



Caractériser l'agressivité des souches de *Leptosphaeria maculans* par un test sur pétiole en conditions contrôlées

Magali Ermel, Hortense Brun, Régine Delourme, Lydia Bousset

► To cite this version:

Magali Ermel, Hortense Brun, Régine Delourme, Lydia Bousset. Caractériser l'agressivité des souches de *Leptosphaeria maculans* par un test sur pétiole en conditions contrôlées. Cahier des Techniques de l'INRA, 2021, 105, pp.34-44. hal-03288140

HAL Id: hal-03288140

<https://hal.inrae.fr/hal-03288140v1>

Submitted on 4 Jul 2024

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

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



Distributed under a Creative Commons Attribution - ShareAlike 4.0 International License

Caractériser l'agressivité des souches de *Leptosphaeria maculans* par un test sur pétiole en conditions contrôlées

Magali Ermel^{1*}, Hortense Brun, Régine Delourme, Lydia Bousset



Magali Ermel.

Je suis technicienne au sein de l'UMR IGEPP au Rheu. Je travaille depuis 20 ans sur le Phoma, une des maladies les plus importantes du colza causée par le champignon pathogène *Leptosphaeria maculans*. De par mes compétences sur cet agent pathogène et ses interactions avec le colza, mon travail s'articule autour de la caractérisation de la résistance, de l'épidémiologie et de la durabilité des résistances.

Hortense Brun, phytopathologiste, a travaillé sur le phoma et les maladies du colza pendant de nombreuses années avant de prendre sa retraite.



Régine Delourme, généticienne spécialiste du colza, travaille en particulier sur la génétique et l'expression de la résistance quantitative au phoma du colza.



Lydia Bousset, épidémiologiste, travaille sur la maîtrise des épidémies sur les cultures, en particulier sur l'adaptation des populations de champignons à l'utilisation de variétés résistantes.

Résumé. Le phoma du colza ou nécrose du collet est une maladie causée par un champignon phytopathogène *Leptosphaeria maculans*. Chez le colza, on connaît deux types de résistance : qualitative et quantitative. La résistance qualitative, déterminée par des gènes majeurs, agit en « tout ou rien » en empêchant l'infection des feuilles par le champignon. La résistance quantitative, déterminée de manière polygénique, n'empêche pas l'infection des feuilles, mais agit une fois que le champignon progresse depuis les feuilles vers la base de la tige, en limitant la sévérité des nécroses au collet. Parce que l'efficacité de la résistance qualitative diminue au cours du temps à cause de l'adaptation des populations de champignons, les sélectionneurs recherchent des variétés de colza avec une résistance polygénique.

¹ INRAE, UMR1349 IGEPP, F-35653 Le Rheu

*Email: magali.ermel@inrae.fr

Aujourd'hui la question se pose de savoir comment les populations de *L. maculans* vont évoluer dans le temps quand elles sont face à une résistance polygénique ? Comment caractériser le champignon ? Est-ce que le champignon gagne en agressivité c'est-à-dire est-il capable de faire de plus en plus de dégâts sur les plantes au fil du temps ? Puisqu'aucune méthode en condition contrôlées n'était satisfaisante pour caractériser l'agressivité du champignon sur tige, j'ai mis au point une nouvelle méthode d'inoculation par section du pétiole de la deuxième feuille. Cet article décrit ma démarche en deux étapes : d'une part, déterminer le génotype de colza permettant d'obtenir la meilleure discrimination, avec suffisamment de nécrose mais pas trop. D'autre part, valider la méthode en confirmant sa capacité à discriminer l'agressivité sur tige de deux souches témoins, différant pour leur agressivité caractérisée par la taille des symptômes sur cotylédons. La variété Eurol permet de mettre en évidence le degré d'agressivité entre les deux souches. La discrimination des deux souches, JN2 plus agressive que NzT4, correspond aux résultats observés sur cotylédons. Nous avons ensuite utilisé cette méthode dans plusieurs projets.

Mots clé : Phoma, *Leptosphaeria maculans*, colza, agressivité, résistance quantitative

Abstract. The blackleg of oilseed rape or phoma stem canker is a disease caused by a fungal pathogen called *Leptosphaeria maculans*. In the oilseed rape, two resistance types are known : qualitative and quantitative. The qualitative resistance determined by major genes acts in an « all or nothing » manner preventing the fungus to infect leaves. The quantitative resistance determined in a polygenic manner does not prevent leaf infection but reduces fungal systemic growth from the leaves to the stem base and limits the severity of stem canker. Because the efficacy of the qualitative resistance decreases over time due to the adaptation of fungal populations, breeders search oilseed rape varieties with a polygenic resistance. Today the question is to know how the *L. maculans* populations will evolve when they are confronted to a polygenic resistance. How to characterize the fungus? Does the fungus become more aggressive that is to say is it capable to do more damage on plants over time? As no method in controlled conditions was satisfactory to characterize the aggressiveness of the fungus on the stem, we implemented a new method of inoculation by cutting the petioles of the second leave. This article describes our method in two steps: first, to determine the oilseed rape genotype allowing a better discrimination, with enough necrosis but not too much. Secondly, to validate the method confirming its capacity to discriminate the aggressiveness on the stem of two strains with contrasted aggressiveness on cotyledons. The Eurol variety allows to reveal the degree of aggressiveness between the two strains. The discrimination of the two strains, JN2 more aggressive than NzT4, corresponds to the results observed on cotyledons. We then used this method in various projects.

Keywords : Phoma, *Leptosphaeria maculans*, oilseed rape, aggressiveness, quantitative resistance

Introduction

Le phoma du colza ou nécrose du collet est une maladie causée par un champignon phytopathogène *Leptosphaeria maculans* (*L.m*). C'est suite à l'intensification de la culture qu'elle est devenue préoccupante, avec des pertes de rendements de 5 à 20 %. L'utilisation de produit chimique contre l'agent pathogène est difficile à mettre en pratique. La lutte génétique est une alternative intéressante, qui est aujourd'hui celle mise en œuvre pour la culture du colza en France.

Chez le colza, on connaît deux types de résistance : qualitative et quantitative. La résistance qualitative, déterminée par des gènes majeurs, agit en « tout ou rien » en empêchant l'infection des feuilles par le champignon. La résistance quantitative, déterminée de manière polygénique, n'empêche pas l'infection des feuilles, mais agit une fois que le champignon progresse depuis les feuilles vers la base de la tige, en limitant la sévérité des nécroses au collet.

Nous avons étudié tout d'abord la résistance qualitative, en suivant le comportement des populations de champignon vis-à-vis de la culture du colza comportant un ou plusieurs gènes majeurs durant plusieurs années. Pour suivre ces populations, on caractérise la perte de leurs gènes d'avirulence en utilisant un test sur cotylédon de colza en conditions contrôlées (Ermel et Huteau 2005). Ce type de résistance est une résistance totale : lorsqu'elle est efficace, le champignon est incapable d'infecter la plante. Par contre cette résistance n'est pas durable (son efficacité diminue au

cours du temps) parce que les populations du champignon (ensemble d'individus) sont capables de la contourner au fil du temps.

Nous étudions maintenant la résistance quantitative. Parce que l'efficacité de la résistance qualitative diminue au cours du temps à cause de l'adaptation des populations de champignons, les sélectionneurs recherchent des variétés de colza avec une résistance polygénique. Dans ces variétés, une cascade de gènes va limiter la progression du champignon dans la plante puis limiter la nécrose du collet. C'est une résistance partielle, qui permet également de ralentir l'adaptation des populations du champignon aux résistances qualitatives, donc de prolonger l'efficacité de cette dernière (Brun et al. 2010 ; Delourme et al. 2014).

Aujourd'hui la question se pose de savoir comment les populations de *L. maculans* vont évoluer dans le temps quand elles sont face à une résistance polygénique ? Comment caractériser le champignon ? Est-ce que le champignon gagne en agressivité c'est-à-dire est-il capable de faire de plus en plus de dégâts sur les plantes au fil du temps ? Certaines équipes caractérisent la résistance quantitative des variétés par la surface des lésions après avoir infecté des feuilles ou la croissance du champignon dans les pétioles (Huang et al. 2019). Mais il n'y a pas de méthode décrite pour comparer l'agressivité des souches dans la tige. Au sein de mon équipe, nous souhaitons donc travailler en inoculant des plantes en condition contrôlées, et comparer les nécroses obtenues sur les tiges. Pour évaluer la résistance quantitative, j'ai commencé par utiliser une méthode réalisée en piquant à travers une goutte d'inoculum posée à la base du pétiole de la première feuille. Mais avec cette technique, on n'obtient pas à chaque fois une nécrose, et il faut attendre 60 jours avant de pouvoir noter les symptômes. Puisqu'aucune méthode en condition contrôlées n'était satisfaisante pour caractériser l'agressivité du champignon sur tige, j'ai mis au point une nouvelle méthode d'inoculation par section du pétiole de la deuxième feuille. Cet article décrit ma démarche en deux étapes : d'une part, déterminer le génotype de colza permettant d'obtenir la meilleure discrimination, avec suffisamment de nécrose mais pas trop. J'ai retenu la variété sensible Eurol. D'autre part, valider la méthode en confirmant sa capacité à discriminer l'agressivité sur tige de deux souches témoins, différant pour leur agressivité caractérisée par la taille des symptômes sur cotylédons.

Matériels et méthodes

2.1 Variétés et culture des plantes

Nous avons travaillé sur cinq variétés de colza. Aux deux extrêmes, A30 est une référence pour l'absence de résistance quantitative, Darmor est une référence pour son fort niveau de résistance quantitative. Les trois autres variétés choisies Astrid, Aviso et Eurol se situent entre ces deux extrêmes. La variété Darmor comporte le gène Rlm9 et la variété Eurol comporte les gènes Rlm2 et Rlm3, ce qui n'empêche pas l'infection par les souches choisies.

Les graines pré-germées trois jours sur papier filtre sont repiquées en godets 9 x 9 cm dans un mélange 1:1:1 de sable, tourbe et terreau. La culture se fait en chambre climatique pendant 21 jours avant inoculation et 40 jours après inoculation. La photopériode est 16h de lumière / 8h d'obscurité et les températures sont de 20°C le jour / 18°C la nuit. Les plantes sont arrosées à l'eau du robinet.

2.2 Souches du champignon et préparation de la suspension de spores

Nous avons travaillé avec deux souches préalablement caractérisées par les collègues de l'équipe EPLM, UMR Bioger (INRAE) pour leur agressivité sur cotylédons. JN2 (aussi nommée v23-1-2) cause sur cotylédons des lésions plus grandes que NzT4 (résultats non publiés). Leurs pathotypes sont pour JN2 virulente 3 virulente 4 Avirulente 7 virulente 9 et pour NzT4 virulente 3 virulente 4 virulente 7 virulente 9.

Les inoculations artificielles en conditions contrôlées sont réalisées à l'aide de suspensions de conidies calibrées. A partir des souches du champignon en culture sur gélose (mycélium), j'effectue un repiquage sur milieu nutritif au jus de légumes « milieu V8 », suivi d'une incubation sous lumière noire pendant dix jours qui permet d'induire la sporulation du champignon. Je récolte les conidies dans de l'eau stérile avant leur dénombrement à la cellule de Malassez, puis je procède à des dilutions pour ajuster la concentration à 1.10^7 spores /ml. J'aliquote en tubes cet inoculum et le conserve à -20°C.

2.3 Dispositif expérimental

Une première expérience avait pour objectif de comparer les cinq variétés pour leur capacité à discriminer les deux souches. Nous avons trois blocs et deux répétitions de 3 plantes x 5 variétés x 2 souches, soit 18 plantes par couple variété-souche.

Une seconde expérience avait pour objectif de mesurer l'agressivité de chacune des deux souches sur la variété Eurol. Elle comprenait trois blocs de 9 plantes x 2 souches, soit 27 plantes par couple variété-souche.

2.4 Inoculation et incubation

La technique utilisée antérieurement consistait à inoculer deux pétioles blessés. Nous avons choisi de simplifier le processus d'inoculation. La technique que nous proposons consiste à inoculer un pétiole coupé (Figure 1; Gervais et al. 2017). À 21 jours, les plantes sont au stade 3 feuilles et le pétiole de la deuxième feuille est sectionné au scalpel à environ 0.5 cm de la tige (Figure 2a). Une goutte de 10 μ l d'une suspension à 10^7 spores /ml est déposée à la pipette sur le pétiole sectionné (Figure 2b). La goutte de 10 μ l se maintient en place (Figure 2c).

Sitôt après l'inoculation, les plateaux sont replacés dans la chambre de culture, recouverts d'un couvercle (maxi-serre) et d'un sac opaque noir. L'obscurité est maintenue 24 heures puis le sac est enlevé. Le couvercle est enlevé 72 heures après inoculation.

Figure 1. Schéma récapitulatif des principales étapes du protocole.

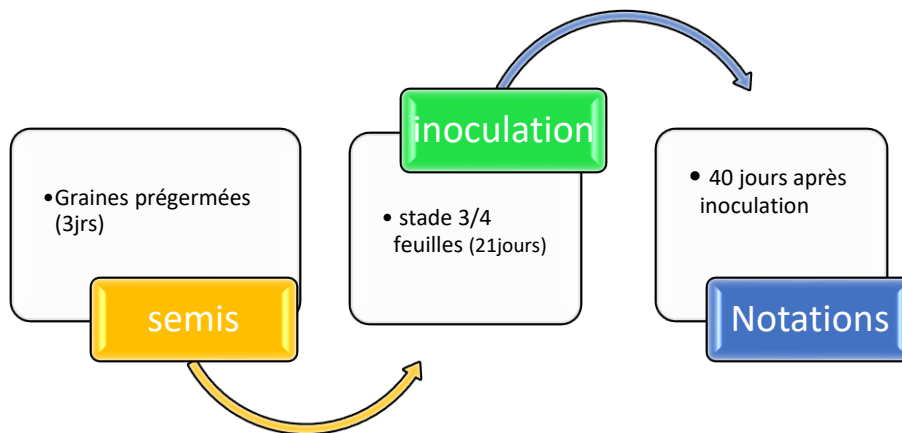
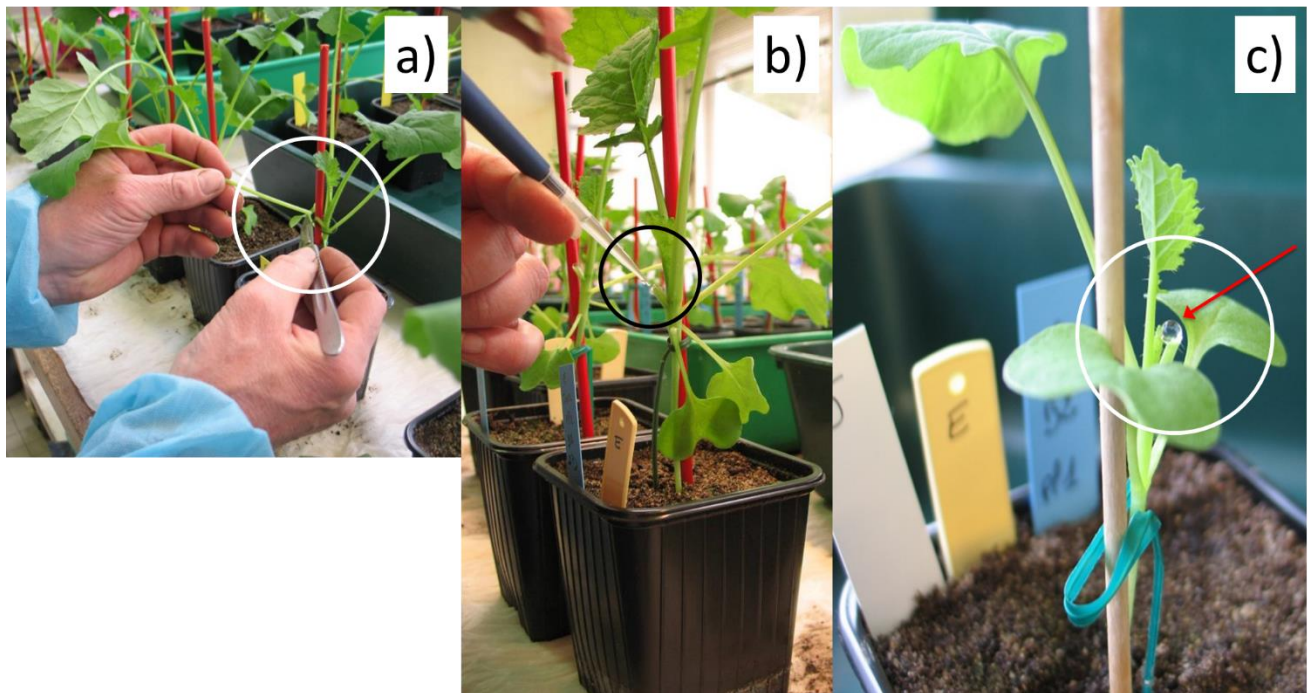


Figure 2. Inoculation des plantes de colza par la méthode du pétiole coupé. a) Le pétiole de la deuxième feuille est sectionné au scalpel ; b) Une goutte est déposée à la pipette sur le pétiole sectionné ; c) La goutte se maintient en place.



2.5 Notation de la sévérité des symptômes sur tige

À 40 jours après inoculation, la tige est coupée au niveau du sol puis quatre variables sont collectées (Tableau 1). Sur la tige intacte, on mesure au pied à coulisse la longueur de symptôme non nécrotique externe (noircissement), la longueur de nécrose externe (aspect grisâtre et liégeux). On coupe au couteau la tige dans la longueur et une fois la tige ouverte on mesure au pied à coulisse la longueur de symptôme non nécrotique interne (noircissement) et la longueur de nécrose interne (aspect grisâtre et liégeux). La différence entre les symptômes non nécrotiques et les nécroses est illustrée sur la Figure 3.

Tableau 1. Variables mesurées lors de la notation.

Variable
Lne Longueur de nécrose externe
Lni Longueur de nécrose interne
Lse Longueur de symptôme non nécrotique externe
Lsi Longueur de symptôme non nécrotique interne

2.6 Analyse des données

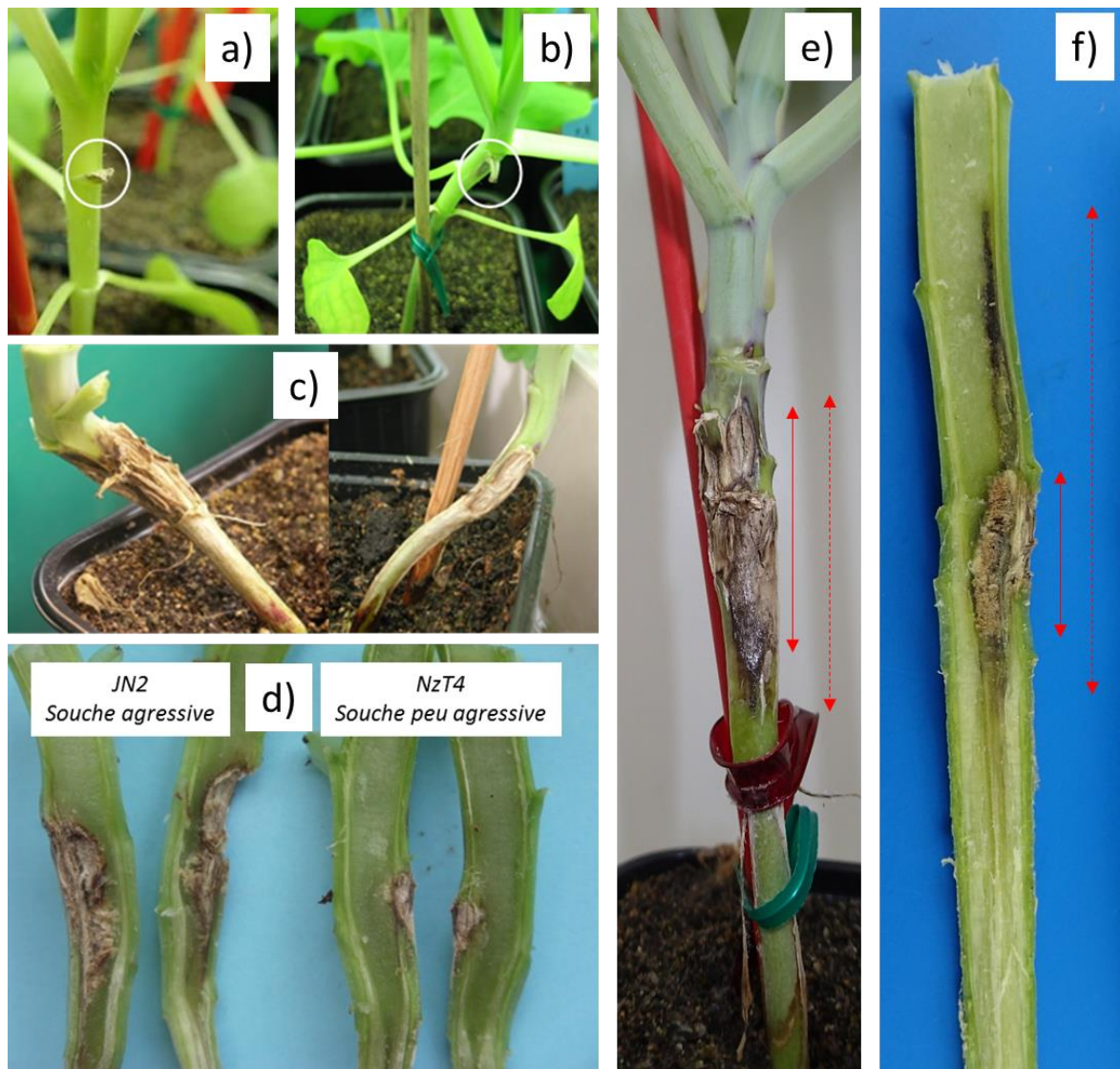
Pour chaque expérimentation et pour chacune des variables, une première analyse de variance (Anova avec erreur de type II, test Chi2) est réalisée avec le modèle linéaire complet (effets Bloc, répétition, variété, souche et interactions) suivie d'un test de Fisher pour la qualité prédictive du modèle. Si certains des effets ne sont pas significatifs, une seconde analyse de variance est réalisée sur un modèle simplifié (effets souche et variété, et interaction). Un test de comparaison de moyennes est ensuite réalisé avec les procédures cld et emmeans. L'homogénéité des variances est vérifiée. Toutes les analyses sont réalisées avec le logiciel R version 3.6.2 (RCore team 2019)

3. Résultats

3.1 Développement des symptômes

Sur les plantes inoculées, les symptômes se manifestent d'abord sur le pétiole inoculé, puis sur la tige (Figure 3a, b). Pendant la croissance des plantes, on peut suivre le développement des nécroses sur l'extérieur de la tige (Figure 3c). Lors de la notation 40 jours après inoculation, on mesure également les nécroses internes (Figure 3d). Selon les variétés et les plantes, il y a soit une nécrose d'apparence grise et liégeuse (Figure 3e, f flèches pleines), soit un symptôme non nécrotique de noircissement (Figure 3e, f flèches pointillées). Il faut cependant noter que les symptômes non nécrotiques ne sont pas présents sur chaque plante.

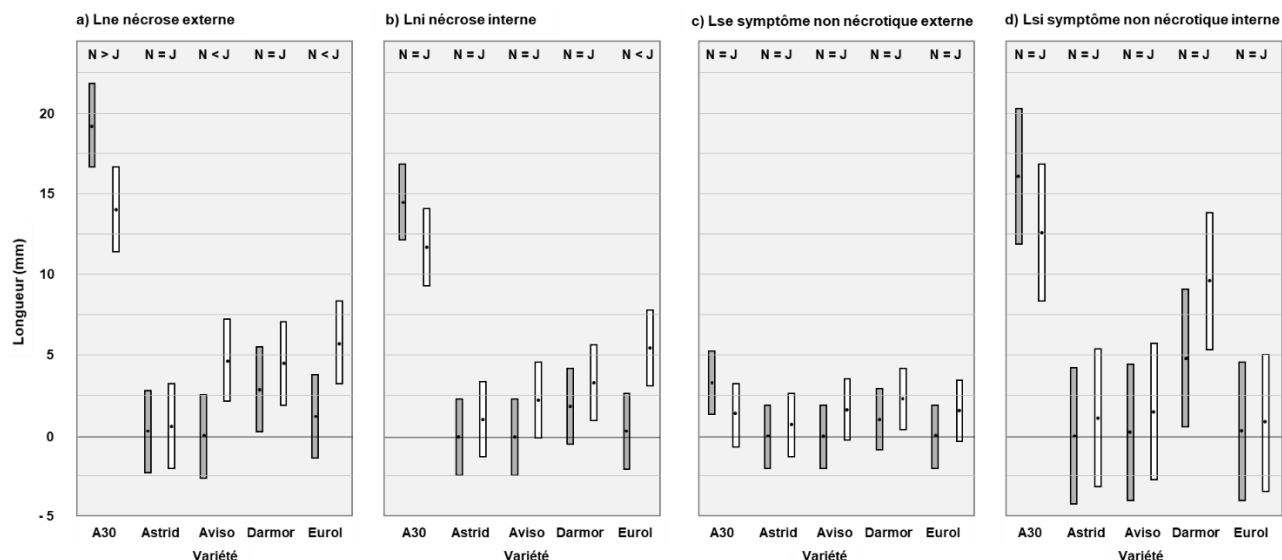
Figure 3. Développement des symptômes. a) Sur le pétiole inoculé après 4 jours ; b) Sur le pétiole inoculé et la tige après 9 jours ; c) Sur l'extérieur de la tige après 40 jours ; d) A l'intérieur de la tige après 40 jours. A l'extérieur e) et à l'intérieur f) de la tige, on distingue les nécroses (flèches pleines) des symptômes non nécrotiques de noircissement (flèches pointillées).



3.2 Sévérité des nécroses sur les 5 géotypes dans l'expérience 1

Dans l'expérience 1 avec 18 plantes par couple variété-souche, c'est sur la variété A30 la plus sensible que les nécroses et symptômes non nécrotiques les plus longs ont été observés (Figure 4). La longueur de nécrose externe (Lne) permet de discriminer les souches sur les variétés A30, Aviso et Eurol (Figure 4 ; Annexe 1). Sur Aviso, la souche NzT4 moins agressive ne cause pas de nécrose. La longueur de nécrose interne (Lni) permet de discriminer les souches sur la variété Eurol. On remarque que les longueurs de symptômes non nécrotiques (Lse et Lsi) ne permettent de discriminer les deux souches pour aucune des variétés. On remarque également qu'en raison de leur absence sur certaines plantes, la longueur moyenne des symptômes non nécrotiques peut être inférieure à la longueur moyenne des nécroses (Figure 4).

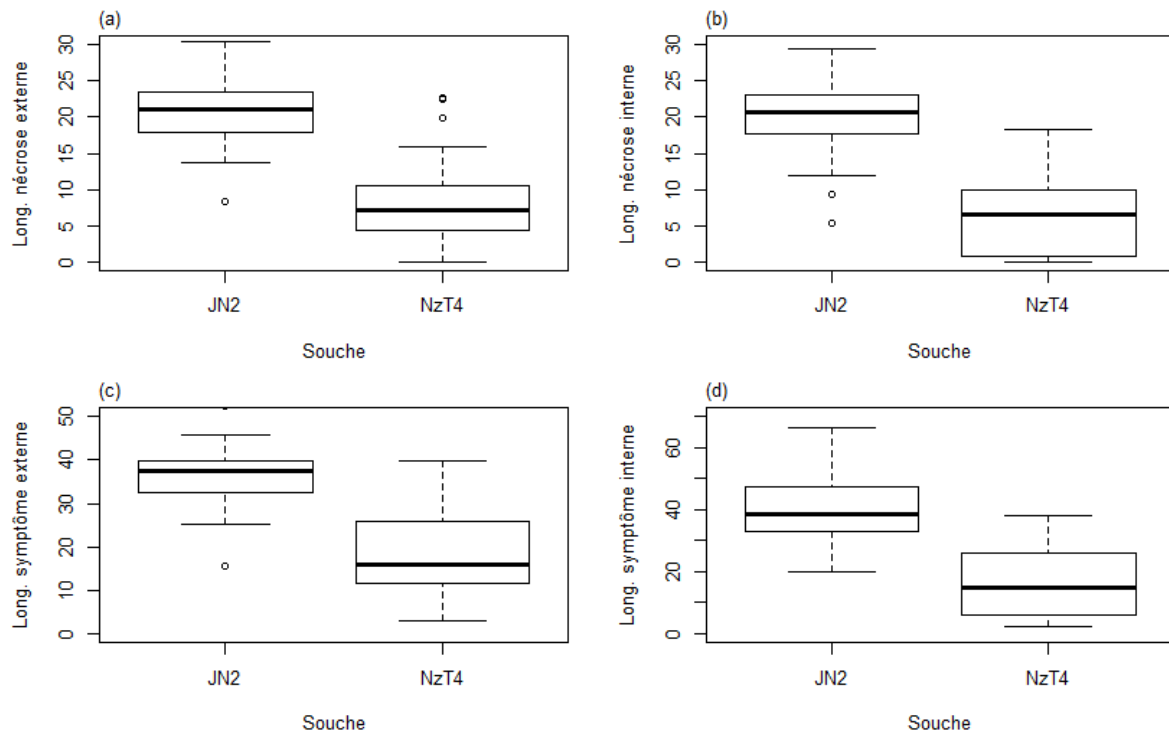
Figure 4. Moyenne et intervalle de confiance à 95% calculés dans l'expérience 1 pour chacune des 4 variables Lne, Lni, Lse, Lsi, sur les 5 variétés A30, Astrid, Aviso, Darmor et Eurol pour les deux souches NzT4 (barres grisées) et JN2 (barres blanches). Ces valeurs sont obtenues par analyse de variance sur les longueurs mesurées en millimètres, puis test de comparaison de moyennes. "N" correspond à la souche NzT4 et "J" correspond à la souche JN2 ; Pour chaque comparaison, "<" et ">" indiquent une différence significative.



3.3 Application de la méthode à la caractérisation de l'agressivité des souches dans l'expérience 2

Dans l'expérience 2, j'ai travaillé sur la variété Eurol avec 27 plantes pour chaque souche. On constate que les 4 variables donnent la même réponse, avec des nécroses et des symptômes non nécrotiques plus longs pour la souche JN2 que pour la souche NzT4 (Figure 5). Les comparaisons de moyennes indiquent que ces différences sont toutes significatives. Ce classement des souches est celui attendu d'après l'agressivité des souches sur cotylédons.

Figure 5. Boîtes à moustaches pour chacune des 4 variables dans l'expérience 2 sur la variété Eurol pour les deux souches NzT4 et JN2. a) longueur de nécrose externe ; b) longueur de nécrose interne ; c) longueur de symptôme non nécrotique externe ; d) longueur de symptôme non nécrotique interne. Chacune des longueurs est exprimée en millimètres.



Discussion

La méthode d'inoculation pétiole blessé par griffure est une méthode dont le geste est aléatoire d'une plante à l'autre. La méthode d'inoculation pétiole coupé est plus simple à réaliser par une section nette du pétiole et le geste est plus répétable. De plus l'inoculation est plus rapide. Cela permet la gestion de plus de plantes ce qui est intéressant du fait qu'on a des écart-types assez conséquents d'où l'importance d'augmenter les effectifs de plantes.

Pour la méthode pétiole blessé les notations de nécroses sont réalisées 60 jours après inoculation, la méthode pétiole coupé 40 jours après inoculation. L'avantage majeur de cette méthode est un gain de temps. L'apparition rapide de symptômes externes permet également un suivi de la maladie. Nous avons obtenu des résultats similaires (mesures de nécrose) avec les deux méthodes, ce qui a permis la validation de la méthode pétiole coupé.

Pour le Phoma, le symptôme principal de la maladie est la nécrose interne du collet. Pour ces tests nous nous basons principalement sur la longueur de nécrose interne Lni. Cette variable sur laquelle nous allons travailler est la plus discriminante. La notation de symptômes non nécrotiques internes Lsi reste indispensable, parce que dans les cas où on ne voit pas de nécrose, cela nous conforte quant à la présence du champignon dans la plante.

Dans ces tests, nous nous sommes rendu compte que l'agressivité variait selon la variété inoculée. La variété Eurol permet de mettre en évidence le degré d'agressivité entre les deux souches. On discrimine les deux souches comme les collègues l'avaient observé sur cotylédons, c'est-à-dire JN2 plus agressive que NzT4. Nous avons donc choisi la variété Eurol pour comparer l'agressivité des souches dans nos projets suivants.

Nous avons ensuite utilisé cette méthode dans plusieurs projets réalisés en collaboration. Dans le cadre du projet AVIRLEP, nous devons évaluer pour leur agressivité 52 souches issues de la descendance des deux souches parentales JN2 et NzT4 présentées dans cet article. Il nous fallait une méthode qui discrimine bien les niveaux d'agressivité avec des réponses homogènes et rapides. Cette méthode pétiole coupé a été mise en œuvre simultanément par trois des partenaires du projet, et s'est montrée appropriée pour le projet, dont les résultats sont en cours d'analyse. Dans un second projet mené à l'IGEPP, nous souhaitions étudier l'impact de la diversité du microbiote racinaire des plantes sur leur sensibilité aux maladies. En utilisant le test pétiole coupé sur des plantes poussant dans

du sol inoculé avec des communautés microbiennes de diversité différentes, nous avons pu montrer que le microbiote impacte la sensibilité des plantes de colza au phoma.

Remerciements

Marie-Hélène Balesdent (INRAE, Equipe EPLM, UMR Bioger) pour les souches et Henri Miteul pour l'aide technique. Ce projet a bénéficié du financement de l'ANR (Agence Nationale de la Recherche) pour le projet ANR-07-GPLA-0015 AVIRLEP.

Cet article est publié sous la licence Creative Commons (CC BY-SA).



<https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/>

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 « Le Cahier des Techniques de l'Inra », la date de sa publication et son URL).

Bibliographie

- Brun H, Chèvre AM, Fitt BDL, Powers S, Besnard AL, Ermel M, Huteau V, Marquer B, Eber F, Renard M, Andrivon D, 2010. Quantitative resistance increases the durability of qualitative resistance to *Leptosphaeria maculans* in *Brassica napus*. *New Phytologist* 185, 285–99.
- Delourme R, Bousset L, Ermel E, Duffé P, Besnard AL, Marquer B, Fudal I, Linglin J, Chadoeuf J, Brun H, 2014. Quantitative resistance affects the speed of frequency increase but not the diversity of the virulence alleles overcoming a major resistance gene to *Leptosphaeria maculans* in oilseed rape. *Infection, Genetics and Evolution* 27, 490–9.
- Ermel M, Huteau V, 2005. Détecter et caractériser les gènes d'avirulence de *Leptosphaeria maculans* sur colza. *Cahiers techniques de l'INRA. Numéro spécial « Bioagresseurs »* page 105-110.
- Gervais J, Plissonneau C, Linglin J, Meyer M, Labadie K, Cruaud C, Fudal I, Rouxel T, Balesdent MH, 2017. Different waves of effector genes with contrasted genomic location are expressed by *Leptosphaeria maculans* during cotyledon and stem colonization of oilseed rape. *Molecular Plant Pathology*, 18, 1113-1126.
- Huang YJ, Paillard S, Kumar V, King GJ, Fitt BDL, Delourme R, 2019. Oilseed rape (*Brassica napus*) resistance to growth of *Leptosphaeria maculans* in leaves of young plants contributes to quantitative resistance in stems of adult plants. *PLoS ONE* 14(9): e0222540. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0222540>

Annexes

Annexe 1. Tableaux d'analyse de variance (Anova modèle linéaire avec erreurs de type II, test χ^2) pour les expériences 1 et 2, les 4 variables Lne, Lni, Lse, Lsi (Tableau 1). Pour chaque analyse et chaque facteur du modèle linéaire, la somme des carrés (S. carrés), le nombre de degrés de liberté (DDL), la valeur du test (F) et la probabilité que cette valeur soit significative ($Pr(>F)$) sont indiquées. Pour chacun de ces modèles, la part de la variance expliquée (le R^2 ajusté, la valeur du test (F) et la probabilité que cette valeur soit significative ($Pr(>F)$) sont indiquées. Pour l'expérience 1 des analyses préalables avec des modèles complets ont indiqué que les facteurs Bloc et Répétition n'avaient pas d'effet significatif. Les analyses ont donc été refaites avec ces modèles plus simples.

		Analyse de variance						Modèle		
Expérience	Variable	Facteur	S. carrés	DDL	F	Pr(>F)		R ²	F	Pr(>F)
Exp. 1	Lne	Souche	63,6	1	2,03	0,16		0,53	23,59	<2,2e-16
		Variete	5987,4	4	47,87	<2,2e-16	***			
		Souche:Variete	589,0	4	4,71	0,00	**			
		Résidus	5316,2	170						
Exp. 1	Lni	Souche	93,9	1	3,62	0,06	.	0,46	18,02	<2,2e-16
		Variete	3821,1	4	36,83	<2,0e-16	***			
		Souche:Variete	292,4	4	2,82	0,03	*			
		Résidus	4409,8	170						
Exp. 1	Lse	Souche	18,05	1	1,07	0,30		0,11	1,223	0,28
		Variete	89,14	4	1,32	0,27				
		Souche:Variete	79,26	4	1,17	0,33				
		Résidus	2880,5	170						
Exp. 1	Lsi	Souche	32,1	1	0,38	0,54		0,24	7,504	3,25e-9
		Variete	5356,4	4	15,86	4,71e-11	***			
		Souche:Variete	312,2	4	0,92	0,45				
		Résidus	14350	170						
Expérience 2										
Exp. 2	Lne		S. carrés	DDL	F	Pr(>F)				
		Souche	2130,4	1	66,82	8,94e-11	***	0,56	23,65	1,14e-9
		Bloc	131,3	1	4,12	0,05	*			
		Souche:Bloc	0,5	1	0,02	0,90				
		Résidus	1594,0	50						
Exp. 2	Lni	Souche	2458,9	1	77,44	9,88e-12	***	0,59	26,44	2,19e-10
		Bloc	59,3	1	1,87	0,18				
		Souche:Bloc	0,1	1	0,00	0,97				
		Résidus	1587,6	50						
Exp. 2	Lse	Souche	4937,2	1	55,61	1,16e-9	***	0,52	19,91	1,25e-8
		Bloc	96,9	1	1,09	0,30				
		Souche:Bloc	269	1	3,03	0,09	.			
		Résidus	4438,8	50						
Exp. 2	Lsi	Souche	7537,4	1	52,87	2,26e-9	***	0,5	18,54	3,20e-8
		Bloc	162,6	1	1,14	0,29				
		Souche:Bloc	231,6	1	1,62	0,21				
		Résidus	7128,6	50						