

# **SCLEROTINIA DU BOURGEON TERMINAL DU TOURNESOL : AMÉLIORATION DE MÉTHODES D'ÉVALUATION DU COMPORTEMENT VARIÉTAL EN SERRE**

## **SCLEROTINIA ATTACKS ON SUNFLOWER TERMINAL BUDS : IMPROVEMENT OF GREENHOUSE TESTS**

**André Pérès** - CETIOM, Centre de Grignon, B.P.4, 78850 THIVERVAL-GRIGNON France

Fax : +33.01.30.79.95.90

e-mail : peres@cetiom.fr

### **RESUME**

La destruction du bouton floral par *Sclerotinia sclerotiorum* Lib. de Bary peut être très préjudiciable en année favorable à l'attaque. Néanmoins, la fréquence de ces attaques est faible et la conduite d'une évaluation du comportement variétal au champ est assez aléatoire. Pour garantir l'attaque, le CETIOM conduit des évaluations variétales en conditions artificielles de serre depuis plusieurs années mais il devient indispensable de rendre la technique plus performante. C'est la raison pour laquelle depuis 2 ans le CETIOM s'attache à mettre au point une méthode d'évaluation en dispositif miniaturisé permettant de tester une trentaine de variétés. La durée totale du test est d'environ 50 jours. Le principe de la méthode repose sur la production de plantes de petite taille en pots de 1 litre remplis de terre allégée par de la tourbe (1 plante par pot). L'unité expérimentale est une "mini-serre" contenant 8 plantes ou pots. L'ensemble du dispositif est constitué de 70 à 80 "mini-serres" elles-mêmes placées dans une serre normale régulée par un équipement de type "cooling system". La contamination est assurée par un apport d'ascospores dès le stade 6-8 feuilles du tournesol suivie d'une période d'hygrométrie saturante de 48 heures. Cette technique permet d'atteindre des taux de bourgeons terminaux/boutons détruits de plus de 60% pour des variétés sensibles et permet une comparaison des variétés dans une large gamme d'attaque. Les résultats d'attaque sont relativement bien corrélés avec ceux observés au champ mais cette méthode a tendance à accentuer le niveau d'attaque des variétés les plus sensibles. Le double intérêt de cette technique est sa performance et sa rapidité.

### **SUMMARY**

The destruction of the terminal bud by *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary may be economically serious under favourable conditions. However, the frequency of these attacks is low and the application of a varietal behaviour test in the field is uncertain. To obtain a good level of attack, the CETIOM has carried out varietal evaluations under greenhouse conditions for several years, but it has become necessary to make this method more efficient. Over the last two years, CETIOM has tried to develop an evaluation method with a miniaturised device allowing us to test about 30 varieties at one time. The whole test period corresponds to about 50 days. The principle of the method is based on the production of small plants in one litre pots filled with soil mixed with compost (1 plant / pot). The experimental unit is a mini-greenhouse containing 8 plants or pots. The whole device is made up of 70 to 80 "mini-greenhouses" placed in a normal greenhouse regulated by a "cooling-system". Contamination is ensured by supplying *S. sclerotiorum* ascospores at the 6-8 leaves sunflower stage followed by a saturating hygrometry period (48 hours). This technique leads to an attack-level of 60% of floral buds destroyed by *S. sclerotiorum* in the case of susceptible varieties and gives the possibility to compare varieties with a large scale of attacks. Recorded attack results are well correlated with those observed in the field, but this method tends to increase the attack-level for susceptible varieties. The double interest of this method is its performance and its rapidity.

## INTRODUCTION

Des quatre formes d'attaque rencontrées en France (sur capitule, sur bourgeon terminal, sur tige et collet), l'attaque sur capitule est certes la plus fréquente mais le risque d'attaque du bourgeon terminal demeure un danger réel avec l'accroissement permanent de la pression contaminante et l'évolution de la conduite de la culture. Les différents acteurs de la lutte génétique prennent en compte ce danger par l'importance de leurs programmes respectifs sur ce thème : les sélectionneurs qui travaillent à la création de variétés résistantes, l'INRA qui a étudié cette résistance (Achbani *et al.*, 1996), le CTPS qui évalue annuellement des hybrides en pré-inscription et le CETIOM qui évalue annuellement les nouvelles variétés inscrites (CETIOM, 1999). Cependant, la réussite des évaluations au champ est très fortement dépendante des conditions climatiques et nécessite la mise en place d'une infrastructure coûteuse. C'est la raison pour laquelle le CETIOM pratique depuis quelques années un test de comportement variétal en serre qui garantit régulièrement un très bon niveau d'attaque (Pérès, 1996). Cependant, ce test réalisé sur des plantes de taille normale cultivées en pots à réserve d'eau ne permet d'évaluer qu'un petit nombre de variétés. La présente étude a donc pour objet de rendre compte d'une méthode d'amélioration de ce test par une technique de miniaturisation le rendant plus performant. Rappelons que l'INRA a aussi travaillé à la mise au point de méthodes destinées à l'évaluation de lignées parentales et hybrides vis-à-vis du *Sclerotinia* du bourgeon terminal (Castaño *et al.*, 1989 - Achbani *et al.*, 1994).

## MATERIELS ET METHODES

**Essai miniaturisé en serre** Deux études sont réalisées en 1998 et 1999 en serre selon la même méthodologie. Les plantes sont cultivées en pots SOPARCO de 1 litre remplis de terre allégée par de la vermiculite (1 plante par pot). On place 8 de ces pots dans un bac ALLIBERT 600 x 400 x 170 qui constitue une mini-serre (fermeture supérieure par un film en polyéthylène léger). On applique un éclairage photosynthétique d'appoint matin et soir pour créer un rapport jour/nuit de 16h/8h. Une solution nutritive du commerce (KRISTALON) alimente chaque pot par un capillaire. La dose d'azote est volontairement élevée (150 unités) pour favoriser la turgescence des tissus.

La contamination par *S. sclerotiorum* est réalisée de deux manières :

- par pulvérisation d'une suspension de spores de *S. sclerotiorum* titrant 25000 spores / ml d'eau stérile enrichie de 0,1% de malt (pulvérisation brève dirigée sur le bourgeon terminal selon la méthode mise au point en 1989 - Pérès *et al.*, 1989). Cette opération réalisée au stade 6-8 feuilles est immédiatement suivie d'un "encapuchonnage" de chaque bac par un film de polyéthylène léger afin de créer une atmosphère saturée en eau pendant 48 heures (mini-serre). Après "désencapuchonnage", l'atmosphère est maintenue à 95% d'humidité relative par diffusion d'un brouillard pendant 10 à 13 jours.
- par apport, après le "désencapuchonnage", d'apothécies actives produites sur des sclérotés enfouis dans du sable humide (environ 100 apothécies régulièrement réparties dans l'essai entre les bacs ALLIBERT). Cette deuxième méthode de contamination complète la première en prolongeant la période contaminante de la durée de vie des apothécies (environ 12 jours). Chaque bac constitue une parcelle élémentaire de 8 plantes d'une même variété. Pour chaque variété, le dispositif prévoit 4 répétitions dans un système blocs de Fischer (soit 8 plantes/bac x 4 bacs = 32 plantes par variété). 30 à 35 variétés sont évaluées grâce à ce dispositif.

**Essai en conditions naturelles de plein champ** Il constitue une source de références comparatives devant permettre la validation de la méthode d'évaluation en serre. Les variétés sont semées dans des parcelles de 2 lignes totalisant 70 à 90 plantes répétées 4 fois (blocs de

Fischer à 4 répétitions). La méthode de contamination est identique à celle pratiquée en serre (pulvérisation de spores et apport d'apothécies). Le comportement des variétés dans les deux contextes d'étude est apprécié par le dénombrement des boutons floraux détruits par *Sclerotinia* (et, si possible, par le dénombrement des points d'attaque sur la plante).

## **RESULTATS**

**Etude 1998** L'attaque finale observée en serre 16 jours après la contamination révèle une attaque rapide et d'un niveau élevé (Tableau 1). Les variétés testées se répartissent dans une gamme de sensibilité très large (0% à 68,8% de boutons détruits par le *Sclerotinia*). L'évaluation de la gravité d'attaque au niveau de la plante par le dénombrement des points d'attaque apporte une information supplémentaire cohérente avec le pourcentage de boutons détruits sur les variétés les plus sensibles (Tableau 2).

Tableau 1 : % de boutons détruits 16 jours après la contamination dans l'essai de serre 1998

Code variété	% de boutons détruits	Classement NK*
1	68,8	A
2	43,8	b
3 (témoin de sensibilité)	42,9	bc
4	25	bcd
5	25	bcd
6	25	bcd
7	20	cd
8	18,8	cd
9	18,8	cd
10	12,5	cd
11	12,5	cd
12	12,5	cd
13	6,3	d
14	6,3	d
15	6,3	d
16	6,3	d
17	6,3	d
18	6,3	d
18	6,3	d
20	6,3	d
21	0	d
22	0	d
23	0	d
24	0	d
25	0	d
26	0	d
27	0	d
28	0	d
29	0	d
30	0	d
31	0	d
32	0	d
33	0	d
34	0	d

\* : NK---> test statistique Newman Keuls

Tableau 2 : fréquence et gravité d'attaque dans l'essai de serre de 1998

Variétés	% de boutons détruits (fréquence)	Nombre de points d'attaque (gravité)
1	68.8	4.3
3 (témoin de sensibilité)	42.9	3.9
2	43.8	2.9
6	25	3.8
5	25	2.6
4	25	2

La comparaison de ces résultats réalisée sur quelques variétés avec ceux obtenus en 1997 dans une étude préliminaire de serre conduit, vis-à-vis de l'attaque finale, à un classement des variétés sensiblement identique entre les deux études (Tableau 3). Une autre comparaison faite cette fois avec des résultats obtenus au champ entre 1997 et 1998 permet aussi de tester la fiabilité de la méthode d'évaluation en serre (Tableau 4). Ainsi, il apparaît que la cohérence des résultats est bonne pour les 8 variétés peu atteintes dont le niveau d'attaque est inférieur à 10 % en serre et au champ (variétés n° 18, 16, 14, 21, 24, 29, 30 et 31). Pour les variétés plus attaquées (au-dessus de 25%) la comparaison ne peut être faite valablement qu'entre le résultat de serre 1998 et le résultat au champ 1997, le témoin sensible (variété n° 3) exprimant un niveau d'attaque sensiblement équivalent (l'essai au champ de 1998 étant nettement moins attaqué). Il apparaît que sur ces variétés les conditions de serre accentuent le niveau d'attaque (variétés n° 2, 5, 4 et 6) probablement en raison du fait qu'en serre toute lésion sur feuille évolue systématiquement en destruction du bouton alors qu'au champ il y a souvent cicatrisation de ces lésions.

Tableau 3 : comparaison des % de boutons détruits entre 2 essais de serre (1998 et 1997)

Codes Variétés	Essai 1998	Essai préliminaire 1997
2	43.8 (102)	62.5 (102)
3 (témoin de sensibilité)	42.9	61.1
4	25 (58)	66.6 (109)
5	25 (58)	33.3 (55)
10	12.5 (29)	23.5 (38)

*Le chiffre entre parenthèses est l'expression du résultat en % de celui du témoin de sensibilité*

Tableau 4 : comparaison des % de boutons détruits entre essai de serre de 1998 et essais au champ de 1997 et 1998

Codes Variétés	Serre 1998	Champ 1997	Champ 1998
2	43.8	18	0.5
3 (témoin de sensibilité)	42.9	45	14.9
5	25	8	0
4	25	7.5	0
6	25	4	0
8	18.8	0	0
18	6.2	7.5	0
16	6.2	3.5	0
14	6.2	3	0.5
21	0	3	1.5
24	0	4	0
29	0	2	0
30	0	2	0.5
31	0	1.5	0

**Étude 1999** Elle confirme, sur le plan de la méthodologie, l'efficacité de la méthode pratiquée en 1998 en permettant d'atteindre un niveau maximum d'attaque de 43,8% de boutons détruits par *Sclerotinia*, les variétés se répartissant dans une gamme de sensibilité large (6,3% à 43,8% de boutons détruits – Tableau 5). L'attaque finale est jugée dans un délai sensiblement plus long (21 jours au lieu de 16 jours) mais reste néanmoins l'expression d'une évolution rapide du dégât. La comparaison des résultats obtenus entre les deux années d'étude sur quelques variétés communes et sous des conditions pratiquement identiques montre une bonne cohérence qui traduit la fiabilité de la méthode (Tableau 6).

Au cours de ces deux années d'études en conditions artificielles de serre, la maladie s'est exprimée par des symptômes strictement analogues à ceux observés dans les conditions naturelles et les plantes n'ont pas manifesté de perturbation physiologique apparente.

Tableau 5 : % de boutons détruits 21 jours après la contamination dans l'essai de serre de 1999

Code variété	% de boutons détruits	Classement NK*
<b>A (témoin de sensibilité)</b>	43,8	A
<b>B</b>	43,8	A
<b>C</b>	37,5	A
<b>D</b>	37,5	A
<b>E</b>	31,3	Ab
<b>F</b>	31,3	Ab
<b>G</b>	31,3	Ab
<b>H</b>	25	Ab
<b>I</b>	25	Ab
<b>J</b>	25	Ab
<b>K</b>	25	Ab
<b>L</b>	18,8	Ab
<b>M</b>	18,8	Ab
<b>N</b>	18,8	Ab
<b>O</b>	18,8	Ab
<b>P</b>	18,8	Ab
<b>Q</b>	18,8	Ab
<b>R</b>	18,8	Ab
<b>S</b>	18,8	Ab
<b>T</b>	12,5	Ab
<b>U</b>	12,5	Ab
<b>V</b>	12,5	Ab
<b>W</b>	12,5	Ab
<b>X</b>	6,3	Ab
<b>Y</b>	6,3	Ab
<b>Z</b>	6,3	Ab

\* : NK ---> test statistique Newman Keuls

Tableau 6 : Comparaison des % de boutons détruits entre les deux essais de serre de 1998 et 1999 sur les variétés communes aux deux essais

Code variété	Serre 1998	Serre 1999
<b>A (témoin de sensibilité)</b>	42,9	43,8
<b>H</b>	25 (58)	25 (57)
<b>K</b>	6,3 (15)	25 (57)
<b>L</b>	16,5 (39)	18,8 (43)
<b>Y</b>	6,3 (15)	6,3 (14)

Le chiffre entre parenthèses est l'expression du résultat en % de celui du témoin de sensibilité

## CONCLUSION-DISCUSSION

Les améliorations apportées à la technique d'évaluation en serre du comportement des variétés de tournesol vis-à-vis de l'attaque du *Sclerotinia* du bourgeon terminal ont permis une avancée méthodologique très satisfaisante. Elles ont abouti à la conduite d'un test sur des plantes de petite taille (miniaturisées) permettant d'améliorer fortement la performance de l'évaluation. Les principaux aspects positifs de cette méthode sont les suivants :

- pas de perturbation physiologique apparente des plantes
- expression normale de la maladie par des symptômes analogues à ceux observés sur des plantes de taille normale
- expression de l'attaque à des degrés très différents selon les variétés
- réponse rapide (16 à 21 jours après contamination et 48 à 49 jours après le semis)
- bonne performance du test (30 à 34 variétés évaluées)
- bonne fiabilité des résultats sur la base des comparaisons possibles avec d'autres résultats obtenus en 1997 et 1998.

Cette technique a cependant tendance à accentuer le niveau d'attaque des variétés sensibles. Celui-ci pourrait être ramené à un niveau plus réaliste en réduisant de quelques jours la phase d'hygrométrie élevée qui suit la contamination.

## **BIBLIOGRAPHIE**

- Achbani E.H., Tourvielle de Labrouhe D. and Vear F., 1994** : methods of determining the reaction of sunflower genotypes to terminal bud attack by *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) De Bary - Agronomie 2, 195-203
- Achbani E.H., Tourvielle de Labrouhe D. and Vear F., 1996** : Resistance of sunflower (*Helianthus annuus* L.) to terminal bud attack by *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary - European Journal of Plant Pathology 102 : 421-429, n°5
- Castano F., Vear F. et Tourvielle D.** - 1989 : L'utilisation de plusieurs tests simultanés dans la sélection pour la résistance du tournesol vis-à-vis de *Sclerotinia sclerotiorum* - Informations Techniques du CETIOM n° 107 - pp 14- 20
- Cetiom** - 1999 - Le tournesol en 1999 - Les techniques culturales - Le contexte économique - pp 7-9
- Pérès A., Régnault Y. et Allard L.M.** - 1989 - *Sclerotinia sclerotiorum* : mise au point d'une méthode de contamination artificielle sur bourgeon terminal - Informations techniques - N° 107 pp 3-6
- Pérès A. 1996** : *Sclerotinia sclerotiorum* : méthode d'évaluation des comportement variétaux en serre vis-à-vis de l'attaque sur bourgeon terminal et de l'attaque au collet - ISA - Symposium I - Disease Tolerance in Sunflower - Beijing (P.R. China), 13 june 1996 - pp 64-70