



Comparaison de méthodes d'estimation de la résistance du tournesol à *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary

Denis D. Tourvieille de Labrouhe, Felicity F. Vear

► To cite this version:

Denis D. Tourvieille de Labrouhe, Felicity F. Vear. Comparaison de méthodes d'estimation de la résistance du tournesol à *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary. *Agronomie*, 1984, 4 (6), pp.517-525. hal-02719558

HAL Id: hal-02719558

<https://hal.inrae.fr/hal-02719558>

Submitted on 1 Jun 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.

Comparaison de méthodes d'estimation de la résistance du tournesol à *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary.

Denis TOURVIEILLE de LABROUHE & Felicity VEAR *

I.N.R.A., Station de Pathologie végétale, Mont-Désir (Promosol)

(*) Station d'Amélioration des Plantes, Domaine de Crouelle, F 63039 Clermont-Ferrand Cedex

RÉSUMÉ

Dans le but de comparer différents tests utilisables dans la sélection du tournesol pour une meilleure résistance à *Sclerotinia sclerotiorum*, les auteurs ont étudié 9 hybrides F1 représentant une gamme étendue de sensibilité pour les formes d'attaque les plus souvent rencontrées en France : l'infection du capitule par les ascospores et la destruction des racines par le mycélium.

Les méthodes reposent soit sur des infections artificielles à partir de sclérotés, d'ascospores ou de mycélium, soit sur l'étude de la réaction de la plante à des substances produites par le champignon (toxines). Six tests ont ainsi été mis en œuvre et les résultats obtenus ont été confrontés aux notations effectuées en infection naturelle dans diverses conditions microclimatiques.

Ces tests ont permis de montrer le caractère partiel et polygénique de la résistance du tournesol vis-à-vis de la pourriture blanche et d'étudier certains mécanismes de l'infection.

L'utilisation d'un test « ascospores », comme méthode de comparaison variétale, donne des résultats fiables et permet de classer avec certitude les hybrides étudiés. L'utilisation possible des autres tests dans différents modèles de sélection est discutée.

Mots clés additionnels : Pourriture blanche, *Helianthus annuus*, tests de sélection.

SUMMARY

Comparison of methods to determine reactions of sunflower genotypes to Sclerotinia sclerotiorum (Lib.) de Bary.

In order to compare a series of tests which could be used in the breeding of sunflowers for improved resistance to *Sclerotinia sclerotiorum* the authors studied 9 F1 hybrids known to show a wide range of susceptibilities to the forms of attack most often found in France : capitulum infection by ascospores and root attack by mycelium.

The six methods described were based either on inoculations by sclerotia, ascospores or mycelium or on studies of the reaction of plants to fungal products (toxins). The results obtained were compared with observations of natural infection in various microclimatic conditions.

The use of these tests made it possible to show the partial and polygenic nature of resistance to *S. sclerotiorum* in sunflowers and also to study certain of the infection mechanisms. One of the tests using ascospores, which has given repeatable results since 1980, provided a satisfactory classification of the hybrids studied. Possible uses of the other tests in breeding programs for resistance are discussed.

Additional key words : White rot, *Helianthus annuus*, breeding tests.

I. INTRODUCTION

La pourriture blanche provoquée par *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) De By. est l'affection cryptogamique la plus dommageable sur le tournesol (*Helianthus annuus* L.) en France. L'infection de la plante par le champignon peut s'effectuer selon 2 modalités différentes :

— attaque des racines par le mycélium issu de la germination des sclérotés sous forme végétative ;

— infection par des ascospores provenant d'apothécies issues elles-mêmes de la germination des sclérotés sous forme sexuée. Dans ce 2^e cas, les attaques peuvent se produire sur feuilles (gagnant ensuite la tige) ou sur bouton floral, mais le capitule est, de loin, l'organe le plus fréquemment attaqué dans les conditions climatiques françaises.

L'infection du capitule s'effectue exclusivement par l'intermédiaire des fleurs tubulées (TOURVIEILLE *et al.*, 1978). Les possibilités de contamination sont donc limitées à la période de floraison. Le mycélium

issu de la germination des ascospores colonise les tissus superficiels puis, après une période de latence de 15 à 40 j, envahit la partie parenchymateuse du capitule, provoquant la pourriture des tissus et la chute des graines. Les conditions météorologiques interviennent à toutes les phases du processus infectieux. Ainsi, en laboratoire, l'infection d'un capitule n'est possible qu'en présence d'eau libre durant 42 h (PAUVERT & LAMARQUE, 1981).

Si aucune variété de tournesol ne présente une résistance absolue vis-à-vis du *Sclerotinia*, il existe au champ des différences de sensibilité importantes entre génotypes (LECLERCQ, 1973). Dans tous les cas connus, il s'agit de résistances partielles. L'expression de la résistance à la pourriture blanche étant très dépendante des conditions du milieu, la confrontation de résultats portant sur un faible nombre d'observations donne l'impression d'un comportement anarchique des variétés, voire d'une absence de différence dans la sensibilité variétale au *Sclerotinia*. Afin de ne pas être tributaires du potentiel d'inoculum et des conditions de l'environnement, les sélectionneurs ont recours à des tests en conditions contrôlées.

— Inoculation avec blessures : CUK (1974, 1976) a utilisé des morceaux de bois ayant la dimension d'une allumette colonisés par le champignon ou des pétioles de tournesol atteints par le *Sclerotinia*. L'inoculum est introduit dans une blessure pratiquée sur la plante-hôte. En Union Soviétique, les sélectionneurs utilisent des grains d'avoine cuits et stérilisés sur lesquels ils font se développer du mycélium. Les grains infestés sont placés dans une fente pratiquée dans les tissus. Une dernière technique consiste à injecter, à l'aide d'une seringue, une suspension d'ascospores dans la lumière du capitule (TOURVIEILLE *et al.*, 1978).

— Infection des capitules sans blessure : VEAR & GUILLAUMIN (1977) infectent les tournesols à l'aide d'un explantat mycélien ; le dépôt est réalisé sur la face stérile du capitule. TOURVIEILLE *et al.* (1978) proposent d'infecter la face fleurie des capitules avec des ascospores en suspension dans l'eau ou déposées sur une pastille de buvard. La méthode utilisant des pastilles de papier a été améliorée par LAMARQUE (1980).

— Infection au collet : elle peut consister en l'apport de sclérotés au voisinage du système racinaire (VEAR & GUILLAUMIN, 1977). ILIESCU (comm. pers., 1982) utilise un broyat de sclérotés et de mycélium.

— Test sur plantules : HUANG & DORRELL (1978) proposent de juger la résistance des variétés de tournesol en mesurant la tolérance des plantules aux filtrats de culture du *Sclerotinia*. Enfin, NOYES & HANCOCK (1981) envisagent l'utilisation d'un test sur protoplastes afin de déterminer la résistance de la plante à l'acide oxalique.

Nous avons délibérément écarté de nos études les tests nécessitant une blessure comme trop éloignés des conditions naturelles d'infection. Pour les infections par spores, nous avons préféré les tests faisant intervenir une suspension d'ascospores pulvérisée sur le capitule. Le test par pastille, s'il a l'avantage d'apporter l'inoculum à l'état sec, présente l'inconvénient du lieu du dépôt : entre deux fleurons ou au

niveau des bractées internes, ce qui ne correspond pas forcément au site normal de pollution. Enfin le test au collet, à partir de broyat mycélien, ne fait pas intervenir un phénomène certainement réel bien qu'encore mal élucidé : l'action des exsudats racinaires sur la germination des sclérotés sous forme mycélienne.

Nous avons réalisé un nouveau test sur plantules consistant en une inoculation mycélienne sur hypocotyle ; ce test doit nous permettre de juger la résistance des tissus à la progression du champignon.

Les résultats de ces tests obtenus sur 9 hybrides sont comparés à ceux des observations effectuées dans les conditions d'infection naturelle.

II. MATÉRIEL ET MÉTHODES

A. Méthodes de comparaison variétale

1. Infection naturelle

Deux essais ont été implantés en 1982 sur des parcelles de topographie très différente :

— Saint Sandoux : parcelle située sur le versant est des monts d'Auvergne, cultivée en tournesol en 1978 avec un taux d'attaque de *Sclerotinia* sur capitules de 25 p. 100, puis en 1981 avec un taux d'attaque de 15 p. 100.

— Joze : parcelle située dans un bas fond au bord de l'Allier, fortement attaquée en 1977 (90 p. 100) et n'ayant porté aucune culture sensible au *Sclerotinia* de 1978 à 1981.

Le dispositif choisi est un essai bloc de FISHER à 4 répétitions, 4 lignes par répétition et 20 à 25 plantes par ligne. Les observations, réalisées en fin de végétation au stade « bractées brunes », portent sur le pourcentage de capitules atteints et sur le nombre de plantes détruites par la pourriture des racines et du collet. Une installation d'irrigation à Joze nous a permis d'arroser les tournesols durant 12 h, en pleine floraison des variétés précoces ; cette irrigation a été suivie de 3 j de pluie.

2. Test « mycélium » sur capitule en survie

La méthode a été décrite par VEAR & GUILLAUMIN (1977). Les infections sont effectuées sur des capitules, au stade fleurs ligulées fanées, maintenus en survie en chambre climatisée. Après 3 j d'incubation, on mesure la surface des taches de pourriture apparues autour des points d'infection.

3. Infections en plein champ

a) Le test « sclérotés »

Cette méthode, couramment utilisée par de nombreuses équipes de sélectionneurs a été décrite par VEAR & GUILLAUMIN (1977). L'infection est réalisée sur 50 plantes par variété (sans répétition). L'apparition d'une tache de pourriture au niveau du collet suffit pour que l'on considère que l'infection est positive.

b) Les tests « ascospores »

Les méthodes d'obtention des apothécies et de récupération des ascospores ont été décrites en 1978 (TOURVIELLE *et al.*). L'infection est réalisée aux stades début à mi-floraison. 5 ml de la suspension d'ascospores sont déposés sur la face fleurie du capitule à l'aide d'un brumisateuse manuel. Immédiatement après, chaque inflorescence est enveloppée d'un sac de papier sulfurisé blanc. Ce sac doit maintenir un taux d'humidité suffisamment élevé pour permettre l'infection. 50 plantes par variété sont ainsi infectées. Nous ensachons également 10 capitules témoins qui ne reçoivent que 5 ml d'eau stérile.

Des résultats antérieurs (TOURVIELLE, non publié) ont mis en évidence que certains hybrides tels que « H9P3 » et « Airelle », pouvaient avoir un comportement très différent en fonction de la concentration en spores de l'inoculum et de la durée d'ensachage. Nous avons donc choisi 2 modes d'application de ce test :

- Test « fort » : on emploie une suspension contenant 10 spores/mm³. Les sacs de papier sont maintenus jusqu'à l'apparition de symptômes.
- Test « faible » : la concentration est ramenée à 1 spore/mm³ et les sacs sont retirés après 7 j. Les observations sont réalisées tous les 3 ou 4 j à partir de la date d'infection. Chaque capitule est observé individuellement et on note la date d'apparition des premiers symptômes (tache molle, couleur café au lait, sur la face stérile du capitule).

4. Etudes sur plantules

a) Le test « filtrat de culture »

Ce test, proposé par HUANG & DORRELL (1978), consiste à plonger les racines de plantules au stade 2 paires de vraies feuilles dans un filtrat de culture de *Sclerotinia*. La notation porte sur le degré de flétrissement et permet de définir un indice qui varie de 1 à 4. 40 plantules de chaque variété sont testées avec le filtrat de culture et 10 plantules sont plongées dans le milieu témoin (non ensemencé).

b) Le test « hypocotyles »

Il a pour objectif de mesurer le niveau de résistance de la tige à la progression du champignon. Comme pour le test « mycélium » sur capitule, on mesure une variable continue.

— culture du champignon : des implants mycéliens prélevés à la périphérie d'une culture en boîte de Petri (malt 1 p. 100) sont placés dans des tubes de verre à la surface d'un milieu gélosé (malt 1 p. 100). Les tubes ensemencés sont mis à incuber 3 j à 26 °C et à l'obscurité ;

— culture du tournesol : les plantules sont obtenues dans des conditions étiolantes : luminosité réduite et substrat enrichi en azote ;

— infection : les hypocotyles sont excisés lorsque les plantules sont au stade 2 à 3 paires de feuilles. Ils sont déposés dans les tubes ensemencés qui sont ensuite placés dans une chambre climatisée durant 2 semaines. Le champignon progresse le long de l'hypocotyle et provoque une nécrose couleur « thé au lait » aisément observable ;

— notation : la vitesse de progression du *Sclerotinia* est calculée en mesurant tous les jours la longueur de la nécrose. L'analyse porte sur 30 hypocotyles pour chaque variété.

B. Matériel biologique utilisé

1. Isolats

Les tests « sclérotés » et « ascospores » sont réalisés à partir de sclérotés prélevés sur des tournesols infectés. Ceux-ci présentent vraisemblablement une certaine hétérogénéité génétique. Pour les autres tests, nous avons utilisé les isolats SS16 (1981), SS17 (1982) et SS22 (1982), tous 3 issus d'attaques naturelles de *Sclerotinia*. La diminution d'agressivité provoquée par un maintien trop prolongé en culture pure justifie ce changement d'isolat.

2. Variétés

Un certain nombre d'observations en infection naturelle et les tests réalisés les années antérieures (TOURVIELLE & VEAR, non publié) nous ont conduits à choisir 9 hybrides F1 fabriqués avec une stérilité mâle cytoplasmique (HS-C) ou une stérilité mâle génique (HS-G).

— « H2P6 » : HS-C expérimental ; il a un bon niveau de résistance en infection naturelle mais apparaît médiocre en test « mycélium » ;

— « H9P3 » : HS-C expérimental ; il est assez résistant en infection naturelle mais médiocre en test « mycélium ». Cet hybride a un comportement particulier aux tests « ascospores » : sensible au test « fort », il montre un bon niveau de résistance au test « faible » ;

— « GP4 » : HS-C expérimental ; il s'est montré sensible en infection naturelle en 1981 alors que son comportement au test « mycélium » est très bon ;

— « CR2 » : HS-C expérimental ; il est très sensible aux attaques naturelles, ainsi qu'aux tests « mycélium » et « ascospores ».

— « Florasol » : HS-C commercialisé depuis 1981 ; c'est un hybride annoncé par les obtenteurs comme résistant au *Sclerotinia* ;

— « DP2 » : HS-C expérimental ; dans la nature et sur capitule, il a présenté une bonne résistance en début de saison en 1981. Mais cette résistance s'effondre en fin de végétation. En inoculation par ascospores, ce comportement a été fidèlement reproduit cette même année. Il a un bon comportement au test « mycélium » ;

— « I.N.R.A. 47-01 » : HS-G commercialisé entre 1970 et 1979 ; cet hybride a eu en culture un bon comportement aux différentes formes d'attaques du *Sclerotinia* ;

— « Rénil » : HS-G commercialisé entre 1972 et 1979 ; son comportement est assez semblable à celui de « I.N.R.A. 47-01 » ;

— « Airelle » : HS-G commercialisé depuis 1971 ; il est sensible aussi bien en infection naturelle qu'aux tests « mycélium » et « ascospores ». Sa sensibilité au test « ascospores » n'est pas diminuée aux doses faibles d'inoculum, contrairement à l'hybride « H9P3 ».

III. RÉSULTATS

A. Etudes préliminaires sur le test « ascospores » : comparaison des résultats obtenus sur 4 hybrides pendant 3 années consécutives

Les infections réalisées sur plantes au champ sont sujettes aux variations météorologiques. Il est nécessaire de contrôler sur plusieurs années la fiabilité de ces tests.

Quatre hybrides, retenus pour leur caractère de résistance ou de sensibilité aux attaques sur capitule, « Rénil », « H9P3 », « Airelle », « CR2 » ont été infectés en 1980, 1981 et 1982.

1. Homogénéité des résultats

Les taux de réussite obtenus sont regroupés dans le tableau 1. Les comportements des 4 hybrides à ces tests sont conformes à nos observations effectuées en infection naturelle. Les variations des taux d'infection, d'une année à l'autre, sont liées aux conditions climatiques mais les classements obtenus restent identiques.

2. Effets climatiques

Le climat modifie les résultats à 2 niveaux :

a) Le taux de réussite de l'infection

Il apparaît que c'est l'humidité de l'air qui conditionne la réussite des infections (tabl. 2). Ces résultats sont en accord avec les observations de PAUVERT & LAMARQUE (1981). Le facteur « température » ne semble pas jouer un rôle important à ce stade.

b) La durée de la période de latence

Les conditions météorologiques de la période de latence (entre l'inoculation et l'apparition des symptômes sur 50 p. 100 des capitules atteints) pour l'hybride « CR2 » sont regroupées dans le tableau 3. Le facteur « humidité » n'explique pas, à lui seul, les différences observées d'une année à l'autre. La température semble jouer un rôle important et a été le facteur déterminant en 1982.

S'il n'est pas possible de comparer des hybrides testés dans des conditions météorologiques différentes, le test « ascospores » est fiable si l'on prend soin d'infecter le même jour tout le matériel à comparer.

B. Corrélation entre les méthodes de comparaison variétale

1. Résistance aux attaques sur capitule (tabl. 4)

a) Comparaison des résultats obtenus en infection naturelle

Le coefficient de corrélation entre les 2 essais est non significatif ($R = 0,369$). Pour certains hybrides tels que « GP4 », « CR2 » et « Rénil », les résultats obtenus semblent même contradictoires. L'hétérogénéité des taux d'attaques observés en infection naturelle est un phénomène bien connu des sélectionneurs

TABLEAU 1

Taux d'infection après contamination avec des ascospores en 1980, 1981 et 1982.

Percentage infection after inoculation with ascospores in 1980, 1981 and 1982.

hybrides	années	1980	1981	1982	moyenne
Rénil		44	85	65	65
H9P3		62	94	75	77
Airelle		66	96	87	83
CR2		92	100	93	95
Moyenne		66	94	80	

Analyse de variance après transformation des données en arc sinus $\sqrt{p/100}$:

- Effet variétés hautement significatif ($F = 33,45$).
- Effet années hautement significatif ($F = 51,55$).

TABLEAU 2

Données météorologiques des 3 jours qui ont suivi la contamination et taux de réussite de l'infection en 1980, 1981 et 1982.

Meteorological data for the 3 days following inoculation and the percentage of successful infection in 1980, 1981 and 1982.

Années d'expérimentation	1980	1981	1982
Précipitations (en mm)	0	1,7	0
Nombre d'heures d'humidité supérieure à 80 p. 100	6	17	8
Nombre d'heures d'humidité inférieure à 40 p. 100	38	2	34
Moyenne des températures maxima journalières (°C)	31,8	22,3	32,5
Moyenne des températures minima journalières (°C)	11,6	14,3	16,0
Taux de réussite tous hybrides confondus	66	94	80

TABLEAU 3

Données météorologiques durant la période de latence, après infection par ascospores de l'hybride CR2.

Meteorological data during the latency period, after ascospore inoculation of the hybrid CR2.

Années d'observation	1980	1981	1982
Date d'infection	22/7	15/7	5/7
Date 50 p. 100 de symptômes	23/8	12/8	27/7
Nombre de jours de latence	31	27	21
Température moyenne journalière	20,7 °C	20,1 °C	22,5 °C
Nombre d'heures d'humidité relative supérieure à 80 p. 100 (moyenne journalière)	5,7	9,9	4,6
Nombre d'heures d'humidité relative inférieure à 40 p. 100 (moyenne journalière)	7,4	1,9	6,1

TABLEAU 4

Résultats des comparaisons variétales pour la résistance du capitule à *Sclerotinia sclerotiorum*.Comparison of the reactions of the capitula of 9 hybrids to natural infection by *S. sclerotiorum* and to mycelium and ascospore tests.

Observations	Hybrides									p.p.d.s. Student Fisher
	H2P6	H9P3	GP4	CR2	Florasol	DP2	INRA 4701	Rémil	Airelle	
Pourcentage de plantes montrant des symptômes :										
en infection naturelle										
• à Joze	15,3	18,5	39,4	34,4	19,5	18,1	7,4	9,3	38,1	20,1
• à St Sandoux	0,7	3,1	1,9	45,4	7,3	7,1	1,3	7,7	9,9	7,4
• global	5,7	10,3	9,6	44,9	13,4	10,7	3,6	8,6	20,3	/
aux tests « ascospores »										
• « faible »	5	29	20	43	32	23	14	7	61	/
• « fort »	45	76	41	93	87	46	60	65	87	/
• global	26,6	54,4	32,7	81,0	53,8	36,7	38,0	38,1	73,5	/
Surface des taches de pourriture (en cm ²) ; test « mycélium »	31,4	36,5	16,0	46,3	31,4	25,0	33,0	23,6	37,2	9
Durée moyenne de la période de latence ; test ascospores « fort » (en jours)	40	36	44	23	32	32	33	39	24	/

et peut être expliquée par le fait que la réaction du tournesol est très dépendante des conditions du milieu.

L'infection est beaucoup plus homogène à Joze qu'à St Sandoux ; ceci est dû au maintien de l'humidité nécessaire à l'infection grâce à l'irrigation par aspersion qui a précédé les précipitations du 12 au 14 juillet. Ainsi tous les hybrides se sont trouvés pendant leur stade de sensibilité dans des conditions favorables à l'infection.

Pour St Sandoux, le classement des variétés en 3 groupes (taux d'attaque < 5 p. 100, compris entre 5 et 10 p. 100 et > 40 p. 100) ne s'explique pas uniquement par les variations de sensibilité qui peuvent exister entre les hybrides testés. L'importante différence entre « CR2 » et les autres hybrides ne peut pas être attribuée qu'à la forte sensibilité de cet hybride. De même le comportement de « GP4 » est en contradiction avec les observations réalisées à Joze.

La comparaison des notations de floraison effectuées dans les conditions climatiques de St Sandoux et des taux d'attaques observés sur cette parcelle (tabl. 5) montre que seul l'hybride « CR2 » était au stade de sensibilité durant la période climatique favorable à l'infection : les 12-13 et 14 juillet. Les hybrides à floraison précoce ont été très peu atteints par la maladie : c'est le cas en particulier de « GP4 ».

b) Comparaison des résultats obtenus en infections naturelle et artificielle.

Le test « mycélium » ne permet que de tester la résistance des capitules à la prolifération du champignon dans le parenchyme. Il faut noter que les résultats obtenus avec ce test sont corrélés significativement avec ceux obtenus avec le test ascospores « fort » ($R = 0,684$) et surtout avec la durée de la période de latence ($R = 0,708$).

Les résultats du test « faible » ne sont pas corrélés significativement avec ceux du test « fort ». Le test « faible » permet de déceler des mécanismes de résistance autre que la résistance du parenchyme à la pro-

TABLEAU 5

Comparaison des dates de floraison et des taux d'attaques observés à St Sandoux (pluie du 12 au 14 juillet 1982).

Comparison of flowering dates and percentages of infection at St Sandoux (rainfall 12-14 July 1982).

Variétés	Période de maximum de sensibilité *	Taux d'attaque observé
GP4	du 2 au 8/7	1,9
H9P3	du 3 au 8/7	3,1
H2P6	du 4 au 9/7	0,7
DP2	du 5 au 10/7	7,1
Rémil	du 6 au 11/7	7,7
INRA4701	du 6 au 12/7	1,3
Florasol	du 7 au 13/7	7,3
Airelle	du 7 au 13/7	9,9
CR ou CR2	du 10 au 15/7	45,4

* ≥ 50 p. 100 des capitules au stade début à mi-floraison.

gression du *Sclerotinia* : la faible concentration en spores et le sac maintenu durant une courte période (7 j) permettent, chez certains hybrides, d'exprimer une résistance à la 1^{re} phase de l'infection (l'installation du champignon au niveau des fleurons). Plus la différence entre les pourcentages de plantes atteintes au test « faible » et au test « fort » est élevée et plus l'hybride est résistant à cette 1^{re} phase de l'infection. Ainsi « Rémil » est 9 fois moins atteint au test « faible » qu'au test « fort », alors que « GP4 » l'est seulement 2 fois.

c) Comparaison des notations réalisées en infections naturelle et artificielle.

Le test « mycélium », trop éloigné des conditions naturelles d'infection, n'est pas corrélé avec les observations d'attaques naturelles. Par contre, les tests « ascospores » reproduisent assez fidèlement les conditions d'infection par ascospores. La comparaison des taux d'infection observés en infection naturelle et des taux d'infection réussie aux tests « ascospores » montre une corrélation significative ($R = 0,754$).

2. Résistance aux attaques sur racines et collet

Les résultats qui doivent nous permettre de comparer les génotypes sont ceux obtenus en contamination naturelle, en infection par sclérotés et par les tests sur plantules, ces derniers devant définir la résistance de la plante aux toxines et enzymes pectinolytiques produites par le champignon (tabl. 6).

a) *Le test « sclérotés »*, il a donné des résultats assez proches de ceux obtenus en infection naturelle ($R = 0,645$). Il permet, avec une méthode assez simple, de se soustraire aux problèmes posés par la répartition de l'inoculum dans les essais en infection naturelle.

b) *Les tests sur plantules*, ils ne sont corrélés avec aucune des notations réalisées en infection naturelle ou artificielle. Ils ne sont pas capables à eux seuls de juger les variétés pour leur résistance aux différentes formes d'attaque du champignon. HUANG & DORRELL (1978) proposaient l'utilisation du test « filtrat de culture » afin de sélectionner les hybrides pour leur résistance aux attaques sur racines ; nous obtenons pour notre part une corrélation nulle ($R = 0,055$) entre le test « sclérotés » et le test « filtrat de culture ». Comme pour le test « mycélium » sur capitule, on peut leur reprocher de court-circuiter une phase de l'infection : la pénétration. Ceci peut expliquer le comportement de « Florasol » qui, résistant aux attaques par sclérotés, se montre très sensible aux 2 tests sur plantules.

Il est intéressant de noter l'absence de corrélation entre le test « mycélium » sur capitule et le test « hypocotyle ». La sensibilité des tissus varie en fonction de l'organe et pas dans le même sens pour tous les génotypes.

C. Comportement des 9 hybrides

L'ensemble de ces tests montre que chaque hybride a un comportement particulier vis-à-vis de la pourriture blanche et que les caractères déterminant la résistance partielle ne sont pas les mêmes pour chaque génotype ; de plus ceux-ci s'expriment en fonction des conditions du milieu.

— « H2P6 » : C'est un hybride assez résistant aux attaques sur capitule. La sensibilité du parenchyme au test « mycélium » indique que cette résistance est liée principalement à la phase d'installation (phénomène mis en évidence par les tests « ascospores »). Son bon comportement aux attaques sur racines peut s'expliquer par la résistance des tissus aux toxines et aux enzymes produites par *Sclerotinia* (bon comportement aux tests sur plantules).

— « H9P3 » : C'est un hybride moyennement sensible sur capitule. Le parenchyme du capitule est sensible ; son bon comportement, observé en infection naturelle, est à attribuer à une assez bonne résistance à l'installation du champignon. Celle-ci ne peut pas s'exprimer dans des conditions climatiques très favorables à la maladie. Sa sensibilité élevée au niveau des racines est à relier à son mauvais comportement au test « hypocotyle » (sensibilité des tissus aux enzymes pectinolytiques produites par *Sclerotinia*).

— « GP4 » : C'est un hybride sensible sur capitule. Cette sensibilité est à attribuer à un mauvais comportement à la phase de pénétration. La résistance très élevée du parenchyme ne peut s'extérioriser que les années peu propices à la maladie. Inversement, la résistance des racines au mycélium issu des sclérotés doit se situer au niveau de la pénétration du champignon car le comportement de cet hybride est médiocre aux tests sur plantules.

— « CR2 » : Quelle que soit la méthode utilisée, il se révèle être un des hybrides les plus sensibles.

— « Florasol » : Il a un comportement proche de celui de « GP4 ». Cependant, sa sensibilité sur capitule n'est pas la même. C'est une sensibilité du parenchyme et, dans une moindre mesure, à l'installation. Sa réaction aux tests sur plantules laisse supposer qu'il présente une bonne résistance, au niveau des racines, à la pénétration du mycélium.

— « DP2 » : Il est moyennement résistant sur capitule. Cette résistance est à attribuer principalement au bon comportement du parenchyme. Elle a pu s'exprimer, en 1982, car le dessèchement des capitules a été très rapide. Par contre, en 1981, la fin de l'été frais et humide a provoqué l'apparition, sur cette variété, de nombreux symptômes très tardifs. La sensibilité des racines s'explique par le mauvais comportement de cet hybride aux tests sur plantules.

TABLEAU 6

Résultats des comparaisons variétales pour la résistance des racines au *Sclerotinia sclerotiorum*.
Comparison of root reactions to natural attack and 3 different tests for resistance to *Sclerotinia sclerotiorum*.

Observations	Hybrides									p.p.d.s. Student Fisher
	H2P6	H9P3	GP4	CR2	Florasol	DP2	INRA 4701	Rémil	Airelle	
Pourcentage de plantes atteintes :										
• à Joze	9,5	10,4	8,6	9,8	5,6	9,7	10,5	3,1	10,1	N.S.
• à St Sandoux	16,4	12,9	9,5	17,8	5,3	14,1	4,1	7,9	17,9	10,9
• au test « sclérotés »	36	75	32	78	30	66	53	35	49	/
Indice de flétrissement :										
• au test « filtrat de culture »	2,8	2,2	3,0	3,5	3,3	3,2	2,7	2,8	2,9	0,3
Vitesse de progression du champignon au test « hypocotyles » (en mm/jour)	4,5	6,0	5,8	6,9	9,1	5,5	5,7	4,9	6,1	1,4

— « INRA 47-01 » : C'est un hybride résistant sur capitule. Cette résistance est due à une mauvaise installation du champignon et également à une résistance du parenchyme, observée de 1975 à 1977 (VEAR & GUILLAUMIN, 1977) mais que nous n'avons pas retrouvée cette année au test « mycélium ». La sensibilité des racines est liée à un mauvais comportement vis-à-vis de la pénétration du mycélium, car « INRA 47-01 » a un bon comportement aux tests sur plantules.

— « Rénil » : C'est l'hybride qui a le meilleur comportement global vis-à-vis du *Sclerotinia*. La résistance du capitule s'exprime à 2 niveaux : lors de l'installation et ensuite durant la progression du champignon dans le parenchyme. La résistance des racines peut s'expliquer, en partie, par un assez bon comportement aux tests sur plantules, principalement au test « hypocotyle » (résistance des tissus aux enzymes pectinolytiques).

— « Airelle » : C'est un hybride sensible. Sur capitule, il a le comportement inverse de « Rénil ». Sur racines, son comportement est en contradiction avec celui qu'il manifeste vis-à-vis du test « filtrat de culture ». Il présente une sensibilité à la pénétration et à la progression du *Sclerotinia* dans la tige.

IV. CONCLUSIONS ET DISCUSSION

A. Caractéristiques de la résistance vis-à-vis du *Sclerotinia*

La résistance du tournesol vis-à-vis de la pourriture blanche est partielle et polygénique. Les génotypes testés ont des comportements différents à chaque phase du processus infectieux pour laquelle existe une large gamme de sensibilité. Cette résistance est probablement aussi de nature horizontale, mais on ne peut l'affirmer en l'absence d'une gamme d'isolats de *Sclerotinia* suffisamment diversifiée quant au pouvoir pathogène.

1. Infection du capitule

Elle peut grossièrement être divisée en 3 phases :

- la pollution,
- la pénétration du mycélium dans les organes reproducteurs, suivie d'une période de latence,
- l'extension du champignon dans les tissus parenchymateux du réceptacle.

a) 1^{re} phase : LECLERCQ (1973) a montré que les hybrides de taille élevée étaient moins souvent attaqués que les hybrides courts. Il a expliqué l'influence de la taille par un microclimat moins humide et par la rareté des ascospores qui sont émises au niveau du sol.

Il est vraisemblable que le mycélium issu de la germination des ascospores se développe soit sur un substrat formé de tissus morts ou sénescents (étamines, pistils, corolle des fleurons), soit dans les cavités, tirant alors son alimentation des exsudats de la plante (nectar). Le pollen joue un rôle non négligeable (LAMARQUE, 1976). Le développement du champignon, avant la pénétration, constituerait un « relais » à partir duquel une masse mycélienne plus importante

devient capable, grâce aux enzymes qu'elle sécrète, de coloniser les tissus vivants. Ce comportement de « perthophyte » a été démontré dans le cas de *Botrytis cinerea* Pers., autre agent de pourriture du tournesol, par COURTILLOT *et al.* (1973) et par GUILLAUMIN *et al.* (1974).

La vitesse de fécondation, la rapidité de l'évolution des tissus vers la sénescence, la quantité et la qualité du nectar émis à l'intérieur du fleuron sont autant de facteurs qui pourraient modifier la sensibilité d'un génotype au *Sclerotinia*.

b) 2^e phase : la pénétration du champignon dans les tissus vivants est plus ou moins rapide selon les génotypes. A ce stade de l'infection, sa réussite est encore très dépendante des conditions du milieu, tout particulièrement de l'humidité. En effet, le champignon non protégé à l'intérieur des tissus du végétal est très sensible au dessèchement. Ceci explique les différences de taux de réussite observées entre les tests « ascospores » dits « faible » et « fort ». Lorsqu'on enlève les sacs de papier, 7 j après l'infection, le mycélium localisé superficiellement doit supporter des conditions d'humidité incompatibles avec sa survie (humidité relative de l'air inférieure à 40 p. 100). Dans ces conditions, les hybrides peu résistants à la pénétration (« Airelle ») sont fortement attaqués ; au contraire, pour d'autres génotypes, le taux de réussite de l'infection est très faible (« H2P6 »). Les vitesses de pénétration et d'installation dans les tissus superficiels expliquent, en partie, les grandes différences observées dans les durées de la période de latence pour nos hybrides (23 j pour « Airelle », 40 j pour « H2P6 »). Un autre facteur modifie cette durée : la résistance des tissus parenchymateux.

c) 3^e phase : la résistance au niveau de la colonisation du réceptacle est mesurée par le test « mycélium ». Les différences de sensibilité des génotypes sont très importantes, de 16 cm² pour « GP4 » à 46 cm² pour « CR2 ». Cette forme de résistance n'est pas suffisante pour protéger le tournesol lorsque les conditions climatiques sont favorables au développement du champignon et peu favorables à un dessèchement rapide du capitule. C'est le cas pour les hybrides « GP4 » et « DP2 » en 1981. Cependant, les conditions météorologiques inverses permettent à ces génotypes fortement résistants à cette phase de l'infection de mûrir et d'être récoltés sans que le champignon ait eu le temps de faire beaucoup de dégâts ; ce fut le cas en 1982.

2. Infection des racines et du collet

Nos connaissances actuelles sont moins complètes que pour l'infection des capitules. L'infection des racines peut, néanmoins, être divisée en 2 phases :

- la pénétration,
- la progression du champignon dans les racines, puis dans la tige.

a) 1^{re} phase : certains hybrides sont peu attaqués au niveau des racines, bien que leurs tissus soient très sensibles au champignon (tests sur plantules). Cette résistance doit être attribuée, soit à des mécanismes exogènes (exsudats racinaires) soit à la présence d'une

barrière à la pénétration. C'est le cas de « Florasol ».

b) 2^e phase : la résistance des tissus aux enzymes et toxines produites par *Sclerotinia* constitue une autre forme de résistance. Mise en évidence par les tests sur plantules, elle permet d'expliquer le bon comportement de certaines variétés, comme « H2P6 ». Nous connaissons une autre forme de résistance qui est essentiellement mécanique, la résistance à la verse (TOURVIEILLE *et al.*, 1978).

B. Application à la sélection

Les résultats obtenus en infection naturelle ne sont pas suffisants. Il convient de se méfier tout particulièrement des classements établis dans des conditions extrêmes : lorsque sur un essai, le taux d'infection moyen est inférieur à 5 p. 100 ou supérieur à 70 p. 100, on constate un écrasement des différences entre variétés. D'autre part, la nécessité de la présence d'une forte humidité durant la période de sensibilité des capitules (floraison) modifie les classements en fonction de la précocité du matériel étudié.

On ne peut considérer comme fiables que les résultats portant au moins sur une dizaine d'essais réalisés sur plusieurs années et concernant des zones climatiques et des situations microclimatiques aussi variées que possible. C'est ainsi que parmi les hybrides cultivés, le bon comportement d'« INRA 47-01 » et de « Rémil » est bien établi car il est tiré des résultats de plus de 20 essais sur 5 années.

En sélection, le recours à des tests de sensibilité reste indispensable, car le sélectionneur a besoin d'être informé d'une façon certaine tous les ans.

1. Comparaison variétale

Les tests « ascospores » sur capitule et « sclérotés » sur racines, très proches des conditions naturelles d'infection, sont utilisés depuis plusieurs années dans le but de contrôler le comportement du matériel sélectionné. Les classements obtenus sont conformes aux observations qui ont été réalisées lors d'attaques naturelles.

2. Sélection de matériel génétiquement résistant

La résistance des capitules est constituée de plusieurs caractères à déterminisme polygénique. Le sélectionneur doit disposer de plusieurs tests lui permettant de juger son matériel pour plusieurs caractères afin de cumuler un maximum de gènes. Cette recherche est longue. La sélection pour les différents caractères doit être réalisée simultanément pour ne pas perdre les combinaisons qui ont été construites. Elle pourrait permettre, à partir des niveaux moyens de résistance actuellement connus, d'améliorer le comportement global de la plante.

Pour favoriser les recombinaisons, le sélectionneur peut utiliser des méthodes telles que la sélection récurrente ou les croisements entre des lignées connues pour avoir des formes de résistance complémentaires (révélées par les différents tests). Il est nécessaire de sélectionner surtout en F2 et F3, quand les ségrégations sont les plus marquées, mais il est souhaitable de continuer jusqu'à fixation qui intervient entre la F4 et la F7 (VEAR & GUILLAUMIN, 1977).

Des observations d'attaques naturelles ont montré que la résistance est un caractère additif (VEAR, rapport interne). La résistance au test « mycélium » est partiellement additive et partiellement dominante (VEAR & GUILLAUMIN, 1977). S'il en est de même pour les tests « ascospores », il sera intéressant de sélectionner des lignées ♂ et ♀ d'origine différente afin de combiner des gènes intéressants.

L'utilisation des autres tests, essentiellement destinés à mesurer la résistance vis-à-vis des attaques sur racines et tiges, dépend de l'importance économique que peuvent prendre ces autres formes d'attaque.

Quant aux tests sur plantules, ils pourraient permettre de cribler un grand nombre de plantes dont le comportement vis-à-vis du *Sclerotinia* est difficilement mesurable par les tests sur capitule : espèces sauvages par exemple. Ceci permettrait de choisir du matériel original qui pourrait rentrer dans les cycles classiques de sélection.

Reçu le 2 mai 1983.

Accepté le 13 février 1984.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Courtillot M., Lamarque C., Juffin M. P., Rapilly F., 1973. Recherche de moyens de lutte contre le *Botrytis* du tournesol (*B. cinerea* Pers.). Choix des méthodes et dates d'intervention en fonction des aspects biologiques et épidémiologiques de la maladie. *Phytopath.-Phytopharm.*, **22** (2), 189-200.

Cuk L., 1974. Research on the resistance of sunflower inbred lines and hybrids to *Sclerotinia libertiana* Fuckel. *Proc. 5th Int. Sunflower Conf.*, Bucharest, Romania, 303-307.

Cuk L., 1976. Breeding sunflower for resistance to *Sclerotinia libertiana* Fuckel. *Proc. 7th Int. Sunflower Conf.*, Krasnodar, U.R.S.S., 227-233.

Guillaumin J. J., Kurek J., Lalande M., Ramirez A., 1974. Inoculation de capitules de tournesol au laboratoire par *Botrytis cinerea* et essais de mise au point d'un test de sensibilité variétale. *Proc. 5th Int. Sunflower Conf.*, Bucharest, Romania, 655-660.

Huang H. C., Dorrell D. G., 1978. Screening sunflower seedlings for resistance to toxic metabolites produced by *Sclerotinia sclerotiorum*. *Can. J. Plant Sci.*, **58**, 1107-1110.

Lamarque C., 1976. Eléments de biologie du *Sclerotinia sclerotiorum* sur tournesol en France. *Inf. Tech. CETIOM*, **49**, 21-25.

Lamarque C., 1980. Obtention d'ascospores de *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de By et techniques d'inoculation utilisables dans la sélection variétale du tournesol. *Inf. Tech. CETIOM*, **71**, 22-27.

Leclercq P., 1973. Influence de facteurs héréditaires sur la résistance apparente du tournesol à *Sclerotinia sclerotiorum*. *Ann. Amélior. Plant.*, **23** (3), 279-286.

Maxwell D. P., Lumsden R. D., 1970. Oxalic acid production by *Sclerotinia sclerotiorum* in infected bean and in culture. *Phytopathology*, **60** (9), 1395-1398.

Noyes R. D., Hancock J. G., 1981. Role of oxalic acid in the *Sclerotinia* wilt of sunflower. *Physiol. Plant Pathol.*, **18** (2), 123-132.

Pauvert D., Lamarque C., 1981. Réalisation d'un appareil simple permettant d'étudier l'influence du temps de mouillage des plantes sur la réussite des contaminations. Application à *Erysiphe graminis* DC., f. sp. *hordei*, *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary, *Botrytis cinerea* Pers. *Agronomie*, **1** (2), 157-159.

Tourvieille de Labrouhe D., Guillaumin J. J., Vear F., Lamarque C., 1978. Rôle des ascospores dans l'infection du tournesol par *Sclerotinia sclerotiorum*. *Ann. Phytopathol.*, **10** (4), 417-431.

Vear F., Guillaumin J. J., 1977. Etude de méthodes d'inoculation du tournesol par *Sclerotinia sclerotiorum* et application à la sélection. *Ann. Amélior. Plant.*, **27** (5), 523-537.