# Exploration de la diversité génétique des chicorées endives, frisées, scaroles, en vue de la sélection de résistance à *Phytophthora cryptogea* et *Sclerotinia sclerotiorum*

**Cassan L.[1], Benigni M.[1], Desplanches C.[2], Serrano H.[3], Leignez S.[1], Coquin P.[4], Tommasi S.[5], Saindrenan P.[6]**

[1] APEF - Association des Producteurs d'endives de France, F-62000 Arras

[2] Enza zaden, F-49650 Allonnes

[3] Rijk Zwaan, F-30390 Aramon

[4] Groupement d'Evaluation des Variétés et des Semences (GEVES), F-49250 Brion

[5] Gautier semences, F-13360 Eyragues

[6] Conseiller scientifique, ancien directeur du Laboratoire de Physiopathologie Moléculaire Végétale du CNRS, Institut des Sciences des Plantes de Paris-Saclay, Université Paris Sud

**Correspondance :** laurent.cassan@endive.fr ; marc.benigni@endive.fr

## Résumé

Ce projet avait pour objectif la recherche de résistances génétiques, d'une part à *Sclerotinia sclerotiorum*, agent pathogène extrêmement polyphage chez les salades frisées, scaroles (*Cichorium endivia*) et endive (*Cichorium intybus*), et d'autre part aux souches les plus agressives (Pag3) de l'oomycète *Phytophthora cryptogea*, spécifiquement chez l'endive. Pour y parvenir, nous avons exploré la diversité des ressources génétiques (RG) des 2 espèces de chicorées par l'évaluation à un stade précoce, de la sensibilité/tolérance sur plantules vis-à-vis des 2 agents pathogènes en condition de laboratoire, et l'application d'un protocole fiable d'évaluation de la sensibilité/tolérance sur plantes à maturité. En premier lieu, le test de sensibilité/tolérance établi à l'encontre de *S. sclerotiorum* sur plantule, a permis de cribler du matériel végétal en amont des tests au champ dont le protocole a été précisé. Des accessions, identifiées comme sensibles ou tolérantes, ont montré un comportement stable dans les essais au champ et en laboratoire. Elles peuvent maintenant être utilisées comme témoins d'évaluation d'autres RG. En second lieu, le test de sensibilité à *P. cryptogea* Pag3 sur plantules a montré une trop grande variabilité et doit être conforté. Au sein des RG de *C. intybus*, des résistances partielles ont été observées sur plantes à maturité chez tous les types, et notamment chez d'anciennes accessions d'endives qu'il conviendrait de ré-exploiter. A terme, au-delà des protocoles et outils mis au point, ces travaux contribueront à une meilleure connaissance de la structuration des RG de chicorées et permettront un élargissement de la base génétique des variétés cultivées.

**Mots-clés** : *Cichorium endivia*, *C. intybus*, *Phytophthora cryptogea* Pag3, *Sclerotinia sclerotiorum*, Ressources génétiques, Résistance.

## Abstract: Exploration of genetic diversity of witloof chicory, smooth endive and curly endive for the selection of tolerances for *Phytophthora cryptogea* and *Sclerotinia sclerotiorum*

This project aimed at the search for genetic resistance, firstly towards *Sclerotinia sclerotiorum*, an extremely polyphagous pathogen, in the leafy salads group (*Cichorium endivia*) and in witloof (*Cichorium intybus*), and secondly to the most aggressive strains (Pag3) of the oomycete *Phytophthora cryptogea* specifically in witloof. To achieve this, the diversity of genetic resources (GR) of the two species of chicory was explored through early assessment of seedling susceptibility to both pathogens in laboratory conditions, and application of a reliable sensitivity assessment protocol for mature plants. In the first place, the test of sensitivity/tolerance against *S. sclerotiorum* established on seedlings, made it possible to

screen plant material upstream of the field tests whose protocol was specified. Accessions, identified as sensitive or tolerant, showed stable behavior in field and laboratory tests. They may now be used as evaluation references for other GRs. Secondly, the susceptibility test towards *P. cryptogea* Pag3 showed too much variation on seedlings and must be reinforced. Within the RGs of *C. intybus*, partial resistance exists in all types, and particularly in ancient witloof accessions that should be re-evaluated. In the long term, beyond the protocols and tools developed, this work will contribute to a better knowledge of the structure of chicory RGs and will make it possible to broaden the genetic basis of cultivated varieties

**Keywords**: *Cichorium endivia*, *C. intybus*, *Phytophthora cryptogea* Pag3, *Sclerotinia sclerotiorum*, Genetic resources, Resistance.

## Introduction

Le genre *Cichorium* regroupe les deux principales espèces de chicorées cultivées depuis l'antiquité (*C. intybus* et *C. endivia*). Il se caractérise par une diversité des produits obtenus : production maraichère des salades frisées et scaroles chez *C. endivia*, forçage des racines d'endives tubérisées donnant un chicon (bourgeon étiolé comestible), torréfaction de la racine de chicorée à café ou extraction de ses sucres (fructose, inuline) chez *C. intybus*. Sur ces marchés de consommation, la France présente des positions fortes avec la place de premiers producteur et sélectionneur mondiaux d'endives, premiers producteur et sélectionneur européens de chicorées à café, second producteur européen de frisées, scaroles et de chicorées à feuilles derrière l'Italie, mais premier sélectionneur. De plus, elle héberge la première collection européenne de RG de chicorées avec près de 2 000 accessions conservées au GEVES de Brion (49). Ce « réservoir » génétique a fait l'objet de différents travaux de criblage pour rechercher des sources de résistances aux agents pathogènes. Des résistances qualitatives à la rouille (*Puccinia cichorii*), des résistances partielles à *Alternaria* sp., à *Thielaviopsis basicola*, à *Pectobacterium* sp. ou à l'oomycète *Phytophthora cryptogea* ont été mises en évidence (Cadot *et al*., 2003).

Pour ce dernier, différentes souches présentant des niveaux d'agressivité faible (Pag1), moyenne (Pag2) et forte (Pag3) ont été identifiées et caractérisées par des marqueurs moléculaires (Biotransfer/APEF, 2010). A l'opposé, aucune résistance partielle n'a réellement été observée jusqu'à présent contre *Sclerotinia sclerotiorum*, un champignon extrêmement polyphage. Ces agents pathogènes sont ainsi à l'origine de nombreux dégâts sur les cultures de chicorées et seules des réponses chimiques sont disponibles à ce jour (fludioxonil contre *Sclerotinia*, fosétyl-aluminium, méfénoxam et azoxystrobine contre *Phytophthora*).

Sur l'endive, ces deux agents pathogènes peuvent provoquer des dégâts pendant la phase de production au champ des racines et la phase suivante de croissance du bourgeon par forçage à l'obscurité. Si les dégâts au champ sont relativement limités, un déclenchement des maladies au forçage peut entrainer des pertes avoisinant 60% de la production de chicons, suite à l'infection de nouvelles racines par contact pour *Sclerotinia*, ou via le transport de propagules infectieuses dans la solution nutritive pour *Phytophthora*. De ce fait, les traitements préventifs sont systématiques avant la conservation des racines et avant le forçage, mais les risques d'apparition de souches résistantes aux fongicides (azoxystrobine et surtout méfénoxam) ont été montrés concernant les types Pag1 et Pag2 (Benigni et Bompeix, 2006). Cependant, des travaux complémentaires menés par l'APEF ont révélé de la variabilité génétique au sein des variétés contemporaines pour la sensibilité à ces souches actuellement majoritaires en culture, mais aucune variabilité génétique à l'encontre des souches Pag3. Cette question est l'un des enjeux majeurs de ce projet. Concernant *S. sclerotiorum*, aucune tolérance variétale évidente n'a pu être observée (Benigni et Bompeix, 2010). Des études préliminaires sur des *C. intybus* italiennes à feuilles (var. *foliosum*) ont toutefois montré des résultats encourageants contre *P. cryptogea* Pag3 (Cassan *et al*., 2010) et *S. sclerotiorum*.

Sur les frisées et scaroles (*C. endivia* var. *crispum* et *C. endivia* var. *latifolia*), la pression parasitaire due à *P. cryptogea* n'est pas jugée significative contrairement à celle due à *S. sclerotiorum*, très forte, notamment en conditions climatiques humides. Malgré des stratégies de luttes chimique, biologique (mycoparasites, champignons compétiteurs du sol) ou prophylactique (morphologie des plantes limitant la prolifération de *S. sclerotiorum* sous les feuilles), des dégâts parfois sévères fragilisent la filière de la 4ème gamme, principal débouché commercial de ces cultures. L'essentiel de la recherche pour lutter contre *S. sclerotiorum* se concentre aujourd'hui sur des espèces largement cultivées comme la laitue (Hayes *et al.*, 2010), le colza ou le tournesol (Vear et Muller, 2011). Nos travaux visent donc à rechercher une résistance génétique à *S. sclerotiorum* chez *C. endivia*, dans des variétés anciennes ou des types distincts des frisées et scaroles.

Le projet a consisté en une évaluation des RG sur plantes à maturité d'une part et la mise au point de test d'évaluation précoce de la sensibilité sur plantules d'autre part.

## 1. Recherche de résistance à *Phytophthora cryptogea (souche* Pag3) chez *C. intybus*

### *1.1 Evaluation des RG*

L'évaluation des RG a été réalisée au cours des deux premières années du projet avec pour objectif d'explorer, en fonction des moyens disponibles, la diversité de la collection nationale. La 3ème année du projet a été consacrée à confirmer le comportement des accessions d'intérêt identifiées précédemment.

#### 1.1.1 Choix du matériel végétal

Sur 923 accessions *de C. intybus* que compte cette collection, 177 ont été évaluées en années 1 et 2. En 3ème année, 41 accessions ont été réévaluées, choisies préférentiellement parmi celles présentant un pourcentage de racines nécrosées significativement inférieur aux témoins (cf. § c). La répartition des accessions dans les différents types référencés par le GEVES est présentée dans le Tableau 1. L'endive étant particulièrement sensible à ce pseudo-champignon, cette chicorée a été privilégiée puisqu'elle représente 57% des accessions testées, mais seulement 29% du total des accessions de ce type dans la collection nationale. De la même façon, les types apparentés, chicorées de Magdebourg et industrielles, ont été notablement plus explorés que les types « à feuilles ».

Ces accessions ont été comparées à 4 références dont 3 hybrides actuellement cultivés par les producteurs, Atlas (Hoquet), Jocker (Hoquet), Vintor (Nunhems/Hoquet) ; et AX (INRA/Ctifl) une lignée parentale d'anciennes variétés cultivées.

**Tableau 1 :** Nombre d'accessions de chicorées par type dans la collection nationale et nombre d'accessions évaluées à l'encontre de *P. cryptogea* Pag3 au cours du projet.

| Type de chicorées | | Collection nationale | Année 1 ou 2 | Année 3 |
|---|---|---|---|---|
| Sauvages | | 144 | 21 | 7 |
| A feuilles | Italiennes : Catalogne, Chioggia, Trévise, Vérone | 246 | 20 | 5 |
| | Autres, à couper, amères, pain de sucre, indéterminées | 124 | 5 | 2 |
| A racines | Fourragères | 4 | 3 | 2 |
| | Industrielles | 49 | 25 | 3 |
| | De Magdebourg | 1 | 1 | 0 |
| Endives | « Sans terre de couverture » | 182 | 41 | 12 |
| | « Avec terre de couverture » | 123 | 45 | 7 |
| | Indéterminées | 50 | 16 | 3 |
| | Total | 923 | 177 | 41 |

### 1.1.2 Méthodes d'évaluation de la sensibilité

- **Culture**

Les plantes ont été cultivées au champ (semis de mi-mai, arrachages de novembre), stockées à 0°C jusqu'en janvier-février, puis disposées dans des bacs empilés à l'obscurité, dans une salle de forçage climatisée à 20°C après avoir été contaminées expérimentalement. La base des racines trempe dans une solution nutritive recyclée qui circule de bac en bac.

- **Modes de contaminations**

En années 1 et 2, les 177 accessions ont été évaluées après contamination dite « à haut débit ». Cette méthode éprouvée est utilisée depuis une quinzaine d'années à la station expérimentale de l'APEF pour l'évaluation des nouveaux hybrides proposés en production. Elle consiste à répartir deux moitiés de racines (coupées longitudinalement) totalement infectées au sein des lots de 15 racines de chaque accession, y compris les références. Au total, environ 60 plantes (4 répétitions de 15 racines) ont été contaminées par accession.

En 3ème année, les 41 accessions ont pour la plupart été réévaluées par la méthode de contamination à haut débit d'une part (3 répétitions de 15 plantes) et par la méthode dite « invasive » d'autre part (15 plantes). Celle-ci consiste à insérer un implant mycélien de 5 mm de diamètre et 3-4 mm de profondeur, prélevé sur une culture pure de *P. cryptogea* Pag3 en boîte de Petri sur milieu cristomalt, à la place d'un explant de racine prélevé en surface. L'intérêt de cette méthode est de soumettre chaque plante à la même pression d'inoculum.

- **Les souches Pag3**

Les souches utilisées pour cette étude, codées BTM et MFA, sont issues de la mycothèque de l'APEF et sont utilisées comme référence pour l'ensemble des tests de sensibilité du matériel végétal vis-à-vis des souches Pag3. La souche MFA est cependant une des plus agressives de toutes les souches (environ 150) actuellement en collection au laboratoire.

- **Notations et classes de sensibilité**

Les racines ont été coupées longitudinalement et classées (Figure 1) en fonction de la surface nécrosée en 6 catégories de degré d'infection (0= nul, 1= très faible < 10 %, 2 = faible < 25 %, 3 = moyen < 50 %, 4= fort < 75 %, 5 = très fort > 75 %). Les notations sur l'ensemble des accessions ont été faites dès que l'infection recouvrait 100% de la surface d'au moins une référence, soit après 15 à 21 jours de forçage selon les essais. Au total, environ 25 000 racines ont fait l'objet d'une évaluation de leur sensibilité.

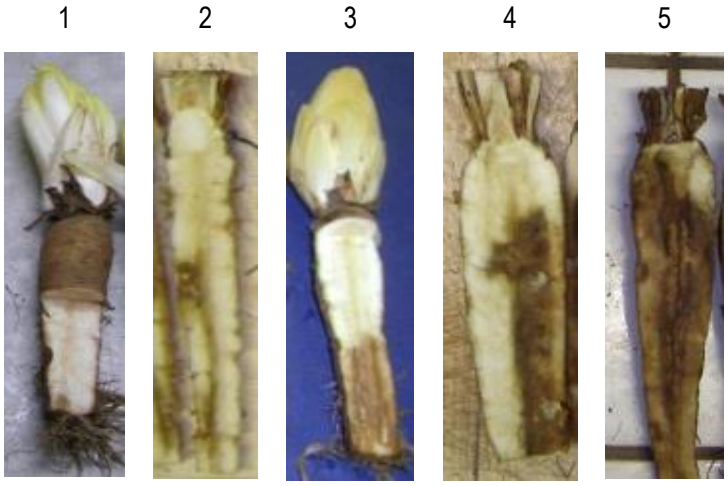



**Figure 1 :** Echelle de notations des symptômes de *P. cryptogea* sur racine.

### 1.1.3 Analyses statistiques

Les résultats moyens et les intervalles de confiance à 95 % des différents types et culti-groupes de chicorées ont été calculés. Les résultats individuels des accessions ont été comparés par une analyse de variance et un test de Neuwman-Keuls au seuil de 5% avec le logiciel StatBoxPro© selon un dispositif split-plot à 2 facteurs Souche x Accession avec le facteur « Souche » en sous bloc.

### 1.1.4 Résultats

- **Criblage de la collection nationale en années 1 et 2**

Les résultats obtenus montrent clairement que la variabilité génétique existe au sein de tous les types de chicorées *intybus* concernant la résistance aux souches les plus agressives de *P. cryptogea* (Figure 2).

Les variétés d'endives actuellement cultivées, utilisées comme témoins dans cette étude, sont les plus sensibles alors que les types à feuilles, italiennes et sauvages sont au contraire les plus résistantes. Au sein du type racine, les chicorées fourragères présentent un bon niveau de résistance aux 2 souches alors que les chicorées industrielles ne paraissent résister qu'à la souche BTM.

Ce différentiel d'agressivité entre les 2 souches BTM et MFA, globalement très marqué chez les types à racines, à feuilles, italiennes et sauvages, parait plus élevé chez les anciennes accessions d'endives par rapport aux cultivars actuels, et particulièrement chez le type « Avec terre de couverture » qui était utilisé à l'origine pour les forçages en couche traditionnelle.

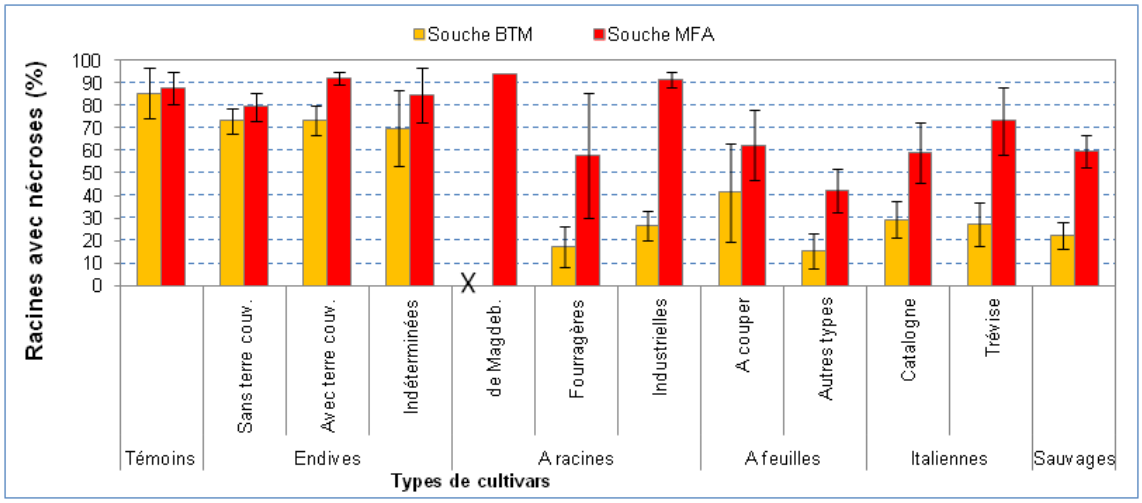



**Figure 2 :** Pourcentages moyens (+/- intervalles de confiance à 95%) de racines à nécroses à *P. cryptogea* en fonction du type des 177 accessions de *C. intybus* évaluées en années 1 et 2 du projet. (NB : pas de résultat pour la chicorée de Magdebourg avec la souche BTM).

Le criblage de ces 177 accessions a conduit à réévaluer 41 accessions d'intérêt au regard de ces résultats, soit 23% de l'effectif retenu au départ du projet.

- **Réévaluation des accessions d'intérêt en 3ème année**

Les résultats des deux premières années sont globalement confirmés. Les cultivars d'endives de référence demeurent les génotypes les plus sensibles de tous, sans que la différence d'agressivité des souches n'apparaisse de manière significative (Tableau 2).

Les 19 accessions sauvages, à feuilles, et à racines, montrent un pourcentage de racines nécrosées (37% avec BTM, 41% avec MFA) significativement inférieur à la moyenne des références (81% avec BTM et 90% avec MFA). Concernant le type endive, 77% et 45% des accessions réévaluées se montrent significativement moins sensibles que la moyenne des références respectivement à la souche BTM et MFA, avec 41% et 33% de racines nécrosées en moyenne (résultats non montrés).

**Tableau 2 :** Pourcentages mini/maxi/moyens de racines nécrosées par type d'accessions et nombre d'accessions significativement moins sensibles que la moyenne des témoins (N Acc<T) en fonction de la souche de *P. cryptogea*.

| Types d'accessions réévaluées (nombre) | Pourcentages de racines nécrosées | | | | | | N Acc<T | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | mini | | Maxi | | Moyens | | | |
| | BTM | MFA | BTM | MFA | BTM | MFA | BTM | MFA |
| Témoins (4) | 74 | 77 | 92 | 100 | 80 | 91 | - | - |
| Sauvages (7) | 0 | 11 | 50 | 78 | 23 | 39 | 7 | 7 |
| A feuilles (7) | 0 | 29 | 61 | 64 | 28 | 44 | 7 | 7 |
| A racines (5) | 5 | 25 | 35 | 67 | 20 | 41 | 5 | 5 |
| Endives (22) | 17 | 23 | 82 | 100 | 40 | 54 | 17 | 10 |

- **Comparaison des résultats selon le mode de contamination**

Les résultats (non présentés) obtenus à partir du test invasif confirment la moindre agressivité de la souche BTM par rapport à MFA avec en moyenne 87% de racines nécrosées contre 99%, et 21 accessions contre 3 présentant des racines sans nécroses (0% pour les témoins avec les 2 souches !).

### *1.2 Test précoce sur plantules*

#### 1.2.1 Choix du matériel végétal

Au cours du projet, 10 accessions choisies pour leur bon niveau de résistance à *P. cryptogea* (Pag3) observé lors des forçages (cf. §1) ont été comparées à l'hybride Béa (INRA/Ctifl), une référence sensible.

#### 1.2.2 Mise au point du test

La mise au point du test a consisté en une adaptation de celui développé sur le pathosystème *C. intybus / P. cryptogea* Pag1 et Pag2 (Puig, 2006). Les akènes sont semés sur perlite humidifiée. Après 7-10 jours, 25 plantules au stade cotylédons/1 feuille sont sélectionnées, blessées par recoupage du pivot à 1,5 cm de longueur et repiquées en microplaques, chacune dans 400 µL d'un broyat mycélien de *P. cryptogea* (Figure 3). Le broyat est obtenu en mixant au Blender une culture de la souche « MFA » âgée de 7 à 10 jours (mycélium de 2 boites de Petri de 9 cm dans 50 mL d'eau pendant 10s). Elles sont ensuite placées en chambre climatique à 20°C. La mortalité des plantules est notée après 7, 14 et 21 jours.

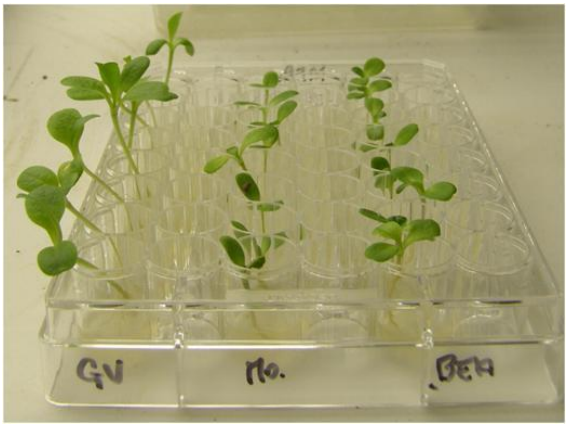



**Figure 3 :** Plantules repiquées dans les puits de microplaque.

#### 1.2.3 Résultats

Parmi les 10 accessions testées, les types « à feuilles » confirment un niveau de résistance supérieur à la référence Béa, alors que cela ne se vérifie pas systématiquement pour les types « à racines » et « endive ». (Tableau 4). Le différentiel de mortalité des plantules entre le témoin et les accessions est,

excepté pour l'« endive avec terre », très inférieur à celui observé sur plantes adultes avec les pourcentages de racines nécrosées. La fiabilité du test plantule doit encore être améliorée, également du fait d'un manque de stabilité des résultats obtenus avec la référence Béa, dont les taux de mortalité ont varié de 10 à 96% au cours des différentes séries (résultats non présentés).

Le test « plantule » ne peut donc pour l'heure, être utilisé comme crible de présélection des accessions d'intérêt.

**Tableau 4 :** Taux de mortalité des accessions testées exprimés en % de la référence Béa.

| Types d'accession (nombre) | | Nombre de tests | Mortalité moyenne des plantules (%Témoin) |
|---|---|---|---|
| A feuilles | Catalogne (2) | 4 | 84 |
| | Sauvage (1) | 7 | 71 |
| A racines | Industrielle (2) | 1 | 71 |
| | | 3 | 170 |
| Endives | Avec terre (2) | 3 | 40 |
| | Sans terre (3) | 3 | 104 |

## 2. Recherche de résistance à *S. sclerotiorum* chez *C. endivia* et *C. intybus*

Compte tenu du caractère extrêmement polyphage de *S. sclerotiorum*, nous avons cherché à améliorer la connaissance du pathosystème *Sclerotinia/Cichorium* pour accélérer le criblage ultérieur des RG.

Les priorités du projet ont donc été données à :

- La mise au point d'un test de sensibilité des accessions à un stade précoce sur plantules en conditions contrôlées de laboratoire.
- La mise au point d'un protocole commun d'évaluation de la sensibilité/tolérance de plantes à maturité au champ dans des parcelles contaminées naturellement ou artificiellement.

### *2.1 Tests précoces sur plantules en laboratoire*

#### 2.1.1 Choix du matériel végétal

La mise au point du test a débuté avec une série de 7 accessions de *C. endivia* et *C. intybus* aux profils de sensibilité/tolérance caractérisés par les observations réalisées en culture par les sélectionneurs. La liste a ensuite été étendue aux 20 accessions choisies pour les tests sur plantes à maturité au champ.

#### 2.1.2 Méthode du test précoce

Le test repose sur la préparation d'une pépinière de plantules, élevées à partir de semis direct dans des cônes Eppendorf (5 ml) individuels remplis de perlite stérile (Figure 4). L'irrigation fertilisante se fait par capillarité. Les cônes sont posés sur leurs supports disposés dans des bacs (multi usages Alibert 60x40x21cm) contenant un litre d'eau pour maintenir une hygrométrie suffisante. Les caisses sont disposées dans une enceinte climatique à 21°C et une photopériode de 16 heures.

Deux tris successifs sont réalisés après 1 et 2 semaines pour disposer par accession de 3 répétitions (« boîtes ») de 20 plantules de stade homogène. Les cônes sont à ce moment espacés sur les supports pour faciliter les manipulations et optimiser l'aération entre les tubes et éviter le contact de plante à plante. L'inoculation intervient sur des plantules âgées de 21 jours. Les caisses contenant les boîtes de cônes sont alors recouvertes d'une plaque de plexiglas pour saturer l'atmosphère d'humidité.

**Figure 4 :** Dispositif du test « plantule »

### 2.1.3 Préparation de l'inoculum et notations

Dix jours avant l'inoculation, un sclérote stérile de la souche RZ de *S. sclerotiorum* (fournie par Rijk Zwaan et présente dans leur parcelle expérimentale) est mis en culture sur un milieu PDA. Après 3 jours, 7 implants de gélose (Ø 2 mm) sont prélevés en marge de la culture mycélienne et mis sous agitation pendant 3 jours dans 75 ml d'un milieu Potato-Dextrose liquide. Le mycélium obtenu est filtré sur un tamis (0.125 µm) et rincé à l'eau stérile. Il est récupéré et broyé au Blender (15'' à vitesse rapide puis 15'' à vitesse lente) dans 75 ml de milieu Potato-Dextrose neuf. Le broyat obtenu est passé sur une compresse pliée sur 3 épaisseurs. Le filtrat est dilué avec le milieu PDA en surfusion à 50°C jusqu'à obtention d'une DO de 0.1 à 600 nm.

Les plantules sont inoculées par dépôt de 0,5 ml de cette suspension calibrée déposée au niveau du collet. Les plantes mortes ou atteintes au collet sont dénombrées tous les 2 jours et éliminées pour éviter les contaminations par contact. Les notations se font jusqu'à 14 jours après l'inoculation.

### 2.1.4 Résultats et perspectives

La stabilité des résultats des accessions de référence nous permet de considérer que la méthodologie du test « plantule » est fiable. Des études complémentaires sont cependant prévues pour rapprocher la thermo-période jour/nuit de celle des conditions naturelles afin de limiter l'étiolement des plantules. L'étude de l'interaction entre la précocité des accessions et le stade d'inoculation est également envisagée. Ce test peut maintenant être appliqué pour caractériser une collection étendue de chicorées, endives, frisées, et scaroles, en s'affranchissant de l'influence du port de la plante clairement mis en évidence dans les essais au champ.

## *2.2 Tests au champ*

Ces essais ont été réalisés par le GEVES et les 3 sociétés semencières du projet dans diverses conditions pédo-climatiques en région angevine, Provence et en Espagne.

### 2.2.1 Choix du matériel végétal

Les accessions, communes à tous les partenaires, ont été choisies au sein des RG pour représenter les différents types de chicorées, dont des variétés anciennes ou récentes de *C. endivia* frisées et scaroles ainsi que les *C. intybus* « à feuilles » avec laquelle des croisements interspécifiques sont possibles (Doré et Varoquaux, 2006). Au total, 20 cultivars dont 7 références, identifiés comme sensibles ou tolérantes suite aux essais de première année, ont été comparés dans 2 essais par partenaires soit 8 conditions.

### 2.2.2 Dispositif expérimental et méthode de notation

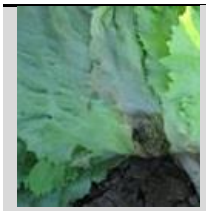
Au fil du projet, le protocole a été affiné pour identifier les facteurs les plus favorables au développement homogène du champignon et des plantes (Tableau 5). Les essais sous abri mis en place en 1ère année du projet ont ainsi été abandonnés par la suite du fait notamment, de symptômes de vitrescence très marqués pénalisant certaines accessions.

**Tableau 5 :** Exemple de conditions de culture des plantes au champ définies dans le cadre du projet pour l'évaluation de la sensibilité à *S. sclerotiorum* des chicorées.

| Pays | Date de semis | Date de plantation | Date inoculation | Irrigation et fertilisation | Inoculation | Peuplement | Dispositif expérimental | Date d'évaluation |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| F | 1er au 20 août | 12 août au 10 sept. | 7 oct. au 22 oct. | Goutte-à-goutte et/ou irrigation par aspersion après plantation pour favoriser la reprise, et par aspersions successives après inoculation | Artificielle sous les feuilles et/ou au collet au stade pommaison, par 1 à 4 plots d'une culture de mycélium sur gélose ou sur grain de riz | Densité idem à la production | 4 répétitions de 16 plantes par accession | 1er nov. au 5 déc. |
| E | 26 août au 08 sept. | 29 sept. au 7 oct. | 1er au 15 déc. | | | | | 20 déc. au 10 janv. |

L'une des premières actions du projet a été de définir une échelle de notation commune à tous les expérimentateurs (Tableau 6).

**Tableau 6 :** Echelle de notation des symptômes de Sclerotinia sur plantes à maturité au champ.

| Plantes commercialisables (0 = plantes saines) | | | Plantes non commercialisables | | |
|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 |
| Début de nécroses visibles à la base des feuilles sous la plante | Propagation au niveau des 1ères côtes/feuilles de la couronne externe sous la plante | Propagation générale à la couronne externe, présence importante de mycélium sous la plante | Attaque des couronnes intermédiaires, pénétration du mycélium dans la plante | Début flétrissement de la plante, présence de mycélium et/ou sclérotes | Fonte complète de la plante |
|  | | | | | |

### 2.2.3 Résultats et perspectives

Les différents essais réalisés en plein champ ont confirmé le classement des 7 génotypes de référence, dont la Barbe de capucin (*C. intybus*) s'est révélée systématiquement le plus résistant, et un cultivar de frisée (*C. endivia*), le plus sensible. L'harmonisation des protocoles d'essais et de l'échelle de notations a permis de limiter à 12%, l'effet des interactions avec l'environnement et l'effet résiduel de facteurs non contrôlés.

La comparaison des 13 nouveaux génotypes aux 7 références ne montre pas d'accession présentant un niveau de résistance équivalent ou supérieur à l'accession Barbe de capucin. Deux se révèlent relativement tolérants, 9 intermédiaires, et 2 sensibles à très sensibles.

- **Une possible simplification de la notation des symptômes**

Quelle que soit l'accession, la relation entre la note moyenne de dégradation des plantes et le pourcentage de plantes non commercialisables (classes 4+5+6) est forte (Figure 5). Cette relation nécessite d'être confirmée mais permet d'envisager la simplification des notations *via* un simple dénombrement des plantes jugées commercialisables ou non commercialisables, indépendamment de l'intensité des symptômes liés à *S. sclerotiorum*.

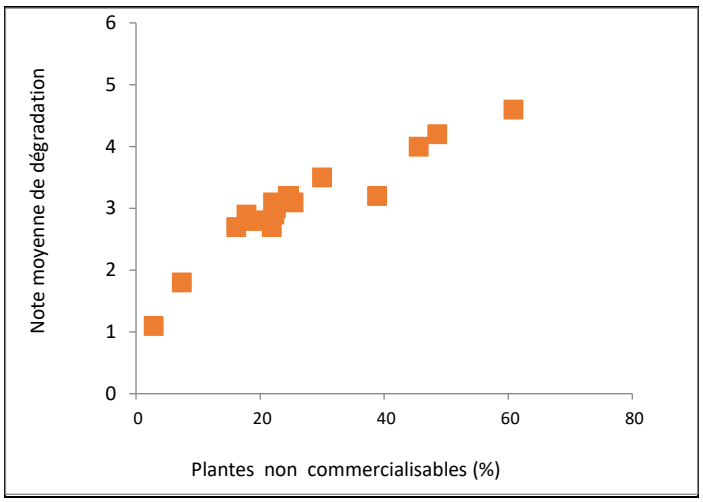



**Figure 5 :** Expression de la note moyenne de dégradation en fonction du pourcentage de plantes non commercialisables (cl 4+5+6).

- **La prise en compte du port des plantes**

La résistance à *S. sclerotiorum* est globalement d'autant plus forte que le port de la plante est érigé. Cette relation est, chez les *C. endivia*, plus marquée chez les cultivars de frisées que de scaroles (Figure 6). La notation du port des plantes peut ainsi constituer un crible de choix en fonction du culti-groupe. Chez *C. intybus*, un seul génotype ne permet pas de comparaison. Cependant, la Barbe de capucin, référence tolérante à *S. sclerotiorum*, présente un port très érigé.

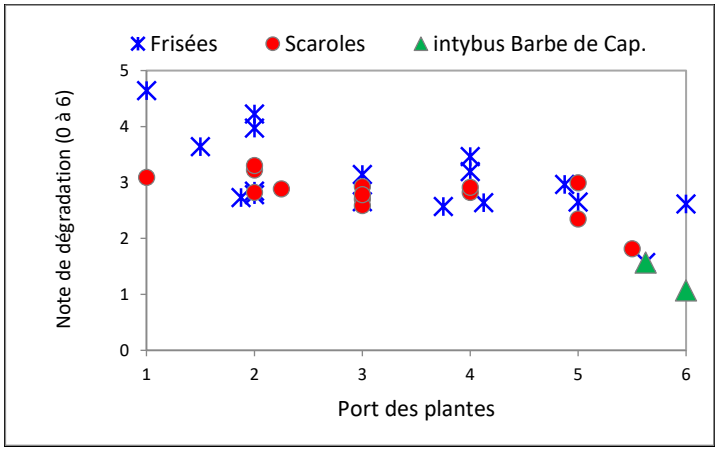



**Figure 6 :** Note de dégradation au champ des accessions en fonction du cultivar, et du port foliaire (échelle de 1 à 6 : plat, plat à ½ érigé, ½ érigé, ½ érigé à érigé, érigé, très érigé).

- **Le crible du test précoce sur plantule**

La mise en relation des notes de symptômes sur plantes à maturité au champ et des taux de mortalité des plantules dans les tests en laboratoire montre un lien relativement étroit pour les accessions aux comportements extrêmes, sensibles ou tolérants (Figure 7). Le test sur plantule, s'il nécessite d'être amélioré, peut selon les sélectionneurs de *C. endivia*, servir de crible initial pour pré sélectionner le matériel végétal à tester au champ et/ou à utiliser en priorité dans les schémas de sélection.

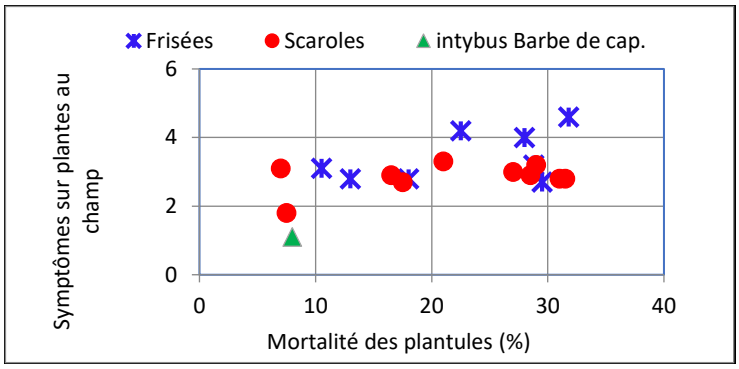



**Figure 7 :** Intensité des symptômes sur plantes à maturité au champ et taux de mortalité des plantules au laboratoire

## Conclusions et perspectives

Ce projet a permis d'identifier, dans la collection nationale des chicorées *intybus* de tous types, des niveaux de résistance aux souches Pag3 les plus agressives de *P. cryptogea* Pag3, supérieurs à ceux des variétés d'endives actuellement cultivées. Si ces résistances semblent plus fréquentes chez les types « sauvages » ou « italiennes à feuilles », elles existent également chez les types « à racines » comme les industrielles ou les endives. Concernant ces dernières, ce sont précisément 10 et 17 (respectivement avec la souche BTM et MFA) des 102 accessions d'endives testées qui se sont montrées significativement moins sensibles que les témoins actuels.

Le projet a également abouti à la mise au point d'un test précoce d'évaluation de la sensibilité/tolérance à *S. sclerotiorum* sur plantules au laboratoire ainsi qu'à l'amélioration du protocole d'évaluation de cette sensibilité/tolérance au champ sur plantes à maturité. Toutefois, des différences de classement de certaines accessions par rapport aux références ont été notées entre les 2 tests. Dans les tests sur plantes à maturité, un port foliaire dressé favorise la résistance, particulièrement chez les frisées. Cette résistance « morphologique » ne s'exprime pas dans le test sur plantules dont le résultat ne semble dépendre que de la résistance « génétique ». Il serait ainsi intéressant de confirmer ces relations dans des conditions d'essais permettant, à génotype identique, de faire varier le port des plantes de façon naturelle en modulant la nutrition azotée par exemple, ou artificielle (tuteurage).

Dans leur ensemble, ces résultats doivent, en amont, inciter les sélectionneurs à ré-exploiter les RG de *C. endivia* et *C. intybus* pour rechercher des résistances valorisables en sélection. Les outils développés doivent leur faciliter la tâche. En aval, des applications de ces travaux sont envisageables en évaluation variétale pour identifier les cultivars commerciaux les plus résistants à ces agents pathogènes.

## Remerciements

Ce projet a bénéficié de financements du Compte d'Affectation Spécial Développement Agricole et Rural (CASDAR), géré par le Ministère de l'Agriculture et de l'Alimentation, dans le cadre de l'appel à projet « Semences et Sélection Végétale » 2013.

Les auteurs de l'article remercient sincèrement les équipes techniques et administratives engagées dans le projet chez les différents partenaires. Ils remercient également Dorothée Froissart (Enza Zaden) pour les analyses statistiques sous le logiciel R, des essais « *Sclerotinia* au champ».

Ce projet a été labélisé par Végépolys.

### Références bibliographiques

Benigni M., Bompeix G., 2006. Post harvest control of *Phytophthora cryptogea* of witloof chicory with different fungicides and possible occurrence of resistant strains. Crop Protection 25, 350-355.

Benigni M., Bompeix G., 2010. Chemical and biological control of *Sclerotinia sclerotiorum* in witloof chicory culture. Pest Management Science 66, 1332-1336.

Biotranfer, 2010. Projet de collaboration Sélectionneurs d'endives / BIOtransfer, Coordination APEF, Etude de la résistance génétique de l'endive à *Phytophthora.* Rapport de fin de projet. 77p.

Cadot V., Molinero-Demilly V., Boulineau F., Guenard M., Giroult C., Ricart A., Samson R., Benigni M., Desprez B., Dumont M., Hoquet M., Leclaire E., Mathon M.P., 2003. Biological resources centres : A French concept of genetic resources management. Towards a *Cichorium* BRC. EUCARPIA meeting on leafy vegetables genetics and breeding, 19-21 March, Noordwikerhout, The Netherlands. Poster.

Cassan L., Leignez S., Coquet P., Sanvicente P., 2010. Diversité de la sensibilité des chicorées à *Phytophthora* souche Pag3. CR études & essais 2010-2011. Station expérimentale de l'endive. APEF/Ctifl.

Doré C., Varoquaux F, coordinateurs, 2006. « La chicorée endive ou witloof » *in* Histoire et amélioration de 50 plantes cultivées. Collection Savoir-faire. INRA. 812 p.

Hayes J.H., Wu B.M, Pryor M.P., Subbarao K.V Chitrampalm P., 2010. Assessment of Resistance in Lettuce (*Lactuca sativa* L.) to Mycelial and Ascospore Infection by *Sclerotinia minor* Jagger and *S. sclerotiorum* (Lib.) de Bary. HortScience 45(3), 333-341.

Puig E., 2006. Etude la sensibilité variétale de *Cichorium intybus* L. au pathogène *Phytophthora cryptogea*. Mémoire de Master 2. Laboratoire de Phytopathologie Moléculaire Végétale. Université Paris Sud11-CNRS.

Vear F., Muller M.H., 2011. Progrès variétal chez le tournesol : l'apport des ressources génétiques au sein du genre *Helianthus*. Innovations Agronomiques 14, 139-150.

Cet article est publié sous la licence Creative Commons (CC BY-NC-ND 3.0).

https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/3.0/fr/

Pour la citation et la reproduction de cet article, mentionner obligatoirement le titre de l'article, le nom de tous les auteurs, la mention de sa publication dans la revue « Innovations Agronomiques », la date de sa publication, et son URL).