

ETUDE DU ROLE DES PETALES DANS LA CONTAMINATION DU COLZA PAR  
SCLEROTINIA SCLEROTIUM

A. Penaud, M. Zeddouk, Y. Regnault

CETIOM, 174 avenue Victor Hugo, 75116 PARIS, FRANCE

INTRODUCTION

Chez le colza, des attaques de Sclerotinia sclerotiorum peuvent être maîtrisées par des traitements fongicides appliqués de façon préventive et systématique en début floraison. Un système de prévision de la maladie permettrait de ne réaliser que des interventions indispensables. Or, l'élaboration d'un tel modèle passe par une meilleure connaissance d'un grand nombre de facteurs dont ceux de la contamination et en particulier tout ce qui a trait à la présence des pétales sur feuilles. C'est pourquoi il est apparu important de suivre les pétales depuis leur apparition sur la hampe florale jusqu'à leur dépôt sur feuille et de rechercher les moyens de détecter précocement leur contamination.

MATERIEL ET METHODES

Le matériel végétal utilisé est du colza variété Jet Neuf, cultivé au plein champ.

Suivi des Pétales

Pétales in situ : A partir du stade F2 jusqu'à défloraison complète, sur 20 plantes prises au hasard, sont suivies quotidiennement 5 fleurs de la hampe principale et 5 fleurs de la deuxième ramification secondaire. La durée des pétales in vivo est mesurée par l'intervalle de temps compris entre le stade déploiement des pétales en corolle et chute du dernier pétale (Penaud A., 1984). L'essai est répété trois fois en deux ans avec enregistrement de données climatiques.

Chute des pétales : Les pétales de 5 plantes occupant chacune le centre d'une placette de 1 m<sup>2</sup> sont colorés deux fois par semaine au rouge acide. Un dénombrement des pétales colorés est effectué sur les limbes et les aisselles des feuilles de la plante colorée, de deux plantes situées à 10 cm sur le rang et sur deux plantes situées sur le rang voisin de part et d'autre de la plante colorée.

Adhérence des pétales : Deux pétales pollués 24 heures auparavant par passage dans un nuage d'ascospores sont déposés sur deux feuilles de 5 plantes. Sous les pétales repérés est observée l'apparition des taches de pourriture.

Contamination des pétales : i) Au champ, des pétales prélevés sur des fleurs situées au-dessus d'apothécies fonctionnelles et à différents stades floraux sont désinfectés superficiellement à l'alcool à 60°, déposés sur milieu gélosé PDA et mis en incubation à 20°C. La lecture est réalisée 8 jours après le dépôt des pétales.

ii) Sur feuilles maintenues en survie, des pétales frais pollués sont déposés sur des feuilles désinfectées superficiellement à l'alcool à 60°. Parallèlement sur des feuilles polluées par des ascospores sont déposés des pétales désinfectés superficiellement, des pétales stérilisés 24 heures à 100°C, des pétales prélevés sur une inflorescence protégée par un traitement bénomyl (750g m.a./ha) 10 jours auparavant. Les observations portent sur le taux de pourriture obtenu sous les pétales.

Détection des Pétales Colonisés par *S.sclerotiorum*

Des fleurs entières, des pétales ou des étamines contaminés naturellement au champ et contaminés après passage dans un nuage d'ascospores sont placés soit en chambre humide - sac plastique et boîte à fond tapissé de papier humide - soit déposés sur milieu gélosé PDA. La rapidité d'apparition du mycélium de *S.sclerotiorum* est notée.

Des pétales sont contaminés sur des fleurs entières par passage dans un nuage d'ascospores et conservés jusqu'à 48 heures en chambre humide. Des mesures de pH sont pratiquées 0, 24 et 48 heures à l'aide d'une microélectrode de contact (HEITO BRV15H). Des pétales non pollués dans un nuage d'ascospores servent de témoin.

RESULTATSSuivi des Pétales

Du stade corolle étalée à la chute du dernier pétale, la durée moyenne des pétales sur la plante dans trois essais est respectivement de 144 heures et 148 heures en 1983 et 132 heures en 1985. Cette durée, en 1985, apparaît significativement corrélée aux conditions climatiques enregistrées au moment de la floraison (Tableau 1).

Tableau 1 : Corrélations entre la durée des pétales sur la fleur et les paramètres climatiques (essai 1985).

Paramètre climatique	Coefficient de corrélation	
Σ température moyenne	+ 0,97	**
hauteur de pluie	+ 0,87	*
durée des pluies	+ 0,88	*
durée de mouillage	+ 0,98	**

La chute des pétales est particulièrement importante juste après la pleine floraison (16 -22 mai). Ils tombent préférentiellement sur la plante dont ils sont issus et sur les plantes adjacentes du même rang. Sur les rangs voisins, les dépôts se révèlent peu abondants. En conditions de précipitations et vents faibles, la majorité des pétales tombent à la verticale et dévient peu de cette trajectoire. Environ 30% des pétales se retrouvent sur le limbe ou à l'aisselle des feuilles et 70% tombent directement à terre.

Les pétales tombés sur feuilles y demeurent à condition qu'ils arrivent à se coller. Leur adhérence est accrue lorsqu'ils sont contaminés et en présence d'humidité (Tableau 2).

Tableau 2 : Adhérence des pétales contaminés ou non.

	nombre de pétales collés			
	18/5	19/5	20/5	21/5
Pétales non contaminés	5	5	7	7
Pétales contaminés	3	5	15	18
-----	-----	-----	-----	-----
Précipitations (mm)	0	0,5	1	2,5

Pollués naturellement par des ascospores, les pétales ne se révèlent aptes à être contaminés qu'à partir du stade corolle étalée. Sénescents (fleur fanée), ils sont davantage contaminés par S.sclerotiorum mais aussi par Botrytis cinerea (Tableau 3). Un quart à un tiers des pétales tombés sur feuille se révèlent également contaminés.

Tableau 3 : Pourcentage de pétales pollués et contaminés in situ, établi après prélèvement de 48 pétales par stade considéré.

Stades floraux	% Pétales contaminés	
	Sclerotinia	Botrytis
Bouton vert	0	2,1
Bouton jaune	2,1	0
Corolle étalée	14,6	6,3
Fleur fanée	37,5	23
Pétale sur limbe	31,3	10,4
Pétale/aisselle	25	20,8

La contamination peut intervenir aussi bien suite à la pollution du pétale sur l'inflorescence qu'après la chute du pétale sur une feuille couverte d'ascospores comme l'indiquent les résultats obtenus sur feuilles maintenues en survie (Tableau 4). Toutefois, le temps de latence entre le dépôt du pétale sur feuille et l'apparition d'une lésion est allongé dans le cas du dépôt d'un pétale "sain" sur une feuille polluée.

Tableau 4 : Evolution du taux d'attaque selon le couple feuille/pétale considéré

Feuille (F)/ Pétales (P)	% attaque		
	T + 3j	T + 4j	T + 6j
F.désinfectée / P.pollués	69	75	81
F.polluée / P.désinfectés	12	56	81
F.polluée / P.étuvés	6	44	75
F.polluée / P.bénomyl	0	50	100
F.polluée / P.papier	0	6	19

#### Détection

En chambre humide, un changement de couleur des pétales précède l'apparition de mycélium. Ce changement est d'autant plus perceptible que la pollution par les ascospores a été massive. Le développement mycélien reste faible et aucun sclérote ne se forme (Tableau 5).

Sur milieu gélosé, changement de couleur et apparition de mycélium se produisent simultanément. Après dépôt des pétales, 8 jours sont nécessaires à l'apparition des sclérotés qui confirmer la présence de S.sclerotiorum. Le dépôt d'étamines permet d'anticiper la réponse de 24 heures, de plus les cultures mycéliennes obtenues sont pratiquement pures.

L'acide oxalique que produit S.sclerotiorum au cours du processus de contamination est détectable par mesure du pH de surface. Une acidification significative est enregistrée 48 heures après contamination (Tableau 6).

Tableau 5 : Comparaison des méthodes de détection des pétales contaminés. L'unité retenue est le nombre de jours nécessaires pour observer un changement de couleur, un développement mycélien et la formation de sclérotés. ND=non détecté.

Méthode	Contamination	changement de couleur	mycélium	sclérotés
Fleurs entières en chambre humide	Naturelle	4	5	ND
	Ascospores	1	4	ND
Pétales en chambre humide	Naturelle	4	5	ND
	Ascospores	1	3	ND
Pétales sur PDA ou MA	Naturelle	3	3	8
	Ascospores	3	3	8
Etamines sur MA	Naturelle	ND	3	7
	Ascospores	ND	2	7

Tableau 6 : pH moyen enregistré à la surface de pétales préalablement contaminés ou non par *S.sclerotiorum*. \* différence significative.

PETALES		P. sains	P. contaminés	δ pH
1er essai	0h	6,42 ± 0,14	6,46 ± 0,15	0,91 *
	24h	6,77 ± 0,19	6,46 ± 0,26	
	48h	6,25 ± 0,23	5,3 ± 0,16	
2ème essai	0h	6,25 ± 0,08	6,17 ± 0,16	0,45 *
	24h	5,4 ± 0,2	5,91 ± 0,23	
	48h	5,5 ± 0,16	5 ± 0,19	

#### DISCUSSION

La présence des pétales in situ dure en moyenne de 5 à 6 jours. Cette durée est corrélée à différents paramètres climatiques en particulier la température et la durée de mouillage. Ces paramètres interviennent également dans le processus de chute des pétales.

La contamination s'effectue de préférence par l'intermédiaire de pétales sénescents, ce résultat est en accord avec des travaux antérieurs (Mc Lean, 1958). Dans le processus de contamination, le pétale en procurant une source carbonée permet la germination des ascospores (Purdy, 1958), le développement d'hyphes mycéliens qui assurent ensuite la colonisation de la feuille (Kapoor et Lamarque 1983). Ce processus permet d'expliquer la durée de latence plus longue dans le cas d'un pétale sénescé non contaminé en contact avec des ascospores présentes sur feuille. Ce temps est nécessaire pour qu'une quantité de mycélium suffisante soit produite et capable d'initier l'infection.

Deux jours sont nécessaires pour détecter une variation du pH à la surface de pétales contaminés. Ce résultat obtenu en exerçant une pression d'inoculum serait à vérifier en contamination naturelle de S.sclerotiorum et de B.cinerea. Si la méthode de détection s'avérait suffisamment sensible et spécifique du sclerotinia, ce test aurait l'avantage d'être plus rapide que les méthodes de détection par dépôt de pétales sur milieu nutritif gélosé qui requièrent en outre une manipulation en conditions aseptiques et un délai de réponse de 4 à 5 jours (Morall, 1989). Par ailleurs, le développement des techniques immunologiques pour la détection des champignons ouvre de nouvelles perspectives, encore faudrait-il disposer de sérum spécifique de S.sclerotiorum évitant toute réaction croisée avec Botrytis et obtenir une réponse suffisamment sensible.

#### BIBLIOGRAPHIE

CETIOM, 1991. La culture du colza. 32p.

KAPOOR K.S., Lamarque C. et Berrier J. 1983. Some aspects of the host parasite relations between Sclerotinia. 6ème Congrès International sur le Colza, Paris, 1044-1049.

DOUGLAS I.M., LUMSDEN R.D., 1970. Oxalic acid production by Sclerotinia sclerotiorum in infected bean and in culture. Phytopathology 60: 1395-1398.

Mc LEAN, D.M. 1958. Role of dead flower parts in infection of certain crucifers by Sclerotinia sclerotiorum (Lib) D By. Plant Dis. Rep. 42: 663-665.

PENAUD A., 1984. Les pétales et la contamination du colza par Sclerotinia sclerotiorum. Informations Techniques CETIOM, 89: 20-27.

PURDY, H.L. 1958. Some factors affecting penetration and infection by Sclerotinia sclerotiorum. Phytopathology 48: 605-609.