

Proposition de stage de Master 2

Suivi et contrôle de la fusariose de l'ail : détection précoce de l'agent pathogène *Fusarium proliferatum* par PCR digitale

Contexte et objectifs du stage

La culture de l'ail (*Allium sativum* L.) en France représente 3500 ha (semence et consommation) pour un volume global d'environ 2000 tonnes. L'ail est le légume possédant le plus de labels de qualité en France (AOC, IGP, Label Rouge) et c'est notamment grâce à cela que la filière française s'impose sur le marché européen et mondial. Cette qualité de l'ail de consommation repose notamment sur des semences d'ail certifiées qui sont produites selon un itinéraire technique répondant à des normes françaises. Cependant depuis quelques années, la filière de l'ail subit des pertes causées par la pourriture des gousses en cours de conservation pouvant aller jusqu'à 25 %. Cette maladie est principalement causée par le champignon *Fusarium proliferatum* (Leyronas et al. 2018).

Il n'existe à ce jour aucun moyen de lutte contre la fusariose de l'ail. Les difficultés rencontrées dans la mise au point de méthodes de protection reposent notamment sur un manque de connaissances de l'épidémiologie de cette maladie (moment de l'infection, réservoirs d'inoculum entre autres). De plus, l'étude des conditions d'apparition des symptômes est complexe de par la présence de *F. proliferatum* sous forme endophyte dans des gousses asymptomatiques (Chrétien et al. 2020). La maladie n'est donc généralement pas visible en cours de culture mais seulement après la période de récolte et de séchage.

Afin de combler ce manque de connaissances, la filière de l'ail s'est fédérée et associée à INRAE pour monter le projet de recherches GARLIC coordonné par C. Leyronas (Unité de Pathologie Végétale, INRAE, Avignon) et financé par le CasDAR (01/2022 - 03/2025). Le projet vise à i) mettre au point des outils de détection précoce de l'agent pathogène, ii) évaluer des méthodes d'assainissement des gousses telles que l'utilisation d'agents de biocontrôle en enrobage sur l'ail semences, et iii) proposer des itinéraires techniques pour améliorer l'état sanitaire des plants. L'UMR Agroécologie (INRAE, Dijon) est impliquée dans le 1^{er} axe de ce projet.

L'objectif du stage est de mettre au point une méthode de PCR digitale (droplet PCR, ddPCR) permettant de détecter *F. proliferatum* dans les gousses d'ail ainsi que dans différents environnements. Très sensible, la ddPCR permet de détecter des cibles d'ADN rares. L'équipe d'accueil a ainsi récemment développé un outil de ddPCR permettant de détecter de très faibles densités d'inoculum d'*Aphanomyces euteiches* dans le sol (Gibert et al. 2021). La démarche proposée consiste à :

- Mettre au point le protocole de ddPCR
- Définir son seuil de sensibilité en utilisant des gousses d'ail inoculées
- Optimiser le protocole sur diverses matrices environnementales (sol, plantes en rotation, eau, air).
- Identifier les réservoirs d'inoculum : détecter et quantifier *F. proliferatum* dans différentes matrices environnementales. En effet le sol peut être un réservoir d'agents pathogènes. De plus, *F. proliferatum* est polyphage et de nombreuses espèces végétales peuvent l'abriter, notamment des espèces cultivées en rotation avec l'ail comme le blé, le maïs ou le tournesol. Enfin d'autres environnements, comme l'air, l'eau de pluie ou l'eau d'irrigation sont susceptibles de véhiculer des agents pathogènes.

Dans le cadre du projet GARLIC, l'outil de détection permettra de suivre l'agent pathogène dans les expérimentations mises en place par les autres partenaires du projet. A terme, la détection précoce de l'agent pathogène sous forme endophyte permettra d'écarter les gousses à risque du circuit de multiplication. De plus, l'identification des sources d'inoculum permettra de modifier certains points de l'itinéraire cultural afin de limiter l'exposition de l'ail à cet inoculum.

Connaissances et compétences requises

- Compétences en biologie moléculaire et en microbiologie
- Connaissances en statistiques pour le traitement des résultats
- Goût pour le travail en laboratoire
- Organisation et rigueur

Lieu du stage : UMR 1347 Agroécologie, équipe d'écologie des champignons telluriques et biocontrôle, INRAE, Dijon

Durée du stage : 6 mois

Date de début du stage : janvier ou février 2022

Candidature à envoyer à :

veronique.edel-hermann@inrae.fr

Références

- Leyronas C, Chrétien PL, Troulet C, Duffaud M. 2018. First report of *Fusarium proliferatum* causing garlic clove rot in France. *Plant Disease* 102, 2658.
- Chrétien P L, Laurent S, Bornard I, Troulet C, El Maâtaoui M, Leyronas C, 2020. Unraveling the infection process of garlic by *Fusarium proliferatum*, the causal agent of root rot. *Phytopathologica Mediterranea* 59, 285-293.
- Gibert S, Edel-Hermann V, MoussaMcolo R, Gautheron E, Michel J, Bernaud E, Gautheron N, Sol J-M, Capelle G, Galland R, Bardon-Debats A, Lambert C, Steinberg C. 2021. Risk assessment of *Aphanomyces euteiches* root rot disease: quantification of low inoculum densities in field soils using droplet digital PCR. *European Journal of Plant Pathology*, <https://doi.org/10.1007/s10658-021-02325-5>