

LACTUMEL - Des résistances aux nématodes à galles du genre *Meloidogyne* dans le genre *Lactuca* : espoir pour la sélection de la laitue

Maisonneuve B.¹, Jouan C.¹, Gard B.^{2,3}, Gimenez S.¹, Goillon C.³, Jean L.¹, Trottin Y.², Védie H.⁴, Pitrat M.¹

¹ INRAE, UR1052, GAFL, CS 60094, F-84143 Montfavet Cedex

² CTIFL, 751 chemin de Balandran, F-30127 Bellegarde

³ APREL, Route de Mollégès, F-13210 Saint Rémy de Provence

⁴ GRAB, 255 Chemin de la Castelette, BP 11283, F-84911 Avignon Cedex 9

Correspondance : brigitte.maisonneuve@inrae.fr

Résumé

Une collection de *Lactuca* a été évaluée pour son comportement vis-à-vis de *Meloidogyne incognita*, par des tests en laboratoire, sur jeunes plantes en pots inoculées avec 400 larves au stade J2. La sélection des accessions résistantes a été effectuée d'après le nombre de pontes par plante après un cycle de développement des nématodes. Parmi les 569 accessions étudiées aucune n'a été immune. Cependant, parmi 409 variétés de laitue, 3% se sont révélées peu sensibles avec de nombreuses galles mais très peu de pontes ; parmi les 160 accessions de *Lactuca* sauvages, 54% étaient résistantes car, bien que portant des galles, l'ensemble du système racinaire avait moins de 10 pontes par plante. Le criblage réalisé sur deux plantes par accession a permis de retenir 102 accessions. Des contrôles plurilaboratoires de 52 de ces accessions avec deux souches ont confirmé la grande majorité des résultats avec 14 variétés de laitue et 36 *L. serriola* résistantes. Parmi ces accessions, quelques-unes étaient également résistantes (huit *L. serriola*) ou peu sensibles (PI 419140) à *M. arenaria* en laboratoire. De plus, un test avec une forte pression d'inoculation (2000 J2/plante) a confirmé le haut niveau de résistance des quatre *L. serriola* évaluées. Par ailleurs, 10 accessions ont été testées en pots vis-à-vis de populations de *Meloidogyne* de deux sols agricoles de Provence naturellement contaminés, en particulier par *M. arenaria* ; sur six *L. serriola* résistantes en laboratoires à *M. incognita* et *M. arenaria*, le nombre de pontes ainsi que le nombre de pontes par galle étaient réduits, par rapport aux témoins *L. serriola* sensibles à *M. arenaria* en laboratoire. Mais, l'accession avec le moins de galles et de pontes a été une accession de *L. virosa* sensible à *M. arenaria* en laboratoire. Ainsi, des géniteurs intéressants pour la sélection de variétés de laitue résistantes aux nématodes ont été identifiés.

Mots-clés : Evaluation variétale, Germplasm, Inoculation artificielle, Pontes, Espèces sauvages, *M. incognita*, *M. arenaria*

Abstract: Resistance to root-knot Nematodes in the genus *Lactuca*: hope for breeding resistant lettuce

Lactuca germplasm was evaluated by testing young plants in laboratory with *Meloidogyne incognita*. After inoculation with 400 juveniles (J2) per pot, the number of egg masses per plant was used to identify resistant accession. No accession among the 569 tested was immune. But 3% out of 409 *L. sativa* cultivars and 54% out of 160 wild *Lactuca* accessions exhibited less than 10 egg masses per plant and were selected as resistant accessions. Resistance of 52 out of the 102 resistant accessions screened on two plants was checked in three laboratories with two isolates; 14 cultivars and 36 *L. serriola* accessions confirmed low egg mass numbers. Few from these accessions were also resistant (eight *L. serriola*) or partly resistant (PI 419140) to *M. arenaria* in laboratory. After a strong inoculation (2000 J2/plant), the

high level of resistance of four accessions of *L. serriola* was confirmed. Moreover, 10 resistant accessions were tested in two agricultural soils contaminated with *Meloidogyne* populations especially *M. arenaria*. On six *L. serriola* which were resistant to *M. incognita* and *M. arenaria* in laboratory, egg mass number and number of eggs per gall were low in comparison with *L. serriola* control susceptible to *M. arenaria* in laboratory. But, the lowest numbers of galls and of egg masses were found on one *L. virosa* susceptible to *M. arenaria* in laboratory. In conclusion, some useful accessions were identified for lettuce breeding program for resistance to nematodes.

Keywords: Resistance test, Varietal evaluation, Germplasm, Egg mass, Wild species, *Meloidogyne incognita*, *M. arenaria*

Introduction

Dans les systèmes de cultures maraîchères, la laitue (*Lactuca sativa* L.) est une espèce majeure, aussi bien en culture d'hiver sous abri dans le sud-est de la France qu'en culture d'été dans des régions plus au nord. Dans ces systèmes culturaux, les populations d'agents pathogènes telluriques polyphages sont favorisées si les variétés cultivées lors de ces rotations sont sensibles. Parmi les agents pathogènes telluriques ayant un impact important sur l'économie des systèmes maraîchers, les nématodes à galles du genre *Meloidogyne*, présents dans les exploitations maraîchères, constituent un cas particulièrement délicat (Djian-Caporalino, 2010). En effet, quasiment toutes les espèces majeures des rotations traditionnelles sous abri froid sont sensibles aux *Meloidogyne* ; les Solanacées, les Cucurbitacées et les laitues peuvent être contaminées par les mêmes nématodes. A ce jour, les variétés de laitue cultivées sont sensibles aux principales espèces de *Meloidogyne* présentes dans ces sols. Chaque automne, certains producteurs du sud-est de la France subissent des pertes importantes sur les récoltes de novembre-décembre ; certains ont même supprimé cette première plantation de leur rotation sans avoir pourtant une culture de remplacement. Des pertes dues à *Meloidogyne* ont été signalées en Europe ; ainsi, *M. hapla* a été signalé en 2001 en Italie (Manachini *et al.*, 2003) et *M. arenaria* dans le sud de l'Espagne (Castillo *et al.*, 2006), première région de production de laitue en Europe. Dans le sud-est de la France, *M. incognita* et *M. arenaria* sont les nématodes les plus fréquents dans les sols maraîchers sous abri. La culture de variétés résistantes serait donc un levier très intéressant pour lutter contre ces agents pathogènes.

En Amérique, des résistances ont été identifiées chez quelques accessions de *Lactuca* : résistance à *M. incognita* chez la variété Salinas 88, à *M. incognita* et *M. javanica* chez Grand Rapids (Gomes *et al.*, 2000 ; Maluf *et al.*, 2002), Bix et Romana Balao (Charchar et Moita, 1996), à *M. hapla* chez Crespa Rapida (Carneiro *et al.*, 2000) et quelques accessions de *L. sativa* et d'espèces apparentées des collections de l'USDA (Kaur et Mitkowski, 2011). Aucun de ces génotypes n'est directement utilisable dans les cultures européennes. De plus, lors de quelques tests préliminaires, ces variétés se sont révélées sensibles à une souche française de *M. incognita*.

Cet article présente les résultats d'une évaluation d'une large collection de *Lactuca* vis-à-vis de *M. incognita* et, dans une moindre mesure, de *M. arenaria*. Le criblage a d'abord été réalisé sur des jeunes plantes en laboratoire et quelques accessions intéressantes ont été ensuite inoculées avec des sols naturellement contaminés.

1. Matériel et méthodes

1.1 Matériel végétal

Une collection de 409 variétés de laitue (*Lactuca sativa* L.) et 160 accessions de *Lactuca*, de neuf espèces sauvages apparentées, a été testée en laboratoire pour la résistance à *Meloidogyne incognita*. Cette collection comprenait d'une part 152 laitues beurre, 147 laitues batavia, 74 laitues à couper et 35 laitues

romaine-grasse et, d'autre part, 91 *L. serriola*, 14 *L. saligna*, 46 *L. virosa* et 9 accessions d'autres espèces sauvages compatibles. En outre, 90 de ces accessions (20 variétés, 59 *L. serriola*, 4 *L. saligna*, 7 *L. virosa*) ont été testées en laboratoire avec *M. arenaria*. Par ailleurs, 12 de ces accessions (3 *L. sativa*, 8 *L. serriola*, 1 *L. virosa*) ont été évaluées dans des sols naturellement contaminés prélevés dans des exploitations du sud-est de la France.

1.2 Souches de *Meloidogyne*

Les tests ont été réalisés avec deux espèces de *Meloidogyne* : *M. incognita* et *M. arenaria*. Le criblage a été effectué avec une souche provençale de *M. incognita*, collectée dans les Bouches du Rhône à 13680-Lançon (lieu-dit Calissane, hameau des Baisses ; 43°32' N, 5°9' E), et entretenue en laboratoire sur racines de tomate, Nainespomor, depuis 1999 à INRAE. Cette souche est celle utilisée pour les tests d'inscription des variétés de tomates *Mi* par le laboratoire SNES (GEVES, Station Nationale d'Essais de Semences, 49071 Beaucouzé). Elle sera nommée ici *M. incognita*-Fr. Certains tests de contrôle ont été réalisés avec une autre souche européenne d'origine non précisée qui sera nommée *M. incognita*-P3. Les tests de résistance à *M. arenaria* ont été réalisés avec deux souches ; d'une part, une souche collectée en Provence dans les Bouches du Rhône en 2014, nommée ici *M. arenaria*-Fr, d'autre part, une souche européenne d'origine non précisée, qui sera nommée *M. arenaria*-P3.

Les tests en sols naturellement contaminés ont été effectués avec des sols prélevés en Provence, dans deux exploitations des Bouches du Rhône, nommés « sol A » et « sol G », après des cultures d'été contaminées par des nématodes du genre *Meloidogyne*. Les analyses nématologiques, réalisées par le laboratoire de l'ANSES sur des échantillons prélevés avant plantation des laitues, ont révélé la présence dans le sol A de *M. incognita* et *M. arenaria* après une culture de concombre, et de *M. arenaria* dans le sol G après une culture biologique d'aubergine.

1.3 Tests en laboratoires de résistance à *Meloidogyne*

Tous les tests en laboratoire, après une mise au point dans des pré-tests avec *M. incognita*-Fr, ont été réalisés sur jeunes plantes en pots avec une inoculation du substrat par des larves au stade J2 ; ces larves ont été produites dans chaque laboratoire à partir de masses d'œufs collectés sur racines de tomates cultivées en containers en serre. Chaque pot, contenant un plant de laitue au stade 3-4 feuilles, a été infesté manuellement avec une suspension de J2 ; dans la majorité des tests, 400 J2 ont été apportées par pot (pots de 0,25 à 1,5 dm³ selon les tests ; Tableau 1). Quelques tests du criblage ont été inoculés avec un inoculum plus faible (J2 affaiblis pour 120 variétés dans le laboratoire P1, ou seulement 300 J2/pot pour sept accessions de la littérature dans le laboratoire P3). De plus, un contrôle de six géniteurs a été fait avec une forte pression d'inoculation (2000 J2 par pot de 0,6 dm³ en serre, soit 3333 J2/dm³ de substrat).

Les plantes en tests ont été cultivées en compartiment de serre, entre avril et octobre dans un laboratoire à Avignon, et en chambres climatisées dans les deux autres laboratoires (Tableau 1).

Pour le criblage de la collection, l'évaluation de la sensibilité a été réalisée visuellement sur l'ensemble du système racinaire en deux étapes : d'une part par un comptage du nombre de galles (nbG) avant la fin du cycle de développement des nématodes sur trois plantes en pots de 0,25 dm³ (inoculum équivalent à 1600 J2/dm³ de substrat), d'autre part par des comptages des nombres de galles et nombres de pontes (nbP) après un cycle complet sur deux plantes en pots de 0,6 dm³ (inoculum équivalent à 667 J2/dm³ de substrat). Les détails sont présentés dans le Tableau 1. Pour dénombrer les pontes, une coloration en rouge à l'éosine (ou par un colorant alimentaire) a été réalisée. La majorité du criblage pour la résistance à *M. incognita* a été effectuée en serre, mais sept géniteurs de la littérature ont également été testés en chambres climatisées.

Les tests de contrôles ont été effectués, pour chaque accession identifiée comme résistante ou peu sensible dans les tests de criblage, en serre et en chambres climatisées dans trois laboratoires ; les détails des conditions sont présentés dans le Tableau 1. Tous les tests de résistance à *M. arenaria* ont été faits en chambres climatisées.

Dans chaque test, les comptages des galles et des pontes sur les accessions sont comparés à des comptages sur des génotypes témoins : Cobham green (nommée Cg), laitue beurre, comme témoin de sensibilité, et *L. serriola* PIVT1309 (nommée PiMel), comme témoin de résistance à *M. incognita*. Suite aux résultats des criblages, la résistance est estimée par le nombre de pontes par plante.

Tableau 1 : Tests de résistance à *Meloidogyne* en laboratoire.

Tests	criblage pour résistance à <i>M. incognita</i> *		contrôle de résistance à <i>M. incognita</i>			criblage pour résistance à <i>M. arenaria</i>	
	P1	P1	P1	P 2	P3	P2	P3
laboratoires							
souches	<i>M. incognita</i> -Fr		<i>M. incognita</i> -Fr			<i>M. arenaria</i> -Fr	
			<i>M. incognita</i> -P3			<i>M. arenaria</i> -P3	
Conditions de tests							
climat	serre à Avignon avril à octobre		serre avril à septembre	chambres climatisées (CC) CC à 22°C CC à 20 ou 23°C		chambres climatisées (CC) CC à 22°C CC à 23°C	
pots ⁽¹⁾	3 pots de 0,25L	2 pots de 0,6L	3 pots de 0,6L	4 pots de 1L ou 1,5L	5 ou 4 pots de 0,6L	4 pots de 1,5L	5 ou 4 pots de 0,6L
inoculum	400 J2/pot (= 1600 J2/dm ³)**	400 J2/pot (= 667 J2/dm ³)**	400 J2/pot	400 J2/pot (= 400 ou 267 J2/dm ³)	400 J2/pot	400 J2/pot	400 J2/pot
Notation	à 2 stades		après 1 cycle de développement du nématode			après 1 cycle de développement du nématode	
stade	23 à 26 jpi	41 à 50 jpi	41-42 jpi	41-47 jpi	56-59 jpi	38-49 jpi	49-56 jpi
caractère ⁽²⁾	nbG	nbG et nbP	nbG et nbP	nbG et nbP	nbG et nbP	nbG et nbP	nbG et nbP
comptage (nb limite)	51 ou 101 ou 151	31P ou 51P ou toutes***	toutes G et P	101G et 51P	101G et 51P	101G et 51P	101G et 51P

* 5 géneurs de littérature testés aussi dans laboratoires P2 (400 J2/pot) et P3 (300 J2/pot) avec des comptages jusque respectivement, 31G et 21P ou 51 G et toutes les P

** inoculation avec J2 moins agressifs dans premiers tests (60 laitues beurre et 60 laitue batavia)

*** limite à 51G et 31P sur 2 tests, à 101G et 51P sur 5 tests, 151G et 51P sur 6 tests, toutes G et P comptées sur 10 tests ; avec témoins et plusieurs accessions comptées sur toutes G et P dans chaque test

(1) : pots de 0,25L = 7x7x8 ; pots de 0,6L = 9x9x10 ; volumes donnés par le fabricant

(2) : nbG = nombre de galles, nbP = nombre de masses d'œuf (pontes) après coloration à l'éosine

1.4 Tests en sols naturellement contaminés

Un essai préliminaire en 2014, sur deux *L. serriola* résistantes et le témoin sensible Cg, a montré l'intérêt de tests en pots remplis par des sols agricoles contaminés. Ainsi, en 2016, le test a été réalisé, dans des compartiments de serre au CTIFL de Balandran, sur des plantes en pots remplis de sols agricoles (A et G) de deux exploitations différentes. Les pots de 3 dm³ ont été remplis avec un mélange homogénéisé de sol agricole contaminé et de sable, à raison d'un volume de sable pour un volume de sol. Pour l'ensemble du test, cinq mélanges ont été effectués, soit trois mélanges avec le sol A et deux avec le sol G. La densité de nématodes a été estimée (laboratoire Elisol, F-30111 Congenies) de 1611 à 4333 J2/dm³ dans le mélange A et de 426 à 2593 J2/dm³ dans le mélange B. Dans ces tests, 12 accessions, choisies d'après les résultats des tests en laboratoires, ont été étudiées. Dix accessions résistantes à *M. incognita*, dont six *L. serriola* résistantes aussi à *M. arenaria*, et quatre accessions relativement sensibles à *M. arenaria* (PiMel, très sensible ; deux variétés, PI 419140 et une batavia ; une *L. virosa*) ont été comparées à deux témoins sensibles aux deux espèces de *Meloidogyne* (Cg et une *L. serriola*). Les plantes, élevées en mottes, sont rempotées, au stade 3-4 feuilles, dans les mélanges contenant les sols contaminés.

L'évaluation de la sensibilité a été réalisée visuellement sur l'ensemble du système racinaire, après un cycle complet de développement des nématodes, par un comptage du nombre de galles et du nombre de masses d'œufs sur 9 plantes par accession et par sol. Pour dénombrer les masses d'œufs, une coloration à l'éosine a été réalisée.

2. Résultats

2.1 Mise au point d'un test en laboratoire

Sur les 10 premiers tests avec *M. incognita*-Fr, une comparaison des valeurs des témoins Cg et PiMel inter-tests a été réalisée. Elle fait apparaître une assez forte variabilité intra et inter tests (Figure 1). La contamination plus faible dans les premiers tests (T1 et T2) s'explique par un inoculum sans doute plus faible, puisque les inoculations ont été réalisées avec des J2 âgés de deux jours, donc affaiblis ; ceci révèle l'importance de la qualité de l'inoculum. Par ailleurs, ces graphiques font aussi apparaître la meilleure identification des accessions résistantes par un comptage du nombre de pontes ; en effet, PiMel n'a jamais porté plus de 6 pontes par système racinaire avec une très large majorité des plantes sans aucune ponte (résultats de trois ans de tests avec divers modes d'inoculation, non présentés ici), alors que dans certains tests le système racinaire de PiMel pouvait porter plus de 50 galles, voire plus de 100 galles, avec une majorité de petites galles, bien différentes de celles sur Cg.

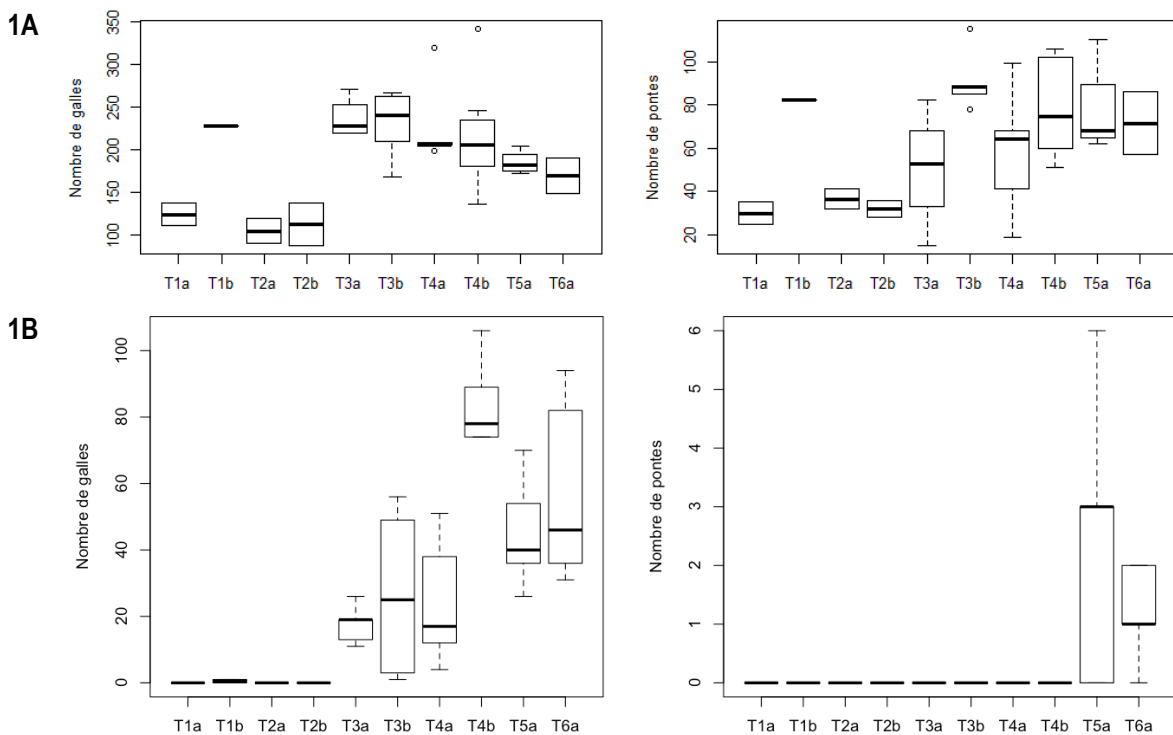
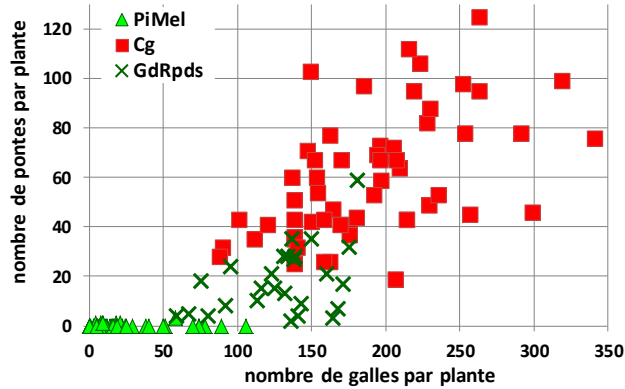


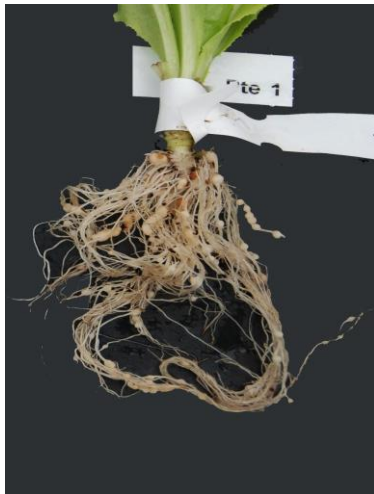
Figure 1 : Sensibilité à *M. incognita*-Fr des témoins (résultats de 10 tests, deux à cinq plantes par test). Nombre de galles (à gauche) et de pontes (à droite) à 42-50 jours après inoculation, présenté par des diagrammes en boîte (boxplot). **1A :** témoin sensible Cobham green ; **1B :** témoin résistant PIVT1309

Par ailleurs, sur les 15 tests de criblages (Figure 2), Cg porte toujours beaucoup de galles (88 à 341) et de pontes (19 à 125) et PiMel peu de galles (0 à 106) et très rarement quelques pontes (6 plantes avec NbP = 1 et une plante avec NbP = 3 sur 54 plantes). Grand Rapids (=GdRpd), variété notée résistante en Amérique, est intermédiaire entre ces deux témoins (59 à 181 galles et 2 à 59 pontes sur 26 plantes notées au total, plantes réparties dans sept tests). En moyenne de ces 15 tests, pour Cg, PiMel et Grand Rapids, les nombres de galles étaient respectivement de 189, 21 et 129 et les nombres de pontes de 60, 0 et 18.

2A



2B



2C

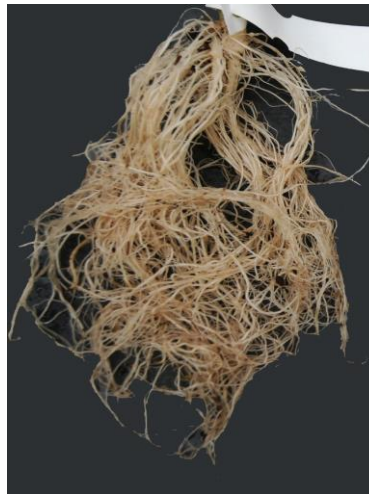


Figure 2 : Sensibilité à *M. incognita* des témoins : Cobham green (Cg), *L. serriola* PIVT1309 (PiMel) et Grand Rapids (GdRpds) ; résultats de 15 tests (Cg, PiMel) ou 8 tests (GdRpds), avec deux à cinq plantes par test. **2A** : Nombre de galles et de pontes à 42-50 jpi. **2B** : Galles sur Cg à 26 jpi. **2C** : Racines de PiMel à 26 jpi

Suite aux résultats des premiers tests, les identifications des accessions résistantes à *Meloidogyne* chez *Lactuca* ont été réalisées d'après les nombres de pontes (nbP) par plante dès le criblage des collections.

2.2 Criblage d'une collection de *Lactuca* : tests en laboratoire sur jeunes plantes inoculées par 400 J2 de *M. incognita*-Fr en compartiment de serre

Le criblage de **409 variétés de laitue**, en incluant les témoins Cobham green (Cg) et Grands Rapids (GdRpds), a montré une absence d'accessions immunes (Figure 3A), il y avait des galles sur les racines de toutes les plantes ; seules 5% des variétés portaient moins de 50 galles par système racinaire. Le comptage du nombre de pontes a permis d'identifier des accessions avec une résistance partielle, puisque **7% des variétés avaient moins de 10 pontes par plante**. Ainsi, 28 accessions potentiellement résistantes (deux laitues beurre, 16 batavia, neuf à couper et une romaine) ont été identifiées sur les deux plantes testées par génotype (Tableau 2). Parmi les **160 accessions d'espèces sauvages** testées (*L. serriola*, *L. saligna*, *L. virosa* et six autres espèces compatibles), aucune accession immune n'a été identifiée (Figure 3B) ; cependant, il faut souligner que pour 10 *L. serriola* et deux *L. virosa* le nombre de galles était inférieur à 30 dont deux *L. serriola* avec moins de 10 galles, ce qui révèle un haut niveau de résistance. Le comptage des nombres de pontes a permis d'identifier **88 accessions avec moins de dix pontes** (Tableau 2), donc classées résistantes en particulier dans l'espèce *L. serriola* (plus de 89% des accessions), le témoin PIVT1309 (PiMel) étant l'une des meilleures. Chez *L. saligna* et *L. virosa*, sept accessions (plus de 10%) avaient moins de dix pontes ; mais toutes les *L. saligna* et 89% des *L. virosa* portaient plus de 50 galles.

3A

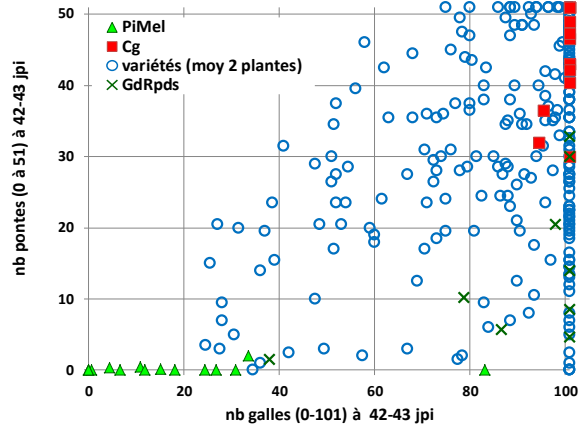


Figure 3 : Criblage d'une collection de 569 accessions *Lactuca* inocuées avec 400 J2 (= 667J2/dm³ de sol) de *M. incognita*. Nombre de galles et nombre de pontes par plante après un cycle de développement du nématode (moyenne de 2 plantes). **3A :** tests de 409 variétés de laitue (dont deux témoins, Cg et GdRpds) et le témoin résistant PiMel (*L. serriola*, PIVT1309) ; **3B :** tests de 160 accessions sauvages et témoin sensible Cg (variété Cobham green)

3B

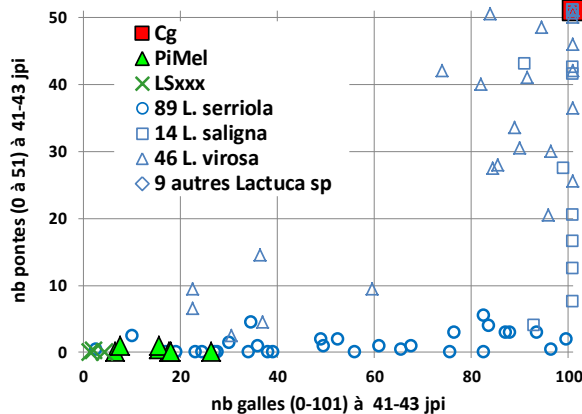


Tableau 2 : Criblage pour la résistance à *M. incognita*-Fr de 569 accessions de *Lactuca*. Nombre d'accessions de chaque groupe par classe de nombre de pontes par système racinaire après un cycle de développement des nématodes (moyenne de deux plantes par accession).

type d'accessions	nombre de pontes après un cycle de développement des nématodes				nb accessions testées
]0-5]]5-10]]10-30]	>30	
beurre	1	1	36	115	153
batavia	10	6	37	94	147
à couper et tige	6	2	18	48	74
romaine et grasse	0	1	4	30	35
cumul variétés de laitue	17	10	95	287	409
<i>L. serriola</i>	74	7	3	7	91
<i>L. saligna</i>	1	1	4	8	14
<i>L. virosa</i>	2	3	8	33	46
autres <i>Lactuca</i>	0	0	2	7	9
cumul <i>Lactuca</i> sauvages	77	11	17	55	160

2.3 Contrôle pluri-laboratoire de la résistance à *M. incognita*

Un contrôle de la résistance des accessions avec peu de pontes par plante au criblage a été réalisé dans trois laboratoires, avec deux souches de *M. incognita*. Les 27 accessions de *L. sativa* avec moins de 10 pontes ont été retenues mais seulement 36 des 74 *L. serriola* avec moins de 5 pontes ont été contrôlées. Ces tests, réalisés avec deux souches de *M. incognita* sur 3 à 5 plantes par laboratoire, confirment la résistance d'une large majorité des accessions identifiées résistantes au criblage. Ainsi, 14 des 27 variétés de laitue et les 36 *L. serriola* contrôlées, dont le témoin PIVT1309, sont résistantes à *M. incognita* dans les trois laboratoires.

Les témoins, laitue beurre Cobham green (Cg), batavia-iceberg Ithaca et *L. serriola* PIVT1309 (PiMel), donnent des résultats similaires dans les trois laboratoires (Figure 4). Sur les 27 variétés de laitues contrôlées, la résistance partielle de sept des huit laitues tige, de la laitue beurre et de la laitue romaine sont confirmées (nombreuses galles et moins de 5 pontes par plante). Pour les 17 laitues batavia, cinq, dont Grand Rapids, montrent une résistance partielle dans les trois laboratoires (Figure 4). Deux autres variétés criblées résistantes sont contrôlées résistantes chez P1 et P3, mais sensibles dans un test chez P2. Par contre, la résistance n'a pas été confirmée, dans au moins un laboratoire, pour les 12 autres laitues dont 11 avaient été inoculées avec des J2 affaiblis au criblage. Ceci montre l'importance de la qualité de l'inoculation dans l'évaluation de ces résistances.

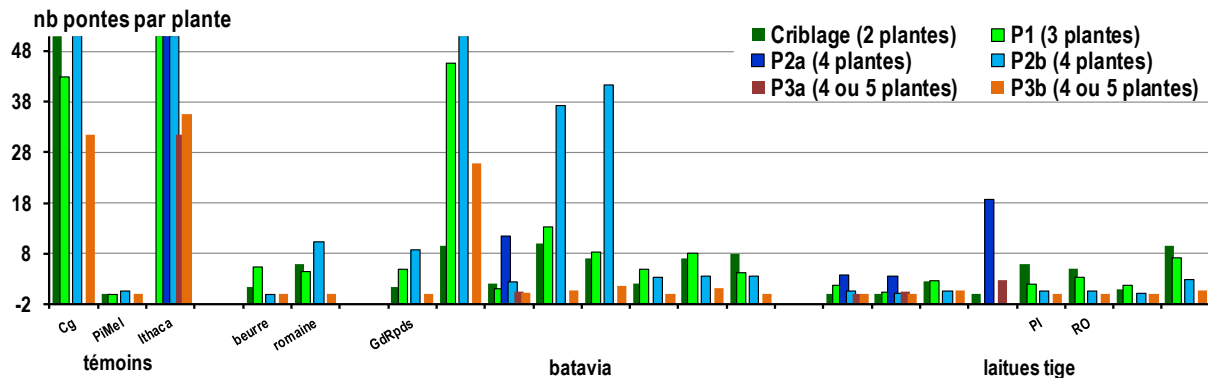


Figure 4 : Résistance à *M. incognita* dans trois laboratoires, avec, pour deux laboratoires, deux tests indépendants. Etude de 18 variétés de laitues identifiées comme résistantes à *M. incognita*-Fr au criblage et de 3 témoins (Cobham green, Cg, et Ithaca sensibles ; *L. serriola* PIVT1309, PiMel, résistante). Nombre de pontes par plante après un cycle de développement du nématode (moyenne de 3, 4 ou 5 plantes), tests P1 et P2 avec *M. incognita*-Fr, test P3 avec *M. incognita*-P3. Variétés déclarées résistantes à *Meloidogyne* dans la littérature : GdRpds (Grand Rapids), PI (PI 419140), RO (Red Orient).

Pour les *Lactuca* sauvages, 35 accessions de *L. serriola* et le témoin PiMel, parmi les 46 ayant de 0 à 2 pontes par plante au criblage, ont été contrôlées dans un, deux ou trois laboratoires. Sur toutes les plantes testées, les tests ont confirmé un très faible nombre de pontes (moins de 5 pontes, maximum de 11 pontes sur une plante chez P1). Le nombre de galles a été plus variable entre tests, avec plus de 100 galles chez la majorité des accessions testées chez P1 et chez P2, mais très peu de galles chez P3 (moins de 20 galles chez 9 des 14 *L. serriola* testées, dont 7 avec moins de 10 galles). Ces 36 *L. serriola* constituent ainsi une large gamme d'accessions de très bon niveau de résistance à *M. incognita*. En conséquence, les 52 autres *L. serriola* criblées résistantes (nbP moyen <10) n'ont pas été contrôlées sur des effectifs plus larges. De plus, comme *L. saligna* et *L. virosa* sont des espèces plus difficiles à utiliser en sélection (pool génique secondaire) et qu'aucune des sept accessions classées résistantes n'avait moins de 2 pontes en moyenne (nbP moyen de 2,5 à 9,5 ; au moins une plante de six de ces accessions avec plus de 5 pontes), elles n'ont pas été retenues pour les tests de contrôle avec *M. incognita*.

Par ailleurs quelques accessions résistantes, quatre *L. serriola*, une laitue tige (PI 419140) et Grand Rapids, ont été testées sous forte pression d'inoculum, c'est-à-dire en inoculant des pots de 0,6 dm³ avec 2000 J2 dans une serre en été, soit environ 3 333 J2/dm³ de substrat. Les quatre accessions de *L. serriola* testées restent résistantes avec peu ou pas de pontes et seulement parfois une augmentation du nombre de galles (Figure 5). Par contre, pour les deux accessions de *L. sativa*, les nombres de galles sont fortement augmentés ; le nombre de pontes de Grand Rapids (GdRpds) est également augmenté. Cette expérience confirme la supériorité des accessions de *L. serriola* (PiMel et trois LS dans ce test) alors que la résistance de Grand Rapids ne s'exprime pas sous forte pression d'inoculation. PI 419140 serait intermédiaire

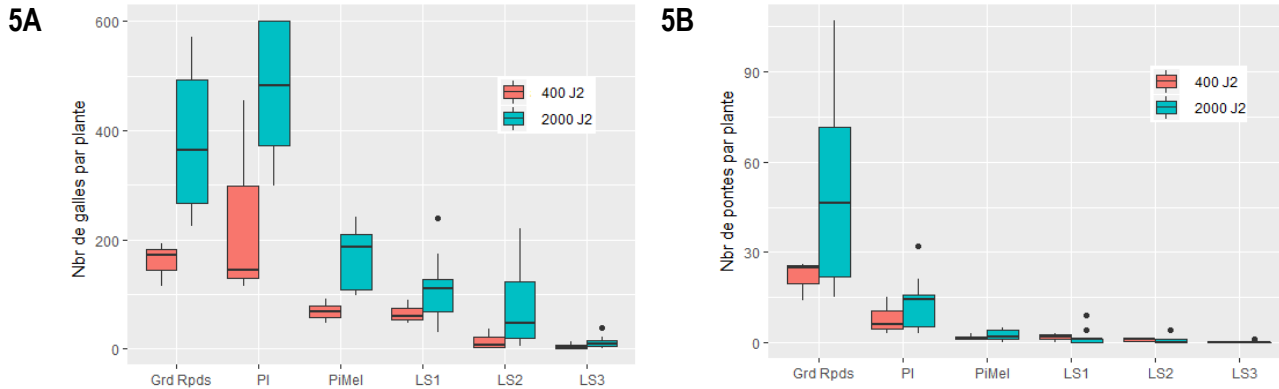


Figure 5 : Résistance à *M. incognita* de six accessions (Grand Rapids, PI 419140 et quatre *L. serriola*) sous deux pressions d'inoculation. Résultats de 10 ou trois plantes inoculées respectivement avec 2 000 J2 ou 400 J2, présentés par des diagrammes en boîte (boxplot). **5A :** Nombre de galles par système racinaire 41 jours après inoculation. **5B :** Nombre de pontes

2.4 Criblage d'une collection de *Lactuca* pour la résistance à *M. arenaria*

Sur les 19 variétés de *L. sativa* testées, dont 13 variétés contrôlées partiellement résistantes à *M. incognita*, aucune n'a été résistante à *M. arenaria*, avec plus de 100 galles et 15 pontes dans au moins un laboratoire ; cependant, la laitue tige PI 419140 peut être classée comme partiellement résistante avec moins de 20 pontes par plante dans les deux laboratoires.

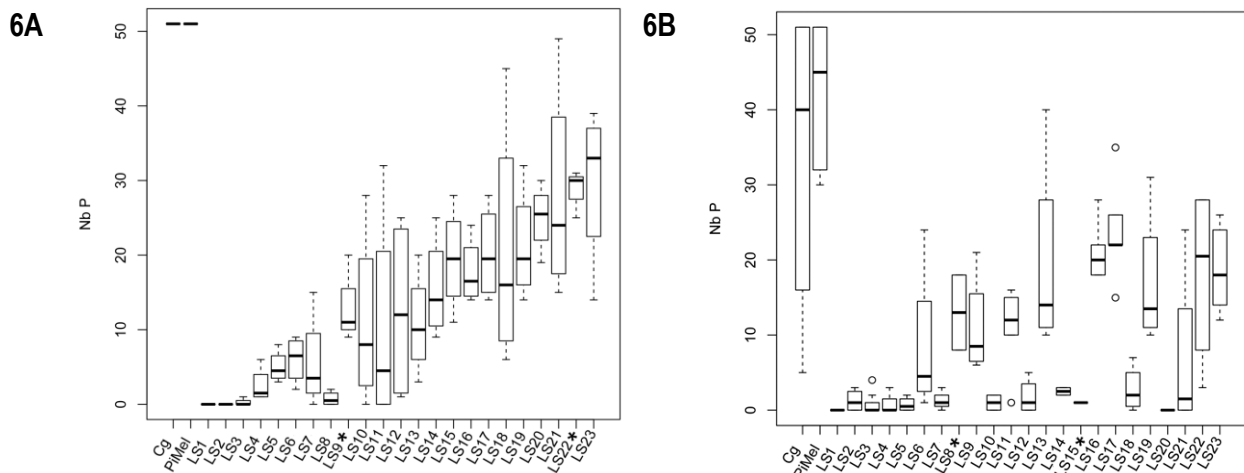


Figure 6 : Résistance à *M. arenaria* de *L. serriola* : nombre de pontes par plante dans deux laboratoires 41 jours après inoculation ; résultats de 24 accessions de *L. serriola* résistantes à *M. incognita* (PIMel et LS) et du témoin sensible *L. sativa* (Cg) présenté par des diagrammes en boîte (boxplot). **6A :** Etude de quatre plantes (ou trois plantes LS9 et LS22) chez P2, nbP borné à 51. **6B :** Etude de quatre à cinq plantes (ou deux plantes LS8 et une plante LS15) chez P3.

Parmi les 70 *Lactuca* sauvages (59 *L. serriola*, 4 *L. saligna*, 7 *L. virosa*) testées, seules cinq *L. serriola* (LS1 à LS5) peuvent être classées très résistantes à *M. arenaria* avec 0 à 5 pontes en moyenne par laboratoire et moins de 10 pontes sur toutes les plantes (Figure 6). Deux autres accessions (LS7 et LS8) sont partiellement résistantes avec 0 à 8 pontes par plante sauf sur une plante qui portait 15 ou 18 pontes. Pour les 16 autres *L. serriola* reportées sur la Figure 6, des variations inter et/ou intra laboratoires sont observées avec seulement cinq autres accessions classées partiellement résistantes avec moins de 30 pontes sur chaque plante et la moitié des plantes avec moins de 15 pontes dans les deux laboratoires. Sur l'ensemble des *L. serriola* testées, 45 accessions, dont les 36 non reportées sur la Figure 6, avaient

au moins une plante avec plus de 30 pontes. Les nombres de galles et de pontes de *M. arenaria* sont plus faibles ou plus variables entre plantes chez P3 que chez P2 pour les témoins Cg et PiMel (Figure 6) et pour 19 *L. serriola*. Ces expériences ne permettent pas de savoir si cela vient des conditions de tests ou de la souche de *M. arenaria*. Néanmoins, comme cet écart a été noté chez le témoin sensible Cg ainsi que dans quasiment tous les tests avec *M. incognita*, l'hypothèse d'un effet des conditions de test est privilégiée. Ainsi, nous n'avons retenu que les sept accessions portant moins de 20 pontes par système racinaire.

2.5 Tests en sols agricoles naturellement contaminés par Meloidogyne

Une analyse de variance des résultats montre un effet significatif à très significatif des génotypes ($P=0,016$ à $P< 0,001$) pour tous les caractères (nbG, nbP, nbG/g racine, nbP/g racine) et des sols ($P=0,009$ à $P< 0,001$) pour trois de ces caractères (nbG, nbG/g racine et nbP/g racine). Les nombres de pontes par plante sont présentés sur la Figure 7. Les accessions les plus contaminées correspondent à des accessions sensibles à *M. arenaria* en laboratoire (PiMel, LS-Ts, PI 419140). Parmi celles portant le moins de pontes, se trouvent les six *L. serriola* résistantes aux deux espèces de *Meloidogyne* (LS1 à LS8) mais aussi l'accession de *L. virosa* qui était sensible à *M. arenaria* en laboratoire. Les interactions génotype*sol ne sont pas significatives ($P=0,16$ à $P=0,98$ selon les caractères). Cependant, pour quelques accessions, le nbP est plus fort dans le sol G (LS2, LS5, PiMel, *L. virosa*) ou à l'inverse dans le sol A (Batavia et Cg). Ces différences pourraient résulter des écarts de niveau d'inoculum, de la répartition des espèces de nématodes dans les sols prélevés (*M. arenaria* et *M. incognita* dans le sol A et *M. arenaria* uniquement dans le sol G) ou du développement racinaire variable entre les deux origines de sol et entre génotypes.

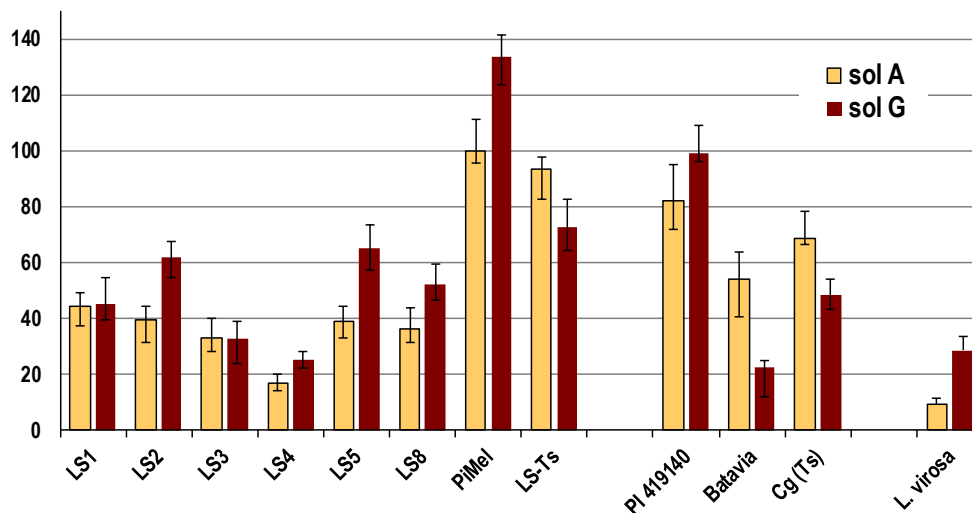


Figure 7 : Nombre de pontes par plante dans deux sols agricoles, A et G, (mélange sol:sable 1:1) sur huit *L. serriola*, trois variétés de laitue et une *L. virosa*. Ts = témoin sensible à *M. incognita* et *M. arenaria* en laboratoire

En effet, les poids moyens des systèmes racinaires sont significativement plus élevés dans le sol A que dans le sol G (Anova, $p<0.001$; respectivement 31,1 g et 22,9 g en moyenne) et extrêmement variables selon les génotypes (de 14,3 g pour la batavia à 39 g pour LS-Ts). Afin de prendre en compte la variabilité de contamination selon le développement des systèmes racinaires, les indices de mesures de l'impact des nématodes (nombre de galles et nombre de pontes) ont été pondérés par le poids moyen du système racinaire (Figure 8). De plus, afin d'évaluer la proportion des nématodes ayant pénétré dans les racines et accompli leur cycle de reproduction, le nombre de pontes pour 100 galles a été calculé (Figure 8). Ces trois indicateurs mettent en évidence deux types potentiels de résistance. D'une part, chez *L. serriola*,

dont les plantes portent un grand nombre de galles par gramme de racines mais peu de pontes, il y aurait un blocage du cycle du nématode dans la racine avant la ponte comme cela a été observé en laboratoire. D'autre part, chez *L. virosa*, le blocage serait plus précoce, soit au niveau de la pénétration des nématodes, soit peu après, puisque le nombre de galles est très limité ; mais, une fois dans la racine, le blocage du développement des nématodes serait moindre par rapport aux résistances des *L. serriola*. Cette résistance de *L. virosa* n'aurait pas été observée avec les deux souches utilisées en laboratoire puisque les nombres de galles sont égaux ou proches de ceux obtenus sur Cg, PiMel, LS-Ts dans les deux laboratoires. Deux hypothèses peuvent être envisagées : soit cette résistance « au champ » serait spécifique des souches de *M. arenaria* présentes dans les sols A et G et ne serait pas efficace contre les souches utilisées en laboratoire ; soit la pression d'inoculation de *L. virosa* aurait été plus faible en raison d'un système racinaire peu développé au stade de plantation dans les mélanges avec les sols contaminés. Par ailleurs, le relativement faible nombre de galles chez la batavia pourrait s'expliquer par le faible poids de racines dans chacun des sols comme cela a été observé dans les tests en laboratoire sur plusieurs laitues batavia. Pour cette accession, le nbP/100G élevé révèle la sensibilité à *M. arenaria* observée en laboratoire.

Ces essais en sol agricole de Provence montrent ainsi l'intérêt potentiel de certains des géniteurs identifiés en laboratoire ; mais ces résultats doivent être confirmés par des essais sur d'autres sols, avec différentes populations de *Meloidogyne* et différentes pressions d'inoculum.

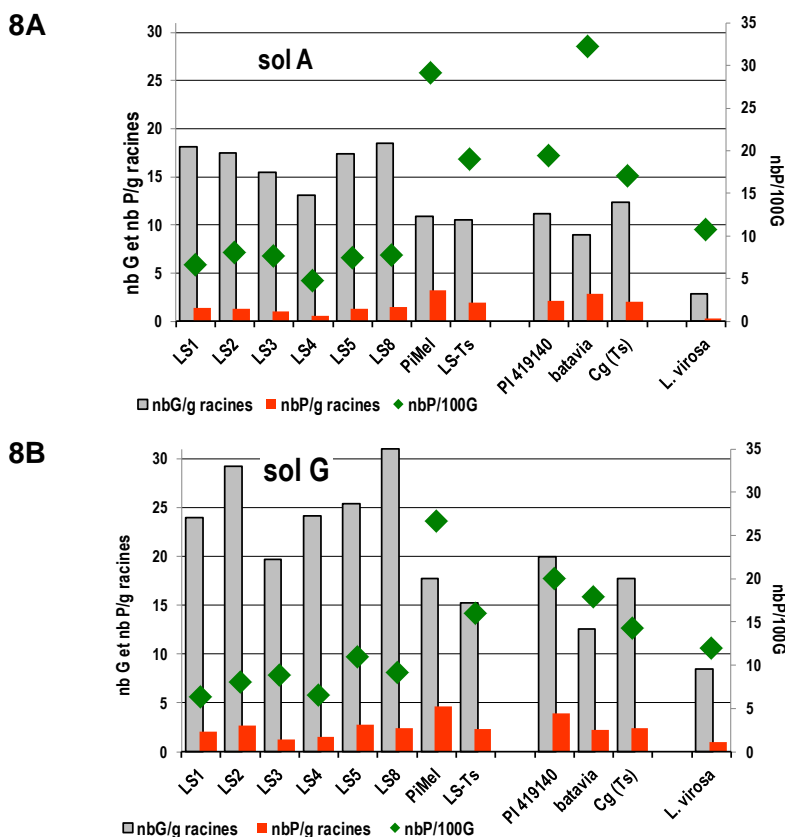


Figure 8 : Contamination par *Meloidogyne* de huit *L. serriola*, trois variétés de laitue et une *L. virosa* en sols agricoles prélevés en Provence. Nombre de pontes (nbP) pour 100 galles (G), nombre de pontes et nombre de galles par g de racines. Ts = témoin sensible à *M. incognita* et *M. arenaria* en laboratoires. **8A:** résultats en sol A, contenant *M. incognita* et *M. arenaria* à la plantation, mais seulement *M. arenaria* après la culture des laitues. **8B:** résultats en sol G contaminé par *M. arenaria*

Discussion et conclusions

Ces résultats montrent qu'en inoculant de jeunes plantes en pots avec des larves au stade J2 de *Meloidogyne*, il est possible d'identifier des accessions résistantes en prenant comme critère le nombre de pontes (masses d'œufs) après un cycle de développement du nématode. Sur 569 accessions appartenant à neuf espèces de *Lactuca*, nous n'avons identifié aucune espèce non hôte avec *M. incognita*-Fr, ni aucune accession immune malgré cette large diversité. Cependant, des accessions portant moins de 10 pontes de *M. incognita* ont été identifiées dans chaque groupe avec 3% des 409 variétés et 54% des 160 accessions sauvages testées ; elles sont considérées comme résistantes.

Parmi les 14 variétés résistantes à *M. incognita*, quelques-unes avaient déjà été identifiées comme résistantes à certaines espèces de *Meloidogyne* : Grand Rapids résistante à *M. incognita* et *M. javanica* (Gomes *et al.*, 2000), Red Orient et PI 419140 résistantes à *M. hapla* (Kaur et Mitkowski, 2011). Par contre, plusieurs variétés de la littérature, résistantes dans notre criblage, n'ont pas exprimé de résistance dans les contrôles par P2 avec *M. incognita*-Fr : Bix (Charchar et Moita, 1996), Coolguard (Wilcken *et al.*, 2005). Ceci ne peut pas venir d'un effet souche, ni d'un effet concentration de l'inoculum puisque ces tests de contrôle correspondent à une pression d'inoculation moindre (400 J2/dm³). Il pourrait s'agir de résistance d'expression peu stable comme cela a aussi été observé avec Grand Rapids (Figure 2). Sachant qu'il y a des variétés avec des résistances d'expression plus stable, comme PI 419140, s'exprimant dans les trois laboratoires (Figure 4), avec des pressions d'inoculations variables (Tableau 1), les variétés à réponse irrégulière n'ont pas été retenues.

Le criblage en laboratoire d'une large collection de *Lactuca* sauvages permet de renforcer les résultats obtenus avec 51 accessions sauvages de trois espèces inoculées par *M. hapla* aux USA (Kaur et Mitkowski, 2011) sur le large réservoir de géniteurs de résistances aux *Meloidogyne* dans ces espèces. Nos tests montrent le potentiel particulièrement important de *L. serriola* avec 89% des 91 accessions portant moins de 10 pontes par plante au criblage dont 10 ayant moins de 30 galles alors que le témoin sensible Cg et quelques accessions sauvages sensibles portaient plus de 50 pontes et plus de 100 galles. Parmi les 14 *L. saligna* et 46 *L. virosa*, quelques accessions sont également résistantes (nbP<10 au criblage) mais en proportion moindre (2 *L. saligna* et 5 *L. virosa*) ; la résistance chez *L. saligna* est d'un type voisin de celle de *L. sativa* avec de très nombreuses galles (nbG>90), alors que l'expression chez *L. virosa* serait voisine de celle de *L. serriola* avec très peu de galles (deux accessions avec moins de 30 galles et trois avec 30 à 40 galles). Parmi ces géniteurs, une seule *L. serriola* (PI 281876, donnée comme *L. saligna* sur le site du GRIN) avait été décrite résistante à *M. hapla* (Kaur et Mitkowski, 2011), mais les autres accessions résistantes à *M. hapla* (*L. dregeana* PI 273579, donnée comme *L. virosa* sur le GRIN ; *L. saligna* PI 261653 et PI 491000) étaient sensibles à *M. incognita*-Fr dans nos tests avec plus de 100 galles et plus de 50 pontes.

Parmi les 84 accessions résistantes à *M. incognita* testées avec *M. arenaria*, seules quelques *L. serriola*, correspondant pour l'essentiel à des accessions collectées en France en 1981-1982, sont également résistantes à *M. arenaria* dans les deux laboratoires. Ainsi, les résistances à *M. arenaria* semblent moins fréquentes que celles à *M. incognita* dans le genre *Lactuca*. Ceci peut être un frein à la sélection de laitue avec une résistance durable aux nématodes, puisque *M. arenaria* est devenu fréquent dans le sud-est de la France.

Parmi les *L. serriola* résistantes aux deux espèces de *Meloidogyne* en laboratoire, deux accessions ont significativement moins de pontes par gramme de racines dans deux sols agricoles naturellement contaminés par *M. arenaria*, par rapport aux témoins, Cg et *L. serriola*, sensibles, mais un plus grand nombre de galles. Pour les autres accessions testées en sol agricole, l'accession *L. virosa*, bien que sensible à *M. arenaria* dans les tests en laboratoire, est apparue la moins attaquée en particulier dans le sol A. Ceci pourrait venir d'un effet souche ou bien d'une faible contamination des racines de *L. virosa* due à un système racinaire peu développé au moment du repiquage en sol contaminé ; en effet, le développement de certaines accessions sauvages est lent en début de vie de la plante, même si, en fin

de croissance, ces plantes ont des systèmes racinaires très vigoureux. Nos expériences ne permettent pas de conclure entre ces hypothèses. Cependant, l'indice de reproduction des nématodes dans les deux sols agricoles reflète bien les résultats obtenus en laboratoire vis-à-vis de *M. arenaria* puisque les six accessions résistantes à *M. arenaria* en laboratoire sont celles ayant les indices les plus faibles.

Ce travail a permis d'identifier de nombreux géniteurs potentiels de résistance à *M. incognita*. Il sera intéressant d'étudier les déterminismes génétiques et savoir s'il y a des gènes différents afin de réfléchir à une gestion durable de ces résistances. Quelques-unes de ces accessions sont également résistantes à *M. arenaria* en laboratoire et même, pour certaines, en sols agricoles ; cependant leur efficacité vis-à-vis de la diversité des populations de nématodes mérite d'être plus largement éprouvée. Les accessions résistantes sont remarquables par le blocage du cycle des nématodes, mais ne limitent pas forcément le nombre de galles sur les racines ; ainsi il serait utile de déterminer l'effet des galles sur la croissance des plantes.

Remerciements

Ces travaux ont bénéficié du soutien financier du Ministère de l'Agriculture (projet CASDAR LactuMel 2014-2016, N° C-2013-02) et du GIS PicLég. Les résultats ont été obtenus par la collaboration d'INRAE, de deux sélectionneurs privés (Gautier Semences et Rijk Zwaan) et de trois instituts techniques (CTIFL, APREL et GRAB). Les auteurs remercient C. Djian-Caporalino pour ses conseils au cours de ces recherches, ainsi que A. Bardel, J.M. Leyre, V. Baffer et A. Sassi pour leurs participations aux tests.

Références bibliographiques

- Carneiro R.M.D.G., Randig O., Almeida M.R.A., Campos A.D., 2000. Resistance of vegetable crops to *Meloidogyne* spp.: suggestion for a crop rotation system. *Nematologia Brasileira*, 24, 49-54
- Castillo P., Landa B.B., Navas-Cortes J.A., Vovlas N., Jimenez-Diaz R.M., 2006. First report of *Meloidogyne arenaria* parasitizing lettuce in southern Spain. *Plant Disease* 90, 975
- Charchar J.M., Moita A.W., 1996. Response of lettuce cultivars to a population mixture of *Meloidogyne incognita* race 1 and *M. javanica* under field conditions. *Horticultura Brasileira* 14, 185-189
- Djian-Caporalino C., 2010. Nématodes à galles, des ravageurs de plus en plus préoccupants : Résultats de trois ans d'enquête dans quinze régions françaises. *Phytoma* 638, 43-49
- Gomes L.A.A., Maluf W.R., Campos V.P., 2000. Inheritance of the resistant reaction of the lettuce cultivar 'Grand Rapids' to the southern root-knot nematode *Meloidogyne incognita* (Kofoid & White) Chitwood. *Euphytica* 114, 37-46
- Kaur P., Mitkowski N.A., 2011. Evaluation of *Lactuca* germplasm for resistance to the northern root-knot nematode. *International Journal of Vegetable Science* 17, 26-36
- Maluf W.R., Azevedo S.M., Gomes L.A.A., Cláudia A., de Oliveira B., 2002. Inheritance of resistance to the root-knot nematode *Meloidogyne javanica* in lettuce. *Genetics and Molecular Research* 1 (1): 64-71
- Manachini B., Landi S., Agosti M., 2003. *Meloidogyne hapla* Chitwood attacks on *Lactuca sativa* L. and *Spinacia oleracea* L. in Northern Italy. *Informatore Fitopatologico* 53, 53-54

Cet article est publié sous la licence Creative Commons (CC BY-NC-ND 3.0).



<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/3.0/fr/>

Pour la citation et la reproduction de cet article, mentionner obligatoirement le titre de l'article, le nom de tous les auteurs, la mention de sa publication dans la revue « Innovations Agronomiques », la date de sa publication, et son URL).