

IMPORTANCE DE L'HUMIDITE RELATIVE DE L'AIR ET DE LA TEMPERATURE  
SUR LA CONTAMINATION DU COLZA PAR  
*SCLEROTINIA SCLEROTIUM*.

BRUN H. \*, BAUTRAIS P. \*\*, RENARD M. \*\*\*

avec la collaboration technique de :

PLESSIS J. \* , TRIBODET M. \*

\* Pathologie végétale - \*\* Bioclimatologie - \*\*\* Amélioration des Plantes

I.N.R.A. Domaine de la Motte LE RHEU 35550

## I - INTRODUCTION.

Les conditions climatiques précises de l'infection du Colza par les ascospores de *Sclerotinia sclerotiorum* ne sont pas encore connues. Ces conditions doivent être assez particulières, car en grande culture, en France, les attaques graves ne se produisent qu'épisodiquement (1972 et 1979 dans le Berry) ou dans des zones réputées très humides (Côte d'Or, Finistère). Des études réalisées sur l'infection d'autres espèces végétales font ressortir la nécessité d'un film d'eau sur les plantes pendant des durées continues assez longues (42 h pour le tournesol, LAMARQUE, 1978 ; 16 h pour le haricot, ABAWI, 1975).

Le travail que nous avons entrepris a pour but de préciser, en fonction de la température, l'importance de l'eau (eau libre ou humidité relative (H.R.) de l'air) sur la contamination du Colza par les ascospores de *S. sclerotiorum*.

## II - MATERIEL ET METHODES.

### 1. Etude au laboratoire.

Des solutions de glycérine à différentes concentrations permettent de maintenir dans de petites enceintes hermétiques ventilées des atmosphères à des niveaux d'hygrométrie constants voisins de 78-84-88-92 et 94 % d'humidité relative ( $\pm 2$  %). Grâce à ce dispositif, la germination des ascospores peut être observée sur différents supports : lame de verre, pétales secs stérilisés.

Les pétales secs sont infestés en déposant une goutte d'une suspension d'ascospores titrant  $5.10^5$  spores par ml sur un pétale de Colza stérile, le tout étant immédiatement séché dans un courant d'air à environ 24°C. Ces pétales peuvent se conserver plusieurs jours au réfrigérateur dans un flacon à bouchon déshydratant. La contamination du Colza est étudiée à l'aide de tronçons de tige d'environ 10 cm de long sur lesquels subsiste une feuille sessile. Ils sont prélevés sur la hampe principale de la plante au stade début à mi-floraison. Ces tronçons dont une extrémité est paraffinée et dont l'autre trempe dans l'eau sont disposés dans des boîtes transparentes faisant chambre humide.

Différentes températures sont comparées : 15 et 10°C en continu et une thermopériode de 5°C la nuit et 8°C le jour.

Au moment de l'expérimentation un pétale infesté est déposé à l'aisselle d'une feuille. Chaque traitement comprend 24 tronçons avec des pétales infestés et 12 tronçons avec des pétales non infestés, disposés en 2 répétitions.

## 2. Etude en serre sur plantes entières.

Des plantes de la variété Jet Neuf, cultivées en pots sont inoculées au stade floraison (F<sub>2</sub> à G<sub>1</sub>) à l'aide d'une rondelle de papier filtre imbibée d'une goutte d'une suspension d'ascospores titrant 5.10<sup>5</sup> spores par ml insérée entre 2 pétales secs stériles de Colza. L'inoculum est placé à l'aisselle de feuilles non pétiolées à 2 hauteurs de la plante.

Les plantes sont ensuite soumises à des brumisations intermittentes d'une durée de 20 secondes assurant le mouillage en continu des feuilles pendant des périodes de : 0 - 10 - 20 - 30 - 40 - 62 h. La présence permanente d'eau sur les feuilles est contrôlée par un appareil mis au point à l'INRA (Bioclimatologie - AVIGNON) basé sur le principe de l'humectographe INRA déclanchant la brumisation dès que l'eau libre est évaporée.

Après chaque durée de mouillage (10-20 h etc ...), les plantes sont déplacées et entreposées :

- pour une moitié, dans une enceinte où l'H.R. est maintenue en permanence aux environs de 90 % (fig. I) au moyen de 2 humidificateurs actionnés par un hygrostat, un ventilateur assurant une bonne homogénéisation de l'H.R. dans l'enceinte.

- pour l'autre moitié, dans une chapelle de la serre dont l'H.R. moyenne pendant la durée de l'essai est d'environ 70 % (fig. I).

Après chaque durée de mouillage, l'excès d'eau se trouvant à l'aisselle des feuilles inoculées est absorbé à l'aide d'un papier filtre.

Pour chaque hygrométrie, il y a 48 plantes par durée de mouillage réparties en 4 répétitions selon le dispositif blocs de Fisher.

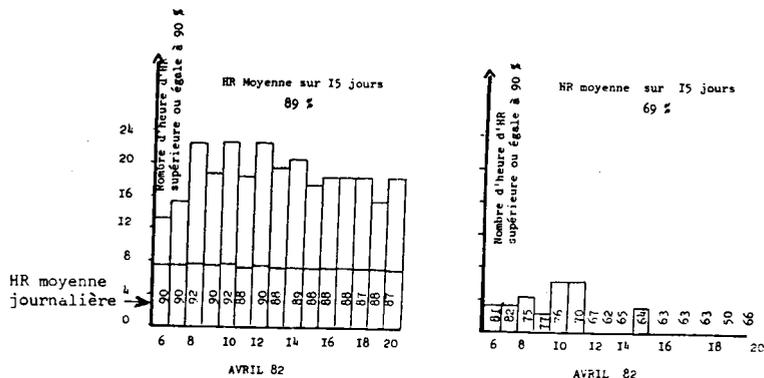


Fig. I : NOMBRE D'HEURES D'HR A 90 % PAR JOUR ET HR MOYENNE JOURNALIERE ENREGISTREE DANS LES DEUX ENCEINTES

Les conditions de température enregistrées lors de l'essai sont portées sur la fig. 2.

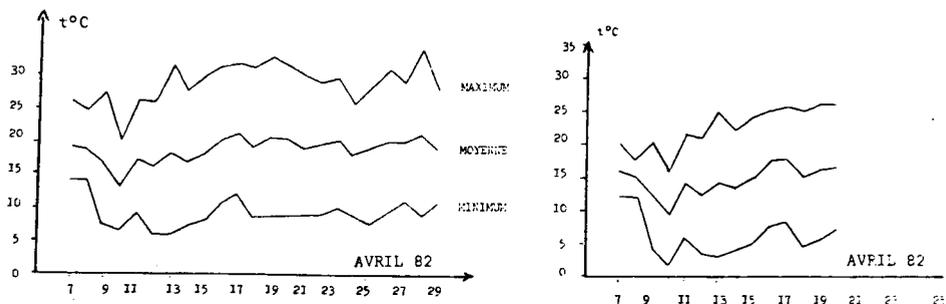


Fig. 2 : TEMPERATURES ENREGISTREES DANS L'ENCEINTE A H.R. MOYENNE VOISINE DE 90 % (A GAUCHE) ET DANS L'ENCEINTE A H.R. MOYENNE VOISINE DE 70 % (A DROITE) AU COURS DE L'ESSAI.

Les notations concernent le pourcentage de plantes présentant des attaques sur la tige primaire.

### III - RESULTATS.

#### 1. Au laboratoire.

L'observation au microscope des ascospores sèches déposées sur lames de verre permet de suivre leur germination (tableau I).

TABLEAU I : Germination des ascospores déposées directement sur lame de verre à 20°C, en fonction de l'humidité relative.

| HR ( $\pm 2$ %) | % d'ascospores germées | Temps de germination |
|-----------------|------------------------|----------------------|
| 94 %            | 56                     | 48 h                 |
| 92 %            | 48                     | 48 h                 |
| 88 %            | 9                      | 96 h                 |
| 84 %            | pas de germination     |                      |

La germination des ascospores et la croissance des filaments germinatifs sont possibles en absence d'eau libre. Cependant, le temps nécessaire pour la germination augmente quand l'H.R. diminue. Aux environs de 88 % les spores germent lentement et en très petit nombre, la croissance des filaments germinatifs reste limitée.

Dans la nature, les contaminations par les ascospores nécessitent la colonisation préalable des pétales sénescents tombés sur les feuilles (Mc LEAN, 1958 ; PURDY *et al.*, 1953), nous avons donc étudié la germination des ascospores déposées sur les pétales secs à différentes H.R. (tableau 2).

Les ascospores germent plus rapidement et plus abondamment pour une même H.R. lorsqu'elles sont au contact de pétales de Colza. Cependant, il semble que 83-84 % d'H.R. soit une limite inférieure ne permettant plus la germination des ascospores à 20°C. Néanmoins, après un séjour de 15 jours dans une atmosphère à 83-84 % d'H.R., les pétales infestés sont rapidement envahis par le mycélium de *S. sclerotiorum* si on les dépose sur un milieu gélosé. Les ascospores sont donc capables de survivre pendant un certain temps dans ces conditions.

**TABLEAU 2 :** Germination des ascospores déposées sur des pétales secs stériles de Colza, à différentes humidités relatives à 20°C.

| Conditions ambiantes \ Durée | % d'ascospores germées |      |
|------------------------------|------------------------|------|
|                              | 21 h                   | 51 h |
| Eau libre                    | 79                     | 97   |
| H.R. = 94 % (± 2 %)          | 66                     | 95   |
| H.R. = 92 % (± 2 %)          | 4                      | 75   |
| H.R. = 88 % (± 2 %)          | 0                      | 39   |
| H.R. = 84 % (± 2 %)          | 0                      | 0    |

Au bout de 6 jours, un développement mycélien abondant peut être observé sur tous les pétales vers 94 % d'H.R. et un développement plus ténu vers 92 %.

Des tronçons de Colza placés en chambre humide sont aisément contaminés à partir de pétales secs de Colza infestés par des ascospores, sans apport extérieur d'eau libre (tableau 3).

**TABLEAU 3 :** Contamination de tronçons de tige de Colza en chambre humide, à différentes températures, 16 h de jour.

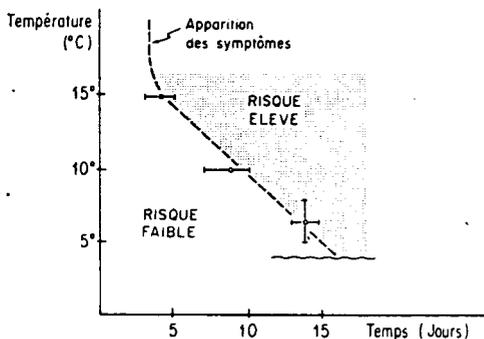
|                      |                                     | Pétales infestés par des ascospores |  | Pétales non infestés   |
|----------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|--|------------------------|
| Températures (± 1°C) | Nombre de jours après l'inoculation | % de tronçons attequés              | Dimension moyenne de la nécrose en cm sur la feuille | % de tronçons attequés |
| 15°C                 | 5 jours                             | 100                                 | 2,1  | 0                      |
| 10°C                 | 8 jours                             | 87                                  | 0,8  | 0                      |
|                      | 12 jours                            | 100                                 | 3,9  | 0                      |
| 5 à 8°C              | 14 jours                            | 100                                 | 1,3  | 0                      |

Les pétales sénescents de Colza tombés sur les feuilles procurent donc aux ascospores non seulement une source nutritive leur permettant de germer et de constituer une masse mycélienne favorable à la pénétration dans la plante, mais également une humidité très favorable à une germination rapide et abondante ainsi qu'à la croissance du mycélium à une H.R. > 92 %. Ces résultats confortent ceux obtenus par VAN DEN BERG (1968) sur la croissance du mycélium de *S. sclerotiorum* à des H.R. égales ou supérieures à 93 %. Par ailleurs, la température semble influencer fortement le temps nécessaire à l'apparition des symptômes. En effet, s'il faut, dans ces conditions expérimentales 5 jours à 15°C pour obtenir des pourritures d'une

dimension moyenne de 2,1 cm, il en faut plus de 8 à 10°C, et plus de 14 à des températures qui oscillent entre 8°C le jour et 5°C la nuit. La réussite des contaminations du Colza par les ascospores de *S. sclerotiorum* aboutissant aux attaques de la tige nécessiterait donc le maintien d'une hygrométrie élevée (eau libre ou H.R.) pendant des périodes continues (ou discontinues) relativement longues, la durée de ces périodes augmentant avec la réduction du niveau de la température (fig. 3).

Fig. 3 :

EVALUATION DU RISQUE DE DEVELOPPEMENT DE *S. SCLEROTIORUM* SUR TRONCONS DE COLZA EN SURVIE A HUMIDITE ELEVEE ET TEMPERATURES CONSTATANTES. LES POINTS REPRESENTENT LES MOYENNES EXPERIMENTALES.



## 2. En serre sur plantes entières.

Les températures relativement élevées enregistrées lors des expérimentations dans l'enceinte où l'H.R. avoisinait 90 % ont favorisé une apparition rapide des symptômes sur les feuilles, mais leur évolution vers la tige n'a pas été aussi importante. Les résultats (tableau 4) ne font ressortir aucune différence significative dans le pourcentage d'attaques entre les plantes ayant subi diverses durées de mouillage et les plantes non brumisées (0h), quand les plantes sont maintenues à une H.R. > 90 %. Par contre, aucun symptôme n'apparaît quand les plantes sont entreposées à une H.R. voisine de 70 % même après une brumisation de 62 h.

TABLEAU 4 : Pourcentage de plantes présentant des symptômes de *S. sclerotiorum* en fonction de la durée d'eau libre (brumisation) reçue et du niveau d'humidité relative (données transformées arc sin $\sqrt{\%}$ )

| Durée d'eau libre<br>HR moyenne | 0 h  | 10 h | 20 h | 30 h | 40 h | 62 h | ppds<br>5 % |
|---------------------------------|------|------|------|------|------|------|-------------|
| HR > 90 %                       | 38,9 | 31,4 | 36   | 34   | 24   | 22,5 | 18,33       |
| HR < 80 %                       | 0    | 0    | 0    | 0    | 0    | 0    | -           |

Les résultats obtenus sur des plantes entières vont dans le même sens que ceux obtenus dans les enceintes hermétiques à H.R. contrôlée sur la germination des ascospores et les contaminations. Quand l'H.R. atmosphérique est suffisamment élevée (> 90 %) les contaminations du Colza peuvent se réaliser sans apport extérieur d'eau libre.

#### IV - CONCLUSION.

Dans les conditions de notre étude, il apparaît que les ascospores de *S. sclerotiorum* ne peuvent germer à une humidité relative continue inférieure ou égale à 83-84 %, mais à partir de 92 % elles émettent des filaments germinatifs qui colonisent les pétales. Une durée continue de 62 h d'eau libre au contact de l'inoculum n'est pas suffisante pour permettre les contaminations si l'H.R. moyenne qui lui succède est voisine de 70 %. La contamination de tronçons de tige de Colza à partir de pétales secs infestés par des ascospores est possible en chambre humide à différentes températures. La température détermine, par ailleurs, le temps nécessaire à l'apparition des symptômes.

Ces résultats paraissent intéressants car une simplification des techniques existantes d'inoculation sur plantes entières peut être recherchée (utilisation de sacs plastique). Ils permettent également d'envisager d'exploiter différemment les relevés des données climatiques pour les avertissements agricoles. D'autres études restent néanmoins à réaliser pour déterminer les séquences d'H.R. en fonction des séquences de températures favorables à l'évolution de symptômes économiquement graves sur la tige.

#### REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.

- ABAWI G.S., and R.G. GROGAN, 1975. Source of primary inoculum and effects of temperature and moisture on infection of beans by *Whetzelinia sclerotiorum*. *Phytopathol.* 35, 300-309.
- LAMARQUE, 1978. Conditions nécessaires à la contamination des capitules de tournesol par le *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary. Proceeding of the 8th international sunflower conference. Minneapolis, Minnesota (U.S.A.).
- Mc LEAN, 1958. Role of dead flower parts in infection of certain Crucifers by *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de By. *Plant. Dis. Repr.* 42 (5), 663-666.
- PURDY L.H. and J.R. and R. BARDIN, 1953. Mode of infection of tomato plants by ascospores of *Sclerotinia sclerotiorum*. *Plant. Dis. Repr.* 37 (6) 361-362.
- VAN DEN BERG L. and C.P. LENTZ, 1968. The effect of relative humidity and temperature on survival and growth of *Botrytis cinerea* and *Sclerotinia sclerotiorum*. *Canadian Journal of Botany*, 46 (12), 1477-1481.