



**HAL**  
open science

## **Test de résistance à *Plasmopara halstedii*, agent du mildiou du tournesol. Identification et validation de variétés multiplicatrices et de témoins sensibles**

Valérie Grimault, Vincent Cellier, Felicity Vear, M.C. Tardin, E. Mestries, Sophie Perrot, Christine Giroult

### ► **To cite this version:**

Valérie Grimault, Vincent Cellier, Felicity Vear, M.C. Tardin, E. Mestries, et al.. Test de résistance à *Plasmopara halstedii*, agent du mildiou du tournesol. Identification et validation de variétés multiplicatrices et de témoins sensibles. *Innovations Agronomiques*, 2011, 15, pp.21-28. <10.17180/cv08-z941>. <hal-00964309>

**HAL Id: hal-00964309**

**<https://hal.science/hal-00964309v1>**

Submitted on 29 May 2020

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



Distributed under a Creative Commons CC BY-NC-ND 4.0 - Attribution - Non-commercial use - No Derivative Works - International License

## **Test de résistance à *Plasmopara halstedii*, agent du mildiou du tournesol. Identification et validation de variétés multiplicatrices et de témoins sensibles.**

Grimault V.<sup>1</sup>, Cellier V.<sup>1</sup>, Vear F.<sup>2</sup>, Tardin M.C.<sup>3</sup>, Mestries E.<sup>4</sup>, Perrot S.<sup>1</sup>, Giroult C.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> : GEVES, rue G Morel, BP 90024, 49071 Beaucouzé Cedex.

<sup>2</sup> : INRA, 234 Av du Brezet, 63100 Clermont Ferrand

<sup>3</sup> : Oleosem, 17 rue du Louvre, 75001 Paris

<sup>4</sup> : Cetiom, 18 chemin de Borde Rouge, BP 32607, 31326 Auzeville Tolosane

Correspondance : Valerie.GRIMAULT@geves.fr

### **Résumé**

9 races de mildiou étaient entretenues simultanément sur une variété population sensible à toutes les races (Peredovik) pour les tests de résistance, dans le cadre des études DHS et VAT pour le CTPS, entraînant un risque de contamination entre races. Afin de minimiser les risques de mélange de races, le projet a eu pour but d'identifier et de valider des variétés qui soient résistantes à toutes les races, sauf celle à multiplier et à le valider comme témoin sensible. Des variétés commerciales multiplicatrices de 6 des 9 races de mildiou et utilisables comme témoin sensibles ont été validées. Elles présentent l'avantage de réduire les risques de mélange de souches, pour proposer à la profession une meilleure sécurité sur l'identité des races fournies ou utilisées en tests officiels ou pour les obtenteurs, de ne pas nécessiter de production de semences spécifiques et de présenter moins de plantes échappées ou pourries en test que l'ancien témoin sensible Peredovik. Aucune des variétés validées comme variétés multiplicatrices n'est sensible uniquement à la race qu'elle doit multiplier et résistante à toutes les autres. Il reste donc encore des risques de mélange de souches. Une stratégie de multiplication des races a donc été définie pour diminuer les risques de mélange en fonction des variétés multiplicatrices choisies.

**Mots-clés :** *Plasmopara halstedii*, races, tests de résistance, DHS, VAT

**Abstract:** Test of resistance to sunflower mildew, *Plasmopara halstedii*. Identification and validation of multiplying varieties and susceptible checks

Nine downy mildew races were maintained on a variety susceptible to all races (Peredovik) for resistance tests, in the frame of DUS and VCU studies for CTPS. There was therefore a risk of cross contamination between races. To decrease the risk of cross contamination, the project aimed at identifying and validating varieties resistant to all races, except the one to multiply, and to validate the multiplying variety as susceptible control. Commercial varieties were validated for multiplication and susceptible controls of 6 of the 9 races. The advantage was to decrease the risk of cross contamination and obtain a higher security for identity of races provided to seed companies and used for official tests or tests carried out for breeders, not to need of specific seed production and to obtain less escaped or rotted plants compared to the previous susceptible control Peredovik. No variety validated for multiplication was susceptible to only the race to multiply and resistant to all others. So there are still risks of cross contamination. We defined a strategy for race multiplication to decrease these risks according to selected varieties.

**Keywords:** *Plasmopara halstedii*, races, resistance tests, DUS, VCU

## 1. Objectifs du programme

Depuis 2004, les services de la protection des végétaux ont reconnu l'existence de 5 nouvelles races de mildiou sur le territoire français, conduisant la SNES à utiliser 9 races simultanément pour les tests de résistance, dans le cadre des études DHS et VAT pour le CTPS. Le risque de contamination entre races a augmenté en raison des conditions de promiscuité des races lors de l'analyse des génotypes et de la multiplication simultanée de plusieurs races, d'autant plus qu'une variété population sensible à toutes les races (Peredovik) (Sakr, 2009) est utilisée pour produire les inoculums de sept races, une variété (Inagri) sensible aux races 700, 703, 704, 710 et 714 étant utilisée pour la production d'inoculum de 2 races.

Afin de minimiser les risques de mélange de races, il est envisagé d'identifier et de valider des variétés qui soient résistantes à toutes les races, sauf celle à multiplier. Par ailleurs, le témoin sensible utilisé jusqu'à présent (la variété population Peredovik) possède une résistance horizontale partielle et une sporulation plus ou moins bonne selon les races (D Tourvieille pers com), rendant parfois les interprétations de tests difficiles pour juger du comportement d'une variété. Afin d'améliorer l'interprétation des tests et la caractérisation des variétés candidates à l'inscription, le but de ce projet était d'utiliser des génotypes présentant un bon niveau de sensibilité (bonne sporulation, homogène et régulière) à la race testée pour les utiliser pour la multiplication de la race et comme témoins sensibles pour l'évaluation de la résistance des variétés.

## 2. Programme mis en œuvre

Le programme a eu pour but d'identifier des hôtes différentiels et variétés hybrides de tournesol répondant aux critères de résistance à toutes les races (ou à un grand nombre d'entre elles) sauf une et permettant une bonne multiplication de cette race.

Les variétés à évaluer ont été fournies à la SNES par OLEOSEM, Agri-Obtentions et l'INRA. La SNES a testé de trois à cinq variétés candidates par race sur la race cible à multiplier et quantifié la production de spores, en comparaison avec la variété sensible Peredovik.

## 3. Méthodologie

### 3.1 Test du matériel candidat pour la production d'inoculum :

Le matériel candidat a été testé en deux étapes selon le protocole suivant :

Les méthodes de test du matériel candidat décrites ci-dessous, sont dérivées du protocole CTPS d'évaluation de la résistance des variétés de tournesol à *Plasmopara halstedii*. Lors de chaque test, les hôtes différentiels permettant de vérifier l'identité de la race ont été inclus.

- 3 répétitions de 20 plantes par lignée/variété et 3 répétitions de Peredovik (ou Inagri), réparties dans 3 terrines différentes
- Terrines couvertes pendant toute la durée du test : ceci correspond au protocole utilisé lors de la phase de multiplication de l'inoculum (lié aux risques de contaminations croisées entre races) et est moins favorable à la bonne expression des symptômes que le protocole de test de résistance (terrines non couvertes sauf 2 jours avant la lecture)
- Notation qualitative de la sporulation : échelle de 1 à 7 (notation indicative car différente des conditions de test de résistance) (Tableau 1)
- Observations qualitatives des plantules: croissance, pourritures...
- Prélèvement des plantules qui sont placées dans l'eau à raison de 10ml par plantule, afin d'obtenir les sporanges en suspension
- Un prélèvement par répétition de 1µl de la suspension de sporanges
- Comptage à la cellule de Mallassez

- Calcul de la concentration par plantule
- 1 à 3 tests indépendants selon les races

Tableau 1 : Exemple d'échelle de notation avec catégories 1 à 7

Catégorie 1	Catégorie 2	Catégorie 3	Catégorie 4	Catégorie 5	Catégorie 6	Catégorie 7
Aucune sporulation sur cotylédons et sur feuilles	Hypersensibilité sans sporulation	Hypersensibilité avec sporulation sur cotylédons	Sporulation faible sur cotylédons	Sporulation forte sur cotylédons avec feuilles développées	Sporulation sur cotylédons avec petites ou absence de feuilles	Sporulation sur cotylédons et feuilles

### 3.2 Validation comme variétés multiplicatrices et comme témoins sensibles

Le matériel candidat a été testé selon le protocole suivant :

#### Validation comme variété multiplicatrice :

- 3 répétitions dans le temps de 100 plantes par lignée/variété et 3 répétitions de Peredovik (ou Inagri)
- Terrines couvertes pendant toute la durée du test : ceci correspond au protocole utilisé lors de la phase de multiplication de l'inoculum (lié aux risques de contaminations croisées entre races) et est moins favorable à la bonne expression des symptômes que le protocole de test de résistance (terrines non couvertes sauf 2 jours avant la lecture)
- Phases suivantes similaires à celles du test de choix des variétés multiplicatrices. Seules les plantules sporulées ont été prélevées pour la quantification de la sporulation

#### Validation comme témoin sensible :

- 3 répétitions de 20 plantes par lignée/variété et 3 répétitions de Pérédovick (le témoin sensible utilisé jusqu'à présent)
- Terrines placées dans les conditions du protocole de test de résistance (terrines non couvertes sauf 2 jours avant la lecture)
- Notation qualitative de la sporulation: catégories 1 à 7

### 3.3 Vérification du spectre de résistance des variétés multiplicatrices choisies aux 9 races de *Plasmopara halstedii*.

Le matériel candidat a été testé selon le protocole CTPS d'évaluation de la résistance des variétés de tournesol à *Plasmopara halstedii*. Lors de chaque test, les hôtes différentiels permettant de vérifier l'identité de la race ont été inclus. Chaque variété a été testée vis-à-vis des 9 races de *Plasmopara halstedii*.

## 4. Résultats

### 4.1 Définition du matériel candidat

Du matériel candidat répondant aux critères de résistance à toutes les races (ou à un grand nombre d'entre elles) sauf une a été identifié. En fonction des disponibilités de semences, et en appliquant des critères de choix avec une préférence pour les hybrides commerciaux, puis les lignées, puis les autres hybrides, cette liste a été restreinte au matériel indiqué en bleu dans le Tableau 2.

Tableau 2 : Liste du matériel candidat

Race	Hybrides commerciaux	lignées	Hybrides disponibles	Hybrides à produire
100		YVQ (R 703-710), très sensible, attention aux risques de fonte de semis		YVQ x CAY (R 703, 710)
304	Allstar RM 1 <sup>ère</sup> version, profil PI6 PI7		hyb S 304, 314, 704, 714 non inscrits	
307	Heliabest, Heliasol RM, Instinct (S 307, 334, 704, 714)	QHP1 (S 307, 703), QHP2		VHQxQHP1
314	LG5445, LG5665M, Melody (S 314, 704, 714)		VHQ x Psc8 (S 314, 704, 714)	
334	Dynamic, ES Biba, LG5450HO, Pacific			
703	hyb S 703, 704, 714	QHP1 (S 307, 703)		QHP1 x PI2 ou XK (S 314 et à partir de 700)
704	ES Aurelia, Inoll, Pikasol, LG5444, Sweet (S 704, 714)			
710				XA x PMI3 (S 334, 710, 714) ou XK x PMI3 (S 314, 710, 714)
714	ES Aurelia, Inoll, Pikasol, LG5444, Sweet (S 704, 714)			XA x PMI3 (S 334, 710, 714) ou XK x PMI3 (S 314, 710, 714)

#### 4.2 Production d'hybrides

Les génotypes nécessaires à l'obtention des hybrides expérimentaux choisis ont été produits (Tableau 3). Au final, nous avons récolté de 44 à 214 grammes de semences par hybride.

1000 semences de chaque hybride retenu ont été envoyées pour réaliser les tests à la SNES.

Tableau 3 : Hybrides produits

Hybrides	Semences récoltées en grammes	Hybrides retenus le 12/11/2007
YVQ x CAY	123	Oui
VKQ x PSC8RM	206	Oui
XK x QHP1	140	Oui
XK x QHP2	152	Oui
XA x PMI3	87	Oui
XK x PMI3	44	Oui
VHQ x QHP1	214	Non
VHQ x QHP2	96	Non

#### 4.3 Test du matériel candidat pour la production d'inoculum, exemple de la race 307

Héliasol, Heliabest, Instinct (S 307, 334, 704, 714) et QHP2 (S 307, 703) ont été testés pour la production d'inoculum de la race 307.

Lors du pré-tri, Héliasol RM et QHP2 ont présenté une bonne sporulation. QHP2 a présenté des problèmes de croissance et une hétérogénéité en taille. Heliabest et Instinct présentant des plantes effilées ont été éliminées (Figure 1).



Figure 1 : Exemple de plantules effilées (en haut de la photo)

Les résultats des trois tests d'évaluation sont présentés dans la Figure 2. QHP2 présentant des plantules au ras du sol gênant la récupération des cotylédons a été éliminée. Héliasol RM présentant une bonne sporulation et ayant une morphologie de plantes compatible avec la production d'inoculum a été choisie.

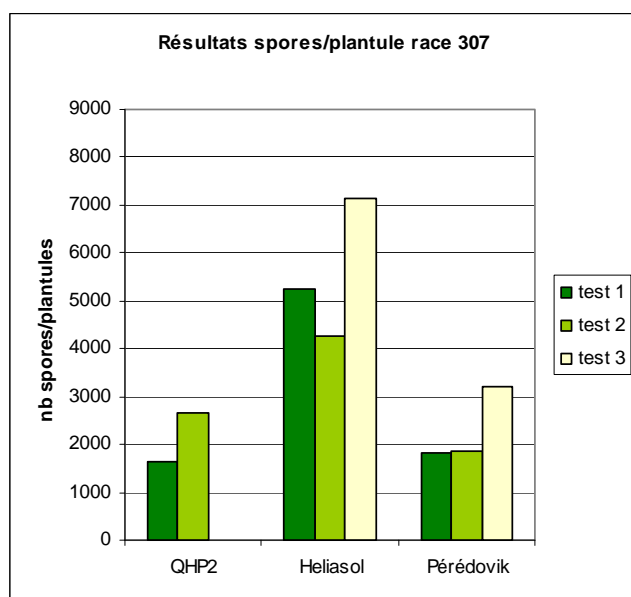


Figure 2 : Evaluation du matériel candidat pour la production d'inoculum

#### 4.4 Validation comme variétés multiplicatrices et comme témoins sensibles, exemple de la race 307

Les résultats de la validation de Héliasol RM comme variété multiplicatrice sont présentés dans les Figures 3 et 4 (conditions de multiplication de l'inoculum : terrines couvertes). Les résultats de la validation de Héliasol RM comme témoin sensible sont présentés dans la Figure 5 (conditions de tests de résistance : terrines non couvertes). Héliasol RM a présenté une quantité de spores produites supérieure ou selon les tests équivalente à celle de Peredovik. Les valeurs des 2 premiers tests peuvent apparaître

faibles sur la Figure 3, mais elles sont représentatives des quantités attendues. Le troisième test a montré un nombre de spores produites très important. Les Figures 4 et 5 montrent un nombre équivalent de plantes en catégories 5/6/7. Heliasol RM a donc été validée comme variété multiplicatrice et témoin sensible.

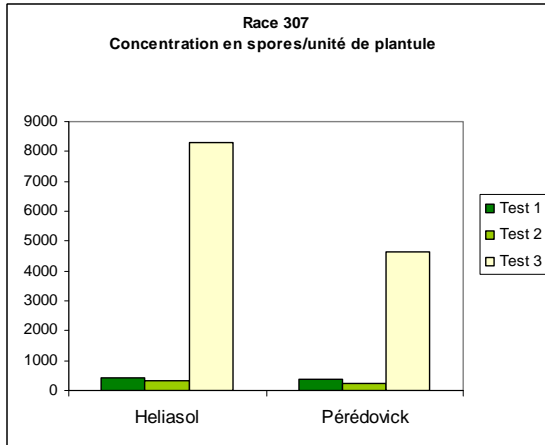


Figure 3 : Résultats race 307

Figure 4 : Résultats race 307

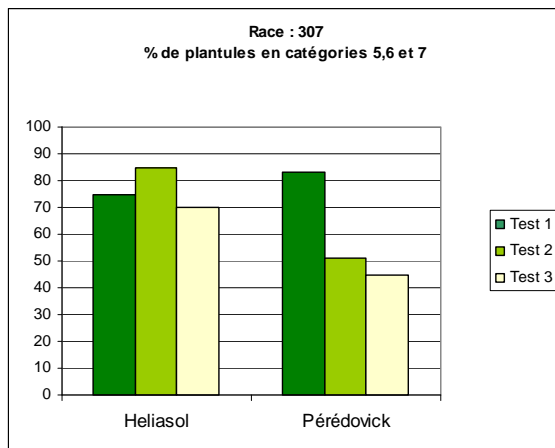
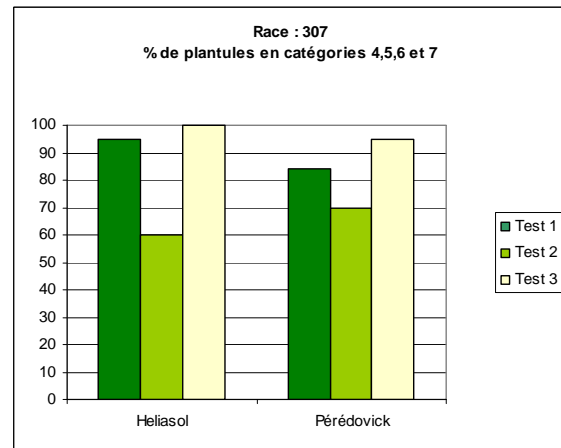


Figure 5 : Résultats race 307



#### 4.5 Vérification du spectre de résistance des variétés multiplicatrices choisies aux 9 races de *Plasmopara halstedii*, exemple de la race 307

Les résultats de spectre de résistance de la variété multiplicatrice Heliasol sont présentés dans le Tableau 4. Ils sont conformes à ce qui était attendu.

Tableau 4 : Spectre de résistance de la variété Heliasol aux 9 races de *P. halstedii*.

Races	Catégorie 1	Catégorie 2	Catégorie 3	Catégorie 4	Catégorie 5	Catégorie 6	Catégorie 7	Nombre total de plantes	Remarques *	Proposition	Résultats attendus
	Aucune sporulation sur cotylédons et sur feuilles	Hypersensibilité sans sporulation	Hypersensibilité avec sporulation sur cotylédons	Sporulation faible sur cotylédons	Sporulation forte sur cotylédons avec feuilles développées	Sporulation sur cotylédons avec petites ou absence de feuilles	Sporulation sur cotylédons et feuilles				
100	30							30		Résistant	Résistant
304	30							30		Résistant	Résistant
307				1	21		3	25		Sensible	Sensible
314	2				16	10	2	30		Sensible	Sensible
334				1	18		8	27		Sensible	Sensible
703	30							30		Résistant	Résistant
704					4		22	26		Sensible	Sensible
710	30							30		Résistant	Résistant
714					13		14	27		Sensible	Sensible

### 4.6 Détermination de la stratégie de multiplication des races pour diminuer les risques de mélange des souches

En fonction des résultats obtenus, nous avons identifié quels étaient les risques de mélange de souches lorsque seuls Pérédovick et Inagri étaient utilisés comme variétés multiplicatrices et avec les nouvelles variétés validées, avec le schéma de multiplication de l'inoculum actuel. Actuellement, 4 races sont multipliées en semaine A et 5 en semaine B. La Figure 6 montre que le risque est fortement diminué avec les nouvelles variétés validées. Cependant il n'est pas nul et certaines races (100, 307, 314) peuvent encore être contaminées par d'autres. Les races 703 et 710 peuvent se contaminer l'une l'autre, de même pour 704 et 714.

Afin de diminuer ces risques, la race 307 sera multipliée en semaine A, ce qui supprimera son risque d'être contaminée par toutes les autres.

Figure 6 : Identification des risques de contamination croisée entre races de *P. halstedii*.

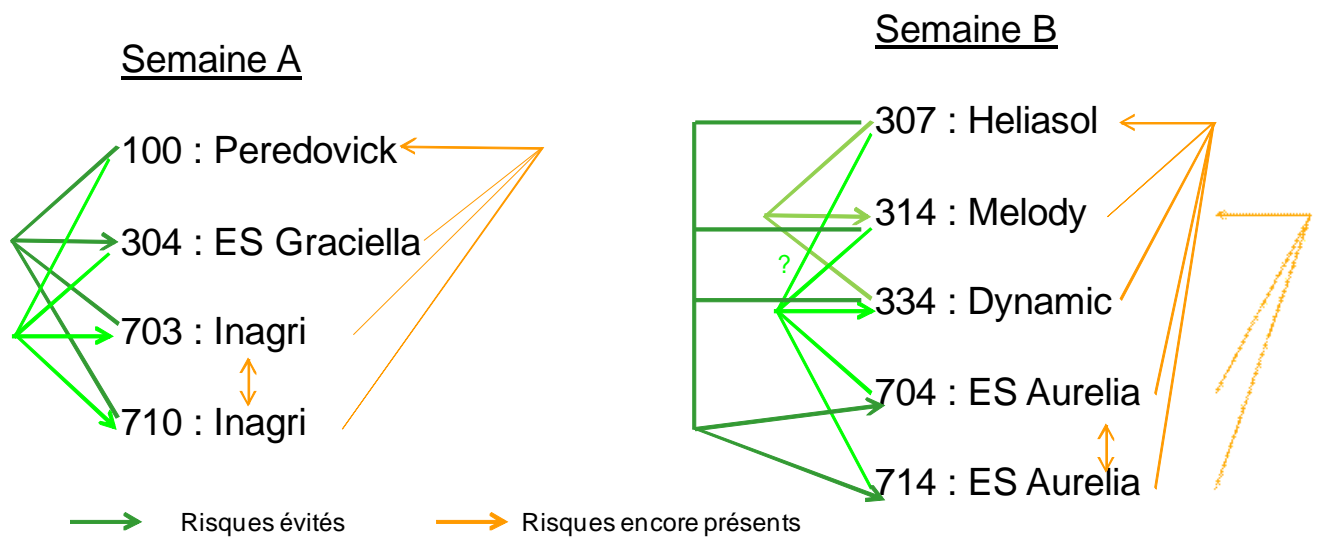


Tableau 5 : Liste du matériel validé comme variété multiplicatrice et témoin sensible, avec spectre de résistance et obtenteur.

	Variété/lignée/hybride	race 100	race 304	race 307	race 314	race 334	race 703	race 704	race 710	race 714	obtenteur
Choix Race 100	Pérédovick	S	S	S	S	S	S	S	S	S	Ressources génétiques
Choix Race 304	ES Graciella	R	S	S	S	S	R	S	R	S	Euralis
Choix Race 307	Héliasol RM	R	R	S	R	S	R	S	R	S	KWS
Choix Race 314	Melody	R	R	R	S	R	R	S	R	S	Syngenta
Choix Race 334	Dynamic	R	R	R	R	S	R	R	R	R	Euralis
Choix Race 703	Pérédovick(TS) / Inagri 104 (multi)	S	S	S	S	S	S	S	S	S	Ressources génétiques
Choix Race 704	ES Aurelia	R	R	R	R	R	R	S	R	S	Euralis
Choix Race 710	Pérédovick(TS) / Inagri 104 (multi)	S	S	S	S	S	S	S	S	S	Ressources génétiques
Choix Race 714	Sweet	R	R	R	R	R	R	S	R	S	Monsanto

## Conclusions

Des variétés commerciales multiplicatrices de 6 des 9 races de mildiou et utilisables comme témoin sensibles ont été validées (Tableau 5). Elles présentent l'avantage de :

- Réduire les risques de mélange de souches, pour proposer à la profession une meilleure sécurité sur l'identité des races fournies ou utilisées en tests officiels ou pour les obtenteurs
- Ne pas nécessiter de production de semences spécifiques
- Présenter moins de plantes échappées ou pourries en test que l'ancien témoin sensible Peredovik.

Aucune des variétés validées comme variétés multiplicatrices n'est sensible uniquement à la race qu'elle doit multiplier et résistante à toutes les autres. Il reste donc encore des risques de mélange de souches. Une stratégie de multiplication des races a donc été définie pour diminuer les risques de mélange en fonction des variétés multiplicatrices choisies.

## Remerciements

Ces travaux ont bénéficié du soutien financier du Ministère de l'Agriculture (Convention n° C06-10).

## Références bibliographiques

Anonyme. 2011. Evaluation de la résistance des variétés de tournesol à *Plasmopara halstedii*. Protocoles GEVES-SNES.

Sakr N., 2009. Variation in aggressiveness of *Plasmopara halstedii* (sunflower downy mildew). Journal of Plant Diseases and Protection 116, 247-251.