

Sensibilité aux *Pythium* et mauvaise germination en sol froid chez le haricot (*Phaseolus vulgaris* L)

JP Ginoux¹, CM Messiaen²*

¹ ASL Agroparc BP 119, F 84144 Montfavet Cedex;

² INRA, unité de recherche et formation en biologie et pathologie végétales, ENSA-INRA, place Viala, F 34060 Montpellier Cedex, France

(Reçu le 1^{er} octobre 1992; accepté le 5 janvier 1993)

Résumé — Les manques à la levée observés sur haricot en semis précoce au printemps sont principalement dus aux attaques de *Pythium*. D'importantes différences de sensibilité peuvent être mises en évidence entre variétés par des méthodes de contamination les mettant en présence de souches de *Pythium* douées de divers niveaux d'agressivité. Les variétés à grain coloré sont, de façon générale, moins sensibles que celles à tégument incolore, et parmi celles-ci les flageolets verts sont les plus sensibles. L'étude de la descendance d'un croisement (noir résistant x flageolet vert) met en évidence l'effet sensibilisant de 2 gènes récessifs, l'un conditionnant l'absence de coloration, l'autre le caractère «flageolet». Cependant, il y a aussi des différences de sensibilité entre variétés à grains noirs. Les variétés plus sensibles exsudent plus de sucres et de composés azotés en cours de germination, leurs téguments sont moins riches en leuco-anthocyanes.

L'aptitude physiologique à germer et à croître à basse température intervient également dans la réussite des semis précoces. Elle a fait, elle aussi, l'objet d'une étude variétale qui met en évidence les qualités de la variété Vernandon.

haricot = *Phaseolus vulgaris* / germination / sol froid / *Pythium*

Summary — *Pythium* susceptibility and germination failure in common beans (*Phaseolus vulgaris*) sown in cold soils. Bean growers and the canning industry would appreciate the improved success of early sowings of common beans, which are frequently damaged by *Pythium* spp. Twenty strains were collected and classified for aggressivity and taxonomy: *P. ultimum* (most of them very aggressive), *P. sylvaticum* (most of them fairly aggressive), and palmate-coralloid strains, which are weakly aggressive. Laboratory methods are described for inoculation of bean seeds with *Pythium*, analysis of bean seed exudates and estimation of leucoanthocyanin content of the seed coat.

Significant differences in *Pythium* susceptibility could be demonstrated between bean cultivars. Black beans, and also some red, buff-colored and mottled beans were more resistant than white ones, amongst which differences in susceptibility could be demonstrated by the use of weakly aggressive *Pythium* strains. The highest susceptibility occurred for the French flageolet vert cultivars. A study of the progeny of a cross between PI226895 (the most resistant black bean) and Elsa (a 'flageolet vert') demonstrate the increases in susceptibility caused by the 2 recessive genes inducing the absence of coloration and flageolet quality. High levels of resistance could be found in buff-colored as well as in black-seeded lines in the progeny of this cross. At the biochemical level susceptibility is associated with high level of soluble substances (sugars, nitrogen compounds) in seed exudates during imbibition, low content in leucoanthocyanins, and seed coat thinness. The pleiotropic influence of the gene (*p*) on all these characters could be demonstrated by the study of white mutants of the black-seeded cultivars PI226895 and Aiguillon. Some discrepancies could appear between ranking for *Pythium* susceptibilities in experiments with 10 d incubation at 11 °C and ranking for these biochemical characters. They could be linked to differences in physiological ability to germinate and grow at low temperatures. These differences were also studied: the best cultivar found for this character was Vernandon. Integration of control measures has been discussed. Even the low levels of resistance which can be bred for white-seeded lines can be improved by seed treatment with low amounts of fungicides. White-seeded cultivars are preferred by the snap bean canning industry. The water in the snap bean cans is blue-gray with black-seed cultivars. Light-buff colored resistant lines can be bred, resulting in a less unpleasant water coloration in the cans.

bean = *Phaseolus vulgaris* L / germination / cold soils / *Pythium*

* Correspondance et tirés à part.

INTRODUCTION

Aussi bien l'industriel, soucieux d'allonger la période de fonctionnement de l'usine, que le maraîcher qui désire profiter de la plus-value apportée à sa récolte par la précocité, souhaitent débiter le plus tôt possible la récolte de haricots en filets fins, mange-tout ou flageolets verts.

De là, la tentation d'avancer la date des semis printaniers, au risque d'observer des germinations irrégulières ou nulles.

La tradition paysanne de chaque région indique la date où l'on peut tenter un premier semis de haricots : c'est la Saint-Joseph (19 mars) pour le midi de la France (Vaucluse, Bouches-du-Rhône).

On observe d'importantes différences entre variétés de haricot pour l'aptitude à la réussite de ces semis précoces.

Les causes des manques à la levée sont d'une double nature : mauvaise germination à basse température, mais aussi envahissement du grain entier ou de la radicule en début de croissance par des *Pythium* hôtes du sol – en admettant bien sûr que n'intervienne pas la mouche des semis (*Phorbia platura*, autrefois *Hylemia cilicrura*), ou que des traitements insecticides adéquats aient été réalisés (Schvester et Rives, 1957).

Les travaux que nous résumerons ci-dessous ont eu pour but de mieux connaître les facteurs qui rendent les variétés de haricot plus ou moins aptes à une bonne germination en semis printanier précoce.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Génotypes de haricot

Nous avons utilisé, d'une part des variétés représentatives des divers types de haricots cultivés en France pour la production de filets fins, mange-tout, grains à écosser ou flageolets verts, d'autres part des lignées que la littérature américaine (Dickson et Boettger, 1975; Hagedorn et Rand, 1978), ou P Touzard (ets Clause, comm pers) nous signalait pour la résistance aux *Pythium*. Nous y avons ajouté des lignées sélectionnées par l'un d'entre nous à l'INRA-Versailles dans la descendance de croisements *Phaseolus vulgaris* x *P. coccineus* (sl) réalisés par H Bannerot (INRA-Versailles). La tradition des maraîchers de la zone Vaucluse-Bouches-du-Rhône nous a, de plus, indiqué les variétés Saint Marcellin et Noir Hâtif de

Saint-Rémy réputées pour leur bonne réussite en semis précoces.

Souches de *Pythium*

Nous avons tout d'abord étudié une collection de 20 souches isolées de végétaux attaqués, ou directement du sol (Messiaen *et al*, 1977). Leurs caractères morphologiques, et des expériences préliminaires de contamination sur 4 variétés nous ont permis de les classer de la façon suivante (les isolats pouvant être considérés comme très agressifs sont soulignés de 2 traits, les moyennement agressifs d'un trait, les faiblement agressifs non soulignés) :

- *Pythium ultimum* Trow : souches P₁, P₂, P₃, P₄, P₅, P₉, P₁₀, P₁₄,
- *Pythium sylvaticum* Campb et Hend : P₇, P₈, P₁₂, P₁₃, P₁₇, P₂₀,
- souches non déterminées de type palmé-coralloïde (Messiaen *et al*, 1977) : P₆, P₁₁, P₁₆, P₁₈,
- souches ne rentrant dans aucune des catégories précédentes : P₁₅, P₁₉.

Pour la suite de nos expériences, nous avons employé les souches P₂, P₁₂ et P₁₆, représentatives des 3 degrés d'agressivité.

Conditions de germination et d'inoculation

Nous avons testé sur plusieurs variétés de haricot, présumées plus ou moins résistantes, diverses méthodes d'inoculation, comme la confrontation directe des grains et du champignon sur boîtes de Petri de gélose non nutritive, ou le semis en pot sur vermiculite imbibée de solution de Knop, les grains étant posés sur un disque de gélose non nutritive colonisé par le *Pythium*, et recouverts de 2 cm de vermiculite : nous retiendrons surtout les résultats de cette dernière méthode. Les pots ainsi préparés étaient incubés 10 j à 11 °C, puis placés à 20 °C. La germination était notée au 20^e j suivant une échelle de 0 à 15 tenant à la fois compte du développement végétatif des plantules, et des lésions dues au *Pythium* sur racicules, racines et hypocotyles.

Dosages chimiques

Parmi les dosages que nous avons pratiqués, les résultats les plus intéressants concernaient les exsudations des grains en début de germination, nutritives pour les *Pythium*, et la teneur des grains en leucoanthocyanes, présumées fongistatiques.

Les exsudats solubles totaux de grains trempés dans une quantité d'eau double de leur poids pendant 24 h ont été évalués en degrés Brix mesurés au réfractomètre.

Les résultats obtenus avec cet appareil ont été complétés par des dosages de sucres (réducteurs et totaux) avec un appareil Technicon, et d'azote total suivant la méthode de Kjeldahl.

Pour le dosage des leuco-anthocyanes, les grains ont été trempés dans une quantité d'éthanol à 50° correspondant au double de leur poids. Les extraits obtenus, dilués 10 fois dans l'éthanol-chlorhydrique (2% en volume d'HCl pur 12 N) peuvent être directement examinés au spectrophotomètre à 550 nm (anthocyanes) et 340 nm (flavonoïdes). Mais ces 2 mesures ne donnent pas de résultats intéressants en liaison avec la résistance variétale aux *Pythium*, ce sont les leuco-anthocyanes qui nous ont paru les plus impliquées dans ce phénomène.

Elles sont révélées par une méthode due à Lebreton *et al* (1967). Deux millilitres de l'extrait obtenu par trempage des grains 24 h dans l'alcool à 50° sont dilués dans 20 ml d'un mélange eau + HCl + éthanol (42-2-44). On filtre sur papier. On ajoute à 5 ml de filtrat 15 ml d'un mélange 60/40 butanol primaire + HCl pur. On teste à 550 nm au spectrophotomètre (lecture D_0).

Le mélange est chauffé au bain-marie bouillant 15 min, puis rapidement refroidi dans la glace. On fait une seconde lecture à 550 nm (lecture D_1). La teneur de l'extrait, exprimée en leucocyanidine, est donnée dans les conditions de macération et de prise d'essai décrites ci-dessus par la formule $(D_1 - D_0) \times 1\,040$.

Reproductibilité des résultats

Les résultats des confrontations haricot/*Pythium* sur vermiculite avec incubation à 11 °C sont très reproductibles d'une expérience à l'autre, et homogènes entre les pots de 6 grains constituant les répétitions d'une même expérience, pour les notes les plus faibles (0, sensibilité totale) ou les plus élevées (15, bonne résistance). L'étendue de leur variation est de l'ordre de ± 2 pour les notes intermédiaires. La variabilité des dosages du degré Brix des exsudats est de l'ordre de 10% pour le même lot de semences d'une expérience à l'autre, celle des dosages chimiques (sucres, azote, leuco-anthocyanes) de l'ordre de 15%. Les mesures d'épaisseur de téguments des grains (coupes au rasoir à main examinées au microscope) font apparaître une variation de l'ordre de 15% d'un grain à l'autre dans un même lot de semences.

RÉSULTATS

Sensibilités variétales aux *Pythium*

Nous en donnerons comme exemple au tableau I les résultats d'un essai mettant en jeu 38 variétés et 3 souches de *Pythium*.

Les variétés PI226895, PI163583 et PI109859 se classent comme les plus résistantes. D'une

façon générale, malgré une importante variation dans chaque catégorie, les variétés à grain noir (ou rouge, dans le cas de PI109859) sont les moins sensibles, suivies par celles à grain beige ou panaché. Parmi les variétés à grain blanc, les lignées sélectionnées pour la résistance aux *Pythium* ne manifestent celle-ci que vis-à-vis de la souche la moins agressive. On remarquera l'extrême sensibilité des flageolets verts.

En dernière colonne du tableau, nous avons mentionné les résultats (en pourcentage de survivants) d'un semis du 21 mars à Eyragues (Bouches-du-Rhône), en conditions de plein champ assez défavorables (sol humide et tassé). Nous avons calculé la corrélation entre ce résultat et la moyenne des notes obtenues avec les souches P_{12} et P_{16} . Elle se révèle élevée et significative ($R = 0,85$).

Hérédité de la résistance de PI226895

Ayant réalisé le croisement entre la variété la plus résistante, PI226895 et Elsa, flageolet vert extrêmement sensible, nous avons pratiqué des tests de résistance aux *Pythium* au cours des générations suivantes :

Embryon F_1 sous tégument F_0

Le résultat est très différent suivant le sens du croisement (tableau II).

Embryon F_2 sous tégument F_1

À cette génération, les grains sont tous panachés noir sur fond beige. L'avantage «parent maternel PI226895» s'efface presque complètement (tableau III).

Embryon F_3 sous tégument F_2

Nous avons, à partir de cette génération, confondu les 2 sens de croisement et regroupé les lignées en 3 classes :

S, «sensibles» – notes de 0,0 à 4,9

I, «intermédiaires» – notes de 5 à 9,9

R, «résistantes» – notes de 10 à 15.

Les résultats, pour 150 lignées, sont exprimés au tableau IV.

Ces résultats nous indiquent que l'on peut trouver d'aussi bonnes résistances chez les li-

Tableau I. Sensibilités variétales vis-à-vis des *Pythium* : notes de 0 à 15.

Variété	Obtenteur	Coloration du grain	Souche P_2 (ultimum)	Souche P_{12} (sylvaticum)	Souche P_{16} (palmé-coralloïde)	% Survivance au champ semis 21 mars
<i>Généiteurs, ou lignées sélectionnées pour la résistance</i>						
PI226895	(a)	Noir	12,4	15,0	15,0	64
PI163583	(a)	Noir	8,3	11,3	15,0	51
PI109859	(a)	Rouge	6,5	15,0	15,0	33
St Marcellin	(b)	Noir	0,0	10,0	15,0	44
BF11	(c)	Beige	0,0	6,6	15,0	53
6021	Dickson	Blanc	0,0	0,0	15,0	22
6716	Dickson	Blanc	0,0	0,0	15,0	31
6717	Dickson	Blanc	1,8	0,0	15,0	10
BPy153	(c)	Panaché	1,5	0,7	15,0	39
BPy157	(c)	Panaché	0,0	0,4	15,0	24
764B	Boettger	Blanc	0,0	0,0	9,1	18
BPy10	(c)	Blanc	0,0	0,0	8,0	13
RRR77	Hagedorn	Blanc	0,0	0,0	8,0	—
5062	Boettger	Blanc	0,0	0,0	7,2	9
RRR83	Hagedorn	Blanc	0,0	0,0	7,0	—
6783	Dickson	Blanc	0,0	0,0	5,3	5
<i>Variétés pour filets fins</i>						
Aiguillon	Gautier	Noir	1,5	6,0	15,0	37
César	Gautier	Panaché	0,2	3,6	15,0	24
Noir hatif SR	(b)	Noir	0,0	2,4	15,0	43
Étendard	Gautier	Panaché	0,0	0,0	15,0	1
Centurion	Gautier	Panaché	0,0	0,0	5,0	1
<i>Variétés mange-tout</i>						
Contender	DP	Beige	1,5	10,6	15,0	41
Irago	Gautier	Noir	0,0	0,0	13,0	44
Vaillant	INRA	Blanc	0,0	0,0	7,0	—
Brelan	Caillard	Blanc	0,0	0,0	5,8	4
Arly	Caillard	Blanc	0,0	0,0	4,6	0
<i>Variétés pour grains blancs à écosser</i>						
Blason	Gautier	Blanc	0,0	0,0	11,7	10
Michelite	DP	Blanc	0,0	0,0	10,3	8
Lingot	DP	Blanc	0,0	0,0	9,0	—
Coco NB précoce	DP	Blanc	0,0	0,0	7,7	0
Coco Gautier	Gautier	Blanc	0,0	0,0	6,0	2
Coco Sophie	DP	Blanc	0,0	0,0	4,7	3
Michelet	DP	Blanc	0,0	0,0	3,0	1
<i>Variétés flageolets verts</i>						
Manacor	Clause	Vert pâle	0,0	0,0	1,5	—
Vernor	Séminor	Vert pâle	0,0	0,0	1,0	—
Ardent	INRA	Vert pâle	0,0	0,0	0,5	—
Elsa	INRA	Vert pâle	0,0	0,0	0,4	1
Vernel	Vilmorin	Vert pâle	0,0	0,0	0,2	—

(a) Variétés signalées comme résistantes à *Rhizoctonia solani* par Zaumeyer, repérées par P Touzard (communication personnelle) pour leur tolérance aux *Pythium*; (b) : variétés traditionnelles des environs de St Rémy de Provence; (c) : lignées sélectionnées à partir de l'hybride *Phaseolus vulgaris* x *P coccineus sensu lato* obtenu par H Bannerot (INRA – Versailles). DP : variétés dans le domaine public.

Tableau II. Comportement vis-à-vis des *Pythium* des grains F₁ des croisements entre Elsa et PI226895.

Notes de survie des plantules (0-15)			
Grains F ₁	P ₂	P ₁₂	P ₁₆
Elsa x PI226895	0,0	0,9	12,0
PI226895 x Elsa	8,9	13,1	15,0

Tableau III. Comportement des grains F₂.

Notes de survie des plantules (0-15)			
Grains F ₂	P ₂	P ₁₂	P ₁₆
Elsa x PI226895	0,3	6,3	15,0
PI226895 x Elsa	1,4	8,2	15,0

gnées à tégument beige ou panaché que chez celles à grain noir. Mais, dans le cas présent, la coloration panachée est infixable, puisqu'elle correspond à des plantes mères hétérozygotes pour les allèles C et c du gène gouvernant l'intensité de coloration des grains (Prakken, 1972). Par contre, les lignées à grain blanc (allèle récessif p du gène P indispensable à l'expression de toute coloration) sont nettement défavorisées vis-à-vis des souches P₂ et P₁₂.

Embryon F₇ sous tégument F₆

Nous avons examiné, pour cette génération, le comportement de 190 lignées issues de «filiation unipare» (ou «SSD»), dont le comportement vis-à-vis des souches P₂ et P₁₂ en fonction de la coloration est détaillé au tableau V.

Tableau IV. Classement des lignées F₃ pour la résistance.

Couleur du tégument (F ₂) des grains F ₃	Noir			Beige			Panaché			Incolore		
Classement pour la résistance (nombre de lignées)	R	I	S	R	I	S	R	I	S	R	I	S
Isolat P ₂	5	0	28	5	0	16	5	3	53	0	0	35
Isolat P ₁₂	12	15	16	11	4	6	25	13	23	0	4	31
Isolat P ₁₆	31	2	1	21	0	0	60	1	0	21	6	8

L'absence de lignées à grain blanc résistantes ou intermédiaires par leur comportement vis-à-vis de P₁₂ (moyennement agressive) ou P₂ (très agressive), confirme l'effet défavorable de l'allèle p, et le faible nombre de lignées à grain panaché le caractère «infixable» de ce caractère.

On remarquera aussi, parmi les lignées à grain noir ou beige, le faible effectif de lignées à comportement intermédiaire, que l'un d'entre nous (Ginoux, 1981) avait attribué à la présence chez PI226895 d'un gène dominant de résistance Rpy.

Avec le recul des années et l'expérience aux Antilles, dans des sols contaminés par *Pythium aphanidermatum*, de l'échec d'un essai de sélection de flageolets noirs, repérés à la germination par leurs cotylédons incolores, nous pensons aujourd'hui que ce gène Rpy n'était en fait que l'allèle dominant du gène récessif conditionnant le caractère «flageolet vert» chez Elsa, et qui s'exprime de façon moins évidente chez les génotypes à grain coloré. Il conserve cependant certains de ses effets pléiotropiques : fanaison prématurée des plantes en fin de végétation, avec comme conséquence une polymérisation imparfaite de l'amidon des grains, cotylédons blancs à la germination – ainsi sans doute qu'une sensibilité particulière aux *Pythium*.

L'expérience relatée au tableau VI aurait été plus complète si elle avait fait intervenir aussi l'isolat peu agressif P₁₆, qui aurait permis de distinguer parmi les lignées à tégument incolore les «flageolets» des «non-flageolets».

Parallèlement à cette étude en filiation unipare, avait été conduite une sélection généalogique pour la résistance, avec tri en F₃ et F₇. Nous avons ainsi obtenu 3 lignées à grain beige notées 15 vis-à-vis de P₂ et P₁₂, et 2 lignées à grain blanc notées 0 vis-à-vis de P₂, mais respectivement 8,4 et 6,3 vis-à-vis de P₁₂ (nous re-

Tableau V. Classement des lignées F₇ pour la résistance.

Couleur du tégument (F ₆) de 190 lignées F ₇	Noir	Beige	Panaché	Incolore
Classement pour la résistance (Nombre de lignées)	R I S	R I S	R I S	R I S
Isolat P ₂	22 0 24	16 1 25	5 0 1	0 0 96
Isolat P ₁₂	20 2 24	19 1 22	6 0 0	0 0 96

trouverons ces lignées A27.1.4.1 et A54.1.2.3 dans le paragraphe *Interaction résistance/fongicides*).

Étude de mutants à grains blancs dans les variétés PI226895 et Aiguillon

Nous avons eu la chance de trouver, dans des lots de semences de chacune de ces 2 variétés, 1 grain blanc, parmi les grains noirs qui les caractérisent.

Dans les 2 cas, la descendance de ces grains s'est avérée homogène, et les plantes morphologiquement semblables à la variété d'origine. Les hybrides F₁ avec PI226895 et Aiguillon ont été eux aussi semblables à la variété d'origine, sans montrer aucune hétérosis, et la ségrégation des téguments F₂ de type 3/4-1/4.

Il s'agit donc probablement dans les 2 cas de mutations récessives du gène P.

Nous avons obtenu les résultats suivants en confrontant les mutants et les variétés d'origine aux isolats P₂, P₁₂ et P₁₆ (tableau VI).

Cette observation confirme donc l'effet défavorable de l'allèle p, et nous permettra d'étudier ses effets pléiotropiques (voir ci-dessous).

Analyse des facteurs de sensibilité aux Pythium

Outre l'effet du gène p chez les grains blancs, il existe d'autres facteurs de sensibilité aux *Pythium*, puisque l'on trouve chez les grains noirs des variétés de sensibilité très différente. Nous avons cherché à les identifier en utilisant une collection réduite, représentant divers types de comportement :

PI226895 : noir résistant,
 Saint-Marcellin : noir peu sensible,
 Noir Hâtif : noir assez sensible,
 Contender : beige peu sensible,
 BF11 : beige moyennement sensible,
 Michelite : blanc assez sensible,
 Elsa : flageolet vert très sensible.

La confrontation directe des grains de ces variétés avec les *Pythium* cultivés en boîtes de Petri de gélose non nutritive avait fait apparaître une stimulation mycélienne au voisinage des grains, localisée à la zone hile-micropyle, et grossièrement proportionnelle à la sensibilité variétale, sauf chez Elsa : dans ce cas la stimulation se manifestait tout autour du grain, rapidement envahi par le mycélium.

Cela laissait supposer, à partir du grain de haricot, une exsudation de substances stimulant les *Pythium*, éventuellement contrebalancée, pour les moins sensibles, par des substances fongistatiques, parmi lesquelles nous avons choisi, à la suite de dosages peu convaincants concernant les substances colorées, de rechercher les leuco-anthocyanes.

Tableau VI. Comportement vis-à-vis des *Pythium* de mutants à grains blancs de variétés à grains noirs.

Isolats de Pythium	Notes de survie des plantules			
	PI226895	PI225895 blanc	Aiguillon	Aiguillon blanc
P ₂	11,0	0,0	4,0	0,0
P ₁	15,0	4,5	8,0	0,0
P ₁₆	15,0	15,0	15,0	13,0

L'usage des procédés décrits au paragraphe *Matériel et méthodes* nous a permis d'obtenir les résultats décrits au tableau VII, en y ajoutant l'épaisseur du tégument mesurée en coupe au microscope.

Nous avons comparé de plus à cette petite collection les mutants à grains blancs mentionnés ci-dessus, avec leurs variétés d'origine (tableau VIII).

Des expériences complémentaires (Ginoux, 1981), que nous ne détaillerons pas ici, ont mis en comparaison des grains intacts ou dépouillés de leur tégument, des grains témoins et des grains enduits de vernis imperméable sur la zone hile-micropyle. Elles confirment l'influence prédominante du tégument sur l'exsudation, et que celle-ci se produit principalement au niveau de la zone hile-micropyle, sauf chez Elsa.

D'autres expériences ont permis de démontrer le caractère «passif» de la résistance de type «PI226895». En effet, si dans le dispositif habituel d'essai sur vermiculite 1, 2 ou 3 des grains de PI226895 sont remplacés par des «éléments contaminants» constitués, soit par des grains d'Elsa, soit par des grains de PI226895 blessés, tués par la chaleur ou récoltés à l'état immature,

on assiste à une baisse progressive de la note obtenue sur PI226895 de 15 à 0 avec 3 éléments contaminants, en présence d'une souche moyennement agressive.

Au contraire, en compagnie de 5 grains de PI225895, en confrontation avec une souche peu agressive, un grain d'Elsa donne une plante notée 15 (contre 0,4 pour 6 grains d'Elsa).

Ces observations donnent à réfléchir sur la plantation en poquets, souvent pratiquée par les amateurs dans l'espoir d'améliorer l'émergence de leurs semis. L'effet espéré ne sera obtenu sans doute que si la variété n'est pas trop sensible aux attaques de *Pythium*, tous les grains étant indemnes de blessures au niveau du tégument ou du germe, et de bonne énergie germinative.

Aptitude à la germination à basse température

Si nous revenons au tableau VII, nous remarquerons que la variété Michelite, particulièrement défavorisée par ses exsudations sucrées et azotées et la minceur de son tégument, de-

Tableau VII. Caractéristiques biochimiques et histologiques de 7 variétés.

Variétés	Degré BRIX de l'exsudat	Sucres totaux g/l	Sucres réducteurs (g/l)	Azote (mg/l)	Leuco-anthocyanes (mg/l)	Épaisseur du tégument (μ)
PI226895	1,3	0,49	0,19	266	832	213
St Marcellin	5,7	2,63	0,79	100	190	196
Noir Hâtif	9,3	2,71	0,95	361	286	217
Contender	4,6	0,60	0,40	245	645	136
BF11	5,6	3,28	1,08	493	452	104
Michelite	17,6	7,88	1,26	1 064	130	90
Elsa	11,5	5,20	2,68	355	21	134

Tableau VIII. Caractéristiques biochimiques et histologiques de mutants à grain blanc.

Variétés	BRIX	Sucres totaux (g/l)	Sucres réducteurs (g/l)	Azote (mg/l)	Leuco-anthocyanes (mg/l)	Épaisseur du tégument (μ)
PI226895	1,3	0,61	0,23	266	832	213
PI226895 blanc	5,5	2,40	0,93	179	282	161
Aiguillon	2,5	0,9	0,67	400	289	172
Aiguillon blanc	7,0	1,96	1,16	479	53	153

vrait se comporter encore plus mal que Elsa. Or ce n'est pas le cas, aussi bien au laboratoire qu'au champ.

Nous avons pensé que cette anomalie pouvait trouver son explication dans une meilleure aptitude à la germination de Michelite pendant l'incubation à 11°C.

Cela nous a entraînés à étudier, en l'absence de *Pythium*, l'aptitude à germer à basse température chez le haricot.

Pour cette étude, nous avons ajouté à quelques variétés de la collection étudiée précédemment les lignées ou variétés suivantes :

- S412, S414, S419 et S435 fournies par Boettger,
- Geneva 1.161 (Dickson 1972),
- Comtesse de Chambord, signalée comme germant bien à basse température par Hardwick (1971).
- Vernandon (Caillard) et Étendard (Gautier), remarqués par les producteurs comme réussissant bien en semis précoce.

Nous mentionnerons ci-dessous les résultats d'un essai de germination sur boîte de Petri à 11 °C, et ceux d'un essai sur vermiculite en enceinte climatisée et éclairée à 10°–12 °C, noté à l'aide d'un indice attribuant à chaque grain ou plantule, au bout de 20 j les notes suivantes :

- 0 : non émergé,
- 0,333 : crosse pointée,
- 0,666 : crosse développée,
- 1,000 : 2 premières feuilles étalées.

La somme de ces notes, pour 100 grains semés, donnant un indice de 0 à 100 (le tout en l'absence de *Pythium*, bien entendu), voir tableau IX.

Ces résultats confirment ce que nous soupçonnions précédemment : Michelite germe beaucoup mieux que Elsa à basse température.

Conservées plus longtemps dans la même enceinte climatisée (10°–12 °C, 4 000 lux au niveau des plantes) les plantules de 5 des variétés ci-dessus se distinguent par l'aspect de leur feuillage au 35^e j : chlorosé et nain pour Michelite et Comtesse de Chambord, chlorosé mais normal pour PI226895, légèrement chlorosé pour BF11, normalement vert et développé pour Vernandon.

Cette variété (à grain noir pour filets fins) se détache donc de la plupart des autres pour son aptitude à germer et à croître à basse température, ce qui nous a amenés à la comparer à

PI226895 pour la résistance aux *Pythium* et les caractéristiques biochimiques et histologiques (voir tableau X).

Le cultivar Vernandon, par ses caractéristiques biochimiques et histologiques, laisserait donc prévoir un comportement plus mauvais vis-à-vis des *Pythium* que PI226895, ce qui est largement compensé par sa meilleure aptitude à la germination à basse température.

Nous avons réalisé le croisement (Vernandon x PI226895) et son réciproque. De l'étude de 310 lignées F₃, nous pouvons conclure à une hérédité récessive de l'aptitude à germer et croître à basse température, compliquée par l'intervention d'un facteur cytoplasmique : 10 lignées adaptées au froid sur 130 avec Vernandon comme parent femelle, 1 sur 180 avec PI226895.

INTÉGRATION DES MOYENS DE LUTTE CONTRE LA MAUVAISE GERMINATION EN SOL FROID

Rappelons tout d'abord que tous les sols ne sont pas contaminés au même point par des *Pythium*

Tableau IX. Aptitudes variétales à la germination et à la croissance à basse température.

	Essai in vitro (G50 *)	Essai sur vermiculite à 11 °C (note de 0–15)
Vernandon	7,0	79,0
Michelite	6,0	73,3
Comtesse de Chambord	7,5	54,7
BF.11	9,0	68,0
Étendard	7,5	35,3
St Marcellin	10,5	35,0
S.412	10,5	34,0
Noir Hâtif	8,5	32,7
S.435	9,0	31,7
Irago	8,5	23,6
S.414	11,5	23,3
PI.163583	12,5	16,7
Geneva 1.161	11,5	13,3
Elsa	8,5	6,6
S.417	10,5	6,0
Contender	11,5	5,3
PI.109859	12,5	2,0
PI.226895	11,5	0,0

* G50 : nombre de jours pour atteindre 50% de germination.

agressifs, et que les précédents culturaux exercent une influence importante (Messiaen *et al.*, 1977).

Dans les sols provenant de prairies de graminées prédominent les souches de type «palmé-coralloïde», dans les sols cultivés en plantes annuelles peuvent prédominer les *Pythium sylvaticum* et *ultimum*. Mais l'estimation globale du pouvoir pathogène de ces microflores indique une agressivité moindre pour les précédents «céréales» que pour les précédents «légumineuses». Ces observations peuvent nous donner une indication sur le risque encouru en cas de semis précoce d'une variété à grain blanc ou flageolet vert.

On ne peut manquer par ailleurs de nous faire observer que l'usage de fongicides en traitement de semences peut enlever tout intérêt aux travaux exposés ci-dessus ! Pour approfondir ce point de vue, nous avons expérimenté l'enrobage des grains avec des fongicides d'usage courant (Thirame, Captane) ou expérimentaux (éthylphosphite d'aluminium, prothiocarbe, curzate, thiophanate-méthyl, métalaxyl) sur des grains de Noir Hâtif (moyennement sensible) et Elsa (très sensible). Alors que Noir Hâtif supporte sans phytotoxicité des doses allant jusqu'à 5 g de ma/kg de grains, Elsa manifeste une phytotoxicité importante à 2,5 g/kg pour tous les produits, la dose bien supportée en l'absence de *Pythium* ne dépassant pas 1,25 g/kg de grains.

Nous avons ensuite confronté sur vermiculite avec l'isolat P2, incubation à 11 °C, des grains d'Elsa, et des lignées à grains blanc sélectionnées pour une résistance d'un niveau assez faible, A27.1.4.1 et A54.1.2.3, avec ou sans enrobage fongicide.

Tableau X. Caractéristiques comparées de «PI226895» et «Vernandon».

	Vernandon	PI226895
Note <i>Pythium</i> P2 (vermiculite – 11° – 20°)	11,9	12,4
P11	15,0	15,0
P16	15,0	15,0
Épaisseur du tégument μ	132	213
Degré Brix	3,2	1,3
Sucres totaux (g/l)	0,73	0,49
Sucres réducteurs (g/l)	0,29	0,19
Leuco-anthocyanes (mg/l)	801	832

Le tableau XI exprime les résultats.

La «résistance», même faible, des 2 lignées «A» semble donc potentialiser l'effet des doses faibles de fongicides.

DISCUSSION ET CONCLUSION

Sans qu'il soit nécessaire de recourir aux croisements interspécifiques, il existe déjà chez *Phaseolus vulgaris* une variabilité importante pour la résistance aux *Pythium* et l'aptitude à germer et croître à basse température.

Ce sera chez des variétés à grains colorés en noir, rouge ou beige que l'on trouvera les moindres sensibilités aux *Pythium*. L'effet pléiotropique qu'exerce le gène p sur la couleur du grain, mais aussi sur l'épaisseur et la perméabilité du tégument et sa teneur en leucoanthocyanes rend peu probable l'obtention de variétés à grain blanc hautement résistantes aux *Pythium* les plus agressifs. Un faible niveau de résistance, sélectionnable avec une souche de type «palmé-coralloïde» permettrait cependant une meilleure émergence en conditions moyennes, et une meilleure efficacité de l'enrobage fongicide en conditions limites.

On pourrait à première vue renoncer à l'emploi de variétés à grains blancs pour la production précoce de filets fins ou de mange-tout. Cependant l'industrie les préfère, car les gousses des variétés à grains colorés contiennent des anthocyanes colorant en gris-bleu l'eau des boîtes.

Des essais de stérilisation réalisés avec des haricots verts provenant de lignées issues de (PI225895 x Elsa) ont montré que, si les jus de

Tableau XI. Interaction entre enrobage fongicide et résistance aux *Pythium* (notes de 0–15, souche P2).

Lignées	Fongicides (gma/kg de grains)					
	Metalaxyl			Captane		
	0,16	0,32	0,63	0,16	0,32	0,63
A27.1.4.1	14,4	15,0	15,0	12,3	15,0	15,0
A54.1.2.3	9,3	10,5	15,0	4,1	5,4	15,0
Elsa	0,3	4,8	15,0	0,0	0,0	15,0

Les témoins non traités étaient notés 0 dans les 3 cas.

cuisson présentait une coloration franchement désagréable pour les lignées à grains noirs, ils n'étaient que légèrement plus opaques que ceux des lignées à grain blanc dans le cas de celles à grain beige.

Le cas des flageolets verts est particulier : la qualité même du produit est liée à un caractère génétique à effet pléiotropique qui sensibilise aux *Pythium* le grain en germination. La prudence restera sans doute toujours nécessaire dans le choix de la date de semis pour ce type variétal, auquel on réservera si possible les précédents les moins favorables aux *Pythium*, et un enrobage fongicide à une dose tenant compte des risques de phytotoxicité.

REMERCIEMENTS

Les recherches exposées dans cet article ont été effectuées dans les laboratoires de la société Gautier & fils (13630 Eyragues), qui les a encouragées et rendues matériellement possibles au cours des années 1978-1981.

Nous remercions également :

- Mme le professeur N Paris (physiologie végétale - USTL Montpellier) pour ses précieux conseils à l'un d'entre nous dans le cadre de la rédaction d'une thèse;
- les chercheurs américains MH Dickson et MA Boettger qui nous ont fourni certaines de leurs lignées;
- P Touzard (établissements Clause) qui, ayant lui-même entrepris une étude analogue, nous a communiqué ses meilleurs géniteurs;
- H Bannerot (INRA-Versailles) qui nous a conseillés, et aidés à tirer quelques lignées de ses croisements interspécifiques. Qu'il nous pardonne d'avoir maltraité

sa variété Elsa qui, malgré sa germination délicate, reste la première variété moderne obtenue dans le type «flageolet vert» cher aux consommateurs français.

RÉFÉRENCES

- Dickson MH (1972) Breeding beans for germination and growth at lower temperatures. *Ann Rep Bean Improv Coop* 15, 49
- Dickson MH, Boettger MA (1979) Release of 12 root rot tolerant snap bean lines. *Ann Rep Bean Improv Coop* 22, 102
- Ginoux JP (1981) Étude des relations hôte-parasite dans le couple *Phaseolus vulgaris* - *Pythium ultimum*. Thèse doctorat d'université, USTL Montpellier, 199 p
- Hagedorn DJ, Rand RE (1978) Developing beans resistant to Wisconsin's root rot complex and bacterial brown spot. *Ann Rep Bean Improv Coop* 21, 59-61
- Hardwick RC (1971) The emergence and early growth of french and runner beans (*Phaseolus vulgaris* and *P. coccineus*) sown on different dates. *J Horticult Sci* 47, 395-410
- Lebreton P, Jay M, Voirin B (1967) Sur l'analyse qualitative et quantitative des flavonoïdes. *Chim Anal* 49, 375-383
- Messiaen CM, Barriere Y, Belliard Alonzo L, De la Tullaye B, Bouhot D (1977) Étude qualitative des *Pythium* dans quelques sols des environs de Versailles. *Ann Phytopathol* 9, 455-465
- Prakken R (1977) Crosses with some *Phaseolus* varieties which are "constantly pattern color". *Ann Rep Bean Improv Coop* 20, 35-38
- Schvester D, Rives M (1957) Résultats d'essais de traitements de semences de haricots contre la mouche des semis *Hylemia cilicrura*. *Phytophytopharm* 6, 35-41