

047

# Rôle de la pathologie végétale dans un programme de sélection pour féverole : exemple des maladies aériennes de la féverole

## RESUME

Dans le domaine de la sélection, la collaboration du pathologiste et du sélectionneur est indispensable pour la mise au point d'outils de sélection.

Ce travail passe par :

- la mise en évidence de la variabilité de la plante vis-à-vis du parasite,
- la détermination des critères d'appréciation du comportement variétal (phase de la maladie, stade de la plante, ...),
- la mise au point d'un test d'appréciation du comportement variétal.

Il existe actuellement quatre types de méthodologie : au champ, en serre, au laboratoire et en phytotron. Le dernier test est actuellement utilisé à grande échelle.

## *The role of vegetal pathology in a selection programme for field beans : example, overground diseases of this plant*

B. TIVOLI, N. MAURIN (INRA)

C. ONFROY (GIE des Sélectionneurs de féverole)

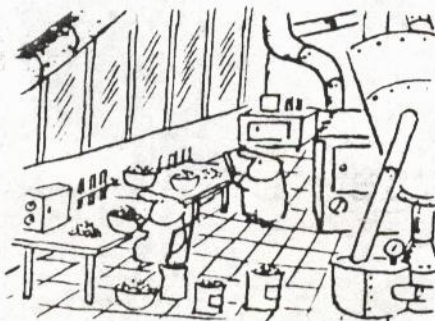
## SUMMARY

When it comes to plant selection, the collaboration of the breeder and the pathologist is indispensable for a sound breeding programme.

This work is done by :

- showing the variability of the plant vis-a-vis the parasite.
- drawing up a scale of varietal behaviour (stage of the disease, stage of the plant...).
- perfecting an appraisal test for varietal comportment.

The work is done using four principal methodologies : in the field, in glasshouses, in the laboratory and by phytotron. This latter test is actually in large scale use.





**La pathologie végétale,  
par ses travaux de base,  
contribue à la  
conception et à la  
réalisation d'un  
programme de  
recherche pour la  
résistance aux  
maladies.**

**Un exemple, au niveau  
des maladies de la  
féverole, illustre cette  
complémentarité  
indissociable.**

La spécialisation des différents secteurs de la recherche agronomique se révèle être de plus en plus grande, aussi la complémentarité entre disciplines s'avère-t-elle indispensable. Dans le domaine de la sélection, le sélectionneur qui pouvait dans le temps concevoir et réaliser à lui seul un programme pour la résistance aux parasites ne peut actuellement envisager un tel objectif sans la participation active d'un pathologiste. Celui-ci apporte la réflexion spécifique à sa discipline, les notions fondamentales concernant le parasite à combattre et enfin intègre la méthode de lutte génétique aux autres méthodes de lutte.

### **OBJET ET CONTEXTE DES RECHERCHES**

Les maladies fongiques aériennes de la féverole, maladies des taches couleur chocolat et l'antracnose (provoquées respectivement par *Botrytis fabae* et *Ascochyta fabae*), constituent un facteur limitant à la production. Elles altèrent à la fois le rendement et (ou) la qualité des semences produites. Les diverses méthodes de lutte disponibles à présent (d'ordres cultural et chimique), ne permettent de réduire que partiellement leur impact.

Aussi avons-nous été sollicités en 1984 par nos collègues sélectionneurs de l'INRA (P. Berthelem, J. Leguen) pour, d'une part, obtenir des données de base concernant ces parasites et d'autre part, collaborer à leurs travaux pour la recherche de résistance de la féverole vis-

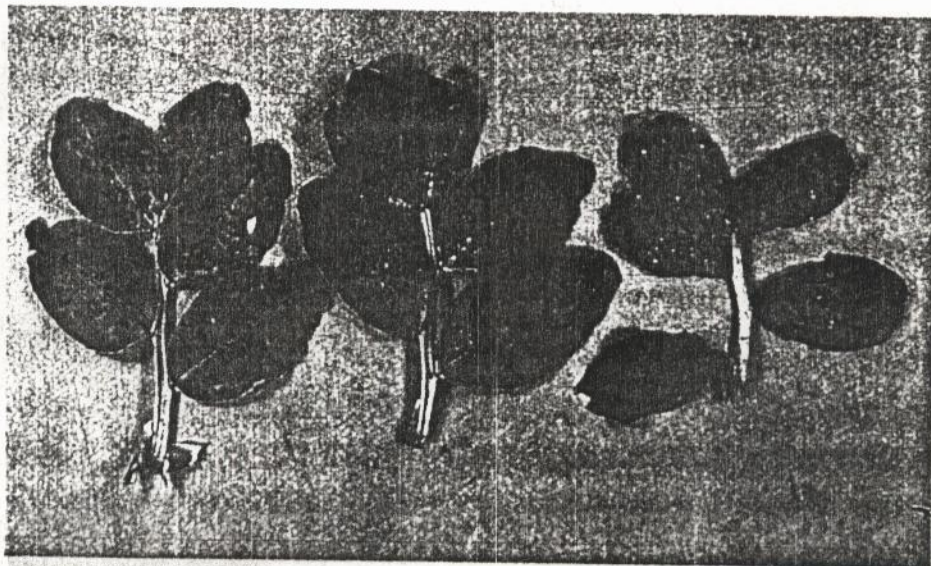
à-vis de ces parasites. Il s'agit donc pour nous de réaliser des recherches d'amont devant être ensuite valorisées dans un travail de sélection.

Ce projet repose sur la mise en place en France d'un réseau de collaborations aussi bien auprès de nos collègues français de l'INRA (J. Leguen, G. Duc, Génétique et Amélioration des plantes) ou de l'Université (J. Larher, Physiologie végétale ; J.P. Gourret, Biologie cellulaire) que de nos collègues étrangers (Angleterre, Egypte, Centre International de Recherche Agronomique pour les zones arides : ICARDA). De plus, l'intervention de l'interprofession (UNIP, ITCF) et des sélectionneurs du secteur privé (Etablissements Tourneur et Blondeau réunis en GIE) contribue à assurer partiellement le soutien du programme (au niveau du personnel et du fonctionnement).

### **LES RECHERCHES DE BASE**

Avant de concevoir une méthode de lutte contre les parasites, il est indispensable de recueillir le maximum de données sur le parasite et la maladie à combattre.

En 1984, les connaissances concernant les deux parasites et le développement des maladies n'étaient pas les mêmes. En effet, dans le cas de *B. fabae*, les données bibliographiques étaient très complètes aussi bien en ce qui concerne le parasite que ce qui conditionne l'expression de la maladie (et donc directement utilisables lors de la recherche de



***B. fabae* :**  
symptômes sur feuilles



méthodes de lutte en général et dans les études de résistance en particulier) ; à l'inverse, dans le cas d'*A. fabae*, un nombre très restreint de données étaient disponibles (quasiment inexistantes en France).

## B. FABAE

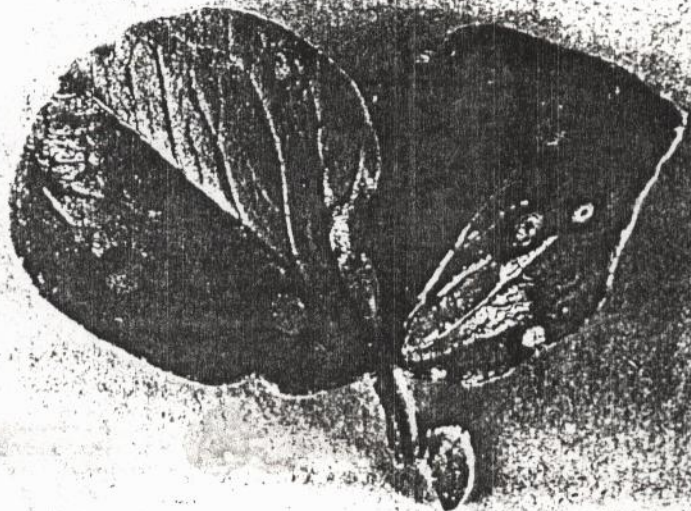
Dans le cas de *B. fabae*, rappelons simplement que nous devons combattre un parasite véhiculé par le vent, que la pénétration et l'extension des symptômes sont conditionnées par des humidités relatives supérieures à 80 % et par des températures supérieures à 15°C. La maladie se décompose en une phase

"avirulente" avec les taches couleur chocolat typiques, de très petite taille et en une phase "virulente" correspondant à l'extension des nécroses en conditions favorables entraînant la chute des feuilles. La maladie provoque la chute des feuilles (défoliation), la coulure des fleurs, éventuellement la verse des plantes consécutive à une forte attaque sur tiges. Le parasite ne se développe jamais sur les gousses. Les populations de parasites semblent, au moins sous nos climats, relativement homogènes.

## A. FABAE

Dans le cas d'*A. fabae*, devant le manque d'informations, nous avons été amené à proposer un sujet de thèse au ministère de la Recherche et de la Technologie, visant à recueillir les éléments concernant le parasite et la maladie.

L'essentiel des travaux réalisés par N. Maurin dans ce cadre là sont présentés dans le numéro de *Perspectives Agricoles* du mois d'avril 1990. Ils mettent en évidence la grande variabilité du parasite au niveau de sa pigmentation, de sa vitesse de croissance, de ses optima thermiques, de sa fructification, mais aussi de son agressivité, voire de sa virulence. De plus, il est montré que les différences de comportement de la féverole en fonction de la sensibilité des lignées se traduisent par des évolutions différentes de la maladie au champ et des types de symptômes variables. De plus, devant les variations très importantes de comportement variétal, N. Maurin, en collaboration avec l'équipe



En haut : spores de *B. fabae*

En bas : *A. fabae*  
symptômes sur feuilles et pycnide en coupe dans une feuille.



d'amélioration des Plantes de l'INRA de Rennes, a réalisé un dispositif dialléle dont l'analyse a pu guider le choix des méthodes de sélection. Les résultats du dialléle ont notamment montré la prédominance des effets additifs dans l'expression de la variabilité génétique pour la résistance à *A. fabae*.

Ces travaux servent de base à une meilleure gestion des différentes méthodes de lutte, qu'elles soient d'ordre cultural, chimique ou génétique. Dans le dernier cas, c'est à partir de cette étape que se réalise la connexion entre les équipes de pathologie végétale et d'amélioration des plantes.

## CONCEPTION ET PROPOSITION D'UN TEST D'APPRECIATION DU COMPORTEMENT VARIETAL

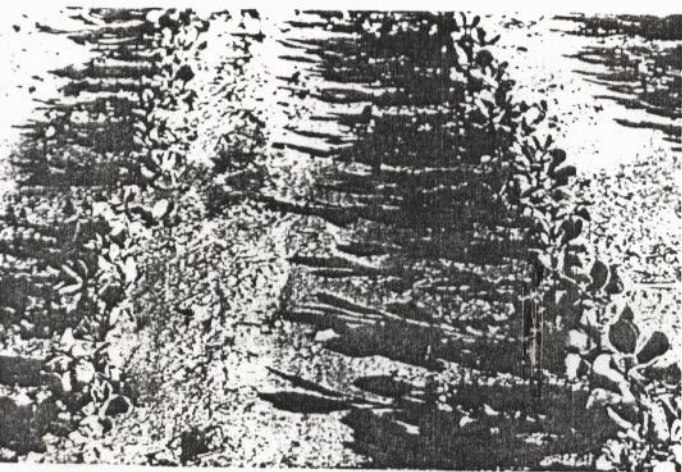
Ce chapitre constitue la contribution la plus directe du pathologiste à un programme de sélection. Son objectif consiste à concevoir la démarche à suivre et à réaliser les études permettant d'introduire de façon cohérente les résultats précédents dans un programme de sélection. Les questions posées sont de trois ordres :

- la variabilité de la plante vis-à-vis du parasite existe-t-elle et est-elle exploitable ?
- comment la mesurer ?
- quelle méthodologie suivre pour apprécier le plus rationnellement possible le comportement variétal ?

### MISE EN ÉVIDENCE DE LA VARIABILITÉ DE LA FÉVEROLE AU NIVEAU DE SON COMPORTEMENT VIS-A-VIS DES PARASITES

Ce point est extrêmement important puisqu'il détermine la suite du travail : aussi bien la mise au point du test d'appréciation du comportement variétal que le travail de sélection lui-même.

Dans le cas d'*A. fabae* (figure 1), il existe une grande variabilité de la plante vis-à-vis du parasite : il a été rapidement trouvé une lignée hautement résistante dans du matériel français : la lignée 29 H (lignée INRA : P. Berthelem). Cette lignée présente la particularité d'être quasiment immune à *A. fabae* (réaction à l'infection par des symptômes "points rouille" de type hypersensibilité). Dans de rares cas, le parasite provoque des symptômes, mais ceux-ci sont très limités et n'évoluent pas.



Résistance d'*A. fabae* : comportement de la lignée 29H (à droite) au champ.

En ce qui concerne *B. fabae* (figure 2),

Figure 1 : Comportement de 22 lignées de féverole vis-à-vis d'*A. fabae*

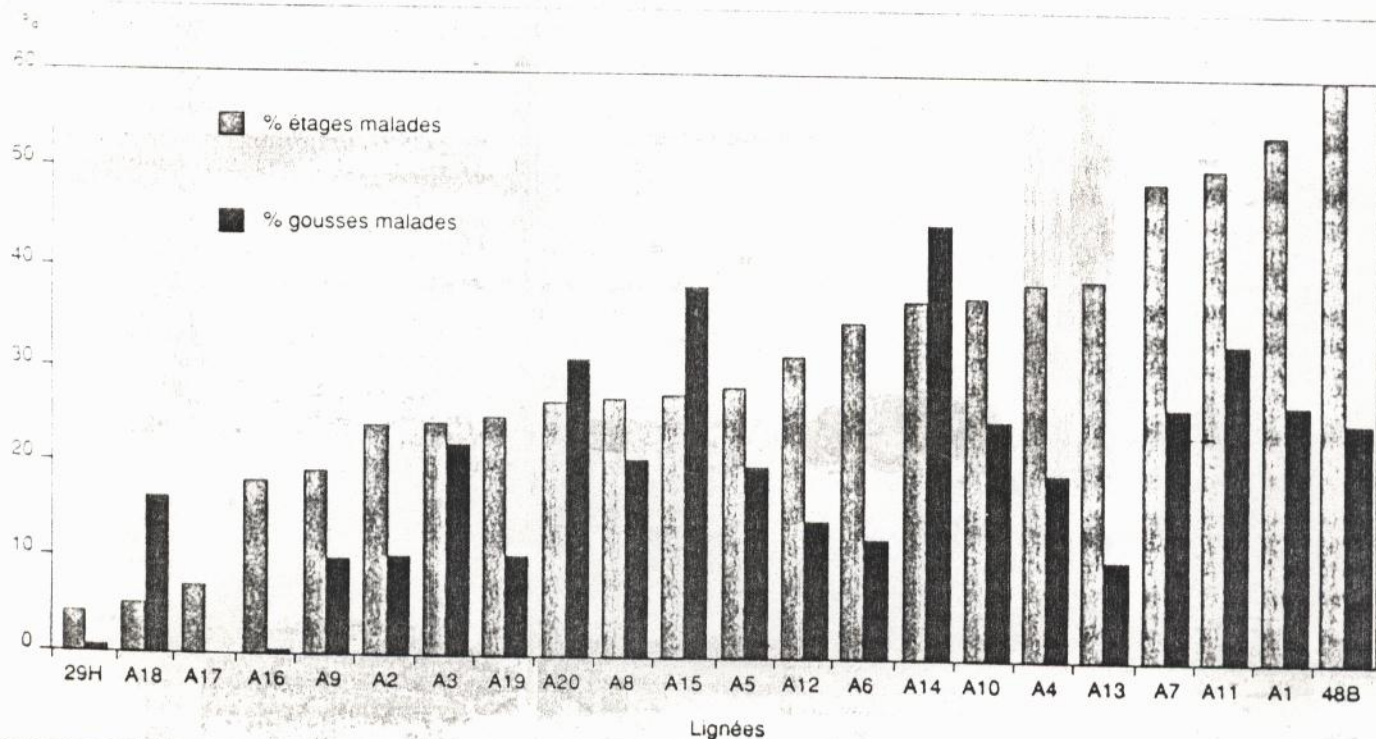
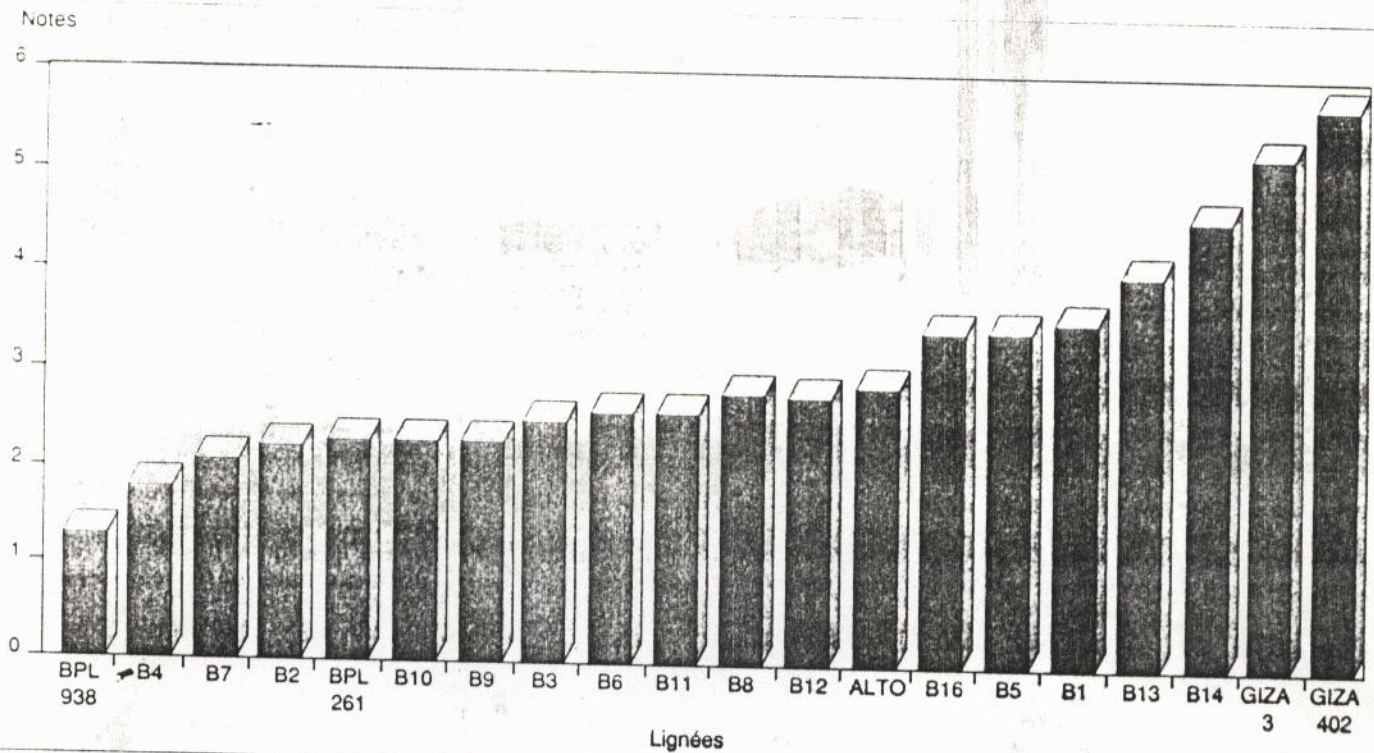




Figure 2 : Comportement de 20 lignées de féverole vis-à-vis de *B. fabae*



la variabilité de la plante est beaucoup plus limitée. Pendant près de deux années, nous avons réalisé un criblage dans du matériel aussi diversifié que possible sans trouver le moindre génotype présentant un bon comportement (et ce, parmi une collection mondiale de 500 génotypes). En 1985, nous avons pu nous procurer, dans le cadre d'un projet de coopération scientifique avec l'Égypte, un des rares géniteurs de résistance à *B. fabae* disponible dans le monde pour améliorer le niveau de résistance de la féverole : la lignée BPL 938 originaire de l'Équateur. Elle présente une réaction de tolérance : le parasite s'installe mais ne progresse ensuite sur la plante que de façon extrêmement limitée. Le niveau de résistance est sans commune mesure avec le comportement du matériel français déjà cultivé.

La variabilité observée au niveau du



En haut : résistance d'*A. fabae* : symptôme " point de rouille" sur la lignée 29H.

En bas : résistance à *B. fabae* : comportement du géniteur de résistance au champ (lignée BPL 938, à gauche) comparé à la variété sensible Giza 402 (à droite)



comportement de la plante vis-à-vis de chaque parasite permet d'envisager la suite du programme car nous disposons d'une part, de témoins de "comportement" pour la suite des travaux de pathologie (hauts niveaux de sensibilité et de résistance) et, d'autre part, de géniteurs de résistance utilisables par les sélectionneurs.

### DETERMINATION DES CRITERES D'APPRECIATION DU COMPORTEMENT VARIÉTAL

Ce point est essentiel car la prise en compte d'un mauvais critère d'appréciation du comportement variétal ou d'un critère incomplet conduirait à retenir des plantes sensibles jugées "résistantes" ou à éliminer des plantes résistantes jugées "sensibles" entraînant ainsi l'échec de la suite du programme.

Nous n'entrerons pas dans le détail des différentes phases de cette étape. Les questions auxquelles nous avons eu à répondre se situent à trois niveaux :

- au niveau de la maladie en précisant à quelle phase de la maladie doit être apprécié le comportement variétal : pendant l'installation du parasite (temps d'incubation), pendant l'extension des symptômes sur un organe déterminé, pendant la progression du parasite sur la plante, ou encore pendant sa fructification ;

- au niveau de la plante, en précisant à quel stade physiologique de la plante, la discrimination entre les différents génotypes est la meilleure : au stade jeune plante, lors de la floraison ou pendant la formation des gousses ;

- au niveau de la mesure elle-même. Il s'agit de retenir le (ou les) critère(s) d'appréciation du comportement variétal rendant compte au mieux de cette différenciation variétale. S'agit-il d'un critère de type qualitatif (tel que le type de symptôme) ou quantitatif (tel qu'une mesure d'extension des symptômes sur un organe, un pourcentage d'organes atteints, une intensité de maladie, ou encore une évaluation de la fructification du parasite...).

Vis-à-vis des deux parasites, l'intensité de la maladie sur jeune plante ou plante âgée, est retenue comme rendant compte au mieux des différences de comportement variétal : elle s'apprécie par des notes de maladie ou par un pourcentage d'étages foliaires et (ou) fructifères malades.

### MISE AU POINT D'UN TEST MINIATURISÉ D'APPRECIATION DU COMPORTEMENT VARIÉTAL

La mise au point d'un test d'appréciation du comportement variétal en conditions contrôlées est un élément prépondérant puisque la réussite d'un tel pro-

gramme dépend des qualités de la méthode employée. Ce test doit avoir des qualités à deux niveaux :

- au niveau de sa valeur intrinsèque :
  - il doit être parfaitement corrélé avec le classement variétal obtenu au champ (celui-ci étant la référence permanente),
  - il doit être reproductible : la méthodologie mise en oeuvre doit permettre le même classement d'un test à l'autre,
  - il doit être fiable : les méthodologies non fiables, en raison de l'hétérogénéité non contrôlées des réponses (écarts-types importants, c.v. élevés), sont à écarter.
- au niveau de sa réalisation :
  - il doit être rapide afin de cribler le plus de plantes possible,
  - il doit être peu encombrant : la miniaturisation du test permet également d'augmenter la quantité de plantes, dans un espace réduit,
  - il doit être non destructible : les plantes présentant un bon comportement doivent pouvoir être autofécondées,
  - il doit être simple : il est conçu pour être utilisé en routine et la simplicité est de rigueur pour sa mise en place, l'inoculation et les notations.

Actuellement, quatre types de méthodologie ont été mis au point. Compte tenu des qualités ci-dessus, l'évaluation de

Tableau 1 : Caractéristiques des différentes méthodologies disponibles pour l'appréciation du comportement de la féverole vis-à-vis de *B. fabae* et d'*A. fabae*

	Champ	Serre		Phytotron		Laboratoire * feuilles détachées
Inoculation						
Type	grains d'orge			suspension de spores		
Méthode	épandage au sol	pulvérisation		pulvérisation		dépôt de gouttes
Qualité de la méthode						
Reproductibilité	oui	oui		oui		oui ?
Fiaibilité	oui (mais aléatoire)	oui		oui		peu
Rapidité :						
- préparation des plantes	la période de culture	<i>A. fabae</i> 5 semaines	<i>B. fabae</i> 10 semaines	4-6 semaines		dépend du stade : 4 à 12 semaines
- temps entre l'inoculation et la notation	variable	10-15 jours	5-7 jours	<i>A. fabae</i> 10-15 jours	<i>B. fabae</i> 48 heures	24 heures
Encombrement pour 100 plantes	4 m <sup>2</sup>	1 m <sup>2</sup>		0,5 m <sup>2</sup>		0,2 m <sup>2</sup>
Destructibilité	non	non		non		peu
Facilité de réalisation	oui	oui		oui		oui (mais notation "lourde")

\* la méthodologie au laboratoire sur organes maintenus en survie n'est valable que pour *B. fabae*



ces tests est réalisée dans le *tableau 1*.

### Au champ

Le test au champ est réalisé en infestant les parcelles par un inoculum simulant une inoculation naturelle de type "résidus de récolte". L'inoculum est constitué d'un support organique (grains d'orge humidifiés, autoclavés) colonisé par le parasite (*B. fabae* ou *A. fabae*). Lorsque les plantes ont deux feuilles, l'inoculum est épandu à la surface des parcelles. Quand les conditions sont favorables, l'inoculum sporule et contamine les plantes. Bien que "lourd" d'utilisation (une seule culture par an) et aléatoire (dépendant des conditions climatiques), ce test sert de référence et est utilisé en 3<sup>ème</sup> ou 4<sup>ème</sup> année de sélection (en particulier dans le cas de *B. fabae* afin de vérifier les premiers criblages).

### En serre

La technique consiste en une pulvérisation de spores sur les plantes qui sont ensuite recouvertes d'un film de polyéthylène afin de conserver un niveau important d'hygrométrie.

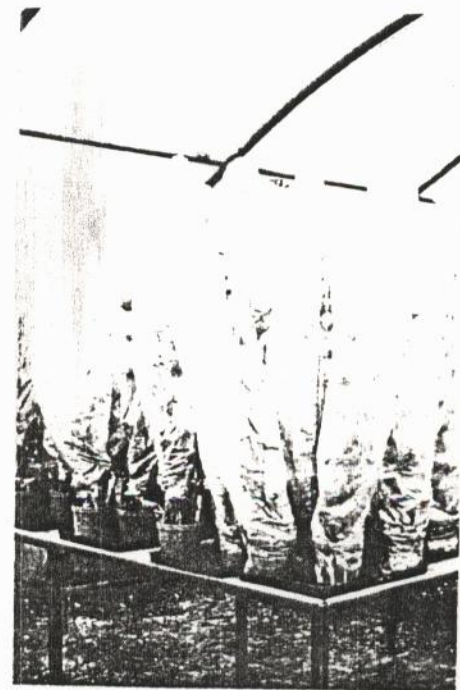
Si pour *A. fabae*, ce test peut se réaliser sur de jeunes plantules (classement identique à celui du champ), pour *B. fabae*, il est réalisé sur des plantes au stade préfloraison (stade qui permet la meilleure expression du comportement variétal). Ce test, de durée assez longue, a été utilisé (recherche de géniteurs), jusqu'à la conception d'une nouvelle méthode moins exigeante en temps.

### En enceinte phytotronique sur jeunes plantes

La miniaturisation du test a nécessité de nombreuses expérimentations avant son application en routine.

Après 3 à 4 semaines de vernalisation à 4-5 °C, les plantes sont soumises à une inoculation par pulvérisation d'une suspension de spores. Après incubation à des thermopériodes de 10 °C pour *A. fabae* ou 5-18 °C pour *B. fabae*, les notations sont réalisées.

Compte tenu de ses nombreux avantages et de sa bonne corrélation avec le comportement au champ (*figure 3*), ce test est effectué durant les premières années de sélection pour la résistance ; il permet un criblage plante-à-plante et une "récupération" rapide des plantes résistantes (sans pour autant détruire le matériel testé).



### Criblage en serre vis-à-vis de *B. fabae* :

- en haut, à gauche : inoculation
- en haut, à droite : incubation
- en bas : notations.

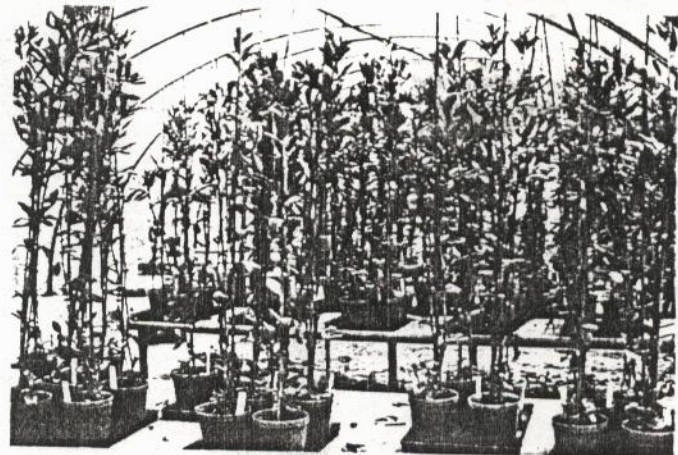
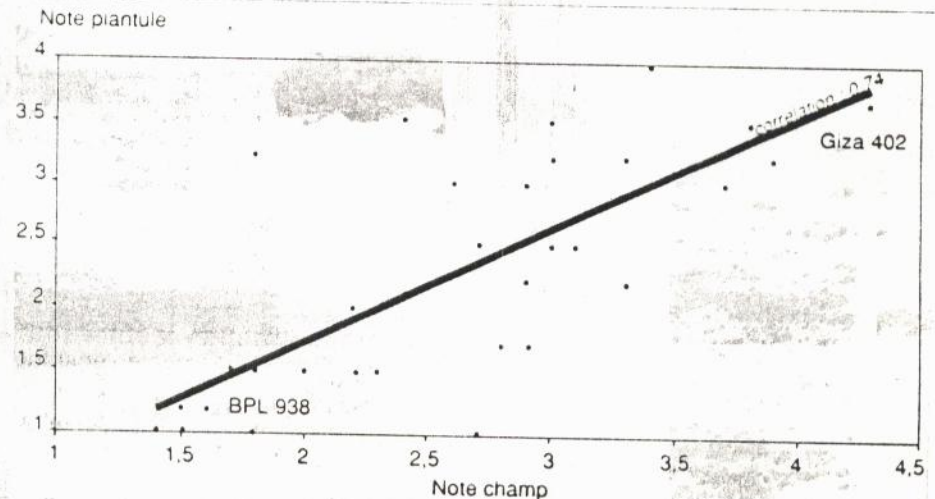


Figure 3 : Résistance au botrytis : corrélation entre le comportement sur plantules et le comportement au champ





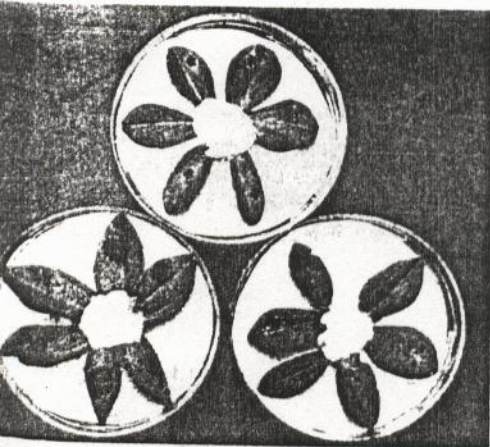
### Au laboratoire

Ce test, mis au point seulement pour *B. fabae*, permet d'inoculer à l'aide de microgouttes de suspension de spores des feuilles détachées maintenues en survie (6 folioles par géotypes). Dès 12 heures après l'inoculation, le dénombrement des symptômes primaires (apparition de la maladie) puis l'appréciation de l'extension des symptômes pendant les 8 jours suivants permettent un classement variétal correct (figure 4). Cette méthodologie présente actuellement l'inconvénient majeur d'être moyennement fiable : il existe en effet des sources d'hétérogénéité non contrôlées.

### VERS LES ETAPES DE SELECTION

L'excellente collaboration que nous avons avec nos collègues sélectionneurs, tant du secteur public que privé, a permis d'obtenir rapidement des résultats utilisables dans un programme d'amélioration de la féverole.

À partir de ces géniteurs de résistance, des croisements sont réalisés par nos collègues sélectionneurs (principalement J. Leguen et son équipe) et nous réintervenons ensuite, à titre de conseiller pour cribler le matériel. La méthodologie en enceinte phytotronique permet actuellement de passer 6 000 plantes par an en F2 ou F3. Après l'épreuve, les plantes résistantes sont repiquées et autofécondées.

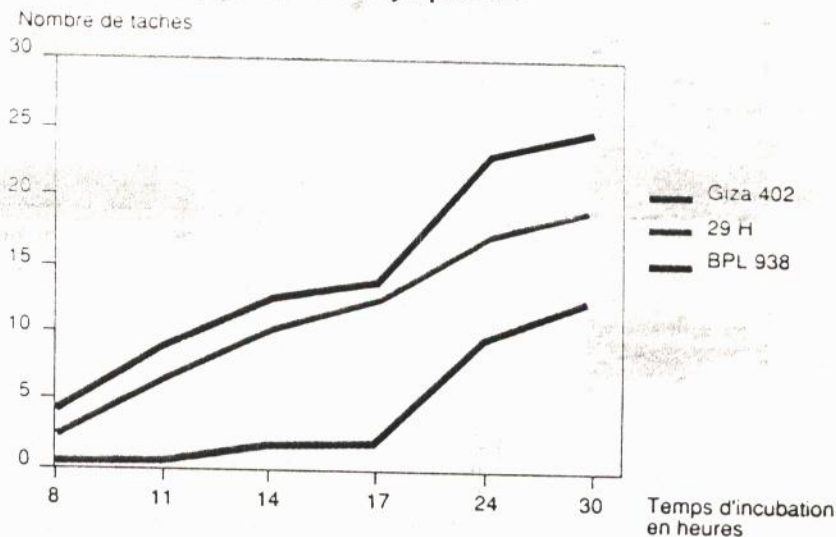


Criblage sur feuilles maintenues en survie au laboratoire, vis-à-vis de *B. fabae* :

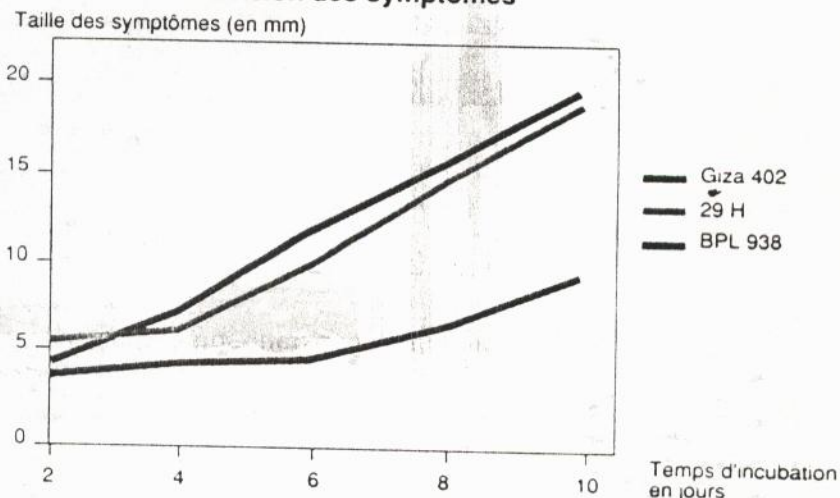
- en haut, lignée 29 H
- en bas à gauche : variété sensible Giza 402
- en bas à droite : lignée résistante BPL

Figure 4 : Test de comportement vis-à-vis de *B. fabae* sur des feuilles maintenues en survie au laboratoire

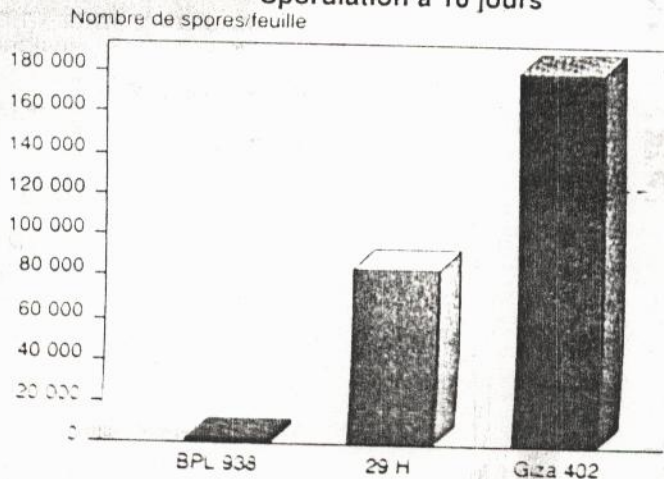
### Apparition des symptômes



### Extension des symptômes



### Sporulation à 10 jours





## VERS UNE SYMBIOSE PATHOLOGISTE - SELECTIONNEUR

L'ensemble de ces travaux nous permet de dégager l'indissociable complémentarité du pathologiste et du sélectionneur dans un programme de création variétale pour la résistance aux parasites (figure 5).

Ce programme répond à la préoccupation et à l'attente des deux partenaires ayant chacun des objectifs différents :

- l'oeil du sélectionneur fixe la plante ; le sélectionneur souhaite aboutir à une résistance efficace : il connaît la plante et ses potentialités mais pas les stratégies parasitaires ;
- l'oeil du pathologiste est tourné vers le parasite : le pathologiste se demande comment aborder la variabilité végétale (qu'il ne connaît pas) à la lumière des données recueillies sur le parasite et la maladie.

Face à un problème parasitaire donné, le pathologiste obtient les données de base concernant le parasite et la maladie, ce qui lui permet d'envisager un ensemble de méthodes de lutte dont la lutte génétique.

Pour mener à bien un tel objectif, une démarche spécifique mais complémentaire s'avère indispensable :

- le sélectionneur apporte tout ce qui concerne la plante, sa variabilité et les gènes de résistance ;
- le pathologiste recherche la variabilité pour la résistance, apporte la méthodologie d'appréciation du comportement variétal (tant au niveau des critères d'appréciation, que de la mise au point du test).

Ces deux démarches spécifiques permettent d'aboutir à l'obtention d'outils de sélection.

Les variétés résistantes sont ensuite "créées" selon un schéma de sélection préétabli à partir, entre autres, des résultats obtenus sur l'héritabilité de la résistance. Pendant le long travail de sélection, le sélectionneur doit non seulement introduire les gènes de résistance mais également les autres caractères agronomiques indispensables à la réussite de la culture. Lors de cette étape, le pathologiste contrôle régulièrement la stabilité de la résistance et les populations de parasite. Parallèlement, les études sur les mécanismes de la résistance sont réalisées.

L'ensemble de cette démarche ne peut être opérationnelle, efficace et crédible que si la collaboration pathologiste - sélectionneur se joue au quotidien (comme cela est le cas dans ce programme). Elle est la conséquence d'une symbiose ré-

ussie (échange à bénéfice réciproque). Pour le pathologiste, l'ensemble de ce matériel résistant constitue pour lui un modèle d'étude dans lequel résident les fondements de la pathologie de la résistance. ■

Figure 5 : Apports du pathologiste dans un programme de sélection pour la résistance

