)	4
Figure 3 : Photographie d'une hampe florale d'ail de printemps (variété Flavor) (source : Pierrick Ricard, Drôme, 10/07/2017).....	4
Figure 4 : Les principaux pays producteurs d'ail et les flux commerciaux internationaux (source : FAO stats 2011-2014)	6
Figure 5 : Les principaux bassins de production d'ail (consommation) sur le territoire français en 2015 (en milliers de tonnes) (source : Ugliera, 2017).....	6
Figure 6 : Schéma généalogique de production de semences d'ail français (source : site internet de Prosemail)	8
Figure 7 : Schématisation de l'itinéraire technique de culture d'ail d'automne (source : Fiche technique interne de Prosemail, 2017)	10
Figure 8 : Représentation moléculaire de l'alliine (à gauche) et de l'allicine (à droite), à l'origine des caractéristiques olfactives et de certaines propriétés médicinales de l'ail (source : Anton, 2016).....	10
Figure 9 : Coupe transversale d'un bulbe d'ail rose présentant les symptômes de fusariose sur un caïeu (source : Tricard, septembre 2015)	14
Figure 10 : Coupe transversale d'un bulbe d'ail d'automne présentant les symptômes de Waxy breakdown (source : Tricard, septembre 2015).....	16
Figure 11: Observations microscopiques de macroconidies de certaines espèces de <i>Fusarium</i> : diversité morphologique des macroconidies au sein même du genre. A à D variation de la forme et de la taille des macroconidies. E à H variation de la partie basale des macroconidies. I à L, variation de la partie apicale des macroconidies. A et J, <i>F. decemcellulare</i> . B, H et L, <i>F. longipes</i> . C, E et I, <i>F. culmorum</i> . D, <i>F. chlamydosporum</i> , F, <i>F. crookwellense</i> , G, <i>F. avenaceum</i> , K, <i>F. verticillioides</i> (source : Summerell et al., 2003)	18
Figure 12 : La diversité de développement de différentes espèces de <i>Fusarium</i> sur milieu PDA, en boîte de Petri, après 7 à 10 jours à 22°C. (la boîte du haut de chaque paire correspond au mycélium aérien, celle du bas à la vue de dessous). A, <i>F. poae</i> . B, <i>F. oxysporum</i> . C, <i>F. acuminatum</i> . D, <i>F. nelsonii</i> . E, <i>F. subglutinans</i> . F, <i>F. nygamai</i> . G, <i>F. pseudonygamai</i> . H, <i>F. lateritium</i> . I, <i>F. thapsinum</i> . J, <i>F. decemcellulare</i> . K, <i>F. verticillioides</i> . L, <i>F. culmorum</i> (source : Summerell et al., 2003)	20
Figure 13 : Cycle de vie de <i>Fusarium graminearum</i> (source : Trail, 2009)	22
Figure 14 : Cycle de vie de la plupart des insectes de la famille des <i>Cecidomyiidae</i> (source : Amouroux, 2013).....	26
Figure 15 : Cultures de champignons âgées de 17 jours, issues de caïeux fusariés (21°C, 75% d'humidité relative, photopériode 12h). A : vue du mycélium aérien ; B : vue du dessous de la culture (source : Pierrick Ricard, INRA d'Avignon, 12/06/2017)	34
Figure 16 : Culture en milieu PDB de la souche 6A, avant calibration de la concentration (source : Pierrick Ricard, INRA d'Avignon, 12/06/2017).....	34
Figure 17 : Phase de désinfection des caïeux avant inoculation des souches fongiques (source : Pierrick Ricard, INRA d'Avignon, 12/06/2017).....	36
Figure 18 : Caïeux après inoculation de <i>Fusarium</i> (méthode SB, souche 6A) et déposés dans une boîte cristal pour incubation (source : Pierrick Ricard, INRA d'Avignon, 12/06/2017)	38

Figure 19 : Représentation du dispositif de relevé de la température et de l'humidité relative sur une parcelle de production d'ail disposant d'une culture sous filet et hors filet anti-insectes (SF : sous filet anti-insectes ; HF : hors filet).....	42
Figure 20 : Plaque engluée jaune (10 x 11,5 cm) disposée sur piquet au sein d'une parcelle d'ail d'automne (parcelle Z2b) (source : Pierrick Ricard, Drôme, 22/05/2017).....	50
Figure 21 : Caïeux des modalités témoins avec mycélium blanc à l'aspect laineux (J+43). A : méthode EB (explant) ; B : méthode T (trempage) ; C : méthode SB (susp. + blessure) (source : Pierrick Ricard, INRA d'Avignon, 25/07/2017).....	52
Figure 22 : Cultures d'un micro-organisme fongique, apparenté à du <i>Fusarium</i> , à J+7, isolé par prélèvement de mycélium sur explant de PDA de la modalité témoin de la méthode EB (explant).	52
Figure 23 : Évolution d'un caïeu inoculé avec la souche 3 pour les trois techniques d'inoculation testées (source : Pierrick Ricard, INRA d'Avignon, juin-juil. 2017).....	54
Figure 24 : Évolution de la surface symptomatique moyenne par méthode d'inoculation (EB et SB) de <i>Fusarium</i> sur ail. Les barres d'erreur correspondent aux écarts types	54
Figure 25 : Évolution de la surface symptomatique moyenne provoquée par les 6 souches de <i>Fusarium</i> testées et inoculées par la méthode EB (explant + blessure). Les lettres a, b, c, d et e représentent les groupes statistiques homogènes du test de Kruskal-Wallis ($\alpha = 5\%$)...56	56
Figure 26 : Évolution des températures (°C) et hygrométries (%) moyennes de production d'ail sur les mois de mai à juillet en 2016 et 2017 en fonction du mode de culture (les barres d'erreur correspondent à l'écart-type de chaque moyenne)	58
Figure 27 : Évolution des écarts de température moyenne journalière (°C) en parcelle de production d'ail sous filet et hors filet anti-insectes pour la période du 16 mai au 09 juillet 2017	58
Figure 28 : Évolution des écarts d'humidité relative (%) moyenne journalière en parcelle de production d'ail sous filet et hors filet anti-insectes pour la période du 16 mai au 09 juillet 2017	58
Figure 29 : Observations sous loupe binoculaire (grossissement x20). A et B : insectes capturés dans les cuvettes jaunes et étant potentiellement des cécidomyies (espèce non déterminée). C : insecte capturé sur plaque engluée avec éperon tibial, identification supposée : mouche des terreaux (genre <i>Sciarides</i>) (source : Pierrick Ricard, FNAMS, 26/06/2017)	60

AVANT-PROPOS

Ce mémoire a été réalisé pour l'obtention du diplôme d'ingénieur d'Agrocampus Ouest, centre d'Angers, avec la spécialisation Fruits et Légumes, Alimentation et Marchés (FLAM).

L'étude a été effectuée pour Prosemail entre mars et août 2017. Cette association regroupe l'ensemble des producteurs de plants certifiés d'ail et d'échalote au niveau national, notamment Alinéa, Top Semence et le GIE L'Ail Drômois qui ont été des interlocuteurs indispensables. Ce stage de fin d'études a été encadré par la FNAMS d'Etoile-sur-Rhône qui a été activement impliquée dans la réflexion et le suivi du stage. Enfin l'INRA d'Avignon a été un partenaire essentiel pour le déroulement d'un certain nombre d'expérimentations de laboratoire tout au long de ces six mois et m'a donné l'opportunité de participer à une réflexion mutuelle afin d'amorcer l'étude approfondie du sujet dans le long terme.

Le thème de ce mémoire est l'étude de la fusariose de l'ail¹, maladie qui apparaît depuis peu en culture. A ce jour, aucun moyen de maîtrise du pathogène n'est connu. La nécessité d'engager un travail approfondi sur ce sujet se fait ressentir de la part des professionnels, notamment des producteurs, inquiets quant à l'avenir de la filière. C'est pourquoi, depuis 2016, la profession s'est engagée dans la conduite d'une étude de la maladie. Celle-ci a été amorcée par un travail de recherche bibliographique effectué fin 2015 par un groupe d'étudiants de l'université d'Angers en spécialité Production et Technologie du Végétal (ProTeV). Hélène Hunyadi a poursuivi la mission et a réalisé une étude de la fusariose de l'ail qui a fait l'objet de la rédaction d'un mémoire intitulé « Gestion d'un nouveau pathogène. La fusariose de l'ail (*Allium sativum*) : mieux connaître la maladie pour établir une lutte efficace ». L'objectif de ce premier travail était de répondre aux questions et d'apporter des réponses aux observations des agriculteurs. La maladie étant d'origine fongique, un début de réflexion sur des paramètres pouvant influencer le développement mais également la dispersion du pathogène a été engagé et s'est orienté vers l'étude des conditions climatiques en culture et de la pression entomologique d'un insecte potentiellement vecteur de spores.

Mon stage de fin d'études s'inscrit dans la continuité de ce travail mais également dans une phase de transition entre un travail de recherche dit de terrain et une analyse scientifiquement plus complète, le lancement d'un programme de recherche de trois ans, par le biais d'une thèse CIFRE. L'objectif est, pour mon stage, de valider les hypothèses émises en 2016 en réeffectuant une étude approfondie sur une deuxième année. Enfin, le besoin mentionné l'an passé d'identifier précisément le ou les agents pathogènes, responsables de la maladie, sera analysé et les travaux engagés en ce sens.

¹Le terme « ail » désignera tout au long de ce mémoire l'ail cultivé, *Allium sativum* L.

INTRODUCTION

La filière ail est extrêmement contrôlée et réglementée sur notre territoire. Les plants produits sont certifiés et suivent un itinéraire technique de culture très surveillé afin de garantir, notamment, une qualité sanitaire irréprochable. La filière de production pour la consommation dispose, ainsi, d'un matériel de base très sain et d'une excellente qualité.

Pourtant, malgré cette rigueur de production, une maladie a fait son apparition en 2006 et a été appelée fusariose de l'ail. Ce phénomène nouveau impacte fortement la production d'ail et n'apparaît qu'en période de stockage. L'agent pathogène appartiendrait au genre *Fusarium*. La première année, les taux de pertes n'ont pas dépassé les 1%. Depuis, ils n'ont fait qu'augmenter jusqu'à atteindre un pic en 2015 avec 25% de pertes en moyenne (avec de grands écarts entre producteurs : 1% à 80%), toutes exploitations confondues. L'ail est une culture exigeante et particulièrement demandeuse en main d'œuvre. Les coûts de production sont donc relativement importants et la vision de certaines exploitations touchées à plus de 80% par ce phénomène inquiète et alerte de plus en plus la profession.

La fusariose apparaît sur les bulbes de variétés tardives, récoltés en juillet. L'ail se détériore, pourrit au cours de l'automne et devient invendable. Sur notre territoire, ces symptômes se développent uniquement sur ail rose² ; l'ail violet et blanc (variétés précoces), dits d'automne, sont plantés plus d'un mois avant et ne sont pas concernés (ou très faiblement). Les exigences françaises pour la production de **semences**³ d'ail certifiées imposent une multiplication sur six ans, avant la vente des plants pour la production d'ail de consommation, et de les produire, sous filets anti-insectes⁴, les cinq premières années, afin de limiter les maladies virales véhiculées par les insectes. Les producteurs affirment que la fusariose s'exprimerait en des proportions beaucoup plus importantes pour les cultures conduites sans couverture. Comme les espèces fongiques responsables des symptômes sur l'ail rose ne sont pas encore connues et leurs conditions de développement non étudiées, une extension future du problème sur ail violet ou blanc ne peut pas être exclue.

Pour toutes ces raisons, il devient indispensable de comprendre la maladie et de trouver des solutions. Actuellement, aucun moyen de lutte ou de gestion n'est trouvé. Même les produits phytosanitaires homologués sur ail pour leurs propriétés fongiques (utilisés contre la rouille, *Puccinia allii*) ne semblent pas être un levier d'action à étudier, du moins pour l'instant. En effet, la méconnaissance totale de ce pathogène rend la lutte délicate et trop aléatoire de par un positionnement des traitements et un mode d'application non connus et sans doute non adaptés à la période de sensibilité ou de contamination de l'ail par *Fusarium*.

Comprendre l'**étiologie** et l'**épidémiologie** de la maladie est donc indispensable et l'identification du pathogène prioritaire afin de mieux caractériser les causes et les facteurs de développement de la maladie. Cependant, comment procéder ?

Plusieurs problématiques se dégagent :

- Sous quelles conditions l'identification de l'agent pathogène, responsable de la maladie de la fusariose de l'ail, peut-elle être réalisée, de manière simple, rapide, rigoureuse et répétable dans le temps ?
- Dans quelles mesures les conditions extérieures à la culture, qu'elles soient climatiques ou environnementales, favorisent-elles le développement de la fusariose de l'ail ?

² Le type d'ail dit de printemps est aussi appelé ail rose.

³ Les mots en gras figurent dans le glossaire et sont ceux qui apparaissent pour la première fois dans le texte.

⁴ Les termes filet anti-insectes et filet insect-proof pourront être utilisés, tous deux désignant le même filet.

Afin d'apporter des réponses aux nombreuses interrogations suscitées par ce phénomène qui touche la filière ail, ce mémoire va s'orienter vers deux grandes parties. La première est une réflexion quant à l'identification des agents pathogènes, l'objectif étant d'établir une méthode fiable, efficace et répétable d'évaluation du pouvoir pathogène de souches de *Fusarium* isolées, sur ail. Dans un second temps, la réflexion portera davantage vers l'étude de certaines conditions extérieures à la culture pouvant avoir un impact non négligeable sur le développement de la maladie, à savoir la pression entomologique et les conditions pédoclimatiques en parcelle sous filet et hors filet anti-insectes. Il s'agira d'un travail de validation des résultats antérieurs obtenus, de les approfondir et de préparer l'environnement de travail pour le lancement d'un programme de recherche sur le sujet, par l'intermédiaire d'une thèse CIFRE.



Figure 1 : Parcelle de production de plants d'ail de printemps (variété Arno) (source : Pierrick Ricard, Drôme, 22/05/2017)



Figure 2 : Tête d'ail de la variété Ibérose. A : vue de face ; B : vue depuis le plateau racinaire ; C : bulbe constitué de caïeux autour de la tige florale (variété à bâton) (source : Pierrick Ricard, FNAMS Étoile-sur-Rhône, 10/06/2017)



Figure 3 : Photographie d'une hampe florale d'ail de printemps (variété Flavor) (source : Pierrick Ricard, Drôme, 10/07/2017)

I. SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE : LA FUSARIOSE DE L'AIL, UNE MALADIE MULTIFACTORIELLE ET EN EXPANSION

A. L'AIL, UNE CULTURE MINEURE EN FRANCE, MAIS A FORTE VALEUR AJOUTÉE

L'ail, *Allium sativum* L., est une plante connue et utilisée par l'homme depuis des millénaires. Il serait originaire du centre et de l'Ouest de l'Asie. Dans l'Antiquité, les civilisations égyptienne, grecque et romaine, l'utilisaient déjà comme plante médicinale et condimentaire (Mercier-Fichaux, 2016). Il s'agissait d'ailleurs d'une denrée presque divine, particulièrement recherchée et signe de richesses : des restes de plante ont été retrouvés dans des tombeaux égyptiens (Birlouez, 2016).

1. Une plante bulbeuse de la famille des *Amaryllidaceae*

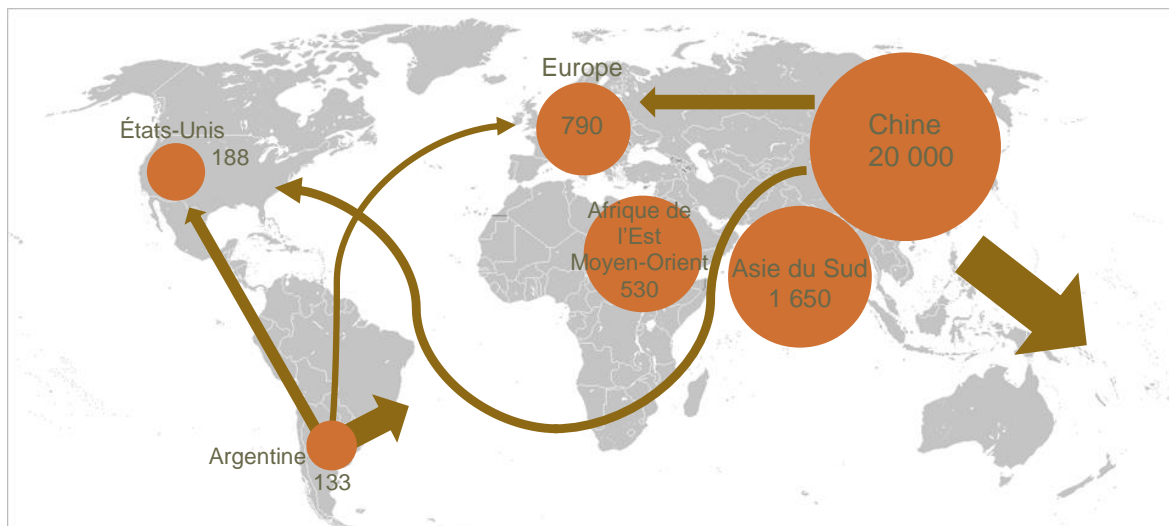
a. L'ail, une monocotylédone à reproduction végétative

L'ail est une **monocotylédone**, comme la majorité des plantes bulbeuses, appartenant à la famille des *Amaryllidaceae* et au genre des *Allium*, tout comme l'échalote, l'oignon, le poireau et la ciboulette (Birlouez, 2016). L'ail cultivé ou encore l'ail commun sont les noms vernaculaires couramment donnés à l'espèce *sativum* [1].

L'ail est une plante vivace bulbeuse qui mesure entre 50 et 80 cm de hauteur (figure 1). Le bulbe, ou tête, est la partie du végétal qui est intéressante pour la consommation (figure 2). Il est constitué de plusieurs caïeux, une dizaine en moyenne, qui sont organisés de manière circulaire autour de la zone centrale du bulbe (figure 2C). Ils sont aussi appelés gousses. Chaque caïeu est enveloppé d'une fine pellicule protectrice de couleur variable, appelée tunique. Les caïeux sont tous rattachés au plateau racinaire du bulbe et l'ensemble est recouvert de plusieurs tuniques ou peaux. Une tête d'ail pèse entre 30 et 100 grammes (Maroto i Borrego, Baixauli Soria, 2017). Les feuilles sont linéaires-élargies, planes, glabres et de couleur gris-vert. Elles sont engainantes avec la partie inférieure des tiges (Brickell, Mioulane, 2015) [1].

Plusieurs types d'ail sont cultivés. L'ail dit « d'automne » regroupe l'ensemble des variétés d'ail blanc (type précoce) ou violet (type très précoce) et est planté d'octobre à mi-décembre et récolté en juin. De nombreuses variétés existent (annexe I). L'ail dit de « printemps », ou « rose », est planté un peu plus tardivement, entre novembre et mars généralement et se conserve plus longtemps. La récolte se fait en juillet, environ un mois après l'ail d'automne.

La plupart des aulx cultivés ne produisent pas d'inflorescence. Seules quelques variétés d'ail rose en produisent, les fleurs étant regroupées en ombelle au bout de la hampe florale. Ces aulx sont des variétés dites « à bâton » : la hampe florale qui se développe au centre du bulbe au cours de la culture, persiste et est dure et rigide (figure 2C). Malgré ces caractéristiques, de très rares hampes florales peuvent apparaître sur les variétés n'en produisant habituellement pas. Les hampes sont constituées de fleurs stériles et laissant place à des bulbilles (figure 3). La multiplication de l'ail se fait par voie végétative et non par reproduction sexuée : la semence d'ail est donc un plant puisque ce sont les caïeux qui sont utilisés pour la multiplication de la plante (Maroto i Borrego, Baixauli Soria, 2017). La création variétale est compliquée et l'apparition de nouvelles variétés est quasiment impossible par hybridation, les nouveautés provenant le plus souvent de la mutation somatique d'un individu.



- Principales zones de production (milliers de tonnes)
- ➔ Principaux flux commerciaux

Figure 4 : Les principaux pays producteurs d'ail et les flux commerciaux internationaux (source : FAO stats 2011-2014)

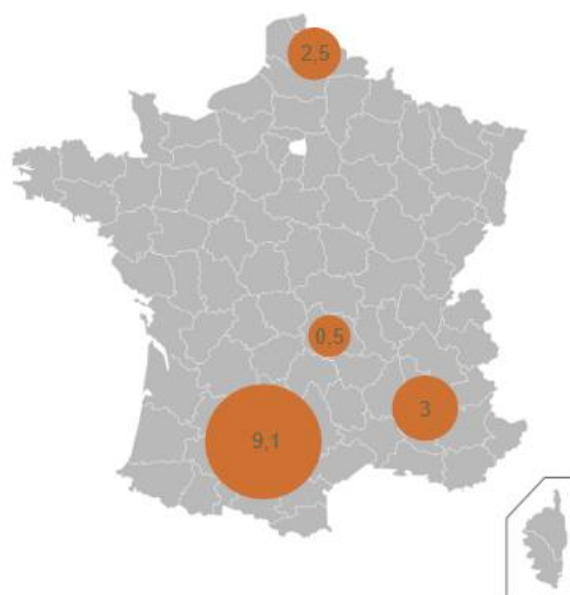


Figure 5 : Les principaux bassins de production d'ail (consommation) sur le territoire français en 2015 (en milliers de tonnes) (source : Ugliera, 2017)

b. La production d'ail : répartition et importance économique

De manière générale, la production mondiale d'ail a fortement augmenté ces vingt dernières années. Cette tendance concerne le marché de frais, de la transformation (Cavard-Vibert, Vernin, 2016) et, *a fortiori*, de la production de plants d'ail. La production mondiale, tous pays confondus, avoisinait les 8 millions de tonnes en 1994 (Rubatzky, Yamaguchi, 1997) et les 24 millions de tonnes au début des années 2010 d'après l'Organisation des Nations Unies pour l'Alimentation et l'Agriculture (FAO) (Comité du Codex sur les fruits et légumes frais, 2014 ; Cavard-Vibert, Vernin, 2016). Les dernières estimations évaluent la production à 25 millions de tonnes en 2015 [2].

En 2014, le leader international de la production d'ail était la Chine avec ses quelques 20 millions de tonnes produites estimées par an (figure 4), ce qui représente 80% de la production mondiale (Comité du Codex sur les fruits et légumes frais, 2014). L'Europe (Russie incluse) se place à la deuxième place avec 790 000 tonnes en moyenne sur 2011-2013 (Cavard-Vibert, Vernin, 2016). Au niveau de l'Union Européenne, l'Espagne est en tête avec 204 000 tonnes en 2016 (estimations du Ministère espagnol au 31 décembre 2016 cité par Association Nationale Interprofessionnelle de l'Ail (ANIAIL), 2017).

En France, l'ail est valorisé par cinq certifications, ce qui en fait la culture possédant le plus de gages de qualité sur le territoire français mais également au niveau international.

Ces signes sont les suivants :

- le Label Rouge et IGP Ail Rose de Lautrec (Tarn) ;
- l'IGP Ail Blanc de Lomagne (Gers, Tarn-et-Garonne) ;
- l'IGP Ail de la Drôme (Drôme) ;
- l'IGP Ail fumé d'Arleux (Nord, Pas-de-Calais) ;
- l'AOC Ail violet de Cadours (Haute-Garonne, Gers, Tarn-et-Garonne).

Deux autres signes de qualité sont en cours d'instruction et concernent le Label Rouge et l'IGP Ail Rose d'Auvergne [3].

Les surfaces de production d'ail de consommation français en 2016 sont de 2 740 hectares ce qui représente environ 21 000 tonnes (Tricard, 2016 ; Ugliera, 2017). La production est divisée en quatre grands bassins et en 2015 elle était de 15 100 tonnes (figure 5) : le Sud-Ouest qui représente plus de la moitié de la production nationale, le Sud-Est (environ 20% : Région Rhône-Alpes, dont le département de la Drôme notamment), les Hauts-de-France (Nord-Pas-de-Calais et Nord : 10%) et l'Auvergne (2%). La France est également un pays producteur d'ail semences et est reconnue mondialement pour ses exigences et gages de qualités (Cavard-Vibert, Vernin, 2016 ; Ugliera, 2017). En 2016, un peu plus de 500 hectares étaient dédiés à la production d'ail semences pour une récolte d'un peu plus de 4 221 tonnes (Petit-Blanc, 2017).

2. Une culture très spécifique

a. Règles de production

Deux types de production d'ail existent : la production d'ail pour la consommation et d'ail pour la semence. Cette dernière est assez caractéristique. En effet, les producteurs français se sont imposés des règles de production très spécifiques et strictes de manière à obtenir des plants de grande qualité. Tout établissement de production ou de conditionnement doit suivre scrupuleusement le règlement technique de la production et du contrôle des plants certifiés d'ail (annexe II). Ce haut niveau d'exigence a pour objectif d'établir une certification qui porte sur deux principaux critères : une pureté variétale maximale et la garantie de plants d'une qualité sanitaire irréprochable (taux de viroses et de pourriture blanche inférieur à 1% et absence de nématodes) (tableau 1) (Tricard, 2016).

La production se fait uniquement par voie végétative et le processus démarre six ans avant la commercialisation des plants. La culture est conduite sous filet insect-proof (maillage de 800 microns) les cinq premières années. L'intérêt d'une conduite sous filet est d'empêcher le passage de pucerons. Malgré le manque d'intérêt de ces insectes envers l'ail, certains individus, au cours de leur recherche d'une plante hôte pour l'installation d'une nouvelle colonie, procèdent à des ponctions de liquides extra et intracellulaire mais également de phloème. Lors de ces étapes de « test » (pique d'épreuve), le puceron peut transmettre à la plante des virus (OYDV et LYSV) et provoquer des viroses à la plante contaminée.

Le schéma de multiplication (figure 6) est organisé par quatre grandes catégories de matériel végétal :

- matériel F0 et F1 : matériel de départ ;
- matériel F2, F3, F4 : plants de prébase ;
- matériel F5 : plants de base ;
- matériel F6 : plants certifiés.

Le matériel de départ F0 est obtenu par régénération *in vitro* de la lignée F1. Huit caïeux issus du bulbe F0 sont plantés sous filet insect-proof et constituent la lignée F1. Si un seul de ces huit plants présente un défaut (maladie, problème de développement, etc.), la lignée entière est détruite. La deuxième année, les caïeux de la lignée F1 sont plantés et constituent une famille nommée F2. Tout comme l'année précédente, si un seul plant présente des défauts, l'ensemble de la famille est détruit. Ces deux premières années de cultures, très sélectives, permettent de réduire considérablement les familles malades et hétérogènes. Les trois années de multiplication suivantes sont très souvent maintenues sous filet anti-insecte. Chaque année, et ce jusqu'à la cinquième (F5), les plants présentant des défauts sont éliminés (épuration manuelle de mars jusqu'à la récolte). Ces trois années supplémentaires permettent de poursuivre l'épuration variétale et sanitaire des plants. Enfin, la dernière et sixième année de production de plants (F6) se poursuit en plein champ, sans filet et les plants virosés sont éliminés. A la fin de ce processus de production, le matériel végétal récolté peut être vendu en tant que plant certifié français et utilisé pour la production d'ail de consommation mais également pour le marché du jardinier amateur.

En plus de ces exigences de production, les parcelles de culture ne doivent pas avoir porté de plantes du genre *Allium* depuis au moins cinq ans pour pouvoir installer une culture d'ail, sauf dérogation exceptionnelle accordée par le SOC (Service Officiel de Contrôle et de Certification). Les rotations les plus pratiquées sont : blé/tournesol/blé/ail, pomme de terre/maïs/blé/ail, tournesol/maïs/blé/ail. Enfin, avant toute commercialisation de plants certifiés, des contrôles de pureté sanitaire sont réalisés. Ces plants sont ensuite utilisés pour la culture d'ail de consommation. Le mode de production est sensiblement le même que pour l'obtention de plants d'ail certifiés (de F5 à F6). La production a lieu sans mise en place de filets insect-proof et l'épuration des plants virosés n'est pas réalisée.

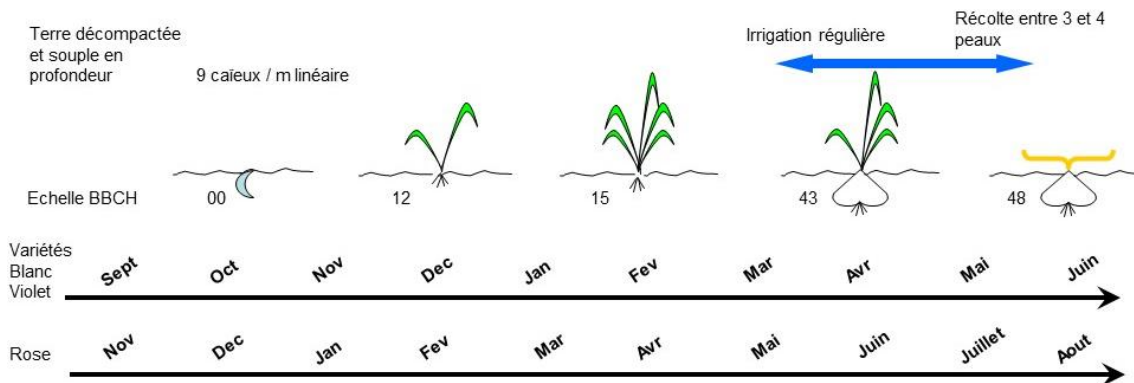


Figure 7 : Schématisation de l'itinéraire technique de culture d'ail d'automne (source : Fiche technique interne de Prosemail, 2017)



Figure 8 : Représentation moléculaire de l'alliine (à gauche) et de l'alicine (à droite), à l'origine des caractéristiques olfactives et de certaines propriétés médicinales de l'ail (source : Anton, 2016)

b. Itinéraire technique de culture

Les dates de plantation de l'ail varient suivant le type. L'ail d'automne est planté d'octobre à décembre et l'ail de printemps est planté plus tardivement, de novembre à mars. La plantation est très souvent réalisée avec une planteuse. La densité moyenne de plantation est de 9 plants au mètre linéaire. Les plants sont plantés en planche de 3 rangs et espacés de 10-11 cm. L'espace inter-rang est de 45 cm et inter-planche de 70 cm. L'ail est une plante particulièrement gourmande en azote, phosphore et potasse et un déficit peut être source de désordres physiologiques du bulbe ou tout simplement de baisse de rendement (figure 7). En France, le rendement moyen est de 7 tonnes hectare.

De mars à fin mai, la plante est en pleine phase de croissance végétative et de division et peut demander des apports d'eau en cas de temps sec. A partir de fin mai début juin, la plante entame sa mise en réserve, c'est la dernière phase : la bulbaison. Les variétés dites « à bâton » demandent un travail supplémentaire : le despoulinage. Cette étape consiste simplement à couper la hampe florale afin que celle-ci ne fasse pas concurrence au développement du bulbe.

L'ail est récolté mécaniquement à l'aide de machines agricoles adaptées. Les plants sont équeutés et les bulbes sont directement placés dans des palox en bois. Le déterrage est réalisé par la suite, mécaniquement, et consiste à retirer un maximum les mottes de terre, restées accrochées sur les têtes. Les aux sont ensuite séchés dans les palox par un flux d'air continu pour une durée minimale de trois semaines. Enfin, ils sont placés dans une zone de stockage dans un espace où l'air est plus frais et sec. Un stockage dans de grandes chambres climatiques est parfois réalisé à des températures pouvant descendre dans les 0°C à -4°C afin de prolonger la durée de vie des produits. Cette technique est utilisée pour la conservation de l'ail destiné à la consommation (Règlement technique de production ; F. Folcher, communication personnelle). L'ail est parfois récolté en fane : la tige n'est pas coupée et le produit est séché à la barre : l'ail récolté en fane est mis en paquets suspendus à une barre ; cela permet la confection de gerbes ou de tresses pour la vente.

3. Une plante aux propriétés aromatiques nombreuses mais néanmoins sensible à certains pathogènes

a. Les molécules aromatiques de l'ail cultivé

La plupart des civilisations qu'elles soient grecque, égyptienne, musulmane ou encore romaine attribuaient de nombreuses propriétés médicinales à l'ail qui permettait de traiter un bon nombre de maux (infections diverses, problèmes digestifs, parasitoses, ...) (Mercier-Fichaux, 2016 ; Maroto i Borrego, Baixauli Soria, 2017).

Au cours du XIX^{ème} siècle, des scientifiques ont confirmé les vertus antibactériennes de cette plante (Stavělíková, 2008 ; Mercier-Fichaux, 2016). Aujourd'hui, les recherches montrent que des composés chimiques et phytochimiques soufrés lui confèrent ses effets antibiotiques, antifongiques, expectorants, hypotenseurs, hypoglycémiantes ou encore vermifuges (Chevallier, 2013 ; Mercier-Fichaux, 2016). L'un d'eux, l'alliine (figure 8), est présent entre 0,5% et 1,3% dans l'ail frais et lui donne son odeur caractéristique une fois haché ou écrasé. Cette molécule réagit avec l'alliinase qui est l'enzyme de dégradation de l'alliine et transforme cette dernière en allicine, la molécule aromatique (Anton, 2016 ; Mercier-Fichaux, 2016). Il s'avère que c'est cette molécule, au pouvoir aromatique puissant et bien connu de tous, qui fournit en partie à l'ail des propriétés bactéricides, fongicides ou encore nématicides (Lawson, Hughes, 1992).

b. Les ravageurs et les agents pathogènes de l'ail

Bien que l'ail ait des actions, notamment, antibactériennes et permette de lutter efficacement contre un grand nombre de maux, il n'en reste pas moins sensible à une multitude de ravageurs (annexe III). C'est pour limiter ces risques d'attaques que la culture de l'ail s'inscrit dans une rotation établie au sein de laquelle il ne revient que tous les cinq ans sur les parcelles (F. Folcher, communication personnelle).

Tout d'abord, plusieurs insectes sont problématiques en production mais à des niveaux différents. Les principaux sont le puceron qui peut éventuellement entraîner l'apparition de viroses (raison pour laquelle des filets anti-insectes sont installés), la mouche de l'oignon (*Delia antiqua*) et la mineuse du poireau (*Phytomyza gymnostoma*). Des acariens (*Aceria tulipae*) ou encore des nématodes (*Ditylenchus dipsaci*) peuvent aussi perturber la production.

Malgré ses propriétés bactéricides reconnues, l'ail est sujet à des attaques bactériennes induisant notamment la maladie du café au lait. Celle-ci correspond à un pourrissement de la tige qui adopte une consistance visqueuse et une couleur beige. L'agent pathogène responsable est *Pseudomonas salomonii*, parfois *Pseudomonas fluorescens*.

En ce qui concerne les maladies fongiques, l'ail est sensible à des champignons à dissémination aérienne. L'un des plus redouté et difficilement maîtrisable en production biologique est *Puccinia allii*. Il est responsable de la formation de pustules de couleur rouille, entraînant, à terme, le dessèchement complet du feuillage. La croissance de la plante, et donc le calibre du bulbe, en pâtissent fortement. La pression de la maladie peut être très élevée dans les parcelles et avoir une incidence forte sur le rendement sans lutte chimique adaptée. En outre, des ravageurs telluriques peuvent s'installer sur les cultures d'ail. *Sclerotium cepivorum* est responsable de la pourriture blanche. Des pathogènes comme *Penicillium corymbiferum* et *Penicillium cyclopium* entraînent des pourritures verte ou bleue sur les caïeux et donc le dépérissement total de la plante.

Actuellement, tous ces ravageurs et agents pathogènes sont maîtrisables par l'utilisation d'insecticides, de fongicides ou encore par la bonne gestion de la fertilisation pour ne pas brusquer la croissance de la plante. Cependant, depuis peu, les *Fusarium* impactent les cultures. Leur présence ne se voit généralement qu'en conservation, au stockage, avec le développement de la maladie de la fusariose de l'ail (Delgado-Ortiz et al., 2016 ; Tricard, 2016). Les mécanismes d'action et de contamination ne sont pas encore compris ce qui explique qu'aucune lutte efficace n'est, à ce jour, établie.



Figure 9 : Coupe transversale d'un bulbe d'ail rose présentant les symptômes de fusariose sur un caïeu (source : Tricard, septembre 2015)

Tableau 2 : Les huit espèces de *Fusarium* référencés par la communauté scientifique comme pathogène de l'ail (*Allium sativum* L.) (source : Pierrick Ricard, 2017)

Références bibliographiques	Pays d'observation								
		<i>F. acuminatum</i>	<i>F. culmorum</i>	<i>F. graminearum</i>	<i>F. oxysporum</i>	<i>F. proliferatum</i>	<i>F. solani</i>	<i>F. tricinctum</i>	<i>F. verticillioides</i>
Dugan et al., 2003	États-Unis				X				
Koleva, 2004	Bulgarie		X	X					
Dugan et al., 2007	États-Unis				X				X
Stanković et al., 2007	Serbie	X	X		X	X			
Palmero et al., 2010	Espagne				X				
Stępień et al., 2011	Pologne				X				
Ochoa-Fuentes et al., 2012	Mexique	X	X		X	X			X
Palmero et al., 2012	Espagne				X				
Sankar, Babu, 2012	Inde				X				
Tonti et al., 2012	Italie				X				
Moharam et al., 2013	Égypte				X				
Ochoa-Fuentes et al., 2013	Mexique				X				
Salvalaggio, Ridao, 2013	Argentine				X				
Quesada-Ocampo et al., 2014	États-Unis				X				
Delgado-Ortiz et al., 2016	Mexique	X			X	X			X
M Ignjatov et al., 2017	Serbie	X							
M. Ignjatov et al., 2017	Serbie							X	

B. LA FUSARIOSE DE L'AIL

Les producteurs ont commencé à observer des pertes à cause de ce qu'ils ont nommé « la fusariose de l'ail » au début des années 2000. Depuis, cette maladie est en expansion et impacte fortement la production. Les *Fusarium*, des micro-organismes fongiques telluriques, seraient à l'origine de ce problème.

1. Dégâts observés en production d'ail

a. Description et période d'apparition des symptômes

La maladie se caractérise par l'apparition de pourritures sur caïeux (figure 9). Les premiers symptômes se manifestent environ deux mois après la récolte, soit au plus tôt en septembre. Cette dégradation des tissus se développe, généralement, à partir du plateau racinaire. Lors des premiers stades d'émergence des symptômes, l'aspect externe du bulbe reste visuellement intact et sain. Seule une coupe de l'organe de réserve permet de mettre en évidence le problème. Les caïeux sont ramollis, avec des zones nécrotiques marron plus ou moins importantes et certains peuvent être recouverts, en partie, d'un **mycélium** blanc à l'aspect laineux. A terme, le bulbe peut être entièrement spongieux, pourri de l'intérieur, les tuniques externes restant bien souvent indemnes (Susan, 2008 ; Tonti et al., 2012 ; F. Folcher, communication personnelle). Il faut également noter que les bulbes fusariés, essentiellement des variétés à bâton, sont souvent colonisés par un acarien (*Aceria tulipae*). Il est impossible d'établir un lien mais la constatation est intéressante.

Jusqu'à présent, les observations réalisées en France (Drôme et Sud-Ouest) n'ont pas permis de détecter un signe distinctif en cours de culture laissant présager du développement futur de la maladie pendant la phase de stockage, en conservation. En revanche, au Mexique, des symptômes ont été observés au champ, pendant la culture (Delgado-Ortiz et al., 2016). L'infection semble se manifester par une coloration café de la pointe des feuilles. Ce phénomène s'accentuerait, à mesure de l'extension du micro-organisme infectieux, par l'émergence de teintes rouges violacées sur le feuillage. En outre, un nanisme de la plante, une tige molle, des racines de couleur café à rouge et une fonte du semis peuvent s'observer. Tous ces phénomènes n'ont pas encore été détectés en France ou du moins aucune corrélation avec la fusariose n'a été attribuée.

b. Les agents responsables de la maladie

De nombreux travaux ont été engagés dans les différents pays producteurs d'ail. Les avis divergent concernant l'espèce la plus présente sur *Allium sativum*. Par exemple, Ochoa-Fuentes et al., (2012) rapportent que *F. oxysporum* serait l'agent pathogène le plus fréquent, alors que d'autres isolent fréquemment *F. proliferatum*. En réalité, il semble que les symptômes ne soient pas dus à une seule espèce de *Fusarium* mais plutôt à un complexe d'espèces. Ainsi huit espèces ont été répertoriées dans différents pays (tableau 2). En outre, des études montrent qu'au sein d'une même espèce, la diversité peut être grande. Ainsi, *F. proliferatum* aurait un polymorphisme spécifique à son hôte (Stepień et al., 2011).



Figure 10 : Coupe transversale d'un bulbe d'ail d'automne présentant les symptômes de Waxy breakdown (source : Tricard, septembre 2015)

Tableau 3: Les différentes mycotoxines produites par quelques espèces de *Fusarium* (source : Fremy et al., 2009)

Mycotoxines produites	Espèces concernées
Fumonisines (B1, B2 et B3)	<i>F. verticillioides</i> , <i>F. proliferatum</i>
Thrichothécènes (T2 et HT-2, Déoxynivalénol (DON), Nivalénol (NIV), Fusarénone(FX))	<i>F. graminearum</i> , <i>F. culmorum</i> , <i>F. tricinctum</i> , <i>F. acuminatum</i>
Zéaralénone	<i>F. graminearum</i> , <i>F. culmorum</i> , <i>F. equiseti</i> , <i>F. crookwellense</i> , <i>F. sporotrichioides</i>

c. Des symptômes très proches de la fusariose : le Waxy breakdown

Le Waxy breakdown est une maladie qui touche l'ail et qui a toujours été observée. Tout comme la fusariose, aucun signe avant-coureur pendant la culture ne laisse supposer son développement futur pendant la période de conservation. Les premiers symptômes peuvent apparaître bien plus tôt que ceux de la fusariose : dans les trois semaines après la récolte. Une forte odeur caractéristique est également un critère de différenciation. A l'inverse de la fusariose, cette dégradation s'exprime quasi exclusivement sur les variétés d'ail d'automne (blanc et violet) et pratiquement jamais sur l'ail de printemps. Le problème ne se voit pas sur les tuniques extérieures du bulbe. Seuls certains caïeux sont touchés (figure 10) : ils deviennent jaune-orangé, semi-translucides, collants et cireux. Le problème apparaît sur quelques caïeux et ne se propage pas au reste du bulbe, contrairement à la fusariose (Tricard, 2016 ; F. Folcher, communication personnelle).

Des études montrent que cette dégradation serait due à un désordre physiologique de la plante, causée par un défaut d'alimentation. Un excès de potassium et une carence en calcium entraîneraient ainsi l'altération des tissus végétaux (Erard et al., 2014 ; Tricard, 2016). Une gestion parfaite de la température et de l'hygrométrie en conservation et un stockage en chambre froide permettent, néanmoins, de contenir le problème et donc de limiter les pertes.

2. Impacts économiques de la fusariose de l'ail : pertes de production et crainte des mycotoxines

Historiquement, les premières manifestations de la fusariose en France datent de 2006, la maladie ne touchant que 1% de la production. Depuis, les pertes à la vente n'ont cessé d'augmenter jusqu'en 2013-2014 pour atteindre les 25% de pertes. En 2016, la pression a été plus faible et est retombée à 11% environ. Ces dégâts représentent un important manque à gagner pour les agriculteurs qui, malheureusement, produisent parfois à perte si le taux de fusariose est trop important (supérieur à 20%). En plus de cela, la profession craint l'apparition de mycotoxines sur l'ail.

Les mycotoxines sont des substances toxiques sécrétées par des organismes fongiques microscopiques divers. Qu'elles proviennent de micro-organismes comme les *Penicillium*, *Aspergillus* ou encore *Fusarium*, il s'agit de métabolites secondaires. Ce sont donc des composés organiques non indispensables au développement du champignon mais qui sont issus de son métabolisme. Elles peuvent contaminer les denrées alimentaires et sont souvent toxiques pour les organismes vivants. Leurs effets sont nombreux : cancérigène, immunomodulateur, mutagène, toxique pour la reproduction, neurotoxique, hépatotoxique, hématotoxique, etc. Les *Fusarium* produisent des mycotoxines, différentes selon les espèces. Les principales produites sont rassemblées dans le tableau 3 ci-contre. Vu les risques que peuvent représenter de tels composés dans les denrées alimentaires, des réglementations sont mises en place au niveau européen afin de maîtriser leur teneur maximale autorisée et sans risques pour la consommation. A l'heure actuelle, seule la déoxynivalénol (DON) fait office de réglementation, aucune teneur n'étant fixée pour les nivalénol (NIV), T2 et HT-2 (annexe IV) (Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture, 2003 ; Freymy et al., 2009 ; Stępień et al., 2011).

En 2008 et 2017, des traces de fumonisine B1 ont été détectées sur de l'ail en poudre (Boonzaaijer et al., 2008 ; Tonti et al., 2017). Si, à terme, ces observations devaient se répéter et avec des taux plus importants, cela deviendrait un problème de sécurité sanitaire de grande importance pour la filière agroalimentaire de l'ail (Stanković et al., 2007 ; Tonti et al., 2012). Des réglementations supplémentaires pourraient voir le jour afin d'encadrer ces taux, ce qui serait très problématique pour l'avenir de la production d'ail et le maintien de la stabilité économique des exploitations en France.

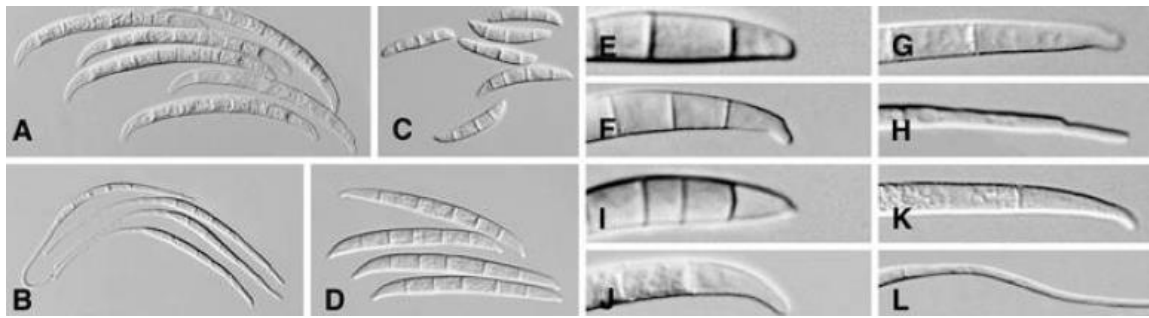


Figure 11: Observations microscopiques de macroconidies de certaines espèces de *Fusarium* : diversité morphologique des macroconidies au sein même du genre. A à D variation de la forme et de la taille des macroconidies. E à H variation de la partie basale des macroconidies. I à L, variation de la partie apicale des macroconidies. A et J, *F. decemcellulare*. B, H et L, *F. longipes*. C, E et I, *F. culmorum*. D, *F. chlamydosporum*, F, *F. crookwellense*, G, *F. avenaceum*, K, *F. verticillioides* (source : Summerell et al., 2003)

3. Le genre *Fusarium* : caractéristiques et identification

a. Un genre très diversifié

Les *Fusarium* sont présents sur tous les continents et leur diversité leur permet de s'adapter aux conditions climatiques de différentes zones. Le nom du genre vient du latin *fusus* signifiant « fuseau » et qui décrit la forme de leurs **spores**. La première description de ce genre a été réalisée par Link en 1809, genre qui regroupait l'ensemble des espèces aux **macroconidies** cloisonnées et fusiformes. La plupart des *Fusarium* sont des champignons imparfaits (reproduction asexuée) et sont classés parmi les Deutéromycètes. Leurs formes parfaites (téléomorphes, reproduction sexuée) font partie des genres *Gibberella*, *Albonectria* et *Haematonectria* (Summerell et al., 2010) [4].

La classification taxonomique des *Fusarium* se base sur les caractéristiques morphologiques :

- taille et forme des macroconidies (figure 11) ;
- présence ou absence de **microconidies** ;
- présence ou absence de **chlamydospores** ;
- couleur de la culture en boîte de Petri ;
- structure des **conidiophores**.

Cette méthode de classement a permis de différencier une centaine d'espèces différentes dans le genre *Fusarium*. Elle n'est cependant pas parfaite et nécessite une véritable expertise (Fravel et al., 2003). Aujourd'hui, les analyses moléculaires permettent de réaliser des identifications d'espèces fongiques par comparaison de séquences d'ADN (Leslie et al., 2007 ; Summerell et al., 2010).

Le mode de vie de ces organismes vivants est très variable. Ils peuvent être **endophytes**, c'est-à-dire, vivre en symbiose à l'intérieur du végétal : par exemple *F. proliferatum* peut être une espèce endophyte mais également pathogène (Stępień et al., 2011). Certaines espèces ou souches de *Fusarium* comme *F. oxysporum* sont des organismes **saprophytes**. Ils peuvent se développer et survivre durant de longues périodes dans la matière organique du sol et dans la **rhizosphère** de nombreuses espèces végétales. Ils se contentent de se nourrir de matière organique morte et participent donc activement à la vie du sol et à la décomposition des organismes morts (débris végétaux, etc.). Par ailleurs, ces champignons peuvent être des pathogènes de différentes espèces de plantes. Le micro-organisme pénètre dans la plante par les racines entraînant le pourrissement des racines ou une **trachéomyose** quand le pathogène envahit le système vasculaire de la plante (Fravel et al., 2003).

Le mode de dispersion est variable. Il est bien sûr favorisé par l'activité humaine, qui est désormais non négligeable (agriculture, transports terrestres ou aériens). Certaines espèces privilégient une dispersion aérienne (*F. graminearum* par exemple). D'autres comme *F. oxysporum*, privilégient la dispersion aquatique (Summerell et al., 2010).



Figure 12 : La diversité de développement de différentes espèces de *Fusarium* sur milieu PDA, en boîte de Petri, après 7 à 10 jours à 22°C. (la boîte du haut de chaque paire correspond au mycélium aérien, celle du bas à la vue de dessous). A, *F. poae*. B, *F. oxysporum*. C, *F. acuminatum*. D, *F. nelsonii*. E, *F. subglutinans*. F, *F. nygamai*. G, *F. pseudonygamai*. H, *F. lateritium*. I, *F. thapsinum*. J, *F. decemcellulare*. K, *F. verticillioides*. L, *F. culmorum* (source : Summerell et al., 2003)

b. Méthodes d'identification des *Fusarium* de l'ail

Sur ail, l'identification se fait à partir d'isollements réalisés sur bulbe ou sur caïeu. Un isolement sur échantillons de sol de la parcelle de culture peut également être possible.

i. *Méthode d'identification par caractérisation phénotypique*

Les premières techniques d'identification des *Fusarium* et de distinction des espèces étaient basées sur l'observation visuelle de la morphologie des champignons. Les critères de distinction reposent sur l'observation de la forme, de la taille et du nombre de cloisons des macroconidies, de la présence ou l'absence de chlamydospores et la présence ou l'absence, la forme et le support des microconidies. Ce sont ces caractéristiques qui ont permis de réaliser une première classification du genre des *Fusarium*. Depuis, avec les nouvelles méthodes d'analyses moléculaires, l'identification sur l'aspect visuel est peu à peu mise de côté car très compliquée à mettre en place, les critères morphologiques étant très proches entre les espèces (Summerell et al., 2003 ; Leslie et al., 2007). Seul un « œil d'expert » peut arriver à différencier des espèces phénotypiquement très proches et fournir une telle détermination (Ochoa-Fuentes et al., 2012).

En outre, une autre technique d'identification est possible. Il s'agit davantage d'un travail d'orientation vers l'identification des souches de *Fusarium* par observation macroscopique de la pigmentation de la colonie et de sa morphologie. Les champignons étudiés sont donc mis en culture en boîte de Petri sur milieu PDA (Potato Dextrose Agar). Généralement, chaque espèce possède des caractéristiques de coloration distinctifs sur milieu PDA (figure 12) et est un critère supplémentaire intéressant pour l'identification des souches (Summerell et al., 2003).

ii. *Méthode d'identification par caractérisation moléculaire*

Un moyen sûr et efficace d'identifier les *Fusarium* isolés est de procéder à une identification moléculaire, par analyse ADN. Des études poussées de la configuration de leur ADN ont permis de mettre en évidence des séquences à certains **loci** qui permettent de distinguer les espèces. Ces séquences codent pour le facteur d'élongation 1- α (*tef1*), la β -tubuline (*tub2*) et les ITS (Internal Transcribed Spacer) 1 et 2. Cependant, suivant les espèces étudiées, certaines séquences ne permettent pas d'établir une identification.

L'extrait d'ADN est ensuite mis en contact avec des amorces d'ITS 1 et 2 et des amorces de facteurs d'élongation 1 et 2. L'amplification de l'ADN est réalisée par la méthode de la PCR (Polymerase Chain Reaction) afin d'obtenir une quantité satisfaisante d'ADN pour analyse. L'identification au niveau de l'espèce par comparaison de la similarité des séquences ITS, notamment, avec la banque de données internationale GenBank est ainsi possible (Leslie et al., 2007 ; Mahmoud, Shehata, 2017). Utiliser de telles amorces permet de travailler en interspécifique. Si cela n'est pas suffisant pour établir des différences, il est nécessaire de faire des analyses intraspécifiques par la recherche de marqueurs moléculaires plus précis, ou tout simplement de réaliser un séquençage plus complet de l'ADN.

Tableau 4 : Références bibliographiques des différentes techniques d'inoculation de *Fusarium* sur ail en laboratoire afin de procéder à une évaluation de la pathogénicité des souches (source : Pierrick Ricard, 2017)

METHODE D'INOCULATION DE <i>FUSARIUM</i> SUR AIL				
Références bibliographiques	Blessure + explant	Explant sans blessure	Immersion dans une suspension de spores	Blessure + suspension de spores
Dugan et al., 2007	X			
Stanković et al., 2007			X	
Palmero et al., 2010	X			
Palmero et al., 2012	X			
Sankar, Babu, 2012	X			
Tonti et al., 2012			X	
Moharam et al., 2013			X	
Ochoa-Fuentes et al., 2013	X			
Salvalaggio, Ridao, 2013				X
Villeneuve, Latour, 2017	X	X		

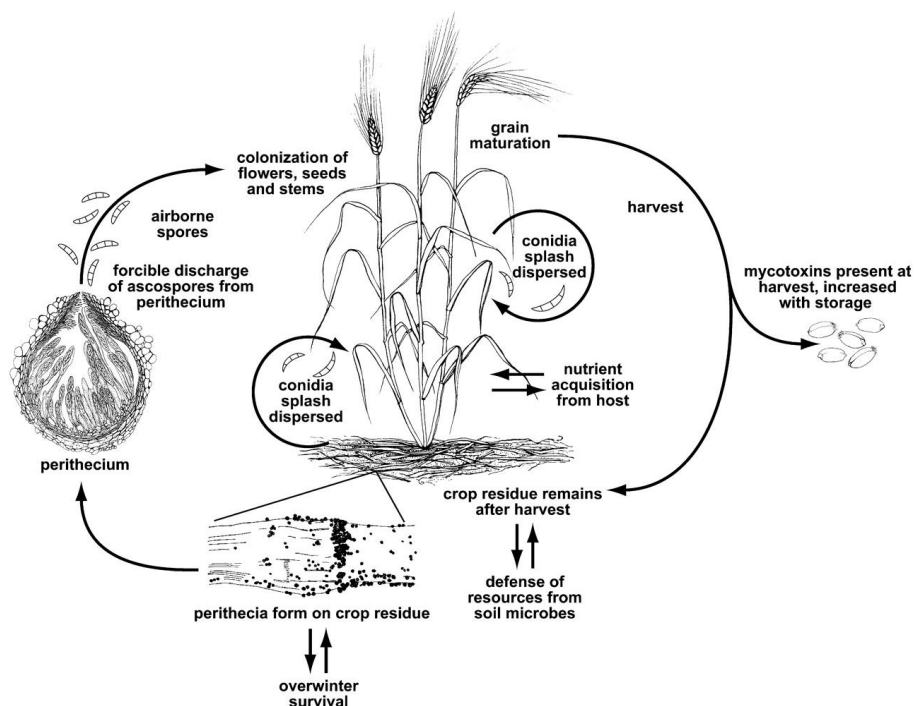


Figure 13 : Cycle de vie de *Fusarium graminearum* (source : Trail, 2009)

c. L'évaluation de la pathogénicité des *Fusarium* de l'ail

L'établissement d'un lien de causalité entre l'agent pathogène et la maladie qu'il provoque n'est pas tâche facile. En faire la preuve consiste à valider les quatre principes que constituent les postulats de Koch, publiés en 1890 par le chercheur allemand Robert Koch :

- l'agent pathogène doit être présent dans tous les organismes atteints par la maladie et absent de ceux qui sont sains ;
- l'agent pathogène doit pouvoir être extrait d'un organisme atteint isolé et cultivé en laboratoire ;
- l'agent pathogène isolé et issu de la culture de laboratoire doit créer les mêmes symptômes quand il est inoculé dans un organisme sain ;
- l'agent pathogène doit pouvoir être isolé de l'organisme expérimentalement inoculé.

La validation des deux derniers principes du postulat de Koch est indispensable afin d'établir un lien certain entre présence sur le végétal malade et pathogénicité réelle du micro-organisme isolé. Pour ce faire, une inoculation forcée en laboratoire de l'agent supposé pathogène est réalisée sur caïeu.

Trois techniques ont été mises au point sur ail (tableau 4) :

- trempage du matériel végétal dans une suspension de spores ;
- dépôt d'un **explant** de PDA colonisé par le *Fusarium* sur une blessure (ou non) réalisée sur le caïeu ;
- dépôt d'une suspension de spores de *Fusarium* sur une blessure réalisée sur caïeu.

Les méthodes se font en conditions stériles. Le matériel végétal est désinfecté dans une solution de NaOCl suivi d'une étape de rinçage (Dugan et al., 2007 ; Palmero et al., 2012 ; Tonti et al., 2012 ; Moharam et al., 2013).

La solution de spores, utilisée pour la technique de trempage de caïeux désinfectés, est réalisée à partir d'une culture sur milieu liquide type PDB (Potato Dextrose Broth). La concentration la plus courante est de 10^6 spores/mL (Stanković et al., 2007 ; Ochoa-Fuentes et al., 2013). Enfin, l'explant de *Fusarium* est issu d'une culture sur milieu PDA, en boîte de Petri, le plus souvent âgée de 7 jours.

4. Épidémiologie de la fusariose : cycle de développement du pathogène et facteurs d'influence

a. Cycle de vie des *Fusarium*

Le cycle de vie des *Fusarium* est mal connu. Le plus étudié est *F. graminearum*, pathogène du blé (figure 13). A l'arrivée de conditions climatiques favorables, les structures de conservation (conidiophores et **périthèces**), situées dans le sol, libèrent les spores qui sont alors déplacées par le vent pour contaminer de nouvelles plantes. Cela constitue l'**inoculum primaire**. Les spores germent en contact de leurs hôtes. Les mycéliums colonisent alors le système vasculaire de la plante, conduisant à la mort des tissus. Le champignon se multiplie et produit de nombreuses autres spores : les chlamydospores, macroconidies et microconidies. En fin de cycle, il forme des structures de conservation. Les deux modes de reproduction sont possibles, la reproduction asexuée étant commune à l'ensemble du genre : des conidiophores sont alors formés. La reproduction sexuée est connue chez certaines espèces de *Fusarium* et notamment *F. proliferatum* et *F. graminearum*. Il s'agit d'une méthode de reproduction particulièrement efficace pour assurer la pérennité de l'espèce. Effectivement, les structures sexuées sont capables de survivre plusieurs années, dans l'attente de conditions opportunes à leur développement. En outre, elles peuvent survivre aux variations de conditions climatiques (gel, dégel, sécheresse, etc.) (Beyer et al., 2004 ; Trail, 2009).

b. Influence des facteurs climatiques sur le développement

Le genre *Fusarium* est vaste et les conditions optimales de développement le sont tout autant. Des tendances sont cependant visibles, en conditions de laboratoire. Des températures plutôt chaudes, comprises entre 20°C et 30°C, une humidité élevée (avec une **activité de l'eau** comprise entre $0.85 < a_w < 0.994$) et un pH plutôt neutre sont favorables à la bonne croissance du micro-organisme. A des températures extrêmes (au-delà de 40°C et en deçà de 5°C) et à une humidité relative inférieure à 53%, le développement des champignons (germination des spores) est très limité voire stoppé (Marin et al., 1995 ; Beyer et al., 2004 ; Summerell et al., 2010).

Des variations inter-espèces peuvent être observées. Ainsi, *F. proliferatum* se développe plus facilement, en culture *in vitro*, à un pH de 5,5 et à une température de 25°C. *F. verticillioides*, quant à lui, préfère un pH de 7 et des températures proches de 30°C (Marin et al., 1995).

Les producteurs d'ail ont remarqué au cours de ces dernières années que la maladie se développe de préférence sur ail de printemps cultivé hors filet et est plus rare sur ail de printemps cultivé sous couverture. En 2016, une étude a été réalisée afin de vérifier si l'installation des filets influence les conditions climatiques de culture et donc hypothétiquement le développement des *Fusarium* dans le sol et la maladie sur les bulbes. La culture couverte disposerait de températures inférieures de 0,5°C et d'une hygrométrie supérieure de 3% par rapport aux conditions de plein champ hors filet. (Hunyadi, 2016).

c. Les plantes hôtes

Les plantes hôtes des *Fusarium* pathogènes sont nombreuses. Au sein d'une même espèce il existe un très grand nombre d'hôtes spécifiques. Une classification de plus de 120 formes spécifiques et races de *Fusarium* a été proposée par Armstrong en 1981 et se base sur les espèces végétales et les cultivars qui peuvent être infectés (Fravel et al., 2003).

Les *Fusarium* sont des pathogènes d'un nombre important de plantes cultivées pour la consommation. Les céréales (blé, maïs, orge, riz, ...), asperge, banane, datte, tomate, melon et salade sont touchés par ces pathogènes. Des plantes ornementales sont également sensibles (Summerell et al., 2003). Une même espèce de *Fusarium* n'est pas nécessairement un pathogène spécifique d'une seule plante. *F. verticillioides* est connu pour avoir le maïs comme hôte spécifique (Stępień et al., 2011) tandis que *F. proliferatum* peut s'attaquer au maïs, riz, asperge, datte et à des plantes ornementales. Certaines de ces plantes hôtes peuvent être porteurs sains et jouent donc le rôle de « réservoir » de *Fusarium* (Stanković et al., 2007).

Cette diversité est un atout majeur pour le pathogène. La probabilité que des plantes hôtes (sauvages ou cultivées) se trouvent à proximité de la parcelle à risque peut être élevée et participent ainsi à sa propagation sur les cultures et à son maintien en période hivernale.

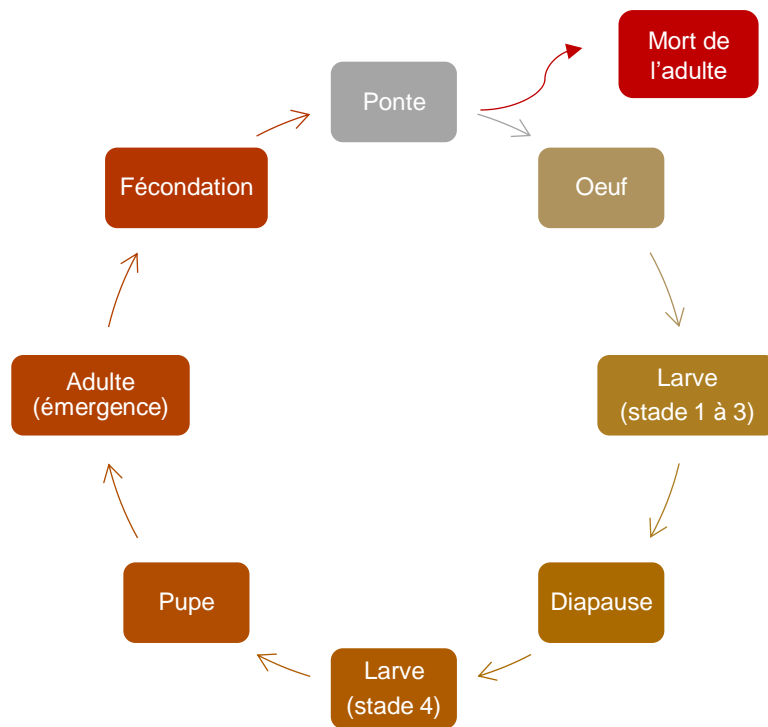


Figure 14 : Cycle de vie de la plupart des insectes de la famille des Cecidomyiidae (source : Amouroux, 2013)

d. Les cécidomyies, des insectes souvent dommageables aux cultures

La littérature fait référence à de potentielles contaminations, ou pour le moins amplifications des attaques de fusariose en présence d'insectes particuliers qui feraient office de vecteurs. La pyrale du maïs, en se nourrissant du feuillage, créerait une porte d'entrée pour les spores de *Fusarium* (Lew et al., 1991 ; Sobek, Munkvold, 1999). En outre, la cécidomyie orangée du blé (*Sitodiplosis mosellana*) est porteuse de *F. graminearum* à hauteur de 2 à 5% d'individus femelles en culture de blé, et participe donc à la propagation des spores (Mongrain et al., 2000). La présence d'insectes agissant de manière similaire en culture d'ail est donc tout à fait envisageable.

i. Les cécidomyies, une famille très diversifiée

Les cécidomyies font parties de l'ordre des Diptères et du sous-ordre des Nématocères. Il s'agit de la famille des *Cecidomyiidae* qui regroupe à elle seule 6 131 espèces. Les insectes de cette famille forment le plus important groupe d'insectes gallicoles. Ils sont très fortement liés aux végétaux et leur déplacement est régi par le vent. La diversité est telle que les espèces peuvent être **mycophages**, saprophages, phytophages ou encore prédateurs de pucerons (*Aphidoletes aphidimyza*) ou d'acariens et sont donc de bons auxiliaires. Bon nombre sont néanmoins des ravageurs des cultures céréalières, fruitières et maraîchères (Coutin, 1962 ; Gagné, 2010 ; Amouroux, 2013). Elles se distinguent grâce à différents critères. Ce sont des insectes de taille très réduite, souvent comprise entre 0,4 mm et 0,8 mm. Leurs ailes ont seulement 3 à 4 nervures longitudinales et leurs pattes sont très allongées et n'ont pas d'éperon tibial, ce qui les distingue d'un genre très proche, les Sciarides. Elles possèdent également de longues antennes aux formes variées (Coutin, 1962 ; E. Pierre, communication personnelle).

Les cécidomyies émergent du sol quand les conditions environnementales sont idéales pour l'insecte. Leur durée de vie n'étant que de quelques jours, les femelles sont fécondées directement par les mâles qui les attendent dans les zones propices à leur développement. La rencontre est facilitée par les phéromones diffusées par la femelle pour attirer les mâles. Une fois la fécondation réalisée, la femelle cherche une plante hôte pour pondre. Elle est souvent guidée par les composés volatiles émis par la plante qu'elle recherche. C'est notamment le cas pour la cécidomyie des feuilles du manguier. Les larves, suivant les espèces, vivent dans les tissus, dont elles se nourrissent, soit à la surface des feuilles, soit à l'intérieur de galles. Au dernier stade, la larve rejoint généralement le sol et s'entoure d'un cocon pour y réaliser son stade de pupaison. Une fois ce dernier stade terminé, l'adulte émerge et rejoint la surface du sol (figure 14).

Ces insectes sont diapausants. La **diapause** a lieu entre le troisième et dernier stade larvaire. C'est une étape du cycle de vie souvent observée et qui permet aux espèces concernées d'échelonner l'émergence des adultes sur plusieurs années et donc de limiter tous risques de mortalité élevée en cas d'année défavorable. La durée de diapause est variable et peut atteindre les dix ans pour certaines espèces (exemple : cécidomyie orangée du blé, *Sitodiplosis mosellana* (Gehin)) (Amouroux, 2013).

ii. *Clinodiplosis cilicrus*, l'espèce identifiée en culture d'ail

En 2016, l'identification de l'espèce *Clinodiplosis cilicrus* (Keiffer) auprès de l'INRA de Montferrier-sur-Lez (E. Pierre) a été réalisée dans des parcelles d'ail de printemps et d'automne du département de la Drôme (Hunyadi, 2016). L'espèce a une répartition plutôt européenne, jusqu'à la Russie (Ouest de la Sibérie). Cet insecte semble privilégier des plantes appartenant à la famille des Astéracées comme *Centaurea jacea*, *Scabiosa* sp., *Cirsium lanceolatum* et *Carlina vulgaris* (Gagné, 2010). Les espèces européennes du genre *Clinodiplosis* ne sont pas nuisibles pour les cultures. Ces cécidomyies opportunistes sont principalement associées à des champignons (mycètes) ou bien à des organismes cécidogènes dont elles utilisent les galles pour se développer (espèces inquilines). Elles sont donc mycophages : les larves apodes se nourrissent habituellement de spores. (E. Pierre, communication personnelle).

Pour tenter de comprendre les différences de pression de la maladie observées sous filet et hors filet anti-insectes, des relevés hebdomadaires voire bihebdomadaires du 9 mai 2016 au 18 juillet 2016 ont été réalisés et une période de vol a été mise en évidence. L'observation de l'espèce *Clinodiplosis cilicrus*, jusqu'alors non référencée sur ail, est intéressante. Effectivement, elle pourrait être attirée par la culture d'ail de par son régime alimentaire : il peut y avoir un lien avec les développements mycéliens que sont les rouilles, fusarioses, etc. Une hypothèse possible est donc d'imaginer que cet insecte soit recouvert de *Fusarium* sp. et participe ainsi activement à la dissémination des spores lors de ses déplacements au sein même de la culture et de parcelle en parcelle (Hunyadi, 2016).

5. Les méthodes de lutte contre la maladie

En production céréalière, des moyens de lutte contre les fusarioses existent. Les méthodes les plus efficaces restent avant tout l'application quasi systématique de fongicides sur les cultures. Une lutte chimique préventive et l'utilisation de variétés tolérantes sont conseillées, l'éradication de la maladie étant impossible une fois installée.

En ce qui concerne l'ail cultivé, aucune méthode de lutte contre la fusariose n'est connue à ce jour. L'inconvénient dans la culture de l'ail reste son mode de reproduction : sans reproduction sexuée, la sélection de nouvelles variétés résistantes, ou pour le moins tolérantes, aux *Fusarium* est très limitée. Actuellement, malgré l'utilisation régulière de molécules aux propriétés fongicides comme le mancozèbe, l'azoxystrobine ou encore le tébuconazole pour lutter contre la rouille, *Puccinia allii*, aucun effet positif sur le développement de la fusariose, en conservation, ne semble observé. Pour l'instant, la seule lutte reste une méthode de gestion du pathogène en stockant les récoltes dans des chambres froides dont les températures avoisinent les 0°C et peuvent descendre jusqu'à -4°C. Cette méthode permet de stopper, ou du moins limiter, le développement des *Fusarium* et d'ainsi contrôler l'apparition des premiers symptômes. Néanmoins, cette technique ne fait que décaler le problème dans le temps et ne permet pas de l'éradiquer. De plus, elle n'est utilisable que pour l'ail destiné à la consommation. Par conséquent, aucun moyen de gestion n'existe en production de plants (Fravel et al., 2003 ; Susan, 2008 ; F. Folcher, communication personnelle).

Un point non négligeable est que les *Fusarium* sont des champignons telluriques. Etant présents dans le sol, certaines cultures, comme le blé, peuvent permettre le maintien, voire l'installation de ces pathogènes dans la terre et donc favoriser ensuite le développement de la maladie sur les cultures suivantes (Dill-Macky, Jones, 2000). A l'avenir, le changement des antécédents culturaux classiques de l'ail sera donc peut-être nécessaire pour limiter le maintien de l'inoculum dans le sol.

II. OBJECTIFS DE TRAVAIL

La fusariose de l'ail est une maladie préoccupante. Afin de mettre au point des méthodes de lutte efficaces (prophylactiques, chimiques ou biologiques), il est indispensable de comprendre ce qui génère les symptômes et dans quelles conditions cela se produit.

Mon stage était constitué d'un volet étiologique ayant pour but de caractériser les agents pathogènes responsables de la maladie et d'un volet épidémiologique afin de caractériser les facteurs environnementaux qui pourraient influencer son apparition.

A. ÉTIOLOGIE : CARACTERISATION DES AGENTS PATHOGENES RESPONSABLES DE LA MALADIE

Des travaux préliminaires, réalisés dans l'unité de pathologie végétale de l'INRA d'Avignon, ont permis d'isoler une dizaine de souches de caïeux symptomatiques. Toutes ces souches appartiennent potentiellement au genre *Fusarium* (aspect des colonies mycéliennes, présence de nombreuses conidies). Leur identification moléculaire est en cours.

Isoler une souche fongique d'un organe symptomatique ne veut pas systématiquement dire qu'elle est responsable de ce symptôme. Il convient de vérifier un certain nombre de conditions avant de déclarer une souche pathogène. Il faut notamment vérifier les postulats de Koch.

Ainsi, un des objectifs de mon stage était la **mise au point d'un test d'évaluation de la pathogénicité des souches** afin de pouvoir **déterminer si une souche est pathogène et comparer le pouvoir pathogène des souches entre elles**. Pour cela, les souches précédemment isolées sur ail, ainsi qu'une souche de référence, ont été utilisées. La faisabilité et la reproductibilité des tests de pouvoir pathogène ont été évaluées car ils seront utilisés à grande échelle, à court terme, pour caractériser les populations de *Fusarium* présentes sur ail en France.

B. ÉPIDEMIOLOGIE : CARACTERISATION DE FACTEURS ENVIRONNEMENTAUX A INFLUENCE POTENTIELLE SUR L'APPARITION DE LA MALADIE

Pour apporter des solutions à la profession, il est nécessaire de caractériser les conditions favorables à l'émergence des symptômes. Ainsi, il faut déterminer les conditions pédoclimatiques qui favorisent l'apparition de la maladie et déterminer si un insecte peut en être vecteur.

Un de mes objectifs était donc d'**amorcer une collecte de données environnementales** du parcellaire de production, pour, à terme, **caractériser les facteurs environnementaux de la culture** (facteurs pédoclimatique et entomologique) afin d'étudier leur influence sur les agents pathogènes identifiés comme étant responsables de la maladie et, par la suite, sélectionner des leviers d'action pour lutter contre cette maladie fongique.

Ainsi, j'ai réalisé un suivi de dix parcelles de production de semences : cinq d'ail rose et cinq d'ail d'automne (blanc ou violet), réparties en cinq zones sur l'ensemble du département de la Drôme. J'ai collecté des informations relatives aux conditions climatiques (température et humidité relative) sous filet et hors filet. J'ai également mis en place un protocole d'échantillonnage de sol afin de permettre la réalisation de recherches de pathogènes. Enfin, j'ai poursuivi la piste d'étude engagée en 2016 sur les cécidomyies.

III. MATERIEL ET METHODES

A. CARACTERISATION DE SOUCHES FONGIQUES ISOLEES DE BULBES FUSARIES

1. Objectifs et hypothèses

Pour comprendre l'origine de la maladie, les souches isolées sur caïeux symptomatiques doivent être caractérisées. Leur degré de pathogénicité envers l'ail cultivé doit être évalué. Cependant, avant de réaliser ce travail de grande envergure, à l'échelle de la France, il est nécessaire de tester les protocoles pour établir une méthode fiable, rapide à mettre en place et répétable dans le temps.

C'est ce qui a été réalisé à travers deux expérimentations :

- la mise au point de plusieurs méthodes d'évaluation du pouvoir pathogène de *Fusarium* sur ail et sélection de celle qui semble être la plus fiable et répétable ;
- la comparaison de la pathogénicité de quelques souches de *Fusarium* isolées par l'emploi d'une seule méthode d'inoculation.

Au cours de la première expérimentation, trois méthodes d'inoculation sont comparées, l'objectif étant, à terme, de sélectionner la plus adéquate pour le travail futur d'évaluation du pouvoir pathogène.

La deuxième phase s'inscrit toujours dans l'objectif de mise en place d'une méthode d'évaluation du pouvoir pathogène de *Fusarium* sur ail et est sensiblement la même que précédemment. Elle a été réalisée deux semaines après la première expérimentation. Vu les premiers résultats et les observations, seule une méthode est de nouveau testée afin de collecter davantage d'informations pour s'assurer de sa fiabilité, faisabilité et surtout répétabilité dans le temps. Enfin, cela a permis d'amorcer les premiers tests de comparaison de la pathogénicité de certaines souches de *Fusarium*

Les hypothèses de travail sont :

- les souches isolées de caïeux fusariés sont pathogènes envers l'ail ;
- l'inoculation de souches de *Fusarium* sur caïeux sains permet de reproduire les symptômes de la maladie ;
- les méthodes testées permettent de mesurer rigoureusement l'agressivité des souches ;
- les caïeux asymptomatiques sont sains et ne portent pas de *Fusarium* endophyte.

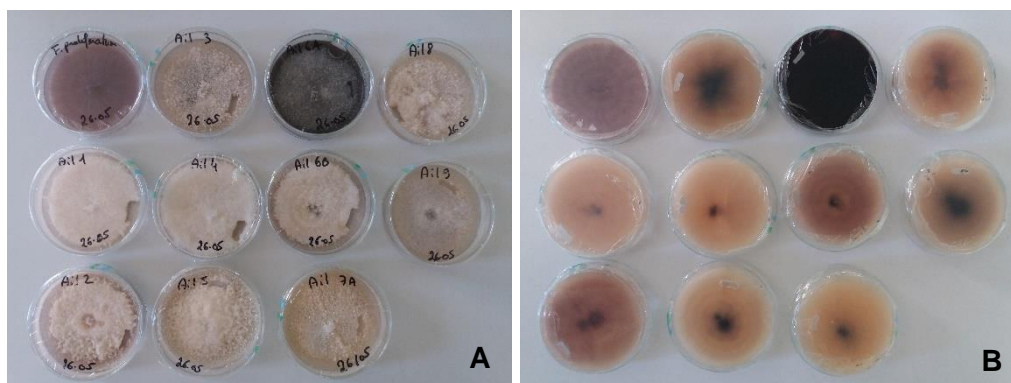


Figure 15 : Cultures de champignons âgées de 17 jours, issues de caïeux fusariés (21°C, 75% d'humidité relative, photopériode 12h). A : vue du mycélium aérien ; B : vue du dessous de la culture (source : Pierrick Ricard, INRA d'Avignon, 12/06/2017)

Tableau 5 : Origine des souches fongiques isolées de différents bulbes d'ail de la récolte 2016

Origine	Variété	Mode de culture	N° du bulbe	Symptôme observé	N° de souche
Lot C	Arno	SF	1	Waxy breakdown	1
Lot C	Arno	SF	2		2
Lot A	Vivalto	HF	1	Mycélium en surface du caïeu	3
	Vivalto	HF	2		4
Lot B	Arno	HF	1		5
	Arno	HF	2		6A
	Arno	HF	2		6B
Lot C	Arno	SF	3		7
Lot D	Cledor	HF	1		8
	Cledor	HF	2		9

Tableau 6 : Taux de sporulation estimé des souches de *Fusarium* en milieu PDB à J+6 à 21°C et condition de luminosité artificielle (photopériode de 12h). Estimation par comptage de spores à l'aide de cellules de Malassez

Souche	Niveau de sporulation
<i>F. proliferatum</i>	Très faible, pratiquement aucune spore
1	Intermédiaire (environ 10^6)
2	Faible sporulation $<10^6$
3	$2,98.10^6$
4	Intermédiaire (environ 10^6)
5	Faible sporulation $<10^6$
6A	$2,97.10^6$
6B	Très haut niveau de sporulation $>10^6$
7	Très haut niveau de sporulation $>10^6$
8	Très haut niveau de sporulation $>10^6$
9	Très haut niveau de sporulation $>10^6$



Figure 16 : Culture en milieu PDB de la souche 6A, avant calibration de la concentration (source : Pierrick Ricard, INRA d'Avignon, 12/06/2017)

2. Matériel fongique

a. Origine des souches de *Fusarium* de l'étude

Les souches utilisées pour les deux étapes de l'étude (figure 15) sont celles qui sont actuellement en cours d'identification à l'INRA d'Avignon. Elles sont issues de neuf bulbes fusariés de trois variétés d'ail rose, présentant les symptômes typiques dits de la fusariose de l'ail. Ils ont été fournis en décembre 2016 par Prosemail et sont issus de lots de semences (tableau 5).

Ces aulx proviennent de 4 lots différents (4 parcelles et producteurs différents) et, pour la plupart d'une culture hors filet anti-insectes, donc pour l'obtention de la génération F6, le plant certifié. Seul le lot C provient d'une culture sous filet anti-insectes (génération F5). Cet échantillonnage regroupe trois variétés différentes : Vivalto, Arno et Cledor. Le choix de ces variétés est seulement dû à l'opportunité d'avoir des bulbes fusariés au moment de l'envoi, mais n'est en aucun cas lié à une probabilité plus forte de développement de la fusariose, toutes les variétés dites de printemps étant susceptibles de manifester des symptômes de manière égale. De ces neuf bulbes ont pu être isolées dix souches.

Une culture de *Fusarium proliferatum*, isolé du blé, issue du Centre International de Ressources Microbienne (CIRM) de Marseille a également été mise en culture et sert de témoin de référence puisque de nombreuses publications scientifiques attestent que ce champignon est pathogène de l'ail.

b. Préparation du matériel fongique

Le choix des souches utilisées pour les manipulations a été fait par sélection de celles ayant le taux de sporulation le plus élevé en milieu liquide (tableau 6), l'objectif étant de réaliser des suspensions de spores à 10^6 spores/mL.

Toutes les souches sont repiquées le même jour sur milieu PDA ou PDB à J-6 avant inoculation afin d'avoir un matériel fongique au même âge. Les conditions climatiques de culture sont : 21°C, 75% d'humidité relative et photopériode de 12h.

La préparation des suspensions de spores est réalisée par dilution de cultures en milieu PDB (figure 16). Ces dernières sont homogénéisées pendant 1 min avec un agitateur vibrant type vortex. Les solutions sont filtrées à travers une couche de mousseline stérilisée (30 microns) afin d'en retirer les mycéliums et de ne garder que les spores. La concentration de chaque solution est ajustée à 10^6 spores/mL, à l'aide d'un hématimètre (cellule de Malassez).

Pour la réalisation de l'expérimentation 1, deux souches de *Fusarium* isolées de caïeux fusariés sont utilisées comme matériel d'inoculation ainsi que la culture de *F. proliferatum* de référence. Il s'agit des souches 3 et 6A. *F. proliferatum* n'a pas du tout sporulé mais est tout de même utilisé pour la méthode par dépôt d'un explant de PDA puisqu'il s'agit du témoin de référence.

Pour l'expérimentation 2, six souches de *Fusarium* isolées de caïeux fusariés sont utilisées comme matériel d'inoculation : *F. proliferatum* (témoin de référence), 6A, 6B, 7, 8 et 9. Ce choix a été établi afin d'avoir des souches morphologiquement différentes (aspect visuel de la colonie sur milieu PDA) et dont la vigueur semble être maximale en milieu solide (PDA).



Figure 17 : Phase de désinfection des caïeux avant inoculation des souches fongiques (source : Pierrick Ricard, INRA d'Avignon, 12/06/2017)

3. Matériel végétal

Le matériel végétal utilisé est de l'ail rose (de printemps), récolté en 2016. Il a été conservé en chambre froide (température comprise entre 0 et -4°C) sans traitement à base d'hydrazide maléique (anti-germinatif). Les tuniques ont été retirées sans endommager le tissu des caïeux. Des caïeux de taille homogène et sans défauts apparents (tâche, pourriture, choc, etc.) sont sélectionnés. Ils sont désinfectés (figure 17) dans une solution de NaOCl à 1%, à partir d'une dilution de Domestos (produit ménager à 4,5% de NaOCl) pendant 1 min puis rincés 3 fois 3 min dans de l'eau stérile.

4. Inoculation artificielle de *Fusarium* sur ail

a. Expérimentation 1 : étude de trois méthodes d'évaluation du pouvoir pathogène de *Fusarium* sur ail

Trois méthodes d'inoculation ayant fait l'objet de publications sont testées :

- dépôt d'un explant de gélose PDA portant du mycélium de *Fusarium* sur une blessure réalisée sur caïeu ;
- trempage des caïeux directement dans une suspension de spores de *Fusarium* ;
- dépôt de 10 µL de suspension de spores de *Fusarium* directement dans une blessure réalisée sur caïeu.

Par soucis de compréhension, les méthodes seront respectivement nommées méthode EB (Explant + Blessure), méthode T (Trempage) et méthode SB (Ssuspension + Blessure).

i. Méthode EB : explant et blessure

La blessure est réalisée à l'aide d'un cône de prélèvement pour pipette. Cet outil permet de faire des blessures homogènes de 10 mm de profondeur (première graduation) sur 2 mm de large. La blessure est positionnée à mi-hauteur entre le plateau racinaire et le haut du caïeu et sur la face supérieure de telle façon qu'elle ne touche jamais le plastique de la boîte. Un explant de 4 mm de diamètre est déposé, face supérieure de la gélose (portant le mycélium aérien), directement en contact avec la blessure. Le témoin est un explant de gélose PDA vierge, sans colonie mycélienne.

Le nombre de répétitions est de 10 par modalité et de 10 pour le témoin. Chaque répétition correspond à un caïeu.

ii. Méthode T : trempage dans une suspension de spores

Les souches 3 et 6A sont utilisées pour réaliser les suspensions de spores (taux de spores suffisant pour obtenir une concentration finale de 10^6 par mL après dilution). Les caïeux sont directement placés dans la suspension de spores et les bécards sont placés pendant 24h sur table agitée à température ambiante (20^{aine} de degrés). Le témoin consiste à tremper les caïeux dans de l'eau stérilisée pendant 24h.

Le nombre de répétitions est de 10 par modalité et de 5 pour le témoin.



Figure 18 : Caïeux après inoculation de Fusarium (méthode SB, souche 6A) et déposés dans une boîte cristal pour incubation (source : Pierrick Ricard, INRA d'Avignon, 12/06/2017)

iii. Méthode SB : dépôt de suspension de spores sur blessure

La blessure est faite suivant le même protocole que la méthode d'inoculation EB. 10 µL de suspension de spores à 10^6 spores/mL sont ensuite déposés sur la blessure, délicatement, de sorte que le liquide pénètre dedans, sans s'écouler. Pour le témoin, sont déposés 10 µL d'eau stérilisée sur la blessure.

Le nombre de répétitions est de 6 par modalité et de 5 pour le témoin.

b. Expérimentation 2 : l'élaboration des premiers tests de comparaison de la pathogénicité de certaines souches de *Fusarium*

Le protocole suivi pour cette deuxième expérimentation est identique à celui de la méthode EB (explant + blessure) décrite ci-dessus. Pour cette manipulation, le nombre de répétitions est de 17 par modalité et de 6 pour le témoin.

5. Suivi et évaluation des symptômes

Les caïeux sont déposés dans des boîtes cristal de 10 x 13 x 4cm (figure 18). Un papier absorbant imbibé d'eau stérile est placé au fond de la boîte pour maintenir une humidité constante. Deux couvercles de boîte de Petri stériles sont posés pour y déposer les caïeux afin que ceux-ci ne soient pas en contact direct avec l'eau. Les boîtes sont ensuite placées dans une chambre climatique à 21°C et 75 % d'humidité relative et à obscurité permanente.

La faisabilité des techniques d'inoculation est mesurée au cours de l'expérimentation. Une observation hebdomadaire des caïeux est réalisée et une description complète est faite.

Les critères d'évaluation sont :

- la rapidité et la faisabilité de mise en place des techniques ;
- la rapidité et le taux d'apparition des symptômes et donc de réussite de l'inoculation ;
- la différence d'expression des symptômes entre les techniques ;
- la possibilité de réaliser un suivi rigoureux de la progression des symptômes ;
- la possibilité de réaliser une comparaison scientifiquement mesurable de la pathogénicité des souches de *Fusarium* testées.

Les données collectées ont été définies au cours de la première observation puisque jusqu'à ce jour, nous ne savions pas réellement ce que nous observerions. L'objectif est de donner des réponses aux critères d'évaluation.

Les données collectées sont les suivantes :

- taille (2 mesures perpendiculaires) et aspect des symptômes ;
- présence de blessure avec ou sans pourriture en dehors de la zone de blessure ;
- présence de pourriture blanche sur le plateau racinaire.

Pour l'expérimentation 2, un caïeu est coupé transversalement au niveau de la zone d'inoculation, pour chaque modalité et à chaque observation. Cette coupe permet de visualiser la croissance de la souche inoculée dans le caïeu.

6. Analyses des données

Pour les méthodes EB et SB, l'étendue du développement mycélien au niveau de la blessure a été mesurée pour tous les caïeux de chaque modalité testée. Deux mesures perpendiculaires ont été effectuées et correspondent au diamètre de l'amas mycélien observé. De ces deux mesures ont été calculées deux surfaces dites surfaces symptomatiques. La moyenne des deux a permis d'obtenir la surface symptomatique moyenne du caïeu étudié.

Tous les caïeux rencontrant un problème (développement de *Penicillium*, explant tombé) sont éliminés pour limiter les contaminations et ne pas fausser les résultats finaux. Le nombre de répétitions final par modalité est donc parfois variable.

Pour l'étude des modalités témoins, le pourcentage de caïeux non sains (développant un mycélium) sur le total est calculé. Pour l'analyse comparative des méthodes d'inoculation, les méthodes EB et SB sont analysées ensemble car les mêmes données sont collectées. La surface moyenne de l'étendue du mycélium par méthode (toutes souches confondues) est calculée par semaine d'observation et un graphique est réalisé. Seules les données des souches 3 et 6A sont utilisées car disponibles pour les deux méthodes étudiées. Pour montrer l'homogénéité des résultats de la méthode EB (explant + blessure) entre les deux séries d'expérimentation, les données des souches *F. proliferatum* et 6A sont utilisées car il s'agit des deux seules souches testées deux fois. Pour l'analyse comparative de la pathogénicité des souches étudiées dans la deuxième expérimentation, la moyenne de l'étendue du mycélium est également utilisée.

Une étude statistique avec le logiciel R (version 3. 4. 1.) à l'aide des packages Rcmdr et agricolae est réalisée. Des analyses de la variance (ANOVA) à un facteur sont faites. Elles sont poursuivies uniquement dans la mesure où les postulats de normalité (test de Kolmogorov-Smirnov) et d'homoscédasticité des résidus (test de Bartlett) sont validés (c'est-à-dire que l'hypothèse nulle est acceptée : p-value > 0,05, risque $\alpha = 5\%$). Si une différence significative est notée par l'ANOVA, un test de comparaison de moyenne HSD de Tukey (seuil fixé à 5%) est employé. Dans le cas où les postulats ne sont pas validés, un test non paramétrique de Kuskal-Wallis sera effectué. La variable étudiée est toujours la surface symptomatique moyenne (mm²). Pour l'expérimentation 1, l'effet du facteur méthode (1 et 3) sur la variable (pour les souches 3 et 6A) est étudié, puis celui du facteur expérimentation (1 et 2) sur la variable concernant les souches *F. proliferatum* et 6A. Enfin, c'est l'effet du facteur « souche » sur la variable « surface symptomatique moyenne » qui est étudié afin de réaliser une comparaison d'agressivité des souches entre elles (expérimentation 2).

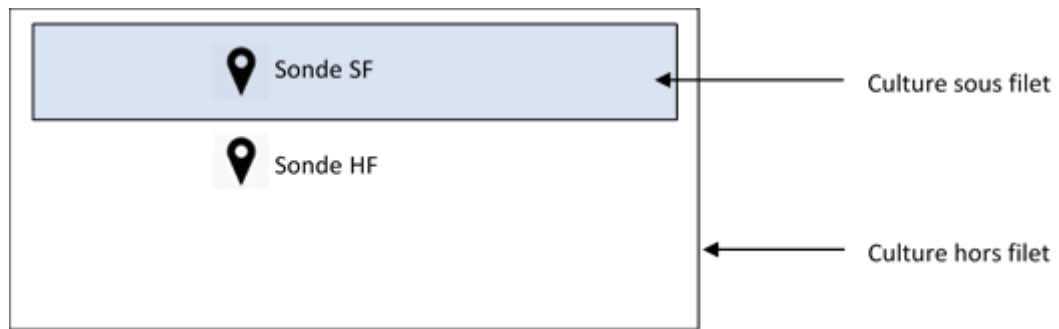


Figure 19 : Représentation du dispositif de relevé de la température et de l'humidité relative sur une parcelle de production d'ail disposant d'une culture sous filet et hors filet anti-insectes (SF : sous filet anti-insectes ; HF : hors filet)

B. CARACTERISATION DE FACTEURS ENVIRONNEMENTAUX A INFLUENCE POTENTIELLE SUR L'APPARITION DE LA MALADIE

L'ensemble de l'étude suivante a été encadrée et réfléchié avec la FNAMS d'Etoile-sur-Rhône. Tous ces travaux ont fait l'objet d'un protocole d'expérimentation suivant les normes BPE (Bonne Pratique d'Expérimentation).

Les trois expérimentations, décrites ci-dessous, sont menées sur 10 parcelles de production d'ail semences : 5 d'ail de printemps et 5 d'ail d'automne. Elles sont réparties en 5 zones sur l'ensemble du département de la Drôme, numérotées de 1 à 5 (annexe V) et sont mises à disposition par les producteurs pour l'étude. Chaque zone est constituée de deux parcelles : une sur laquelle est implanté de l'ail de printemps et l'autre de l'ail d'automne. La distance inter-parcelle est limitée et ne dépasse pas 910 m (moyenne 350 m) (annexe VI). Chaque parcelle est numérotée : la lettre « a » est attribuée pour la parcelle d'ail de printemps ; la lettre « b » pour la parcelle d'ail d'automne. Afin de distinguer les parcelles entre chaque zone, elles seront donc nommées par la suite sous la forme « Z1a » : parcelle d'ail de printemps de la zone 1. Parmi ces parcelles, 6 disposent des deux modes de culture (sous filet et hors filet anti-insectes) : 4 d'ail de printemps (Z1a, Z2a, Z3a et Z5a) et 2 d'ail d'automne (Z1b et Z3b).

1. Etude des conditions climatiques de production

Toujours en se basant sur le constat des agriculteurs selon lequel la pression de la fusariose de l'ail serait bien plus faible pour des cultures conduites sous filets anti-insectes, il est intéressant d'étudier l'influence de ces derniers sur les conditions climatiques, facteur ayant un impact non négligeable sur le développement des organismes fongiques.

a. Objectifs et hypothèses

Cette étude a été menée en 2016. L'objectif de ce renouvellement est de confirmer les résultats sur une deuxième année afin de valider avec certitude les tendances climatiques observées. La température et l'humidité relative sont les facteurs étudiés.

Le dispositif expérimental a été choisi pour répondre à plusieurs hypothèses :

- les relevés climatiques de 2017 donnent les mêmes tendances que celles observées en 2016 ;
- les filets anti-insectes modifient la température extérieure ;
- les filets anti-insectes modifient l'hygrométrie extérieure ;
- les conditions climatiques sous filet anti-insectes ne sont pas optimales pour le développement de *Fusarium* sur ail.

b. Dispositif expérimental

Vu les contraintes terrain, nous avons 6 parcelles (4 d'ail de printemps et 2 d'ail d'automne) disposant d'une culture sous filet et hors filet. Il s'agit des parcelles Z1a, Z1b, Z2a, Z3a, Z3b et Z5a (annexe VII). Des sondes de type Data Loggers, fournies par la FNAMS et le GIE l'ail Drômois, sont installées dans ces parcelles.

Sur chaque parcelle, deux sondes sont placées en vis-à-vis à 5 m d'écart environ : une disposée sous filet et la deuxième juste à côté dans la culture non couverte (figure 19). Les sondes sont placées à 15 cm du sol du 15 mai 2017 jusqu'à la récolte, soit à partir du 13 juin pour les premières parcelles arrivées à maturité et jusqu'au 10 juillet 2017 (annexe VIII).

Il y a donc 6 sondes hors filet et 6 sondes sous filet anti-insectes. Elles enregistrent quotidiennement les données de températures et d'hygrométrie (4 enregistrements/h).

Concernant l'irrigation de la culture, toutes les parcelles ont été arrosées par aspersion une fois par semaine à hauteur de 30 à 40 mm de fin avril à fin juin.

Les résultats sont collectés uniquement en fin de relevé, soit au moment de la récolte et donc du retrait du matériel installés dans les parcelles.

c. Analyses des données

Les données de température et d'hygrométrie sont traitées sous Excel afin de permettre leur étude. Seules les valeurs permettant d'étudier des journées complètes (de 0h à 23h59) sont gardées. Ainsi, l'analyse des relevés débute au 16 mai à 0h pour les parcelles Z1a, Z1b, Z2a et Z5a. Pour les parcelles Z3a et Z3b, l'analyse débute le 17 mai à 0h. La date de fin est variable suivant la parcelle mais l'analyse inclut toujours le dernier jour d'analyse complet, c'est-à-dire jusqu'à 23h59.

Les données sont moyennées jour par jour et une moyenne journalière de la température et de l'humidité relative est obtenue. A partir de ces valeurs, les écarts moyens journaliers sont calculés. Il s'agit de la soustraction de la variable relevée hors filet par celle sous filet (HF-SF). Par exemple « écart température moyenne du 10 juin = température hors filet moyenne du 10 juin – température sous filet moyenne du 10 juin ». Une valeur positive signifiera que la variable étudiée est plus élevée hors filet que sous filet. A l'inverse, une valeur négative signifiera une valeur plus faible hors filet. Des graphiques ont ensuite été construits afin d'étudier l'évolution et les tendances de ces écarts pour les deux variables d'étude, la température et l'hygrométrie. Les données ont également été traitées en distinguant le jour de la nuit et en réalisant une moyenne des variables étudiées sur ces deux périodes, jour par jour. La tranche horaires choisies sont de 8h à 19h59 pour la journée et de 20h à 7h59 pour la nuit.

Les données de la station météorologique de Divajeu (26 400) sont ajoutées à l'étude. Cette station a été choisie car elle se situe sur une zone centrale par rapport aux cinq autres zones. Les données recueillies sont les moyennes journalières de température et d'hygrométrie.

Pour les études statistiques, le logiciel R est utilisé (version 3. 4. 1.) à l'aide des packages Rcmdr et agricolae. Des analyses de la variance (ANOVA) à un facteur sont réalisées. Elles sont poursuivies uniquement dans la mesure où les postulats de normalité (test de Kolmogorov-Smirnov) et d'homoscédasticité des résidus (test de Bartlett) sont validés (c'est-à-dire que l'hypothèse nulle est acceptée : p-valeur > 0,05, risque α = 5%). Si une différence significative est notée par l'ANOVA, un test de comparaison de moyenne HSD de Tukey (seuil fixé à 5%) est employé. Dans le cas où les postulats ne sont pas validés, un test non paramétrique de Kuskal-Wallis sera effectué. Les variables étudiées sont la température et l'hygrométrie. Les facteurs sont soit le mode de culture (SF et HF), soit l'année (2016 et 2017). Les hypothèses nulles correspondent à montrer la non-influence du facteur étudié sur la variable soumise au test.

Les moyennes des températures et hygrométries annuelles sous filet et hors filet sont comparées entre 2016 et 2017 graphiquement, puis à l'aide d'une ANOVA à un facteur, celui-ci étant l'année (2016 et 2017). Une analyse statistique comparative des moyennes journalières de température et d'hygrométrie sous filet et hors filet est réalisée. Il s'agit d'une ANOVA à un facteur, celui-ci étant le mode de culture (SF et HF). Il est appliqué pour les deux variables. Le même protocole est suivi pour la distinction jour/nuit.

2. Etude du pouvoir infectieux du sol

Les *Fusarium* sont assez communs dans les sols où ils s'y développent. Il est intéressant d'étudier le sol puisqu'il s'agit très certainement d'une source d'inoculum non négligeable.

a. Objectifs et hypothèses de travail

Pour étudier le caractère infectieux du sol, des analyses seront réalisées à partir d'échantillons de terre collectés sur les parcelles d'ail de printemps et d'automne qui font déjà l'objet de deux autres études (conditions climatiques et pression en cécidomyies). L'objectif est de confirmer la présence, dans le sol de culture, des espèces de *Fusarium* pathogènes de l'ail.

Plusieurs hypothèses sont testées :

- certaines espèces de *Fusarium* sont présentes dans le sol ;
- il existe une corrélation entre la présence de *Fusarium* dans le sol et l'apparition de fusariose sur les caïeux en période de stockage ;
- les espèces identifiées dans le sol sont les mêmes que celles identifiées sur les caïeux malades ;
- le taux de *Fusarium* présent dans le sol est variable dans le temps.

b. Dispositif expérimental

Les prélèvements sont réalisés dans toutes les parcelles sur lesquelles les analyses climatiques et les piégeages (annexes V et VII) sont mis en place. L'étude inclut donc 5 parcelles d'ail d'automne et 5 parcelles d'ail de printemps. Cela correspond à 10 échantillons de sol. Les échantillonnages ont été réalisés avec des conditions climatiques de prélèvement spécifiques prenant en compte la problématique de conditionnement de l'échantillon et de représentativité des communautés microbiennes de la parcelle d'étude. Ces conditions correspondent à un sol ni trop sec, ni trop humide. Les prélèvements ont donc été faits hors période de pluie ou d'irrigation, avec un sol ressuyé.

Le prélèvement est effectué à l'aide d'une tarière de 5 cm de large sur une profondeur de 20 cm. Avant échantillonnage, le matériel est nettoyé pour limiter les contaminations entre parcelle. Les deux premiers centimètres de sol sont préalablement retirés de la carotte pour supprimer toute contamination du prélèvement liée aux divers polluants situés en surface. Pour chaque parcelle, 15 prélèvements sont effectués, dans le rang de culture, de manière à être les plus représentatifs possibles de l'ensemble de la parcelle. Les carottes de terre sont récupérées et conditionnées dans un sac plastique de type sac de congélation.

Deux prélèvements par parcelle ont été réalisés : le 15 mai et le 10 juillet 2017, juste après les récoltes (annexe VIII). Un autre prélèvement est prévu et sera réalisé au cours du mois d'octobre 2017.

Pour chaque parcelle, l'échantillon de terre est émietté et bien mélangé pour que tout soit homogène. Tous les prélèvements sont stockés dans un congélateur à -18°C.

Le même protocole a été suivi dans le Sud-Ouest par Alinéa Top'alliance.

c. Analyses de terre et évaluation du pouvoir infectieux du sol

Tous les prélèvements ne seront pas nécessairement analysés dès fin 2017. Avoir plus d'échantillons que d'analyses possibles permettra de choisir les échantillons à étudier. Ils seront envoyés au laboratoire pour analyse en fonction de différents critères qui ne peuvent réellement être définitifs sans vision du taux de fusariose des lots issus des parcelles étudiées. Cette sélection se fera donc à l'automne 2017, en fonction du déclenchement de la maladie sur les bulbes en stockage.

Ces critères prendront en compte :

- le type d'ail (automne ou printemps) ;
- le taux de fusariose en conservation ;
- la période de prélèvement.

d. Analyses des résultats

Les informations qui seront collectées seront particulièrement intéressantes puisqu'elles permettront de déterminer la présence de certaines espèces de *Fusarium* dans les parcelles de production. Ces données seront réutilisées et fourniront une base d'étude pour l'épidémiologie de la maladie.

3. La pression entomologique en culture : évaluation de la présence de cécidomyies

L'expression de la maladie en conservation est moins importante pour des lots issus d'une production sous filets anti-insectes. En 2016, des piégeages ont été effectués en parcelle de production afin d'étudier la pression entomologique, pression qui pourrait expliquer le taux de fusariose inférieur sous filet, dans la mesure où les filets anti-insectes remplissent bien leur fonction. Des cécidomyies de l'espèce *Clinodiplosis cilicrus* ont été capturées en parcelle d'ail de printemps.

a. Objectifs et hypothèses

Une deuxième année de piégeage est réalisée pour confirmer la présence de la cécidomyie dans les cultures d'ail et écarter toute hypothèse de présence hasardeuse de l'insecte en 2016, pendant la période de piégeage. Le suivi régulier de cette expérimentation permettra d'observer l'évolution de la population de cécidomyies et de déterminer sa période de présence en culture d'ail.

Le dispositif expérimental a été choisi pour répondre à plusieurs hypothèses :

- la cécidomyie identifiée en 2016 est toujours présente en parcelle d'ail en 2017 ;
- l'insecte a une attirance plus forte pour l'ail de printemps que pour l'ail d'automne ;
- la présence de l'insecte est due à la proximité de l'ail ;
- les filets anti-insectes impactent la répartition sous filet / hors filet des cécidomyies.



Figure 20 : Plaque engluée jaune (10 x 11,5 cm) disposée sur piquet au sein d'une parcelle d'ail d'automne (parcelle Z2b) (source : Pierrick Ricard, Drôme, 22/05/2017)

b. Dispositif expérimental

La présence des cécidomyies est suivie sur les 10 parcelles d'ail : 5 d'ail de printemps et 5 d'ail d'automne (annexe V). Cette expérimentation a été prioritaire dans le choix des parcelles. Cela a été fait de telle sorte que les parcelles d'ail de printemps et d'ail d'automne soient à proximité (quelques centaines de mètres maximum) (annexe VI). Un piégeage supplémentaire à proximité des parcelles d'ail étudiées est installé. Il s'agit de zones hors culture d'ail : champs de blé ou bordure de haie et que nous appellerons « zone extérieure » par la suite.

Pour chaque parcelle d'ail, un piège est installé sous filets anti-insectes (si possibilité) mais également hors filets. Les pièges sont des plaques engluées jaunes de 10 cm x 11,5 cm et positionnées à hauteur de végétation, soit 40 cm (figure 20). Seul ce type de capture est installé en parcelle afin de faciliter la manutention et de permettre une optimisation des relevés. De plus, les résultats obtenus en 2016 montrent bien qu'il n'y a pas eu d'incidence du type de piège utilisé (piège Barber, cuvette jaune ou plaque engluée) sur les taux de capture.

Afin de s'assurer de la non-présence de cécidomyies dans les parcelles étudiées, 6 cuvettes jaunes (remplies d'un mélange d'eau, de liquide vaisselle, de sel et de vinaigre, dont les fonctions respectives sont d'attirer, empêcher la reprise du vol, tuer et conserver), ont été installées dans les parcelles Z1a, Z1b et Z3a du 14 au 23 juin, en complément des relevés hebdomadaires. Deux cuvettes posées sur le sol, dans la végétation de la culture non couverte, ont été installées par parcelle et un relevé a été réalisé tous les jours ou tous les deux jours.

c. Suivi et observations

Le relevé des pièges est fait une fois par semaine. Pour chaque relevé de terrain, les insectes présents sur les plaques engluées et morphologiquement similaires aux cécidomyies sont comptabilisés.

La période de capture a débuté le 15 mai 2017 et s'est arrêtée juste avant la récolte afin de retirer le matériel de la parcelle avant le passage des machines agricoles. Les dates de fin sont donc variables suivant les parcelles étudiées et s'étalent du 13 juin au 10 juillet 2017 (annexe VIII).

d. Analyses des données

L'absence des observations attendues n'a pas permis de procéder au traitement des données collectées, ni à la réalisation d'études statistiques sur cette expérimentation. L'analyse des résultats se limitera à une description puis à une discussion des données collectées au cours de ce travail de terrain.

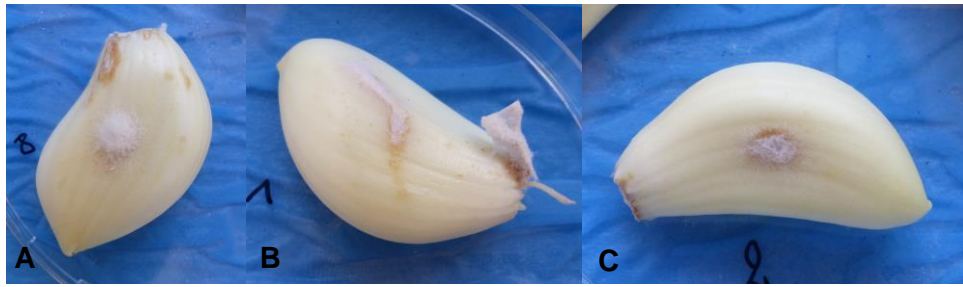


Figure 21 : Caïeux des modalités témoins avec mycélium blanc à l'aspect laineux (J+43). A : méthode EB (explant) ; B : méthode T (trempage) ; C : méthode SB (susp. + blessure) (source : Pierrick Ricard, INRA d'Avignon, 25/07/2017)

Tableau 7 : Pourcentage de caïeux non sains, issus des modalités témoins des différentes séries d'inoculation, ayant du mycélium à sa surface

	Sem. 1	Sem. 2	Sem. 3	Sem. 4	Sem. 5	Sem. 6
methEB_expé1	11%	44%	67%	100%	100%	100%
methT_expé1	0%	60%	60%	60%	60%	60%
methSB_expé1	0%	20%	60%	80%	100%	100%
methEB_expé2	0%	25%	75%	75%		

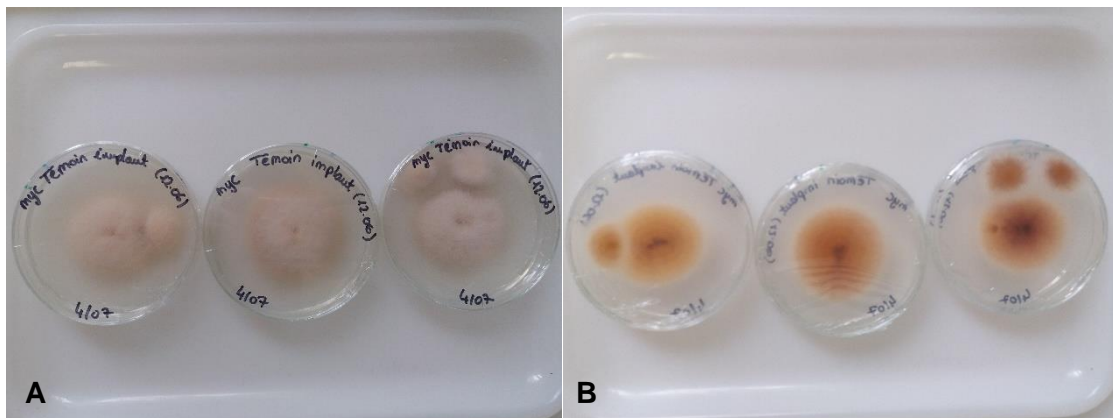


Figure 22 : Cultures d'un micro-organisme fongique, apparenté à du *Fusarium*, à J+7, isolé par prélèvement de mycélium sur explant de PDA de la modalité témoin de la méthode EB (explant). A : vue de dessus (mycélium aérien) ; B : vue de dessous (source : Pierrick Ricard, INRA d'Avignon, 11/07/2017)

IV. RESULTATS

A. CARACTERISATION DE SOUCHES FONGIQUES ISOLEES DE BULBES FUSARIES

1. Analyse des modalités témoins

Un mycélium de couleur blanc-rosé se développe sur les caïeux utilisés comme témoins. Pour la méthode EB, bien souvent la croissance se fait au niveau de la blessure et de l'explant de PDA vierge (figure 21A). Pour la méthode T, l'apparition de mycélium est plus aléatoire et peut se faire depuis le plateau racinaire, le germe ou encore la surface du caïeu, au niveau d'une ancienne blessure par exemple (figure 21B). Pour la méthode (SB), le développement de ce mycélium blanc se fait préférentiellement au niveau de la blessure (figure 21C).

Une semaine après l'inoculation, tous les caïeux étaient encore sains, à l'exception de la méthode EB de la première série d'expérimentations, qui présente déjà 11% de caïeux non sains (1 sur 9). Ce taux va progresser jusqu'à atteindre les 100% dès la 4^{ème} semaine. Il sera également atteint pour la méthode SB dès la 5^{ème} semaine. A la 6^{ème} semaine, 60% des caïeux présentent du mycélium pour la méthode T et 75% pour la méthode EB de la 2^{ème} série de manipulation au bout de 4 semaines (tableau 7).

Un isolement a été effectué et un échantillon de mycélium a été mis en culture sur milieu PDA à 21°C, 75% d'humidité relative et une photopériode de 12h. A J+7, la culture présente les mêmes caractéristiques visuelles que les souches isolées en décembre sur des caïeux fusariés. La couleur du mycélium aérien est blanc-rosé (figure 22A) et le revers de la boîte de Petri plutôt rose-orangé (figure 22B). Une observation microscopique confirme la présence de microconidies et de macroconidies, sensiblement proches morphologiquement des caractéristiques du genre *Fusarium*.

Enfin, il faut noter que, sur pratiquement la totalité des caïeux utilisés pour les expérimentations, toutes modalités confondues (témoins compris), un développement mycélien, identique à celui décrit ci-dessus, est observé au niveau du plateau racinaire. Bien souvent à peine visible, il est davantage développé, notamment en cas de croissance racinaire.

2. Analyses comparatives des trois méthodes d'inoculation (expérimentation 1)

a. Etude descriptive : rapidité et faisabilité de mise en place

D'un point de vue rapidité de mise en place, la méthode EB se détache des autres. L'utilisation d'un cône de prélèvement permet de réaliser rapidement les blessures. Le découpage de tous les explants nécessaires par souche, à l'aide d'un emporte-pièce, puis le prélèvement pour dépôt sur blessure ne présente pas de soucis d'optimisation. L'enchaînement des manipulations est rapide et sans difficulté particulière.

La réalisation d'une suspension de spores pour les méthodes T et SB est, cependant, assez longue et complexe à mettre en place. Effectivement, cela demande, d'une part, la mise en culture des souches au préalable en milieu PDB, ensuite une filtration, suivies du comptage des spores et une succession de dilution pour obtenir la concentration requise. Toutes ces étapes sont longues et demandent une grande quantité de matériel (verrerie) qui doit, au préalable, être stérilisé. En outre, les souches utilisées ne sporulent pas toutes suffisamment en milieu liquide pour avoir la concentration de 10⁶ spores/mL souhaitée. Toutes les suspensions de spores ne peuvent donc pas être réalisées. Effectivement, sur les 11 souches mises en culture liquide, seulement six semblent très bien sporuler en milieu liquide.

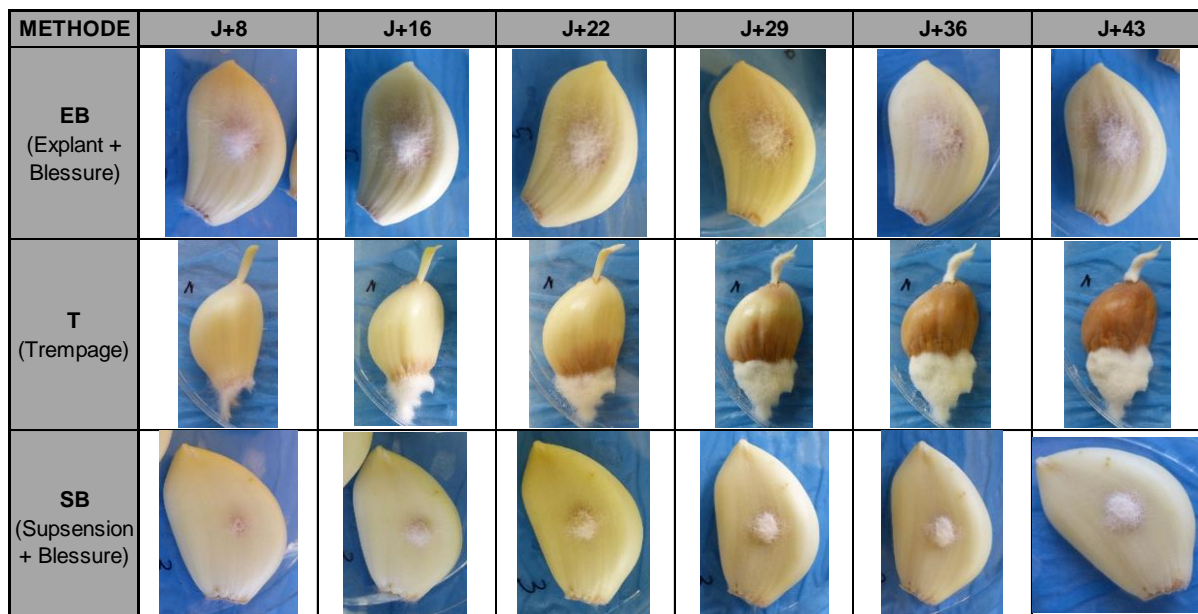


Figure 23 : Évolution d'un caëu inoculé avec la souche 3 pour les trois techniques d'inoculation testées (source : Pierrick Ricard, INRA d'Avignon, juin-juil. 2017)

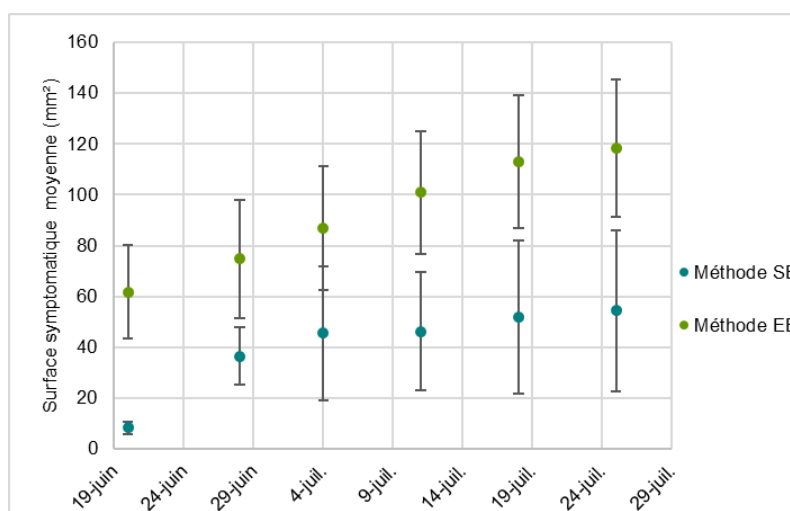


Figure 24 : Évolution de la surface symptomatique moyenne par méthode d'inoculation (EB et SB) de *Fusarium* sur ail. Les barres d'erreur correspondent aux écarts types

Tableau 8 : p-values des tests statistiques étudiant l'effet d'un facteur sur l'étendue de la surface symptomatique moyenne (risque $\alpha = 5\%$). Encadré bleu (A) : effet du facteur « méthodes EB & SB » sur les souches 3 et 6A. Encadré rouge (B) : effet du facteur « expérimentation 1 & 2 » sur les souches 6A et *F. proliferatum* par la méthode EB

	A				B			
	Souche 3		Souche 6A		Souche <i>F. proliferatum</i>		Souche 6A	
	ANOVA	Kruskal-Wallis	ANOVA	Kruskal-Wallis	ANOVA	Kruskal-Wallis	ANOVA	Kruskal-Wallis
Sem. 1	/	$8,72 \cdot 10^{-4}$	/	$1,42 \cdot 10^{-3}$	0,2510	/	0,3710	/
Sem. 2	0,0310	/	$1,09 \cdot 10^{-5}$	/	0,0213	/	0,2990	/
Sem. 3	0,0346	/	/	0,0329	/	0,4750	0,2420	/
Sem. 4	$1,09 \cdot 10^{-3}$	/	/	0,0172	0,3910	/	0,2470	/
Sem. 5	$8,8 \cdot 10^{-4}$	/	/	0,0318				
Sem. 6	$1,27 \cdot 10^{-3}$	/	$2,87 \cdot 10^{-4}$	/				

b. Évaluation de la capacité à créer un symptôme : fiabilité des méthodes

La méthode d'inoculation par trempage dans une suspension de spores permet de recréer artificiellement des symptômes de fusariose tels qu'ils sont observés par les acteurs de la filière, dès la 4^{ème} semaine. La souche 3 donne 80% de caïeux symptomatiques et la souche 6A 30% à la fin de la 6^{ème} semaine post-inoculation. Avec le temps, les caïeux sont ramollis, deviennent entièrement marron au bout de 6 semaines et un mycélium blanc à l'aspect laineux est présent au niveau du plateau racinaire. Par contre, la mise en place des méthodes EB et SB ne donne pas les mêmes résultats et seul un développement mycélien au niveau de la zone d'inoculation est obtenu. Celui-ci forme un amas circulaire de mycélium aérien à la surface du caïeu qui est plus ou moins étendu et épais (figure 23).

Le graphique de la figure 24 représente l'évolution de la moyenne de la surface symptomatique des deux méthodes comparées (EB et SB). Cette moyenne est calculée en prenant en compte les souches 3 et 6A. Cette surface augmente de manière assez régulière tout au long des six semaines de notations. Quel que soit le jour d'observation, la méthode EB permet d'obtenir une plus forte étendue de mycélium sur les caïeux : en moyenne la surface est près de 3 fois supérieure à celle engendrée par la méthode SB. La comparaison statistique de la surface symptomatique moyenne des souches 3 et 6A, par rapport à ces deux méthodes, montre bien ces différences observées graphiquement (tableau 8A) : quelle que soit la date d'observation, les p-values issues des ANOVA sont inférieures au risque α fixé à 5%. Il en est de même pour les cinq analyses réalisées à l'aide d'un test non paramétrique de comparaison de médianes. Ainsi, la méthode EB donne bien des résultats significativement différents de la méthode SB (les données graphiques complètes de ces deux méthodes sont disponibles en annexe IX).

Enfin, pour montrer l'homogénéité des résultats obtenus grâce à la méthode EB, les résultats de la première expérimentation peuvent être comparés à la deuxième sur les quatre premières semaines d'étude (durée de l'expérimentation 2). La variable analysée est toujours la surface symptomatique moyenne pour chaque caïeu. Deux souches sont utilisées pour les deux expériences : la souche 6A et la souche de référence *F. proliferatum*. L'analyse statistique de ces données donne une p-value systématiquement supérieure au risque fixé à 5% à l'exception de *F. proliferatum* à J+14 où la p-value est égale à 0,0213 (tableau 8B). Nous pouvons donc conclure que, d'une manière générale, il semblerait que la méthode EB donne des résultats homogènes dans les temps et que d'une série de tests à une autre, les conclusions sont significativement identiques.

3. Analyses comparatives de quelques souches de *Fusarium* (expérimentation 2)

a. Etude descriptive des coupes de caïeux inoculés

Une coupe, longitudinale à la blessure, a été effectuée une fois par semaine et pour chaque modalité étudiée. Globalement, la conclusion est la même : la zone de blessure devient marron-orangé. Il s'agit très certainement d'une réaction normale de cicatrisation. Le mycélium présent à la surface, sur l'explant de PDA restant, ne se propage pas à l'intérieur du caïeu. Seules les souches 8, 6A et 6B semblent légèrement se différencier par une légère progression des filaments mycéliens. Cependant, aucune observation n'a permis de mettre en évidence un changement de couleur net et un début de pourrissement des tissus internes par le biais de l'action du *Fusarium* inoculé. En outre, la conservation des caïeux coupés montre que le germe poursuit parfois sa croissance.

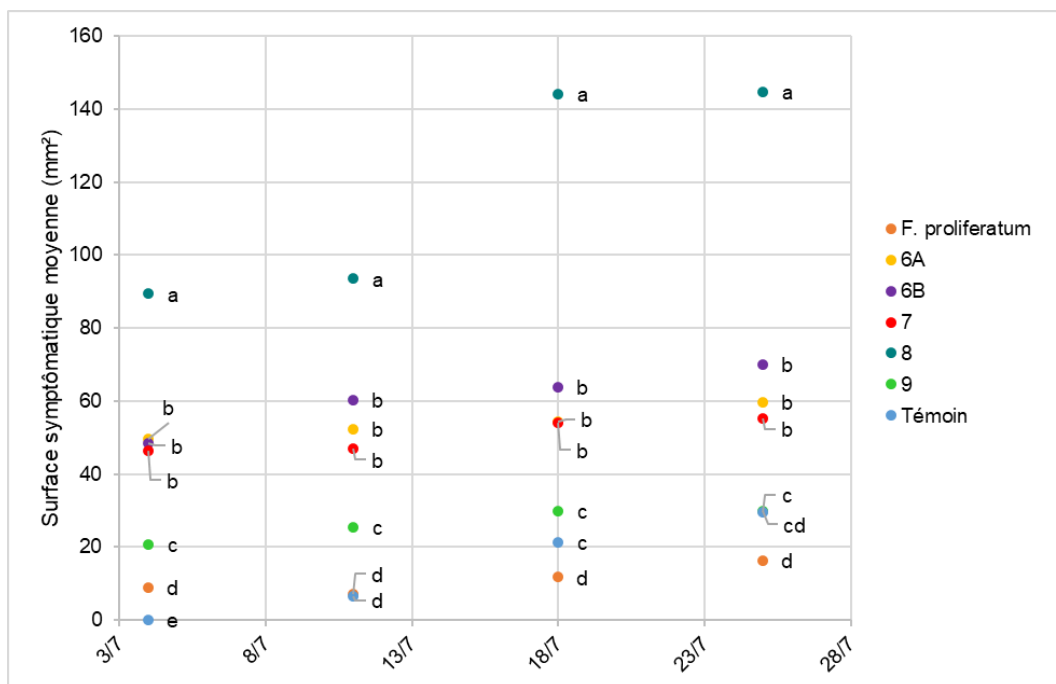


Figure 25 : Évolution de la surface symptomatique moyenne provoquée par les 6 souches de *Fusarium* testées et inoculées par la méthode EB (explant + blessure). Les lettres a, b, c, d et e représentent les groupes statistiques homogènes du test de Kruskal-Wallis ($\alpha = 5\%$)

Tableau 9 : p-values issues du test non paramétrique de Kruskal-Wallis au risque $\alpha = 5\%$ de mesure de l'effet du facteur « souche » sur la variable « surface symptomatique moyenne »

	Kruskal-Wallis
J+6	$1,68.10^{-12}$
J+13	$1,76.10^{-11}$
J+20	$1,17.10^{-11}$
J+27	$1,15.10^{-10}$

b. Comparaison de l'étendue des zones symptomatiques

La représentation graphique de l'évolution de la surface moyenne des symptômes causés par les différentes souches testées dans la deuxième expérimentation (figure 25) montre que la croissance est positive les trois premières semaines, puis tend à se stabiliser et à ne plus évoluer à partir de ce moment-là.

A la première observation, la surface est nulle pour la modalité témoin, celle-ci va cependant augmenter dans les jours suivants. *F. proliferatum* a la croissance la plus lente et la plus faible puisque la surface moyenne maximale ne dépasse pas les 16 mm² après 4 semaines. La souche qui se distingue des autres a le numéro 8. Son agressivité semble être supérieure aux autres puisque le développement mycélien à la surface des caïeux est plus important. Ainsi, dès J+6 son étendue est déjà bien supérieure au maximum que peuvent atteindre les autres souches (89 mm²). La progression est faible à J+13 (93 mm²) et augmente très fortement à J+20 pour se stabiliser vers 145 mm².

En regardant un peu plus en détail, il est possible de répartir les souches en trois groupes différents suivant leur capacité à se développer sur ail. Ainsi, la plus vigoureuse est la souche 8, elle se distingue des autres. Viennent ensuite la 6A, 6B et 7 dont le développement est moyen et est compris entre 46 mm² et 70 mm² au bout de 4 semaines. Pour finir, les souches visiblement les moins vigoureuses sont la 9, celle de référence, *F. proliferatum*, et le mycélium se développant sur le témoin. L'étude statistique comparant les souches entre elles suivant la variable « surface de symptôme moyenne » confirme bien ces observations graphiques (tableau 9). Effectivement, toutes les p-values du test de Kruskal-Wallis sont largement inférieures à 5%, ce qui confirme que les souches sont significativement différentes. En outre, les classes proposées par le test valident, en général, les groupes formés par lecture graphique.

c. Ré-isolément des souches inoculées

Un ré-isolément de toutes les souches testées par la deuxième expérimentation a été effectué. Il s'agit donc des souches 6A, 6B, 7, 8, 9 et *F. proliferatum*.

Macroscopiquement, à J+7, toutes les souches ré-isolées se ressemblent fortement. Le mycélium aérien a toujours cette couleur blanc-rosé. La face inférieure des boîtes de Petri laisse transparaître une tendance à une coloration orange-rosé, plus ou moins marquée. Le micro-organisme isolé des caïeux, théoriquement inoculés par la souche 6A, donne une coloration plus foncée au centre de la boîte de Petri, face inférieure. Le milieu de culture de la souche 6A devient, à terme, très foncé, pratiquement noir. Nous pouvons donc supposer que ce ré-isolément aura les mêmes caractéristiques. L'observation microscopique du matériel fongique aérien permet de visualiser une très forte proportion de spores (microconidies et macroconidies).

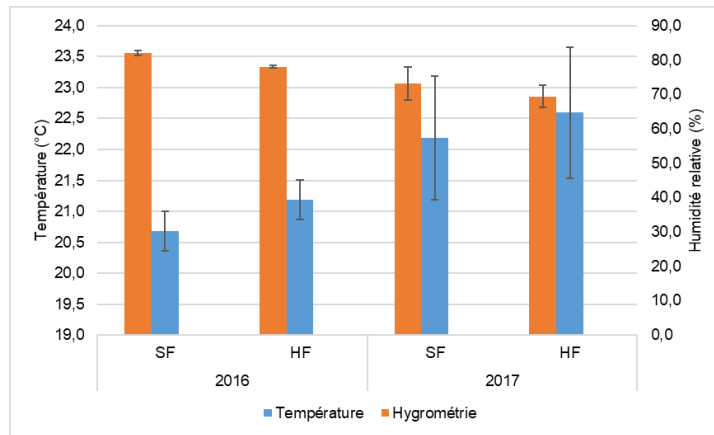


Figure 26 : Évolution des températures (°C) et hygrométries (%) moyennes de production d'ail sur les mois de mai à juillet en 2016 et 2017 en fonction du mode de culture (les barres d'erreur correspondent à l'écart-type de chaque moyenne)

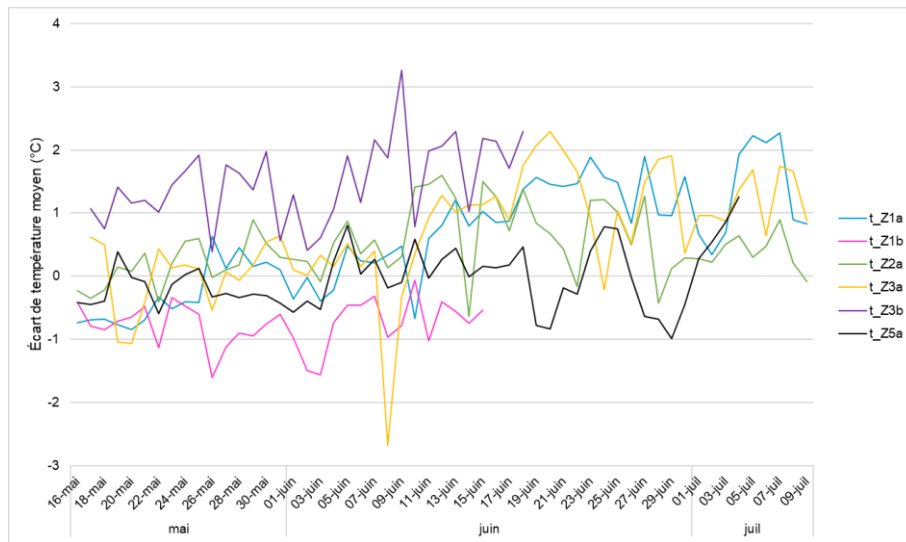


Figure 27 : Évolution des écarts de température moyenne journalière (°C) en parcelle de production d'ail sous filet et hors filet anti-insectes pour la période du 16 mai au 09 juillet 2017

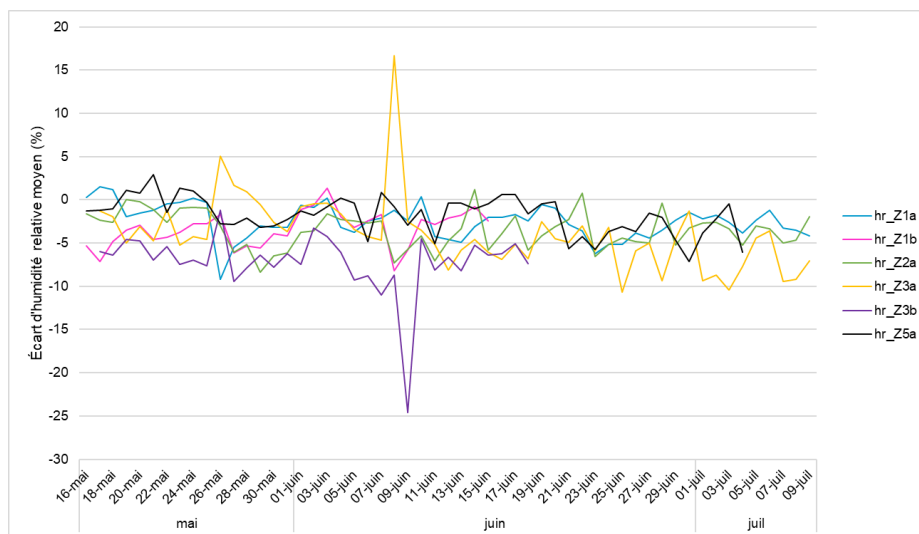


Figure 28 : Évolution des écarts d'humidité relative (%) moyenne journalière en parcelle de production d'ail sous filet et hors filet anti-insectes pour la période du 16 mai au 09 juillet 2017

B. CARACTERISATION DE FACTEURS ENVIRONNEMENTAUX A INFLUENCE POTENTIELLE SUR L'APPARITION DE LA MALADIE

1. Etude des conditions climatiques de production

a. Comparaison des données 2016-2017

La moyenne des données obtenues par l'ensemble des sondes placées en parcelle permet de mettre en évidence des tendances concernant la température et l'humidité relative hors filet et sous filet anti-insectes (figure 26).

En 2017, les relevés montrent que la température sous filet est de 22,19°C tandis que hors filet, elle est de 22,59°C. L'écart est donc de 0,40°C. Quant à l'hygrométrie en parcelle, elle est de 73,16% sous filet et de 69,45% hors filet. Sous filet, l'hygrométrie est donc plus élevée de 3,71% par rapport à une culture hors filet. Pour rappel, en 2016, la température moyenne sous filet était de 20,68°C et de 21,19°C hors filet, ce qui représente un écart supérieur de 0,51°C à l'extérieur. L'humidité relative était de 82,05% sous filet et de 78,10% hors filet. L'écart sous filet avec l'extérieur était donc positif de 3,95%. Pour les deux années d'observations, quand la température augmente, l'humidité relative diminue.

L'étude statistique montre que le facteur année a bien une incidence sur la variable température (p -value < 0,05 ; risque α = 5%). Cependant, cet effet n'est pas observé sur l'hygrométrie (p -value > 0,05 ; risque α = 5%).

b. Description des variations climatiques : analyse de moyennes journalières

Les moyennes journalières des températures relevées en parcelle de production sont cohérentes par rapport aux relevés issus de la station météorologique de Divajeu (26 400) puisque les courbes suivent la tendance de la station. Il en est de même pour l'hygrométrie en parcelle, bien que celle-ci soit en moyenne de 57% pour la station et soit supérieure à 66% en moyenne dans les parcelles. En période de précipitation, les deux paramètres observés sont influencés : ainsi la température baisse légèrement et l'humidité relative croît (annexe X).

La représentation graphique des écarts moyens journaliers entre les relevés sous filet et hors filet anti-insectes montrent que les températures fluctuent tout au long de la période d'analyse (figure 27). Les courbes évoluent entre un écart positif de 2°C et négatif de 1°C (hormis quelques valeurs exceptionnelles) entre une culture hors filet et sous filet. Jusqu'au 11 juin, la répartition des courbes est homogène autour de 0. Il est donc, *a priori*, difficile d'affirmer que la température sous filet est plus faible qu'à l'extérieur. L'analyse statistique des températures moyennes journalières pour chaque parcelle en fonction du facteur « mode de culture » (sous-filet et hors filet anti-insecte) ne permet pas de montrer de différences significatives de température (annexe XI).

Le graphique des écarts d'humidité relative moyenne journalière entre les deux modes de culture montre également une évolution très variable au cours du temps (figure 28). Les courbes évoluent entre un écart positif de 3% et négatif de 10% (hormis quelques valeurs exceptionnelles). Une tendance assez nette ressort : il semblerait que les écarts d'humidité relative moyenne journalière soient négatifs. L'hygrométrie moyenne journalière sous filet est donc supérieure à l'hygrométrie mesurée à l'extérieure des filets. L'analyse statistique au risque α = 5% montre que l'hygrométrie moyenne journalière est significativement différente sous filet qu'à l'extérieure, en culture non couverte pour les parcelles Z1b, Z3a et Z3b. Les parcelles Z1a, Z2a et Z5a ne montrent pas d'effet statistiquement significatif du facteur « mode de culture » sur l'hygrométrie en parcelle (annexe XI).

Tableau 10 : Moyennes journalières de la température et de l'hygrométrie avec distinction jour/nuit pour chaque parcelle d'étude suivant le mode de culture et écarts moyens

Parcelle	TEMPERATURE (°C)						HYGROMETRIE (%)					
	Nuit			Jour			Nuit			Jour		
	SF	HF	Écarts (HF-SF)	SF	HF	Écarts (HF-SF)	SF	HF	Écarts (HF-SF)	SF	HF	Écarts (HF-SF)
Z1a	17,01	16,74	-0,27	27,43	28,88	1,45	81,63	81,41	-0,22	55,51	50,75	-4,76
Z1b	14,74	14,60	-0,14	28,12	26,75	-1,37	90,75	88,13	-2,61	60,93	56,81	-4,12
Z2a	17,90	17,69	-0,21	28,02	29,19	1,17	84,00	81,96	-2,04	57,16	52,22	-4,94
Z3a	17,09	17,04	-0,05	28,60	29,96	1,36	90,01	88,51	-1,49	57,03	50,56	-6,46
Z3b	15,65	15,74	0,09	25,30	28,21	2,91	93,47	90,81	-2,66	68,98	57,43	-11,55
Z5a	17,86	17,45	-0,41	28,08	28,42	0,34	83,37	82,69	-0,69	55,28	52,46	-2,82
Moyenne	16,71	16,54	-0,17	27,59	28,57	0,98	87,20	85,58	-1,62	59,15	53,37	-5,78

Tableau 11 : p-values de l'ANOVA (1) des moyennes journalières des variables d'étude (température et hygrométrie) avec distinction jour/nuit en fonction du facteur « mode de culture » (sous filet et hors filet anti-insectes). Encadrés rouges en cas de significativité (risque $\alpha = 5\%$)

Parcelle	TEMPERATURE (°C)				HYGROMETRIE (%)			
	Nuit		Jour		Nuit		Jour	
	ANOVA	Kruskal-Wallis	ANOVA	Kruskal-Wallis	ANOVA	Kruskal-Wallis	ANOVA	Kruskal-Wallis
Z1a	0,67	/	0,0925	/	0,909	/	0,0513	/
Z1b	0,864	/	0,165	/	0,0947	/	0,0837	/
Z2a	0,745	/	0,16	/	0,277	/	/	0,0175
Z3a	0,935	/	0,107	/	0,34	/	0,00262	/
Z3b	0,908	/	0,00469	/	/	0,0845	0,00204	/
Z5a	0,528	/	0,671	/	0,727	/	0,161	/

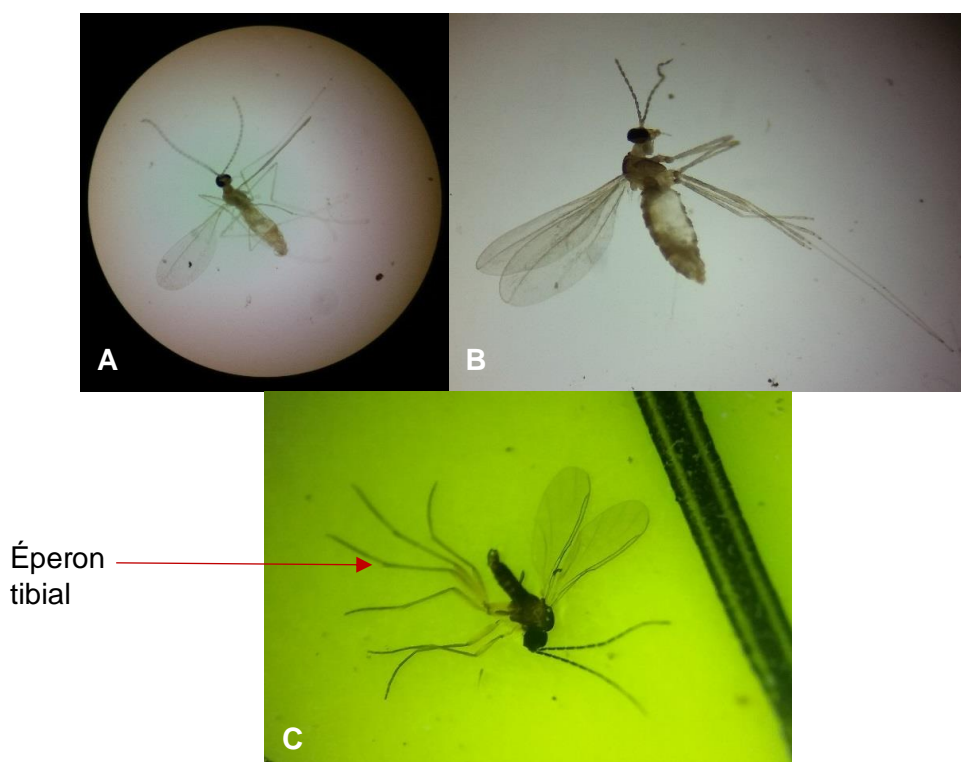


Figure 29 : Observations sous loupe binoculaire (grossissement x20). A et B : insectes capturés dans les cuvettes jaunes et étant potentiellement des cécidomyies (espèce non déterminée). C : insecte capturé sur plaque engluée avec éperon tibial, identification supposée : mouche des terreaux (genre *Sciarides*) (source : Pierrick Ricard, FNAMS, 26/06/2017)

c. Description des variations climatiques : distinction jour/nuit

L'analyse des données en séparant les moyennes journalières de la nuit et du jour (12h/12h) permet d'avoir plus ou moins les mêmes conclusions. D'abord, il faut noter que la différence jour/nuit est notable en termes de température et d'hygrométrie. La nuit est plus fraîche de 12°C avec une hygrométrie plus forte de 30% en moyenne par rapport à la journée.

Au cours de la nuit, la température et l'humidité relative s'homogénéisent (tableau 10) : les écarts sont quasi nuls concernant la température et de l'ordre de 1,62% plus élevés sous filet pour l'hygrométrie. Sous filet, la température moyenne est de 16,71°C pour une humidité relative de 87,20%, respectivement 16,54°C et 85,58% hors filet. A l'inverse, au cours de la journée, les écarts sont nettement plus marqués : la température est en moyenne 1°C plus faible et l'hygrométrie 5% plus forte sous filet par rapport à la culture non couverte. Sous filet, la température moyenne est de 27,59°C pour une humidité relative de 59,15%, respectivement 28,57°C et 53,37% hors filet.

L'analyse statistique au risque $\alpha = 5\%$ pour chaque période jour/nuit (tableau 11) confirme difficilement les tendances décrites ci-dessus. Ainsi, sur l'ensemble des tests effectués, seuls quatre permettent de conclure à une différence significative des variables étudiées par rapport au facteur mode de culture. La température moyenne est significativement différente la journée sur la parcelle Z3b, tout comme l'hygrométrie sur cette même parcelle et sur la Z3a. Enfin, l'étude statistique sur la parcelle Z2a montre que les médianes de données hygrométriques sont significativement différentes, l'ANOVA (1) ne pouvant être effectuée (postulats non validés).

2. La pression entomologique en culture : évaluation de la présence de cécidomyies

Les piégeages ont été réalisés et conduits jusqu'à la fin prévue de l'expérimentation, soit juste avant les récoltes de chaque parcelle. Lors des trois premiers relevés, des insectes morphologiquement identiques, d'un point de vue macroscopique, aux cécidomyies capturées en 2016, étaient observés sur les plaques engluées. Cependant, les individus étaient de couleur très foncée, pratiquement noirs (figure 29C). Or, en 2016, la cécidomyie observée, *Clinodiplosis cilicrus*, était davantage de couleur marron-orangé, assez clair. N'ayant, au début des relevés, pas de loupe binoculaire à disposition pour faire une observation plus précise, Éric Pierre de l'INRA de Montferrier-sur-Lez a été contacté afin d'avoir son avis en tant qu'expert. Il s'est avéré, suite à ses indications et à l'observation sous une loupe binoculaire, arrivée *a posteriori* au cours de la 5^{ème} semaine de capture, que les insectes observés étaient uniquement des mouches des terreux du genre des Sciarides. Aucun insecte de la famille des cécidomyies n'a été observé, que ça soit sous filet ou en culture non couverte. L'espèce *Clinodiplosis cilicrus* aperçue en 2016 n'a donc pas été comptabilisée dans les relevés de 2017, sur les dix parcelles de l'étude.

Concernant les captures dans les cuvettes jaunes, sur les six relevés, seulement deux insectes seraient potentiellement des cécidomyies (figures 29A et B), l'identification de l'espèce étant impossible sans l'appui d'un spécialiste. Les mouches des terreux étaient également capturées, à des taux similaires aux captures sur plaques engluées.

Il faut noter que le taux de capture des mouches des terreux était très variable d'une parcelle à une autre. Ainsi, les pièges installés dans les parcelles de la zone 2 n'ont jamais révélé la présence de cet insecte tandis que les parcelles de la zone 1 et particulièrement la parcelle d'ail d'automne (Z1b) observaient le taux de capture le plus important (une vingtaine d'individus par plaque) début juin. A partir du 23 juin, le taux de capture de ces insectes a fortement chuté pour être pratiquement nul lors des quatre derniers relevés (ceci concernant également tous les insectes).

V. DISCUSSION ET PERSPECTIVES

A. CARACTERISATION DE SOUCHES FONGIQUES ISOLEES DE BULBES FUSARIES

1. Mise en place d'un test fiable et répétable d'évaluation du pouvoir pathogène de *Fusarium* sur ail (expérimentation 1)

a. La présence d'un *Fusarium* endophyte

En théorie, la mise en place d'une modalité témoin pour chaque méthode testée devait montrer que l'état sanitaire du matériel végétal utilisé est sain. Une étape de désinfection a été réalisée. Or, un mycélium de couleur blanc-rosé et à l'aspect laineux se développe. Sa croissance se fait au niveau de la blessure, s'il y en a eu une, et/ou au niveau du plateau racinaire.

Il semblerait, vu la proportion de caïeux développant, au fil des jours post-inoculation, des filaments mycéliens, que l'ail utilisé ne soit pas indemne de micro-organismes. La forte ressemblance avec le mycélium souvent présent sur les bulbes fusariés laisse perplexe. L'isolement réalisé sur ces caïeux confirme bien la similitude avec les souches inoculées : il s'agit potentiellement d'un *Fusarium*. Cependant, sans l'œil d'un expert, il est impossible de s'en assurer et de déterminer l'espèce. Des analyses moléculaires sont donc indispensables.

Plusieurs points doivent être spécifiés. Les caïeux utilisés pour l'inoculation proviennent du même lot d'ail. Il s'agit d'une variété de type rose et donc sensible à la fusariose. Cet ail a été récolté en juillet 2016 et utilisé pour ces expérimentations en juin et juillet 2017, soit un an plus tard. Or, la fusariose se déclare théoriquement à partir de fin septembre, début octobre. Si ce lot d'ail avait dû développer la fusariose, cela aurait été le cas bien avant les inoculations artificielles. En outre, la désinfection réalisée a, normalement, permis de tuer l'ensemble des micro-organismes présents à la surface du caïeu mais non à l'intérieur des tissus. Ces observations suggèrent plusieurs hypothèses.

D'abord, le champignon observé, bien que ressemblant à un *Fusarium*, fait peut-être partie d'un autre genre proche mais sans lien direct avec la fusariose.

Dans le cas où il s'agirait d'un *Fusarium* endophyte, présent dans les tissus, deux possibilités doivent être considérées. Soit ce champignon est pathogène et possède une forme de latence en attendant des conditions spécifiques pour le devenir et ainsi engendrer les symptômes de fusariose, soit il n'est pas pathogène mais vit de manière symbiotique dans la plante. Ce cas est d'ailleurs évoqué par Stępień et al. (2011).

Quoiqu'il en soit, aucune conclusion ne peut être établie au moment de la rédaction de ce mémoire mais l'hypothèse que l'ensemble des ails, toutes variétés confondues, possède un micro-organisme endophyte ne peut être écartée. Afin d'apporter des réponses, une étude étiologique approfondie doit être réalisée pour caractériser et comparer la flore fongique présente dans les caïeux symptomatiques et la flore des caïeux asymptomatiques.

b. Comparaison des trois méthodes d'inoculation testées

L'étude a pour objectif de trouver la méthode la plus rapide, répétable et fiable à utiliser pour évaluer le caractère pathogène des souches de *Fusarium* qui seront, à l'avenir, collectées.

La mise en place de ces trois méthodes a permis de vérifier que la plus rapide à réaliser est la méthode EB (explant + blessure) : peu d'étapes préparatoires et technique d'inoculation rapide. A l'inverse, les deux autres méthodes demandent la préparation préalable de suspensions de spores. Cela est très demandeur en verrerie et en temps car il faut d'abord préparer les cultures puis ensuite les filtrer et les diluer pour ajuster la concentration en spores.

En outre, la réalisation de ces solutions ne semble pas toujours possible. Ce point est problématique à l'avenir puisque près de 30% des souches n'ont pas sporulé. C'est donc un frein à la sélection des deux autres méthodes pour inoculer artificiellement *Fusarium* sur l'ail. Les méthodes T (trempage) et SB (suspension + blessure) ne sont donc pas répétables pour l'instant en suivant cette procédure. Comment expliquer ce phénomène ? Comme certaines souches sporulent très bien en milieu PDB, il est impossible d'affirmer que *Fusarium* est incapable de sporuler dans ce milieu. Cependant, ce dernier n'est peut-être pas le plus adapté pour optimiser la production de spores. Il en est de même pour les conditions climatiques. Un ajustement est probablement nécessaire, bien que cela soit satisfaisant pour 70% des souches.

Conclure sur la fiabilité des méthodes est plus délicat. Dans quelles mesures pouvons-nous affirmer que l'une l'est plus qu'une autre ? Utiliser une solution de spores avec une concentration fixée est très intéressant : la quantité de matériel fongique potentiellement pathogène est déterminée et est équivalente pour chaque souche. A l'inverse, avec le dépôt d'un explant d'une culture de *Fusarium* sur PDA, la quantité de matériel fongique n'est pas maîtrisée d'une souche à une autre et peut donc avoir un impact, par conséquent, sur le « taux d'attaque ». De ce point de vue, les méthodes de trempage et suspension + blessure sont plus fiables. Si l'on s'intéresse à la reproductibilité des symptômes, on s'aperçoit que seul le trempage permet, au-delà de 4 semaines, de recréer les vrais symptômes de la maladie. Malgré cela, obtenir une mesure rigoureuse de la pathogénicité des souches est impossible et l'attribution d'une note relative à une estimation de la surface attaquée est très subjective et aléatoire. Par contre, les deux autres techniques ne donnent qu'un développement mycélien à la surface du caïeu. Ce résultat semble similaire à celui obtenu par Villeneuve et Latour (2017). Cependant, sans signes particuliers d'attaque réelle, il est possible de quantifier ce que l'on peut considérer comme un « symptôme » et d'ensuite comparer l'agressivité des souches entre elles sur une mesure comparable. Par ailleurs, comment s'assurer que ce développement mycélien est bien représentatif de la pathogénicité envers l'ail ? La réponse n'est pas évidente. Ce développement est peut-être dû à la présence de l'explant de PDA ou encore de restes de milieu PDB fournissant suffisamment de nutriments au champignon pour se développer. Bien que cela explique certainement les différences du taux d'expansion du mycélium entre la méthode EB et la méthode SB, il ne peut pas expliquer celles entre les souches au sein même d'une technique d'inoculation. Cela suggère donc qu'il y a tout de même une part de pathogénicité sur l'ail qui favoriserait le développement du micro-organisme sur le végétal.

Ce sont toutes ces raisons qui nous ont orienté vers la sélection de la méthode EB (explant) pour la deuxième expérimentation, réalisée seulement 2 semaines après le lancement de la première et donc sans le recul possible d'aujourd'hui. Cependant, avec les observations disponibles en fin d'expérimentation, la ré-étude de la méthode T (trempage) n'est pas à écarter. Cette méthode, malgré ses défauts, présente quand même de nombreux atouts comme la maîtrise de la quantité de spores inoculées mais surtout la reproduction de vrais symptômes de fusariose.

2. Les premiers résultats d'évaluation du pouvoir pathogène de certaines souches de *Fusarium* sur ail (expérimentation 2)

La deuxième expérimentation avait pour objectifs, d'une part de débiter la comparaison de l'agressivité de certaines souches de *Fusarium* sur l'ail, mais également de confirmer le choix de la sélection de cette technique pour inoculer le champignon.

Tout d'abord, la mise en place de ce test de pathogénicité montre que la souche de référence (*F. proliferatum*) utilisée ne paraît pas être pathogène sur l'ail. Pour rappel, elle est issue du Centre International de Ressources Microbienne (CIRM) de Marseille. Il s'agit d'un champignon isolé du blé. Les résultats de la méthode EB (explant) montrent que le développement mycélien est très faible pour ne pas dire absent. Ainsi, il semblerait que cette souche se maintienne en vie uniquement grâce à la présence de l'explant de PDA. Aucune autre souche testée ne semble se comporter de la sorte ce qui suggère que cette espèce, présente sur blé, ne serait pas pathogène de l'ail, ou très peu. Cette donnée rassure sachant que le blé est parfois un antécédent cultural direct à la culture de l'ail. Néanmoins, cette conclusion ne concerne qu'une souche précise de *F. proliferatum* et ne représente en aucun cas la diversité génétique de cette espèce. Comme un grand nombre de publications scientifiques le cite comme pathogène sur l'ail, il est donc très probable qu'au sein même de l'espèce, il existe une diversité génétique qui confère à certaines souches un caractère agressif plus ou moins marqué.

Enfin, l'agressivité des autres souches testées, et issues de caïeux fusariés, n'est pas homogène. Certaines comme la 6A et 6B, 7 et plus particulièrement la 8 semblent être vigoureuses sur l'ail et pourraient être pathogènes. Le propos est plus affirmatif en observant les résultats fournis par la méthode T (trempage) au bout de 6 semaines d'expérimentation : les souches 3 et 6A recréent de vrais symptômes de fusariose. Bien entendu, pour les prochaines expérimentations, le dernier postulat de Koch devra nécessairement être réalisé. Un ré-isolément du micro-organisme se développant sur les caïeux inoculés devra être effectué afin d'identifier la souche présente et ainsi s'assurer de la conformité par rapport à celle initialement inoculée. Faute d'avoir ces résultats, les conclusions formulées précédemment, attribuant aux souches inoculées les caractéristiques d'agressivité observées, ne peuvent être affirmées avec certitude.

3. Perspectives de travail

Avant de poursuivre la recherche et de lancer une étude d'un grand nombre de souches de *Fusarium*, il faut éclaircir la problématique liée à l'apparition de mycélium sur les modalités témoins mais également ré-étudier ces différentes méthodes.

a. Trouver un matériel végétal sain pour les futures inoculations

Pour permettre la mise en place des tests de pathogénicité, une méthode de désinfection efficace doit être trouvée. Pour cela, un protocole pourrait être mis en place.

Idéalement, des caïeux en apparence sains, de différents lots, issus de régions différentes, de toutes les variétés et de tous les types, sont nécessaires pour que l'étude soit la plus complète possible. La constitution d'une banque de *Fusarium* endophytes serait réalisée à partir des témoins. La ré-utilisation d'une solution de NaOCl est possible comme toutes les publications scientifiques utilisent l'hypochlorite de sodium comme agent désinfectant. Ce qui pourrait être intéressant serait de faire varier les concentrations et le temps de désinfection avant rinçage. Par exemple, Tonti et al., en 2012, ont utilisé une concentration de 2% de NaOCl pendant 10 minutes avant de rincer les gousses.

Pour cette expérimentation, quatre concentrations différentes pourraient être testées (1%, 2%, 3% et 4%) sur différents temps de désinfection (1, 5, 10, 15 et 20 minutes), suivies de trois rinçages de 3 minutes dans de l'eau stérile. Les caïeux seraient ensuite blessés sur 2 mm de largeur et 10 mm de profondeur, toujours suivant le protocole utilisé précédemment. Ce cône de prélèvement devra être changé ou désinfecté entre chaque blessure pour ne pas transmettre d'éventuel micro-organisme. Un explant de PDA sain serait déposé dessus et les caïeux placés à 21°C, 75% d'humidité relative et obscurité constante afin d'optimiser les conditions pour stimuler tout développement mycélien en cas de désinfection non complète. Le témoin correspondrait à la désinfection de 1 minute à 1%. Un isolement de tous les mycéliums développés, supposés endophytes, constituerait ainsi une banque de souches convenables pour identification.

Si, malgré tous ces essais, il s'avère impossible de rendre sain le matériel végétal, l'utilisation de fongicides pourrait être une alternative, dans la mesure où leur utilisation est autorisée. Le protocole d'étude serait le même en testant différentes concentrations en la molécule fongicide (mancozèbe, azoxystrobine et tébuconazole) sur différents temps de contact avec le caïeu. La pénétration du produit dans les tissus permettrait de détruire toutes les souches fongiques présentes dans l'ail. Une période d'attente serait, en outre, nécessaire entre la désinfection et l'inoculation pour que le fongicide soit totalement éliminé avant le lancement d'une étude de pathogénicité.

Dans la mesure où aucune alternative de désinfection ne fonctionnerait, l'utilisation d'aux issus de lignées F1 ou F2 serait peut-être la solution au problème.

b. Affiner les conditions de production de spores en milieu liquide

L'apparition de vrais symptômes de fusariose sur les caïeux inoculés par trempage dans une suspension de spores de *Fusarium* indique que cette technique peut être utilisée. La notation hebdomadaire n'est pas nécessaire avant la 4^{ème} semaine d'incubation, période où les premiers symptômes semblent apparaître. Cinq comptages du nombre de caïeux avec symptôme, une fois par semaine de la 4^{ème} à la 8^{ème} semaine, permettront d'obtenir une bonne représentation du pouvoir pathogène des souches testées. Réaliser le suivi de cette façon diminuera fortement le temps d'observation hebdomadaire.

Concernant l'hétérogénéité de sporulation des souches en milieu liquide, constatée suite à ce travail, des alternatives peuvent être trouvées. D'une part, les conditions de culture ne sont peut-être pas les plus adaptées. Il faudrait donc tester différentes températures et photopériodes. Enfin, d'autres types de milieu liquide de culture sont peut-être à privilégier : Czapeck-Dox, Czapeck Glucose, Richard's sans agar (Khan et al., 2001 ; Mechta, Tassadit, 2015). En outre, il pourrait être imaginé un protocole où les souches sont cultivées en milieu PDA. A J+7, tout le mycélium aérien serait récupéré et mélangé dans une solution liquide puis filtré. Cette méthode serait possible dans la mesure où une grande quantité de spores est présente en surface.

De nouvelles méthodes d'inoculation pourraient également être testées comme une inoculation sur plantule. L'inconvénient reste cependant qu'aucun « vrai » symptôme ne semble recréé (Tonti et al., 2012 ; Delgado-Ortiz et al., 2016).

B. CARACTERISATION DE FACTEURS ENVIRONNEMENTAUX A INFLUENCE POTENTIELLE SUR L'APPARITION DE LA MALADIE

1. L'étude des conditions climatiques de production

Cette deuxième année d'étude des conditions climatiques en production a permis d'obtenir un certain nombre de données complémentaires et de confirmer plusieurs observations faites auparavant.

Dans la Drôme, les cultures d'ail sous filet se développent avec une température moyenne de 21,44°C et une humidité relative moyenne de 77,61%. Respectivement, 21,89°C et 73,78% hors filet. Ces tendances sont issues de deux années d'étude et pour une période d'analyse de mai à juillet inclus. L'effet année est très influant sur les conditions climatiques. Aucune année n'est similaire. D'ailleurs, l'année 2017 aura été marquée par deux épisodes caniculaires au cours de l'étude. C'est sans doute ce qui explique les écarts observés : l'analyse statistique valide l'influence significative du facteur année sur la température (et non sur l'hygrométrie).

De faibles écarts, de l'ordre de 0,5°C et 3,95%, étaient constatés en 2016 respectivement pour la température et l'hygrométrie entre une culture hors filet et une culture sous filet anti-insectes (Hunyadi, 2016). En 2017, ces écarts sont de 0,4°C et 3,71% ce qui confirme les tendances observées en 2016. Ainsi, pour une culture couverte, la température moyenne semble être légèrement inférieure et l'humidité relative supérieure aux conditions réelles extérieures. Ces résultats sont parfaitement cohérents puisqu'il est normal que la quantité de vapeur d'eau, présente dans l'air, diminue si la température ambiante augmente ; c'est une variable dépendante de la température. Ces observations se confirment à plus forte raison en considérant uniquement la journée ; la nuit, les écarts diminuent et les conditions climatiques s'égalisent. Le système de production d'ail semence certifié influence donc directement les conditions climatiques de production par la mise en place de filets anti-insectes.

Ce propos doit, néanmoins, être nuancé. D'abord, l'étude n'est effectuée que sur une période de trois mois, période peut-être peu propice à la contamination. De plus, par l'observation des données collectées, la température semble être plus élevée et l'hygrométrie plus faible sur les cultures non couvertes. L'analyse par les tests statistiques modère le propos. En effet, il semblerait qu'aucune différence significative n'existe entre les deux modes de culture pour la température. Quant à l'hygrométrie, trois parcelles sur six donnent des différences significatives entre la culture sous filet et hors filet (risque α fixé à 5%). En distinguant la nuit du jour, les résultats sont sensiblement les mêmes. Statistiquement, il est donc difficile de considérer significatives les tendances observées ci-dessus.

Les différences constatées sont très faibles mais semblent cohérentes. La pose d'un filet avec un maillage aussi fin (800 microns) ne peut qu'altérer ces deux paramètres climatiques. Les fournisseurs stipulent d'ailleurs que le filet crée un ombrage de 7% environ. De plus, la couleur blanche du filet doit, très certainement, participer à la réflexion des rayons lumineux ce qui diminue ainsi la température. Enfin, le taux de perméabilité à l'eau des filets est de 75% (fiche de caractéristiques des filets, TEXINOV). Ce léger confinement doit favoriser la conservation de la vapeur d'eau tout en limitant l'entrée de grandes quantités d'air extérieur, l'hygrométrie augmentant par conséquence.

Les micro-organismes, et particulièrement les champignons, présentent une forte sensibilité aux conditions climatiques. Les *Fusarium* possèdent une zone optimale de développement dans laquelle ils se multiplient à une vitesse maximale. Cette zone ne se limite pas à une température et une hygrométrie précise mais plutôt à une gamme (Marin et al., 1995 ; Beyer et al., 2004 ; Summerell et al., 2010). Vu les faibles écarts de température et d'humidité relative constatés, il est peu probable que les filets soient la cause principale d'une pression en fusariose plus faible pour les cultures couvertes. Cependant, les fournisseurs affirment que le filet agit également en protection générale contre le vent, la pluie battante et les variations rapides de températures. Pour toutes ces raisons, cette étude reste indispensable pour la poursuite des recherches puisque ces trois derniers points sont liés à la dispersion des spores de *Fusarium* et au développement du champignon. Une fois l'identification du ou des pathogènes responsables de la maladie réalisée et la période de contamination connue, il sera intéressant d'étudier précisément leurs conditions climatiques optimales de croissance et susceptibles de favoriser la contamination à l'ail et de les comparer à cette étude de caractérisation des conditions climatiques de production.

2. La pression entomologique en culture : évaluation de la présence de cécidomyies

L'identification en 2016 de *Clinodiplosis cilicrus* en parcelle d'ail était particulièrement intéressante. L'espèce concernée étant mycophage et le rôle de la cécidomyie orangée du blé, *Sitodiplosis mosellana*, dans la dispersion de *Fusarium* sur blé connue (Mongrain et al., 2000), il était tout à fait judicieux de s'intéresser à l'existence d'un potentiel insecte, vecteur du pathogène. La démultiplication des zones suivies et le choix du dispositif expérimental devaient permettre de valider les quatre hypothèses émises dans le Matériel et Méthodes relatif à cette étude. Aucune cécidomyie n'a été capturée, au cours de la saison, dans la Drôme. Des relevés similaires ont été mis en place dans des parcelles de production d'ail dans les Alpes-de-Haute-Provence et dans le Tarn. Il semblerait que les observations soient identiques à la région drômoise (C. Vezian, M. et A. Givaudan, communication personnelle). Deux scénarii, ou conclusions, sont donc possiblement envisageables.

La première possibilité est la non-présence de l'insecte au cours de l'année 2017, malgré l'intérêt qu'il porte pour l'ail. Comme les cécidomyies sont des insectes diapausants, elles sont capables d'échelonner leur émergence sous forme adulte sur plusieurs années. La durée de diapause est variable et la sortie peut être liée à l'apparition de conditions climatiques favorables à l'insecte (Amouroux, 2013). Cette année a été marquée par un mois de mars doux et d'avril plutôt frais par rapport aux normales. Puis, deux épisodes caniculaires se sont succédés entre juin et juillet. Il est donc possible d'envisager que *Clinodiplosis cilicrus* ne disposait pas de conditions climatiques lui étant favorables pour sortir de diapause et coloniser l'espace aérien. Ceci pourrait expliquer son absence dans les dix parcelles étudiées. Comme appartenant à la même famille, une analogie pourrait être effectuée avec les vols de cécidomyies orangées du blé (*Sitodiplosis mosellana*). Or, il semble que depuis 2015, les vols de ce ravageur en culture céréalière soient de plus en plus disparates et fragmentés dans le temps au niveau national et sa présence non confirmée dans la Drôme (Jean-Baptiste Thibord, Pierre Taupin et Yves Pousset (ARVALIS), communication personnelle). De plus, leurs taux de capture sont souvent très faibles, ce qui laisse supposer que les populations le sont, dans la mesure où l'on considère que ce taux est proportionnel à la taille de la population sauvage. Si cette hypothèse se révèle exacte, il pourrait ne pas être exclu que *Clinodiplosis cilicrus* participe à la propagation de spores de *Fusarium* pathogène de l'ail. Par contre, ceci n'explique pas sa présence en 2016 malgré une pression quasi nulle de cécidomyies orangées du blé.

Enfin, le deuxième scénario écarte l'hypothèse d'une cécidomyie vectrice de *Fusarium*. En effet, l'absence de l'insecte dans les captures peut révéler le manque d'intérêt que porte la cécidomyie étudiée envers l'ail. Son observation en culture en 2016 ne serait qu'une présence purement due au hasard et en aucun cas à une attirance réelle envers *Allium sativum*, malgré son régime alimentaire connu et le potentiel intérêt que pourrait représenter la diversité fongique (*Puccinia allii*, *Fusarium*, *Penicillium*, etc.) présente en parcelle d'ail pour l'insecte. Ces derniers seraient alors capturés dès leur émergence du sol, avant même d'entamer un déplacement vers un milieu propice à leur reproduction. Cette théorie écarte donc totalement l'hypothèse selon laquelle cet insecte participerait à la propagation de la maladie sur ail.

L'absence d'études précises de l'espèce *Clinodiplosis cilicrus* rend difficile l'apport de conclusions. Néanmoins, les plantes hôtes de cet insecte appartiendraient davantage à la famille des Astéracées (Gagné, 2010). En outre, la durée de vie des adultes de cette famille est d'une semaine maximum et leur vol s'étale de mi-mai à juin sur notre territoire. Pour que la cécidomyie participe à la transmission du champignon, il faudrait qu'elle récupère les spores de *Fusarium* produites pour les transporter et cela sur une période très limitée. Une coïncidence spatio-temporelle entre les deux organismes serait donc nécessaire. Ces données confirmeraient plutôt la deuxième hypothèse. Dans tous les cas, même si à l'avenir des études plus poussées, et sur plusieurs années, aboutissent à la conclusion que l'espèce est vectrice de *Fusarium*, il semble très peu probable que ce taux soit important. Cette piste est intéressante mais pas prioritaire. L'étiologie de la maladie est nécessaire et permettra de dégager des leviers d'actions pour lutter efficacement contre le pathogène. A la suite de ce premier travail et des conclusions ressorties, la piste d'un insecte vecteur pourra être ré-étudiée et approfondie.

CONCLUSION

La fusariose de l'ail est une maladie qui n'a été observée que très récemment par la filière française. Ceci explique l'absence de connaissances sur les causes et les facteurs responsables des symptômes. Un travail étiologique pour caractériser les agents pathogènes, et épidémiologique pour évaluer les facteurs environnementaux qui pourraient influencer leur développement et ainsi l'apparition des premiers symptômes, sont lancés. Prochainement une thèse débutera sur ce sujet. Ce mémoire s'inscrit donc dans une phase de transition pour amorcer les études à venir. Il s'oriente vers ces deux grands volets, indispensables, pour que des leviers d'actions soient dégagés et que la filière puisse disposer de moyens de lutte ou de gestion du problème.

La première étape de la thèse sera d'établir une collection de souches pathogènes isolées sur ail symptomatique. Un des objectifs de ce stage était donc de mettre au point un test d'évaluation de la pathogénicité des souches pour sélectionner celles responsables des symptômes et donc faciliter le lancement des travaux de recherches futures. Les souches isolées d'une dizaine de caïeux symptomatiques, en cours d'identification au sein de l'unité de pathologie végétale de l'INRA d'Avignon, ont été utilisées pour tester trois méthodes référencées dans la littérature scientifique. Les protocoles ne sont pas encore totalement fixés mais ce travail a permis de soulever un certain nombre de problématiques très importantes pour la suite. Ainsi, une étude devra, au préalable, être conduite sur les caïeux asymptomatiques afin d'identifier ce micro-organisme visiblement endophyte et de trouver une solution pour obtenir des caïeux totalement sains pour procéder aux inoculations artificielles. La technique d'inoculation par immersion dans une suspension de spores semble la plus adaptée car elle permet de reproduire les vrais symptômes de la maladie.

Le volet épidémiologique avait pour objectifs de valider ou au contraire d'infirmer les hypothèses émises en 2016. Il s'agissait d'un travail de collecte de données environnementales à la culture afin de caractériser le milieu pour, à terme, étudier leur influence sur les agents pathogènes identifiés comme étant responsables de la maladie. Les résultats des données climatiques en culture sont similaires à 2016 et permettent de montrer l'influence de la pose des filets sur la température et l'hygrométrie. Néanmoins, l'étude entomologique des parcelles n'a pas permis de confirmer l'hypothèse que *Clinodiplosis cilicrus* participe à la dissémination du pathogène. Cela ne peut être écarté, bien que la participation d'un insecte vecteur de spores ne puisse prendre que des proportions faibles.

Un des objectifs de la thèse sera de développer un outil de détection de la maladie en parcelle. Cela serait d'une grande aide dans la gestion du problème. Des outils sont d'ailleurs en cours de mise au point sur blé pour détecter la fusariose. Il s'agit d'une méthode de détection optique du taux de spores présents dans l'air et sur la culture. Bien que ne permettant pas de lutter contre la maladie, cette technique est un bon moyen pour en suivre sa progression et donc réaliser des traitements fongicides adaptés (la bonne dose au bon moment). Il pourrait s'agir d'une méthode intéressante à transposer, une fois l'étiologie de la maladie de l'ail réalisée (West et al., 2017). Parallèlement à ces travaux, la filière s'implique fortement et recherche des solutions. Des essais sont actuellement en cours au niveau national et sont organisés par le groupe de travail ail, dirigé par le CTIFL (Centre Technique Interprofessionnel des Fruits et Légumes), l'objectif étant de tester des produits de biocontrôle et d'en mesurer leur efficacité.

BIBLIOGRAPHIE

- AKHTAR, T., SHAKEEL, Q., SARWAR, G., MUHAMMAD, S., IFTIKHAR, Y., ULLAH, M. I, MUBEEN, M. et HANNAN, A., 2017. Evaluation of fungicides and biopesticides for the control of fusarium wilt of tomato. In : *Pakistan Journal of Botany*. 2017. Vol. 49, n° 2, p. 769-774.
- AMOUROUX, P., 2013. *Bio-écologie et dynamique des populations de cécidomyie des fleurs (Procontarinia mangiferae), un ravageur inféodé au manguier (Mangifera indica), en vue de développer une lutte intégrée*. S.I. : Université de la Réunion. Disponible à l'adresse : http://agritrop-prod.cirad.fr/574747/1/document_574747.pdf.
- ANTON, R., 2016. Les constituants spécifiques des *Alliaceae*. In : *Phytothérapie*. 2016. Vol. 14, n° 3, p. 149-153. DOI 10.1007/s10298-016-1043-6.
- ASSOCIATION NATIONALE INTERPROFESSIONNELLE DE L'AIL (ANIAIL), 2017. *Rapport d'activité 2016*. S.I. ANIAIL.
- BEYER, M., RÖDING, S., LUDEWIG, A. et VERREET, J.-A., 2004. Germination and survival of *Fusarium graminearum* macroconidia as affected by environmental factors: germination and survival of *Fusarium graminearum*. In : *Journal of Phytopathology*. 2004. Vol. 152, n° 2, p. 92-97. DOI 10.1111/j.1439-0434.2003.00807.x.
- BIRLOUEZ, E., 2016. Ail, oignon et autres Alliées : approche historique et culturelle. In : *Phytothérapie*. 2016. Vol. 14, n° 3, p. 141-148. DOI 10.1007/s10298-016-1040-9.
- BOONZAAIJER, G., VAN OSENBRUGGEN, W., KLEINNIJENHUIS, A. et VAN DONGEN, W., 2008. An exploratory investigation of several mycotoxins and their natural occurrence in flavour ingredients and spices, using a multi-mycotoxin LC-MS/MS method. In : *World Mycotoxin Journal*. 2008. Vol. 1, n° 2, p. 167-174. DOI 10.3920/WMJ2008.x016.
- BRICKELL, C. et MIOULANE, P., 2015. *Le Grand Larousse des 15 000 plantes et fleurs de jardin*. Larousse. S.I. : Larousse. Grand Larousse. ISBN 978-2-03-591963-2.
- CAVARD-VIBERT, P. et VERNIN, X., 2016. Analyse du marché et perception de la distribution de l'ail : état des lieux de la filière ail française, facteurs de compétitivité et organisation. In : *CTIFL - les études économiques*. 2016. p. 1-108.
- CENTRE DE FORMATION ET RÉFÉRENCE POUR LE CONTRÔLE DES ALIMENTS ET DES PESTICIDES et ORGANISATION DES NATIONS UNIES POUR L'ALIMENTATION ET L'AGRICULTURE, 2003. *Manuel sur l'application du Système de l'analyse des risques - points critiques pour leur maîtrise (HACCP) pour la prévention et le contrôle des mycotoxines*. Rome : Agence internationale de l'énergie atomique, Organisation des Nations unies pour l'alimentation et l'agriculture. ISBN 978-92-5-204611-0. Disponible à l'adresse : <http://www.fao.org/docrep/005/y1390f/y1390f00.htm#Contents>.
- CHEVALLIER, A., 2013. *Larousse des plantes médicinales*. Larousse. Paris : Larousse. ISBN 978-2-03-587903-5.
- COMITÉ DU CODEX SUR LES FRUITS ET LÉGUMES FRAIS, 2014. *Programme mixte FAO/OMS sur les normes alimentaires, comité du Codex sur les fruits et légumes frais : propositions de nouveaux travaux sur une norme codex pour les aulx*. Document de projet. Phuket, Thaïlande. FAO & OMS. Disponible à l'adresse : ftp://ftp.fao.org/codex/meetings/ccffv/ccffv18/ff18_10_add1f.pdf.

COUTIN, R., 1962. Les principales cécidomyies nuisibles, leurs caractères morphologiques, les difficultés de leur détermination. In : *Phytoma*. 1962. Vol. 136, p. 15-22.

DELGADO-ORTIZ, J. C., OCHOA-FUENTES, Y. M., CERNA-CHÁVEZ, E., BELTRÁN-BEACHE, M., RODRÍGUEZ-GUERRA, R., AGUIRRE-URIBE, L. A. et VÁZQUEZ-MARTÍNEZ, O., 2016. Patogenicidad de especies de *Fusarium* asociadas a la pudrición basal del ajo en el centro norte de México. In : *Revista Argentina de Microbiología*. 2016. Vol. 48, n° 3, p. 222-228. DOI 10.1016/j.ram.2016.04.003.

DILL-MACKY, R. et JONES, R. K., 2000. The effect of previous crop residues and tillage on Fusarium head blight of wheat. In : *Plant disease*. 2000. Vol. 84, n° 1, p. 71-76. DOI 10.1094/PDIS.2000.84.1.71.

DUGAN, F. M., HELLIER, B. C. et LUPIEN, S. L., 2003. First report of *Fusarium proliferatum* causing rot of garlic bulbs in North America. In : *Plant Pathology*. 2003. Vol. 52, n° 3, p. 426-426. DOI 10.1046/j.1365-3059.2003.00852.x.

DUGAN, F. M., HELLIER, B. C. et LUPIEN, S. L., 2007. Pathogenic fungi in garlic seed cloves from the United States and China, and efficacy of fungicides against pathogens in garlic germplasm in Washington state. In : *Journal of Phytopathology*. 2007. Vol. 155, n° 7-8, p. 437-445. DOI 10.1111/j.1439-0434.2007.01255.x.

ERARD, P., RAYNAL, C. et VILLENEUVE, F., 2014. Les problèmes de pourritures et de Waxy breakdown sur ail. In : *International Garlic Congress*. Madrid (Spain). 2014.

FRAVEL, D., OLIVAIN, C. et ALABOUVETTE, C., 2003. *Fusarium oxysporum* and its biocontrol. In : *New Phytologist*. 2003. Vol. 157, n° 3, p. 493-502. DOI 10.1046/j.1469-8137.2003.00700.x.

FREMY, J. M., BUREL, C., DRAGACCI, S., ETIENNE, M., GROSJEAN, F., JOUANY, J. P., GALTIER, P., GUERRE, P., LE BIZEC, B., LEBLANC, J. C., PARAGON, B. M., PARENT-MASSIN, D., OSWALD, I., THOUVENOT, D. et TARD, A., 2009. *Évaluation des risques liés à la présence de mycotoxines dans les chaînes alimentaires humaine et animale*. S.I. Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments (AFSSA). Disponible à l'adresse : <https://www.anses.fr/fr/system/files/RCCP-Ra-Mycotoxines2009.pdf>.

GAGNÉ, Raymond J., 2010. Update for a catalog of the *Cecidomyiidae* (Diptera) of the world. In : 2010. p. 1-5,159.

HUNYADI, H., 2016. Gestion d'un nouveau pathogène. La fusariose de l'ail (*Allium sativum*) : mieux connaître la maladie pour établir une lutte efficace. In : 2016. p. 1-84.

IGNJATOV, M, BJELIĆ, D., NIKOLIĆ, Z., MILOŠEVIĆ, D., GVOZDANOVIĆ-VARGA, J., MARINKOVIC, J. et IVANOVIĆ, Ž., 2017. First report of *Fusarium acuminatum* causing garlic bulb rot in Serbia. In : *Plant Disease*. 2017. DOI 10.1094/PDIS-11-16-1625-PDN.

IGNJATOV, M., MILOŠEVIĆ, D., NIKOLIĆ, Z., GVOZDANOVIĆ-VARGA, J., TATIĆ, M., POPOVIĆ, T. et IVANOVIĆ, ž., 2017. First report of *Fusarium tricinctum* causing rot of garlic bulbs in Serbia. In : *Plant Disease*. 2017. Vol. 101, n° 2, p. 382-382. DOI 10.1094/PDIS-09-16-1333-PDN.

KHAN, I. A., ALAM, S. S. et JABBAR, A., 2001. Standardization of medium for the production of maximum phytotoxic activity by *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris*. In : *Pakistan Journal of Biological Sciences*. 2001. Vol. 4, n° 11, p. 1374-1376. DOI 10.3923/pjbs.2001.1374.1376.

- KOLEVA, K., 2004. Variety of species and spread of fungi of genus *Fusarium* related to rotting of garlic. In : *Bulgarian Journal of Agricultural Science*. 2004. Vol. 10, n° 2, p. 177-180.
- LAWSON, L. et HUGHES, B., 1992. Characterization of the formation of allicin and other thiosulfinates from garlic. In : *Planta Medica*. 1992. Vol. 58, n° 04, p. 345-350. DOI 10.1055/s-2006-961482.
- LESLIE, J. F., ANDERSON, L. L., BOWDEN, R. L. et LEE, YW, 2007. Inter- and intra-specific genetic variation in *Fusarium*. In : *International Journal of Food Microbiology*. 2007. Vol. 119, n° 1-2, p. 25-32. DOI 10.1016/j.ijfoodmicro.2007.07.059.
- LEW, H, ADLER, A et EDINGER, W, 1991. Moniliformin and the European Corn Borer (*Ostrinia nubilalis*). In : *Mycotoxin Research*. 1991. Vol. 7, n° S1, p. 71-76. DOI 10.1007/BF03192189.
- MAHMOUD, M. A. et SHEHATA, S. M., 2017. Molecular identification and characterization of *Fusarium* spp. associated with wheat grains. In : *Int. J. Adv. Res. Biol. Sci*. 2017. Vol. 4, n° 4, p. 77–87. DOI 10.2 2192 /ijarbs.
- MARIN, S., SANCHIS, V. et MAGAN, N., 1995. Water activity, temperature, and pH effects on growth of *Fusarium moniliforme* and *Fusarium proliferatum* isolates from maize. In : *Canadian Journal of Microbiology*. 1995. Vol. 41, n° 12, p. 1063-1070. DOI 10.1139/m95-149.
- MAROTO I BORREGO, J. V. et BAIXAULI SORIA, C., 2017. *Cultivos hortícolas al aire libre*. Almería : Cajamar Caja Rural. Agricultura, 13. ISBN 978-84-95531-82-7.
- MECHTA, N. et TASSADIT, A., 2015. *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis* : effets du milieu de culture sur la croissance mycélienne, la sporulation et la production de l'acide fusarique. In : *Algerian journal of arid environment*. 2015. Vol. 5, n° 2, p. 82-90.
- MERCIER-FICHAUX, B., 2016. L'ail un alicament qui a du piquant! In : *Phytothérapie*. 2016. Vol. 14, n° 3, p. 176-180. DOI 10.1007/s10298-016-1046-3.
- MOHARAM, M. H. A., FARRAG, E. S. H. et MOHAMED, M. D. A., 2013. Pathogenic fungi in garlic seed cloves and first report of *Fusarium proliferatum* causing cloves rot of stored bulbs in upper Egypt. In : *Archives Of Phytopathology And Plant Protection*. 2013. Vol. 46, n° 17, p. 2096-2103. DOI 10.1080/03235408.2013.785122.
- MONGRAIN, D, COUTURE, L et COMEAU, A, 2000. Natural occurrence of *Fusarium graminearum* on adult wheat midge and transmission to wheat spikes. In : *Cereal Research Communications*. 2000. Vol. 28, n° 1/2, p. 173-180.
- OCHOA-FUENTES, Y. M., CERNA CHÁVEZ, E., GALLEGOS MORALES, G., LANDEROS FLORES, J., DELGADO ORTIZ, J. C., HERNÁNDEZ CAMACHO, S., RODRÍGUEZ GUERRA, R. et OLALDE PORTUGAL, V., 2012. Identificación de especies de *Fusarium* en semilla de ajo en Aguascalientes, México. In : *Revista mexicana de micología*. 2012. Vol. 36, p. 27–32.
- OCHOA-FUENTES, Y. M., DELGADO ORTIZ, J. C., CHÁVEZ, E. C., CASTILLO, F. D. H., OLIVAS, A. F., MORALES, G. G., MARTÍNEZ, O. V. et GUERRA, R. R., 2013. The first report of *Fusarium proliferatum* causing garlic bulb rots in Mexico. In : *African Journal of Agricultural Research*. 2013. Vol. 8, n° 6, p. 570–573. DOI 10.5897/AJAR12.1726.

- PALMERO, D., DE CARA, M., IGLESIAS, C., MORENO, M. M., GONZÁLEZ, N. et TELLO, J. C., 2010. First report of *Fusarium proliferatum* causing rot of garlic bulbs in Spain. In : *Plant Disease*. 2010. Vol. 94, n° 2, p. 277-277. DOI 10.1094/PDIS-94-2-0277C.
- PALMERO, D., DE CARA, M., NOSIR, W., GÁLVEZ, L., CRUZ, A., WOODWARD, S., GONZÁLEZ-JAÉN, M. T. et TELLO, J. C., 2012. *Fusarium proliferatum* isolated from garlic in Spain: Identification, toxigenic potential and pathogenicity on related *Allium* species. In : *Phytopathologia Mediterranea*. 2012. p. 207–218.
- PETIT-BLANC, G., 2017. *La production d'ail en France*. 2017. S.l. : Groupement National Interprofessionnel des Semences et plants (GNIS).
- QUESADA-OCAMPO, L. M., BUTLER, S., WITHERS, S. et IVORS, K., 2014. First report of *Fusarium* rot of garlic bulbs caused by *Fusarium proliferatum* in North Carolina. In : *Plant Disease*. 2014. Vol. 98, n° 7, p. 1009-1009. DOI 10.1094/PDIS-01-14-0040-PDN.
- RUBATZKY, Vincent E. et YAMAGUCHI, Mas, 1997. *World vegetables: principles, production, and nutritive values*. 2, illustrée. S.l. : Springer-science & Business media, B. V. ISBN 1-4615-6015-2.
- SALVALAGGIO, A. E. et RIDAO, A. del C., 2013. First report of *Fusarium proliferatum* causing rot on garlic and onion in Argentina. In : *Plant Disease*. 2013. Vol. 97, n° 4, p. 556-556. DOI 10.1094/PDIS-05-12-0507-PDN.
- SANKAR, N. R. et BABU, G. P., 2012. First report of *Fusarium proliferatum* causing rot of garlic bulbs (*Allium sativum* L.) in India. In : *Plant Disease*. 2012. Vol. 96, n° 2, p. 290-290. DOI 10.1094/PDIS-08-11-0649.
- SOBEK, E. A. et MUNKVOLD, G. P., 1999. European Corn Borer (*Lepidoptera: Pyralidae*) Larvae as Vectors of *Fusarium moniliforme*, Causing Kernel Rot and Symptomless Infection of Maize Kernels. In : *Journal of Economic Entomology*. 1999. Vol. 92, n° 3, p. 503-509. DOI 10.1093/jee/92.3.503.
- STANKOVIĆ, S., LEVIC, J., PETROVIC, T., LOGRIECO, A. et MORETTI, A., 2007. Pathogenicity and mycotoxin production by *Fusarium proliferatum* isolated from onion and garlic in Serbia. In : *European Journal of Plant Pathology*. 2007. Vol. 118, n° 2, p. 165-172. DOI 10.1007/s10658-007-9126-8.
- STAVĚLÍKOVÁ, H., 2008. Morphological characteristics of garlic (*Allium sativum* L.) genetic resources collection - information. In : *Hort. SCI. (Prague)*. 2008. Vol. 35, n° 3, p. 130-135.
- STĘPIEŃ, Ł., KOCZYK, G. et WAŚKIEWICZ, A., 2011. Genetic and phenotypic variation of *Fusarium proliferatum* isolates from different host species. In : *Journal of Applied Genetics*. 2011. Vol. 52, n° 4, p. 487-496. DOI 10.1007/s13353-011-0059-8.
- SUMMERELL, B. A., LAURENCE, M. H., LIEW, E. C. Y. et LESLIE, J. F., 2010. Biogeography and phylogeography of *Fusarium*: a review. In : *Fungal Diversity*. 2010. Vol. 44, n° 1, p. 3-13. DOI 10.1007/s13225-010-0060-2.
- SUMMERELL, B. A., SALLEH, B. et LESLIE, J. F., 2003. A utilitarian approach to *Fusarium* identification. In : *Plant Disease*. 2003. Vol. Février 2003, n° D-2002-1206-01F, p. 117-128.
- SUSAN, B., 2008. *Fusarium* rot of garlic bulbs. In : *OSU Plant Clinic, Corvallis (USA) : Oregon State University*. 2008. 3 p.

- TOIT, L. J., INGLIS, D. A. et PELTER, G. Q., 2003. *Fusarium proliferatum* pathogenic on onion bulbs in Washington. In : *Plant Disease*. 2003. Vol. 87, n° 6, p. 750-750. DOI 10.1094/PDIS.2003.87.6.750A.
- TONTI, S., MANDRIOLI, M., NIPOTI, P., PISI, A., TOSCHI, T. G. et PRODI, A., 2017. Detection of fumonisins in fresh and dehydrated commercial garlic. In : *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2017. DOI 10.1021/acs.jafc.7b02758.
- TONTI, S., PRÀ, M., NIPOTI, P., PRODI, A. et ALBERTI, I., 2012. First report of *Fusarium proliferatum* causing rot of stored garlic bulbs (*Allium sativum* L.) in Italy. In : *Journal of Phytopathology*. 2012. Vol. 160, n° 11-12, p. 761-763. DOI 10.1111/jph.12018.
- TRAIL, F., 2009. For blighted waves of grain: *Fusarium graminearum* in the postgenomics era. In : *Plant Physiology*. 2009. Vol. 149, n° 1, p. 103-110. DOI 10.1104/pp.108.129684.
- TRICARD, A., 2016. Ail semence, des pistes pour améliorer la qualité sanitaire. In : *Bulletin semences*. 2016. Vol. Janvier-Février 2016, n° 247, p. 36-38.
- UGLIERA, C., 2017. *Campagne 2016 de l'ail français*. 2017. S.l. : FranceAgriMer ; RNM de Toulouse.
- VERNIN, X. et CAVARD-VIBERT, P., 2016. Production et mise en marché de l'ail en France - perception et attentes des opérateurs (1ère partie). In : *Infos CTIFL*. 2016. Vol. Novembre-Décembre 2016, n° 326, p. 32-37.
- VILLENEUVE, F. et LATOUR, F., 2017. Les fusarioses de l'ail : première approche de la situation chez les producteurs. In : *Rencontres techniques phytosanitaires légumes et fraise Ctifl / DGAL-SDQSPV*. Balandran. 2017.
- WEST, J. S., CANNING, G. M., PERRYMAN, S. A. et KING, K., 2017. Novel technologies for the detection of *Fusarium* head blight disease and airborne inoculum. In : *Tropical Plant Pathology*. 2017. DOI 10.1007/s40858-017-0138-4.

SITOGRAPHIE

- [1] MILCENT JP., 2011. Tela Botanica, fiche plantes, *Allium sativum* L. (consulté le 03/06/2017) <http://www.tela-botanica.org/bdtfx-nn-3195-synthese>
- [2] CHEPKEMOI J., 2017. Worldatlas, (consulté le 21/05/2017) <http://www.worldatlas.com/articles/the-top-garlic-producing-countries-in-the-world.html>
- [3] ANIAIL (Association Nationale Interprofessionnelle de l'AIL), 2017 (consulté le 20/05/2017) <http://www.ail-de-caractere.fr/>
- [4] Université de Bretagne Occidentale (consulté le 24/03/2017) http://www.univ-brest.fr/esiabscientifique/Mycologie/Principaux_groupes/Les+Fusarium

AGROCAMPUS
OUEST

- CFR Angers
 CFR Rennes



prosemail



INRA
SCIENCE & IMPACT



Année universitaire : 2016 - 2017

Spécialité : Horticulture

Spécialisation : Fruits et Légumes,
Alimentation et Marchés (FLAM)

Mémoire de fin d'études

- d'Ingénieur de l'Institut Supérieur des Sciences agronomiques, agroalimentaires, horticoles et du paysage
- de Master de l'Institut Supérieur des Sciences agronomiques, agroalimentaires, horticoles et du paysage
- d'un autre établissement (étudiant arrivé en M2)

Les premiers pas vers l'étiologie et l'épidémiologie
d'une maladie multifactorielle et en expansion :
la fusariose de l'ail (*Allium sativum* L.)

ANNEXES

Par : Pierrick RICARD



Soutenu à Angers le 8 septembre 2017

Devant le jury composé de :

Président : Emmanuel GEOFFRIAU

Maître de stage : Louis-Marie BROUCQSAULT

Enseignant référent : Valérie LE CLERC

Autres membres du jury :

Anne-Laure BOUTIGNY, chargée de projets
scientifiques et techniques, ANSES

Les analyses et les conclusions de ce travail d'étudiant n'engagent que la responsabilité de son auteur et non celle d'AGROCAMPUS OUEST

Annexe I : Les différentes variétés d'ail proposées pour le marché amateur en France
 (source : <http://plant-certifie-ail.org/pages/fichesvar.php>)

Types d'ail	Variétés
Violet d'automne	GERMIDOUR
	PARADOUR
	PRIMOR
	SPRINT
	VALDOUR
	VAYO
Blanc d'automne	CORAIL
	DARIO
	JOLIMONT
	MESSIDOR
	MESSIDRÔME
	SABADRÔME
	SABAGOLD
	THERADOR
	THERMIDRÔME
	TOPADRÔME
Rose avec bâton	EDENROSE
	GOULUROSE
	IBEROSE
	JARDIROSE
	SULTOP
Rose sans bâton	ARNO
	CLEDOR
	CRISTO
	FLAVOR
	FRUCTIDOR
	GAYANT
	MOULINOR
	PRINTADOR
	VIVALTO

**REGLEMENT TECHNIQUE ANNEXE
DE LA PRODUCTION ET DU CONTROLE
DES PLANTS CERTIFIES
D'AIL**

Homologué par l'arrêté du 19 septembre 2008 – J.O. du 1^{er} octobre 2008

1 - CHAMP D'APPLICATION

La production, le contrôle et la certification des plants d'ail sont organisés en application des dispositions du règlement technique général de la production, du contrôle et de la certification, relatif à la certification des plants, du présent règlement technique annexe, et des circulaires d'application émanant du Service Officiel de Contrôle et de Certification (SOC).

Les plants d'ail certifiés doivent également répondre aux dispositions des textes suivants comprenant, entre autres, les textes réglementaires concernant les prescriptions en matière de qualité communautaire (qualité CE) :

- décret n° 94-510 du 23 juin 1994 relatif à la commercialisation, des jeunes plants de légumes, des plantes fruitières et des matériels de multiplication de toutes ces plantes, modifié par le décret n°2000-1165 du 27 novembre 2000 relatif à la commercialisation des matériels de multiplication des plantes ornementales, et modifiant le décret n° 81-605 du 18 mai 1981 pris pour l'application de la loi du 1er août 1905 sur la répression des fraudes en ce qui concerne le commerce des semences et plants,
- arrêté interministériel du 17 octobre 1984 modifié par l'arrêté du 1er décembre 1994 relatif à la commercialisation des plants de légumes,
- arrêté du 1^{er} décembre 1994 relatif à l'étiquetage des plantes et des matériels de multiplication visés par le décret n° 94-510 du 23 juin 1994 relatif à la commercialisation, des jeunes plants de légumes, des plantes fruitières et des matériels de multiplication de toutes ces plantes, modifié par le décret n°2000-1165 du 27 novembre 2000 relatif à la commercialisation des matériels de multiplication des plantes ornementales,
- arrêté du 6 novembre 1995 homologuant le règlement technique général du contrôle de la production et de la commercialisation des plants de légumes et de leur matériel de multiplication à l'exception des semences,
- arrêté du 12 décembre 1997 homologuant le règlement technique annexe du contrôle de la production des plants de légumes à multiplication végétative (Qualité CE).

2 - DEFINITIONS

Plants : Bulbes et caïeux utilisés en vue de leur multiplication par voie végétative.

Rubrique 1 : Rubrique regroupant les variétés sensibles aux virus, qui ont fait l'objet d'une sélection ou régénération vis à vis des deux virus (OYDV et LYSV) et sont contrôlées pour ces virus.

Rubrique 2 : Rubrique regroupant les variétés tolérantes ou immunes aux virus pour lesquelles seuls les symptômes graves de type mosaïque sont contrôlés.

Rubrique 3 : Rubrique regroupant les deux sortes de variétés (sensibles et tolérantes). La caractérisation de cette rubrique se fait au niveau du type de contrôle appliqué aux générations :

- les générations des plants de pré-base et de base sont contrôlées et certifiées selon les règles et normes applicables à la rubrique 1
- la génération certifiée est contrôlée et certifiée selon les règles et normes applicables à la rubrique 2.

Petits emballages : les conditionnements jusqu'à 1 kilo compris ou 25 bulbes.

Définition du lot : le lot est le produit d'une parcelle implantée avec des plants de la même variété. Le poids maximal est de 100 tonnes.

3 - ADMISSION AU CONTROLE

3.1. Catégories d'admission

Les admissions au contrôle peuvent être prononcées séparément ou simultanément pour les catégories ci-après :

- établissements producteurs de plants de pré-base, de base, de certifiés
- établissements reconditionneurs

3.2. Critères particuliers d'admission

3.2.1 Critères communs à tous les établissements producteurs

Pour être admis au contrôle, l'établissement s'engage à ce que l'agriculteur multiplicateur ne produise pas sur la même exploitation de l'ail non contrôlé sauf dérogation accordée par le SOC. La dérogation est annuelle et doit être demandée par courrier avant la plantation.

D'autre part, il s'engage à :

- produire dans une aire géographique favorable à la sélection sanitaire des plantes du genre *allium*.
- produire en utilisant des moyens de protection sanitaire adaptés,
- disposer chaque année et totalement, selon la catégorie d'admission de matériel de départ, de matériel de pré-base et/ou de base.

3.2.2 Critère particulier aux établissements producteurs de plants de prébase et de base

Sauf dérogation accordée par le SOC, pour être admis au contrôle pour la production de plants de prébase et de base, l'établissement devra avoir produit des plants certifiés pendant au moins deux ans avec des résultats satisfaisants.

4 – ORGANISATION DE LA PRODUCTION

4.1. Schéma de multiplication

Matériel FO et F1 = Matériel de départ

Matériel F2, F3, F4 = Plants de

prébase Matériel F5 = Plants de base

Matériel F6 = Plants certifiés.

4.2. Conditions de production

4.2.1 Responsabilité du mainteneur

Le mainteneur doit fournir un matériel de départ conforme à la variété telle qu'elle a été décrite par le CTPS lors de son inscription au Catalogue Officiel.

4.2.2 Catégories de plants FO, F1, F2

Ce matériel est produit sous la responsabilité du mainteneur dans une structure agréée par le SOC, disposant d'installations et d'équipements permettant d'éviter les contaminations dues aux parasites listés ci-dessous.

Ce matériel doit être produit selon les méthodes généralement admises en vue du maintien de l'identité et de la pureté de la variété, ainsi qu'en vue de la prévention des maladies.

Il doit être indemne, notamment de pourriture blanche et de nématodes des bulbes et des tiges (*Ditylenchus dipsaci*), ainsi que des maladies dues aux virus OYDV et LYSV lorsqu'il s'agit d'une variété ou d'une génération inscrite à la rubrique 1 de la liste des variétés tenues par le SOC. Il est de la responsabilité du mainteneur de contrôler la qualité sanitaire de ce matériel.

La présence d'une plante non conforme dans une lignée F1 entraîne l'élimination de la lignée. Toute famille aberrante ou douteuse est éliminée.

Le matériel de départ, prélevé dans les lignées F1, est constitué par un minimum de 100 bulbes. Les bulbes sont groupés par lignées d'origine.

F1 : Les caïeux issus de chaque bulbe FO sont plantés en lignes et forment les lignées F1.

F2 : Les caïeux provenant des bulbes F1 sont plantés en lignes et forment les familles F2.

4.2.3 Catégories de plants F3, F4, F5, F6

F3 : Les caïeux issus des bulbes F2 sont plantés en lignées et forment les familles F3.

F4 : Les caïeux issus des bulbes F3 sont plantés famille par famille.

F5 : Les plants sont issus en une seule génération de la F4 ou de générations antérieures

F6 : Les plants sont issus en une seule génération de la F5 ou de générations antérieures.

5 – REGLES DE CULTURES

5.1. Choix des parcelles

Les conditions agronomiques et environnementales sont prises en considération pour le choix des parcelles. L'absence de nématodes pathogènes doit, en cas de doute, être vérifiée par des analyses de terre dont le résultat sera communiqué au SOC.

5.2. Rotation des cultures

Les champs de production ne doivent pas avoir porté de cultures de plantes du genre *Allium* depuis au moins 5 ans, sauf dérogation accordée par le SOC.

5.3. Isolement

5.3.1 Plants de prébase et de base

Sauf dans le cas d'une protection efficace de type insect-proof, les parcelles sont séparées de toute autre culture d'*Allium* par une distance d'au moins :

- 300 m, lorsqu'il s'agit d'une variété ou d'une génération inscrite à la rubrique 1
- 100 m lorsqu'il s'agit d'une variété ou d'une génération inscrite à la rubrique 2.

L'isolement des variétés est matérialisé dans le champ de production.

5.3.2 Plants certifiés

Sauf dans le cas d'une protection efficace de type insect-proof, les champs de production de plants certifiés sont isolés de toute culture d'*Allium* par une distance d'au moins :

- 100 m lorsqu'il s'agit d'une variété ou d'une génération inscrite à la rubrique 1
- 10 m lorsqu'il s'agit d'une variété ou d'une génération inscrite à la rubrique 2.

L'isolement des variétés est matérialisé dans le champ de production

5.4. Pancartage

Les parcelles sont identifiées dès le début de la végétation, par un dispositif mentionnant soit les noms de l'agriculteur multiplicateur et de l'établissement ainsi que l'indication de la variété et celle de la surface de la parcelle, soit le numéro de la déclaration de culture.

5.5. Epuration sanitaire et variétale

Ces épurations sont réalisées sous la responsabilité de l'agriculteur multiplicateur. Elles sont obligatoires depuis le début de la végétation jusqu'à la récolte et doivent être effectuées le plus tôt possible dès l'apparition des symptômes.

Elle consiste dans l'arrachage des plantes chétives, anormales, aberrantes, des plantes non conformes à la variété et des plantes atteintes de pourriture blanche. La zone atteinte de pourriture blanche est éliminée ainsi que le pourtour de cette zone.

Lorsqu'il s'agit d'une variété ou d'une génération inscrite à la rubrique 1, les plantes atteintes de symptômes dus à OYDV et LYDV doivent être éliminées dès l'apparition des symptômes. L'arrachage doit être complet. Les plantes épurées doivent être éloignées de la parcelle et détruites.

5.6. Etat cultural

Il doit permettre d'assurer correctement la notation. Le mauvais état cultural d'un champ est une cause de refus ou de déclassement.

6 - CONTROLE DES CULTURES ET DES LOTS

Le contrôle des cultures et des lots s'exerce à tous les stades de la production, de la conservation, du conditionnement, du transport et de la commercialisation.

6.1. Cultures

6.1.1 Déclaration

Chaque campagne, avant le 1er janvier pour les parcelles mises en place avant cette date, et avant le 15 avril pour les cultures mises en place au printemps, les personnes physiques ou morales admises au contrôle font parvenir au S.O.C. des déclarations de culture sur des formulaires délivrés à cet effet.

6.1.2 Notation

Tout au long de la végétation, les parcelles de multiplication sont placées sous la surveillance d'un technicien agréé par le SOC. Toutes les cultures font l'objet de plusieurs visites à l'issue desquelles le technicien doit adresser au Service Régional du S.O.C. le résumé des notations effectuées. Celui-ci est porté sur un document prévu à cet effet.

Lors de la première visite, sont vérifiées les conditions d'implantation, l'isolement, l'état de la culture.

L'évaluation du rendement est estimée et indiquée lors de la dernière visite avant la récolte, ainsi que le pourcentage des plantes épurées par l'agriculteur aux différents stades végétatifs.

Ces contrôles sont basés sur l'observation visuelle, selon une méthode de comptage précisée par le SOC, et si nécessaire, complétés par des examens pratiqués par des laboratoires désignés par le SOC.

6.1.3 Contrôle de la notation des cultures

Le SOC exerce un contrôle par sondage afin de s'assurer que les notations portées sur la fiche de notation, par le technicien agréé, ont été effectuées conformément aux instructions données, et que les cultures satisfont aux règles définies dans ce présent règlement.

6.1.4 Conformité des cultures

L'inspecteur du SOC ou le technicien agréé par le SOC évalue la conformité de la culture à l'issue des visites d'inspection requises et reporte le résultat de l'inspection sur la fiche d'inspection.

La décision de conformité est prise au vu des résultats des inspections officielles et/ou au vu des inspections réalisées sous contrôle officiel.

Le SOC notifie à l'entreprise les décisions de conformité enregistrée sous la forme d'un état récapitulatif de classement des cultures. Dans le cas d'un refus, l'agriculteur multiplicateur en est informé par le formulaire « avis de notation ». Dans le cas de culture d'entreprise, celle-ci en est informée par le formulaire « fiche de notation ».

Les cultures sont conformes lorsqu'elles répondent aux normes précisées au chapitre 7.

Le SOC peut considérer certaines cultures comme étant « à risques ». Dans ce cas, la récolte issue de ces cultures est bloquée et ne pourra être déclarée conforme, selon les normes définies au chapitre 7, qu'à l'issue de l'obtention des résultats des contrôles pratiqués sur les échantillons prélevés sur ces cultures.

6.1.5 Contrôles a posteriori

Ces contrôles sont réalisés sur des échantillons prélevés par sondage, sous contrôle du SOC, lors de la récolte. Ces échantillons sont soumis à un contrôle principalement sanitaire et variétal.

Ils sont mis en essais ou analysés dans des centres d'essais ou laboratoires désignés par le SOC.

Les résultats sont comparés aux normes précisées au chapitre 7.

Les résultats de ces contrôles peuvent, dans certains cas, confirmer ou non la conformité d'un lot

6.1.6 Contrôles sous la responsabilité de l'établissement.

L'établissement met en place chaque année un champ de vérification, de l'état sanitaire, variétal et de la faculté de reprise de sa production. Tous les lots sortant d'une exploitation doivent être contrôlés selon un protocole précisé ou agréé par le SOC.

L'établissement prévoit chaque année un contrôle nématologique. Le technicien agréé prélève des échantillons en fin de végétation sur les parcelles de multiplication, selon un protocole agréé par le SOC, afin de procéder à des analyses nématologiques.

Les échantillons sont adressés à des laboratoires désignés par le SOC. Les résultats sont transmis au SOC.

Le résultat positif entraîne :

- soit la décision de non-conformité de la parcelle,
- soit la possibilité, dans certains cas, de traiter par thérapie le produit de la parcelle. L'efficacité du traitement sera alors vérifiée par le SOC.

6.1.7 Identification des lots.

Dès la récolte, au cours de leur transport et de leur conditionnement, les lots de toutes les catégories doivent être identifiables par le numéro de lot.

6.2. Contrôle des lots

Le contrôle des lots consiste à s'assurer :

- des bonnes conditions d'aménagement des magasins,
- de la désinfection des installations et du matériel,
- de la bonne conservation des plants,
- de l'identification des lots,
- du respect des règles et normes sur lot.

Le SOC peut soumettre les lots à des contrôles et à des tests complémentaires, permettant de vérifier leur qualité sanitaire, variétale et physiologique. Les résultats

enregistrés permettent à tout moment de modifier la décision de conformité et éventuellement de retirer les certificats ou vignettes des lots ne répondant pas aux normes, quel que soit le lieu où se trouvent ces lots.

6.2.1 Plants de prébase

Chaque lot de plants de prébase est le produit d'une seule parcelle. Ce lot est identifié par un numéro qui est indiqué sur la déclaration de culture et reste affecté au lot après conditionnement.

Les mélanges de lots de prébase sont interdits.

6.2.2 Plants de base

Chaque lot de plants de base est le produit d'une seule parcelle. Ce lot est identifié par un numéro qui est indiqué sur la déclaration de culture et reste affecté au lot après conditionnement.

Dans un établissement, le produit de plusieurs parcelles peut être mélangé sous réserve qu'elles aient été plantées avec des plants de prébase de même origine, et qu'elles aient subies les mêmes conditions culturales.

Dans ce cas, l'établissement doit déclarer au S.O.C quelles sont les parcelles dont le produit est mélangé, en indiquant les numéros portés sur la déclaration de culture de chacune des parcelles, et préciser le numéro définitivement affecté au lot.

En outre, si le produit d'une parcelle constituant le lot est déclaré non conforme à l'issue des contrôles a posteriori ou analyses, c'est l'ensemble du lot qui est déclaré non conforme.

6.2.3 Plants certifiés

Chaque lot est le produit d'une seule parcelle. Il est identifié par le numéro qui est indiqué sur la déclaration de culture et reste affecté au lot après conditionnement.

Dans un établissement le produit de plusieurs parcelles peut être mélangé sous réserve qu'elles aient été plantées avec des plants de base de même origine. Dans ce cas, l'établissement doit déclarer au S.O.C quelles sont les parcelles dont le produit est mélangé, en indiquant les numéros portés sur la déclaration de culture de chacune des parcelles, et préciser le numéro définitivement affecté au lot.

En outre, si le produit d'une parcelle constituant le lot est déclaré non conforme à l'issue des contrôles a posteriori ou analyses, c'est l'ensemble du lot qui est déclaré non conforme.

7 - REGLES ET NORMES

7.1. Normes applicables au classement des parcelles

Les parcelles de production doivent satisfaire aux règles et normes précisées dans le Règlement technique annexe du contrôle de la production des plants de légumes à multiplication végétative (qualité CE) ainsi qu'aux normes précisées ci-dessous.

7.1.1 Normes identité et pureté variétale

L'identité variétale doit être conforme à la variété indiquée sur l'étiquetage.

Pureté variétale : Tolérance pour plantes hors types ou non typiques de la variété :

- 0 % pour les plants de prébase et de base
- 1 % pour les plants certifiés

7.1.2 Normes sanitaires

Contrôle visuel des parcelles après épuration (analyses possibles en cas de doute).

Parasites	Pourcentage maximum (après épuration au champ)		
	FO, F1, F2	F3, F4, F5	Plants certifiés
Maladies virales de type « mosaïque » (1)	0	0,1%	1 %
Pourriture blanche <i>Sclerotium cepivorum</i>	0	0,1%	1 %
Nématode <i>Ditylenchus dipsaci</i>	0	0	0

- (1) Toute forme de symptômes de type « mosaïque » dus aux virus : OYDV et LYSV pour les variétés et les générations de la rubrique 1. Formes graves pour les variétés et les générations de la rubrique 2.

Les plants doivent de plus être, au moins par observation visuelle, essentiellement indemnes des autres organismes nuisibles « de qualité » et de leurs symptômes, cités dans le règlement technique annexe du contrôle de la production des plants de légumes à multiplication végétative.

7. 2. Normes sur lots

7.2.1 Faculté de reprise

Pourcentage minimum de levée : 85%

Ce pourcentage est estimé sur la base d'un contrôle officiel réalisé *a posteriori* et par sondage, et d'après les résultats provenant du champ de vérification *a posteriori* mis en place par le producteur selon un protocole transmis par le SOC.

7.2.2 Norme sur lot.

Les plants commercialisés ne doivent pas comporter plus de 5% en nombre, de plants présentant des dommages susceptibles de compromettre la reprise. De plus ces plants doivent être vendus pendant les périodes normales de plantation pour la variété concernée.

8 - CERTIFICATION

Les lots présentés à la certification doivent satisfaire à toutes les prescriptions du présent règlement, et notamment aux normes précisées au chapitre 7. Les certificats ou vignettes

et éventuellement les scellés, ne peuvent être apposés que sur les plants répondant aux normes définies dans ce règlement technique. L'apposition est effectuée sous le contrôle du SOC. Chaque emballage contenant les plants certifiés doit être muni d'un certificat ou vignette et éventuellement d'un scellé délivré par le SOC. La délivrance de ces documents est définie par le SOC avec chaque entreprise admise au contrôle. Le certificat doit être fixé de telle façon que soit assurée l'inviolabilité de l'emballage et que soit rendu impossible le remplacement du certificat par un autre certificat.

9 - ETIQUETAGE

L'étiquette commerciale, sur laquelle est apposée ou imprimée la vignette officielle, porte les mentions ci-après :

- nom (ou raison sociale) du fournisseur ou numéro conventionnel d'identification attribué par la DGCCRF.
- « Qualité communautaire » ou « qualité CE »
- nom botanique ou commun de l'espèce
- nom de la variété tels qu'ils figurent au catalogue officiel des espèces et variétés

D'autre part, le numéro du lot de plants doit être tenu à la disposition du SOC.

Les mentions apposées sur **les vignettes** du soc sont les suivantes :

- « Plants certifiés »,
- « SOC »,
- « France »,
- Quantité en nombre ou en poids net,
- Le numéro de la vignette,

10 - DISPOSITIONS PARTICULIERES APPLICABLES AUX RECONDITIONNEURS

Les plants reconditionnés doivent répondre à toutes les prescriptions du présent règlement technique.

Les établissements désirant reconditionner des plants en petits emballages adressent au SOC une demande d'enregistrement dans la catégorie de « reconditionneur, ». Ils doivent tenir un registre sur lequel est consignée la quantité de plants certifiés reçue et vendue en petits emballages, tenir à la disposition du SOC les certificats d'origine et apposer des vignettes officielles selon les modalités précisées dans la circulaire d'application adressée par le SOC.

Annexe III : Liste des organismes nuisibles dits de qualité pour les plants d'ail et moyens de lutte (source : Tricard, 2016)

Organisme nuisible	Symptômes	Conditions de développement	Moyens de lutte
Nématodes, acariens et insectes			
Nématode des tiges et des bulbes <i>Ditylenchus dipsaci</i>	Pourriture rougeâtre/violacée Éclatement des bulbes	10 à 30°C (optimum 22°C) Printemps précoce et pluvieux Conservation sol : 5 ans	Rotations Désinfection de sol Thermothérapie Analyse nématologique à chaque génération en production de semences
Acarien : phytote de la tulipe <i>Aceria tulipae</i>	Feuilles rabougries tachetées de jaune Aspect voûté de la plante	1 femelle pond 3 à 25 œufs Incubation : 3 à 5 jours à 9°C Cycle complet de 8 à 10 jours	Traitement sur bulbes récoltés
Teigne du poireau <i>Acrolepia assectella</i>	Feuilles lacérées par des galeries creusées par les larves	14°C (cycle de 138 jours) à 27°C (cycle de 22 jours) -3 cycles dans le nord, 5 dans le sud	Piégeage des mâles pour l'avertissement agricole
Mouches <i>Delia spp</i> (ex : <i>Delia antiqua</i> , Mouches de l'oignon)	Lésions à la base des bulbes créées par les asticots <i>Delia antiqua</i> peut être accompagné d'asticots plus gros « Mouches des bulbes » (<i>Eumerus spp</i>)	Activité et ponte dès 10°C (optimum entre 15 et 25°C) 3 générations peuvent se succéder dans le nord de la France.	Traitement insecticide Un labour profond enfouissant les pupes à plus de 30 cm réduit leur éclosion
Thrips <i>Thysanoptera</i> (ex : <i>T. tabaci</i>)	Prolifération à l'aisselle des feuilles Jeunes feuilles d'un aspect strié gris-sale	Lors de température élevées Apparition en fin de végétation sur ail et échalote	Insecticides visant le cornet des feuilles Sur ail, un seul traitement est parfois réalisé
Pucerons	Malformation de croissances des nouveaux plants si colonie de pucerons sur les bulbes en fin de période de conservation	Lors d'hiver doux, maintien au champ Maintien des colonies sur les plantes de serre, les locaux de stockage ou dans les bulbes.	En général pas de lutte insecticide contre les pucerons
Bactériés			
Maladie café au lait <i>Pseudomonas fluorescens</i> dont la plus courante <i>P. solanumii</i>	Pourriture de consistance visqueuse et de couleur beige	Lors de printemps humide	Thermothérapie sur les lots de semence touchés

Virus et organismes similaires			
Tous et en particulier les virus (plusieurs espèces) de la bigarrure de l'oignon	Striation irrégulière vert-foncé/vert jaunâtre. Les feuilles gravement atteintes se déforment en s'inclinant vers le sol.	La contamination passe par les piqûres d'insectes (puceron <i>Myzus persicae</i>)	Organisation de la production de semences permettant de fournir des semences certifiées
Champignons			
Pourriture blanche <i>Sclerotium cepivorum</i>	Jaunissement et flétrissement des feuilles Développement d'un mycélium blanc sur les racines avec formation de sclérotés noirs Pourriture brune sur bulbes en stockage	Contamination par lessclérotés (jusqu'à 20 ans dans sol) Germination entre 14 et 18 °C dans un sol humide Développement dans la plante hôte entre 6 et 24 °C En stockage, progression du mycélium dans le bulbe par la base avec production de sclérotés. Prédominant sur ail planté au printemps	Rotation des cultures (5 ans sur parcelle non contaminée), 10 ans minimum en cas de contamination Traitement des caeux à la plantation Arrachage des plantes infectées
Brûlure de la feuille <i>Botrytis squamosa</i>	Développement des taches foliaires blanches surtout à l'extrémité des feuilles Sclérotés sur les gaines foliaires mortes et les bulbes	Infection favorisée en période humide autour de 18°C -Optimum de germination à 14°C -optimum de croissance du mycélium à 24°C	Traitement fongique
Pourriture grise <i>Botrytis alli</i>	Pourriture du sommet des bulbes aux tuniques Mycélium compact, ras et gris clair avec des sclérotés	Conservation par sclérotés et dans les bulbes contaminés	Thermothérapie Enrobage fongique avant plantation Séchage à l'air chaud à la récolte en conditions humides
Pourriture du col <i>Botrytis porri</i>	Attaque des gaines foliaires par un mycélium gris Pourrissement par le haut des bulbes avec sclérotés	Transmission par les caeux et attaque des jeunes plantes	
Autre botrytis <i>Botrytis byssoides</i>	Espèce produisant un mycélium et des sclérotés et aux dégâts analogue à <i>B. alli</i>		
Pourriture verte ou bleue <i>Penicillium corymbiferum</i> et <i>Penicillium cyclopium</i>	Pourriture verte sur caieu infesté Jaunissement du feuillage	Dès 5°C avec optimum thermique des <i>Penicillium</i> à 20-25°C	Traitement de semences
Rouille <i>Puccinia alli</i>	Apparition de pustules sur le feuillage jusqu'au dessèchement complet du feuillage	Dès début mai dans le Midi de la France Incubation de 20 jours à 15-20°C	Un programme de traitement fongique en culture

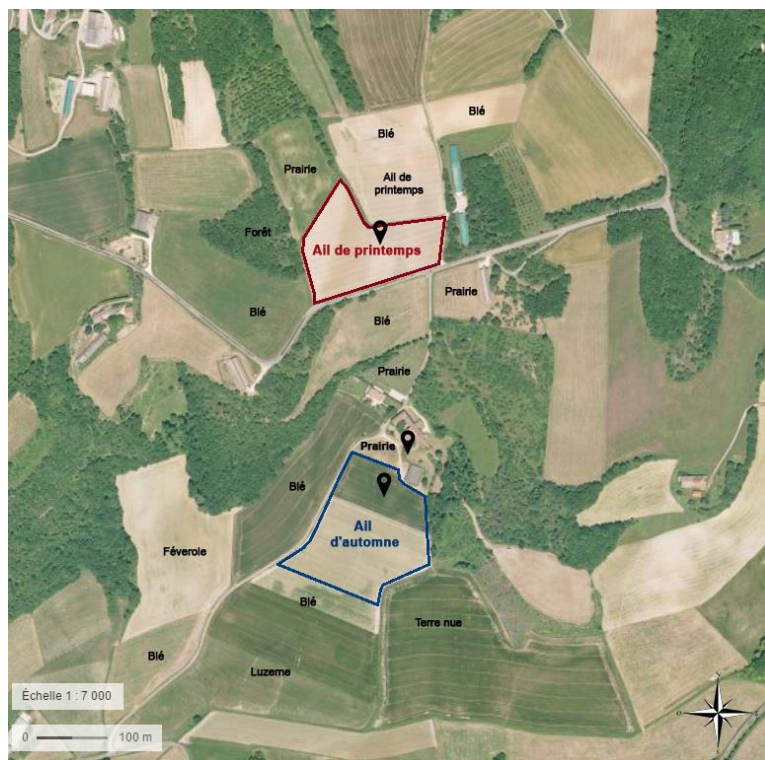
Annexe IV : Teneurs maximales autorisées en mycotoxines de type DON dans les denrées alimentaires exprimées en µg/kg (source : Freymy et al., 2009, p.124)

Denrées	Teneur maximale en µg/kg
Céréales brutes autres que le blé dur, l'avoine et le maïs	1 250
Blé dur et avoine bruts	1 750
Maïs brut à l'exception du maïs brut destiné à être transformé par mouture humide (*)	1 750
Céréales destinées à la consommation humaine directe, farine de céréales, son et germe en tant que produit fini commercialisé pour la consommation humaine directe, à l'exception des denrées alimentaires figurant aux points 7, 8 et 9	750
Pain (y compris les petits produits de boulangerie), pâtisseries, biscuits, collations aux céréales et céréales pour petit déjeuner	500
Pâtes (sèches)	750
Préparations à base de céréales et aliments pour bébés destinés aux nourrissons et enfants en bas âge	200
Fractions de mouture de maïs dont la taille des particules est > 500 microns auxquelles s'applique le code NC 1103 13 ou 1103 20 40 et autres produits de mouture de maïs dont la taille des particules est > 500 microns on destinés à la consommation humaine directe auxquelles s'applique le code NC 1904 10 10	750
Fractions de mouture de maïs dont la taille des particules est ≤ 500 microns auxquelles s'applique le code NC 1102 20 et autres produits de mouture de maïs dont la taille des particules est ≤ 500 microns on destinés à la consommation humaine directe auxquelles s'applique le code NC 1904 10 10	1 250

(*) l'exception s'applique uniquement au maïs dont l'étiquetage ou la destination, par exemple, font clairement apparaître qu'il est destiné à être utilisé dans un processus de mouture humide (production d'amidon)

Annexe V : Vues aériennes du parcellaire d'étude et localisation des zones de mesure

Zone d'étude n°1 :

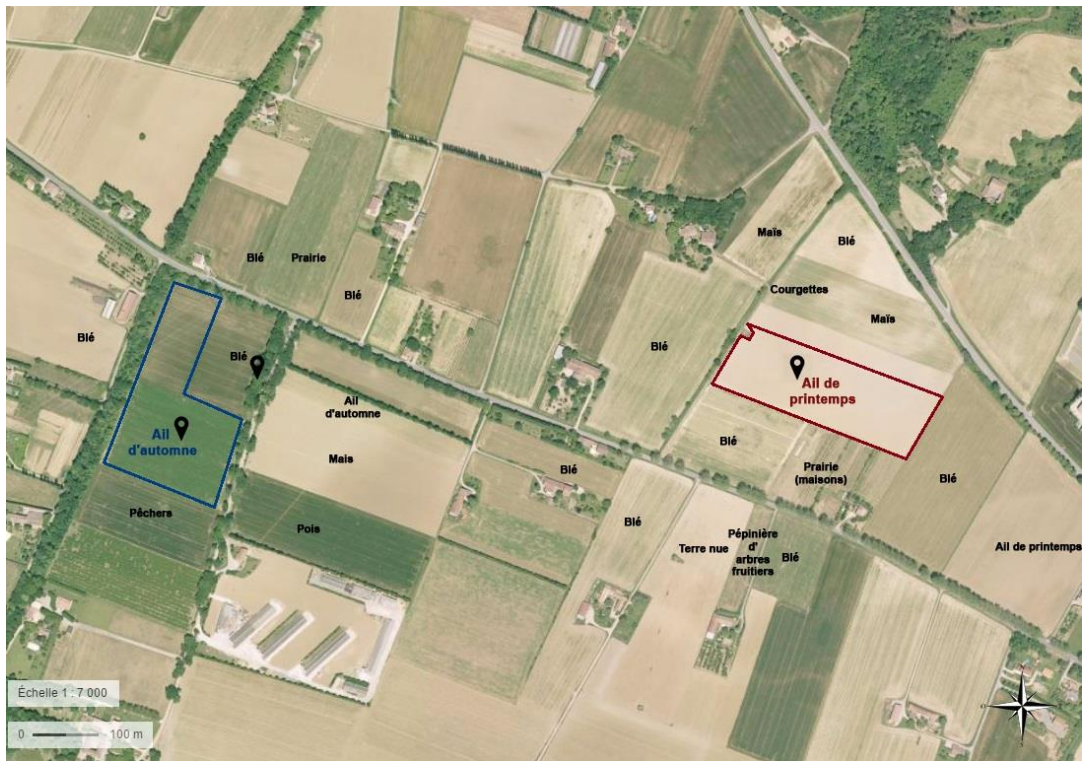


Zone d'étude n°2 :

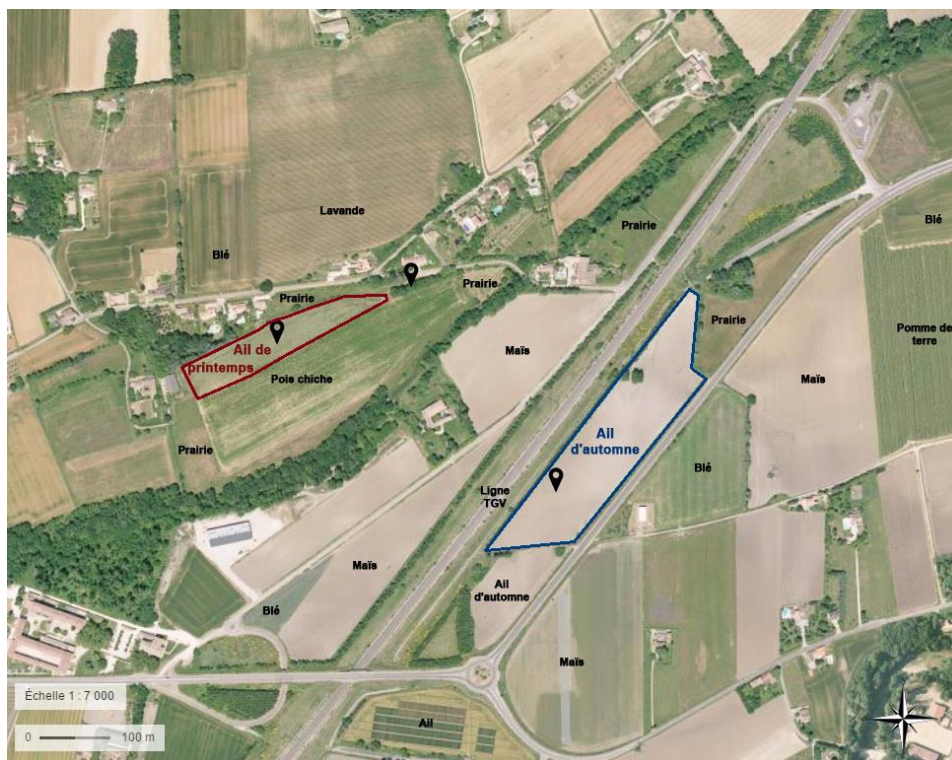



Positionnement des plaques engluées jaunes 10 x 11,5 cm

Zone d'étude n°3 :




Zone d'étude n°4 :



 Positionnement des plaques engluées jaunes 10 x 11,5 cm

Zone d'étude n°5 :



 Positionnement des plaques engluées jaunes 10 x 11,5 cm

Annexe VI : Distances entre les plaques engluées au sein d'une même zone d'étude

N° de zone	DISTANCES ENTRE PLAQUES ENGLUEES (m)		
	Parcelle d'ail automne / printemps	Zone ext* / ail printemps	Zone ext* / ail automne
1	350	330	40
2	310	285	30
3	910	765	160
4	400	130	350
5	390	100	300

* Zone ext : espace hors parcelle d'ail utilisé pour l'installation d'une plaque engluée jaune

Annexe VII : Description du parcellaire d'étude

IDENTIFICATION DE LA PARCELLE		MATÉRIEL VÉGÉTAL				CARACTÉRISTIQUES PARCELLAIRE		PÉRIODE DE CULTURE		INSTALLATION DES EXPERIMENTATIONS	
N° de zone	N° de parcelle	Type d'ail	Variétés sur la parcelle	Variétés où le relevé s'effectue	Type de conduite	Antécédents culturaux	Surface (ha)	Date de plantation	Date de récolte	Sondes HOBO	Plaques engluées jaunes *
1	Z1a	printemps	CLEDOR-FLAVOR	CLEDOR	SF + HF	blé-tournesol	1,9	28/11/2016	13/07/2017	oui	oui
	Z1b	automne	GERMIDOUR SABAGOLD	GERMIDOUR (HF) SABAGOLD (SF)	SF + HF	blé-tournesol	2,3	10/10/2016	24/06/2017	oui	oui
2	Z2a	printemps	FLAVOR-CLEDOR-PRINTADOR	PRINTADOR (HF), FLAVOR (SF)	SF + HF	blé	3,35	25/01/2017	24/07/2017	oui	oui
	Z2b	automne	THERADOR-THERMIDRÔME-MESSIDRÔME-MESSIDOR	THERADOR	HF	blé	1,54	15/11/2017	23/06/2017	non	non
3	Z3a	printemps	CLEDOR-FLAVOR	CLEDOR (SF), FLAVOR (HF)	SF + HF	/	3,32	14/12/2017	21/07/2017	oui	oui
	Z3b	automne	THERADOR-THERMIDRÔME	THERADOR (HF), THERMIDRÔME (SF)	SF + HF	/	3,63	/	23/06/2017	oui	oui
4	Z4a	printemps	ARNO	ARNO	HF	/	1,1	16/02/2017	18/07/2017	non	non
	Z4b	automne	MESSIDOR	MESSIDOR	HF	/	3,35	/	19/06/2017	non	non
5	Z5a	printemps	ARNO	ARNO	SF + HF	/	1,38	/	09/07/2017	oui	oui
	Z5b	automne	MESSIDOR	MESSIDOR	HF	/	5,5	/	19/06/2017	non	non

Légende : * oui : 2 plaques positionnées par parcelle = 1 sous filet anti-insecte et 1 en plein champ
non : 1 seule plaque est mise en place, uniquement en plein champ (parcelle n'ayant pas de filet anti-insectes)

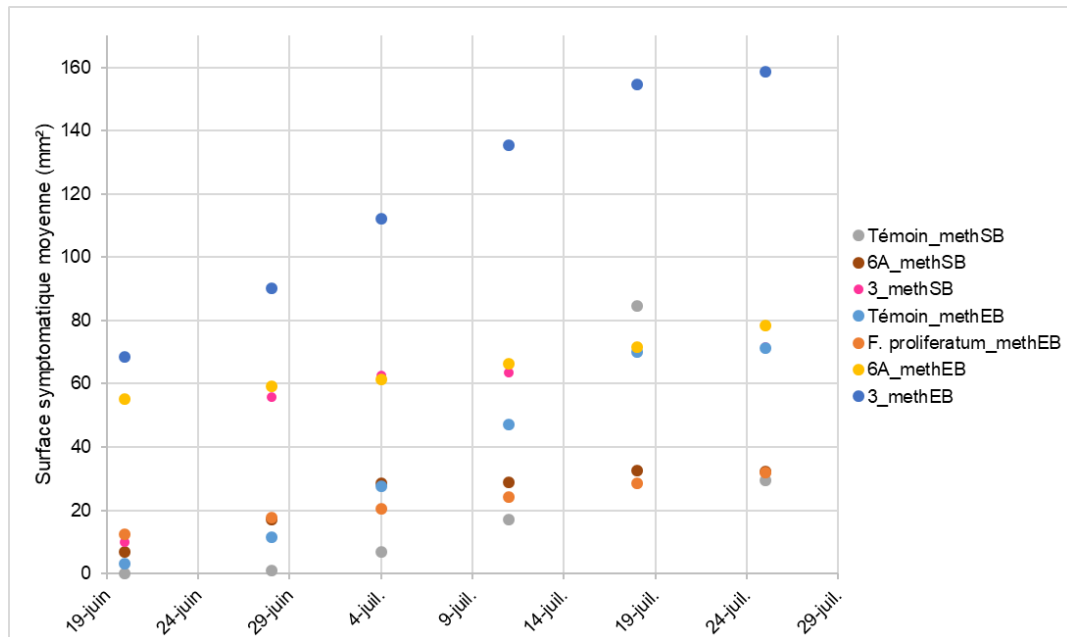
SF : sous filet anti-insectes

HF : hors filet anti-insectes (en plein champ)

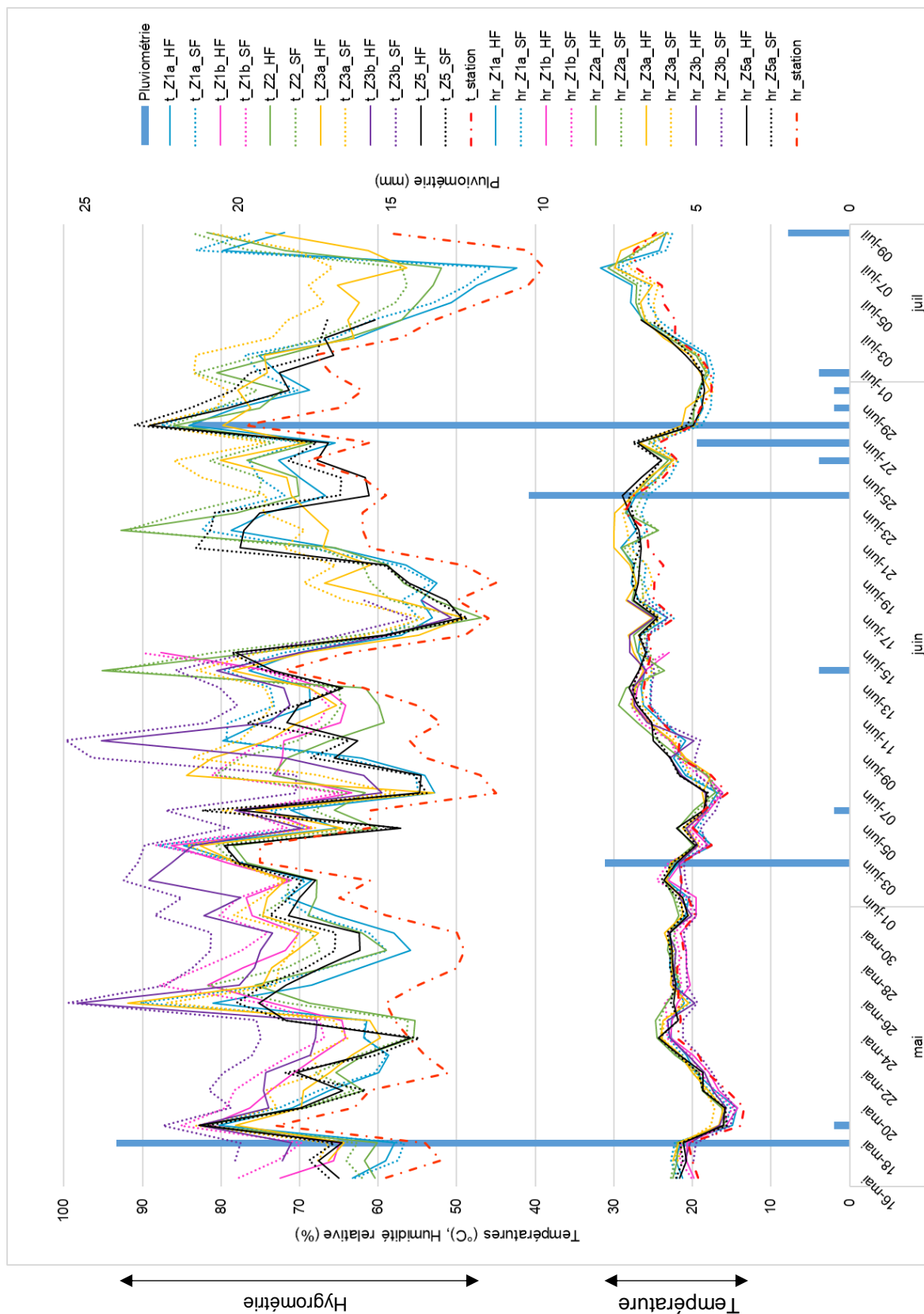
Annexe VIII : Récapitulatif des dates de début et de fin de l'étude par parcelle

IDENTIFICATION DE LA PARCELLE		PÉRIODE DE L'ÉTUDE : pression entomologique en parcelle d'ail		PÉRIODE DE L'ÉTUDE : conditions climatiques		DATES PRELEVEMENTS DE SOL	
N° de zone	N° de parcelle	Début	Fin	Début	Fin	1 ^{er} prélèvement	2 ^{ème} prélèvement
1	Z1a	15/05/2017	10/07/2017	15/05/2017	10/07/2017	15/05/2017	10/07/2017
	Z1b		16/06/2017		16/06/2017		
2	Z2a		10/07/2017		10/07/2017		
	Z2b		23/06/2017		/		
3	Z3a	16/05/2017	10/07/2017	16/05/2017	10/07/2017	16/05/2017	
	Z3b		19/06/2017		19/06/2017		
4	Z4a	15/05/2017	10/07/2017	15/05/2017	/	15/05/2017	
	Z4b		13/06/2017		/		
5	Z5a		05/07/2017		05/07/2017		
	Z5b		19/06/2017		/		

Annexe IX Évolution de la surface symptomatique moyenne de caïeux après inoculation de souches de *Fusarium* par les méthodes EB (explant + blessure) et SB (suspension + blessure) (expérimentation 1)




Annexe X : Évolution de la température et de l'hygrométrie de six parcelles de production d'ail disposant des deux modes de culture (sous filet et hors filet) pour la période du 16 mai au 09 juillet 2017



Annexe XI : p-values de l'ANOVA (1) réalisée par parcelle et par variable d'étude (température et hygrométrie) en fonction du facteur « mode de culture » (sous filet et hors filet anti-insectes). Encadrés rouges en cas de significativité (risque $\alpha = 5\%$)

Site	p-value	
	Température	Hygrométrie
Z1a	0,385	0,201
Z1b	0,356	0,0458
Z2a	0,469	0,0706
Z3a	0,332	0,0103
Z3b	0,0669	0,00533
Z5a	0,961	0,317

	Diplôme : Ingénieur de l'Institut Supérieur des Sciences agronomiques, agroalimentaires, horticoles et du paysage Spécialité : Horticulture Spécialisation : Fruits et Légumes, Alimentation et Marchés (FLAM) Enseignant référent : Valérie Le Clerc
Auteur : Pierrick Ricard Date de naissance : 14 avril 1993 Nb pages : 103 Annexe(s) : 11 (23 pages) Année de soutenance : 2017	Organisme d'accueil : FNAMS et Prosemail Adresse : 2485 route des Pécolets 26 800 Étoile-sur-Rhône Maîtres de stage : Fabien Folcher et Louis-Marie Broucqsault
Titre français : Les premiers pas vers l'étiologie et l'épidémiologie d'une maladie multifactorielle et en expansion : la fusariose de l'ail (<i>Allium sativum</i> L.) Titre anglais: First steps towards etiology and epidemiology of a multifactorial and expanding disease: garlic rot (<i>Allium sativum</i> L.)	
Résumé : Depuis 2006, les producteurs d'ail français sont confrontés à une nouvelle maladie, appelée fusariose de l'ail. Elle est due à un champignon du genre <i>Fusarium</i> dont l'espèce n'a pas encore été identifiée sur le territoire français. Identifier les espèces responsables de la maladie nécessite l'évaluation de la pathogénicité des souches étudiées. Trois méthodes d'inoculation de <i>Fusarium</i> sur ail sont testées : dépôt d'un explant de gélose PDA sur une blessure ; immersion de caïeux dans une suspension de spores ; dépôt de 10 µL de suspension de spores dans une blessure. La technique d'inoculation par immersion dans une suspension semble la plus adaptée car elle permet de reproduire de vrais symptômes dès la 4 ^{ème} semaine. Les deux autres méthodes favorisent un développement mycélien en surface, sans symptômes apparents en six semaines. Un micro-organisme endophyte était présent dans les caïeux asymptomatiques et ressemble, morphologiquement, au genre <i>Fusarium</i> . L'étude des conditions pédoclimatiques permet de caractériser l'environnement dans lequel est cultivé l'ail, en France. Ces résultats seront utiles pour comprendre le développement du pathogène une fois identifié. La pose de filets anti-insectes sur les cultures de production d'ail semences influence la température et l'hygrométrie de la parcelle, mais dans des proportions limitées. L'analyse de la pression entomologique en parcelle n'a pas permis de confirmer la présence de <i>Clinodiplosis cilicrus</i> comme espèce potentiellement active dans la propagation des spores de <i>Fusarium</i> . L'insecte n'était pas présent en parcelle en 2017.	
Abstract: Since 2006, French garlic producers has been facing a new disease called garlic rot. It is caused by a fungus from the genus <i>Fusarium</i> which species has not been identified on French territory yet. Identifying the responsible species requires evaluation of the pathogenicity of the studied strains. Three inoculation methods of <i>Fusarium</i> on garlic were tested: deposition of a PDA explant on a wound; immersion of cloves in a spores suspension; deposition of 10 µL of spores suspension in a wound. The technique of inoculation by immersion in a suspension seems to be the most suitable because it allows to reproduce true symptoms from the 4 th week. The two other methods enhance the mycelial development on the surface, with no apparent symptoms in six weeks. An endophytic microorganism was present in asymptomatic cloves and morphologically resembles the <i>Fusarium</i> genus. The study of pedoclimatic conditions allows to characterize the environment in which garlic is cultivated in France. These results will be useful for understanding the pathogen development once identified. The installation of insect-proof nets on crop-producing garlic seeds influences the temperature and humidity of the plot, but in limited proportions. Analysis of the entomological pressure in the plot did not confirm the presence of <i>Clinodiplosis cilicrus</i> as a potentially active species in the propagation of <i>Fusarium</i> spores. The insect was not present in plots in 2017.	
Mots-clés : <i>Fusarium</i> , <i>Allium sativum</i> , fusariose de l'ail, pathogénicité, inoculation, conditions pédoclimatiques Key Words: <i>Fusarium</i> , <i>Allium sativum</i> , garlic rot, pathogenicity, inoculation, pedoclimatic conditions	