

Rôle des ascospores dans l'infection du Tournesol par *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) De By.

D. TOURVIELLE DE LABROUHE, J. J. GUILLAUMIN, Felicity VEAR *
et Claudine LAMARQUE **

Station de Pathologie végétale, Centre de Recherches de Clermont-Ferrand, I.N.R.A.,
Domaine « Mon Désir », 63100 Clermont-Ferrand

* Station d'Amélioration des Plantes, Centre de Recherches de Clermont-Ferrand, I.N.R.A.,
Domaine « de Crouelle », 63100 Clermont-Ferrand

** Station de Pathologie végétale, Centre national de Recherches agronomiques, I.N.R.A.,
Route de St-Cyr, 78000 Versailles

Résumé

Les tiges et les capitules de quatre génotypes de Tournesol ont fait l'objet d'inoculations par des ascospores de *Sclerotinia sclerotiorum* selon diverses modalités et à trois stades différents.

Les inoculations sur capitule ont montré que le parenchyme lacuneux interne est sensible à l'infection depuis la formation du capitule, tandis que les tissus externes constituent des barrières à l'infection. Du côté du pédoncule, cette barrière conserve la même efficacité tout au long de la saison de végétation. Par contre, dans le cas des applications effectuées sur les fleurs tubulées, une sensibilité apparaît brusquement autour du 15 août. Toutefois, si l'on effectue des apports de spores dès la floraison, le champignon semble capable de se conserver sous forme latente jusqu'à la période de sensibilité.

La voie d'infection des tiges n'a pu être établie avec autant de précision. Toutefois, il a été mis en évidence un gradient de sensibilité des tiges : l'optimum de sensibilité se déplace vers le haut dans le courant de l'été, puis la sensibilité se généralise en fin de saison.

Les génotypes de Tournesol ont montré des différences considérables de sensibilité. Chez les hybrides de bon comportement, deux formes de résistance semblent intervenir : résistance à la progression du champignon dans les tissus ou résistance mécanique à la rupture des tiges ou des capitules.

Sur la base de ces résultats, l'emploi d'inoculations faisant intervenir les ascospores pourrait être possible en tests de sélection pour la résistance au *Sclerotinia*.

Introduction

Le *Sclerotinia sclerotiorum* entraîne en France, sur Tournesol, des dégâts importants, surtout sur capitule, mais aussi à différents niveaux de la tige. Aucune lignée ou variété de Tournesol ne présente actuellement de résistance absolue au *Sclerotinia sclerotiorum*, mais certaines variétés se montrent plus tolérantes. Aussi, un test variétal fondé sur des inoculations par ascospores est-il vivement souhaité.

En effet, depuis quelques années, tous les auteurs admettent que les ascospores constituent la source d'inoculum primaire responsable de l'infection de différentes

espèces (Hendrix et Raabe, 1960 ; Zummo et Plakidas, 1961 ; Henderson, 1962 ; Vigodsky, 1969 ; Abawi et Grogan, 1974 ; Cook, Steadman et Boosalis, 1975). Cependant le rôle des ascospores est souvent déduit d'expérimentations indirectes : des plantes saines sont disposées dans des champs fortement infestés pour y être infectées naturellement puis elles sont ramenées en chambre humide (Abawi et Grogan, 1974), ou bien des sclérotés sont semés expérimentalement dans des essais de plein champ (Krüger, 1975). Les auteurs ne relatent pas d'inoculation directe, avec des ascospores, sur des plantes entières, *in situ*, mais sur des organes détachés (Dana et Vanghn, 1949 ; Newton et Sequeira, 1972).

La littérature ne rend pas compte, non plus, du processus de l'infection du Tournesol ; en 1969, Krexner affirme seulement que les ascospores peuvent infecter le Tournesol dès leur sortie de l'asque.

Pour que l'infection réussisse, deux phases doivent se succéder :

1. — *La germination des ascospores*

La présence de tissus sénescents, ou bien celle de substances nutritives, semble indispensable à la germination. (Purdy et Bardin, 1953 ; Mac Lean, 1958 ; Ribaldi, 1959 ; Mellinger et Hooker, 1969 ; Natti, 1971 ; puis Abawi, Polach et Nolin, 1975.)

La fleur de différentes espèces remplit l'une ou l'autre de ces conditions et elle est souvent citée dans la littérature comme le point de départ de l'infection de ces espèces (Mac Lean, 1958, sur Crucifères ; Ribaldi, 1959 ainsi que Hartill et Campbell, 1974, sur Tabac).

Certains décrivent à la fin de cette phase la formation d'appressoria (Boyle, 1921 ; Brown, 1936).

2. — *La pénétration dans l'hôte*

De Bary distinguait ici une « pré-pénétration » qui tuait les tissus puis la pénétration au sens strict. L'existence de ces deux phases dans le temps expliquerait, selon Purdy (1958), le délai souvent observé dans la nature entre la décharge des ascospores et l'apparition des premiers symptômes de la maladie (jusqu'à 5 semaines selon l'observation de l'un d'entre nous, Lamarque, 1976).

Ce long délai, ainsi que le caractère aléatoire de la réussite de l'inoculation par ascospores, expliquent que les études de la sensibilité du Tournesol à la pourriture provoquée par *Sclerotinia sclerotiorum* aient été le plus souvent effectuées en utilisant un inoculum mycélien (Auger et None, 1970 ; Iliescu *et al.* 1975). Dans un travail récent, deux d'entre nous (Vear et Guillaumin 1977) se sont attachés à étudier les conditions d'application et les limites de cette méthode d'inoculation, qui présente l'inconvénient de court-circuiter les premières phases de l'infection.

Le présent travail s'était fixé pour objectif de contribuer à élucider le processus infectieux à partir des ascospores en étudiant le mécanisme d'installation, en suivant l'évolution de la sensibilité avec le temps au niveau de la tige et du capitule, en appréciant le rôle des différents organes vivants ou sénescents. C'est sur ces bases que nous pensons proposer différents types d'inoculations artificielles par ascospores pouvant constituer d'autres tests de sensibilité variétale, applicables au champ et au laboratoire.

Matériel, méthodes et programme d'inoculations

I. — Matériel

A. — Le champignon.

Les ascospores de *Sclerotinia sclerotiorum* ont été obtenues à partir de sclérotés récoltés en 1975 par battage de capitules de Tournesol provenant de cultures du Puy-de-Dôme.

Pour les inoculations par mycélium, nous avons utilisé la souche SS7 isolée en 1976 à la Station de Pathologie Végétale de Clermont-Ferrand.

B. — Le Tournesol.

Nous avons retenu quatre variétés devant constituer une gamme de sensibilité à la maladie :

— « Peredovik » : variété-population d'origine soviétique, commercialisée, présentant une assez forte sensibilité au *Sclerotinia*.

— « INRA 47-01 » : hybride simple génique (« F 5 × Y 2 ») créé par la Station d'Amélioration des Plantes de Clermont-Ferrand, commercialisé, qui présente un assez bon niveau de résistance au *Sclerotinia*.

— « CPM 2 × Rha 266 » : hybride cytoplasmique, non commercialisé, issu de deux lignées très sensibles au *Sclerotinia* et représentant lui-même le degré extrême de la sensibilité d'après les inoculations effectuées en 1976 par mycélium sur capitules et par sclérotés au niveau du collet.

— « CIC 61 × BC 251 » : hybride cytoplasmique non commercialisé, dont le comportement intrinsèque vis-à-vis de la pourriture blanche était inconnu, mais issu du croisement de deux lignées figurant parmi les plus résistantes.

II. — Méthodes d'inoculation

A. — Par mycélium.

La méthode d'inoculation qui fait appel à des pastilles de milieu gélosé contenant du mycélium a déjà montré son efficacité (Vear et Guillaumin, 1977). Aussi l'utilisons-nous comme méthode de référence, les résultats obtenus étant comparés à ceux fournis par les inoculations faisant intervenir des ascospores.

B. — Par ascospores.

1) Obtention des apothécies.

Les apothécies sont obtenues à partir de sclérotés d'assez grande taille (1 à 2 cm) enfouis à faible profondeur (0,5 cm) dans des terrines contenant une terre alcaline non stérilisée. Les terrines sont conservées dans une serre où la température varie entre 8 et 15 °C, les premières apothécies apparaissent au bout de 2 mois 1/2 environ.

2) Prélèvement des ascospores.

Deux méthodes sont utilisées selon que nous désirons disposer d'un inoculum sec (poudre d'ascospores) ou aqueux (suspension d'ascospores).

a) Pour obtenir un *inoculum sec*, les apothécies mûres sont détachées du sclérote et retournées sur le fond d'une boîte de Petri entrouverte. La dessiccation des apothécies provoque l'éjection des ascospores déjà mûres. Les sporées déposées sont diluées dans du talc stérilisé puis l'inoculum poudreux obtenu est fixé sur des rondelles de buvard de 5 mm de diamètre.

b) Pour l'obtention d'un *inoculum aqueux*, nous utilisons une méthode mise au point par deux d'entre nous (Tourvielle et Guillaumin, non publié, 1977) : les bouquets d'apothécies, en place, sont enfermés dans une micro-enceinte constituée d'une feuille de plastique recouvrant la terre et d'un godet de plastique retourné sur les apothécies. La feuille de plastique est recouverte elle-même d'une feuille de papier d'aluminium. La condensation de l'eau dans l'enceinte est évitée grâce à la présence d'un récipient contenant du chlorure de calcium.

L'éjection des ascospores est provoquée en soulevant brusquement le godet, puis en le remettant en place pour emprisonner le nuage de spores qui apparaît au bout d'une à deux secondes. Les ascospores se déposent sur les parois du godet ou sur la feuille métallique, l'opération peut être répétée trois ou quatre fois par jour. Les spores sont ensuite récupérées par lavage à l'eau du godet et du papier métallique. Cette méthode permet d'utiliser pendant plusieurs jours les mêmes apothécies et de ne récupérer que des ascospores mûres, aptes à germer.

3) Inoculation.

a) *Inoculum sec.*

Les pastilles de buvard sont appliquées sur les organes à inoculer. Le nombre de spores portées par une pastille est très variable, mais toujours important (de 100 000 à 5 millions).

b) *Inoculum aqueux.*

Les spores sont mises en suspension dans une solution de saccharose à 2 p. 100, la concentration de la suspension est ajustée à 50 spores par mm³ environ.

Cet inoculum est mis en contact avec la plante de trois façons différentes :

- par injection à l'aide d'une seringue dans les tissus de la tige ou du capitule (« éponge »), de 0,5 ml de suspension (soit environ 25 000 spores par injection) ;
- par dépôt à la seringue (sans blessure) de 0,5 ml de suspension à la surface de l'organe à inoculer ;
- par absorption de 0,5 ml de la suspension dans un morceau de coton maintenu par du sparadrap contre l'organe à inoculer et recouvert de papier d'aluminium pour limiter l'évaporation.

III. — Programme général d'inoculations

A. — Inoculations préalables sur rondelles de tiges.

Au niveau de chacun des entre-nœuds de tiges de la variété « Peredovik », au stade bouton capitulaire, nous découpons quatre rondelles de tige de 0,5 cm de hau-

teur. Les rondelles, placées dans de petites boîtes de Petri, sont inoculées en leur centre à l'aide d'une goutte de suspension d'ascospores (0,35 ml). L'incubation s'effectue dans les conditions du laboratoire. Le diamètre du thalle qui se développe sur la rondelle est noté tous les jours, chaque niveau étant représenté par quatre répétitions.

B. — *Inoculations sur plantes entières ou maintenues en survie.*

Les inoculations sont effectuées à trois périodes correspondant aux trois stades phénologiques suivants :

stade I	préfloraison	autour du	5 juillet
stade II	mi-floraison	—	20 juillet
stade III	post-floraison (fleurons et fleurs ligulées passés).	—	15 août

Les inoculations sur tiges sont effectuées exclusivement en plein champ, sur plantes entières, l'inoculum aqueux étant soit déposé dans la gouttière du pétiole des feuilles, soit injecté à la seringue dans la moelle.

Les inoculations sur capitules sont effectuées soit en plein champ, soit sur des capitules coupés maintenus en survie en chambre de culture (à 20 °C, à l'obscurité et dans des conditions d'humidité saturante). L'inoculum aqueux est soit injecté à la seringue dans le parenchyme interne du capitule, soit déposé sur les faces stérile et fertile de ce capitule. L'inoculum sec est déposé sur les fleurons.

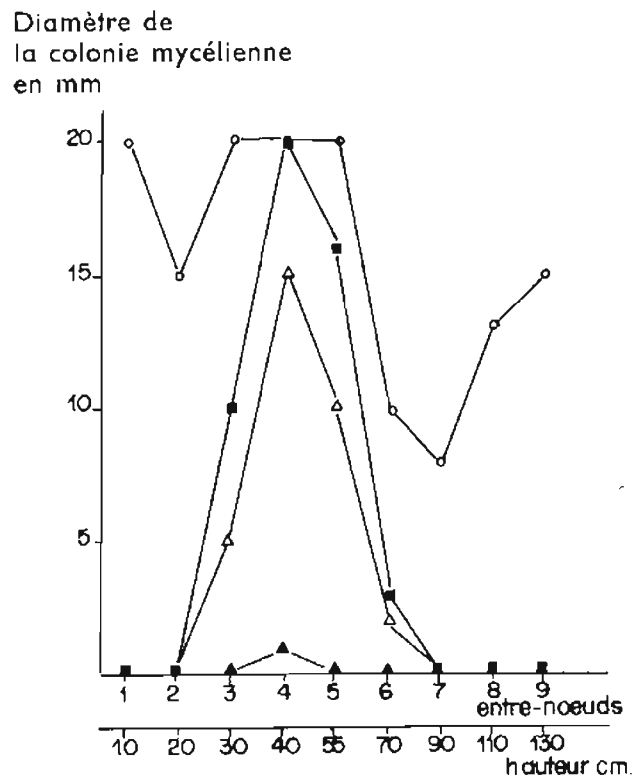


FIG. 1. — Développement du mycélium de *Sclerotinia* sur des rondelles de tige de Tournesol. (Variété Peredovik, stade bouton capitulaire.)

temps d'incubation :

▲ 2 jours Δ 3 jours ■ 4 jours ○ 13 jours

Chaque série (c'est-à-dire chaque combinaison d'une variété, d'un stade de maturité et d'une méthode d'inoculation) comporte en principe vingt répétitions.

IV. — Lecture des résultats

La lecture des résultats s'effectue tous les trois jours à partir de la date d'inoculation. Dans tous les cas, on note la réussite de l'inoculation (révélée par l'apparition d'une tache de pourriture) ou son échec. Il s'agit là de notations de type « tout ou rien » qui se traduisent par des fréquences.

On note aussi, éventuellement, la cassure de la tige au niveau d'une lésion (cas des inoculations sur tiges) ou la destruction du capitule après pourrissement total des tissus parenchymateux internes (cas des inoculations sur capitules). Ce sont également des notations de type « tout ou rien ».

Dans certains cas, il est possible de procéder, en outre, à la notation d'une variable continue : la longueur des taches de pourriture (sur les tiges) ou leur surface (sur les capitules). La surface est évaluée par la mesure de deux diamètres perpendiculaires.

L'interprétation statistique des résultats est effectuée selon les méthodes classiques. (Test χ^2 , analyse de variance, tests non paramétriques dans certains cas.)

Résultats

I. — Inoculations sur tiges

A. — Inoculations sur rondelles de tiges au laboratoire.

La figure 1 fait apparaître, pour la variété « Peredovik » et pour le stade bouton capitulaire (antérieur au stade « pré-floraison ») un maximum de sensibilité très accentué dans la région des quatrième-cinquième entre-nœuds.

TABLEAU I

Résultats des inoculations sur tiges (p. 100 de réussite des inoculations)

	Stades	Délais de notation	INRA 47-01	CIC 61 × BC 251	Peredovik	CPM2 × Rha 266
Injection à la seringue	I	à 20 jours	15	10	10	35
		en fin de saison . .	30	30	25	60
	II	à 20 jours	60	75	60	55
		en fin de saison . .	70	85	85	85
	III	à 20 jours	5	40	40	70
		en fin de saison . .	65	85	70	90

B. — Inoculations au champ.

1) Réussite des inoculations et influence du niveau inoculé.

Les inoculations par dépôt de suspensions sporales sur pétioles sénescents ont toujours échoué.

Sur le tableau I, figurent les taux de réussite des inoculations à la seringue qui sont à ramener au nombre de tiges et non au nombre d'inoculations, puisque, chaque tige a subi quatre inoculations dont les résultats sont exprimés de façon cumulée. Il apparaît que la sensibilité globale des tissus internes de la tige (toutes variétés et tous niveaux confondus) est maximale à la mi-floraison.

Sur la figure 2 les résultats des injections aux quatre niveaux ont été séparés ; on constate qu'au stade préfloraison, la sensibilité est maximale entre la onzième et la seizième feuille. A la mi-floraison, on note un maximum de sensibilité très accentué entre la quatorzième et la vingt-deuxième feuille. Au stade post-floraison, la sensibilité tend à s'uniformiser.

Le gradient de sensibilité mis en évidence au laboratoire est donc confirmé par les inoculations au champ ; de plus, le niveau de sensibilité maximale migre vers le haut au fur et à mesure de la maturation de la plante. Le gradient de sensibilité semble disparaître, ou du moins s'estomper, sur les plantes parvenues à maturité.

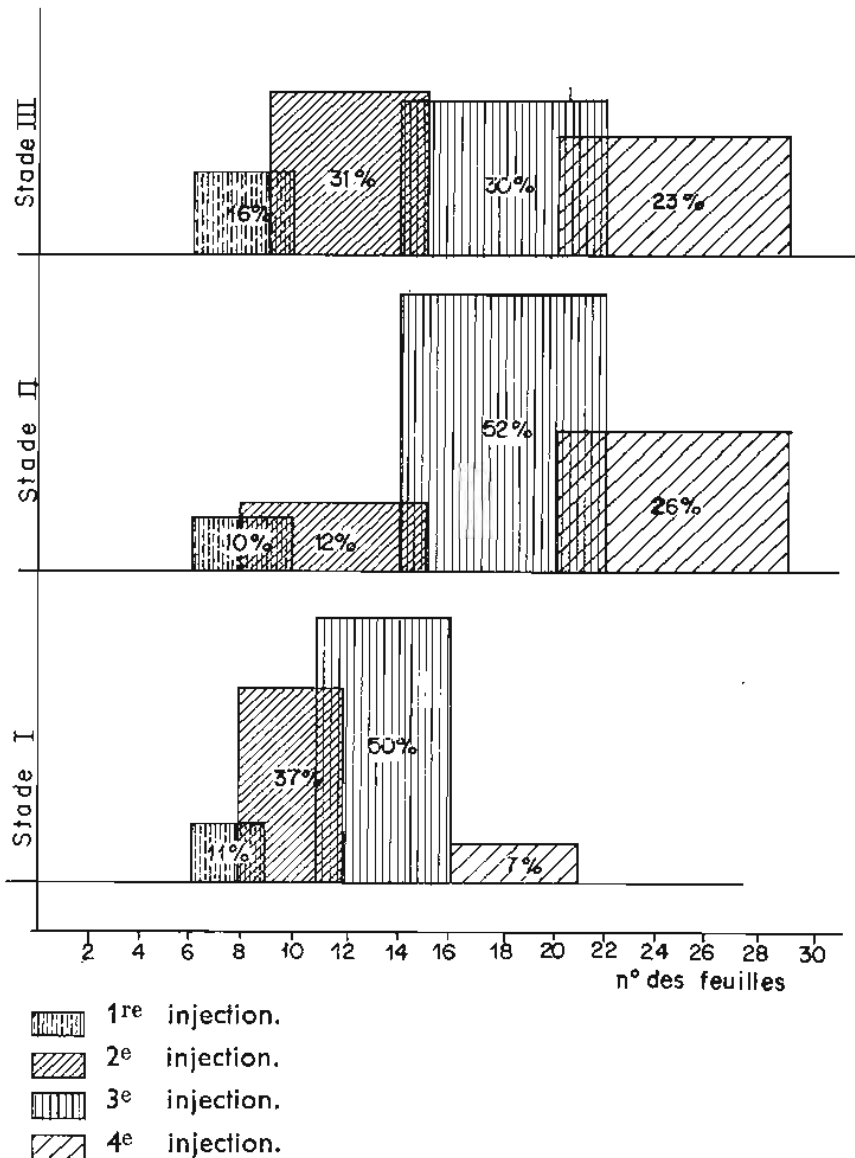


FIG. 2. — Répartition des attaques (inoculation artificielle) sur les tiges.

2) Différences variétales.

Pour juger des comportements variétaux, nous disposons de trois critères : les taux de réussite des inoculations (tabl. 1), la vitesse d'extension des taches de pourriture (fig. 3) et la verse par cassure au niveau des taches de pourriture (fig. 4 a, b, c).

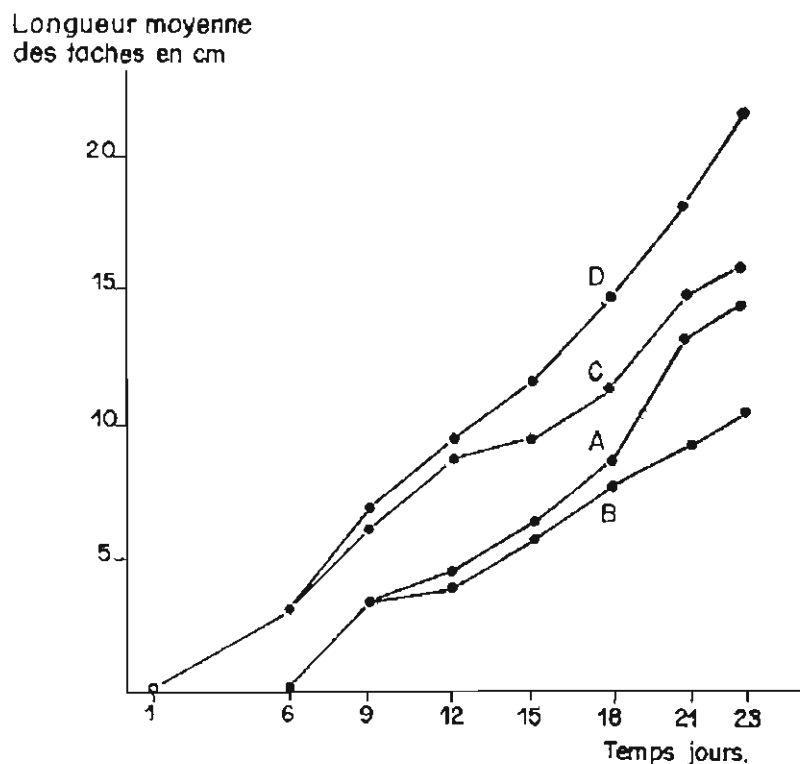


FIG. 3. — Vitesse d'extension des taches de pourriture après inoculation dans la tige au stade II.
A = INRA 47-01 B = CIC 61 × BC 251 C = Peredovik D = CPM2 × Rha 266

TABLEAU II

Résultats des inoculations sur capitules en survie (p. 100 de réussite des inoculations)

	Stades	INRA 47-01	CIC 61 × BC 251	Peredovik	CPM2 × Rha 266
Injection dans l'« éponge » *	I	15	5	25	35
	II	45	65	65	95
	III	100	100	100	100
Dépôt de suspension sur fleurons *	I	5	30	30	15
	II	100	100	100	100
	III	illisible (contaminations par <i>Botrytis</i>)			
Pastilles de mycélium **	I	67	67	67	60
	II	92	75	50	100
	III	100	100	100	100

* Lecture 8 jours après inoculation.

** Lecture 3 jours après inoculation.

TABLEAU III

Résultat des inoculations sur capitules au champ (p. 100 de réussite des inoculations)
résultats 20 jours après inoculation, sauf indications contraires

			INRA 47-01	CIC 61 × BC 251	Peredovik	CPM2 × Rha 266		
Apport d'ascospores	Injection dans l'éponge	I	65	45	55	65		
		II	85	95	95	100		
		III	85	90	95	85		
	sur les fleurons	Suspension	I	0	0	0	0	
			II *	à 20 jours	0	10	10	10
			à 35 jours	5	20	45	40	
		III	à 20 jours	25	13	31	19	
			à 35 jours	62	50	81	?	
			I	20	0	15	0	
	Spores sèches	II	fleurons stade	à 20 jours	5	5	20	20
			« anthère mûre »	à 35 jours	30	5	50	70
			fleurons passés	à 20 jours	0	0	0	0
III		à 35 jours	10	0	20	0		
		avec pollen	20	20	10	45		
		sans pollen	5	70	30	40		

* Fleurons au stade « anthère mûre »

La figure 4 montre que c'est sur « CIC 61 × BC 251 » que la progression du mycélium est la plus lente, « INRA 47-01 » venant en seconde position.

Les figures 4 (a, b, c) mettent en évidence une très nette résistance de la variété « INRA 47-01 » vis-à-vis de la cassure au niveau des taches de pourriture, et ceci à tous les stades.

Quel que soit le critère pris en considération, « CPM 2 × Rha 266 » est toujours la variété la plus mauvaise.

II. — Inoculations sur capitules

Les taux de réussite des inoculations sont rassemblés sur les tableaux II (capitules en survie) et III (plantes en place).

La vitesse d'extension des taches de pourriture (c'est-à-dire la croissance du mycélium superficiel) a été mesurée chaque fois que cela était possible (le plus souvent sur les capitules en survie.)

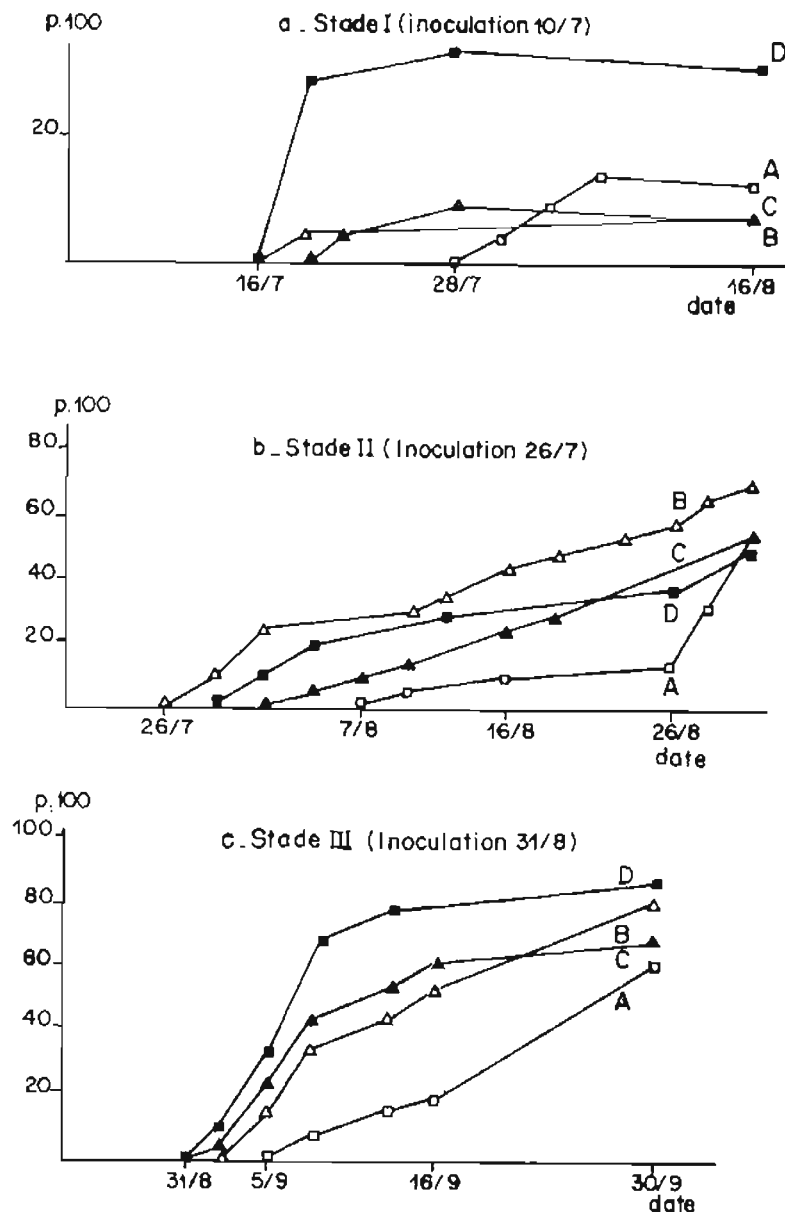


FIG. 4. — Pourcentage de plantes versées après inoculations d'une suspension d'ascospores dans la tige.

A = INRA 47-01 B = CIC 61 × BC 251 C = Peredovik D = CPM2 × Rha 266

Enfin, il a été possible, au moins au stade II, de mesurer les délais nécessaires à la chute des capitules pourris (notamment par rupture du pédoncule). Les résultats apparaissent sur les figures 5 (a, b, c).

1) Comparaison des inoculations effectuées par diverses méthodes et à divers stades.

a) *Injection à la seringue dans les parenchymes lacuneux de l'intérieur du capitule (l'« éponge »).*

Ces inoculations donnent des résultats positifs dès le stade I (avec plus de 50 p. 100 de réussite au champ (Tabl. III) et, curieusement, des chiffres un peu plus faibles sur les capitules (Tabl. II) en survie).

b) *Dépôt d'ascospores sur la face stérile du capitule.*

Les inoculations de ce type se traduisent par un échec total, quels que soient le stade et la variété.

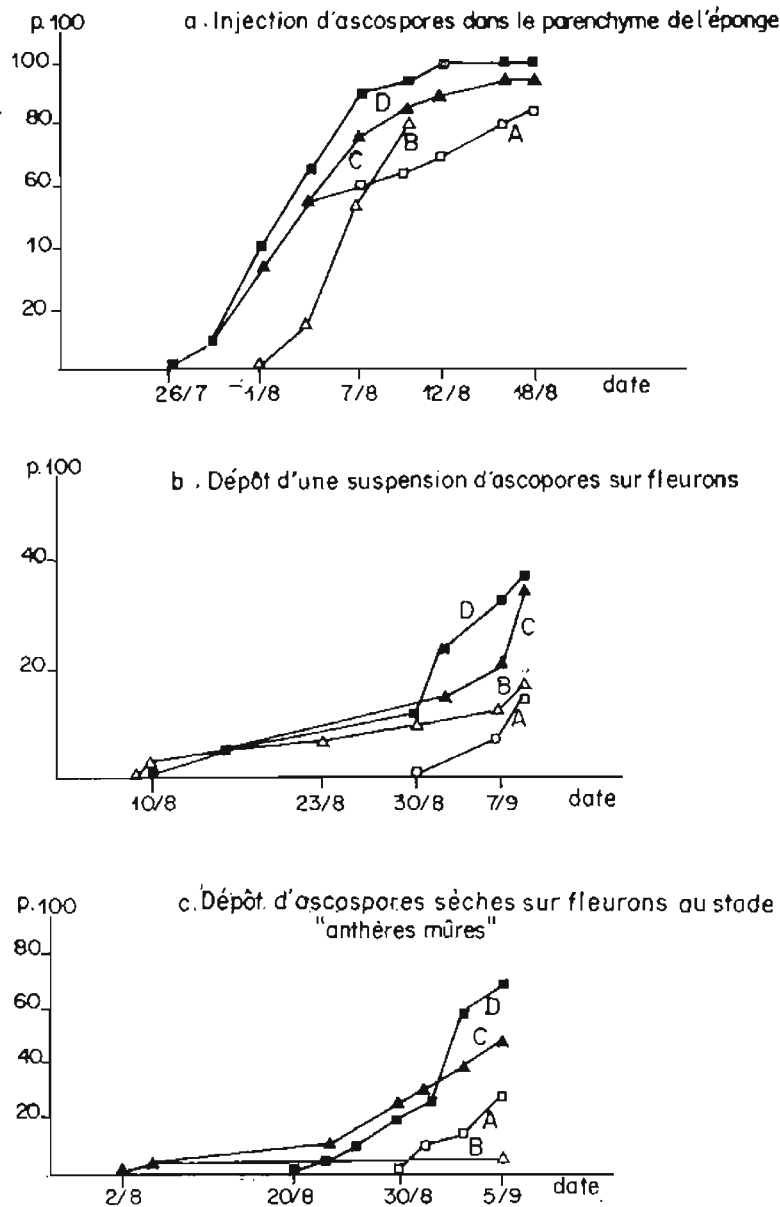


FIG. 5. — Pourcentage de capitules détruits après inoculation par ascospores au stade II (mi-floraison).

A = INRA 47-01 B = CIC 61 × BC 251 C = Peredovik D = CPM2 × Rha 266

a) Injection d'ascospores dans le parenchyme de l'éponge

b) Dépôt d'une suspension d'ascospores sur fleurons

c) Dépôt d'ascospores sèches sur fleurons au stade « anthères mûres »

Il est à noter que les inoculations effectuées au même site, mais au moyen de pastilles de mycélium (sur capitules en survie) se traduisent, par contre, par l'apparition de taches de pourriture dans 80 p. 100 des cas au stade II, dans 100 p. 100 des cas au stade III.

c) *Dépôt d'ascospores sur la face fertile.*

Les résultats rassemblés dans le tableau III mettent en évidence, sur capitules inoculés au champ, l'évolution suivante :

Au stade I (préfloraison), les inoculations par apports d'ascospores sur les jeunes fleurons se traduisent le plus souvent par des échecs.

Au stade II (mi-floraison), les taux de réussite, faibles à 20 jours (respectivement

7,5 p. 100 et 12,5 p. 100 avec les 2 techniques), se relèvent sensiblement après 35 jours (taux de 27,5 p. 100 et 38,7 p. 100), mais seulement si l'inoculation a été effectuée sur des fleurons au stade « anthères mûres ».

Les taux de réussite au stade III sont du même ordre de grandeur (entre 22 et 36 p. 100), mais ces résultats sont acquis dès la lecture de 20 jours.

2) Différences variétales,

Sur huit essais donnant des résultats statistiquement hétérogènes, « CPM 2 × Rha 266 » s'est montré significativement plus sensible que « INRA 47-01 » dans 7 cas, que « CIC 61 × BC 251 » dans 6 cas, que « Peredovik » dans 4 cas (et moins sensible que « Peredovik » dans 1 cas).

« Peredovik » est apparu plus sensible que « INRA 47-01 » dans 6 cas, que « CIC 61 × BC 251 » dans 5 cas.

« INRA 47-01 » et « CIC 61 × BC 251 » n'étaient, dans 6 cas sur 8, pas différenciables statistiquement. Dans 2 cas, « INRA 47-01 » apparaissait plus sensible (différence seulement au seuil 5 p. 100).

D'autre part, les courbes *a*, *b*, *c*, fig. 5, montrent que la destruction du capitule sous l'effet de la pourriture à *Sclerotinia* s'effectue plus lentement et touche un moins grand nombre de capitules chez les hybrides « INRA 47-01 » et « CIC 61 × BC 251 ». Notamment, lorsque les ascospores sont apportées sur les fleurons, (courbes *b* et *c*, fig. 5), la destruction des capitules est particulièrement lente chez « INRA 47-01 » en comparaison avec les variétés sensibles.

Conclusions et discussion

I. — Les voies de l'infection

Les résultats rapportés ci-dessus montrent qu'on peut inoculer avec succès le Tournesol en utilisant des ascospores de *Sclerotinia sclerotiorum* mais que les voies de pénétration possibles sont limitées.

Les inoculations sur pétioles sénescents n'ayant pas réussi, nous n'avons pas pu mettre en évidence la voie d'entrée du *Sclerotinia* dans les tiges. Toutefois, le résultat des injections indique que les tissus internes sont déjà sensibles au stade préfloraison.

Jusqu'à la floraison, il existe dans les tiges un gradient de sensibilité, les taux de réussite les plus élevés correspondant, à chaque stade, à la zone des plus grandes feuilles. Ce maximum de sensibilité pourrait s'expliquer par un maximum de concentration des produits de la photosynthèse à ce niveau.

En ce qui concerne le capitule, au stade I, les seules inoculations qui réussissent immédiatement sont les injections dans l'éponge et même dans ce cas, on note un délai plus important avant l'apparition des symptômes et un moindre pourcentage de réussite qu'aux stades II et III. L'éponge, comme la moelle de la tige, est donc sensible avant la floraison mais dans une moindre mesure que plus tard.

Cette sensibilité précoce des tissus internes du capitule ne se traduit pas par des attaques dans les conditions naturelles, car à ce stade, l'épiderme de la face stérile aussi bien que les organes de la face fertile constituent des barrières à l'infection.

Du côté stérile, cette résistance à l'infection par ascospores se maintient aux stades suivants. L'adjonction de pollen ou l'exécution de blessures superficielles ne permettent pas de la lever. (Lamarque, Guillaumin, résultats non publiés, 1975-1976). Par contre, les apports de mycélium effectués en ce site sont efficaces dès la floraison : la sécrétion d'exoenzymes par le mycélium provoque vraisemblablement une macération des cellules superficielles permettant la pénétration ultérieure des hyphes.

Du côté fertile, la sensibilité semble apparaître assez brusquement autour du 15 août, ce que traduisent non seulement les résultats des inoculations effectuées à ce moment (stade III), mais également l'apparition subite de taches de pourriture sur des inoculations effectuées un mois plus tôt, à la mi-floraison. Il est remarquable que, dans la nature, les premières taches sur capitules apparaissent également autour de cette date du 15 août.

Il semble donc exister, au niveau de la face fertile, une barrière à l'infection qui disparaît vers le 15 août. Cette disparition pourrait être liée à une transformation des organes qui s'interposent entre le fleuron et l'éponge : les graines, les écailles qui les entourent ou les tissus charnus sous-jacents.

D'autre part, l'efficacité tardive d'infections effectuées à la mi-floraison pose le problème de la conservation de l'inoculum sur les fleurons. Dans le cas de l'inoculum aqueux, dont la germination est immédiate, la conservation ne peut s'effectuer que sous forme mycélienne. Dans le cas de l'inoculum en poudre, la conservation peut s'effectuer également sous forme de spores non germées, comme l'a montré Lamarque (1976).

II. — Différences variétales et tests de sensibilité

Les différentes méthodes d'inoculation ont confirmé l'existence de différences de réaction au *Sclerotinia* parmi les géotypes du Tournesol.

Les divers critères pris en considération (taux de réussite de l'infection, vitesse de croissance du mycélium, délai nécessaire à la cassure de la tige ou à la destruction totale du capitule) fournissent généralement le même classement variétal : l'hybride « CPM 2 × Rha 266 » est presque toujours la variété la plus sensible, « Peredovik » se classe généralement en seconde position.

« INRA 47-01 » et « CIC 61 × BC 251 » présentent un niveau de résistance voisin, le sens des différences variant selon les méthodes d'inoculation. Toutefois, « INRA 47-01 » manifeste une résistance à la cassure des tissus, même pourris, qui lui est spécifique et se manifeste aussi bien au niveau de la tige qu'à celui du capitule.

Ces résultats, pour les trois variétés autres que « CIC 61 × BC 251 » confirment les résultats de Vear et Guillaumin (1977), obtenus à partir d'inoculations mycéliennes. Pour « Peredovik » et « INRA 47-01 », variétés commerciales, ils confirment également les observations en culture.

S'il semble difficile, pour le sélectionneur, d'obtenir un niveau de résistance supérieur à celui d'« INRA 47-01 », il sera par contre possible d'éliminer des programmes de sélection des géotypes très sensibles (tels que les géniteurs de « CPM 2 × Rha 266 »), même s'il s'agit de lignées intéressantes quant à leurs performances agronomiques.

Certaines des techniques décrites ici devraient pouvoir constituer de nouveaux

tests de sensibilité, à utiliser en complément ou en remplacement des méthodes actuellement existantes :

— l'injection d'ascospores dans l'éponge, bien qu'aussi éloignée de l'infection naturelle que les méthodes faisant intervenir le mycélium, présente l'avantage de la simplicité et de la rapidité ;

— le dépôt d'ascospores sur les fleurons à la floraison (soit par pulvérisation, soit par poudrage) constituerait par contre une méthode très proche de l'infection naturelle, mais les délais nécessaires à l'apparition des symptômes, ainsi que la dépendance vis-à-vis des facteurs climatiques, rendront sans doute cette méthode plus difficile à utiliser comme test de sélection.

Reçu pour publication en novembre 1978.

Summary

Role of ascospores in the infection of Sunflowers by Sclerotinia sclerotiorum

Studies of the infection of Sunflowers by *Sclerotinia sclerotiorum* were made using a number of different techniques. A method was developed for the collection of ripe ascospores from apothecia such that the latter could be used for several days.

Injections of ascospores suspensions into sunflower stems showed a maximum susceptibility at the time of flowering, and a gradient along the stem which varied with the age of the plant ; the internodes corresponding to the largest leaves were the most susceptible.

Injections of ascospores suspensions into the parenchyma of the capitulum were successful from flowering onwards, indicating that this tissue is susceptible at a time when natural attacks do not appear. In contrast, symptoms of *Sclerotinia* development, after inoculation by deposition on the florets of either dry or suspended ascospores, appeared only after August 15th, whether from inoculations in July or August. Thus there appears to be, up to a certain stage of maturity, a barrier to infection of the capitulum parenchyma, but during this period ascospores can remain viable inoculum either as dry spores or as small mycelial colonies in the florets.

The different inoculation methods confirm the existence of different levels of resistance to *Sclerotinia* among Sunflower genotypes, with different reactions concerning the percentage of successful inoculation and the rate of extension of the pathogen within stem and capitulum tissues. Certain of the inoculation techniques may be usable as the basis of breeding programme tests to determine the relative resistance of Sunflower genotypes to *Sclerotinia*.

Références bibliographiques

- ABAWI G. S., GROGAN R. G., 1974. Ascospores of *Whetzelinia sclerotiorum* as primary inoculum causing white mold of beans in New-York. *Phytopathology*, **64**, 578 (Abstr.).
- ABAWI G. S., POLACH F. J., MOLIN W. T., 1975. Infection of Bean by ascospores of *Whetzelinia sclerotiorum*. *Phytopathology* **65**, 673-678.
- AUGER J., NOME F. H., 1970. Efecto de la edad en la predisposición de la Maravilla (*Helianthus annuus* L.) a la esclerotiniosis (*Sclerotinia sclerotiorum* « Lib ». De Bary). *Agric. tec.*, **30**, (3), 161-165, 1970.
- BOYLE C., 1921. Studies in the physiology of parasitism VI — Infection by *Sclerotinia libertiana*. *Ann. Bot.*, **35**, 337-347.
- BROWN W., 1936. The physiology of host-parasite relation. *Bot. Rev.*, **2**, 236-381.
- COOK G. E., STEADMAN J. R., BOOSALIS M. G., 1975. Survival of *Whetzelinia sclerotiorum* and initial infection of dry edible beans in Western Nebraska. *Phytopathology*, **65** (3), 250-255.
- DAGNELIE P., 1975. Théories et Méthodes statistiques. Vol. 2, Presses Agronomiques, Gembloux.
- DANA B. F., VANGHN E. K., 1949. Etiology and control of *Sclerotinia sclerotiorum* on blue lake beans. *Phytopathology*, **39**, 859.
- GROGAN R. G., ABAWI G. S., 1975. Influence of water potential on growth and survival of *Whetzelinia sclerotiorum*. *Phytopathology*, **65**, 132-138.
- HARTILL W. F. T., CAMPBELL J. M., 1974. Effects of flower removal on the development of the *Sclerotinia/Botrytis* complex of Tobacco. *N. Z. J. agric. Res.*, **17**, 147-152.

- HENDERSON Ruth M., 1962. Some aspects of the life cycle of the plant pathogen *Sclerotinia sclerotiorum* in Western Australia. *J. r. Soc. West. Aust.*, **45** (4), 133-135. (R.A.M. 1963, 527).
- HENDRIX F. F., RAABE R. D., 1960. *Sclerotinia* blight of Gloxinia. *Phytopathology*, **50** (9), 638. (Abstr.).
- ILIESCU H., VRANCEANU V., STOENESCU F., 1975. Méthode de infectie artificială en ciuperca *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) De Bary la Floarea-Soarelui, *An. ICCPT*, **75**, XL, C, 299-310.
- KREXNER R., 1969. Sklerotiekrankheit der Sonnenblume. *Pflanzenartzt*, **22**, 20-22.
- KRÜGER W., 1975. Die Beeinflussung der Apothezien und Ascosporen. Entwicklung des Rapskrebserregers *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary durch Umweltfaktoren. *Z. Pflanzensch.*, **82**, 101-108.
- LAMARQUE Claudine, 1976. Eléments de biologie du *Sclerotinia sclerotiorum* sur Tournesol en France. *Informations Techniques C.E.T.I.O.M.*, n° **49**.
- MAC LEAN D. M., 1958. Some experiments concerned with the formation and inhibition of apothecia of *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) De By. *Plant Dis. Rep.*, **42**, 409-412.
- MAC LEAN D. M., 1958. Role of dead flower parts in infection of certain crucifers by *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de By. *Plant Dis. Rep.*, **42**, 663-666.
- MELLINGER H. C., HOOKER W. J., 1969. Aspects of *Sclerotinia sclerotiorum* infection of Sebago Potato. *Am. Potato J.*, **46** (11), 432-433. (Abstr.) (R.A.M. 1970, 303).
- NATTI J. J., 1971. Epidemiology and Control of bean white mold. *Phytopathology*, **61**, (6), 669-674.
- NEWTON H. Calvin, 1972. *Sclerotinia sclerotiorum* incitant of Lettuce drop sources of inoculum, host-resistance and mechanisms of pathogenesis, Ph. D., The University of Wisconsin. *Agric. Soil. Sci.*
- NEWTON H. Calvin, SEQUEIRA L., 1972. Ascospores as the primary infective propagule of *Sclerotinia sclerotiorum* in Wisconsin. *Plant Dis. Rep.*, **56**, 789-802.
- PURDY Laurence H., 1958. Some factors affecting penetration and infection by *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) De By. *Phytopathology*, **48** (11), 605-609.
- PURDY Laurence H., BARDIN R., 1953. Mode of infection of Tomato plants by ascospores of *Sclerotinia sclerotiorum*. *Plant Dis. Rep.*, **37**, 361-362.
- RIBALDI M., 1959. Alcune osservazioni sull'aumento del Tabacco da fascia causato da *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de By in colture sotto garza. *Tobacco*, Roma, **63**, 690, 13-24. (R.A.M., 1960. 46).
- VEAR Felicity, GUILLAUMIN J. J., 1977. Etude de méthodes d'inoculation du Tournesol par *Sclerotinia sclerotiorum* et application à la sélection. *Ann. Amélior. Plantes*, **27** (5), 523-537.
- VIGODSKY Hillela, 1969. Methods for controlling *Sclerotinia* rot of Gerbera and studies of the disease cycle in Israel, *Israel J. agric. Res.*, **19**, 4, 185-193 (R.P.P. 1970, 1051).
- ZUMMO N., PLAKIDAS A. G., 1961. Spread of petal blight of Camellias by air-borne ascospores of *Sclerotinia camelliae*. *Phytopathology*, **51**, 69.
-