T1978PATH10

CONDITIONS NECESSAIRES A LA CONTAMINATION DES CAPITULES DE TOURNESOL PAR LE *Sclerotinia sclerotiorum* (LIB.) DE BARY

By

Claudine LaMarque
INRA, Etoile de Choisy, Route de St. Cyr, 7800 Versailles

Resume

La contamination des capitules de Tournesol par le *Sclerotinia sclerotiorum* resulte de differents facteurs qui doivent etre reunis:

a. la presence de l'inoculum (ascospores) et sa possibilite de germer; les sclerotes enfouis a moins de 3 cm. germent des que les conditions d'humidite du sol le permettent et donnet plusieurs generations d' apothecies pendant la periode de vegetation du Tournesol. Les apothecies situees en sol suffisamment humide peuvent emettre des ascospores pendant 20 jours. Les ascospores, presentes pendant toute la periode de vegetation, n'exigent pour germer, que 4 heures d'eau libre ou 16 heures d'une himidite relative a 98%.

b. le capitule semble sensible des l'ouverture du premier rang de fleurons jusqu'a 2 semaines apres la fin de la floraison.

c. un apport, pendant 39 heures consecutives, d'eau libre au niveau du capitule fait demarrer la contamination et 42 heures consectuives d'eau libre rendent la contamination irreversible. La meme duree apportee en plusieurs sequences ne permet pas le developpement du champignon.

Cette etude se propose de rechercher les facteurs susceptibles de favoriser la contamination des capitules de Tournesol par les ascospores de *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary. Elle s'attachera donc a connaitre le niveau d'inoculum des le debut de la floraison et son aptitude a la germination, la periode de sensibilite du capitule de Tournesol, enfinles conditions climatiques capables d'influer sur la contamination des capitules.

Materiel et Methodes

L'inoculum

La presence de l'inoculum (ascospores) a ete controlee au cours de trois annees consecutives (1974 a 1976), pendant toute la periode de vegetation du Tournesol dans un champ fortement infeste en *Sclerotinia sclerotiorum* de la region de Dijon (Bourgogne, France). De semaine en semaine, on a etudie le developpement et l'evolution des apothecies reperees ainsi que leur emission d'ascospores. Les conditions d'emission d'ascospores ainsi que la germination de celles-ci ont parallelement ete etudiees au laboratoire.

On a determine l'age des apothecies capables du produire des ascospores en les prelevant, a tous les stades depuis l'epanouissement du stipe juscu'a la lyse des apothecies, sur des sclerotes amenes a la carpogenese au laboratoire.

L'influence de l'humidite relative (HR) sur la survie des apothecies et leur capacite d'emettre des ascospores a ete etudiee en placant des apothecies fonctionnelles dans des enceintes ou l'HR etait maintenue a un taux determine grace a un melange approprie d'eau et de glycerol. Une gamme d'HR de 50% a 100% a ete constituee.

La duree de vie des ascospores a ete etudiee dans les conditions de temperature et d'HR ambiantes du laboratoire. Les sporees deposees sur lame de verre ou cellophane ont ete conservees au laboratoire. La biabilite des sporees a des enceintes respectivement ramenees a 50 et 30% par des melanges appropries d'eau et de glycerol. L'action de la temperature a ete controlee sur la viabilite des ascospores par passage des sporees, pendant 2 heures, dans une gamme de temperatures elevees (35 a 50°C) et une gamme de temperatures basses (0 a 9°C).

Enfin, l'action des U.V. sur la viabilite des ascospores a ete testee par exposition des sporees (placees en bacs de quartz) a 0.5 m. d'une source 'd U.V. pendant des durees de temps croissantes.

Dans tous les cas, la lecture de la viabilite a ete realisee sur le pourcentage d'ascospores encore capables de germer lorsque les sporees sont replacees dans les conditions considerees normales de la germination.

On a etudie la vitesse de germination des ascospores sur des sporees deposees sur sellophane hygroscopique dans des enceintes a differentes HR et sur des ascospores en suspension dans l'eau.

La periode de sensibilite des capitules

Elle a ete determinee d'une part, par inoculations de capitules de differents cultivars aux differents stades du debut floraison a 2 semaines apres la fin floraison avec une suspension d'ascospores pulverisee sur la face fleurie du capitule. Nous avons, d'autre part, situe la precocite de la pollution des capitules par ensachage, en sacs hermetiques de pepier sulfurise, de 300 capitules d'INRA 6501 au sein de notre essai tres infeste de Bourgogne, des l'ouverture des fleurs ligulees, ce qui s'est situe en 1976, 20 jours apres la derniere emission d'ascospores.

L'action des conditions climatiques

L'action du taux d'HR ou de l'eau libre sur la contamination a ete etudiee au niveau du capitule, au laboratoire. Des capitules en survie sont places dans une enceinte eclairee dans laquelle est envoyee une brumisation fine obtenue par le passage d'un courant d'air comprime dans un aerosol; un film d'eau se depose sur les capitules. En jeu d'electrovannes et une horloge permettent de programmer a volonte differentes durees de brumisation; differentes experimentations ont ete entreprises afin de determiner la meilleure combinaison permettant la contamination des capitules par le Sclerotinia sclerotiorum. Des capitules de tous les stades phenologiques ont ete places dans cette enceinte. Le con-

trole du temps exact d'humectation (different du temps de brumisation) des capitules a ete realise l'aide d'un humectographe dont la sonde est placee au niveau des capitules.

L'inoculum a ete apporte dans l'enceinte, avant brumisation, sous la forme d'un nuage d'ascospores.

On a egalement controle l'humectation des capitules au champ, seulement a Versailles, en 1977.

Resultats

L'inoculum

Les sclerotes situes en profondeur dans la parcelle tres contaminee en Sclerotinia sclerotiorum sont germes (presence de stipes) des le mois d'avril en 1974, des la fin mars en 1975 et seulement en mai en 1976 a cause de la secheresse. La longueur des stipes est d'autant plus importante que le sclerote est enfoui plus profondement. Pourtant des stipes trop longs germes sur des sclerotes a plus de 3 cm. de profondeur ne donnent pas d'apothecies. Ce sont les sclerotes situes dans la couche superfilielle de 2 cm. de profondeur qui donnent des apothecies. Il se forme plusieurs generations d'apothecies au cours de l'annee (3 a 4 en 1974, 3 en 1975, 2 in 1976 et generations au maximum au laboratoire). L'apparition des differentes generations d'apothecies s'est repartie de maniere differente sur la duree des cultures de Tournesol en 1974, 1975 et 1976 mais pour les trois annees, elle est liee aux principales pluies d'orage (une seule generation avant le debut floraison correspondant a un orage de juin en 1976) Les apothecies apparaissent en plein champ, 4 a 8 jours apres ces fortes pluies.

Le disque de l'apothecie tres jeune a les bords fonces et recourbes vers l'interieur de l'entonnoir et ne sporule pas encore tandis que l'apothecie fonctionnelle est de couleur creme, a aspect veloute, son disque est plat avec seulement une depression centrale legere.

L'etat des apothecies et leur evolution est en relation etroite avec l'HR du millieu ambiant. (Tableau I).

C'est le passage brutal e'une HR elevee a une Hr plus faible qui provoque une emission massive d'ascospores (nuage visible a l'oeil nu La duree de production des ascospores pour une apothecie depend tres etroitement de l'HR environnante des couches inferieures de la vegetation.

En Bourgogne, nous avons pu observer dans les champs, des apothecies qui restaient fonctionnelles pendant 20 jours tandis qu'elles emettent des ascospores jusqu'a l'age de 5 semaines au laboratoire dans des conditions d'HR voisines de 98%.

Les ascospores de la frange exterieure des sporees conservees pendant un mois au laboratoire a t° et HR ambiantes sont encore capables de germer dans des proportions de 50%.

TABLEAU 1. Etat des apothecies et emission des ascospores suivant l'humidite relative du milieu ambiant

% d'HR	Etat des apothecies	Liberation des ascospores
100	Viables, murissent	Tres importante
90	Viables, murissent	Importante
80	Viables, ne murissent plus	Limitee aux ascospores deja mures
60	Se dessechent	Tres faible
50	Meurent en moins de 20 h.	Nulle

A 50% d'HR, les ascospores de la marge exterieure des sporees conservent a 100% leur pouvoir germinatif pendant une duree de 30 jours.

Au 45^{e} jour de ces conditions, 25% de ces spores sont toujours capables de germer.

A 30% d'HR, 50% des ascospores sont toujours viables apres 15 jours de conservation.

Les ascospores perdent leur pouvoir germinatif seulement en-deca de 2°C. et au-dela de 45°C.

Elles gardent leur pouvoir germinatif intact apres une exposition de 17 heures sous une source d'U.V. situee a 0.5 m.

Dans l'eau la germination des ascospores a lieu en 4 heures pour la totalite de celles-ci. Les taux de germination de ascospores dans differentes conditions d'HR sont donnes dans le Tableau II. A 100% d'HR, en 72 heures, on obtient sur cellophane un mycelium abondamment ramifie.

TABLEAU 2. Taux Moyen de germination des ascospores de la frange exterieure d'une sporee recueillie sur cellophane hygroscopique. (Moyenne de 10 sporees)

Duree de germination	% d'HR			
	50	70	90	100
2 H	0	0	0	0
16 H	0	0	16% tgc	21% tgl
18 H	0	0	19% tgc	35% tgl
24 H	0	0	48% tgc	82% tgtl

tgc = tubes germinatifs courts
tgl = tubes germinatifs longs
tgtl = tubes germinatifs tres longs

La sensibilite des capitules

Les inoculations et les ensachages de capitules ont montre que les contaminations au niveau du capitule resultaient d'une pollution par les ascospores qui peut avoir lieu des le debut de la floraison (ouverture des fleurs ligulees) et que les capitules restaient sensibles jusqu'a 2 semaines apres la floraison, les inoculations entreprises apres cette date ne donnant jamais de symptomes. Il est a noter que des contaimantions realisees des le debut floraison ne donnent parfois des symptomes que 5 semaines plus tard. Nous ne connaissons pas le processus de la contamination. Pour un calendrier de pollution tres different selon les annees, la date d'apparition des symptomes s'est montree relativement constante en Bourgogne: debut septembre.

L'apport d'eau libre

Les resultats sont rapportes dan le Tableau III.

La contamination n'a eu lieu qu'a partir de 39 heures consecutives d'eau libre et de maniere irreversible apres 42 heures consecutives.

La meme duree apportee en 5 ou 8 sequences n'a pas permis l'installation du champignon. La contamination realisee a toujours ete suivie de la desintegration totale du capitule qui s'est realisee en dehors de la periode d'eau libre.

TABLEAU 3. Duree d'eau libre necessaire a la contamination des capitules par le *Sclerotinia sclerotiorum*.

Duree totale d'eau libre	nbre de sequences	% global S. sclerotiorum	Desintegration totale du capitule
25 H	1	0	-
30 H	1	0	-
38 H	2	0	-
39 H	1	22	+
41 H	1	35	+
42 H	1	100	+
42 H	5	0	-
42 H	8	15	+
43 H	1	100	+
44 H	1	100	+
60 H	1	100	+

A Versailles, en 1977, nous n'avons jamais enregistre, au champ, une duree d'eau libre superieure a 18 H 20 consecutives au niveau des capitules et 35 heures au niveau du collet dans la periode du debut flo raison a la recolte. Mais nous n'avons pas eu non plus d'attaques au niveau des capitules alors que l'inoculum etait present puisqu 'une attaque sur tige avait precedemment eu lieu des la fin de juin resultant d'une contamination par ascospores ayant trouve une humidite favorable entre le 16 Juin et le 19 Juin (HR $\geqslant$95% pendant. 72 heures).

Discussion

Les ascospores sont abondemment repandues dans la nature des le printemps et a fortiori pendant toute la floraison du Trounesol et semblent, par leur grande viabilite dans differentes conditions ne jamais constituer un facteur limitant a la reussite des contaminations. Par contre il est necessaire que la duree d'humectation du capitule soit de 42 heures consecutives pour que la contamination ait lieu. Rien d'etonnant a ce que notre parcelle de Bourgogne tres infestee en Sclerotinia sclerotiorum soit toujours tres himide cependant des controles de l'humectation des capitules devront y etre realises pour confirmer ou infirmer nos resultats de laboratoire en ce qui concerne les conditions climatiques necessaires a la contamination.

Bibliographie

ALABOUVETTE, C. et J. LOUVET, Bibliographie selectionnee Sclerotinia sclerotiorum Inf. Tech. CETIOM. 31: 7-25, 1973.

LAMARQUE, CLAUDINE, Degats provoques par Sclerotinia Sclerotiorum sur les cultures de Tournesol en France. La Defense des vegetaux 173, 1975.

LAMARQUE, CLAUDINE, Observation de la carpogenese du Sclerotinia sclerotiorum dans les champs de Tournesol de Bourgogne (France) - Perspectives de lutte. VIIe Conf. Internationale sur le Tournesol, Krasnodar, 1976.

LAMARQUE, CLAUDINE, Rapports de travaux communiques au CETIOM, 1974, 1975, 1976, 1977.

PURDY, L.G., Phytopathology 48, 11: 605-609, 1958.

RAPILLY, F. Les techniques de mycologie en Pathologie vegetale. Ann. des Epiphythies 19, 1968.