

Etude de méthodes d'inoculation du Tournesol par *Sclerotinia sclerotiorum* et application à la sélection

Felicity VEAR et J. J. GUILLAUMIN*

Station d'Amélioration des Plantes, I.N.R.A.,
Domaine de Crouelle, 63100 Clermont-Ferrand
* Station de Pathologie végétale, I.N.R.A.,
Domaine de Mon Désir, 63100 Clermont-Ferrand

Résumé

Dans le but de comparer la sensibilité de diverses variétés de Tournesol au champignon *Sclerotinia sclerotiorum*, les auteurs ont testé diverses méthodes d'inoculation. La méthode qui a été retenue consiste en l'apport de mycelium sur la face stérile du capitule, sans blessure. Les conditions et les limites de l'utilisation de cette méthode ont été étudiées : bien que très sensible aux conditions météorologiques, le test établit un classement variétal qui n'est modifié ni d'une année à l'autre, ni en fonction du stade phénologique de la plante.

Cette méthode a fait l'objet d'un début d'utilisation à des fins de sélection. On a noté des différences significatives entre hybrides et entre lignées, une relation entre la sensibilité des hybrides et celle des lignées à partir desquelles ils ont été obtenus, et une corrélation significative, avec le comportement des variétés au champ.

La proportion des descendance homogènes s'accroît au cours des autofécondations et l'hérédité du caractère reste relativement élevée. La tolérance pourrait être gouvernée, en partie, par un caractère dominant, ce qui permettrait d'éliminer assez facilement des programmes de sélection, les lignées très sensibles au *Sclerotinia*.

Introduction

La pourriture blanche provoquée par *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) De By. = *Whetzelinia sclerotiorum* (Lib.) Korf et Dumont est l'une des affections cryptogamiques les plus dommageables sur le Tournesol (*Helianthus annuus* L.).

Le champignon se conserve dans le sol sous forme de sclérotés de grande taille (de 0,5 à 2 cm). La germination de ces organes peut, selon les conditions du milieu, revêtir deux modalités différentes :

a) au voisinage d'une plante sensible, le sclérote peut donner naissance à un

mycelium capable d'infecter le collet de la plante. Ces infections du collet débutent précocement (dès début juin) et peuvent se poursuivre tout au long de la saison de végétation,

b) les sclérotés sont également susceptibles de donner naissance à la forme sexuée, constituée par des apothécies en forme de coupes pédicellées. Le pied de l'apothécie traverse quelques millimètres de terre, à la surface du sol, son extrémité s'épanouit en une coupe, porteuse d'un hymenium constitué d'asques à 8 ascospores. A la maturité des asques, les ascospores sont éjectées au-dessus de l'apothécie, puis reprises par le vent. Elles sont responsables des infections qui se produisent en milieu de tige ou sur le capitule. Ces attaques, plus groupées dans le temps et plus tardives que les infections de collet, surviennent à la fin de l'été.

La résistance absolue à la pourriture blanche est inconnue chez l'espèce Tournesol. Toutefois, dans les conditions du champ, les différentes variétés ne présentent pas le même comportement face à la maladie. Certaines sont régulièrement plus attaquées que d'autres. Il existe probablement une résistance relative, de type « horizontal », dépendant de l'état de la plante et de son âge: des inoculations sur plantules nous ont montré une sensibilité élevée et sans rapport avec les attaques naturelles (VEAR, non publié).

Ces différences de sensibilité au stade adulte furent signalées par PUTT dès 1958, confirmées par LECLERCQ (1973) et KROEZE (1974). Mais les études de ces auteurs ne portaient que sur des plantes victimes d'infections naturelles, cultivées dans des champs particulièrement contaminés.

LECLERCQ, s'intéressant aux attaques sur capitules, a montré qu'une partie des différences variétales pouvait s'expliquer par des différences dans la taille, les variétés les plus courtes étant plus attaquées. Mais cet auteur reconnaissait que l'influence de la taille (qui s'explique sans doute par la rareté en altitude des ascospores émises au niveau du sol) ne rendait pas compte de toute la variabilité enregistrée.

Nous avons cherché à mettre au point des méthodes d'infection artificielle permettant, à des fins de sélection, de mesurer la résistance « intrinsèque » des plantes (c'est-à-dire la résistance des tissus à la pénétration et/ou à la progression du mycelium), sans être tributaire du potentiel d'inoculum et des conditions de l'environnement.

Au niveau du capitule, bien que les ascospores constituent l'élément contaminant primaire, les tentatives d'inoculation de tissus vivants par des ascospores se traduisent très généralement par des échecs (GUILLAUMIN, non publié, LAMARQUE, comm. pers.). Il est vraisemblable que le *Sclerotinia* se développe tout d'abord sur un substrat formé de tissus morts ou sénescents, qui constituent un « relai » à partir duquel une masse mycélienne plus importante devient capable, grâce aux exoenzymes qu'elle sécrète, de coloniser les tissus vivants (ce comportement de « perthophyte » a été démontré dans le cas du *Botrytis cinerea*, autre agent de pourriture du Tournesol, par COURTILLOT *et al.* (1973) et par GUILLAUMIN *et al.* (1974)). Nous avons donc tenté d'effectuer les inoculations sur capitules au moyen d'implants mycéliens d'une taille suffisante, mimant les relais saprophytiques naturels.

Au niveau du collet, les inoculations ont été effectuées par simple dépôt de sclérotés, conformément au processus naturel.

I. — Matériel et méthodes

A. — Méthodes

1) *Inoculation des capitules*

a) *Sans blessure*

La méthode choisie est adaptée de celle préconisée par l'un d'entre nous (GUILLAUMIN *et al.*, 1974) pour le *Botrytis* du Tournesol; le champignon est cultivé en boîtes de Petri sur 40 ml d'un milieu contenant par litre 12 g d'agar, 10 g d'extrait de malt, 0,625 g de $MgCO_3$ et 0,25 g de $Ca_3(PO_4)_2$. La température d'incubation est de 20 °C.

L'inoculum consiste en des pastilles de 10 mm de diamètre, découpées à l'aide d'un emporte-pièce sur la marge d'un thalle âgé de 4 jours. Ces pastilles sont placées sur la face stérile du capitule (du côté du pédoncule) et maintenues en place par un morceau de ruban adhésif. On procède pour chaque capitule, à 3 répétitions disposées en triangle. Dans le cas des descendances homogènes; chaque série comporte 6 capitules, soit 18 répétitions.

Les inoculations sont effectuées sur des plantes entières au champ et sur des capitules maintenus en survie en chambre climatisée. Au champ, les capitules sont enfermés dans des sacs de polyéthylène opaques maintenant l'obscurité et une humidité saturante. En chambre climatisée, la température est maintenue à 18 °C, les capitules trempent dans des bacs emplis d'eau et sont recouverts par des bâches de polyéthylène.

Les notations sont généralement effectuées 3 jours après inoculation en chambre climatisée et 4 jours après inoculation au champ. La grandeur que l'on mesure est la vitesse de progression du mycelium dans les tissus parenchymateux du capitule : les taches de pourriture apparues autour des points d'inoculation sont décalquées sur une feuille de polyéthylène transparente, la surface de la copie est ensuite mesurée. Trois méthodes d'évaluation de la surface ont été testées :

(1) découpage de la copie et pesée;

(2) obscurcissement de la silhouette et mesure de la surface au planimètre optique;

(3) mesure de deux diamètres perpendiculaires.

Cette troisième méthode, beaucoup plus rapide, a fourni des résultats très proches des chiffres obtenus par pesée (corrélation avec la méthode par pesée : $r = 0,99$). Elle a donc finalement été adoptée.

b) *Inoculation avec blessure*

La méthode utilisée est inspirée de la méthode de KOUKINE reprise par CUK (1974) : le *Sclerotinia* est d'abord cultivé sur des fragments de carottes, à 18 °C et à l'obscurité. Après 10 jours de culture, des morceaux de bois ayant la dimension d'une allumette sont enfoncés dans les carottes. Ces fragments, colonisés à leur tour par le champignon, sont prélevés 10 jours après leur dépôt.

L'inoculation est effectuée en enfonçant ces baguettes dans l'épaisseur des tissus parenchymateux du capitule, sur environ 1 cm $\frac{1}{2}$ de profondeur, du côté du pédoncule.

Comme dans le cas précédent, les inoculations sont effectuées au champ sur

plantes entières et en chambre climatisée sur capitules en survie. Les conditions d'incubation et de lecture des résultats sont les mêmes que pour la méthode sans blessure.

2) *Inoculations au collet*

L'inoculation consiste dans l'apport, au pied de chaque plante, de 4 sclérotés de taille moyenne (pesant de 0,2 à 0,4 g chacun). Ces sclérotés sont placés 5 cm en dessous du collet, au contact du pivot, sans blessure du système racinaire.

Les sclérotés utilisés, d'origine naturelle, avaient subi un séjour au froid (3 mois à 4°C).

Les observations sont effectuées 15 jours, 1 mois et 2 mois après inoculation. L'infection est considérée comme positive quand une tache de pourriture brun clair apparaît au contact du collet, remontant dans la tige. Contrairement au test capitule, il n'est pas possible d'apprécier la sensibilité par la mesure d'une variable continue, le comportement de chaque variété est caractérisé simplement par le pourcentage de réussite de l'infection.

B. — *Isolats*

Nous avons utilisé les isolats SC5 (1974), SC6 (1975) et SM2 (1976), tous trois issus d'attaques naturelles de *Sclerotinia* sur Tournesol. La diminution d'agressivité provoquée par un maintien trop prolongé en culture pure justifiait ce changement d'isolat, opéré chaque année. Par ailleurs, la nature « horizontale » de la résistance (c'est-à-dire l'absence d'interaction entre le génotype de l'hôte et celui du pathogène) nous autorisait à effectuer ce changement.

Les sclérotés utilisés pour les inoculations au collet, étant d'origine naturelle (obtenus au moment du battage par tri à partir d'un lot de graines contaminé) présentent vraisemblablement une certaine hétérogénéité génétique. Il est à noter que des sclérotés obtenus en culture pure, de petite taille et non vernalisés, ont donné des résultats beaucoup plus irréguliers, l'échec pouvant être attribué soit à l'absence de séjour au froid, soit aux dimensions plus réduites des sclérotés.

II. — Résultats

A. — *Comparaison de méthodes d'inoculation*

Ils apparaissent sur les tableaux 1 (comparaison des méthodes avec et sans blessure, sur capitule, sur 4 variétés), 2 (inoculation de 13 lignées sur capitule, sans blessure, au champ et en chambre climatisée et 3 (comparaison de l'inoculation au collet et de l'inoculation sur capitule, sur 4 variétés). Ces résultats permettent de tirer les conclusions suivantes :

1° Les inoculations sur capitules font apparaître des différences significatives dans la sensibilité des variétés.

2° Les méthodes utilisant des bûchettes et des pastilles de gélose amènent au même classement des variétés, mais la méthode par pastilles de gélose (sans blessure), donne des résultats beaucoup plus réguliers. L'hétérogénéité des résultats obtenus avec les bûchettes est peut être due à un effet inhibiteur des blessures

TABLEAU 1

Inoculations sur capitule avec et sans blessures (14-8-75)

Variétés	Avec blessure			Sans blessure			
	Champ	Chambre		Champ		Chambre	
	Réussite inoculations (/18)	Réussite inoculations (/18)	Surface taches (mm ²)	Réussite inoculations (/18)	Surface taches (mm ²)	Réussite inoculations (/18)	Surface taches (mm ²)
« INRA 4701 » .	0	0	—	2	12,1	17	88,0
« Rémil »	0	(a) 9 (b) 9	(a) 41,8 (b) 36,3	11	88,0	(a) 17 (b) 18	(a) 126,5 (b) 172,7
«CPK34×Rha265»	1	15	141,9	12	157,3	18	239,8
« Peredovik » . . .	1			13	308,0		

Note : il y avait 2 séries d'inoculation sur « Rémil » : (a) et (b).

TABLEAU 2

*Inoculations sur capitule sans blessures
(au champ et en chambre climatisée sur 13 lignées pures)*

Champ 4 jours			Chambre 3 jours		
Lignées	Surface (mm ²)	Groupes	Lignées	Surface (mm ²)	Groupes
Bc 251	204,6	a	Bc 251	245,3	a
CHIR 3.	271,7	a	CHIR 3.	305,8	a b
Bz a2.	501,6	b	CAD 62.	344,3	a b c
CY 21	552,2	b c	Bc 252	348,7	a b c
Bc 253	602,8	b c	CY 21	397,1	b c d
Bc 252	609,4	b c	CVH 11.	419,1	c d
CAD 62	657,8	c	CVH 62.	467,5	d e
Rha 265	710,6	c	Rha 265.	469,7	d e
CVH 11	712,8	c d	Bc 253	524,7	e f
CVH 62	735,9	c d	CPM 2	530,2	e f
CIS 2.	735,9	c d	CIS 2.	596,2	f
Rha 266	753,5	c d	Bza 2.	605,0	f
CPM 2	861,3	d	Rha 266.	718,3	g
PPDS = 149,6			PPDS = 105,6		

Corrélation champ-chambre : $r = 0,68$ 12 ddl T = 3,24 (H.S.).

TABLEAU 3

*Inoculations au collet par sclérotés (1976)
et comparaison avec les inoculations sur capitule sans blessure*

VARIÉTÉS	Inoculations au collet par sclérotés					(*) Inoculations sur capitules	
	Résultats après 1 mois			Résultats après 2 mois		Surfaces (en mm ²)	Groupes
	Nombre de plantes atteintes (sur 140)	%	Groupes	Nombre de plantes atteintes (sur 100)	Groupes		
« INRA 4701 » . . .	14	10	a	24	a	317,8	a
« CHIR 3 × Bc 251 » . . .	37	26	b	50	b c	408,6	a
« Peredovik » . . .	37	26	b	42	a b	617,9	b
« CPM 2 × Rha 266 »	43	30	b	66	c	1 604,2	c

(F variétés = 155, T.H.S. ppds 5 % = 131,6).

(*) Inoculations en plein champ, lecture après 5 jours, moyenne sur 90 répétitions.

(libération de substances fongitoxiques par les cellules lésées), mais peut être aussi à une inégale colonisation des bûchettes par le champignon.

3° Le tableau 2 montre que les inoculations effectuées au champ et en chambre de culture fournissent des classements variétaux peu différents (coefficient de corrélation entre les 2 séries de résultats, $r = 0,68$ pour 13 couples).

4° Les inoculations par sclérotés au collet permettent également de mettre en évidence des différences significatives entre variétés, bien que l'emploi d'une méthode de « tout ou rien » rende le test moins performant qu'au niveau des capitules, où l'on opère sur une variable continue.

Pour les quatre variétés testées, le classement obtenu est à peu près le même que celui établi par inoculation des capitules. Notre échantillon est trop réduit pour que cette constatation soit généralisable.

Ces premiers résultats nous ont amenés à choisir, pour la sélection, la méthode d'inoculation sans blessure sur capitules. Il était évidemment préférable d'opérer en plein champ, sur plantes entières, afin de pouvoir étudier plus rapidement un plus grand nombre de géotypes. Nous avons donc été amenés à étudier les conditions d'utilisation en plein champ de cette technique, et à rechercher ses limites.

B. — Étude des conditions d'utilisation de la méthode d'inoculation

1) Influence des conditions météorologiques

Des inoculations ont été effectuées quotidiennement, pendant une période de 18 jours (du 19/8 au 7/9/1976), sur les variétés « INRA 4701 » et « Peredovik ». Les résultats en sont donnés par la figure 1. Par ailleurs, chaque jour ont été notées

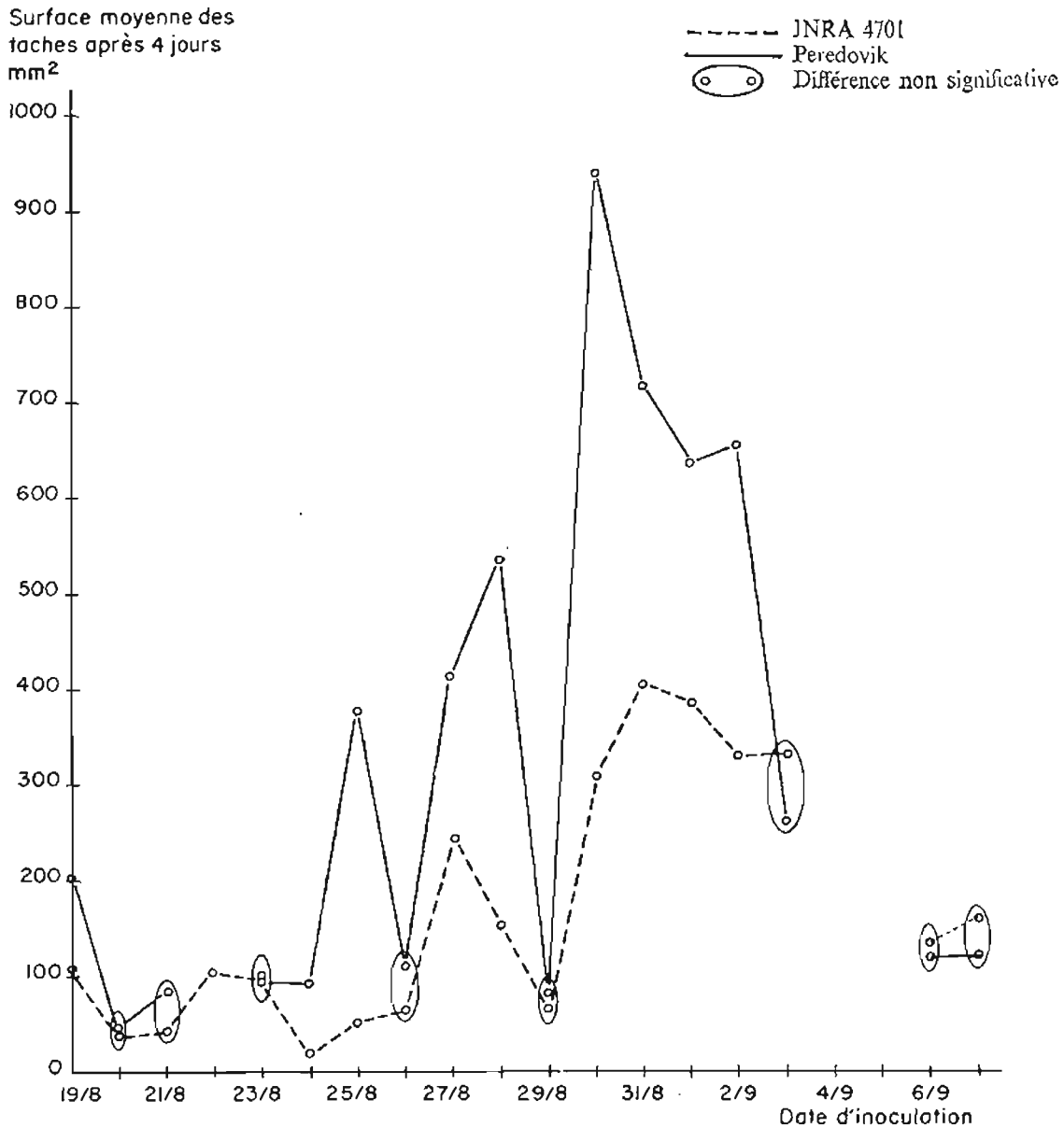


FIG. 1. — Résultats d'inoculations quotidiennes sur les capitules de « INRA 4701 » et « Peredovik » entre le 19 août et le 7 septembre 1976.

les valeurs de 6 facteurs météorologiques : température maximale, température moyenne, évaporation, pluviométrie, nombre d'heures à humidité relative < 40 p. 100, nombre d'heures à humidité relative > 80 p. 100.

La figure 1 montre que le test, quand il est effectué en plein champ, donne des résultats qui varient dans le temps. Toutefois, la variété « INRA 4701 » reste en règle générale significativement plus tolérante que « Peredovik ». Nous avons tenté d'expliquer les exceptions à cette règle par l'étude des conditions météorologiques qui avaient sévi pendant la période d'inoculation.

Nous avons calculé les coefficients de corrélation entre d'une part les résultats des inoculations (surface des taches après 4 jours d'incubation) et d'autre part les valeurs des différents facteurs météorologiques, le jour de l'inoculation et le jour suivant. Les valeurs des coefficients de corrélation pour la variété « INRA 4701 » sont regroupées dans le tableau 4.

Ce tableau montre que le résultat de l'inoculation dépend des conditions du jour suivant beaucoup plus que de celles du jour même de l'inoculation. Il apparaît

TABLEAU 4

Coefficients de corrélation entre la surface des taches de pourriture sur « INRA 4701 » et divers facteurs météorologiques

Facteurs étudiés	r le jour de l'inoculation	r le jour suivant
Température maximale.	— 0,78 H.S.	— 0,91 H.S.
Température moyenne	— 0,66 H.S.	— 0,85 H.S.
Nombre d'heures à humidité relative < 40 %	— 0,60 H.S.	— 0,74 H.S.
Nombre d'heures à humidité relative > 80 %	+ 0,57 S.	+ 0,66 H.S.
Évaporation.	— 0,48 S.	— 0,55 S.
Pluviométrie.	+ 0,49 S.	+ 0,32 n.s.

S. : significatif 5 p. 100.

H.S. : significatif 1 p. 100.

également que c'est la température maximale de ce jour $J + 1$ qui est le facteur le plus limitant ($r = 0,91$). Il convient donc d'éviter les périodes de forte chaleur pour effectuer les inoculations.

2) *Évolution de la sensibilité au cours de la végétation*

En 1974, une série de variétés commerciales et expérimentales a été testée en chambre climatisée et au champ tous les 15 jours du 16-7 au 7-9. La figure 2 fait apparaître certains des résultats obtenus en chambre climatisée. A l'exception d'« Issanka », variété très précoce et de « INRA 7702 », très tardive, toutes les variétés se sont révélées presque complètement résistantes à la fin de la floraison, au mois de juillet, et ont montré une période de sensibilité maximale du 30-7 au 20-8. Pendant cette période et même après pour « Peredovik », « INRA 4701 » et « INRA 6501 », la hiérarchie des variétés s'est maintenue. « INRA 4701 » restait la variété la plus résistante et « Peredovik » la plus sensible. La période de sensibilité maximale pour « Issanka » commençait légèrement plus tôt et pour « INRA 7702 » plus tard.

Le test peut donc être appliqué dans nos conditions pendant tout le mois d'août et au début du mois de septembre, ce qui correspond à la période de maturation du capitule avant son dessèchement. Cette période est suffisamment longue pour qu'une gamme assez large de géotypes puisse être testée.

3) *Comparaison des classements variétaux d'une année à l'autre*

Pour déterminer si les comportements relatifs des variétés se maintenaient d'année en année et pour étudier plus en détail les différences entre elles, en 1975 nous avons testé 4 variétés dont le comportement vis-à-vis des attaques naturelles était connu :

Sensibles : « Peredovik » (population) et « CPK34 × Rhaz65 » (hybride expé-

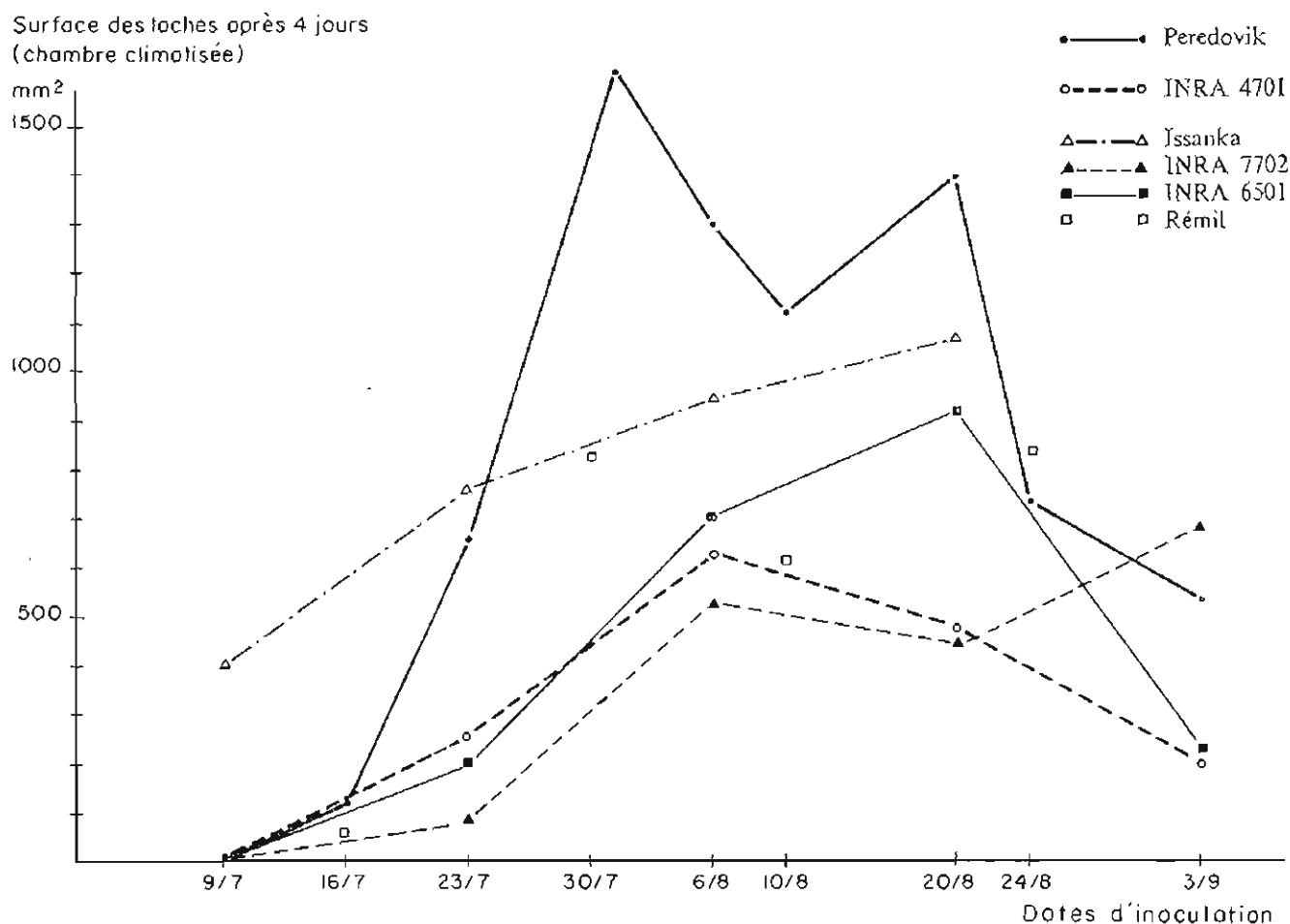


FIG. 2. — Résultats d'inoculations échelonnées de la floraison à la maturité, sur 6 variétés.

rimental, attaqué à 37 p. 100 dans un essai quand « Peredovik » avait 13 p. 100 des plantes atteintes de *Sclerotinia*).

Résistants: « INRA 4701 » et « Rémil » (hybrides F₁, géniques). Les attaques naturelles sur ces 2 hybrides représentaient respectivement 47 p. 100 et 64 p. 100 des attaques sur « Peredovik » (sur 5 essais).

TABLEAU 5

Croissance de *Sclerotinia* sur les 4 variétés témoins (mm²)

Date des inoculations	14-8		23-8		6-9
	Chambre 4 jours	Champ 4 jours	Chambre 3 jours	Champ 4 jours	Chambre 3 jours
« INRA 4701 »	700 ± 80	110 ± 80	350 ± 130	0	180 ± 20
« Rémil »	(a) 1 150 ± 140 (b) 1 570 ± 200	700 ± 170	290 ± 70	490 ± 90	210 ± 30
« CPK 34 Rha 265 »	2 180 ± 120	1 430 ± 300	830 ± 60	210 ± 50	270 ± 30
« Peredovik »		2 800 ± 590	710 ± 150	710 ± 70	420 ± 30

Note : il y avait deux séries d'infections sur « Rémil » le 14-8 en chambre : (a) et (b).

Les résultats des tests au laboratoire et au champ (tabl. 5) montrent que la sensibilité de toutes les variétés a diminué entre le 14-8 et le 6-9. La même hiérarchie de comportement est apparue en chambre climatisée et au champ avec, à chaque fois, des différences significatives entre variétés. Comme en 1974, « INRA 4701 » était régulièrement plus résistante que « Peredovik », « Rémil » présentant un comportement intermédiaire.

De plus en 1976, « INRA 4701 » se montrait encore une fois plus résistante que « Peredovik » (tabl. 3).

Le test paraît donc bien donner des résultats comparables d'une année sur l'autre.

4) Corrélation entre les résultats du test et les attaques naturelles

Pour déterminer avec plus d'exactitude la liaison entre le test et les attaques naturelles, une série de 25 hybrides expérimentaux (plus « Peredovik ») ont été

TABLEAU 6

Croissance de Sclerotinia sur deux séries d'hybrides expérimentaux inoculés en chambre climatisée et au laboratoire et le pourcentage d'infection naturelle

Variétés	p. cent attaque naturelle	Test chambre 3 jours		Variétés	Test champ 4 jours	
		Surface (mm ²)	Groupe		Surface (mm ²)	Groupe
CAD 62 BC 251 .	23,6	139,7	a	CHIR 3 BC 42 . .	144,1	a
CAD 62 Rha 265 .	26,7	150,7	a	CAD 62 Bz a1 . .	225,5	a b
CAD 62 Bz a1 . .	6,1	162,8	a b	CHIR Bz a2 . . .	269,5	b c
CAD 62 BC 252 . .	33,2	184,8	a b c	CAD 62 Rha 265 .	283,8	b c d
CAD 64 BC 42 . .	16,7	191,4	a b c	INRA 4701	305,8	b c d e
CHIR 3 Bz a2 . . .	34,2	118,0	a b c	CAD 62 BC 252 . .	312,4	b c d e
CPM 2 BC 253 . . .	36,6	211,2	a b c d	CC 8 BC 42 . . .	322,3	b c d e
INRA 4701	15,1	222,2	a b c d	CAD 64 BC 42 . .	376,2	c d e f
Remil	22,3	250,2	a b c d	CPM 2 BC 253 . .	389,6	d e f
CC8 BC 42	51,9	270,6	b c d	CVH 11 BC 42 . .	416,9	e f g
CHIR 3 BC 42 . . .	13,6	287,1	c d e	CPM 2 BC 251 . .	438,0	f g
CPK 34 Rha 265 . .	23,5	327,8	d e f	CV 23 BC 42 . . .	523,6	g
CV 23 BC 42	16,4	412,7	e f g	CPM 2 Rha 266 . .	645,7	h
CVH 11 BC 42 . . .	10,2	420,2	f g			
CPM 2 BC 251 . . .	14,9	452,1	g			
Peredovik	29,6	500,5	g h			
CPM 2 Rha 266 . . .	32,4	600,6	h			
ppds.		118,8		ppds.	114,4	
CAD 62 CVH 62 . . .	21,9	202,4	a	CY 21 CAD 62 . .	167,2	a
CY 21 CAD 62	61,8	523,6	b	CAD 62 CVH 62 . .	213,4	a b
CIS 2 CY 21	32,7	590,7	b c	CVH 62 CIS 2 . .	260,7	a b c
CY 21 CVH 62	9,4	633,6	b c	CIS 2 CY 21 . . .	270,6	a b c d
CY 21 CIS 2	38,7	751,3	b c	CVH 62 CY 21 . .	279,4	a b c d
CVM 62 CY 21	26,8	819,5	c	CY 21 CIS 2 . . .	326,7	c d
CVM 62 CIS 2	50,8	831,6	c	CY 21 CVH 62 . .	378,4	c d
CAD 62 CIS 2	71,4	834,9	c	CIS 2 CAD 62 . . .	405,9	c d
CIS 2 CAD 62	71,2	1 357,4	d	CAD 62 CIS 2 . . .	418,0	d
ppds.		253,0		ppds.	154,0	

testés et ont fait parallèlement l'objet de notations sur un champ infesté de *Sclerotinia* en 1975 (tabl. 6). Le taux moyen des attaques naturelles au champ était de 30,5 p. 100. Il y avait une régression simple hautement significative entre les deux séries de résultats ($t = 3,63$, 24 ddl, $P < 0,01$) et le coefficient de corrélation était $r = + 0,595$.

Donc comme pour les 4 variétés citées dans le paragraphe précédent, le test mesure d'une manière satisfaisante le comportement des génotypes vis-à-vis des attaques naturelles. Cependant le coefficient de corrélation est assez loin de 1,00. Certaines variétés paraissent plus résistantes dans la nature qu'avec le test et vice-versa. La régression négative entre l'attaque naturelle par le *Sclerotinia* et la taille des plantes pourrait expliquer ce phénomène : les variétés les plus hautes, telles que « CV23 × Bc42 » (112 p. 100 de la taille de « Peredovik ») sont relativement moins sensibles au champ que ne le prévoient les résultats des tests, tandis que les variétés courtes comme « CC8 × Bc42 » (90 p. 100 de « Peredovik ») sont plus sensibles à l'attaque naturelle qu'à l'inoculation artificielle. Cependant, puisqu'on veut, pour des raisons agronomiques, sélectionner des variétés courtes, le facteur taille est à écarter de la résistance génétique au *Sclerotinia*. Le test est donc plus avantageux que les seules notations d'attaques naturelles.

5) Influence des sacs utilisés pour les autofécondations

L'autofécondation des lignées oblige à enfermer les capitules dans des sacs de papier pendant toute la période de floraison, ce qui risque de modifier la physiologie de la plante, donc sa sensibilité. Pour juger de l'incidence de ce facteur, nous avons, sur les 2 variétés « Peredovik » et « INRA 4701 », comparé la sensibilité de plantes dont les capitules ont été enfermés dans des sacs pendant la floraison (1 mois $\frac{1}{2}$) à celle de plantes témoins. Le tableau 7 rend compte des résultats obtenus.

TABLEAU 7

*Influence des sacs de papier utilisés pour les autofécondations.
Croissance du Sclerotinia au champ après 4 jours (en mm²)*

Variétés	« INRA 4701 »	« Peredovik »
Avec sacs	108,3	204,2
Sans sacs	178,0	293,9
Effet variétés hautement significatif		(F = 6,97)
Effet sacs significatif		(F = 3,96)
Interaction non significative		(F = 0,06)

Les plantes enfermées dans les sacs d'autofécondation sont significativement moins sensibles que les plantes témoins. Mais « Peredovik » reste, dans les deux cas, significativement plus sensible que « INRA 4701 ».

C. — *Application à la sélection*1) *Différences entre géotypes*

Le tableau 6 montre des différences hautement significatives dans les vitesses de progression du *Sclerotinia* sur les capitules des différents hybrides, en plein champ comme en chambre climatisée. Il existe donc des différences génétiques pour ce caractère.

Comparé avec les hybrides expérimentaux « Peredovik » était l'une des plus mauvaises variétés, tandis qu'au champ deux hybrides étaient significativement meilleurs que « INRA 4701 ». On peut donc penser qu'une sélection pour des variétés présentant une résistance au *Sclerotinia* accrue sera possible.

Les tests portant sur des lignées, parents de ces hybrides (tabl. 2), ont montré des différences hautement significatives entre géotypes, du même ordre que celles entre hybrides. « BC 251 », la lignée la plus résistante était un parent du meilleur hybride (« CAD 62 × BC 251 ») et les 2 parents les plus sensibles, « CPM 2 » et « Rha 266 » donnaient l'hybride le plus sensible. Ces résultats suggèrent qu'une sélection ayant pour objectif d'augmenter la résistance des hybrides au *Sclerotinia* peut prendre pour point de départ l'amélioration des lignées pour ce caractère.

2) *Premières utilisations en sélection*

Nous avons commencé une sélection à partir de lignées et hybrides F_1 , qui se sont montrés satisfaisants vis-à-vis des attaques naturelles. A partir des descendance F_2 ou F_3 , 15 à 20 plantes par descendance sont inoculées et après notation de la croissance du *Sclerotinia* nous récoltons celles qui ont au moins le niveau de résistance de « INRA 4701 », inoculé le même jour. Bien que le *Sclerotinia* s'installe sur presque toutes les plantes, les graines peuvent être récoltées sans problème sur les plus résistantes dans les quinze jours qui suivent l'infection.

Sur le tableau 8 sont portés les résultats des tests en 1976 de descendance de quatre origines : « CVH 6 × CHIR 3 », « CY 21 × Bzal », BG 2 × HA 61 » et « ADA 4 × AN 75 ». Dans tous les cas les générations précédentes n'avaient pas été testées pour la résistance au *Sclerotinia*, seule une sélection pour la teneur en huile avait été faite sur les familles F_3 dont sont issues les descendance F_4 .

On peut noter que la plupart des descendance montrent des différences significatives entre plantes, mais que la proportion des descendance homogènes s'accroît avec le nombre d'autofécondations. Un certain niveau de résistance pourrait ainsi être sélectionné et fixé en 4 ou 5 générations.

En 1976, avec une barrière de sélection au niveau de « INRA 4701 » et en tenant compte des autres caractères agronomiques (résistance au mildiou, teneur en huile, etc) la pression de sélection était forte. Par exemple, parmi les F_3 7,5 p. 100 des plantes étaient retenues et la vitesse de progression moyenne du *Sclerotinia* sur les plantes sélectionnées correspondait à 25 p. 100 de la moyenne générale de l'ensemble des F_3 et à 49 p. 100 de la moyenne sur « INRA 4701 ». Cependant, l'efficacité de cette pression est fonction de l'héritabilité du caractère.

Pour les résultats de 1976 nous avons appelé « héritabilité » le rapport $\frac{\sigma^2_{\text{plantes}}}{\sigma^2_{\text{total}}}$.

TABLEAU 8

Résultats des inoculations sur des descendance à sélectionner pour la résistance au *Sclerotinia*
Surfaces des taches en p. 100 du témoin INRA 4701

Descendance	Moyenne générale	Nombre de descen- dances hétéro- gènes	Moyennes des descen- dances extrêmes	Moyennes des plantes extrêmes	p. cent de plantes sélec- tionnées	Moyenne des plantes sélec- tionnées	Héritabi- lité moyenne	Moyennes des descen- dances homogènes
CVH6 × CHIR ₃ (Parent ♀ 210, Parent ♂ 137) F ₂	70	1/1		298- 0	31,6	10,0	59,6	
CAD62 × Bc252 (Parent ♀ 155, Parent ♂ 157) F ₃	82	1/1		157-42	11,1	52,0	66,6	
F ₄	121	3/5	177-68	356-19	4,3	44,8	32,3	68-125
CY21 × Bzal (Parent ♀ 179) F ₃	85	4/4	115 64	240-21	17,3	52,8	55,9	
BG2 × HA61 F ₁ : 49 p. cent de INRA 4701 (n attaque naturelle) F ₃	265	7/9	572-107	1 203- 0	15,7	46,2	36,3	343-572
F ₄	193	9/12	636- 46	856- 0	13,5	50,0	31,4	125-276- 636
ADA ₄ × AN75 F ₁ : 72 p. cent de INRA 4701 (n attaque naturelle) F ₃	179	5/5	232-130	430-15	0		52,7	
F ₄	415	7/9	1 013-138	1 505- 0	4,4	17,3	33,8	545-1 013
Ensemble des F ₃	205	17/19	572- 64	1 203- 0	7,5	49,8	43,8	
Ensemble des F ₄	236	19/26	1 013- 48	1 572- 0	7,8	42,0	32,3	

SCLÉROTINIA DU TOURNESOL.

535

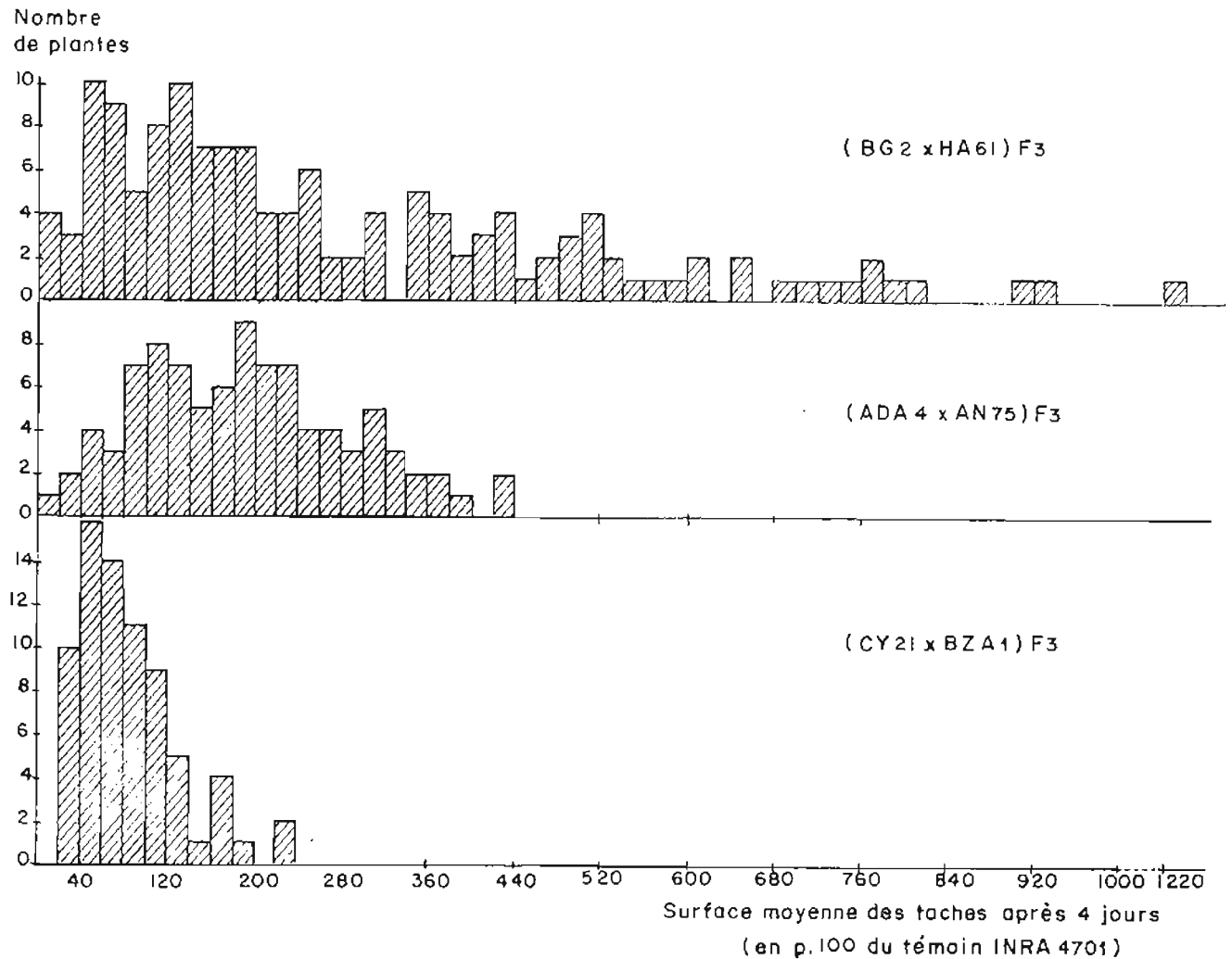


FIG. 3. — Distribution des réactions à l'inoculation artificielle des plantes de 3 séries de descendance F_3 .

LECLERCQ (comm. pers.) a montré que ce rapport pouvait s'exprimer par la formule $\frac{(F - I)}{(F - I) + R}$ où F représente le rapport $\frac{\text{variance liée aux différences entre plantes.}}{\text{variance résiduelle}}$

Nous sommes, toutefois, conscients qu'il ne s'agit là de l'héritabilité au sens classique, puisque, les différentes répétitions étaient effectuées sur la même plante, la variance résiduelle est ici seulement l'expression de la variabilité liée à la technique et de la variabilité interne à la plante. Cependant, la variance entre plantes paraît assez peu affectée par l'environnement puisque, pour les lignées parentales, la variance entre plantes est significativement plus grande que la variance intraplante seulement pour 7/65 comparaisons.

Le niveau d'héritabilité (ainsi définie) baisse de 59 p. cent pour la seule descendance F_2 à 32 p. cent pour les F_4 , ce qui pouvait être attendu avec la fixation de la résistance. Néanmoins ces résultats doivent être confirmés sur les descendance issues des plantes testées.

Tandis que les meilleurs niveaux de résistance apparaissent parmi les descendance hétérogènes, des neuf descendance fixées, six présentent un niveau élevé de sensibilité. Ceci suggère que la sensibilité pourrait être récessive et que l'on devrait pouvoir éliminer assez rapidement les plus mauvais génotypes. Dans le même sens, la figure 3 montre que les courbes de distribution des plantes de

trois séries de F_3 ne sont pas normales et qu'il y a une majorité de plantes avec un niveau de résistance proche de celui de « INRA 4701 ». Il reste à déterminer si la sélection vers une résistance plus complète que celle de « INRA 4701 » peut être efficace.

Reçu pour publication en mai 1977.

Summary

Study of methods of inoculating sunflowers with Sclerotinia sclerotiorum and their application to breeding

Tests for resistance of sunflowers to *Sclerotinia sclerotiorum*, independent of natural inoculum potential and plant height and earliness, have been developed.

For capitulum resistance, measurements are made of the area on the dorsal surface of the capitulum colonized by *Sclerotinia* 3 or 4 days after inoculation. Since, in sunflowers, there is no complete resistance, inoculations are 100 p. 100 successful and quantitative measurements of reaction are obtained. Inoculum consisting of agar pastilles containing mycelium placed on the dorsal surface gave more regular results than infected matchsticks introduced into the capitulum parenchyma.

Using agar pastilles there was a highly significant correlation between results in a growth chamber at 18 °C and in the field. However, the extension of *Sclerotinia* was inversely correlated with the maximum temperature on the day following inoculation and tests should not be made if the temperature is above 27 °C.

Maximum susceptibility of all genotypes occurred during August. Their relative reactions were observed, during 3 successive years, to remain almost constant during August and early September. Testing is thus possible during about 1 month.

There were highly significant differences both between inbred lines and between hybrids. The results of the tests on hybrids were significantly correlated with their reactions to natural attack, although factors such as height affect the latter. The extension of *Sclerotinia* on the capitulum of hybrids is related to that on the two parents. In F_2 , F_3 and F_4 progenies there were significant differences between plants. Seed was harvested from the most resistant plants, with on average of 50 p. 100 of the extension of *Sclerotinia* on the most resistant variety at present available in France. Estimates of heritability varying between 59 p. 100 in the F_2 and 32 p. 100 in the F_4 suggest that it will be possible to select inbred lines and hybrid varieties with satisfactory resistance to *Sclerotinia*.

Resistance to basal stem attack was determined by inoculation with sclerotia at soil level. There are significant differences between genotypes for the proportion of plants infected. Resistance to stem attack is not always associated with resistance to capitulum attack.

Références bibliographiques

- COURTILLOT *et al.*, 1973. Recherches 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. *Phytiatr.-Phytopharm.*, **22**, 189-200.
- CUK L., 1974. Research on the resistance of sunflower inbred lines and hybrids to *Sclerotinia Libertiana* Fuck. *Proc. 5th int. Sunflower Conf.*, Bucharest, Romania, 303-307.
- GUILLAUMIN J. J. *et al.*, 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.
- KROEZE, 1974. Rapport interne Unilever.
- LECLERCQ P., 1973. Influence de facteurs héréditaires sur la résistance apparente du Tournesol, à *Sclerotinia sclerotiorum*. *Ann. Amélior. Plantes*, **23**, 279-286.
- PUTT E. D., 1958. Note on differences in susceptibility to *Sclerotinia* within sunflowers. *Can. J. Plant Sci.*, **38**, 380-381.