



HAL
open science

Influence du contexte génétique sur l'évaluation de la résistance intermédiaire en DHS : exemple de l'évaluation de la résistance de la tomate à *Fusarium oxysporum* fsp *lycopersici* race 2 et *Verticillium dahliae*

Sophie S. Perrot, F. Bertrand, G. Bonnet, R. Brand, M. Buisson, S. Dousse, C. Marchal, B. Pariaud, M. Villeveille, Valérie V. Grimault

► To cite this version:

Sophie S. Perrot, F. Bertrand, G. Bonnet, R. Brand, M. Buisson, et al.. Influence du contexte génétique sur l'évaluation de la résistance intermédiaire en DHS : exemple de l'évaluation de la résistance de la tomate à *Fusarium oxysporum* fsp *lycopersici* race 2 et *Verticillium dahliae*. *Innovations Agronomiques*, 2013, 27, pp.59-70. 10.17180/ztr8-8a85 . hal-02648405

HAL Id: hal-02648405

<https://hal.inrae.fr/hal-02648405v1>

Submitted on 29 May 2020

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

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



Distributed under a Creative Commons Attribution - NonCommercial - NoDerivatives 4.0 International License

Influence du contexte génétique sur l'évaluation de la résistance intermédiaire en DHS : exemple de l'évaluation de la résistance de la tomate à *Fusarium oxysporum* fsp *lycopersici* race 2 et *Verticillium dahliae*.

Perrot S.¹, Bertrand F.², Bonnet G.³, Brand R.⁴, Buisson M.⁵, Dousse S.⁶, Marchal C.⁷, Pariaud B.⁸, Villeveille M.⁶, Grimault V.¹

¹ : GEVES Station Nationale d'Essais de Semences, rue G Morel, BP 90024, 49071 Beaucozéd Cedex.

² : Monsanto-Division Seminis, Mas de Rouzel, chemin des canaux, CS 17270, 30918 Nimes

³ : Syngenta, Domaine du Moulin, 84260 Sarrians.

⁴ : GEVES Secteur d'Etude des Variétés Cavaillon, 4790 route des Vignières, 84250 Le Thor.

⁵ : Gautier Semences, Route d'Avignon, 13630 Eyragues.

⁶ : Rijk Zwaan, La Vernede, 30390 Aramon.

⁷ : Clause Vegetable Seeds, ZI La Motte, rue Louis Saillant, BP83, 26802 Portes les Valence Cedex.

⁸ : Vilmorin, Centre de recherche de La Costière, 30210 Ledenon.

Résumé

La résistance des variétés de tomate à deux champignons, *Fusarium oxysporum* fsp. *lycopersici* (Fol) et *Verticillium dahliae* (Vd), est un critère de DHS pour l'inscription des variétés au catalogue. Le GEVES-SNES réalise ces évaluations pour le compte du CTPS. Récemment, des problèmes de non concordance entre déclaration des obtenteurs et tests réalisés pour le CTPS ont été observés chez des hybrides de tomate. Des essais inter laboratoires ont été mis en place afin de définir les souches et protocoles permettant d'obtenir les résultats les plus robustes. Le matériel de référence et les règles de décision ont été définis, permettant une meilleure harmonisation des évaluations variétales vis-à-vis des ces 2 bioagresseurs.

Mots-clés : Résistance variétale, bioagresseurs, matériel de référence

Abstract: Influence of genetic background on evaluation of intermediate resistance in DUS. Example of evaluation of tomato resistance to *Fusarium oxysporum* fsp *lycopersici* race 2 and *Verticillium dahliae*

Resistance of tomato varieties to two fungi *Fusarium oxysporum* fsp. *lycopersici* (Fol) and *Verticillium dahliae* (Vd), is a DUS criteria for registration of varieties at official catalog. GEVES-SNES carries out these evaluations for CTPS. Recently, differences between breeders declaration and CTPS test results occurred for some tomato hybrids. Inter laboratory were carried out to define isolates and protocols allowing to obtain robust results. Reference material and decision rules were defined, allowing a better harmonization of varietal evaluation for these two fungi.

Keywords: Varietal resistance, pests, reference material

I. Contexte

La résistance des variétés de tomate à deux champignons, *Fusarium oxysporum* fsp. *lycopersici* (Fol) et *Verticillium dahliae* (Vd), est prise en compte dans les critères de DHS pour l'inscription des variétés au catalogue. Le GEVES-SNES réalise ces évaluations pour le compte du CTPS.

Trois races de Fol, agent de la fusariose de la tomate, existent et trois gènes de résistance ont été décrits (Arie *et al.*, 2007). Le gène *I* dérivé de *L. pimpinellifolium* et localisé sur le chromosome 11 a été incorporé

à de nombreuses variétés de tomate depuis les années 1940 (Messiaen *et al.*, 1991) et confère la résistance à la race 0 (ex 1). Le gène *I2*, également issu de *L. pimpinellifolium* et localisé sur le chromosome 11, confère la résistance aux races 0 et 1 (ex 2). En 1982, est apparue une race surmontant ces 2 gènes de résistance : la race 2 (ex 3). Un gène *I3*, localisé sur le chromosome 7, a été obtenu à partir de *L. penellii* et contrôle les souches de race 2 (ex 3). Récemment, une nouvelle source de résistance a été identifiée chez *L. chilense* G1.1556, qui confère la résistance aux trois races de Fol (Bonnema *et al.*, 2000). Une autre source de résistance à la race 2 (ex 3) de Fol a été identifiée chez *L. pimpinellifolium* (Piperidis *et al.*, 1995). Les résistances monogéniques dominantes conférées par *I*, *I2* et *I3* sont identifiées lors de tests réalisés en conditions contrôlées avec des souches de race 0, 1 et 2. Récemment, des problèmes de non concordance entre déclaration des obtenteurs et tests réalisés pour le CTPS ont été observés chez des hybrides de tomate déclarés résistants à la race 2 (ex 3). Ces hybrides hétérozygotes sont bien résistants sur le terrain, alors qu'ils présentent des plantes sensibles dans les tests réalisés en conditions contrôlées. Une question se pose donc sur l'effet de l'hétérozygotie dans les tests de laboratoire et l'intérêt d'inclure un témoin hétérozygote. Par ailleurs, l'agressivité du test, l'origine de la souche ou le contexte génétique des variétés pourraient avoir une influence sur le résultat du test. Ces paramètres sont donc à étudier afin d'obtenir un test harmonisé.

Deux races de Vd, agent de la verticilliose de la tomate, ont été décrites. Cependant, la race 1(2) bien que décrite maintenant dans de nombreux pays reste épisodique. La race 0(1) est répandue. Le gène *Ve*, issu de *L. pimpinellifolium*, conférant la résistance à la race 0 de Vd a été cloné et code pour des récepteurs de surface (Kawchuk *et al.*, 2001). Il a été montré que deux gènes inversés, étroitement liés *Ve1* et *Ve2*, conféraient indépendamment la résistance. Une autre résistance à la race 1(2) a été décrite dans plusieurs lignées (Stamova *et al.*, 2005 ; Laterrot, 1984) et introgressée (Stamova, 2006). La résistance monogénique dominante conférée par *Ve* est identifiée lors de tests réalisés en conditions contrôlées avec une souche de Vd race 0. Récemment, des problèmes de comportement hétérogène d'une variété ont été observés avec le protocole permettant de mettre en évidence la résistance à Vd race 0 conférée par *Ve*. Un test spécifique a été développé pour élucider cette question. La variété ne possédait pas le gène *Ve*, mais présentait une résistance très partielle à Vd. Le CTPS, en charge des études de distinction homogénéité stabilité (DHS) pour l'inscription des variétés au catalogue officiel a, au cours de sa section sur les espèces potagères, suggéré de créer un niveau intermédiaire. Il est en conséquence nécessaire de valider un protocole, de définir les variétés de références pour les témoins résistants, sensibles et résistants intermédiaires spécifiques à ce protocole, de mettre en place un système de déclaration de cette résistance et d'évaluer le coût de ce protocole.

II. *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* race 2

a) *Effet du substrat et des conditions environnementales*

Lors de la première année de test, les substrats de semis (vermiculite et terreau), les substrats de repiquage (terreau, sable et terreau + sable) ainsi que différentes températures d'incubation (25-28°C, 12H et 25°C, 16h) ont été comparés à la SNES sur les témoins CTPS et un panel de variétés sensibles fourni par les partenaires.

Ces résultats ont montré que différents génotypes sensibles ont des comportements différents en fonction des conditions de substrat et de température/éclairage. Il est donc nécessaire de préciser les conditions de test afin d'obtenir 100% de plantes sensibles pour les différents génotypes sensibles et de choisir comme témoins sensibles des génotypes ayant différents types de comportement.

b) *Effet des souches*

Six souches envoyées par les partenaires ont été comparées dans un laboratoire (SNES) avec la souche CTPS, sur les témoins CTPS résistants (TR) et sensibles (TS), des variétés testées sans

ambiguïté comme résistantes (R) et sensibles (S), des variétés qui s'avèrent hétérogènes (HG) avec des plantes sensibles et les hybrides envoyés par les partenaires.

Le matériel végétal testé a eu un comportement similaire avec les différentes souches. Cependant, certaines souches ont présenté une agressivité plus ou moins forte qui permet de minimiser le nombre de plantes échappées (plantes inoculées, logiquement sensibles, mais qui n'ont pas été touchées par la maladie et ne présentent pas de symptômes) et d'obtenir des résultats sans ambiguïté (Tableau 1).

Tableau 1 : Comparaison de 7 souches de Fol:2 sur un panel de variétés dans les conditions SNES

	Attendu	Souche Labo 1	Souche Labo 2	Souche Labo 5	Souche Labo 6	Souche A	Souche B	Souche C
Variétés		Lect	Lect	Lect	Lect	Lect	Lect	Lect
Marmande verte	TS	26/29	29/29	1/23	29/30	17/22	30/30	21/21
Motelle	TS	28/28	30/30	5/29	28/29	26/30	29/30	29/29
Florida 7547	TR	0/30	0/30	0/30	0/30	0/30	0/30	0/26
Marmande verte x Florida	TR	0/30	0/30	0/30	0/25	0/30	0/30	0/30
CLX 37221	Hybride R	1/30	6/30	0/30	6/30	3/30	2/30	3/30
CLX 37290	Hybride R	0/30	3/30	0/28	0/30	0/29	2/30	0/26
V1	Hybride R	0/30	0/30	0/30	0/30	0/30	1/29	0/30
V2	Hybride R	0/29	0/30	0/29	0/29	0/29	0/30	0/30
Roland	Hybride R	0/30	0/29	0/30	1/30	0/30	0/3	0/30
Adrale	Hybride R	0/30	0/30	0/30	0/30	0/30	0/30	0/30
Pinnacle	Hybride R	0/30	2/29	0/30	1/30	1/31	2/28	0/30
RX 01646 722	Hybride R	0/30	0/30	0/30	1/20	0/30	1/30	0/29
G1	Hybride R			0/30		0/30		0/30
Angie	Testée R CTPS	0/30	1/30	0/29	0/30	0/30	0/30	0/30
Ivanhoé	Testée R CTPS	0/30	0/30	0/30	0/30	0/30	1/30	0/30
Nikes	Testée R CTPS	1/30	1/30	0/30	4/30	0/30	1/30	0/30
Polat	Testée R CTPS	0/30	0/30	0/30	2/30	0/30	3/29	0/29
Soave	Pb plantes S	22/28	27/29	5/30	22/26	15/29	24/29	25/28
Merope	Pb plantes S	16/29	18/28	4/29	19/28	0/30	17/30	13/29

Lect : nombre de plantes sensibles (notes 1, 2 et 3) sur nombre total de plantes.

Interprétation **R** : résistant ; **S** : sensible

Il semble que le contexte génétique de certaines variétés implique une moindre sensibilité dans les tests, de façon indépendante du facteur souches.

A l'issue de cette comparaison de souches dans les conditions de test de la SNES, un test inter laboratoire a été réalisé avec quatre souches de niveaux d'agressivité différents identifiées lors du test précédent (souches A, B, C et la souche propre à chacun des laboratoires) et du matériel végétal proposé par les partenaires incluant différents types de constructions génétiques (I, I² et I³) pour tester l'effet de l'agressivité des souches (Tableaux 2 à 5).

Tableau 2 : Comparaison avec la souche A de Fol: 2 sur un panel de variétés en test inter laboratoires

	Attendu	Labo 1	Labo 2	Labo 3	Labo 4	Labo 5	Labo 6	Labo 7	Labo 8
Marmande verte	TS	25/30	7/12	16/24	14/20	25/30	16/21	28/30	25/25
Motelle	TS	24/28	9/13	10/21	12/20	27/28	13/21	29/30	22/25
Marporum	S	19/29	10/12	11/22	7/18	8/29	9/21	20/30	21/25
Beefmaster	S	12/30	0/12	8/23	4/19	7/23	0/21	16/30	17/25
Celaya	S	14/30	0/12	9/22	4/20	16/31	2/21	14/30	19/25
Pacifica	R	0/30	0/12	0/24	0/20	0/32	0/21	0/30	0/25
Murdoch	R	0/30	0/12	0/24	0/25	0/29	0/21	0/30	0/25
Caporal	R	0/30	0/12	0/24	0/20	0/32	0/21	0/30	0/25
Mejorado	R	0/30	0/12	1/24	0/17	0/28	0/21	0/30	0/25
Florida 7547	TR	0/30	0/12	0/24	0/17	0/33	0/21	0/30	0/22
Marmande verte x Florida	TR	1/29	0/12	0/24	0/20	0/29	0/21	0/30	0/22

Lect : nombre de plantes sensibles (notes 1, 2 et 3) sur nombre total de plantes.

Interprétation **R : résistant ; S : sensible**

Tableau 3 : Comparaison avec la souche B de Fol: 2 sur un panel de variétés en test inter laboratoires

	Attendu	Labo 1	Labo 2	Labo 3	Labo 4	Labo 5	Labo 6	Labo 7	Labo 8
Marmande verte	TS	29/29	17/17	21/24	13/20	23/26	21/21	24/24	15/30
Motelle	TS	29/30	12/12	19/24	14/20	27/27	21/21	25/25	24/30
Marporum	S	27/30	12/12	12/21	12/17	19/24	21/21	25/25	13/30
Beefmaster	S	23/29	9/12	7/24	17/22	22/26	19/21	24/25	15/30
Celaya	S	28/30	10/12	11/24	17/20	24/26	21/21	23/25	0/30
Pacifica	R	0/21	0/12	0/24	1/20	0/29	0/21	0/24	0/30
Murdoch	R	0/29	0/12	0/24	1/19	2/34	0/21	0/24	0/30
Caporal	R	1/29	0/12	1/24	0/20	0/35	0/21	0/25	0/30
Mejorado	R	0/29	0/12	0/24	0/13	2/31	0/21	0/25	0/30
Florida 7547	TR	0/30	0/12	0/24	0/18	0/28	0/21	0/25	0/30
Marmande verte x Florida	TR	0/30	0/12	0/24	0/20	0/30	0/21	0/23	0/30

Lect : nombre de plantes sensibles (notes 1, 2 et 3) sur nombre total de plantes.

Interprétation **R : résistant ; S : sensible**

La souche A (Tableau 2) a été la moins agressive pour l'ensemble des huit laboratoires, conformément à ce qui était attendu suite aux résultats SNES. L'ensemble des variétés attendues résistantes n'ont présenté aucune plante avec symptômes. Par contre, les témoins sensibles ont présenté des plantes échappées dans tous les laboratoires et ont été jugés hétérogènes pour certains laboratoires. Les

variétés attendues sensibles ont montré de nombreuses plantes échappées dans tous les laboratoires avec la souche A, mais elles ont été jugées résistantes dans 3 laboratoires.

La souche B (Tableau 3) est la souche montrant le plus d'agressivité dans les laboratoires 6 et 7.

Les témoins sensibles présentent encore des plantes échappées pour l'ensemble des 8 laboratoires et sont jugés différemment selon les laboratoires. Les témoins résistants ont montré les résultats attendus. A part les variétés Murdoch et Meorado chez un seul laboratoire, aucune des variétés attendues résistantes n'a montré de plantes avec symptômes dans les huit laboratoires.

Tableau 4 : Comparaison avec la souche C de Fol: 2 sur un panel de variétés en test inter laboratoires

	Attendu	Labo 1	Labo 2	Labo 3	Labo 4	Labo 5	Labo 6	Labo 7	Labo 8
Marmande verte	TS	29/30	11/12	24/24	15/20	26/26	21/21	25/25	22/30
Motelle	TS	30/30	12/12	24/24	17/20	21/23	21/21	25/25	10/30
Marporum	S	26/30	11/12	23/24	8/15	20/23	21/21	20/22	7/30
Beefmaster	S	28/30	9/12	20/22	14/20	21/23	21/21	19/21	8/30
Celaya	S	25/30	8/12		15/20	27/28	21/21	25/25	20/30
Pacifica	R	0/30	0/12	1/24	1/20	0/30	0/21	0/25	0/30
Murdoch	R	0/30	0/12	4/24	0/19	0/28	0/21	0/24	0/30
Caporal	R	0/30	0/12	0/24	0/20	0/30	0/21	0/25	0/30
Meorado	R	0/30	0/12	3/24	0/19	1/29	0/21	0/25	0/30
Florida 7547	TR	0/30	0/12	0/24	0/19	0/28	0/21	0/25	0/30
Marmande verte x Florida	TR	0/30	0/12	0/24	0/19	0/30	0/21	0/18	0/30

Lect : nombre de plantes sensibles (notes 1, 2 et 3) sur nombre de plantes au total.

Interprétation **R** : résistant ; **S** : sensible

La souche C (Tableau 4) a été la souche montrant le plus d'agressivité pour les laboratoires 3, 4, 6 et 7.

Les témoins sensibles ont présenté moins d'échappées que pour les souches A et B. Les variétés attendues sensibles ont présenté des échappées pour cinq des huit laboratoires dont deux pour lesquels cette souche a été la plus agressive.

Les témoins résistants ont eu un comportement attendu dans tous les laboratoires.

A part les variétés Murdoch et Meorado chez un seul laboratoire, aucune des variétés attendues résistantes n'a montré de plantes avec symptômes dans les huit laboratoires.

Pour les variétés résistantes, le comportement a été le même pour l'ensemble des souches testées. Les résultats ont été plus ou moins homogènes pour les variétés sensibles en fonction des souches.

La souche propre à chaque laboratoire est la plus agressive et donne les résultats attendus sur les variétés du panel, il n'y a donc pas lieu d'uniformiser la souche et chaque laboratoire conservera sa souche. En remplaçant la souche du laboratoire 1 (SNES) par la souche B ou la souche C, la SNES pourra minimiser le nombre d'échappées sur les variétés attendues sensibles et obtenir des résultats plus tranchés.

Tableau 5 : Comparaison avec la souche de chaque laboratoire de Fol: 2 sur un panel de variétés en test inter laboratoires

	Attendu	Labo 1	Labo 2	Labo 3	Labo 4	Labo 5	Labo 6	Labo 7	Labo 8
Marmande verte	TS	16/29	11/12	24/24	14/20	25/25	21/21	30/30	
Motelle	TS	23/29	12/12	24/24	21/22	30/30	21/21	30/30	
Marporum	S	12/30	10/12	24/24	6/11	20/22	21/21	29/30	
Beefmaster	S	6/30	12/12	24/24	13/20	29/31	21/21	27/30	
Celaya	S	22/29	12/12	24/24	18/20	28/31	21/21	30/30	
Pacifica	R	0/30	0/12	1/23	0/20	0/35	0/21	0/30	
Murdoch	R	1/30	0/12		0/12	0/30	0/21	0/30	
Caporal	R	0/30	0/12	3/24	0/20	0/33	0/21	0/30	
Mejorado	R	0/30	0/12	1/25	0/12	0/33	0/21	0/30	
Florida 7547	TR	0/30	0/12	0/24	0/17	0/32	0/21	0/30	
Marmande verte x Florida	TR	0/30	0/12	0/24	0/18	0/28	0/21	0/30	

Lect : nombre de plantes sensibles (notes 1, 2 et 3) sur nombre total de plantes.

Interprétation **R** : résistant ; **S** : sensible

Le témoin sensible Marmande-verte a présenté plus d'échappées que le témoin sensible Motelle dont les résultats ont été plus homogènes entre les différents laboratoires. Motelle semble un meilleur témoin sensible que Marmande verte.

Les deux témoins résistants, Florida et l'hybride Marmande verte x Florida, ont présenté des résultats redondants dans l'ensemble des laboratoires, il n'est pas nécessaire de conserver les 2 variétés en tant que témoin résistant.

Dans tous les laboratoires et avec toutes les souches, il y a eu des résultats hétérogènes (échappées) pour certaines variétés. Ces résultats soulignent le besoin d'ajouter une borne basse pour les variétés résistantes (Murdoch serait un bon candidat) et une borne haute pour les variétés sensibles (Marporum serait un bon candidat) afin de mieux caler l'analyse des résultats.

III. *Verticillium dahliae*

a) Effet souches

Un test inter laboratoire a été réalisé sur un panel de variétés défini avec les partenaires et présentant un comportement hétérogène afin de tester l'effet souche sur les résultats obtenus sur le matériel végétal présentant un comportement hétérogène, et donc une certaine résistance partielle. Chaque laboratoire a gardé son protocole avec sa souche propre et a testé en parallèle la souche SNES (Toreille 600). Une échelle de notation commune a été utilisée afin de comparer les résultats entre les différents laboratoires (Tableau 6).

Tableau 6 : Résultats avec la souche Toreille 600 de la SNES et la lecture commune.

Variétés	Attendu	Labo 1	Labo 2	Labo 3	Labo 4	Labo 6	Labo 7	Labo 8
Marmande Verte	TS	23/30	11/11	10/10	15/15	14/14	20/20	14/14
Marbonne	S	21/26	10/11	12/12	13/13	14/14	20/20	11/14
Morigami	S	10/26	7/11	12/12	8/13	13/14	11/20	12/12
Santonio	S avec plantes R	17/26	0/11	8/8	8/12	11/11	3/20	12/12
Capricio	S avec plantes R	22/30	9/11	12/12	12/14	14/14	5/20	12/13
Genio	S avec plantes R	19/28	9/11	12/12	13/14	14/14	11/20	12/14
2816	S avec plantes R	1/30	0/11	5/12	0/12	2/14	1/20	4/13
2823	S avec plantes R	1/30	0/11	0/12	12/13	0/14	1/20	1/10
Santella	S avec plantes R	18/29	11/11	10/10	12/12	14/14	8/20	11/13
Clarion	S avec plantes R	18/29	9/11	12/12	20/20	14/14	10/20	7/23
SG1	Hybride	16/29	7/11	5/12	13/19	14/14	3/20	2/23
SG2	Hybride	12/30	4/11	20/24	11/17	14/14	5/20	11/24
SG 3	Hybride	13/30	11/11	20/23	17/20	14/14	3/20	7/20
Montain Fresh Plus	R	0/27	0/11	0/12	0/12	0/14	0/20	0/14
Javy	R	0/30	0/11	0/12	0/11	0/12	0/18	0/12
Monalbo	TR	0/18	0/11	0/10	0/12	0/14	0/20	0/13
Monalbo x Marmande Verte	TR	0/30	0/11	0/10	0/13	0/14	0/20	0/14

Lect : nombre de plantes sensibles (notes 2, 3 et 4) sur nombre total de plantes.

Interprétation **R** : résistant ; **S** : sensible

Le test a été peu agressif dans le laboratoire 7 car sur les 9 variétés attendues sensibles ou bien sensibles avec des plantes résistantes, seule la variété Marbonne a été testée comme sensible, toutes les autres variétés ont été testées résistantes ou bien en ségrégation.

Le test réalisé avec la souche Toreille 600 (Tableau 6) a montré que le comportement de certaines variétés (Morigami, Santonio, 2816, SG1, SG2 et SG3) était variable d'un laboratoire à l'autre, alors que celui des témoins (Marmande verte, Monalbo et Monalbo x Marmande verte) et d'autres variétés était stable (Marbonne, Capricio, Genio, Santella, Clarion, 2823 Montain Fresh Plus et Javy).

Le test réalisé avec la souche propre à chaque laboratoire a donné des résultats proches de ceux obtenus avec la souche SNES Toreille 600 (résultats non présentés) mais avec moins d'homogénéité.

Dans tous les laboratoires et avec toutes les souches, il y a eu des résultats hétérogènes pour certaines variétés (échappées).

De plus, à la SNES la souche Toreille 600 a été comparée à deux autres souches (VDT 3 et GVS-9) fournies par Sakata pour évaluer une différence d'agressivité entre ces trois souches dans les conditions de test de la SNES et sur le même panel de variété que celui utilisé dans le test inter laboratoire. Les résultats des variétés ont été proches avec les trois souches et aucune souche n'a permis d'éviter la présence d'échappées pour les variétés attendues sensibles (résultats non présentés).

b) Amélioration de l'agressivité du test

Un test inter laboratoires a ensuite été mis en place afin de comparer le protocole amélioré de chaque laboratoire avec un protocole commun fixé au niveau des conditions de concentration d'inoculum et de température. La souche Toreille 600 a été utilisée car le premier test inter laboratoire a montré qu'elle donnait les résultats les plus homogènes en comparaison de la souche de chaque laboratoire (Tableau 6).

Le test avec le protocole propre à chaque laboratoire (Tableau 7) a été plus agressif que le protocole commun avec la souche Toreille 600 (Tableau 8). Les témoins officiels ont eu le comportement attendu avec les deux protocoles sauf dans un laboratoire (labo 2) où le test a été peu agressif et à la SNES pour la condition 18/22°C.

Tableau 7 : Résultats avec le protocole amélioré et la souche du laboratoire de *Verticillium*

	Attendu	Labo 1	Labo 2	Labo 3	Labo 4	Labo 5	Labo 6	Labo 7	Labo 8
Marmande verte	S	30/30	9/14	23/23	20/20	21/21	14/14	20/20	25/25
Clarion	HG-S	24/24	2/12	24/24	14/20	21/21	14/14	19/20	25/25
SG1	HG-S	29/30	1/22	7/24	19/20	21/21	10/14	16/20	25/25
Santonio	HG-S	23/27	7/17	3/21	19/20	20/21	10/15	19/20	25/25
Monalbo x Marmande verte	R	0/29	0/20	0/24	0/20	1/21	0/14	4/20	0/25
Monalbo	R	0/29	0/8	0/24	0/20	0/21	0/14	0/20	0/25

Lect : nombre de plantes sensibles (notes 2, 3 et 4) sur nombre total de plantes.

Interprétation **R : résistant ; S : sensible**

Tableau 8 : Résultats avec le protocole commun et la souche Toreille 600 de *Verticillium*

	Attendu	Labo 1	Labo 2	Labo 3	Labo 4	Labo 5	Labo 6	Labo 7	Labo 8
Marmande verte	S	18/30	17/24	24/24	19/20	21/21	14/14	20/20	25/25
Clarion	HG-S	15/21	0/24	18/20	14/20	21/21	14/14	19/20	25/25
SG1	HG-S	12/30	0/23	24/24	16/20	21/21	0/14	19/20	25/25
Santonio	HG-S	2/28	1/24	22/22	20/20	21/21	13/14	17/20	25/25
Monalbo x Marmande verte	R	0/29	0/24	0/24	0/20	0/21	0/14	7/20	0/25
Monalbo	R	1/27	0/24	0/24	0/20	0/21	0/14	0/20	0/25

Lect : nombre de plantes sensibles (notes 2, 3 et 4) sur nombre total de plantes.

Interprétation **R : résistant ; S : sensible**

Le comportement des variétés Clarion, SG1 et Santonio a été non reproductible entre les différents laboratoires que ce soit avec le protocole commun ou le protocole amélioré propre à chaque laboratoire sauf pour les laboratoires où le test a été plus agressif et où ces variétés ont été testées sensibles.

Ce ring test a montré que le protocole commun n'a pas permis d'améliorer la reproductibilité des résultats.

c) Amélioration des règles d'analyse des résultats

L'objectif a été de parvenir à juger le matériel végétal avec des comportements hétérogènes de la même manière dans les différents laboratoires.

Un nouveau test inter laboratoires a été réalisé sur le même panel (en codé : A à H) qu'en année 2 avec l'ajout de nouvelles variétés au comportement difficile à juger (12 variétés au total dans le panel) (Tableau 9). L'interprétation des variétés a été réalisée en fonction des témoins sensibles et résistants ainsi qu'en fonction de la variété Santonio qui a été considérée comme un témoin sensible. En effet, la variété Santonio (typique du comportement des variétés de tomate de type petit fruit) montre un faible niveau de résistance. Son comportement n'est pas suffisamment tranché pour être considéré R, et il a été décidé de juger cette variété comme sensible et d'interpréter comme sensibles elles aussi les variétés ayant le même comportement.

Chaque laboratoire a pris des photos de chaque variété afin d'harmoniser les interprétations.

Tableau 9 : Interprétation des résultats en fonction du comportement de Santonio

Décodage		Attendu	Labo 1	Labo 2	Labo 3	Labo 4	Labo 5	Labo 6	Labo 7	Labo 8
TS	Marmande verte	S	S	S	S	S	S	S	S	S
TS	Santonio	S	S	S	S	S	S	S	S	S
C	Santonio	S	S	S	S	S	S	S	S	S
E	Marmande verte	S	S	S	S	S	S	S	S	S
F		S	S	S	S	S	S	S	S	S
A	SG1	HG-S	HG	S	S	R	S	HG	HG	HG
B	Clarion	HG-S	HG/S	S	S	S	S	S	S	S
G		HG-S	HG/S	S	S	HG	S	S	S	S
H		HG-S	HG	S	S	HG	S	S	HG	S
D	Monalbo x Marmande verte	R	R	S	S	R	R	R	R	R
TR	Monalbo x Marmande verte	R	R	S	R	R	R	R	R	R
TR	Monalbo	R	R	S	R	R	R	R	R	R

Lect : nombre de plantes sensibles (notes 2, 3 et 4) sur nombre total de plantes.

Interprétation **R** : résistant ; **S** : sensible

Le test inter laboratoires, avec l'utilisation de Santonio pour l'interprétation des variétés, a permis un jugement plus clair et harmonisé entre les différents laboratoires d'une partie des variétés testées.

Cependant, il a confirmé le comportement hétérogène de certaines variétés et une interprétation différentes selon les laboratoires. Ce test inter laboratoires a montré que la seule utilisation de la variété

Santonio, en tant que borne sensible, ne suffisait pas pour l'interprétation de variétés du type de SG1, G ou H.

De plus, afin de comparer le comportement des variétés hétérogènes lors d'un test en laboratoire avec le comportement de ces variétés sur plantes plus développées, un test en pot a été mis en place dans les laboratoires 1 et 2 sur le même panel de variétés que celui étudié en année 2. Le repiquage des variétés a été réalisé en pot de 5 L au stade 3-4 feuilles (pour reproduire le stade de repiquage en champ) dans un substrat contaminé. Le test a été mené en serre jusqu'au stade adulte des plants. Le test a été réalisé au printemps (Figure 1).

Le test a été validé sur les trois témoins (Marmande verte, Monalbo et Monalbo x Marmande verte). Les deux variétés Santonio et Clarion ont eu le comportement attendu. Elles ont été testées sensibles d'un niveau inférieur au témoin sensible Marmande verte.

La variété SG1 a été testée d'un niveau intermédiaire compris entre celui des variétés sensibles et celui des témoins résistants.

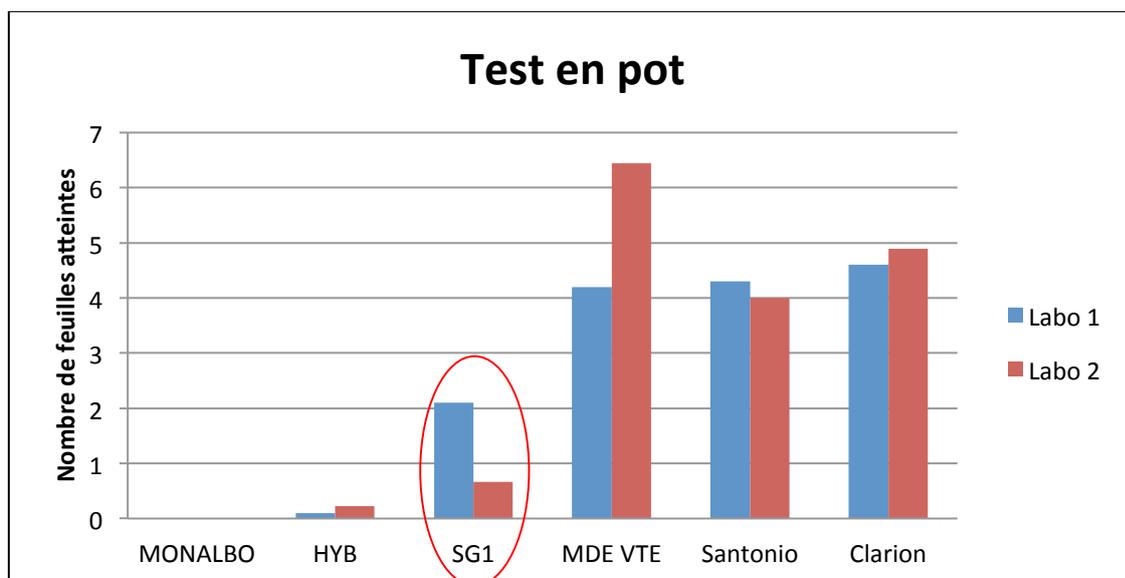


Figure 1 : Test en pot *Verticillium dahliae*

L'utilisation d'un test en pot supplémentaire à la suite du biotest pour confirmer le comportement de la variété a montré que, Santonio et Clarion ont un comportement sensible. La variété SG1 a un comportement intermédiaire, variable selon les laboratoires.

L'utilisation de marqueurs moléculaires permettrait de confirmer l'homogénéité ou l'hétérogénéité de la variété vis-à-vis de la présence du gène de résistance. L'absence du marqueur du gène de résistance, pour l'ensemble des plantes testées, permettrait de confirmer le jugement comme variété sensible.

IV. Conclusions et propositions d'évolution du protocole

Fusarium oxysporum fsp lycopersici race 2

Les résultats obtenus dans les différents laboratoires ont montré le même comportement des témoins sensibles et résistants dans tous les laboratoires. Certaines des variétés attendues sensibles ont montré des résultats plus variables selon les laboratoires. Il est nécessaire d'interpréter de la même manière dans les différents laboratoires ces variétés avec des comportements variables. Pour cela, des bornes supplémentaires permettront de mieux analyser les résultats de tests.

La variété Murdoch est proposée en borne basse de résistance car elle peut décrocher dans le cas d'un test très agressif.

La variété Marporum est proposée en borne haute de sensibilité car elle peut avoir des échappées dans le cas d'un test peu agressif.

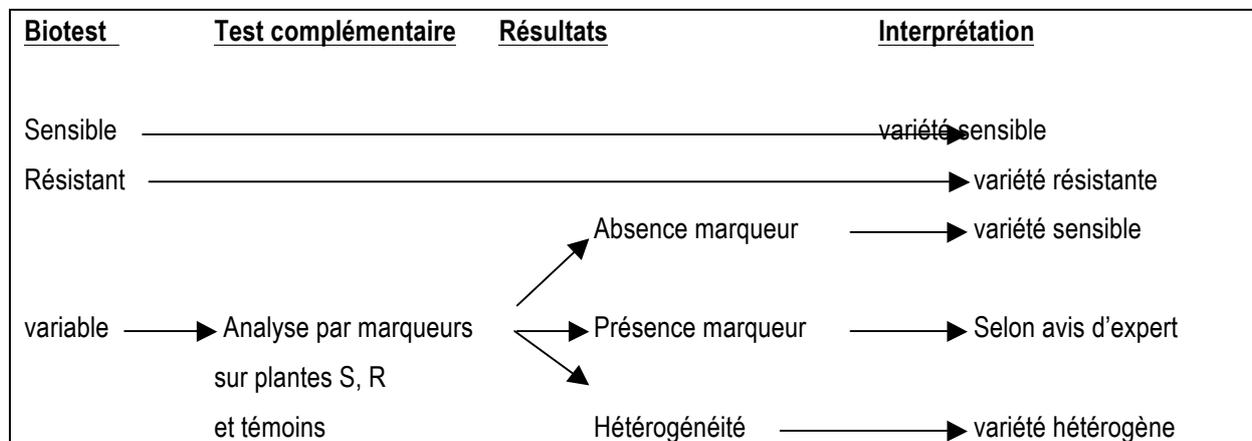
Il est proposé de ne pas conserver Marmande-verte comme témoin sensible car cette variété a des résultats moins homogènes (avec des échappées) dans les différents laboratoires alors que le témoin sensible Motelle a le même comportement dans les différents laboratoires.

Du fait de leurs résultats redondants, il n'est pas utile de conserver les deux variétés témoins résistants. Comme l'hybride Marmande verte x Florida ne décroche dans aucun laboratoire, il est proposé de supprimer le témoin Florida pour ne garder que l'hybride qui sera plus intéressant pour juger de l'agressivité du test.

Ces modifications ont été présentées et acceptées en section CTPS et font partie des propositions d'évolution des protocoles UPOV et OCVV afin d'intégrer ces nouvelles bornes et de modifier les témoins officiels.

Verticillium dahliae

Suite aux résultats obtenus, dans le cas de variétés à type petits fruits, la variété Santonio serait systématiquement ajoutée comme témoin sensible afin d'harmoniser l'interprétation de ces variétés. L'interprétation des résultats est proposée selon le schéma suivant :



La variété sera jugée sensible si elle est du même niveau ou plus sensible que Santonio.

La variété sera jugée résistante si elle est du niveau des témoins résistants.

Pour les variétés présentant une hétérogénéité suite au biotest, l'utilisation des marqueurs du gène de résistance est proposée afin de contrôler l'homogénéité génétique de la variété.

Ces modifications ont été présentées et acceptées en section CTPS et font partie des propositions d'évolution des protocoles UPOV et OCVV afin d'intégrer ce nouveau témoin officiel.

Références bibliographiques

Arie T., Takahashi H., Kodama M., Teraoka T., 2007. Tomato as a model plant for plant-pathogen interactions. *Plant Biotechnology* 24, 135-147.

Bonnema G., van den Berg P., Yuling B., Lindhout P., 2000. I-1chil, a tomato resistance gene against *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* (Fol) race 1. ISPMP Congress, 18-23 June 2000, Quebec, Canada.

Kawchuk L.M., Hachey J., Lynch D.R., Kulcsar F., Waterer D.R., Robertson A., Kokko E., Howard R.J., Fischer R., Pruffer D., 2001. Tomato Ve disease resistance genes encode cell surface-like receptors. PNAS 98(11), 6511-6515.

Laterrot H., 1984. Specific resistance to *Verticillium dahliae* race 2 in tomato. Tomato Genet. Coop. Rpt. 34:10-11.

Messiaen C.M., Blancard D., Rouxel F., Lafon R., 1991. Les maladies des plantes maraîchères. Quae eds, 552 pp.

Piperidis J., Hibberd A.M., McGrath J., Godwin I.D., 1995. Mapping the genes for Fusarium race 3 resistance from *Lycopersicon pimpinellifolium*. Plant Genome IV Conference, January 1995, San Diego, CA.

Stamova J., 2006. Introgression of resistance to *Verticillium dahliae* race 2 into processing tomato cultivars in California. Acta Horticulturae (ISHS) 724, 39-43.

Stamova J., 2005. Resistance to *Verticillium dahliae* race 2 and its introgression into processing tomato cultivars. Acta Horticulturae (ISHS) 695, 257-262.