



HAL
open science

Fusariose de l'ail. Protocole d'inoculation des caïeux et échelle de notation des symptômes

Christel Leyronas, Lenny Buono, Paul L. Chretien, Magali Duffaud

► **To cite this version:**

Christel Leyronas, Lenny Buono, Paul L. Chretien, Magali Duffaud. Fusariose de l'ail. Protocole d'inoculation des caïeux et échelle de notation des symptômes. 2025, 7 p. <hal-05167175>

HAL Id: hal-05167175

<https://hal.inrae.fr/hal-05167175v1>

Submitted on 17 Jul 2025

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 CC BY-NC-ND 4.0 - Attribution - Non-commercial use - No Derivative Works - International License

Fusariose de l'ail.

Protocole d'inoculation des caïeux et échelle de notation des symptômes.

Version juillet 2025

Auteurs : Christel Leyronas, Lenny Buono, Paul Chrétien, Magali Duffaud.
INRAE, Pathologie végétale, UR407, F-84140 Montfavet

English version is available page 5.

Les présents documents ont été élaborés dans le cadre des projets suivants : GARLIC, financé par une subvention CASDAR du Ministère de l'Agriculture et de la Souveraineté Alimentaire (n°C2021-01) et par le Groupement d'Intérêt Scientifique pour la Production Intégrée des Cultures légumières » (GIS PIClég) ; GOUSSE financé par une subvention de la Structure Fédérative de Recherche TERSYS ; Thèse CIFRE (subvention n°2017/1440) financée par l'ANRT (Association Nationale Recherche Technologie) et par la filière française de l'ail (Prosemail, Coopérative Alinéa, Syndicat de l'ail rose de Lautrec).

Contexte

Ce protocole et cette échelle ont été mis au point afin d'évaluer l'agressivité de souches de *Fusarium proliferatum* et *F. oxysporum* sur ail, mais aussi d'évaluer la sensibilité de variétés d'ail vis-à-vis de ces deux champignons responsables des symptômes de fusariose (brunissement des caïeux lors du stockage de l'ail).

L'échelle de notation peut être également utilisée seule pour évaluer l'état d'un lot d'ail sur la base des symptômes observés.

Remarque importante : *F. proliferatum* et *F. oxysporum* se trouvent très souvent sous forme endophyte dans les tissus des caïeux (forme asymptomatique). A l'heure actuelle, il n'est donc pas possible de disposer de caïeux témoins dont on est sûr qu'ils sont non porteurs de *F. proliferatum* ou *F. oxysporum*. Ainsi les résultats d'inoculation doivent être interprétés avec prudence. Par exemple, dans le cadre de l'évaluation du comportement d'une nouvelle variété vis-à-vis de la fusariose, il conviendra de réaliser des inoculations sur plusieurs lots, provenant de différentes parcelles et de répéter le test plusieurs années d'affilée afin d'en tirer une valeur moyenne de sensibilité. Le témoin servira à connaître l'état sanitaire du lot d'origine.

Préparation du matériel végétal

Oter les tuniques des caïeux en veillant à ne pas blesser les tissus (outil, ongles...) en les manipulant avec des gants par exemple. Sélectionner des caïeux sans aucune tache typique de fusariose ou de présence d'autres agents pathogènes (*Penicillium* par exemple)

Désinfecter en surface les caïeux ainsi pelés : 1 minute dans un bain d'eau de chlore à 1% (50 ml d'eau de Javel à 9.6% de chlore actif dans 450 ml d'eau osmosée stérile) puis 3 bains successifs dans de l'eau stérile, 1 min chacun.

Matériel fongique

Produire des colonies de *F. proliferatum* ou *F. oxysporum* sur PDA (Potato Dextrose Agar) en boîte de Petri. Les stocker à une température comprise entre 20 et 22°C pendant 7 jours. Au bout de 7 ou 8 jours, en conditions d'asepsie, récolter le mycélium et les spores : ajouter 5 ml d'eau stérile dans la boîte de Petri puis frotter doucement la surface de la gélose avec une

spatule. Placer le matériel récolté dans un pilulier stérile puis ajouter 2 ml d'eau. Passer la suspension dans un filtre étamine positionné sur un entonnoir stérile afin d'ôter les morceaux de mycélium. Collecter le liquide avec les spores dans un nouveau pilulier.

Evaluer la concentration en spores de cette suspension à l'aide d'une cellule de Malassez. Ajuster la concentration à 10^5 spores/ml afin de produire 300 ml de suspension dans un bécher préalablement stérilisé. Pour vérifier la validité du test, faire un étalement de 100 μ L de cette suspension sur PDA. Evaluer le pourcentage de spores germées 24 heures plus tard.

Inoculation

Déposer 12 caïeux préalablement désinfectés en surface dans le bécher contenant la suspension. Fermer le bécher avec un papier aluminium stérile. Positionner le bécher sur un agitateur rotatif à 70 oscillations par minute (pour éviter la sédimentation des spores) pendant 24 h à une température comprise entre 20 et 22°C.

Le témoin négatif est constitué de caïeux placés dans de l'eau stérile au lieu de la suspension de spores, en suivant le même processus.

Au bout de 24h, retirer les caïeux du bécher et les placer dans des plaques avec des puits individualisés (1 caïeu/puits) partir basale vers le bas. Placer les plaques dans des boîtes hermétiques avec un papier buvard imbibé d'eau afin de maintenir 100% d'humidité tout au long de l'expérimentation. Stocker les boîtes à une vingtaine de degrés à l'obscurité.















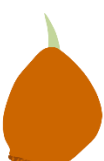
Ne pas placer les plaques témoins dans les mêmes boîtes que les plaques inoculées.

Notation des symptômes.

Les symptômes sont notés au cours du temps à l'aide de l'échelle dédiée (une quinzaine de jours est nécessaire pour le plein développement des symptômes).

Echelle de notation des symptômes de fusariose de l'ail



<p>0</p> 	<p>0,5</p>  <p>Ou</p>  <p>Ou</p>  <p>Mycélium sur les racines</p> <p>Petites taches claires</p> <p>Mycélium à la base du germe ou sur le germe</p>		<p>1</p>  <p>Ou</p>  <p>Mycélium sur les racines + petites taches claires</p> <p>Mycélium sur les racines + tache à la base du germe + petites taches claires.</p>		<p>1,5</p>  <p>Taches claires + attaque à la base du caïeu</p>		
<p>2</p>  <p>Ou</p>  <p>Mycélium sur les racines + taches foncées</p>		<p>2,5</p>  <p>Mycélium sur les racines + taches foncées + attaque à la base du caïeu</p>		<p>3</p>  <p>Ou</p> 	<p>3,5</p> 	<p>4</p> 	<p>5</p> 

Echelle de notation illustrée en photos

0



1



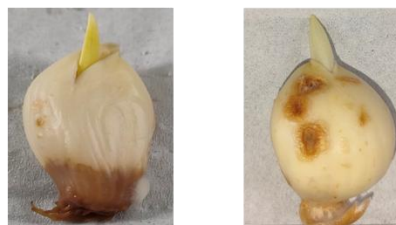
1,5



2



3



4



5



Fusarium dry rot of garlic (FDR)

Clove inoculation protocol and symptom rating scale.

July 2025

Authors: Christel Leyronas, Lenny Buono, Paul Chrétien, Magali Duffaud.
INRAE, Pathologie végétale, UR407, F-84140 Montfavet

The present documents have been developed within the framework of the following projects: GARLIC, financed by a CASDAR grant of the French Ministry of Agriculture and Food Sovereignty (n°C2021-01) and by the Groupement d'Intérêt Scientifique pour la Production Intégrée des Cultures légumières" (GIS PIClég); GOUSSE financed by a grant of the Federative Research Structure TERSYS ; CIFRE Thesis (grant n°2017/1440) financed by ANRT (Association Nationale Recherche Technologie) and by the French garlic industry (Prosemail, Coopérative Alinéa, Syndicat de l'ail rose de Lautrec).

Context

This protocol and this scale have been developed to assess the aggressiveness of *Fusarium proliferatum* and *F. oxysporum* strains on garlic, as well as to evaluate the susceptibility of garlic varieties to these two fungi responsible for dry rot symptoms (browning of cloves during garlic storage). The scale can also be used on its own to assess the sanitary status of a batch of garlic on the basis of symptoms observed.

Important note: *F. proliferatum* and *F. oxysporum* are very often found in endophytic form in clove tissue (asymptomatic form). It is therefore not possible to have control cloves which we are sure are not carriers of *F. proliferatum* or *F. oxysporum*. Inoculation results must therefore be interpreted with caution. For example, when evaluating the susceptibility of a new variety to Fusarium dry rot, inoculations should be carried out on several batches from different plots, and the test repeated several years in a row in order to obtain an average susceptibility value. The control will be used to determine the sanitary status of the original batch.

Preparation of plant material

Remove the clove skins, taking care not to damage the tissue (tools, fingernails, etc.), e.g. by handling with gloves. Select cloves with no spots typical of FDR or the presence of other pathogens (e.g. *Penicillium*)

Disinfect peeled cloves on the surface: 1 minute in a 1% chlorine water bath (50 ml bleach with 9.6% active chlorine in 450 ml sterile osmosis water), then 3 successive baths in sterile water, 1 min each.

Fungal material

Produce colonies of *F. proliferatum* or *F. oxysporum* on PDA (Potato Dextrose Agar) in Petri dishes. Store at 20-22°C for 7 days. After 7 or 8 days, under aseptic conditions, harvest the mycelium and spores: add 5 ml of sterile water to the Petri dish, then gently rub the surface of the agar with a spatula. Place the collected material in a sterile pillbox and add 2 ml of water. Pass the suspension through a cheesecloth filter positioned over a sterile funnel to remove any pieces of mycelium. Collect the liquid with the spores in a new pillbox.

Assess the spore concentration of this suspension using a Malassez cell. Adjust the concentration to 10^5 spores/ml to produce 300 ml of suspension in a sterilized beaker. To check the validity of the test, spread 100 μ L of this suspension on PDA. Assess the percentage of germinated spores 24 hours later.

Inoculation

Put 12 surface-disinfected cloves in the beaker containing the suspension. Seal the beaker with sterile aluminum foil. Place the beaker on a rotary shaker at 70 oscillations per minute (to avoid spore sedimentation) for 24 h at a temperature between 20°C and 22°C.

The negative control consists of cloves placed in sterile water instead of the spore suspension, following the same procedure.















After 24 h, remove the cloves from the beaker and place them in plates with individual wells (1 clove/well), basal side down. Put plates in airtight boxes with water-soaked blotting paper to maintain 100% humidity throughout the experiment. Store the boxes at around 20°C in the dark.

Do not place control plates in the same boxes as inoculated plates.

Notation of symptoms

Symptoms are recorded over time using a dedicated scale (a fortnight is required for full symptom development).

Notation scale of symptoms of fusarium dry rot of garlic

<p>0</p> 	<p>0,5</p>  <p>Or</p>  <p>Or</p>  <p>Mycelium on roots Small pale spots Mycelium at the base of the germ or on top of the germ</p>		<p>1</p>  <p>Or</p>  <p>Mycelium on roots + small pale spots Mycelium on roots + spot at the base of the germ + small spots</p>		<p>1,5</p>  <p>Spots + attack at the clove base</p>	
<p>2</p>  <p>Or</p>  <p>Mycelium on roots + dark spots</p>		<p>2,5</p>  <p>Mycelium on roots + dark spots + attack at the clove base</p>	<p>3</p>  <p>Or</p> 	<p>3,5</p> 	<p>4</p> 	<p>5</p> 