T1978PATH04

A PROPOS DU CRIBLAGE DES PLANTULES DE TOURNESOL POUR LA RESISTANCE AU MILDIOU: INTERET D'UN DOUBLE TEST DE DIFFERENCIATION DES FACTEURS DE RESISTANCE

By

G. Piquemal, Plant Breeder
Station d'Amelioration des Plantes
de l'I.N.R.A. a Montpellier, France

Le mildiou du Tournesol, dans les pays de l'Est de l'Europe, se trouve contenu grace a une grande discipline dans le respect d'assolements interdisant le rotour trop frequent de la culture en un meme lieu. Nous etions, au contraire, desarmes en France quand apparut cette maladie qui ne tarda pas e s'entendre a toutes les zones de production. Heureusement nous parvenait bientot la lignee HA 61, selectionnee aux Etats-Unis par le Dr. M.L. KINMAN et porteuse d'un gene de resistance dominant.

Ce premier resultat, montrant que des facteurs de resistance pouvaient se rencontrer dans l'espece Helianthus annuus L. et la possibilite d'utiliser des tests simples sur plantules comme en ont decrit divers auteurs d'U.R.S.S., devaient inciter les selectionneurs a prospecter avec succes leurs collections de lignees ou de populations. Plusieurs sources de resistance ont ainsi ete decouvertes que l'on se devait d'identifier et de differencier par des croisements suivis du criblage des decendances.

Or il est apparu que, depuis les premiers resultats publies par V. VRINCEANU et al, puis P. LECLERCQ et F. VEAR, des analyses genetiques effectuees dans divers laboratoires n'ont pas donne des resultats toujours concordants. Ainsi P. LECLERCQ et F. VEAR avaient reconnu la presence de deux genes de resistance dans la lignee HA 61, mais les descendances d'un croisement entre cette meme lignee et une lignee resistante SR 37-388 RR (3) de Montpellier, devait s'interpreter plutot, selon nous, par l'hypothese de deux genes independants et propres a chacun des parents. D.E. ZIMMER et M.L. KINMAN (4) semblent aussi n'avoir identifie qu'un seul gene de resistance, Pl_2, dans la lignee HA 61, de meme que B.K. POGORLETSKIJ (2) D.E. ZIMMER (5) s' etonne aussi de retrouver ce gene Pl_2 sur la lignee HIR 34, obtenue par P. LECLERCQ, qui, lui attribuait un gene Pl_4 apporte par Helianthus tuberosus L.

Certaines des discordances entre les resultats pourraient parfois s'expliquer par le fait que le materiel echange entre les stations n'etait pas parfaitement fixe et homozygote. Nous pensons cependant que la confrontation des resultats est difficile des lors que sont utilises des tests de resistance et des modalites d'appreciation tres differents.

Selon les auteurs, les concentrations en zoosporanges qui sont recommandees varient entre 10.000 et 60.000; les temperatures, les durees d'incubations, les milieux de culture etc... ne sont pas les memes.

Les selectionneurs de la Station de KRASNODAR procedent generalement par inoculation des plantes dans les jours qui suivent le semis sous sable. Aux

Etats-Unis, D.E. ZIMMER, utilise des akenes en germination avancee (radicules de 10 a 20 mm) qu'il decortique avant de les immerger pendant 18 h a l'obscurite dans une suspension de 10.000 zoosporanges/ml a 20°C.

En France, le service officiel charge du controle des varietes a publie sa methode qui parait inspiree de celle suivie a la Station d'Amelioration des Plantes d l'INRA a CLERMONT-FERRAND, les semences immergees pendant 5 h le premier jour sont mises a germer jusqu'au lendemain a 25°C. Elles sont ensuite plongees, sans decortication, dans une suspension de zoospores dont on precise seulement la temperature (20°C). Les semences sont remises dans l'etuve a germination pour etre une deuxieme fois inoculees le troisieme jour avant d'etre semees dans un melange de sable et terreau. Les plantules sont elevees pendant 12 jours entre 16 a 19°C et sous un eclairage de 10.000 lux (12 heures/jour). Elles sont enfin maintenues 4 jours en atmosphere sature d'himidite, avant d'etre denombrees. Nous procedions de facon assez voisine, autrefois, les inoculations ayant lieu tres tot (redicules de 1 a 2 mm). Les resultats etaient apprecies d'apres la presence ou l'absence des sporanges sur les cotyledons bien developpes. Mais en 1974, desirant nous assurer d'une bonne inoculation alors que nous ne disposions que de tres peu d'inoculum, nous avions pris soin de decortiquer les akenes en germination assez avancee. Deux semaines plus tard, ce fut une surprise de retrouver les proportions prevues de plantules saines seulement dans les croisements derivant des lignees AD 66, SR 37-388 RR, et meme HIR 34, lignee chez laquelle D.E. ZIMMER et M.L. KINMAN pensaient avoir identifie le gene Pl_2. Plusieurs des descendances pour lesquelles il nous restait encour de la semence ont alors ete soumises a l'inoculation habituelle, moins severe et nous avons retrouve les proportions mendeliennes attendues.

Les travaux des pathologistes, notamment ceux d C. ALLARD a la Station Centrale de Pathologie Vegetale de l'INRA a Versailles, ont mis en evidence selon les genotypes des reactions diverses aux inoculations et l'existence de barrieres s'opposant a l'extension du parasite apres sa penetration dans la plante. Ils ont montre que la seule presence des zoosporanges sur les cotyledons ne suffisait pas pour classer comme sensibles au mildiou certains genotypes qui seraient capables par la suite d'une croissance vigoureuse normale. Ceci impliquerait donc de reporter l'appreciation des tests bien au-dela de la fin de la deuxieme semaine.

Pour le selectionneur ou le geneticien il est cependant tres'avantageux de reduire la duree du test et son encombrement afin d'utiliser au mieux la surface disponible en enciente climatisee. En ce cas, nous pensons que quelques regles doivent etre respectees, telles que: la desinfection prealable des semences, le tri parmi un nombre excedentaire d'akenes mis a germer de ceux qui sont parvenus en meme temps a un meme stade de croissance, leur repiquage dans un milieu neutre et sain tel que perlite ou vermiculite etc... Il nous semble enfin qu'un facteur important de variation des resultats serait l'intensite et la duree de l'eclairement dans les jours qui suivent l'inoculation. Les 10.000 lux d'intensite (lorsqu'ils sont reellement realises) ne nous paraissent pas suffisants et certains genotypes ont une tendance particuliere a s'allonger abnormalement. Or notre but qui est de faire apparaitre le parasite a la surface des cotyledons risque de ne pas etre atteint si ce dernier est defavorise dans la competition de croisance. Pour remedier a cet inconvenient, nous avons coutume d'arroser le milieu de culture, avant la levee des

plantules, aved un reducteur de croissance (ethephon a 200 p.p.m.) et de liberer le plus tot possible les cotyledons des coques qui peuvent y adherer (tests sans decorticage).

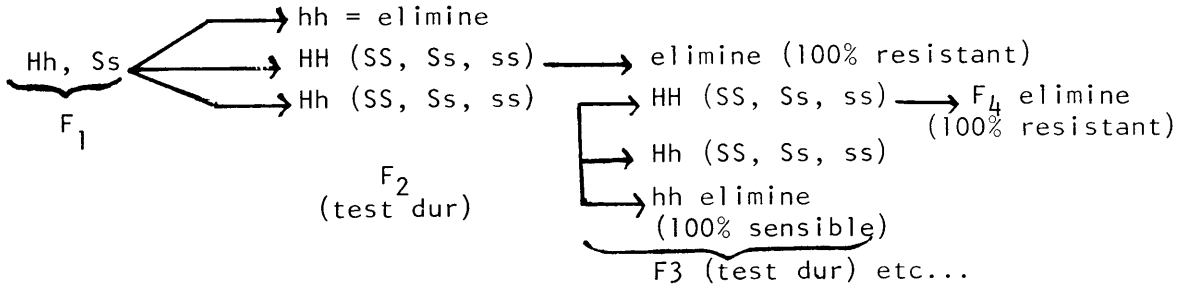
Enfin puisque les genes ne repondent pas de la meme facon selon les modalites de l'inoculation, il nous a semble interessant de les reconnaitre precocement en leur appliquant deux tests d'intensites differentes. Le test "dur" est reserve aux plantes portant le gene Pl_2 de HA 61. Il consiste en l'immersion pendant au moins 5 heures a 20°C dans une suspension d'environ 30.000 zoosporanges par ml. Les plantules sont decortiquees et leurs radicules longues d'environ 1 cm peuvent parfois presenter les premiers poils abosrbants.

Pour le test "doux", reserve aux lignees porteuses d'un gene autre que Pl_2 (notamment celles dites resistantes au seul mildiou d'Europe), les akenes sont preleves dans les boites de germination lorsque la radicule ne depasse pas 3 mm de longueur (ils peuvent etre mis en attente au refrigerateur de facon a etre completes le lendemain par d'autres akenes plus en retard).

On utilise la meme suspension de zoosporanges que celle precedemment definie mais on prend soin d'y tremper seulement les radicules. Celles-ci sont piquees dans une serviette spongieuse ou dans du sable, imbibes de la suspension infectieuse. Il faut en effet s'assurer que le parasite a bien penetre par les racines et n'a pu echapper a une barriere eventuelle situee entre l'hypocotyle et les cotyledons (*). En prenant ces precautions il est exceptionnel d'observer des zoosporanges sur les cotyledons des plantes resistantes au mildiou.

L'utilisation successive des deux tests qui viennent d'etre decrits permet de s'assurer avec une bonne precision de la presence du seul gene Pl_2 ou d'un autre gene ou des deux a la fois. Ainsi, le croisement Hh Ss x hh ss ($H = Pl_2$ et $S \neq Pl_2$) donnera 50% de plantes resistantes par le test "dur", puis 75% par le test "doux".

Dans un programme de selection visant a creer des lignees porteuses de deux facteurs de resistance, il faut eviter qu'un des facteurs ne masque la presence de l'autre. On devra pour cela adopter judicieusement l'un ou l'autre test selon les cas. Si nous partions par exemple d'un hybride F_1 reunissant les 2 genes et que nous voulions en tirer par autofecondation des lignees doublement resistantes nous appliquerions d'abord, dans les premieres generations, un test "dur" de facon a eliminer de nombreux genotypes porteurs d'un seul gene:



(*) Selon C. ALLARD (Communication verbale), la penetration des zoospores ne pourrait se faire par la surface des cotyledons, mais par l'epiderme situe a l'aisselle des cotyledons chez les lignees depourvues de Pl_2.

Seules seront suivies les descendances de Hh qui donnent lieu a une disjonction. on obtiendra en definitive 6 genotypes que l'on pourra identifier au moment voulu (des la F_2, par exemple) apres autofecondation ou croisement par un testeur double recessif (Tableau n° 1). Le genotype n° 4 sera immediatement retenu et sa descendance selectionnee par le test "dur".

Le genotypes 1, 2, et 3 ne seront reconnus qu'a la generation qui suivra le croisement par hh ss.

Un autre processus plus simple pour obtenir des lignees doublement resistantes, consistera aussi a introduire le gene H dans une lignee recurrente homozygote SS, ou dans une succession de lignees SS. On appliquera a chaque generation le test "dur" afin de verifier la presence de H.

TABLEAU 1. Resultats previsibles des tests, selon les genotypes en % de plantules depourvues de zoosporanges

Genotypes			apres autofecondation		apres croisement par hh ss	
			test dur	test doux	test dur	test deux
1	HH	SS	100%	100%	100%	100%
2		Ss	-	-	-	-
3		ss	-	-	-	-
4	Hh	SS	75%	100%	50%	100%
5		Ss	-	94%	-	75%
6		ss	-	75%	-	50%

Les deux tests qui viennent d'etre presentes decoulent de quelques observations faites a l'occasion de travaux de selection. Malgre leur imperfection certaine, ils nous rendent qualques services, en permettant de distinguer le gene Pl_2, des autres genes de resistance. Nous esperons que les phytopathologistes seront en mesure d'affiner ces tests, afin notamment de differencier les uns des autres tous les genes de resistance.

References

LECLERCQ, P. et VEAR, F. Deux nouveaux genes de resistance au mildiou du Tournesol (Ann. Amel. des Plantes, 21, (3), 251-255, 1971).

POGORLET, B.K. Transmission hereditaire de l'immunite du Tournesol au mildiou (GENETIKA t. XI, No3, 21-28, 1975) (en russe).

VRINCEANU V., ILIESCU H.I., STEONESCU Fl. Sources de resistance a l'attaque de Plasmopora Helianthi et methode de creation d'hybrides de Tournesol resistants a cette maladie (Symposium Roumano Francais 21-25, 1970).

ZIMMER D.E. et KINMAN M.L. Downy Mildew Resistance in Cultivated Sunflower and its Heritance (Crop. Sci. V. 12, 749-751, 1972).

ZIMMER, D.E. Physiological Specialization between races of Plasmapara halstedii in America and Europe (Phytopathology 64: 1465-1467, 1974.