

T1972BRE10

## ETUDE DE QUELQUES MECANISMES DE RESISTANCE AU *Botrytis cinerea* CHEZ LE TOURNESOL

J.J. GUILLAUMIN, B. BOTTON, P. LECLERCQ, P. THIVEND (France)

### INTRODUCTION

La pourriture grise, provoquée par le *Botrytis cinerea* Pers. est l'une des trois affections cryptogamiques graves qui affectent le tournesol en France, les deux autres étant la pourriture blanche à *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib) De By et le mildiou (*Plasmopara halstedii* Berl. et de Toni).

Le tournesol est susceptible d'être attaqué par le *Botrytis* à trois stades de son développement : sur plantules au moment de la levée, sur tiges au mois de juillet et sur capitules. Mais ce sont essentiellement les attaques sur capitules qui sont dommageables pour la culture.

Le problème de la résistance du tournesol à la pourriture grise se pose en des termes très différents de celui de la résistance au mildiou : LECLERCQ et VEAR (1970) ont montré que la résistance au mildiou était sous la dépendance d'un petit nombre de gènes dominants : c'est une résistance de type "vertical" (selon la terminologie de VAN DER PLANK, 1968). Les variétés possédant ces gènes seront totalement indemnes et cette résistance se manifesterà à tous les stades de développement de la plante.

Il en va tout autrement de la résistance au *Botrytis*, typiquement de type "horizontal" : on ne connaît pas à l'heure actuelle de variété de tournesol qui soit totalement immune vis-à-vis du parasite. Toutefois, les notations réalisées dans les conditions de la culture montrent qu'il existe entre variétés des différences de sensibilité notables. Nous avons tenté d'analyser les mécanismes conditionnant la résistance des capitules au *Botrytis*, dans le but d'expliquer ces différences de sensibilité entre variétés. L'objectif à long terme est de fournir aux sélectionneurs des éléments leur permettant de choisir les géniteurs en vue de l'obtention de variétés aussi résistantes que possible.

### I - INFLUENCE DE LA PRECOCITE ET DE LA TAILLE SUR LA SENSIBILITE AU BOTRYTIS EN 1970

En 1970, 389 variétés de tournesol (hybrides et populations) ont été étudiées pour la sensibilité au *Botrytis*, la précocité (rapport de l'humidité du grain du témoin Peredovik sur l'humidité de la variété récoltée le même jour), la taille (mesurée en cm sous capitule relativement à Peredovik).

Les notations des attaques par le Botrytis ont été faites peu avant la récolte. Par la technique de la régression multiple, nous avons pu analyser séparément l'effet de la précocité et de la taille sur la sensibilité au Botrytis. L'effet de la précocité, indépendamment de la taille, est significatif au seuil 5 % ( $F = 6,22$  avec 1 et 386 degrés de liberté), les variétés les plus précoces étant les plus atteintes par le Botrytis. Par contre, l'effet de la taille seule, indépendamment de la précocité, est beaucoup plus important, car il est significatif au seuil 1 % ( $F = 49,39$  avec 1 et 386 degrés de liberté). Les variétés les plus grandes sont les moins atteintes.

L'interprétation que nous donnons est la suivante : dans un même champ où sont juxtaposées des parcelles de variétés hautes et de variétés courtes, les variétés les plus hautes sont les mieux ventilées ; de ce fait, la rosée ne séjourne pas le matin sur les capitules qui sont moins exposés aux germinations de spores de Botrytis cinerea. Sur les variétés les plus basses, moins ventilées, la prolifération du Botrytis est facilitée.

Ces résultats ne signifient évidemment pas que, cultivées isolément, les variétés hautes seront moins attaquées que les variétés courtes. Mais on peut en conclure que le jugement de sensibilité au Botrytis à partir des notations sur petites parcelles juxtaposées devra être plus indulgent pour les variétés courtes.

#### II - COMPORTEMENT DE L'HYBRIDE INRA 65-01

La sensibilité de l'hybride INRA 65-01 (femelle 10 x C 51) dans les conditions naturelles a fait l'objet de nombreuses notations au cours des étés 1969, 1970 et 1971.

Les résultats obtenus sont rassemblés sur la figure n° 1 où l'on a porté en abscisse la fréquence des attaques sur le témoin (Peredovik) pour chacune des notations et en ordonnée le rapport des fréquences d'attaques d'INRA 65-01 et du témoin.

On constate que l'hybride a manifesté une bonne résistance au Botrytis en 1969 et 1971 qui étaient deux années à pluviométrie estivale assez forte. Par contre, en 1970, année sèche, INRA 65-01 ne s'est pas mieux comporté que le témoin.

#### III - ETUDE DE L'EVOLUTION DE LA SENSIBILITE AU CHAMP DE TROIS VARIETES

Nous avons voulu avoir une idée non seulement de la sensibilité globale des variétés, traduite par le pourcentage de plantes attaquées au moment de la récolte, mais de l'évolution de cette sensibilité tout au long de la période de maturité des capitules. Nous avons donc procédé à des notations systématiques des attaques de Botrytis chaque semaine, du 15 juillet au 1er octobre.

En 1970, les notations ont porté sur les variétés Peredovik et INRA 65-01. En 1971, les notations ont porté sur Peredovik, sur INRA 65-01 et sur un hybride 10 x Y2, non inscrit au catalogue. Nous avons choisi cet hybride parce que ses géniteurs, la lignée mâle-stérile 10 et la lignée pollinisatrice Y2, donnaient naissance à une forte proportion d'hybrides résistants (41 % des hybrides issus de Y2, 27 % des hybrides ayant "10" comme parent femelle, étaient significativement moins infectés que le témoin Peredovik).

Des enregistrements de la température, de l'hygrométrie et de la pluviométrie, ont été réalisés sur chacune de nos parcelles expérimentales.

Les résultats obtenus, exprimés par la figure n° 2, permettent de tirer les conclusions suivantes :

- 1° - La période pendant laquelle les capitules sont susceptibles d'être attaqués par le Botrytis est relativement brève, de l'ordre de 3 à 5 semaines selon les variétés. Aucune attaque n'a été observée avant la date du 15 août.

Aucune corrélation n'a pu être mise en évidence entre les fluctuations des divers facteurs climatiques et celles de la fréquence des attaques sur les capitules. Pour les trois variétés étudiées, ces attaques se répartissent dans le temps selon les courbes unimodales ; il semble que le facteur essentiel conditionnant le nombre d'infections par le Botrytis soit le degré de maturité des capitules.

2° - Les deux hybrides ont été globalement moins attaqués que Peredovik, ce qui est conforme aux observations antérieures. Toutefois, l'étude de l'évolution des attaques dans le temps montre que cette résistance relative a des causes différentes chez les deux variétés :

- Les capitules de 10 x Y2 sont moins attaqués que ceux de la variété de référence quel que soit leur degré de maturité : la courbe représentant l'évolution des attaques sur 10 x Y2 se maintient en-dessous de la courbe correspondante de Peredovik tout au long de la période de végétation.

- Au contraire, chez INRA 65-01, on constate que la période pendant laquelle les capitules sont susceptibles d'être attaqués est plus courte que chez Peredovik (3-4 semaines contre 5-6 semaines). Toutefois, ce fait pourrait être dû à la plus grande homogénéité du matériel génétique chez un hybride autant qu'à une maturation plus rapide des capitules de INRA 65-01.

Mais on remarque, de plus, que la maturité du capitule est plus tardive chez l'hybride, le maximum des attaques se situant environ 15 jours plus tard. Ceci entraîne qu'au moment de la récolte, les infections seront moins avancées sur INRA 65-01. Si la récolte intervient suffisamment tôt, elle pourra même empêcher les dernières attaques de se produire : ce pourrait être la cause essentielle du bon comportement d'INRA 65-01 vis-à-vis du Botrytis. Il est vraisemblable que quant l'été est sec, la maturité de l'hybride survient plus tôt et les différences de sensibilité avec le témoin s'estompent, ce qui expliquerait les résultats de l'année 1970.

#### IV - EVOLUTION DE LA COMPOSITION GLUCIDIQUE DE LA PARTIE CHARNUE DU CAPITULE

Nous avons étudié l'évolution de la composition en glucides (amidon et sucres libres) de "l'éponge" du capitule de tournesol en fonction du stade de maturité. Ce travail a été réalisé pour essayer de déterminer une relation entre le développement des attaques du champignon et l'évolution de certains composants glucidiques de la partie du capitule sur laquelle le Botrytis se développe. Nous présentons les résultats obtenus sur les variétés Peredovik et INRA 65-01.

L'éponge du capitule de tournesol ne renferme pas d'amidon au cours de la période de végétation considérée (de la floraison à la récolte). En revanche, on trouve des quantités très importantes de sucres alcoolosolubles (près de 50 % de la matière sèche) qui évoluent en fonction du stade de maturité. Cette évolution est différente selon les deux variétés étudiées (figure 3) :

- Chez Peredovik, le pourcentage de sucres dans l'éponge a augmenté au cours des deux premières semaines (de 36,5 à 49,4 % de la matière sèche) puis a diminué régulièrement pour atteindre une valeur de 6,2 % au bout de la 9ème semaine.
- Chez INRA 65-01, la teneur en sucres de l'éponge n'a guère évolué pendant les trois premières semaines (environ 40 %) ; elle a ensuite brusquement baissé (31,0 %), s'est maintenue à cette valeur pendant 15 jours, puis a diminué ensuite, mais de façon moins rapide que chez la variété Peredovik (13,3 % à 9 semaines).

Les sucres libres que nous avons dosés sont composés en majeure partie de glucose, de fructose et de saccharose. La diminution du glucose, à partir de la 3ème semaine pour la variété Peredovik et de la 4ème semaine pour la variété INRA 65-01, a été plus importante que celle de l'ensemble des sucres alcoolosolubles. Corrélativement, les concentrations en fructose et en saccharose sont restées plus constantes et n'ont diminué qu'à partir de la 6ème et 7ème semaine chez Peredovik et INRA 65-01.

Il est difficile de relier l'évolution de ces différents glucides à celle de l'attaque du

Botrytis, compte-tenu des données partielles que nous possédons actuellement. On peut cependant remarquer qu'il semble exister une correspondance entre le développement des taches du champignon chez les deux variétés étudiées, et la diminution des sucres totaux, en particulier du glucose de l'éponge. En outre, le développement du champignon ne semble pas être lié à la présence des autres sucres (fructose + saccharose) dont l'évolution paraît être indépendante de celle du champignon.

#### V - ESSAIS D'INOCULATION AU LABORATOIRE SUR DIVERS ORGANES DES TROIS VARIETES

L'objectif est de mettre en évidence les relations qui peuvent exister entre la sensibilité au champ des capitules au Botrytis cinerea et la sensibilité de divers organes au laboratoire. L'application pratique qui en découle est la mise au point de techniques permettant de tester au laboratoire la résistance des nouvelles variétés.

On a fait appel aux trois mêmes variétés : Peredovik, INRA 65-01 et 10 x Y2.

L'inoculation du tournesol a été réalisée sur plantules étiolées, sur plantules développées à la lumière (2500 lux), ainsi que sur organes adultes maintenus en survie : feuilles, tiges et capitules.

L'isolat de Botrytis cinerea utilisé est issu de tournesol. Il est cultivé à 20°C sur milieu gélosé au malt à 2 %.

Les plantules de tournesol poussent en terrines dans du terreau, les feuilles et les tiges sont prélevées au niveau médian sur des plantes à maturité. Les organes adultes sont placés en survie dans une solution de kinétine à 15 ppm.

Les plantules étiolées, âgées de 8 jours, sont inoculées au niveau de l'hypocotyle par une suspension de spores dans le malt. Les cotylédons des plantules chlorophylliennes et les organes en survie sont infectés au moyen de mycélium âgé de 48 heures.

Sur plantules étiolées, les résultats sont notés par comptage des taches nécrotiques qui apparaissent aux emplacements où l'on a déposé des gouttes de suspension de spores. Sur plantules chlorophylliennes et organes en survie, on apprécie le degré de l'attaque par mesure de la surface des taches nécrotiques apparues après 6 jours.

Sur plantules étiolées, les différences dans la fréquence d'apparition des taches demeurent faibles et non significatives entre elles au seuil de sécurité généralement admis (95 %). Sur plantules chlorophylliennes, l'ordre de sensibilité des variétés est inversé par rapport à ce que l'on observe dans la nature.

Les résultats obtenus avec les organes en survie présentent plus d'intérêt (figure n° 4).

Sur capitules en survie, les inoculations au laboratoire reproduisent les attaques naturelles : des trois variétés testées, 10 x Y2 apparaît la plus résistante au Botrytis, Peredovik la plus sensible.

En ce qui concerne les feuilles et les tiges, les conclusions sont plus nuancées : la sensibilité de ces organes à l'agent pathogène varie dans le temps. Sur des tiges et des feuilles prélevées le 3 septembre 10 x Y2 apparaît nettement plus résistant que les deux autres variétés. Par contre, sur des organes prélevés le 19 septembre (c'est-à-dire à un moment qui correspond au maximum des attaques pour les deux hybrides), les différences tendent à s'annuler ou même à s'inverser.

#### CONCLUSIONS

Ces conclusions sont sans doute très provisoires et font simplement le point de nos connaissances actuelles.

- 1° - D'une façon générale, les variétés tardives ont tendance à se montrer plus résistantes au Botrytis.
- 2° - L'hybride INRA 65-01 présente au champ un degré de résistance au Botrytis assez élevé. Cette résistance se manifeste essentiellement en année humide, c'est-à-dire précisément lorsqu'elle présente un intérêt pratique. Elle semble liée au cycle de végétation de la plante (brièveté et tardivité de la période de maturité).
- 3° - Il existe un autre type de résistance, représenté chez l'hybride 10 x Y2, qui se traduit au contraire par une diminution de la fréquence des attaques pendant toute la période de maturité du capitule. Ce type de résistance se manifeste dans certains cas sur des organes adultes en survie.
- 4° - Il semble qu'il n'y ait aucune corrélation entre la sensibilité des diverses variétés au stade plantule et au stade capitulé : on ne peut donc espérer mettre au point un test faisant appel à des plantules, dont le but serait d'éprouver rapidement la sensibilité des variétés de création récente.

Par contre, dans le cas d'une résistance "intrinsèque" de type 10 x Y2, il peut intervenir une corrélation entre sensibilité au champ et sensibilité des organes adultes au laboratoire. Cette corrélation ne s'observe que dans certaines conditions, qu'il conviendra d'approfondir.

Rapport des pourcentages  
de plantes attaquées

INRA 65-01

PEREDOVIK

FIG 1

o	1969
+	1970
★	1971

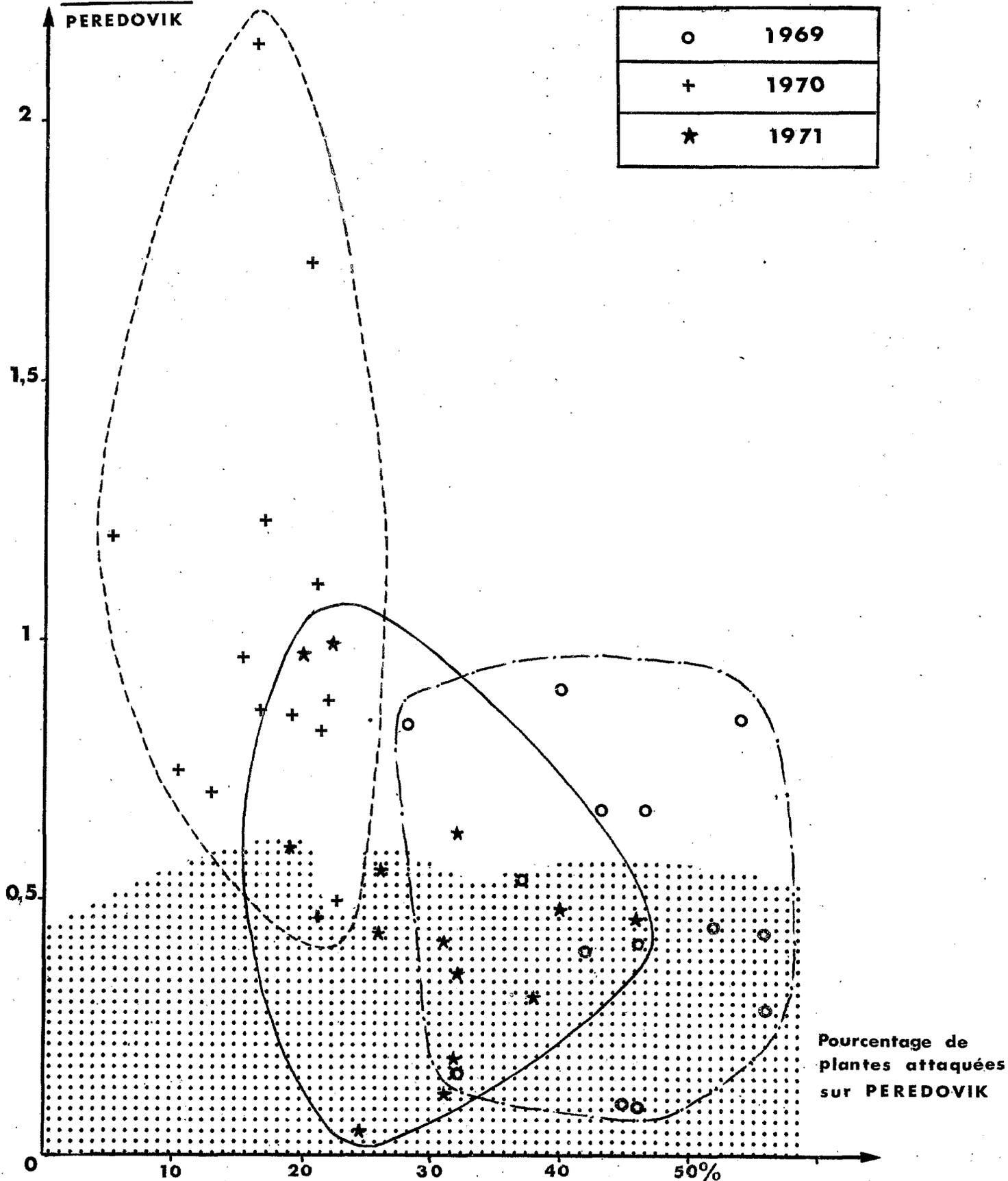


Figure n° 1 - Résistance au Botrytis des capitules d'INRA 65-01 relativement à Peredovik (années 1969,70 et 71).

(la zone en grisé correspond aux notations pour lesquelles INRA 65-01 a été significativement moins attaqué que le témoin).

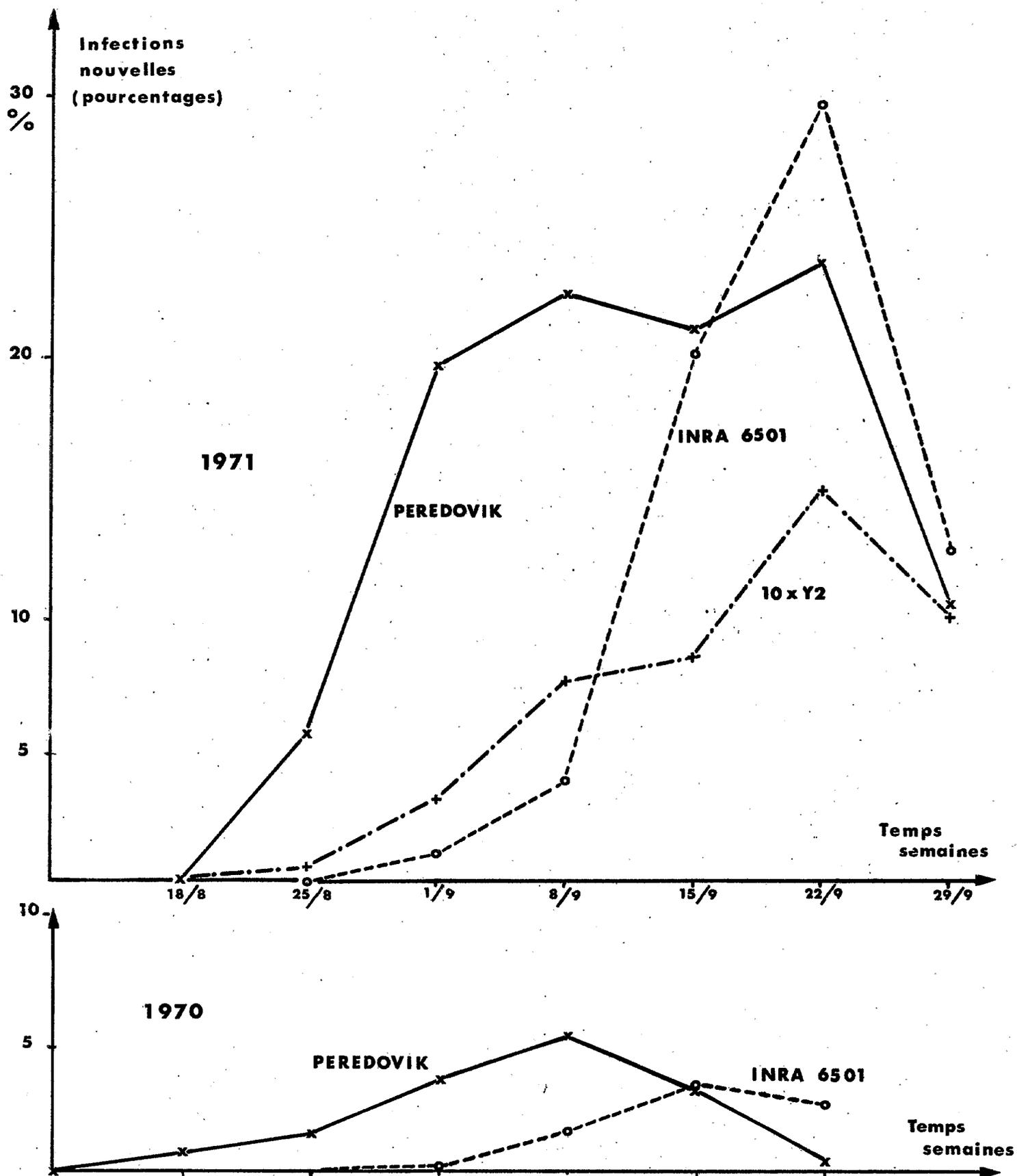


Figure n° 2 - Evolution dans le temps des attaques de Botrytis sur les capitules de trois variétés.

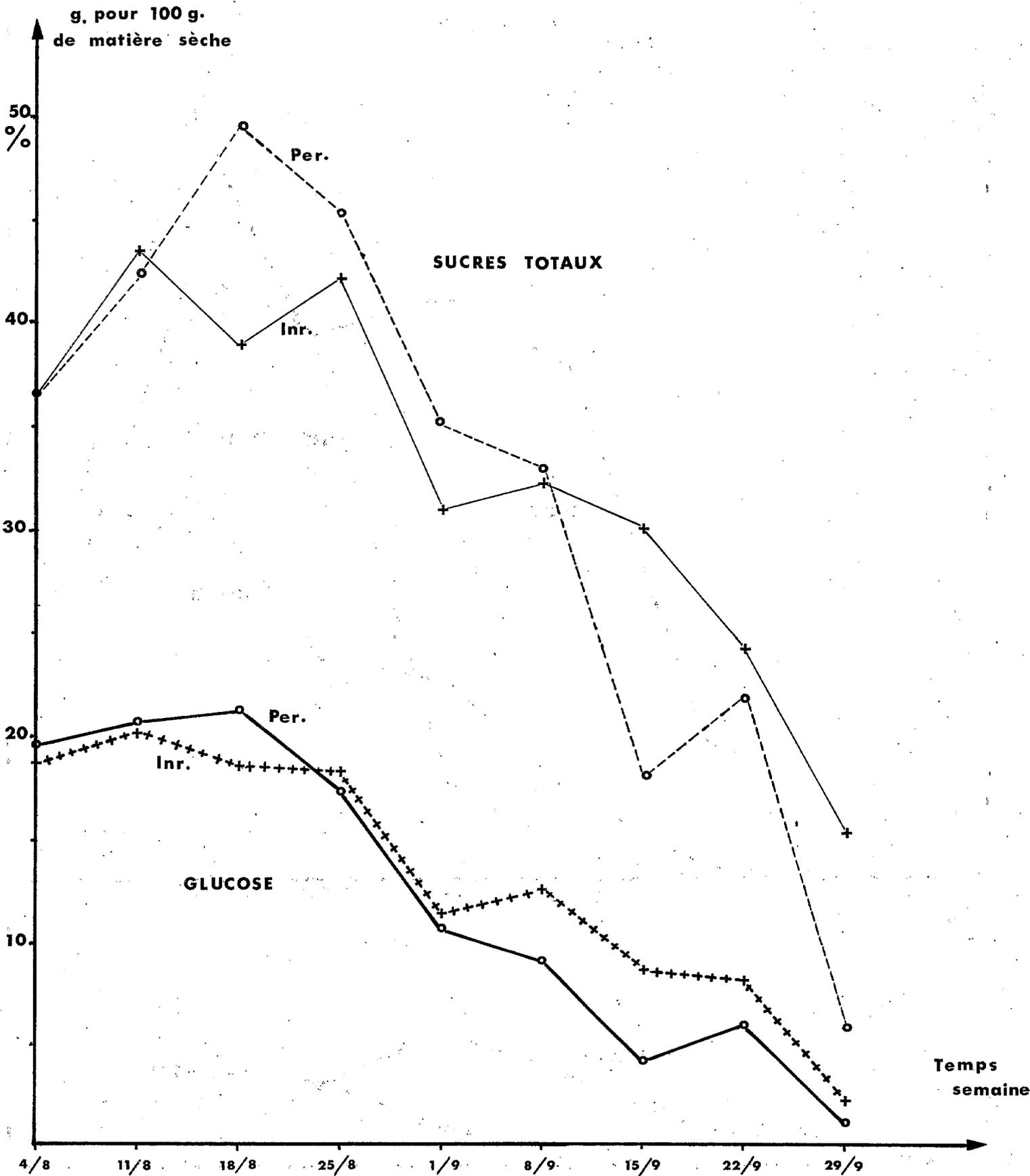


Figure n° 3 - Evolution de la teneur en sucres alcoolosolubles et en glucose de la partie charnue du capitule.

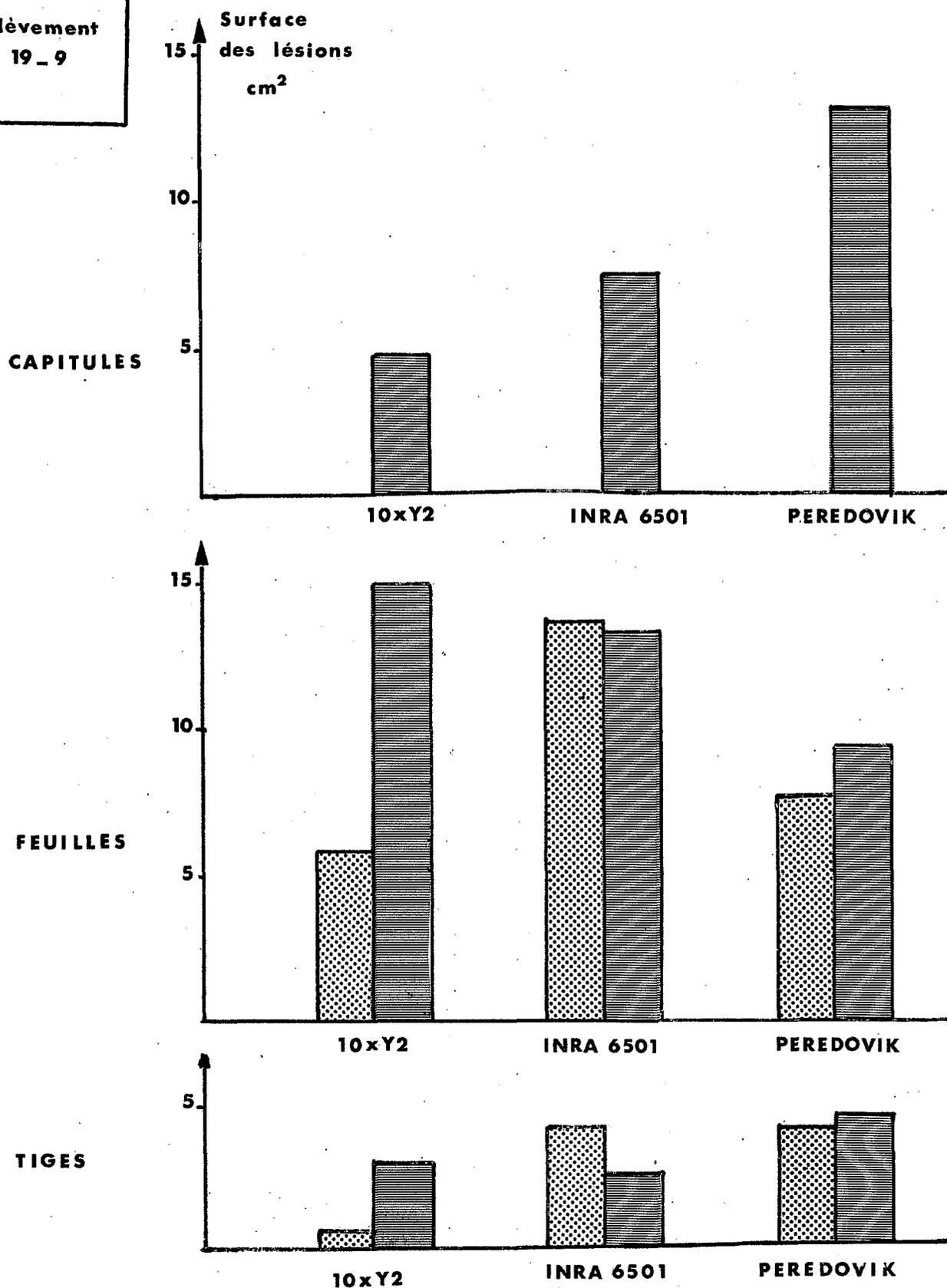
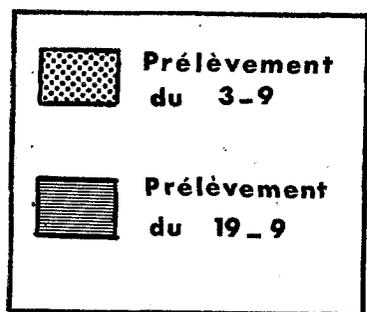


Figure n° 4 - Résultats des inoculations sur organes en survie.