

Field screening of groundnuts for resistance to seed infection by *Aspergillus flavus*(1)

V.K. MEHAN⁽²⁾, AMADOU BA⁽³⁾, D. McDONALD⁽²⁾, J.L. RENARD⁽⁴⁾, R.C.N. RAO⁽²⁾, S.JAYANTHI⁽²⁾

Summary. - A total of 1107 groundnut genotypes were screened for natural seed infection by *Aspergillus flavus* in replicated field trials at ICRISAT Center, Patancheru, India from 1984 to 1989. Selected genotypes were then evaluated for resistance to field infection of seed by *A. flavus* in advanced screening trials at ICRISAT Center and in Senegal in rainy and postrainy seasons during 1985-1990. Twenty genotypes were found resistant to seed infection by *A. flavus*. Of these, nine tested in Senegal also showed resistance in different environments. Resistance to field infection of seed by *A. flavus* stable across environments. Severe late-season drought, particularly during pod maturation, was important for effective resistance screening. Some genotypes susceptible to *in vitro* seed colonization by *A. flavus* (Exotic 6, U4-7-S, and VRR 245) showed resistance to seed infection in the field. Some of the field resistant genotypes (55-437, J44, U4-7-S, and VRR 245) have acceptable pod yields and commercial quality. The usefulness of such resistance is discussed.

Key words: *Aspergillus flavus*, *A. parasiticus*, seed infection, preharvest, resistance

INTRODUCTION

Several groundnut (*Arachis hypogaea* L.) genotypes have been shown by laboratory inoculation tests to have resistance in rehydrated, mature, stored, undamaged seeds to invasion and colonization by the aflatoxigenic *Aspergillus flavus* Link ex Fries (Mixon and Rogers, 1973; Mixon, 1986; Mehan and MacDonald 1984; Zambettakis *et al.*, 1981). Of these genotypes, some have been found to have preharvest resistance to seed infection by *A. flavus*, but others were susceptible (Davidson *et al.*, 1983; Kisyonbe *et al.*, 1985; Mehan *et al.*, 1986; Mehan *et al.*, 1987; Zambettakis *et al.*, 1981). Also, some genotypes that were rated as susceptible in laboratory inoculation tests have been found resistant to seed infection by *A. flavus* in the field (Kisyonbe *et al.*, 1985; Mehan *et al.*, 1987). The lack of complete agreement between results of resistance measured in the laboratory inoculation test and results of field tests indicates the risk involved in relying entirely upon the laboratory inoculation method for resistance screening. The field screening allows expression of resistances operating in shell and seed during different stages of development, while the laboratory test involves only test a resistance in mature seed. Evaluations of resistance in groundnuts to field infection of seeds by *A. flavus* have been limited to a few genotypes (Davidson *et al.*, 1983; Zambettakis *et al.*, 1981; Mehan *et al.*, 1986). This paper reports the results of field screening of large number of germplasm and breeding lines for resistance to seed infection by *A. flavus*.

MATERIALS AND METHODS

Preliminary screening trials were conducted at the ICRISAT Center (17° 3N lat, 78° 16 E long.), Patancheru, India.

(1) Submitted as Journal Article N° 1106 by the International Crops Research Institute for the Semi-Arid Tropics (ICRISAT).

(2) Legumes Program, ICRISAT, Patancheru P.O., A.P. 502 324, India.

(3) ISRA, Kaolack, Senegal.

(4) CIRAD/RHO, Montpellier, France.

Advanced screening trials were carried out at ICRISAT Center, India and at Niioro (13° 44' N lat., 15° 49' W long.) and Bamby (14° 42' N Lat., 16° 27' W long.) research stations of the Institut Senegalais de Recherches Agricoles (ISRA), Senegal.

Data on rainfall, and maximum and minimum temperatures during the crop seasons were obtained from ICRISAT and ISRA Meteorological Stations.

Preliminary screening trials at ICRISAT Center: screening of groundnut germplasm for resistance to field infection of seed by *A. flavus* was started at ICRISAT Center in the 1984 rainy season and continued in subsequent rainy (1985, 1986, 1987, 1988 and 1989) and postrainy seasons (1985/86 and 1988/89). A total of 1107 genotypes were screened during 1984-89. Details of the trials and genotypes are given in table II.

Rainy season trials: all rainy season trials were grown on the same field, a light, sandy loam soil. Single superphosphate (60 kg P₂O₅ ha⁻¹) was applied to all trials during land preparation. No irrigation was applied, the trials being solely rainfed.

All trials were carried out in triple lattice designs. Genotypes were grown in replicated plots of 2 rows 30 cm apart and 4 m long with seeds sown singly at 10 cm·spacing along the rows. The rainy season crops were grown on the flat.

Genotypes were harvested at maturity (spanish and valencia types were harvested at 108-110 days after sowing, and virginia runner types at 140 days after sowing), and the plants were arranged in inverted windrows to dry. After 3 days the pods were hand-picked and sun-dried until the seed moisture content was reduced to below 8%. From each plot yield, 100 seeds from undamaged mature, dried pods were examined for infection by *A. flavus* (Mehan *et al.*, 1986).

Postrainy season trials: postrainy season trials were on different fields, but all were light, sandy loam soils. Single superphosphate (60 kg P₂O₅ ha⁻¹) was applied during land preparation. The postrainy season crops were grown on raised beds. The trials were all irrigated, water being applied to field capacity at 7-day intervals until 95 days after sowing (DAS). Drought stress was imposed from 95 DAS until harvest (125 DAS) by withholding irrigation.

TABLE I. — Rainfall received by groundnut crops during the rainy seasons 1984 to 1989 at ICRISAT Center and in Senegal —
(*Pluviométrie sur les cultures d'arachide pendant la saison des pluies de 1984 à 1989 au centre ICRISAT et au Sénégal*)

Year (Année)	Sowing date (Date de semis)	Total rainfall received (mm) (<i>Pluviométric totale mm</i>)	Rain received by the crops at different stages of crop maturity (<i>Pluviométrie sur les cultures pendant les différentes étapes du développement des cultures</i>)					
			Days after sowing (Jours après semis)	1-30	31-60	61-90	91-110	
At ICRISAT Center⁽¹⁾ <i>(Au centre ICRISAT)</i>								
1984 5 July (5 juillet)								
1985	25 June (25 juin)	413.3	123.3	99.6	93.0	97.4		
1986	23 June (23 juin)	428.3	129.6	238.3	59.0	1.4		
1987	18 June (18 juin)	432.4	213.0	72.2	92.5	54.7		
1988	17 June (17 juin)	886.4	198.8	234.3	312.9	140.4		
1989	30 June (30 juin)	838.0	415.7	91.7	286.0	44.6		
In Senegal⁽²⁾ <i>(Au Sénégal)</i>								
1988	Nioro 14 July (Environment 1) (Nioro 14 juillet Situation 1)	869.4	369.1	342.7	157.6	0		
	Nioro 29 July (Environment 2) (Nioro 29 juillet Situation 2)	796.8	496.3	257.9	42.6	0		
1988	Bambey 4 August (Environment 3) (Bambey 4 août Situation 3)	592.2	436.5	154.3	1.4	0		
	Bambey 16 August (Environment 4) (Bambey 16 août Situation 4)	561.0	460.6	99.9	0.5	0		

(1) At ICRISAT Center, Spanish and valencia type genotypes were harvested at 108-110 days after sowing in the 1984, 1985, 1986 and 1987 rainy seasons. Virginia runner types were harvested at 140 days after sowing in the 1987, 1988 and 1989 rainy seasons. — (Au centre ICRISAT, la récolte des génotypes de type Spanish et Valencia a eu lieu 108-110 jours après le semis pour la saison des pluies en 1984, 1985, 1986 et 1987. La récolte des types Virginia Runner a eu lieu 140 jours après le semis pour la saison des pluies en 1987, 1988 et 1989).

(2) In Senegal, genotypes were harvested at 90-95 days after sowing in the 1988 rainy season. — (Au Sénégal, la récolte des génotypes a eu lieu 90-95 jours après le semis pour la saison des pluies en 1988.)

Genotypes were harvested at optimum maturity and plants dried in inverted windrows for 2 days. Pods were hand-picked, dried in the shade, and seed samples collected and examined for infection by *A. flavus* (Mechan et al., 1986).

Advanced screening trials at ICRISAT Center: from the 1984 rainy season preliminary screening trial 17 genotypes were selected that showed seed infection of less than 2%. These genotypes together with five checks (with known responses to *A. flavus* infection) were screened in replicated field trials in the 1985 and 1986 rainy seasons.

In the rainy season, 14 genotypes were screened. These included 11 genotypes that had shown resistance in one or more of the carrier screening trials (1984-1986) and the resistant (J 11) and susceptible (NC AC 17090 and JI 24) check cultivars.

In the 1989/90 postrainy season, 36 genotypes were evaluated for field resistance to seed infection by *A. flavus*. These included 31 genotypes that had shown seed infection levels of 2% in one or more of the earlier screening trials

(1984-1989) and the resistant (J 11) and susceptible (TMV 2, JL 24, NC AC 17090 and EC 76446-292) check cultivars.

Advanced screening trials in Senegal: in the 1988 rainy season, 12 genotypes were evaluated for field resistance to seed infection by *A. flavus* at two locations (Nioro and Bambey) in Senegal. In these locations soils are light and sandy and late-season drought stress is of common occurrence. Fertilizer (N:P:K-6:20:10) was applied at the rate of 150 kg ha⁻¹ at land preparation. Seeds of all genotypes were treated with Granox (benomyl 10%:captan 10% carbofuran 20%) at the rate of 2 g kg⁻¹ a few days before sowing. Normal cultural practices were followed and care taken to lift each genotype as it reached optimum maturity.

The 12 genotypes included 9 genotypes from previous screening trials, the resistant check J 11 and the susceptible checks EC 76446 (292) and 57-422. The genotypes were grown in 3 x 4 rectangular lattice designs at Nioro and Bambey. Plots were 6 m long by 4.8 m (8 rows) wide at Nioro, and 6 m long by 4 m (8 rows) wide at Bambey. Seeds were sown

TABLE II. — Distribution of 1007 groundnut genotypes in six arbitrary categories of percentage seed infected by *Aspergillus flavus*.
 (Répartition de 1007 génotypes sur six catégories arbitraires en fonction du pourcentage de graines infestées par *A. flavus*)

Year (Année)	Season (Saison)	Number of genotypes tested (Nombre de génotypes testés)	Number of genotypes in arbitrary categories of percentage seed infected by <i>A. flavus</i> (Répartition de 1007 génotypes sur six catégories arbitraires en fonction du pourcentage de graine infestées par <i>A. flavus</i>)					
			< 2	2.5	5.1 - 10.0	10.1 - 20.0	20.1 - 30.0	> 30.0
1984	rainy (pluies)	100 (67S+33Va) ⁽¹⁾	30	34	27	7	1	0
1985	rainy (pluies)	100 (68S+32Va)	28	41	27	2	2	0
1986	rainy (pluies)	196 (98S+98Va)	2	25	105	53	9	
1987	rainy (pluies)	100 (VR) ⁽²⁾	0	0	43	56	1	
1988	rainy (pluies)	100 (V) ⁽³⁾			-	-	-	
1989	rainy (pluies)	100 (VR)	4	47	48	1	0	0
1985/86	postrainy (sèches)	432 (269S+163Va)	1	16	53	156	140	66
1988/89	postrainy (sèches)	81 (26S+55Va)	0	13	27	25	7	7

(1) S = Spanish, Va = Valencia; J 11 (S) and EC 76446 (292) (Va) were used as check resistant and susceptible cultivars, respectively -- (S = spanish, V = Valencia ; J 11 (S) et EC 76446 (292) ont servi respectivement de variétés témoins résistantes et sensibles).

(2) VR = Virginia Runner; M 13 (VR) was used as a susceptible check cultivar. (VR = Virginia Runner, M 13 (VR) a servi de variété témoignante sensible).

(3) Data for the 1988 season are not indicated as the levels of seed infection were too low even in the susceptible check cultivars. (Les données pour la saison 1988 ne sont pas indiquées, puisque les taux d'infestation des graines sont insuffisants, même chez les variétés témoins sensibles).

singly at 15 cm spacing along the rows. At each location sowing was done two dates (12-days apart) providing two crop environments and so improving chances of obtaining drought stress. In the second sowing of the trial at Bambey one irrigation was applied 13 days before harvest as otherwise continuous severe drought stress would have seriously reduced yields. Genotypes were harvested at maturity (90-95 days after sowing), and plants were arranged in windrows with pods exposed to dry for four days. Mature pods were then picked from the plants and sun-dried to a seed moisture content of 5-6%. From each plot, 1 kg of mature, undamaged, dried pods were sampled for fungal infection as described by Mehan *et al.*, 1986).

Statistical analysis: the mean seed infection levels were estimated with their standard errors using analyses of variance performed separately on data from each trial. Genotypes that showed reactions to seed infection similar to that of the resistant check cultivar J 11 were considered resistant to *A. flavus*. Genotypes similar to J 11 in reaction to seed infection were grouped using a clustering technique (SAS 1985) based on their similarity arising from replicate-wise data. The similarities were based on one-sided distances only since the genotypes with infection levels equal to or less than that of J 11 were desirable.

Using arcsine transformed values, analysis of variance was performed for seed infection by *A. flavus*, over environments in Senegal. The locations and sowing dates used for the trial with 12 genotypes were regarded as four environments; 1 (Nioro-sowing 1), 2 (Nioro-sowing 2), 3 (Bambey-sowing 1), and 4 (Bambey-sowing 2).

RESULTS

At ICRISAT Center, moderate to severe drought stress was observed during the pod maturation in the 1984, 1986, 1987 and 1989 rainy season trials, but in 1988 rainfall was ample and well distributed through the growing season (Table I). In the postrainy season trials, drought stress was successfully induced by withholding irrigation during the late stages of pod maturation.

In Senegal, moderate to severe drought occurred during pod development in the trials environments 2, 3, and 4. Drought stress was not evident in environment 1 (Table I). The two locations (Nioro and Bambey) differed markedly in length of the rainy season and in rainfall pattern. Minimum and maximum air temperatures were similar at both locations (at Nioro: 28.7-37.5°C max., 18.6-25.4°C min.; at Bambey: 27.9-38°C max., 16.7-26.0°C min.).

Preliminary screening trials: in the rainy season trials, levels of seed infection by *A. flavus* ranged from 0 to 38% (1984, 0-22%; 1985, 0.3-25.3%; 1986, 1.3-38%; 1987, 6.1-28.6% and 1989, 1.0-11.7%). In the 1986 rainy season, levels of *A. flavus* infection ranged from 0.6 to 2.0 and 5.6 to 15.8 in the resistant (J 11) and susceptible (JL 24) check cultivars, respectively.

In the 1988 rainy season trial, the levels of infection in the susceptible check genotypes were too low (0-3%) to draw any conclusions.

Distributions of genotypes into six arbitrarily fixed categories of *A. flavus* infection levels are shown in Table II.

About 30 genotypes showed less than 2% seed infection levels in the 1984 and 1985 rainy seasons while only two genotypes had less than 2% seed infection in the 1986 season.

Three genotypes (ICG 1422, ICG 1818, and ICG 2238 that were selected from the 1984 season were found susceptible (showing 2% infection) to *A. flavus* infection in the 1985 season.

In the rainy season, levels of *A. flavus* infection ranged from 11.8 to 31.6% in the susceptible check cultivar M 13, while those in the 1989 season ranged from 4 to 22%.

Levels of seed infection ranged from 1 to 55.7% and from 1.7 to 38.7% in the 1985/86 and 1988/89 postrainy seasons, respectively. Of the 511 genotypes screened in these seasons, only one genotype had less than 2% seed infected (Table II).

Mean seed infection levels were higher in valencia group genotypes than in spanish ones; this being most pronounced in the 1985/86 and 1988/89 postrainy seasons (24.6% for valencias vs 18.4% for spanish types in 1985/86; 15.1% for valencias vs 7.12% for spanish types in 1988/89) than in the 1986 rainy season (10.2% for valencia vs 9.2% for spanish types).

A cluster analysis was used to group the test genotypes that were similar to cultivar J 11 in respect of seed infection by *A. flavus*. Seventeen genotypes clustered with J 11 in the 1984, 2 in the 1985, and 5 in the 1986 rainy seasons (Table III). None of the genotypes clustered with J 11 in the 1987 and 1989 rainy seasons.

Nine genotypes clustered with J 11 in the 1985/86 postrainy season and 5 in the 1988/89 postrainy season.

Advanced screening trials: levels of seed infection by *A. flavus* in genotypes tested in the 1985, 1986 and 1987 rainy season are given in the Table IV. Significant differences occurred between genotypes for *A. flavus* infection in all three seasons. Genotypes J 11, U 4-47-7, Exotic 6, Ah 7223, 55 437, PI 337394F, UF 71513, and Ah 7827 had significantly lower percentages of seed infected (0-2.7%) than the suscep-

TABLE IV. — Seed infection by *Aspergillus flavus* in groundnut genotypes in the 1985, 1986 and 1987 rainy seasons at ICRISAT Center (*Infestation des graines par Aspergillus flavus des genotypes d'arachide au centre ICRISAT pendant la saison des pluies en 1985, 1986 et 1987*)

ICG N° (N° ICG)	Identity (Identité)		Seed infected (%) (% de graines infestées)			
			Rainy seasons (Saison des pluies)	1985	1986	1987
1326	J 11		0.7	1.0	1.2	
1422	EC 21055		3.0	3.3	(1)	
1436	EC 21074		1.3	4.0		
1720	Spantex		1.7	3.3		
1811	Sakaria		1.7	3.7		
2359	Clark 8		2.3	3.3		
3241	EC 21075		2.7	3.3		
3251	EC 21089		2.7	3.7		
3263	U 4-47-7		1.7	1.7	1.0	
3336	Exotic 6		1.3	1.7	1.2	
3660	Comet		3.3	4.7		
3700	Ah 7223		1.3	1.7	1.0	
4106	Laichore		2.7	4.3		
4562	55 437		1.7	2.0	2.5	
4749	PI 337394F		0.7	2.3	1.5	
4888	Ah 7827		0.7	1.3	1.5	
7633	UF 71513		1.7	1.0	1.5	
	ICGV 86016		1.3	3.3	2.7	
Susceptible check cultivars <i>(Variétés témoin sensibles)</i>						
221	TMV 2		6.7	7.0	-	
1697	NC Ac 17090		15.0	24.3	15.0	
2716	EC 76446 (292)		15.7	17.3	19.5	
7827	JL 24		14.3	21.3	15.0	
	SE		(0.83)	(1.32)	(0.89)	

(1) = Not tested (non testé)

TABLE III. — Genotypes resistant to seed infection by *Aspergillus flavus* as identified by cluster analysis. (*Infestation des graines par A. flavus, selon l'analyse par regroupement*).

Year/Season (Année/Saison)	Similarity level (Taux de ressemblance)	Genotypes clustered with J 11 (ICG N°) (Genotypes regroupés avec J 11 N° ICG)	Range (Variation)	Mean (Moyenne)	S.D. (E.T.)	Seed infected (%) (% de graines infestées)	
						Range in the experiment (Limites de variation de l'expérience)	
1984 rainy (1984 pluies)	>96.0	1122, 1323, 1422, 1720, 1818, 2238, 2359, 3237, 3241, 3251, 3267, 3499, 3660, 3700, 4106, 6321, 7633	0.0-1.0	0.2	0.42	0.22-0	
1985 rainy (1985 pluies)	>98.5	3336, ICGV 86016	0.3-1.3	0.7	0.33	0.3-25.3	
1986 rainy (1986 pluies)	>96.3	1910, 9820, 10021, 10927, 10147	1.3-2.3	1.7	0.35	1.3-38.0	
1987 rainy (1987 pluies)		Nil	-	-	-	6.1-28.6	
1989 rainy (1989 pluies)		Nil	-	-	-	1.0-11.7	
1985/86 postrainy (1985/86 sèche)	>95.0	1173, 1292, 4681, 4589, 4749, 4750, 7412, 8477, 9407	2.0-5.0	2.8	0.76	1.0-55.7	
1988/89 postrainy (1988/89 sèche)	>96.0	1859, 1994, 10020, 10094, 10933	1.0-3.0	1.9	1.96	1.7-38.7	

table genotypes (EC 76446-292-), NC Ac 17090, JL 24, and TMV 2) but did not differ significantly from each other for the seed infection. In general, levels of seed infection were higher in the 1986 rainy season than those in the other seasons. Nine selected genotypes (from the 1984 and 1985 preliminary trials), viz. ICG 1422, ICG 1436, ICG 1720, ICG 1811, ICG 2359, ICG 3241, ICG 3251, ICG 3660, and ICG 4106 showed susceptible reactions to *A. flavus* (3% infection) in the 1986 season (Table IV).

Infection levels in 36 genotypes tested in the 1989/90 post-train season are shown in Table IV. Significant differences were noted between genotypes in respect of seed infection. Of these eight genotypes (ICG Nos. 1326, 3263, 3336, 3700, 4106, 4749, 4888 and 7633) had consequently shown 2% seed infection in earlier trials (1985-1987) (Table IV).

The mean percentage of seed infection by *A. flavus* in 12 genotypes tested in four environments in Senegal are given in Table VI. Significant genotypic differences occurred for

seed infection by *A. flavus* in all four environments. The genotypes J 11, U4-47, UF 71513, PI 337394F, Ah 7223, Ah 7223, 55-437, Exotic 6, U4-7-5, VRR 245, and 73-30 showed low levels of *A. flavus* infection (0.0-4.0%). The susceptible check genotypes EC 76446 (292) and 57-422 had significantly higher percentages of seed infected by *A. flavus* than all other genotypes in all four environments. Low levels of infection (0.0-5.6%) were recorded in seeds of all genotypes in environment 1. Seed infection levels were significantly higher across genotypes in environments 3 and 4 than the other environments (Table VI). Significant interactions were found between genotypes and environments for seed infection by *A. flavus*. This was most pronounced in the susceptible check genotypes EC 76446 (292) and 57-442.

TABLE V. — Seed infection by *Aspergillus flavus* in 36 groundnut genotypes in the 1989/90 postrainy season at ICRISAT Center (*Infestation des graines par Aspergillus flavus chez 36 génotypes d'arachide au centre ICRISAT pendant la saison sèche 1989/90*)

Genotype (Génotype)					
ICG N (N° ICG)	Identity (Identité)	Botanical variety (Variété botanique)	Country of origin (Pays d'origine)	Seed coat color (Couleur du tegument)	Seed infected (%) (% de graines infestées)
1122	Lin Yuchi Tsao	vulgaris	China (Chine)	Tan (Marron)	1.3
1173	Ah 61	vulgaris	India (Inde)	Tan (Marron)	1.0
1292	Ak 12-24-119	vulgaris	India (Inde)	Tan (Marron)	.3
1323	HG 1	vulgaris	India (Inde)	Tan (Marron)	1.3
1326	J 11	vulgaris	India (Inde)	Tan (Marron)	1.3
1859	EC 6902	vulgaris	.	Tan (Marron)	1.0
1994	TG 6	vulgaris	India (Inde)	Tan (Marron)	1.0
3263	U 4-47-7	vulgaris	Uganda (Ouganda)	Tan (Marron)	1.0
3267	EC 21120	vulgaris	USA	Tan (Marron)	1.3
3336	Exotic-6	vulgaris		Light tan (Marron clair)	1.7
3499	TMV 5	vulgaris	India (Inde)	Tan (Marron)	
3700	Ah 7223	vulgaris	Nigeria	Tan (Marron)	1.0
4562	55-437	vulgaris	Senegal	Light tan (Marron clair)	1.0
4589	EC 20964	vulgaris		Tan (Marron)	
4681	U4 7-5	vulgaris	USA	Tan (Marron)	1.3
4749	PI 337394F	fastigiata	Argentina (Argentine)	Tan (Marron)	1.0
4888	Ah 7827	vulgaris	China (Chine)	Tan (Marron)	1.0
6321	57-127	fastigiata	Burkina-Faso	Tan (Marron)	1.7
7101	VRR 245	vulgaris	India (Inde)	Tan (Marron)	2.0
7412	277/71	fastigiata	Zimbabwe	Tan (Marron)	0.7
7633	UF 71513	fastigiata	USA	Tan (Marron)	1.0
8477	RG 99	fastigiata	USA	Red (Rouge)	3.3
8666	Schwarz 21	vulgaris	Indonesia (Indonésie)	Tan (Marron)	
9407	61-40	fastigiata	Senegal	Tan (Marron)	2.0
9610	VRR 538	vulgaris	India (Inde)	Tan (Marron)	1.7
9820	RPM-INH 19	fastigiata	Mozambique	Tan (Marron)	0.7
10020	SPZ 457 (Flesh)	fastigiata	Peru (Pérou)	Tan (Marron)	3.3
10021	SPZ 457 (Purple)	fastigiata	Peru (Pérou)	Dark purple (Pourpre foncé)	2.0
10094	S 4	vulgaris	Zimbabwe	Tan (Marron)	4.7
10147	SAM Col. 292-2	fastigiata	.	Red (Rouge)	1.3
10927	SPZ 468 (Gasp)	fastigiata	Peru (Pérou)	Variegated (panaché)	3.7
10933	SPZ 474 (flesh)	fastigiata	Peru (Pérou)	Tan (Marron)	5.0
					1.3
Susceptible check cultivars (Variétés témoins sensibles)					
221	TMV 2	vulgaris	India (Inde)	Tan (Marron)	5.7
1697	NC Ac 17090	fastigiata	Peru (Pérou)	Tan (Marron)	16.3
2716	EC 76446 (292)	fastigiata	Uganda (Ouganda)	Purple (Pourpre)	21.0
7827	JL 24	fastigiata	India (Inde)	Tan (Marron)	16.7
	SE				±0.87

TABLE VI. — Seed infection by *Aspergillus flavus* in 12 groundnut genotypes in four environments in Senegal in the 1988 rainy season — (*Infestation des graines par Aspergillus flavus chez 12 génotypes d'arachide pendant la saison des pluies en 1988 dans quatre situations au Sénégal*).

Genotypes (Génotypes)	Seed infected (%) (% de graines infestées)			
	Environments (1) (Situation)			
	1	2	3	4
J11	0.0 (0.0) (2)	0.6 (3.8)	2.3 (8.7)	1.6 (7.3)
U4-47-7	0.0 (0.0)	0.6 (3.8)	1.6 (7.3)	2.3 (8.7)
U4-7-5	0.0 (0.0)	0.6 (3.8)	2.6 (9.3)	2.6 (9.4)
VRR 245	0.0 (0.0)	0.6 (3.8)	2.6 (9.3)	2.3 (8.7)
Exotic 6	0.0 (0.0)	0.6 (3.8)	1.6 (7.3)	3.0 (9.9)
UF 71513	0.3 (1.9)	0.6 (3.8)	2.0 (7.9)	1.6 (7.3)
PI 337394F	0.3 (1.9)	1.6 (7.3)	2.3 (8.7)	2.0 (7.9)
Ah 7223	0.0 (0.0)	1.0 (5.7)	1.6 (7.3)	2.6 (9.4)
55-437	0.3 (1.9)	1.3 (6.5)	3.0 (9.7)	2.0 (7.9)
73-30	0.0 (0.0)	2.3 (8.7)	4.0 (11.5)	2.6 (9.4)
57-422	1.0 (5.7)	5.6 (13.8)	17.3 (24.6)	23.0 (28.6)
EC 76446	5.6 (29.2)	33.3 (35.2)	30.3 (33.4)	19.0 (25.8)
SE	(± 1.136)			

(1) Environments: 1 = Nioro (sowing 1), 2 = Nioro (sowing 2), 3 = Bambe (sowing 1), 4 = Bambe (sowing 2) — (Situations : 1 = Nioro (1er semis), 2 = Nioro (2ème semis), 3 = Bambe (1er semis), 4 = Bambe (2ème semis)).

(2) Values in parentheses are sine transformations. (Les valeurs entre parenthèses ont subi une transformation angulaire).

DISCUSSION

In the present studies, effective resistance screening was possible only in the 1986 rainy and 1985/86 and 1988/89 postrainy seasons when there was significant drought stress during pod development and maturation, conditions known to favour seed infection by *A. flavus* (Davidson *et al.*, 1983; Hill *et al.*, 1983). Cultivar differences for *A. flavus* seed infection were conspicuous under severe drought stress situations both in the 1986 rainy season at ICRISAT Center and the 1988 rainy season in Senegal (environments 2, 3 and 4). This emphasizes the importance of intensity of terminal drought in determining the level of seed infection by *A. flavus* (Blankenship *et al.*, 1984; Hill *et al.*, 1983).

Of the 25 genotypes identified as resistant to seed infection by *A. flavus*, nine (J11, U4-47-7, Exotic 6, Ah 7223, 55-437, U4-7-5, PI 337394F, VRR 245, and UF 71513) showed consistently resistant reactions in all trials at ICRISAT and in Senegal. Some of these genotypes (J 11, U4-47-7, PI 337394F, UF 71513 and Ah 7223) have earlier been found resistant in several Indian locations (Mehan *et al.*, 1987). The present results provide additional confirmation of the resistance to *A. flavus* infection in these genotypes and of the stability of this resistance in different environments. How-

ever, the genotypes Exotic 6, U4-7-5 and VRR 245 susceptible to *in vitro* seed colonization by *A. flavus* showed resistance to seed infection in the field while two virginia runner genotypes Monir 240-30 and GFA 2, reported resistant to *in vitro* seed colonization by *A. flavus* (Mixon, 1986; Mehan and MacDonald, 1984) were found susceptible to natural seed infection. These results are in accord with the earlier findings of Kisoyombe *et al.* (1985) and Mehan *et al.* (1987) and emphasize that it can not be assumed that all genotypes resistant to *in vitro* seed colonization by *A. flavus* will show resistance to natural seed infection in the field, or that all genotypes susceptible to *in vitro* seed colonization will have susceptibility to field infection of seed by the fungus. This emphasizes the need to investigate the resistance mechanisms.

The moderate to severe preharvest droughts and favourable postharvest drying conditions in the trials indicate that most of the infection in the test genotypes originated prior to harvest. This emphasizes the presence of preharvest resistance to infection.

The genotypes having resistance to both *in vitro* seed colonization (useful postharvest) and preharvest seed infection may be used to minimize aflatoxin contamination in areas where contamination may occur either preharvest or postharvest. The existence of significant resistance in the commercial cultivars J 11 and 55-437 could be immediately useful in minimizing aflatoxin contamination in some environments. These cultivars are well adapted to rainfed conditions, and give acceptable yields in many drought-prone areas of India and Senegal (Mehan *et al.*, 1987; Mehan, unpublished; Zambettakis *et al.*, 1981). Aflatoxin contamination status of all components of the saleable yield should be determined as most assessments have concentrated on undamaged, mature seeds.

Evaluation of groundnut genotypes for resistance to seed infection by *A. flavus* in the field has generally been done on rainfed crops, which may or may not suffer from drought during pod development (Davidson *et al.*, 1983; Mehan *et al.*, 1986; Zambettakis *et al.*, 1981). Screening under imposed late-season drought stress in the postrainy season should be more effective in locations such as ICRISAT Center where temperatures during pod development and maturation are markedly higher in irrigated postrainy season crops (34.2-40.0 max; 17.3-26.7 min) than those in rainy season crops (25.2-34.5 max; 16.0-24.2 min). High temperatures in conjunction with late-season drought stress are known to favour infection by *A. flavus* and subsequent production of aflatoxins (Blankenship *et al.*, 1984).

Acknowledgments. — The first author is grateful to the ICRISAT administration for granting one year sabbatical study leave and to the ISRA, Senegal, and the CIRAD-IRHO, Montpellier (France) for providing the opportunity to spend two periods of six months as Visiting Scientist in the Pathology Subprograms of the respective Institutes. The authors are grateful to Dr. A. Bockele-Morvan, Director, Annual Oil Crops Division, IRHO, Paris (France) for coordinating the research in Senegal and France and for providing financial support. Sincere thanks are also due to Dr. R. Schilling, Deputy Director, IRHO-CIRAD, Montpellier (France) for providing research facilities in Montpellier. The authors are extremely thankful to Dr. L. Cissé, Director, Department of Crop Production, ISRA, Dakar, Senegal, for providing excellent support and facilities for conducting field trials in Senegal. Cooperation and assistance received from Dr. A. Rouzière, Technologist (Groundnut), ISRA, Kaolack, and Dr. J.C. Mortreuil, Groundnut Breeder, ISRA, Bambe, in conducting field trials in Senegal is much appreciated. We greatly appreciate the assistance given by Mr. Emilien Sarr, Mr. Mamadou Dia, Mr. Saliou and Mr. Ibrah Fall, Technical Assistants, ISRA, Kaolack/Bambe, Senegal.

REFERENCES

- [1] BLANKENSHIP P.D., COLE R.J., SANDERS T.H. and HILL R.A. (1984). — Effect of geocarposphere temperature on preharvest colonization of drought-stressed peanut by *Aspergillus flavus* and subsequent aflatoxin contamination. *Mycopathologia*, **85**, 69-74.
- [2] DAVIDSON J.L., HILL R.A., COLE R.J., MIXON A.C., and HENNING R.J. (1983). — Field performance of two peanut cultivars relative to aflatoxin contamination. *Peanut Sci.*, **10**, 43-47.
- [3] HILL R.A., BLANKENSHIP P.D., COLE R.J. and SANDERS T.H. (1983). — Effects of soil moisture and temperature on preharvest invasion of peanuts by *Aspergillus flavus* group and subsequent aflatoxin development. *Applied Environ. Microbiol.*, **45**, 628-633.
- [4] KISYOMBE C.T., BUETE M.K. and PAYNE G.A. (1985). — Field evaluation of peanut genotypes for resistance to infection by *Aspergillus parasiticus*. *Peanut Sci.*, **12**, 12-17.
- [5] MEHAN V.K. and McDONALD D. (1984). — Research on the aflatoxin problem in groundnut at ICRISAT. *Plant and soil*, **79**, 255-260.
- [6] MEHAN V.K., McDONALD and RAJAGOPALAN K. (1987). — Resistance of peanut genotypes to seed infection by *Aspergillus flavus*, in field trials in India. *Peanut Sci.*, **14**, 17-21.
- [7] MEHAN V.K., McDONALD and RAMAKRISHNA N. (1986). — Varietal resistance in peanut to aflatoxin production. *Peanut Sci.*, **13**, 7-10.
- [8] MIXON A.C. (1986). — Reducing *Aspergillus* species infection of peanut seed using resistant genotypes. *J. Environ. Qual.*, **15**, 101-103.
- [9] MIXON A.C. and ROGERS K.M. (1973). — Peanut accessions resistant to seed infection by *Aspergillus flavus*. *Agron. J.*, **65**, 560-562.
- [10] SAS INSTITUTE INC. (1985). — User's Guide Statistics, Version 5 Edition, NC:SAS Institute.
- [11] ZAMBETAKIS CH., WALIYAR F., BOCKELFF, MORVAN A. and PINS O. de (1981). — Results of four years of research on resistance of groundnut varieties to *Aspergillus flavus*. *Oleagineux*, **36**, (7), 377-385.

RÉSUMÉ

Criblage au champ de l'arachide pour la résistance à l'infestation des graines par *Aspergillus flavus*.

V.K. MEHAN, AMADOU BA, D. McDONALD, J.L. RENARD, R.C.N. RAO, S. JAYANTHI, *Oléagineux*, 1991, **46**, N° 3, p. 109-118.

1107 génotypes d'arachide, au total, ont été criblés pour l'infestation naturelle des graines par *Aspergillus flavus* dans des essais avec répétitions au champ centre ICRISAT, à Patancheru, Inde, de 1984 à 1989. Par la suite, les plus intéressants ont été évalués pour leur résistance à l'infestation des graines au champ par *Aspergillus flavus* dans des essais de criblage plus poussés au centre ICRISAT et au Sénégal pendant la saison des pluies et la saison sèche de 1985 à 1990. Vingt-cinq génotypes se sont avérés résistants à l'infestation des graines par *Aspergillus flavus*, dont neuf testés au Sénégal ont également montré leur résistance dans des situations différentes. La résistance à l'infestation des graines au champ par *A. flavus* est restée stable dans toutes les situations. Une sécheresse sévère en fin de culture, surtout pendant la maturation des goussettes, a joué un rôle important pour un bon criblage de la résistance. Certains génotypes sensibles à la colonisation *in vitro* des graines par *A. flavus* (Exotic 6, U4-7-5 et VRR 245) ont présenté une résistance à l'infestation des graines au champ. Le rendement en gousse et la qualité commerciale de certains génotypes résistants au champ (55-437, J 11, U4-7-5 et VRR 245) sont satisfaisants. L'intérêt d'une telle résistance est considéré.

RESUMEN

Selección de campo del maní para la resistencia a la infestación de las semillas por *Aspergillus flavus*.

V.K. MEHAN, AMADOU BA, D. McDONALD, J.L. RENARD, R.C.N. RAO, S. JAYANTHI, *Oléagineux*, 1991, **46**, N° 3, p. 109-118.

Un total de 1107 genotipos de maní se seleccionaron para lograr una infestación natural de las semillas por *Aspergillus flavus* en las pruebas con repeticiones de campo, en el centro ICRISAT, en Patancheru, en la India, de 1984 a 1989. Más adelante, los más interesantes se evaluaron para su resistencia a la infestación de las semillas en el campo por *Aspergillus flavus*, en pruebas de selección más detenidas en el centro ICRISAT y en Senegal durante el período lluvioso y el período seco, de 1985 a 1990. Veinticinco genotipos resultaron resistentes a la infestación de las semillas por *Aspergillus flavus*, de los cuales nueve probados en Senegal también demostraron ser resistentes en situaciones diferentes. La resistencia a la infestación de las semillas en el campo por *A. flavus* se mantuvo estable en todas las situaciones. Una sequía severa al final de la etapa de cultivo, particularmente en la fase de maduración de los frutos, desempeñó un papel importante en la buena selección de la resistencia. Algunos genotipos sensibles a la colonización *in vitro* de las semillas por *A. flavus* (Exotic 6, U4-7-5 y VRR 245) mostraron una resistencia a la infestación de las semillas en el campo. El rendimiento de frutos y la calidad comercial de algunos genotipos resistentes en el campo (55-437, J 11, U4-7-5 y VRR 245) son satisfactorios. Se considera el interés que ofrece semejante resistencia.

Criblage au champ de l'arachide pour la résistance à l'infestation des graines par *Aspergillus flavus*(1)

V.K. MEHAN⁽²⁾, AMADOU BA⁽³⁾, D. McDONALD⁽²⁾, J.L. RENARD⁽⁴⁾, R.C.N. RAO⁽²⁾, S. JAYANTHI⁽²⁾

Mots-clés : *Aspergillus flavus*, *A. parasiticus*, infestation des graines, pré récolte, résistance.

INTRODUCTION

Des tests d'inoculation au laboratoire ont mis en évidence la résistance de plusieurs génotypes d'arachide (*Arachis hypogaea L.*) à l'invasion et la colonisation des graines réhydratées, mûres, stockées et intactes par l'*Aspergillus flavus* Link ex Fries aflatoxigène (Mixon et Rogers, 1973; Mixon, 1986; Mehan et McDonald, 1984; Zambettakis *et al.*, 1981). Certains de ces génotypes présentent une résistance avant récolte à l'infestation des graines par *A. flavus*, mais d'autres sont sensibles (Davidson *et al.*, 1983; Kisyombe *et al.*, 1985; Mehan *et al.*, 1986; Mehan *et al.*, 1987; Zambettakis *et al.*, 1981). D'ailleurs, certains génotypes qui se montrent sensibles dans des tests au laboratoire sont résistants à l'infestation des graines au champ par *A. flavus* (Kisyombe *et al.*, 1985; Mehan *et al.*, 1987). Le manque de concordance entre les résultats de résistance mesurés dans les tests d'inoculation au laboratoire et dans les essais au champ met en évidence le risque encouru si l'on se base exclusivement sur la méthode d'inoculation au laboratoire pour la recherche de la résistance. Le criblage au champ permet l'expression des phénomènes de résistance qui opèrent dans la coque et dans la graine pendant les différentes étapes du développement, tandis que les tests de laboratoire ne considèrent que la résistance du tégument des graines mûres. Les évaluations de la résistance de l'arachide à l'infestation des graines au champ par *A. flavus* se limitent à quelques génotypes (Davidson *et al.*, 1983; Zambettakis *et al.*, 1981; Mehan *et al.*, 1986). Cet article donne les résultats du criblage au champ d'un grand nombre de variétés et de lignées utilisées dans les programmes de sélection pour la résistance à l'infestation des graines par *A. flavus*.

MATÉRIEL ET MÉTHODE

Des essais de criblage préliminaires ont été réalisés au centre ICRISAT (Lat. 17° 3' N, Long. 78° 16' E), Patancheru, Inde. Des essais de criblage plus poussés ont été effectués au centre ICRISAT, Inde, et sur les stations de recherche de l'Institut Sénégalaïs de Recherches Agricoles à Niior (Lat. 13° 44' N, Long. 15° 49' O) et Bambez (Lat. 14° 42' N, Long. 16° 27' O) au Sénégal.

Les données sur la pluviométrie et les températures minima et maxima pendant les saisons culturelles proviennent des postes météorologiques de l'ICRISAT et de l'ISRA.

Essais de criblage préliminaires au centre ICRISAT: le criblage du matériel génétique d'arachide au centre ICRISAT pour la résistance à l'infestation des graines au champ par *A. flavus* a commencé pendant la saison des pluies en 1984 et a été poursuivi pendant la saison des pluies en 1985, 1986, 1987, 1988 et 1989, et pendant la saison sèche (1985/86 et 1988/89). 1107 génotypes ont été criblés en tout pendant la période 1984/89. Des détails sur les essais et les génotypes sont donnés dans le tableau II.

Essais réalisés pendant la saison des pluies: tous ces essais ont été semés sur un même terrain, sur un sol sablo-limoneux léger. Du

phosphate super simple (60 kg P₂O₅/ha¹) est appliqué sur tous les essais pendant la préparation du terrain. Les essais ne reçoivent pas d'irrigation complémentaire, étant uniquement pluviaux.

Tous les essais sont semés suivant un dispositif en lattice triple. Les génotypes sont semés dans des parcelles avec répétitions de deux lignes de 4 m, espacées de 30 cm, avec un écartement de 10 cm entre les graines sur la ligne. Les cultures pluviales sont semées sur un terrain plat.

La récolte a lieu lorsque les génotypes atteignent la maturité (les variétés Spanish et Valencia ont été récoltées à 108-110 jours après le semis, et les variétés Virginia Runner à 140 jours après le semis), et les pieds sont mis à sécher les gousses en l'air dans les andains. Après 3 jours, les gousses sont récoltées manuellement et séchées au soleil pour ramener la teneur en eau des graines en dessous de 8 %. Ces graines provenant de gousses intactes, mûres et sèches sont choisies dans la production de chaque parcelle et examinées pour l'infestation par *A. flavus* (Mehan *et al.*, 1986).

Essais réalisés pendant la saison sèche: ces essais ont été semés sur différents terrains, mais toujours sur un sol sablo-limoneux léger. Du phosphate super simple (60 kg P₂O₅/ha¹) est appliqué pendant la préparation du terrain. Les cultures de saison sèche sont semées sur des planches surélevées. Les essais reçoivent tous une irrigation complémentaire jusqu'à la capacité du champ, tous les 7 jours jusqu'à 95 jours après le semis (JAS). Un stress hydrique est imposé de 95 JAS jusqu'à la récolte (125 JAS) par l'arrêt de l'irrigation.

Les génotypes sont récoltés au moment de leur maturité maximale et les pieds sont séchés pendant deux jours dans les andains, les gousses en l'air. Les gousses sont récoltées manuellement et des échantillons de graines sont pris et examinées pour l'infestation par *A. flavus* (Mehan *et al.*, 1986).

Essais plus poussés au centre ICRISAT : 17 génotypes présentant un taux d'infestation des graines de moins de 2 % ont été choisis à partir de l'essai de criblage préliminaire conduit pendant la saison des pluies en 1984. Ces génotypes, auxquels viennent se rajouter cinq témoins (dont les réponses à l'infestation par *A. flavus* sont connues) ont été criblés dans des essais à répétition au champ pendant la saison des pluies en 1985 et 1986.

14 génotypes ont été criblés pendant la saison des pluies en 1987, dont 11 génotypes qui s'étaient montrés résistants au cours d'un ou plusieurs essais antérieurs (1984-1986), et les variétés témoins J 11 (résistante), NC Ac 17090 et JL 24 (sensibles).

36 génotypes ont été évalués pendant la saison sèche en 1989/90 pour leur résistance à l'infestation des graines au champ par *A. flavus*, dont 31 génotypes qui avaient présenté un taux d'infestation des graines de moins de 2 % au cours d'un ou plusieurs essais antérieurs (1984-1989), et les variétés témoins J 11 (résistante), TMV 2, JL 24, NC Ac 17090 et EC 76446 (92) (sensibles).

Essais de criblage plus poussés au Sénégal : 12 génotypes ont été évalués pendant la saison des pluies en 1988 sur deux sites (Niior et Bambez) au Sénégal pour leur résistance à l'infestation des graines au champ par *A. flavus*. Les sols sur ces sites sont légers et sableux, et la sécheresse est fréquente en fin de saison. De l'engrais (N:P:K-6:20:10) a été appliqué à la dose de 150 kg ha⁻¹ pendant la préparation du terrain. Les graines provenant de tous les génotypes ont été traitées quelques jours avant le semis au Granox (benomyl 10 % : captafol 10 % : carbofuran 20 %) à une dose de 2 g kg⁻¹. Les techniques culturales normales ont été pratiquées, et chaque génotype a été récolté exactement au moment de sa maturité optimale.

(1) Soumis en tant qu'article N° 1106 par l'International Crops Research Institute for the Semi-Arid Tropics (ICRISAT-Inde).

(2) Programme Légumineuses, ICRISAT, Patancheru P.O., A.P. 502 324, India.

(3) ISRA, Kaolack, Senegal.

(4) CIRAD/IIRHO, Montpellier, France.

Ces 12 génotypes comprennent neuf génotypes provenant des essais de criblage antérieurs, le témoin résistant J 11 et les témoins sensibles EC 76446 (292) et 57-422. Les génotypes ont été semés selon un dispositif en lattice rectangulaire 3 x 4 à Niioro et à Bambeuy. Les parcelles faisaient 6 m de long sur 4,8 m (8 lignes) de large à Niioro, et 6 m de long sur 4 m (8 lignes) de large à Bambeuy. Les graines ont été semées individuellement, espacées de 15 cm sur la ligne. Le semis a été effectué à deux dates différentes (12-14 jours entre les deux semis) pour obtenir deux situations culturelles et améliorer ainsi les chances d'obtenir un stress hydrique. Le second semis de l'essai à Bambeuy a reçu une irrigation 43 jours après le semis pour éviter qu'un stress hydrique continu ne réduise les rendements de façon trop importante. Les génotypes ont été récoltés à maturité (90-95 jours après le semis) et les pieds mis à sécher en andains pendant quatre jours, les gousses vers le haut. Les gousses mûres ont ensuite été récoltées et séchées au soleil pour obtenir une teneur en eau de 5-6 %. Un échantillon d'1 kg de gousses mûres, intactes et sèches provenant de chaque parcelle a été testé pour l'infestation fongique, selon la méthode décrite par Mehan *et al.* (1986).

Analyse statistique: les taux moyens d'infestation des graines et les écarts types sont estimés par des analyses de variance individuelles, réalisées sur les données pour chaque essai. Les génotypes dont la réponse à l'infestation des graines est proche de celle de la variété témoin résistante J 11, sont considérés résistants à *A. flavus*. Ces génotypes sont rassemblés selon une technique de regroupement (SAS 1985), basée sur leur ressemblance révélée par les données provenant des répétitions. Ces ressemblances se basent uniquement sur des distances unilatérales, puisque seuls les génotypes dont le taux d'infestation est égal ou inférieur au taux du J 11 sont désirables.

En utilisant des valeurs ayant subi une transformation angulaire, une analyse de variance est réalisée pour la résistance à l'infestation des graines par *A. flavus* dans les différentes situations du Sénégal. Les sites et les dates de semis de l'essai comportant 12 génotypes ont été répartis en 4 situations: 1 (Niioro - 1er semis), 2 (Niioro - 2ème semis), 3 (Bambeuy - 1er semis) et 4 (Bambeuy - 2ème semis).

RÉSULTATS

Un stress hydrique modéré, voire important a été observé au centre ICRISAT pendant la maturation des gousses dans les essais pendant la saison des pluies en 1984, 1986, 1987 et 1989, mais les pluies étaient abondantes et bien réparties sur la saison culturelle en 1988 (Tabl. I). Dans les essais pendant la saison sèche, un stress hydrique a pu être imposé en arrêtant l'irrigation pendant les dernières étapes de la maturation des gousses.

Un stress hydrique modéré, voire important, est survenu au Sénégal pendant la maturation des gousses dans les essais des situations 2, 3 et 4. Aucun stress hydrique n'a été observé dans la situation 1 (Tabl. I). Il y a une très grande différence entre les deux sites (Niioro et Bambeuy) en ce qui concerne la longueur de la saison des pluies et la répartition des pluies. Les températures minima et maxima sur les deux sites sont comparables (à Niioro: max. 28,7-37,5°C, min. 18,6-25,4°C; à Bambeuy: max. 27,9-38,5°C, min. 16,7-26,0°C).

Essais de criblage préliminaires: dans les essais pendant la saison des pluies, les taux d'infestation des graines par *A. flavus* vont de 0 à 38 (1984, 0-22%; 1985, 0,3-25,3%; 1986, 1,3-38%; 1987, 6,1-28,6% et 1989, 1,0-11,7%). Les taux d'infestation par *A. flavus* pour la saison des pluies en 1986 vont de 0,6 à 2,0 et de 5,6 à 15,8 respectivement pour les variétés résistante (J 11) et sensible (JL 24).

Les taux d'infestation chez la variété témoin sensible dans l'essai de saison des pluies en 1988 étaient trop bas (0,3%) pour permettre d'en tirer des conclusions.

La répartition des génotypes sur six catégories de taux d'infestation par *A. flavus*, fixées arbitrairement, est donnée dans le tableau II. Une trentaine de génotypes présentent des taux d'infestation des graines inférieurs à 2 % pour la saison des pluies en 1984 et 1985, tandis que deux génotypes seulement présentent des taux inférieurs à 2 % pour la saison 1986.

Trois génotypes (ICG 1422, ICG 1818 et ICG 2238) choisis à l'issue de la saison 1984 se sont montrés sensibles (taux d'infestation 2%) à l'infestation par *A. flavus* pendant la saison 1985.

Les taux d'infestation par *A. flavus* chez la variété témoin sensible (M 13) vont de 11,8 à 31,6 % pendant la saison des pluies en 1987, et de 4 à 22 % en 1989.

Les taux d'infestation des graines vont de 1 à 55,7 % et de 1,7 à 38,7 % respectivement pour la saison sèche en 1985/86 et 1988/89.

Sur les 511 génotypes criblés pendant ces deux périodes, un seul a un taux d'infestation des graines inférieur à 2 % (Tabl. II).

Les taux moyens d'infestation des graines sont plus élevés chez les génotypes du groupe Valencia que chez ceux du groupe Spanish; ce phénomène est plus marqué pour la saison sèche en 1985/86 et 1988/89 (24,6 % chez les Valencia contre 18,4 % chez les Spanish en 1985/86; 15,1 % chez les Valencia contre 7,12 % chez les Spanish en 1988/89) que pour la saison des pluies en 1986 (10,2 % chez les Valencia contre 9,2 % chez les Spanish).

Une analyse par regroupement a été réalisée pour rassembler les génotypes des essais dont le comportement vis-à-vis de l'infestation des graines par *A. flavus* est proche du comportement de la variété J 11. Dix-sept génotypes se regroupent avec J 11 pour la saison des pluies en 1984, 2 pour 1985 et 5 pour 1986 (Tabl. III). Aucun génotype ne se regroupe avec J 11 pour la saison des pluies en 1987 et 1989.

Neuf génotypes se regroupent avec J 11 pour la saison sèche en 1985/86, et 5 pour celle de 1988/89.

Essais de criblage plus poussés: les taux d'infestation des graines par *A. flavus* chez les génotypes testés pendant la saison des pluies en 1985, 1986 et 1987 sont donnés dans le tableau IV. L'on observe une différence significative entre les génotypes en ce qui concerne l'infestation par *A. flavus* pour les trois saisons. Les pourcentages de graines infestées chez les génotypes J 11, U 4-47-7, Exotic 6, Ah 7223, 55-437, PI 337394F, UF 71513 et Ah 7827 sont nettement moins élevés (0,27 %) que chez les génotypes sensibles (EC 76446 (292), NC Ac 17090, JL 24 et TMV 2), mais il n'y a pas de différence significative entre eux en ce qui concerne le taux d'infestation des graines. Le taux d'infestation des graines est généralement plus élevé pour la saison des pluies 1986 que pour les autres saisons. Neuf génotypes choisis dans les essais préliminaires en 1984 et 1985, à savoir ICG 1422, ICG 1436, ICG 1720, ICG 1811, ICG 2359, ICG 3241, ICG 3251, ICG 3660 et ICG 4106 se montrent sensibles à l'infestation par *A. flavus* (taux d'infestation 3%) pour la saison 1986 (Tabl. IV).

Les taux d'infestation chez 36 génotypes testés pendant la saison sèche en 1989/90 sont donnés dans le tableau V. Il existe des différences significatives entre les génotypes en ce qui concerne l'infestation des graines. Vingt-cinq génotypes présentent un taux d'infestation des graines 2%, dont huit (ICG 1326, 3263, 3336, 3700, 4106, 4749, 4888 et 7633) ont présenté systématiquement un taux d'infestation des graines 2% au cours des essais antérieurs (1985-1987) (Tabl. IV).

Les pourcentages moyens de graines infestées par *A. flavus* chez 12 génotypes testés dans quatre situations au Sénégal sont donnés dans le tableau VI. Il existe des différences génotypiques significatives en ce qui concerne l'infestation des graines par *A. flavus* dans chacun des quatre situations. Les génotypes J 11, U4477, UF 71513, PI 337394F, Ah 7223, 55-437, Exotic 6, U475, VRR 245 et 73-30 présentent des taux d'infestation par *A. flavus* peu élevés (0,0-4,0%). Les génotypes témoins sensibles EC 76446 (292) et 57-422 présentent des pourcentages de graines infestées par *A. flavus* largement plus élevés que tous les autres génotypes dans chacune des quatre situations. Les taux d'infestation sont peu élevés (0,0-5,6%) pour tous les génotypes dans la situation 1. Les taux d'infestation des graines sont largement plus élevés chez tous les génotypes dans les situations 3 et 4 que dans les autres situations (Tabl. VI). Les interactions entre les génotypes et les situations sont significatives en ce qui concerne l'infestation des graines par *A. flavus*. Ce phénomène est plus marqué chez les génotypes témoins sensibles EC 76446 (292) et 57-422.

DISCUSSION

Un criblage efficace de la résistance n'a été possible dans ces essais que pendant la saison des pluies en 1986 et pendant la saison sèche en 1985/86 et 1988/89, lorsque le stress hydrique pendant le développement et la maturation des gousses a été important, ce qui favorise l'infestation des graines par *A. flavus* (Davidson *et al.*, 1983; Hill *et al.*, 1983). Les variations entre les variétés vis-à-vis de l'infestation des graines par *A. flavus* sont marquées dans des conditions de stress hydrique important pendant la saison des pluies en 1986 au centre ICRISAT et pendant la saison des pluies en 1988 au Sénégal (situations 2, 3 et 4). Ceci souligne l'influence de l'intensité de la sécheresse en fin de maturation sur les taux d'infestation des graines par *A. flavus* (Blankenship *et al.*, 1984; Hill *et al.*, 1983).

Sur les 25 génotypes dont la résistance à l'infestation des graines par *A. flavus* est reconnue, neuf (J 11, U 4-47-7, Exotic 6, Ah 7223,

55-437, U4-7-5, PI 337394F, VRR 245 et UF 71513) ont présenté systématiquement des réponses de résistance dans tous les essais à l'ICRISAT et au Sénégal. Certains de ces génotypes (J 11, U4-47-7, PI 337394F, UF 71513 et Ah 7223) s'étaient déjà montrés résistants sur plusieurs sites en Inde (Mehan *et al.*, 1987). Les résultats présentés ici représentent une confirmation supplémentaire de la résistance à l'infestation par *A. flavus* chez ces génotypes et de sa stabilité dans différentes situations. Pourtant, les génotypes Exotic 6, U4-7-5 et VRR 245, sensibles à la colonisation *in vitro* des graines par *A. flavus*, se sont montrés résistants à l'infestation des graines au champ, tandis que deux génotypes de type Virginia Runner, Monir 240-30 et GFA 2, dits résistants à la colonisation *in vitro* des graines par *A. flavus* (Mixon, 1986; Mehan et McDonald, 1984), se sont montrés sensibles à l'infestation naturelle des graines. Ces résultats concordent avec les travaux antérieurs de Kisayombe *et al.* (1985) et Mehan *et al.* (1987), et soulignent l'impossibilité de conclure que tous les génotypes présentant une résistance à la colonisation *in vitro* des graines par *A. flavus* présenteront une résistance à l'infestation naturelle des graines au champ, ou que tous les génotypes sensibles à la colonisation des graines *in vitro* seront sensibles à l'infestation des graines au champ par le champignon, ce qui souligne l'importance d'étudier les mécanismes de résistance.

La sécheresse pré-récolte modérée, voire importante et les conditions de séchage favorables après la récolte indiquent que la plus grande partie de l'infestation chez les génotypes témoins aurait lieu avant la récolte, ce qui souligne la présence d'une résistance pré-récolte à l'infestation.

Les génotypes résistants à la fois à la colonisation *in vitro* des graines (utile après la récolte) et à l'infestation des graines avant la récolte pourraient être exploités pour minimiser la contamination par les aflatoxines dans les endroits où la contamination risque de survenir soit avant, soit après la récolte. L'existence d'une importante résistance chez les variétés commerciales J 11 et 55-437 pourrait être exploitée immédiatement pour minimiser la contamination par les aflatoxines dans certaines situations. Ces variétés sont bien adaptées à la culture pluviale, et donnent des rendements satisfaisants dans de nombreuses régions de l'Inde et du Sénégal (Mehan *et al.*, 1987; Mehan, non publié; Zambettakis *et al.*, 1981). Les risques de contamination par les aflatoxines doivent être déterminés pour tous les composants de la production commercialisable, puisque la plupart

des évaluations réalisées à ce jour se sont limitées à des graines mûres et intactes.

L'évaluation des génotypes d'arachide pour la résistance à l'infestation des graines au champ par *A. flavus* s'est basée en général sur les cultures pluviales, dont certaines subissent une sécheresse pendant le développement des gousses (Davidson *et al.*, 1983; Mehan *et al.*, 1986; Zambettakis *et al.*, 1981). Le criblage pendant un stress hydrique force vers la fin de la saison sèche devrait être plus efficace sur des sites tels le centre ICRISAT, où les températures pendant le développement et la maturation des gousses chez les cultures irriguées de la saison sèche sont nettement plus élevées (max. 34,2-40,0°C, min. 17,3-26,7) que chez les cultures de la saison des pluies (max. 25,2-34,5°C, min. 16,024,2). Les températures élevées, rajoutées à un stress hydrique en fin de culture, favorisent l'infestation par *A. flavus* et la production d'aflatoxines qui s'ensuit (Blankenship *et al.*, 1984).

Remerciements — Le premier auteur est très reconnaissant à l'administration de l'ICRISAT, qui lui a accordé un congé sabbatique d'un an, et à l'ISRA, Sénégal et au CIRAD IRHO, Montpellier (France) qui lui ont permis de passer deux périodes de six mois en tant que chercheur invité dans le cadre des sous-programmes Pathologie des deux Instituts. Les auteurs souhaitent remercier le Dr. A. Bockelée-Morvan, Directeur de la Division Oleagineux Annuels de l'IRHO, Paris (France) d'avoir coordonné les recherches au Sénégal et en France et d'en avoir assuré le financement. Nos remerciements vont également au Dr. R. Schilling, Directeur Adjoint de la Division Oléagineux Annuels de l'IRHO-CIRAD, Montpellier (France) qui a assuré les moyens de travail à Montpellier, et au Dr. L. Cisse, Directeur du Département Production Agricole à l'ISRA, Dakar, Sénégal, qui nous a apporté son soutien précieux et qui a assuré les moyens nécessaires à la conduite des essais au champ au Sénégal. Nous avons apprécié la coopération et le soutien des Dr. A. Rouzière, technologue (arachide) à l'ISRA, Kaolack, et J.C. Mortreuil, sélectionneur arachide à l'ISRA, Bambeypour la conduite des essais au champ au Sénégal. Nous tenons également à remercier MM. Emilien Sarr, Mamadou Dia, Saliou Sy et Ibrah Fall, assistants techniques à l'ISRA, Kaolack/Bambeypour le Sénégal.