

Évaluation de la réaction aux nématodes à lésions chez des bananiers résistants à la fusariose

R. Stoffelen, R. Verlinden,
J. Pinochet, R. Swennen
et D. De Waele

La fusariose ou maladie de Panama, causée par *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* (Foc), est présente dans la plupart des zones de production bananière du monde et affecte beaucoup de génotypes de bananiers importants. Ce champignon vivant dans le sol colonise le xylème de la plante hôte, provoquant des occlusions vasculaires et une décoloration brun rougeâtre. Les feuilles tournent au jaune vif, flétrissent et s'affaissent sur le pseudotrunc (Ploetz 1994). Aucun fongicide n'agit efficacement contre l'agent pathogène, qui peut survivre très longtemps dans le sol. Quand un champ est infecté, il est impossible d'y cultiver des génotypes sensibles pendant une période pouvant aller jusqu'à 30 ans.

Dans le cadre de la phase II du Programme international d'évaluation des *Musa* (IMTP), on a évalué la résistance d'hybrides améliorés de bananiers et de plantains à la fusariose (Orjeda 1998). Grâce à ces essais, on dispose aujourd'hui de plusieurs sources de résistance à cette maladie fongique (Shepherd *et al.* 1994, Pires de Matos *et al.* 1998, Orjeda *et al.* 1999, Tang et Hwang 1999).

Les bananiers et les bananiers plantain ne sont pas seulement attaqués par des champignons, mais aussi par d'autres agents pathogènes comme les nématodes, parmi lesquels *Radopholus similis*, *Pratylenchus coffeae*, *Pratylenchus goodeyi*, *Helicotylenchus multicinctus* et *Meloidogyne* spp. sont les espèces les plus communes et les plus dévastatrices (Gowen et Quénehervé 1990). Dans les champs infestés de nématodes, les pertes causées par la réduction de la croissance des plants, l'allongement de la phase végétative, la diminution de la taille des régimes, la chute des plants et la moindre longévité de la plantation peuvent atteindre des niveaux très élevés.

L'objectif de cette étude consistait à évaluer 10 génotypes de *Musa* résistants ou moyennement résistants à la fusariose identifiés dans le cadre de l'IMTP, afin de déterminer leur résistance aux nématodes causant des lésions sur les racines, *R. similis* et *P. coffeae*. On a inclus dans ces essais trois génotypes de référence sensibles à la fusariose, 'Gros Michel', 'Williams' et 'Bluggoe' (Jones 1994). La résistance de ces génotypes à *P. goodeyi* et *Meloidogyne* spp. a été éva-

luée précédemment par Pinochet *et al.* (1998). Dans cette étude, on a suivi la méthodologie décrite par Speijer et De Waele (1997).

Matériel et méthodes

Préparation des plants

On a repiqué des vitroplants dans des pots en plastique d'un litre contenant du sol sablo-limoneux stérilisé en autoclave. Les pots ont été placés dans une serre à une température ambiante de 20-27°C, sous photophase de 12 heures. Ils ont été arrosés selon les besoins et fertilisés avec une solution hydroponique toutes les trois semaines après l'inoculation des nématodes.

Préparation de l'inoculum

Les populations de *R. similis* et *P. coffeae* utilisées dans ces essais ont été isolées à l'origine dans des racines infectées d'un cultivar de bananier 'Valery' (groupe AAA) provenant de Talamanca, au Costa Rica, pour *R. similis* et d'un cultivar de plantain (groupe AAB) provenant de Kade, au Ghana, pour *P. coffeae*. Ces nématodes ont été cultivés en conditions monoxéniques sur des rondelles de carotte à 28°C dans le noir (Moody *et al.* 1973, Pinochet *et al.* 1995). On a ajusté la quantité d'inoculum de façon à pouvoir injecter une suspension contenant à peu près 1 000 oeufs et nématodes vermiformes vivants dans trois trous pratiqués dans le sol autour des racines de chaque plant.

Évaluation de la résistance de la plante hôte

On a inoculé les plants avec les nématodes après quatre semaines d'acclimatation. L'extraction a été effectuée huit semaines après l'inoculation chez les plants inoculés avec *R. similis* et deux semaines plus tard chez les plants inoculés avec *P. coffeae*, ce nématode ayant un cycle biologique plus long. On a broyé un sous-échantillon de 15 g de racines fraîches à l'aide d'un mixeur pendant deux périodes de 10 secondes séparées par une pause de 5 secondes. Puis on a passé les nématodes sur des tamis de 250, 106 et 40 µm. Dans la suspension contenant les nématodes recueillis sur le tamis de 40 µm, on a prélevé une aliquote de 6 ml et procédé au comptage à l'aide d'un microscope binoculaire.

Dispositif expérimental et analyse des données

Les génotypes ont été répartis en deux lots incluant chacun 'Grande Naine' (groupe

AAA) comme cultivar de référence sensible. On a effectué quatre essais successifs pour déterminer la réponse des génotypes des deux lots à *R. similis* et *P. coffeae*. Dans chaque essai, on a utilisé un dispositif en blocs de Fisher avec huit répétitions par génotype. Les nombres de nématodes ont été transformés au moyen du logarithme $\log_{10}(x+1)$ avant d'être soumis à une analyse de variance. On a séparé les moyennes à l'aide du test de Tukey à $P \leq 0,05$.

Résultats

Radopholus similis

Dans le lot n° 1, on a observé des différences significatives de sensibilité à *R. similis* (tableau 1). Chez les deux accessions de 'Pisang Jari Buaya' et chez 'Yangambi Km5', le nombre de nématodes était significativement plus bas que chez le cultivar de référence sensible 'Grande Naine'. Le nombre de nématodes récupérés par système racinaire étant inférieur au nombre contenu dans l'inoculum, les accessions de 'Pisang Jari Buaya' ITC0312 et ITC0690, ainsi que 'Yangambi Km5', peuvent être considérées comme résistants à *R. similis*. La sensibilité des génotypes 'Gros Michel', 'FHIA-01' et 'Bluggoe' n'était pas significativement différente de celle de 'Grande Naine'.

Tous les génotypes du lot n° 2 – 'PA 03.22', 'PV 03.44', 'P. lilin', 'Saba', 'GCTCV 215', 'GCTCV 119' et 'Williams' – se sont révélés statistiquement aussi sensibles à *R. similis* que 'Grande Naine' (tableau 1). Seul 'PA 03.22' contenait un nombre de nématodes significativement plus faible que celui de 'Williams'.

Pratylenchus coffeae

Tous les génotypes des lots n° 1 et 2 se sont révélés statistiquement aussi sensibles à *P. coffeae* que 'Grande Naine', le cultivar de référence sensible (tableau 1). Dans le lot n° 1, on a enregistré le plus grand nombre de nématodes par système racinaire chez 'Bluggoe'. Ce cultivar s'est montré significativement plus sensible que tous les autres génotypes de ce lot, excepté 'Grande Naine'. Dans le lot n° 2, on a récupéré le plus grand nombre de nématodes par système racinaire chez 'Saba', qui était significativement plus sensible que tous les autres génotypes de ce lot, y compris 'Grande Naine' (tableau 1).

Discussion

Sur les 14 génotypes de *Musa* évalués, trois ont fait preuve de résistance à *R. similis* : les accessions de 'Pisang Jari Buaya' ITC0312 et ITC0690, ainsi que 'Yangambi Km5'. La résistance de ces génotypes à *R. similis* avait déjà été signalée précédemment (Wehunt *et al.* 1978, Pinochet et Rowe 1979, Price 1994, Fogain et Gowen 1998). Les deux premiers appartiennent au sous-groupe 'Pisang Jari

Tableau 1. Reproduction des nématodes chez 10 génotypes résistants et trois génotypes sensibles à la fusariose et chez le cultivar de référence 'Grande Naine', mesurée huit semaines (*R. similis*) et 10 semaines (*P. coffeae*) après l'inoculation.

Accession	Réaction à la fusariose	Code ITC	Nombre de <i>R. similis</i> par système racinaire	Nombre de <i>P. coffeae</i> par système racinaire
Lot n° 1				
			P_i = 1006 œufs et nématodes vermiformes	P_i = 1004 œufs et nématodes vermiformes
Pisang Jari Buaya	résistant	0312	673 a	1 673 a
Yangambi Km5	résistant	1 123	792 a	1 724 a
Pisang Jari Buaya	résistant	0690	999 a	1 374 a
Gros Michel	sensible	1 122	2 513 ab	1 392 a
FHIA-01	résistant	0504	3 790 bc	1 585 a
Bluggoe	sensible	0643	9 786 c	4 590 B
Grande Naine		1 256	6 761 bc	2 082 ab
Lot n° 2				
			P_i = 926 œufs et nématodes vermiformes	P_i = 1 178 œufs et nématodes vermiformes
PA 03.22	résistant	1 261	4 987 A	9 530 B
PV 03.44	résistant	1 262	8 400 AB	6 298 AB
Pisang lilin	résistant	0001	10 857 AB	8 731 AB
Saba	résistant	1 138	12 754 AB	27 817 C
GCTCV 215	résistant	1 271	13 156 AB	4 454 A
GCTCV 119	résistant	1 282	14 686 AB	8 278 AB
Williams	sensible	0570	23 216 B	12 936 B
Grande Naine		1 256	14 686 AB	9 601 AB

ITC = Centre de transit de l'INIBAP; P_i = population initiale.

Pour l'analyse, on a transformé les données au moyen du logarithme $\log_{10}(x+1)$. Dans une même colonne, les moyennes suivies de la même lettre ne présentent pas de différence significative (test de Tukey, P ≤ 0,05).

Buaya', qui se compose de variétés diploïdes AA dont plusieurs se montrent résistantes ou moins sensibles à *R. similis* (Wehunt *et al.* 1978). Nos observations sur la résistance de deux accessions de 'Pisang Jari Buaya' provenant de deux sites différents (accession ITC0312 de Malaisie, accession ITC0690 d'Indonésie) confirment de nouveau la résistance de ce génotype à *R. similis*. L'utilisation de 'Pisang Jari Buaya' dans le programme d'amélioration génétique de la *Fundación Hondureña de Investigación Agrícola* (FHIA) au Honduras a abouti à l'homologation de l'hybride commercial 'FHIA-01' (AAAB) (Rowe et Rosales 1993). Des études récentes ont montré que 'FHIA-01' était doté d'une résistance partielle à *R. similis* quand l'évaluation portait sur des plants de 3 à 4 mois issus de souches. En revanche, les plants issus de culture *in vitro* se sont révélés aussi sensibles à *R. similis* que les cultivars de référence sensibles (INIBAP 1998). Nos résultats confirment que les plants de 'FHIA-01' issus de culture *in vitro* ne sont pas résistants à ce nématode, au moins durant les huit semaines suivant l'inoculation.

'Yangambi Km5', seconde source de résistance à *R. similis*, est une variété triploïde AAA collectée en République démocratique du Congo. Bien qu'ayant une fertilité mâle et femelle, cette variété n'est pas utilisée dans les programmes d'amélioration parce que ses descendances produisent systématiquement des feuilles anormales et/ou des régimes érigés ou semi-érigés.

Dans des évaluations antérieures, 'Gros Michel' s'était montré moins sensible à *R. similis* que le cultivar sensible 'Poyo' (groupe AAA) (Mateille 1992, Price 1994).

Dans la présente étude, la réponse de 'Gros Michel' n'était pas claire, le nombre de nématodes par système racinaire ne différait pas significativement de celui du cultivar de référence sensible 'Grande Naine' et de celui des accessions résistantes de 'Pisang Jari Buaya' et de 'Yangambi Km5'.

Aucun des 14 génotypes de *Musa* évalués dans cette étude n'a fait preuve de résistance à *P. coffeae*. Cela confirme des résultats précédents quant à la sensibilité de 'Pisang Jari Buaya' à ce nématode (Pinochet et Rowe 1978, INIBAP 1998). Une résistance partielle a été observée antérieurement chez 'Yangambi Km5' après inoculation, tant de la part des vitroplants que des plants issus de souches (INIBAP 1998). Pourtant, dans la présente étude, 'Yangambi Km5' s'est montré aussi sensible à *P. coffeae* que le cultivar de référence 'Grande Naine'.

Toutes les sources de résistance à *F. oxysporum* f. sp. *cubense*, à l'exception de 'Pisang Jari Buaya' et de 'Yangambi Km5', sont extrêmement sensibles à *R. similis* aussi bien qu'à *P. coffeae*. Des criblages effectués par Pinochet *et al.* (1998) ont révélé que tous ces génotypes étaient également sensibles à *Meloidogyne javanica* et *M. incognita* et, à l'exception de 'Yangambi Km5', constituaient de bons hôtes pour *P. goodeyi*. Si l'on cultive ces génotypes dans des champs infestés par ces nématodes, il faut s'attendre à des pertes de rendement.

Remerciements

Les auteurs remercient feu P. Speijer (IITA, Ouganda) et J.-L. Sarah (CIRAD-AMIS) qui ont fourni les populations de nématodes, et I. Van den Houwe (Centre de transit de

l'INIBAP) qui a mis le matériel génétique de *Musa* à leur disposition. Une assistance technique a été apportée par J. Reynders de la Katholieke Universiteit Leuven (K.U.Leuven). Cette recherche était financée par le Programme d'amélioration des bananiers (Fonds commun pour les produits de base/FAO/Banque mondiale) et la K.U.Leuven. Elle a été effectuée dans le cadre du Groupe de travail sur la nématologie du Programme mondial pour l'amélioration des *Musa* (PROMUSA). ■

Références

- Fogain R. & S.R. Gowen. 1998. Yangambi Km 5 (*Musa* AAA, Ibota subgroup) a possible source of resistance to *Radopholus similis* and *Pratylenchus coffeae*. *Fundamental and Applied Nematology* 21: 75-80.
- Gowen S.R. & P. Quénehervé. 1990. Nematode parasites of bananas, plantains and abaca. Pp. 431-460 in *Plant Parasitic Nematodes in Subtropical and Tropical Agriculture*. (M. Luc, R.A. Sikora & J. Bridge, eds.). CAB International, Wallingford, Royaume-Uni.
- INIBAP. 1998. INIBAP Annual Report 1997. INIBAP, Montpellier, France.
- Jones D.R. 1994. International *Musa* Testing Programme Phase II. Pp. 23-31 in *The Improvement and Testing of Musa: a Global Partnership*. (D.R. Jones, ed.). INIBAP, Montpellier, France.
- Mateille T. 1992. Comparative development of three banana-parasitic nematodes on *Musa acuminata* (AAA group) cvs Poyo and Gros Michel *in vitro*-plants. *Nematologica* 38: 203-216.
- Moody E.H., B.F. Lownsberry & J.-M. Ahmed. 1973. Culture of the root-lesion nematode *Pratylenchus vulnus* on carrot disks. *Journal of Nematology* 5: 225-226.
- Orjeda G. 1998. Évaluation de la résistance des bananiers aux cercosporioses et à la fusariose. Guides techniques INIBAP 3. IPGRI, Rome, Italie; INIBAP, Montpellier, France; CTA, Wageningen, Pays-Bas.
- Orjeda G., J.V. Escalant & N. Moore. 1999. Phase II du Programme international d'évaluation des *Musa* (IMTP): synthèse du rapport final et des résultats. *INFOMUSA* 8(1): 3-10.
- Pinochet J. & P.R. Rowe. 1978. Reaction of two banana cultivars to three different nematodes. *Plant Disease Reporter* 62: 727-729.
- Pinochet J. & P.R. Rowe. 1979. Progress in breeding for resistance to *Radopholus similis* on bananas. *Nematologica* 9: 76-78.
- Pinochet J., C. Fernandez, & J.-L. Sarah. 1995. Influence of temperature on *in vitro* reproduction of *Pratylenchus coffeae*, *P. goodeyi*, and *Radopholus similis*. *Fundamental and Applied Nematology* 18: 391-392.
- Pinochet J., M.C. Jaizme, C. Fernandez, M. Jaumot and D. De Waele. 1998. Screening bananas for root-knot nematode (*Meloidogyne* spp.) and lesion nematode (*Pratylenchus goodeyi*) resistance for the Canary Islands. *Fundamental and Applied Nematology* 21: 17-23.
- Pires de Matos A., M. de Freitas Borges, S. de Oliveira e Silva, Z.J. Maciel Cordiero & S. de Moraes Andrade. 1998. Reaction of banana genotypes to *Fusarium* wilt (*Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense*)

under field conditions in Brazil. Pp. 311-319 in *Memorias XIII Reunión ACORBAT*, Guayaquil, Ecuador, 23-27 Noviembre, 1998. (Arizaga, ed.). CONABAN, Guayaquil, Equateur.

Ploetz R.C. 1994. *Fusarium* wilt and IMTP Phase II. Pp. 57-69 in *The Improvement and Testing of Musa: a Global Partnership*. (D.R. Jones, ed.). INIBAP, Montpellier, France.

Price N.S. 1994. Field trial evaluation of nematode susceptibility within *Musa*. *Fundamental and Applied Nematology* 17 : 391-396.

Rowe P. & F. Rosales. 1993. Amélioration de diploïdes à la FHIA et création de la variété Goldfinger (FHIA-01). *INFOMUSA* 2(2): 9-11.

Shepherd K., J.L.L. Dantas & S. de Oliveira e Silva. 1994. Breeding Prata and Maça cultivars in Brazil. Pp. 157-168 in *The Improvement and Testing of Musa: a Global Partnership*. (D.R. Jones, ed.). INIBAP, Montpellier, France.

Speijer P. & D. De Waele. 1997. Évaluation du matériel génétique de *Musa* pour la résistance aux nématodes. Guides techniques INIBAP 1. IPGRI, Rome, Italie; INIBAP, Montpellier, France; CTA, Wageningen, Pays-Bas.

Tang C.Y. & S.C. Hwang, 1999. Performance de clones de bananiers sous la pression de la fusariose à Taiwan. *INFOMUSA* 8(1): 10-12.

Wehnt E.J., D.J. Hutchinson & D.I. Edwards. 1978. Reaction of banana cultivars to the burrowing nematode (*Radopholus similis*). *Journal of Nematology* 10: 368-370.

Ruth Stoffelen, Raf Verlinden, Rony Swennen et Dirk De Waele travaillent au *Laboratory of Tropical Crop Improvement, Katholieke Universiteit Leuven (K.U.Leuven)*, K. Mercierlaan 92, 3001 Heverlee, Belgique. **Jorge Pinochet** travaille chez *Agromillora Catalana S.A.*, El Rebato, s/n, 08739 T. M. Subirats, Espagne.

Évaluation en serre de la résistance/tolérance de matériel génétique viêt-namien aux nématodes à galles et à lésions

I. Van den Bergh, D. De Waele, Ho Huu Nhi, Duong Thi Minh Nguyet, Nguyen Thi Tuyet et Doan Thi Thanh

Le Viêt-nam, étant situé dans le centre d'origine des bananiers, offre d'excellentes conditions pour la production bananière. Parmi les cultures fruitières de ce pays, la banane se classe au premier rang par le volume brut de production et les superficies exploitées (Vinh et Quy 1995). Elle est cultivée principalement pour la consommation locale.

Au cours d'une mission de prospection effectuée en 1994-1995 au Viêt-nam, plus de 80 génotypes et espèces sauvages ont été collectés (Khoi et Valmayor, 1995). On a procédé à une caractérisation préliminaire de ce matériel, qui a permis d'identifier 64 génotypes distincts et neuf espèces sauvages (INIBAP 1997). Ces génotypes ont été placés dans une collection au champ à l'Institut de recherches fruitières de Phu Ho (province de Vinh Phu) et dans une collection *in vitro* à l'Institut national des sciences agricoles (INSA) de Hanoi. On a également envoyé une partie de ce matériel au Centre de transit de l'INIBAP à Louvain (Belgique) pour l'inclure dans la collection internationale de bananiers.

Il convient à présent d'évaluer la performance générale de ce matériel, ainsi que sa résistance/tolérance aux maladies et aux ravageurs. Dans l'étude qui est présentée ici, on a criblé les principaux génotypes afin de déterminer leur résistance/tolérance à *Meloidogyne* spp., nématodes formant des galles sur les racines primaires et secondaires des plants (De Waele et Davide 1999), et à *P. coffeae*, nématodes à l'origine de lésions qui en-

traînent la nécrose et la réduction du système racinaire des plants (Stoffelen *et al.* 1999).

Matériel et méthodes

Deux essais ont été effectués avec *Meloidogyne* spp. et deux autres avec *P. coffeae*. Le matériel testé est présenté au tableau 1. Au total, on a criblé 19 génotypes de bananiers viêt-namiens et deux génotypes reçus du Centre de transit de l'INIBAP. On a inclus comme génotypes de référence 'Yangambi Km5', 'Gros Michel' et 'Grand Nain', qui sont respectivement hautement résistant à *R. similis*, moyennement résistant à *R. similis* et non résistant à tous les nématodes (Speijer et De Waele 1997).

Dans tous les essais, on a utilisé des vitroplants. Après multiplication et culture sur milieu de Murashige et Skoog (1962), on a repiqué les plantules dans des bacs remplis de sable stérilisé, en les traitant plusieurs fois au fongicide Daconil. Après deux à trois semaines, on a transféré les plants dans des pots en plastique de 12 cm de diamètre remplis d'un mélange de terreau stérilisé et d'humus. On les a de nouveau traités au Daconil, ainsi qu'avec de l'insecticide Suprathion, Ortus, Trebon ou Dipterex. On a arrosé les plants selon les besoins et appliqué à deux reprises une solution nutritive.

Au bout de six à 14 semaines, on a sélectionné au hasard 20 plants de chaque génotype, qu'on a plantés dans un dispositif en blocs de Fisher. Chez chaque génotype, on a infesté 10 plants avec 4 000 juvéniles et œufs de *Meloidogyne* spp. obtenus à partir de racines de tomate broyées au mixeur, ou avec 1 000 nématodes vermiformes de *P. coffeae* obtenus à partir de rondelles de carotte broyées au mixeur (O'Bannon et Taylor

1968). Les 10 plants restants ont servi de témoins.

On a récolté les plants 11 à 15 semaines après l'inoculation et enregistré diverses données afin d'évaluer les dégâts causés par les nématodes (mesure de la tolérance/sensibilité des génotypes) et la reproduction des nématodes (mesure de la résistance/non-résistance des génotypes).

En suivant la méthode décrite par Speijer et De Waele (1997), on a enregistré les données suivantes :

Paramètres généraux : hauteur de plant (cm), poids des parties aériennes (g), poids du système racinaire (g), nombre de feuilles érigées, circonférence à la base du pseudotrunc (cm).

Données concernant la reproduction des nématodes : nombre de femelles ovipares de *Meloidogyne* spp. sur la section de cinq morceaux de racines de 10 cm de long, nombre de nématodes pour 10 g de racines, nombre de nématodes par système racinaire.

Données concernant les dégâts sur les racines : racines mortes (%), racines portant des galles de *Meloidogyne* spp., indice de nécrose racinaire (%) due à *P. coffeae*.

Pour extraire les nématodes, on a utilisé la méthode de broyage-tamissage.

On a procédé à l'analyse statistique des résultats à l'aide du logiciel SPSS 9.0 pour Windows. Pour les populations normales, on a fait une analyse de variance, en séparant les moyennes à l'aide du test de la plus haute différence significative de Tukey. Pour les populations non normales, on a utilisé le test des rangs non paramétrique de Kruskal-Wallis pour analyser les données et l'on a séparé les moyennes à l'aide de la méthode de KW-Bonferroni. Le niveau de confiance combiné pour l'ensemble des tests par paires est d'au moins 0,95 (coefficient de confiance combiné $\alpha = 0,05$).

Résultats et discussion

Meloidogyne spp.

Paramètres généraux

Dans le premier essai, l'infestation par *Meloidogyne* spp. a entraîné une augmenta-