

# COLLOQUE

## l'orobanche rameuse

en France



**21 juin 2013**  
**POITIERS**

Organisé par :



Avec la collaboration de :



# COLLOQUE

## l'orobanche rameuse

en France

### 21 juin 2013 POITIERS



#### SOMMAIRE

Biologie et présence de l'orobanche rameuse sur le territoire français . . . . .	1
Variabilité génétique de l'orobanche rameuse et son spectre d'hôtes. . . . .	5
La lutte contre l'orobanche rameuse : panorama des solutions. . . . .	10
Bilan de 10 années de lutte contre l'orobanche rameuse en culture du tabac . . . . .	18
Développement et évaluation des outils de quantification des graines d'orobanche . . . . .	24
Introduction des cultures pièges ou non hôtes dans les systèmes culturaux afin de lutter contre l'orobanche rameuse : du laboratoire au terrain . . . . .	30
Induction de la germination suicide de l'orobanche rameuse ( <i>P. ramosa</i> L. Pomel) dans le cadre du pathosystème . . . . .	42
Diversité des mécanismes de résistance du colza à l'orobanche rameuse. . . . .	48
Du champ à la serre : évaluation du comportement des variétés de colza vis-à-vis de l'orobanche rameuse. . . . .	53
La variabilité génétique du chanvre industriel ( <i>Cannabis sativa</i> ) face à l'orobanche rameuse. . . . .	60
Variabilité génétique, d'histoire de vie et d'infection des populations de l'orobanche rameuse en France . . . . .	63
PHERASYS : un projet de modélisation de la dynamique de l'orobanche dans les systèmes de culture. . . . .	71
Lutte chimique contre l'orobanche rameuse en culture de colza . . . . .	78

Organisé par :



Avec la collaboration de :



# Biologie et présence de l'orobanche rameuse sur le territoire français

Philippe SIMIER et Philippe DELAVault

Laboratoire de Biologie et Pathologie Végétales, Faculté des Sciences et des Techniques Université de Nantes, 2 rue de la Houssinière, 44322 Nantes cedex

## Résumé :

L'orobanche rameuse (*Phelipanche ramosa* L. Pomel) est une plante qui parasite aussi bien des espèces sauvages que cultivées afin de croître et de se multiplier au détriment de ces dernières. La capacité de multiplication de ce parasite rend difficile son éradication. Les graines *P. ramosa*, pour germer, ont besoin de stimulants exsudés des racines de la plante hôte. Le cycle de développement de l'orobanche passe par une phase souterraine puis aérienne conduisant à la production de centaines de milliers de graines par orobanche. Les pertes économiques apparaissent importantes en cas de fortes infestations de plantes cultivées telles que le colza. En France, la culture de colza est devenue depuis plus de 10 ans le principal hôte de *P. ramosa*, à côté de d'autres cultures dont le tabac et le chanvre. Le suivi des infestations au cours des dernières années montre une extension du parasite sur le territoire français. Sans contrôle, la problématique *P. ramosa* pourrait rapidement s'étendre à d'autres pays, dont certains mentionnent ce parasite comme un problème phytosanitaire.

**Mots-clés :** *Phelipanche ramosa*, distribution, France, parasite, biologie

## Introduction

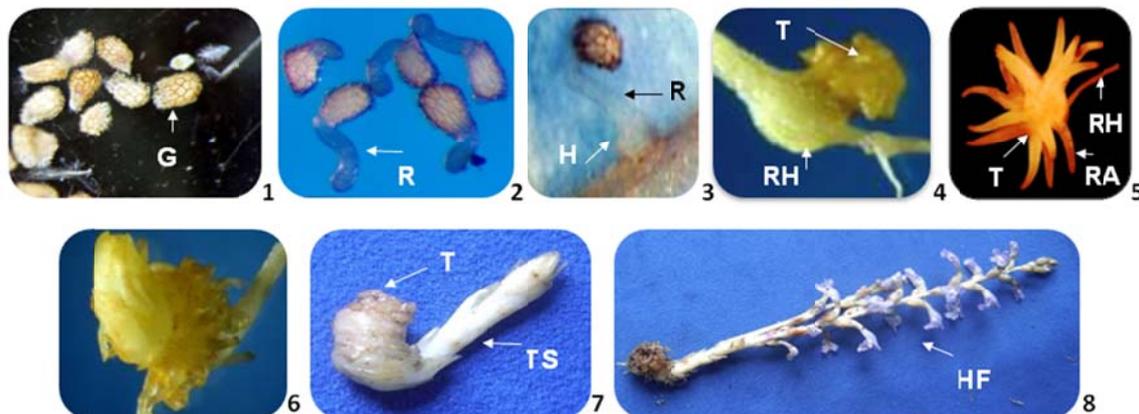
Un pourcent des angiospermes, soit environ 4000 espèces, sont des plantes parasites (Kuijt, 1969). Pour certaines, le parasitisme est obligatoire en raison d'un système racinaire non fonctionnel, voire inexistant. Leur degré de dépendance vis-à-vis de la plante hôte dépend également de leur capacité photosynthétique. Ainsi, ces espèces peuvent avoir de forts impacts écologiques et agronomiques. Les genres *Orobanche* et *Phelipanche* (« orobanches ») sont des plantes parasites obligatoires et non chlorophylliennes (holoparasites), qui dépendent entièrement de leurs hôtes pour leur alimentation en eau, sels minéraux et composés organiques. La majorité des orobanches ont un spectre d'hôtes étroit (essentiellement pérennes) et sont présentes habituellement dans les écosystèmes naturels, avec une fréquence relativement faible par rapport à celle de leurs plantes hôtes. Par contre, en adoptant un mode de vie de type adventice annuelle, avec un spectre d'hôtes annuels beaucoup plus large, des espèces se développent majoritairement dans les agrosystèmes. Leur fréquence et leur impact sur les cultures peuvent alors être importants. C'est le cas de quelques espèces généralistes, telles qu'*O. crenata*, *O. cernua*, *O. minor*, *P. aegyptiaca* et *P. ramosa*. L'espèce annuelle *O. cumana* est également un fléau agronomique mais se différencie par sa spécificité d'hôte (parasite spécialiste du tournesol). A ce jour, la variabilité interspécifique au sein des orobanches (*Orobanche sp* et *Phelipanche sp*) a fait l'objet de plusieurs études (marqueurs RAPD, plastidiaux, ITS), qui structurent ce groupe en quatre sections dont les sections *Trionychon* et *Osproleon* qui renferment toutes des espèces dévastatrices.

Parmi les orobanches, l'orobanche rameuse (*P. ramosa* L. Pomel) est de loin la plus répandue. Cette espèce a trouvé des conditions idéales de développement autour de la Méditerranée et dans de nombreux pays d'Europe de l'Ouest, en lien avec l'expansion et l'intensification de cultures très sensibles, telles les *Solanaceae* (tomate, tabac ...). Des introductions accidentelles ont été révélées en Europe de l'Est, Asie du Sud Ouest, Afrique du Sud, Chili et Californie. *P. ramosa* présente à ce jour un spectre d'hôtes extrêmement large : de nombreuses espèces cultivées telles que aubergine, carotte, colza, chanvre, fève, lentille, melon, pomme de terre, tabac, tomate, et plus de soixante dix espèces sauvages (Boulet *et al.*, 2001 & 2007 ; Gibot-Leclerc *et al.*, 2007). Les infestations de *P. ramosa* sont parfois massives dans les cultures et conduisent à des pertes de rendement importantes, voire à un épuisement total de l'hôte. La lutte s'avère difficile face à cette plante à très fort taux de reproduction (plus de cent mille graines minuscules par pied avec une viabilité d'au moins 15 ans). A ce jour, seule une approche de lutte intégrée mêlant pratiques culturales, exploitation de variétés partiellement résistantes et traitement chimique, amène à un enrayment de l'expansion de *P. ramosa* sur tomate et tabac.

## Biologie de l'orobanche

Le processus infectieux des orobanches est relativement bien décrit à ce jour (**Figure 1**). Il est initié par une étape de conditionnement des graines dont les caractéristiques varient en fonction de l'espèce (durée, température moyenne) puis par l'induction de la germination de ces graines par des stimulants exsudés des racines de la plante hôte. Une étude récente au laboratoire a démontré le rôle de ces stimulants dans la levée de la dormance des graines de *P. ramosa* suite à l'induction du catabolisme de l'acide abscissique (Lechat *et al.*, 2012). La majeure partie des stimulants de germination des orobanches identifiés à ce jour sont des strigolactones, des molécules issues du métabolisme des caroténoïdes dans les racines (Yoneyama *et al.*, 2010). La production de ces métabolites secondaires est ubiquitaire chez les plantes puisqu'ils assurent avant tout une activité hormonale dans le contrôle négatif de la ramification des parties aériennes (Gomez-Roldan *et al.*, 2008). Exsudés dans la rhizosphère, ces molécules favorisent également le développement des champignons mycorhiziens (Umehara *et al.*, 2008), mais stimulent aussi la germination des orobanches. Certaines plantes, néanmoins, ne sont pas mycorhizables de part une production extrêmement faible de strigolactones ; c'est le cas des Brassicacées dont le colza. Récemment, Auger *et al.* (2012) ont démontré que la germination de *P. ramosa* dans la rhizosphère du colza était initiée par le 2-PEITC, un isothiocyanate stable issu de la dégradation des glucosinolates.

La germination conduit au développement d'une racicule de structure particulière, sans coiffe ni tissu conducteur. Elle croît en direction d'une racine hôte à proximité, adhère à sa surface puis différencie un haustorium (suçoir) qui envahit le cortex racinaire en direction des tissus conducteurs par des processus enzymatiques et mécaniques. Ces étapes d'induction haustoriale et d'invasion demeurent mal caractérisées à ce jour, en raison de la complexité de l'interface plante hôte – plante parasite. Une fois l'haustorium connecté aux tissus conducteurs de la racine hôte (pont phloémien direct ; plasmodesmes interspécifiques), l'orobanche devient un puits supplémentaire pour la plante hôte, qui est compétitif vis-à-vis de ses propres puits. Le degré de tolérance des plantes hôtes à l'orobanche repose ainsi sur leur capacité à maintenir des relations sources-puits favorables à leur développement (Abbes *et al.*, 2009). En parallèle, l'orobanche développe une importante force de puits basée principalement sur la métabolisation du saccharose qu'elle prélève (Draie *et al.*, 2011 ; Péron *et al.*, 2012). L'orobanche développe un tubercule, puis une tige souterraine. Une fois émergée, la hampe florale (plus ou moins ramifiée selon l'espèce) croît rapidement et fructifie. Le mode de reproduction couvre la gamme de fortement autogame (*O. cumana*, *P. ramosa*) à allogame (*O. crenata*) selon les espèces.



**Figure 1.** Stades de développement de *P. ramosa* (pathotype I) sur colza (*B. napus*)

1. Graines conditionnées
2. Phase pré-parasitaire : Graines germées en réponse aux stimulants de germination (R : racicule)
3. Phase pré-parasitaire : jeune plante d'orobanche en cours de fixation sur une racine de colza (adhésion, invasion du cortex racinaire et différenciation de l'haustorium (suçoir, H) (R : racicule).
4. Phase parasitaire : jeune orobanche fixée à une racine de colza (RH : racine hôte). Haustorium fonctionnel et développement d'un tubercule (T)
5. Phase parasitaire : jeune orobanche fixée à une racine de colza (RH : racine hôte). Développement de nombreuses racines adventives (RA) sur le tubercule (T) – Stade caractéristique « araignée » ; RH : racine hôte
6. Phase parasitaire : réveil d'un bourgeon axillaire et développement d'une tige souterraine (TS)
7. Phase parasitaire : Croissance de la tige souterraine de l'orobanche - Phase d'intensification des prélèvements à partir de l'hôte.

Phase parasitaire : Emergence de la tige hors du sol et développement d'une hampe florale peu ramifiée (pathotype I de *P. ramosa*)

### ***P. ramosa* sur le territoire français**

En France, *P. ramosa* est signalée de longue date dans le sud-ouest sur tabac (*Nicotiana tabacum* L., Solanacées), chanvre textile (*Cannabis sativa* L., Cannabinacées) et tomate (*Lycopersicon esculentum* L., Solanacées) (Lavergne, 1893). Au nord (Maine et Loire notamment), il semblerait que son apparition sur chanvre coïncide avec l'importation de semences de cette espèce originaires du Moyen-Orient et de Turquie en particulier (Barloy et al., sans date). Dès les années 1950, *P. ramosa* est devenue préoccupante sur tabac (Izard C., Hitier H, 1953). Elle est répertoriée sur colza d'hiver (*Brassica napus* L., Brassicacées) depuis la fin des années 1980 dans plusieurs départements français (Tarn, Lot, Charente, Charente-Maritime, Vienne, Deux-Sèvres, sud Vendée...) (Brault-Hernandez, 2006). Les enquêtes kilométriques du CETIOM témoignent d'un accroissement du problème dans les années 2000, à la fois en termes d'intensité du parasitisme et d'extension géographique. Actuellement, une trentaine de départements français sont touchés à des degrés divers avec les plus fortes infestations sur colza d'hiver en Poitou-Charentes et dans le sud de la Vendée (Chauvel et al., 2004 ; Pineault et al., 2007). Ainsi, parmi les espèces cultivées hôtes de *P. ramosa*, le colza (*Brassicaceae*) fait office de nouvel hôte en France. Des infestations sur colza ont été signalées dans plusieurs autres pays d'Europe (Bulgarie, Espagne, Italie et Grèce) (Shindrova et Kostov, 2009 ; Tsialtas et Eleftherohorinos, 2011). L'adaptation de *P. ramosa* au colza n'est plus une situation exclusivement endémique de la France.

### **Impact socio-économique**

Les pertes de rendement occasionnées par les infestations de *P. ramosa* amènent certains producteurs à réduire leur surface de production par manque de terres saines disponibles, voire à abandonner la culture. Cette situation s'avère préoccupante dans le cadre du développement du colza biocarburant ou de l'installation de productions nouvelles ou de coexistence (rotation colza-melon dans les Deux-Sèvres ou chanvre-colza dans l'Aube et la Marne notamment). La présence de *P. ramosa* dans certaines zones de rotations incluant plusieurs cultures sensibles constitue en soi une amplification majeure du risque (cas du melon / colza en Charente). Dans le sud-ouest on retrouve de l'orobanche sur des parcelles de tabac et de colza. En val de Loire, la filière Chanvre est touchée, ainsi qu'en Bourgogne et Franche Comté à proximité immédiate de surfaces importantes de colza.

Sa présence dans les cultures est susceptible à court terme de compliquer la conquête de nouveaux marchés pour les produits agricoles français. Au-delà de sa nuisibilité directe pour les cultures concernées, la présence d'Orobanche sur un territoire donné risque de constituer un frein dans le cadre des échanges internationaux en tant que bio-agresseur majeur. Les échanges de semences entre pays sont très vraisemblablement des vecteurs particulièrement efficaces des différentes espèces d'Orobanche, voire des pathotypes différents. Le risque de voir certains pays écartés des échanges de semences mais aussi de grains, ira croissant avec la mise en application de la convention internationale pour la protection des végétaux révisée en 1997 et entrée en application fin 2005, et qui renforce les clauses sanitaires et phytosanitaires comme seuls facteurs de régulation des échanges. Les difficultés de gestion de cette espèce dans des cultures dont les semences sont destinées à des marchés de pays étrangers indemnes de l'espèce présente en France (Uruguay, Corée, Vietnam, nombreux états des USA...) ou non concernés par des pathotypes différents, constituent autant d'obstacles au maintien ou la conquête de marchés à l'étranger pour les productions françaises de semences et de grains. A titre d'exemple, des pays tel que l'Australie, faiblement contaminés et développant une politique active de conquête de marchés à l'étranger, ont entrepris une politique de lutte active contre l'Orobanche rameuse dans leur sole de blé pour renforcer l'image sécuritaire du blé exporté y compris pour l'alimentation (Panetta et Lawes, 2005). A ce titre, la gestion de *P. ramosa*, plante parasite de nombreuses adventices des céréales à paille, constitue un enjeu international. Sa maîtrise dans les cultures en rotation avec les céréales apparaît comme essentielle afin de garantir une production française indemne pour les grains et semences des cultures concernées (colza notamment) mais aussi des céréales à paille en rotation.

## Références

- Abbes Z., Kharrat M., Delavault P., Chaïbi W., Simier P., 2009. Osmoregulation and nutritional relationships between *Orobanche foetida* and faba bean. *Plant Signaling and Behavior*, 4, 4), 336- 338.
- Auger B., Pouvreau J-B., Poupponeau K., Yoneyama K., Montiel G., Le Bizec B., Yoneyama K., Delavault P., Delourme R., Simier P., 2012. Germination stimulants of *Phelipanche ramosa* in the rhizosphere of *Brassica napus* are derived from the glucosinolate pathway. *Molecular Plant-Microbe Interactions* 25, 7, 993-1004.
- Barloy J., Besnard M., Bouchet J., Dixmeras J., Houdayer G., Le Nail Fr., Nicot A., Trottier R., sans date. L' orobanche du chanvre, *Phelipea ramosa* C.A. Meyer. Associat. de Coord. Techn. Agricole, 32p.
- Boulet C., Labrousse P., Arnaud M.C., Zehhar N., Fer A., 2001. Weed species present various responses to *Orobanche ramosa* L. attack. In : Fer A., Thalouarn P., Joël DH., Musselman L.J., Parker C., Verkleij J.A.C. (eds). Proceedings of the seventh International Parasitic Weed Symposium. Faculté des Sciences de Nantes, 228-231.
- Boulet C., Pineault D., Benharrat H., Bozec D., Delavault P., Simier P., 2007. Adventices du colza et orobanche rameuse - AFPP – XX ième conférence du COLUMA – Journées internationales sur la lutte contre les mauvaises herbes.
- Brault-Hernandez M., 2006. Avancées récentes dans la recherche sur l'orobanche rameuse du tabac en France. France tabac, N° 242.
- Chauvel B., Desaint F., Lonchamp J.P., Gasquez J., 2005. Cinq élues et des candidats, enquête sur les mauvaises herbes envahissantes en grandes cultures en France. *Phytoma Déf. Végét.*, 578, 16-20.
- Draie R., Péron T., Pouvreau J-B., Véronési C., Jégou S., Delavault P., Thoiron S., Simier P., 2011. Invertases involved in the development of the parasitic plant *Phelipanche ramosa*: characterization of the dominant soluble acid isoform, PrSA11. *Molecular Plant Pathology*, 12, 7, 638-652.
- Gibot-Leclerc S., Brault M., Pinochet X., Sallé G., 2003. Potential role of winter rape weeds in the extension of broomrape in Poitou-Charentes. *Comptes Rendus Biologie*, 326, 7, 645-58.
- Gomez-Roldan V., Fermas S., Brewer PB., Puech-Pagès V., Dun EA., Pillot J.P., Letisse F., Matusova R., Danoun S., Portais J.C., Bouwmeester H., Bécard G., Beveridge C.A., Rameau C., Rochange S.F., 2008. Strigolactone inhibition of shoot branching. *Nature*, 455, 7210, 189-194.
- Kuijt J., 1969. The biology of parasitic flowering plants. University of California Press (Berkeley), 246p.
- Lavergne G., 1893. Contribution à l'histoire des orobanches. Etude des espèces vivant sur les plantes cultivées. Traitements et procédés culturaux usités contre ces parasites, in Coulet C. et Feret et Fils édit., Montpellier et Bordeaux, France, 1-71.
- Lechat M.M., Pouvreau J-B., Péron T., Gauthier M., Montiel G., Véronési C., Todoroki, Y., Le Bizec B., Monteau F., Macherel D., Simier P., Thoiron S., Delavault P., 2012. An ABA catabolic gene, is a key component of *Phelipanche ramosa* seed germination in response to the strigolactone analogue GR24. *Journal of Experimental Botany*, 63, 14, 5311-5322.
- Panetta F.D., Lawes R., 2005. Evaluation of weed eradication programs: the delimitation of extent. *Diversity and Distributions*, 11, 435-442.
- Pérez-de-Luque A., Fondevilla S., Perez-Vich B., Aly R., Thoiron S., Simier P., Castillejo MA., Fernandez JM., Jorriin J., Rubiales D., Delavault P., 2009. Understanding broomrape-host plant interaction and developing resistance. *Weed Research*, 49, 8-22.
- Péron T., Véronési C., Mortreau E., Pouvreau J-B., Thoiron S., Leduc N., Delavault P., Simier P., 2012. Role of the sucrose synthase encoding *PrSus1* gene in the development of the parasitic plant *Phelipanche ramosa* L. (Pomel). *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 25, 3, 402-411.
- Pineault D., Palleau J.P., Boulet C., Delavault P., Simier P., 2007. L'orobanche rameuse, un redoutable parasite du colza. *La Vendée Agricole*, Juin 2007, 32-34.
- Robin P. 2004. Evaluation et compréhension des facteurs d'extension de l'orobanche rameuse en Poitou-Charentes. Mémoire de DESS Productions Végétales, ENSAR, Université de Rennes.
- Shindrova P., Kostov, A., 2009. Broomrape as a future problem for oilseed rape production in Bulgaria. In: Proc 10<sup>th</sup> world congress on parasitic plants (Kusadasi), p61.
- Tsialtas J.T., Eleftherohorinos I.G., 2011. First report of branched broomrape (*Orobanche ramosa*) on oilseed rape (*Brassica napus*), wild mustard (*Sinapis arvensis*), and wild vetch (*Vicia spp.*) in Northern Greece. *Plant disease*, 95, 1322.
- Umehara M., Hanada A., Yoshida S., Akiyama K., Arite T., Takeda-Kamiya N., Magome H., Kamiya Y., Shirasu K., Yoneyama K., Kyoizuka J., Yamaguchi S., 2008. Inhibition of shoot branching by new terpenoid plant hormones. *Nature*, 455, 7210, 195-200.
- Yoneyama K., Awad AA., Xie X., Yoneyama K. and Takeuchi Y., 2010. Strigolactones as germination stimulants for root parasitic plants. *Plant Cell Physiology*, 51, 7, 1095-103.

# Variabilité génétique de l'orobanche rameuse et son spectre d'hôtes

Philippe SIMIER<sup>1</sup>, Christian BOULET<sup>1</sup>, Marie VOISIN<sup>1</sup>, Julie QUENOUILLE<sup>3</sup>, Delphine MOLENAT<sup>2</sup>, Philippe DUFFE<sup>3</sup>, Martine LEFLON<sup>4</sup>, Sandrine LEGROS<sup>4</sup>, Xavier DAUVERGNE<sup>5</sup>, Hocine BENHARRAT<sup>1</sup>, Sabine DELGRANGE<sup>1</sup>, Johannes SCHMIDT<sup>1</sup>, Jean-Bernard POUVREAU<sup>1</sup>, Christophe JESTIN<sup>4</sup>, Régine DELOURME<sup>3</sup> et Philippe DELAVAUULT<sup>1</sup>

<sup>1</sup>LBPV, Faculté des Sciences et des Techniques Université de Nantes, 2 rue de la Houssinière, 44322 Nantes cedex

<sup>2</sup>Chambre d'agriculture de la Vendée, Impasse J.Maingueneau, 85200 Fontenay le Comte

<sup>3</sup>INRA, UMR1349 Institut de Génétique, Environnement et Protection des Plantes, 35653 Le Rheu

<sup>4</sup>CETIOM, Avenue Lucien Brétignières, 78850 Thiverval-Grignon

<sup>5</sup>LEBHAM, IUEM Technopôle Brest-Iroise 29280 Plouzané

## Résumé

En France, l'orobanche rameuse (*Phelipanche ramosa* L. Pomel), plante parasite obligatoire constitue un problème phytosanitaire pour plusieurs cultures telles que le colza, le chanvre, le tabac... Une meilleure connaissance du parasite constitue un enjeu important pour apporter des éléments dans la lutte contre ce parasite au fort pouvoir invasif. Les études de diversités génétiques et phénotypiques mettent en avant trois pathotypes d'orobanches associés à une gamme d'hôtes préférentielle. L'évaluation en conditions contrôlées de 72 espèces adventices réparties dans 24 familles botaniques, mettent en avant de multiples comportement, allant d'espèces très sensibles à immunes. Ces connaissances, associées aux méthodes de contrôles des adventices, devraient permettre d'apporter des clés pour mieux contrôler l'extension de *P. ramosa*.

**Mots-clés :** diversité, désherbage, gamme d'hôtes, pathotype, *Phelipanche ramosa*, stimulants de germination

## Introduction

L'orobanche rameuse (*Phelipanche ramosa* L., Orobanchacées) est une plante parasite de racines qui sévit dans de nombreux pays du pourtour méditerranéen, où son expansion s'explique vraisemblablement par l'association de conditions favorables telles que le climat et la culture intensive de cultures sensibles (tomate et tabac essentiellement). *P. ramosa* est une espèce parasite généraliste, présentant une large gamme d'espèces cultivées, mais aussi adventices (Boulet et al., 2001 ; Gibot-Leclerc et al., 2003 ; Robin, 2004), qui sont ainsi des hôtes secondaires non négligeables de cette plante parasite. En France, quatre cultures sont affectées par l'orobanche rameuse : le colza, le chanvre, le tabac et en moindre mesure le melon. *P. ramosa* adapte également la longueur de son cycle à celui de ses hôtes : elle peut ainsi fructifier sur le séneçon vulgaire (*Senecio vulgaris*, Astéracées) ou encore le laiteron rude (*Sonchus asper*, Astéracées) qui sont des adventices à cycle le plus souvent court. Supposée présente uniquement sur sols argilo-calcaires superficiels (groies), l'orobanche rameuse est présente maintenant sur d'autres types de sols plus profonds (limoneux, limono-argileux, limono-argilo-sableux) (Gibot-Leclerc et al., 2004 ; Robin, 2004).

## Variabilité génétique

La diversité génétique de l'orobanche rameuse est encore très mal connue. Des études préliminaires avec un petit nombre de marqueurs microsatellites sur des populations récoltées sur colza dans la Région Poitou-Charentes ont révélé un très fort degré d'homogénéité génétique intra et inter-populationnelle. Ces marqueurs ont permis néanmoins de différencier des populations de *P. ramosa*

récoltées en Régions Poitou-Charentes (sur colza ou autres espèces hôtes) et Champagne-Ardenne (sur chanvre et colza). Le développement de marqueurs microsatellites n'a pas été poursuivi à ce jour. Deux marqueurs cytosoliques (plastidiaux et mitochondriaux) ont été utilisés pour la caractérisation d'un grand nombre de populations françaises de *P. ramosa*. Ces analyses ont souligné l'existence de trois types génétiques (pathotypes) de *P. ramosa* (Voisin *et al.*, 2011). Le pathotype I est très largement majoritaire en Région Poitou-Charentes (16, 17, 79, 86) et Vendée (85), sur colza, chou, melon, tournesol, tabac et sur de nombreuses espèces adventices du colza. Par contre, à ce jour, aucune infestation de chanvre par ce pathotype n'a été observée dans cette région. Le pathotype I correspondrait au pathovar C défini sur un critère de spectre d'hôtes (colza /chanvre) par Benharrat *et al.* (2005). Le pathotype II a été identifié sur colza dans le Sud Est (32, échantillonnage limité), mais également en Région Champagne-Ardenne (10, 51) où il domine très nettement sur les deux autres pathotypes. Le pathotype I correspondrait au pathovar T défini sur un critère de spectre d'hôtes (colza /chanvre) par Benharrat *et al.* (2005). Le pathotype III a été échantillonné à ce jour sur tabac en Anjou (49) et dans la Région Sud-Ouest (32, 47, échantillonnage limité), ainsi que sur chanvre en Champagne-Ardenne (10, 51). Le pathotype III correspondrait au pathovar « Tabac » défini sur un critère de spectre d'hôtes (colza /chanvre/tabac) par Brault *et al.* (2007). Il semble donc que la présence quasiment exclusive du pathotype I dans la région Poitou-Charentes définisse un scénario très particulier du parasitisme de *P. ramosa* en France, dont l'origine reste à approfondir par une étude phylogénétique plus large à l'échelle de l'aire globale de distribution de *P. ramosa*. Il semble quasiment certain à ce jour que le pathotype I ne correspond pas à une espèce très voisine de *P. ramosa*, telle que *P. aegyptiaca*, *P. nana* et *P. mutelli*.

#### **Variabilité phénotypique : spectre d'hôtes (espèces cultivées), architecture des hampes florales, réponse aux stimulants de germination**

Une caractérisation phénotypique des trois pathotypes est en cours au laboratoire LBPV de l'Université de Nantes. Le pathotype I se différencie des deux autres par une vitesse de développement moindre sur des espèces hôtes communes (émergences tardives sur colza et tabac), un faible degré de ramification des hampes florales et une couleur de pétales plus foncée (bleu foncé vs bleu clair). Les graines de *P. ramosa* germent dans la rhizosphère du colza en réponse aux isothiocyanates (2-PEITC), produits de dégradation des glucosinolates (Auger *et al.*, 2012). Les 3 pathotypes de *P. ramosa* présentent une sensibilité semblable au 2-PEITC. Par contre, le pathotype I se démarque des deux autres par une hypersensibilité aux strigolactones (Pouvreau *et al.*, 2013). Le pathotype I ne parasite pas le chanvre sous infestation artificielle (pot et mini-rhizotrons). De même, aucune infestation de *P. ramosa* sur chanvre n'a été recensée à ce jour en Région Poitou-Charentes où prédomine ce pathotype. Cette sélectivité d'hôte repose sur l'insensibilité des graines de ce génotype aux stimulants de germination du chanvre.

#### **Espèces adventices hôtes**

Les termes utilisés pour décrire les comportements (statuts) des différentes espèces testées (cultivées ou adventices), ont été définies ci-après. Ces définitions ne constituent pas une terminologie officielle, et restent discutables : elles sont données en faisant prévaloir la notion de variabilité génétique aussi bien pour les espèces hôtes que pour l'espèce parasite. **Une espèce hôte** de *P. ramosa* est une espèce **sensible** à au moins un pathotype de *P. ramosa* (déroulement complet du cycle du parasite). Une **espèce non-hôte** est une espèce pour laquelle l'accomplissement du cycle de *P. ramosa* (tous pathotypes) est impossible pour diverses raisons, avec 3 variantes : (1) espèce parasitée mais pour laquelle l'accomplissement du cycle de *P. ramosa* (tous pathotypes) ne se fait pas (**espèce résistante non hôte**) ; (2) espèce stimulant la germination du parasite à des degrés divers (germination suicide) mais n'étant pas parasitée (**espèce faux-hôte**) ; (3) espèce ne stimulant pas la germination du parasite et n'étant pas parasitée (**avec les espèces faux-hôtes, elles correspondent aux espèces immunes**).

Dans l'optique d'une lutte raisonnée et d'une veille épidémiologique vis-à-vis de l'orobanche rameuse, il apparaît important :

- d'actualiser les connaissances sur la sensibilité aux pathotypes de *P. ramosa* (I et II dans cette étude) des différentes espèces adventices associées aux cultures parasitées, en complétant les résultats acquis depuis quelques années (Gibot-Leclerc *et al.*, 2003 ; Boulet *et al.*, 2007).
- de détecter les taxons hôtes les plus sensibles afin d'essayer d'optimiser le désherbage notamment chimique, à l'appui des résultats obtenus sous infestation artificielle (culture en pots, serre) et recoupés par des observations de terrain.

Depuis 2007 (Boulet *et al.*, 2007), 18 espèces adventices nouvelles ont été testées, soit un total de **72 espèces** appartenant à 24 familles botaniques différentes (les Poacées étant les seules Monocotylédones étudiées). Leur degré de sensibilité à l'égard de *P. ramosa* est très variable et peut se résumer comme suit :

- 52 espèces hôtes sensibles ou résistantes à des divers degrés, soit 72%
- 18 espèces immunes, soit 25 %
- 2 espèces résistantes non hôtes, soit 3% : morelle noire (Solanacées) et la lamprolabe commune (Astéracées).

Les principaux résultats sont les suivants :

- **Pour les familles très sensibles (à risques élevés) :**
  - + Brassicacées (capselle, arabette de Thalius, cardamine, sènebrière...). En dépit de la forte sensibilité des espèces de cette famille à l'orobanche, deux sisymbres ont présenté un comportement exceptionnel puisque ces espèces se sont révélées immunes.
  - + Géraniacées (plusieurs géraniums et plusieurs becs de grue).
  - + Rubiacées : gaillet gratteron, shérardie (peu d'espèces de cette famille sont adventices mais celles qui le sont, sont très sensibles).
  - + Astéracées : matricaires, séneçon vulgaire, laitrons,...
  - + Apiacées : carotte sauvage, grand ami...
  - + secondairement Rosacées (*Aphanes arvensis*, observé sur le terrain) et Violacées (*Viola tricolor* ssp. *arvensis*) ainsi que Scrofulariacées (véroniques).
- **Pour les familles immunes :**
  - + Poacées : des expérimentations supplémentaires pourraient permettre de distinguer les espèces véritablement immunes de celles qui sont faux-hôtes. Des observations ponctuelles ont permis de constater que certaines espèces apparaissent effectivement faux-hôtes : digitale, sétaire par exemple.
  - + Amaranthacées, Portulacacées (peu d'espèces testées).

Afin d'enrichir les connaissances acquises sur le comportement des espèces végétales vis-à-vis de l'orobanche rameuse, en 2013, ce sont 8 nouvelles espèces qui sont en cours d'évaluation (comm. pers., C. Boulet).

Ces résultats nous amène à quelques réflexions sur la maîtrise de ces adventices sensibles sur colza, en se basant sur la brochure désherbage 2011 du CETIOM et les résultats acquis sur le comportement des adventices vis-à-vis de l'orobanche rameuse en conditions expérimentales :

- + **En ce qui concerne les Monocotylédones :** les Poacées (ex-Graminées) posent problème en matière de désherbage chimique. Si aucun désherbage antigraminées en post-levée précoce n'est effectué, il y a un risque avec les bromes (plusieurs espèces : *Bromus hordeaceus*, *B. sterilis*, *B. rigidus*,...), la folle avoine (*Avena sativa* ssp. *fatua*, *Avena sativa* ssp. *sterilis*, *A. barbata*,...), les repousses de céréales et secondairement les ray-grass (*Lolium multiflorum*, *L. perenne*, *L. rigidum*,...) et le vulpin (*Alopecurus myosuroides*). En relation avec l'orobanche rameuse, ce n'est pas un problème car ces Poacées sont toutes immunes et certaines provoquent même une germination suicide (faux-hôtes : digitale par exemple).
- + **En ce qui concerne les Dicotylédones,** différents cas ont été observés. :

On distingue les espèces sensibles mais dont le contrôle par le désherbage est envisageable :

- helminthie fausse-vipérine (*Picris echinoides* – Astéracées) : cette espèce est moyennement contrôlée, et sensible aux deux pathotypes de *P. ramosa*
- bleuet (*Centaurea cyanus* – Astéracées) : cette espèce est moyennement contrôlée mais sensible à un faible degré aux deux pathotypes de *P. ramosa*.
- alchémille des champs (*Aphanes arvensis* – Rosacées) : espèce bien contrôlée, observée sensible sur le terrain (pathotype indéterminé).
- capselle bourse à pasteur (*Capsella bursa-pastoris* – Brassicacées) : espèce plutôt bien contrôlée, et heureusement car très sensible aux deux pathotypes de *P. ramosa*.
- mouron des champs (*Anagallis arvensis* – Primulacées) : espèce bien contrôlée et sensible au pathotype I de *P. ramosa*.
- laitersons (*Sonchus asper* et *S. oleraceus* – Astéracées) : espèces très sensibles aux deux pathotypes de *P. ramosa* mais bien contrôlées.
- matricaires (*Matricaria discoidea*, *M. recutita* et *M. perforata* – Astéracées) : espèces très sensibles aux deux pathotypes de *P. ramosa* mais bien contrôlées
- véronique à feuilles de lierre (*Veronica hederifolia* – Scrofulariacées) : cette espèce est moyennement contrôlée et sensible aux deux pathotypes de *P. ramosa*
- coquelicot (*Papaver rhoeas* - Papavéracées) : cette espèce est moyennement contrôlée et sensible à un faible degré aux deux pathotypes de *P. ramosa*.
- gaillet gratteron (*Galium aparine* – Rubiacées) : espèce moyennement contrôlée et très sensible aux deux pathotypes de *P. ramosa*.
- grand ami (*Ammi majus* – Apiacées) : espèce en progression dans toute la France, plus ou moins bien contrôlée, et sensible aux deux pathotypes de *P. ramosa*.

Certaines espèces apparaissent comme un risque non négligeable voire important car très à peu sensibles à l'orobanche et leur contrôle est difficile au champ :

- pensée des champs (*Viola arvensis* – Violacées) : cette espèce est mal maîtrisée avec tous les herbicides et se révèle très sensible aux deux pathotypes de *P. ramosa*.
- sanve (*Sinapis arvensis* – Brassicacées) : cette espèce est mal maîtrisée avec la plupart des herbicides, mais est peu sensible aux deux pathotypes de *P. ramosa*.
- ravenelle (*Raphanus raphanistrum* - Brassicacées) : cette espèce est également assez mal maîtrisée mais est apparemment peu sensible aux deux pathotypes de *P. ramosa*. Elle représente néanmoins un risque.
- géraniums (*Geranium dissectum*, *G. molle* et *G. pusillum*) : ces espèces sont assez mal maîtrisées et se sont révélées très sensibles aux deux pathotypes de *P. ramosa*.

D'autres espèces apparaissent immunes, et ne constituent donc pas un risque quel que soit leur contrôle au champ :

- sisymbres (*Sisymbrium irio* et *S. officinale* – Brassicacées) : ces espèces sont moyennement contrôlées, le premier est le seul qui est mentionné comme assez abondant sur l'ouvrage de P. Jauzein (Flore des champs cultivés). Ces 2 espèces se sont révélées immunes vis-à-vis de *P. ramosa* (pathotypes I et II).
- fumeterres (*Fumaria muralis*) (Papavéracées) : cette espèce est moyennement contrôlée et immune vis-à-vis de *P. ramosa* (pathotypes I et II).
- myosotis (*Myosotis arvensis* – Boragacées) : espèce bien contrôlée et immune vis-à-vis des deux pathotypes de *P. ramosa*.

**Globalement, les problèmes majeurs sont liés aux familles suivantes** : Brassicacées, Géraniacées, Astéracées, Rubiacées, Violacées, Apiacées, Scrofulariacées. En conclusion, un grand nombre d'adventices sont sensibles aux deux pathotypes (I et II). Il appartient à chaque agriculteur de pratiquer une veille et de réduire le mieux possible les populations des espèces les plus sensibles à

l'appui des résultats acquis en conditions expérimentales. Côté laboratoire, Il reste également à définir la sensibilité de ces espèces à grand risque vis-à-vis du troisième pathotype de *P. ramosa*.

## Références bibliographiques

- Auger B., Pouvreau J-B., Pouponneau K., Yoneyama K., Montiel G., Le Bizec B., Yoneyama K., Delavault P., Delourme R., Simier P., 2012. Germination stimulants of *Phelipanche ramosa* in the rhizosphere of *Brassica napus* are derived from the glucosinolate pathway. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 25, 7, 993-1004.
- Barloy J., Besnard M., Bouchet J., Dixmeras J., Houdayer G., Le Nail Fr., Nicot A., Trottier R., sans date - L' orobanche du chanvre, *Phelipea ramosa* C.A. Meyer. Associat. de Coord. Techn. Agricole., 32p
- Benharrat H., Boulet C., Theodet C.,Thalouarn P., 2005. Virulence diversity among branched broomrape (*Orobanche ramosa* L.) populations. *Agronomy and Sustainable Development*, 25, 1, 123-128.
- Boulet C., Labrousse P., Arnaud M.C., Zehhar N., Fer A., 2001. Weed species present various responses to *Orobanche ramosa* L. attack. In : Fer A., Thalouarn P., Joël DH., Musselman L.J., Parker C., Verkleij J.A.C. (eds). Proceedings of the seventh International Parasitic Weed Symposium. Faculté des Sciences de Nantes, 228-231.
- Boulet C., Pineault D., Benharrat H., Bozec D., Delavault P., Simier P., 2007. Adventices du colza et orobanche rameuse - AFPP – XX ième conférence du COLUMA – Journées internationales sur la lutte contre les mauvaises herbes.
- Brault-Hernandez M., 2006. Avancées récentes dans la recherche sur l'orobanche rameuse du tabac en France. *France tabac*, N° 242.
- Brault M., Betsou F., Jeune B., Tuquet,C., Sallé G., 2007. Variability of *Orobanche ramosa* populations in France as revealed by cross infestations and molecular markers. *Environment and experimental Botany* 61, 272-280
- Capdebon M., 1983. La lutte contre les Phanérogames parasites, *Ann. Sci. Nat. Bot., Paris*, 13 ième série, 5, 1-27.
- Chauvel B., Desaint F., Lonchamp J.P., Gasquez J., 2005. Cinq élues et des candidats, enquête sur les mauvaises herbes envahissantes en grandes cultures en France. *Phytoma Déf. Végét.*, 578, 16-20.
- Gibot-Leclerc S., Brault M., Pinochet X., Sallé G., 2003. Potential role of winter rape weeds in the extension of broomrape in Poitou-Charentes. *Comptes Rendus Biologie*, 326,7, 645-658.
- Gibot-Leclerc S., 2004. Etude épidémiologique, écophysiological et agronomique du couple *Orobanche ramosa* L./ *Brassica napus* L. Thèse de doctorat Université Paris VI Pierre et Marie Curie.
- Izard C., Hitier H., 1953. Obtention de la germination in vitro des graines d'orobanche du tabac. *Ann. Inst. Experimental du Tabac, Bergerac*, 1, 47-56.
- Lavergne G., 1893. Contribution à l'histoire des orobanches. Etude des espèces vivant sur les plantes cultivées. Traitements et procédés culturaux usités contre ces parasites, in Coulet C. et Feret et Fils édit., Montpellier et Bordeaux, France, 1-71.
- Pineault D., Palleau J.P., Boulet C., Delavault P., Simier P., 2007. L'orobanche rameuse, un redoutable parasite du colza. *La Vendée Agricole*, Juin 2007, 32-34.
- Pineault D., Boulet C., Benharrat H., 2010. L'orobanche rameuse, les plantes-pièges et le feu. *Phytoma*, 630, 22-25
- Pouvreau J-B., Gaudin Z., Auger B., Lechat M-M., Gautier M., Delavault P., Simier P., 2013. A high-throughput seed germination assay for root parasitic plants. Submitted in *Plant Methods*.
- Robin P., 2004. Evaluation et compréhension des facteurs d'extension de l'orobanche rameuse en Poitou-Charentes. Mémoire de DESS Productions Végétales. ENSAR, Université de Rennes.

# LA LUTTE CONTRE L'OROBANCHE RAMEUSE : PANORAMA DES SOLUTIONS

C. JESTIN

CETIOM, Avenue Lucien Brétignières, Campus de Grignon, F-78850 Thiverval Grignon

## Résumé :

L'orobanche rameuse (*Phelipanche ramosa*) est une plante parasitant de nombreuses espèces végétales, en particulier autour de la Méditerranée et dans de nombreux pays de l'Europe de l'ouest et de l'est où elle a trouvé des conditions de développement favorables. Ce parasitisme peut conduire à des pertes de rendement importantes voire à une destruction totale de la culture hôte. Le fort pouvoir invasif de cette espèce, lié à un spectre d'hôte et à une capacité de dissémination grainière très importants, rend très difficile son éradication dans les différents pays où elle s'est propagée. Pour y faire face, différentes solutions ont été explorées, certaines sont à l'échelle expérimentale, d'autres sont effectives en plein champ. La prophylaxie reste un moyen pour limiter la dissémination d'une parcelle contaminée à une parcelle saine quelque soit la culture. Les pratiques culturales associées à la voie chimique et/ou génétique sont des solutions qui permettent de lutter contre l'orobanche, mais qui sont spécifiques de la culture hôte. A ce jour, des efforts sont encore nécessaires pour mieux contrôler l'extension de ce parasite et son impact en agriculture.

**Mots clés :** *Phelipanche ramosa*, plante parasite, lutte, pratiques culturales, chimique, génétique

## Introduction

Durant l'évolution, plus de 4000 plantes à fleurs ont perdu leur capacité autotrophique, pour s'adapter à un autre mode vie, celui du parasitisme. Parmi elles, deux genres, 'Orobanche' et 'Phelipanche', qui sont des plantes parasites obligatoires et non chlorophylliennes, dépendent entièrement de leur hôte pour prélever les nutriments et l'eau nécessaires à leur croissance et à leur multiplication (Joel *et al.*, 2007 ; Parker *et al.*, 2009 ; Rubiales *et al.*, 2009). Parmi ces espèces, l'orobanche rameuse (*Phelipanche ramosa* L. Pomel) (Joel, 2009) est très répandue, en particulier autour de la Méditerranée et dans de nombreux pays de l'Europe de l'ouest et de l'est, où elle a trouvé des conditions de développement idéales. L'espèce *P. ramosa* possède un spectre d'hôte important, et est capable de parasiter aussi bien des espèces cultivées (tomate, tabac, aubergine, colza, chanvre, fève, melon, pomme de terre...) que des espèces sauvages (Gibot-Leclerc *et al.*, 2003 ; Hershenhorn *et al.*, 2005 ; Vouzounis, 2005 ; Brault *et al.*, 2007 ; Boulet *et al.*, 2007). En France, le colza est devenu l'hôte principal de *P. ramosa*, et ce depuis plusieurs années, au côté du chanvre, du tabac et du melon (Gibot-Leclerc *et al.*, 2003 ; Brault *et al.*, 2007 ; Nowak et Leflon, 2010). Elle est surtout présente en région Poitou-Charentes et en Vendée, et plus récemment dans le Nord-Est notamment sur les cultures de chanvre et de colza (Nowak et Leflon, 2010) où elle peut causer des pertes de rendement et économique importantes.

En France, l'orobanche rameuse fait partie de la liste des organismes nuisibles, contre lesquels la lutte n'est pas obligatoire sur tout le territoire et de façon permanente, mais dont la propagation peut présenter un danger soit à certains moments, soit dans un périmètre déterminé, soit sur certains végétaux, produits végétaux et autres objets déterminés, et qui peuvent nécessiter des mesures spécifiques de lutte obligatoire, sur tout ou partie du territoire français (arrêté du 31 juillet 2000, <http://legifrance.gouv.fr/>). L'orobanche est un organisme réglementé pour l'importation et la délivrance du passeport Phytosanitaire Européen (annexes 4 et 4-2 de la directive Européenne 2000/29/CE). Pour l'obtention d'un passeport phytosanitaire tout lot de semences doit donc être indemne d'orobanches. A ce jour, ce contrôle s'effectue pour les semences de chanvre pour lesquelles la norme de certification française est de 0 graines d'orobanche dans un échantillon de 100 g.

Le fort pouvoir invasif de l'orobanche (spectre d'hôte large, et capacité de multiplication / dissémination) rend ce parasite difficile à éliminer. Le stock semencier d'orobanche rameuse peut

atteindre plusieurs dizaines de millions de graines au mètre carré. Aucune voie ne permet aujourd'hui de lutter efficacement contre ce parasite. Seule une approche intégrée mêlant différentes méthodes de lutte et prophylactiques permettra de contrôler ce parasite. Les méthodes de lutte explorées visent soit à réduire le stock grainier d'orobanche dans les sols soit à limiter l'infestation ou ses effets sur les cultures (Rubiales *et al.*, 2009).

### **Prophylaxie**

Limiter la dissémination du parasite est primordiale. Des mesures simples peuvent être mises en œuvre : limiter les échanges de matériel agricole entre parcelles infestées et saines, nettoyer le matériel après usage, enfouir les résidus de culture après récolte... En France, le contrôle des lots de semence se fait pour la culture de chanvre, limitant ainsi la dissémination des graines du parasite par cette voie. Par ailleurs, ce contrôle n'est pas élargi à d'autres cultures. La méthode de détection officielle ne permet pas de discriminer les différentes espèces d'orobanche, et de ce fait surestime le danger associé au lot de semences. Dans ce contexte, différents organismes publics et privés se sont associés dans un projet financé par le Comité Technique Permanent de Sélection (CTPS) pour développer une méthode moléculaire visant à détecter les graines de plantes parasites de cultures majeures, dans les lots de semences. En Australie, un programme a été développé pour tenter de limiter la dissémination de ce parasite, par des mesures sanitaires strictes, et par une quarantaine de tous les lots de semences provenant de parcelles infestées (Jupp *et al.*, 2002).

### **Pratiques culturales**

Différentes solutions liées aux pratiques culturales peuvent contribuer à enrayer le parasite. La destruction manuelle des pieds d'orobanche et le brulis des hampes florales avant fructification sont des moyens efficaces pour réduire l'infestation, à condition que celle-ci soit relativement faible.

Des techniques culturales simplifiées, à savoir, sans labour, ou au contraire un labour profond (>50 cm), impacteraient négativement la viabilité des graines d'orobanches en la soumettant à différents stress (*e.g.* manque d'oxygène) (Ghersa et Martinez-Ghersa, 2000 ; Rubiales *et al.*, 2009 ; Calchei, 2011). Au travail du sol s'ajoute la fertilisation qui intervient dans le degré d'infestation de l'orobanche. L'augmentation de la fertilisation azotée, sous forme de fumure organique, d'ammonium ou d'urée a un effet inhibiteur sur le développement de l'orobanche (*e.g.* Lavergne, 1893 ; Rubiales *et al.*, 2009). Mariam *et al.* (2005) a ainsi pu montrer qu'un apport azoté croissant diminuait le niveau d'infestation (nombre de fixations et poids secs) de *P. ramosa* sur la culture de tomate. L'azote agit soit directement en inhibant la germination de l'orobanche, soit sur l'élongation du procaulome soit via une modification du métabolisme de l'azote (Jain et Foy, 1992 ; Abu-Irmaileh, 1994 ; Van Hezewijk et Verkleij, 1996). La fertilisation peut également impacter indirectement l'orobanche en modifiant l'architecture et le métabolisme de l'hôte. Une haute disponibilité de nutriments pour la plante, diminuerait le développement racinaire de la plante hôte, et donc la probabilité de rencontre entre les graines d'orobanches et les exsudats racinaires de l'hôte nécessaires à cette dernière pour germer. De plus, des études ont montré que des apports azotés et phosphatés pouvaient modifier la production des exsudats racinaires de l'hôte, et de ce fait, la capacité du parasite à germer (Cechin et Press, 1993 ; Yoneyama *et al.*, 2007 ; Yoneyama *et al.*, 2012). Yoneyama *et al.* (2012) montre que toutes les familles étudiées (Astéracées, Poacées, Solanacées et Fabacées) ne répondent pas de la même manière à ce déficit phosphaté et azoté dans la production de strigolactones (stimulant de germination de plusieurs parasites). Ces données suggèrent une variabilité génétique dans la réponse aux stress abiotiques dans la production des stimulants de germination.

L'allongement de la rotation avec des espèces non hôtes voire faux hôtes favorise la diminution du stock grainier d'orobanche dans le sol, de même que l'utilisation d'hôtes sensibles en tant que plante piège. Ces dernières peuvent être utilisées à condition que la culture soit détruite avant fructification de l'orobanche. Certaines espèces dites faux-hôtes sont capable d'induire la germination de l'orobanche sans que celle-ci puisse se fixer ou se développer sur la plante. Plusieurs espèces (lin, maïs, luzerne, sorgho...) ont montré leur potentiel en tant que faux-hôtes vis-à-vis de l'orobanche rameuse en conditions contrôlées, et/ou au champ (Pieterse, 1979 ; Abu-Irmaileh, 1984 ; Al-Menoufi, 1994 ; Kleifeld, 1998 ; Leflon et Nowak, 2010 ; Boulet *et al.*, 2007 ; Qasem *et al.*, 2007 ; Pineault *et al.*, 2010). Diverses expérimentations menées en France montrent que les cultures intermédiaires telles

que la moutarde ou les repousses de colza (culture hôte), ou des cultures principales comme le maïs ou le lin (culture faux hôte), en place pendant au moins un mois, permettent de diminuer de 30% le stock semencier d'orobanche rameuse (Nowak et Leflon, 2010 ; Pineault *et al.*, 2010). Sur la culture de tomate, deux années de précédent maïs et haricot vert ont permis de réduire jusqu'à 74% de réduction le niveau d'infestation vis-à-vis de *P. ramosa* et *O. cernua*, avec pour conséquence une augmentation du rendement de la culture (Girma *et al.*, 2005). Des espèces adventices se comportent également comme faux hôtes de l'orobanche rameuse (Boulet *et al.*, 2007) et peuvent contribuer à réduire le stock grainier d'orobanche. A l'inverse, de nombreuses espèces adventices sont également hôtes de ce parasite (Gibot-Leclerc *et al.*, 2003 ; Boulet *et al.*, 2007 ; Gibot-Leclerc *et al.*, 2009) nécessitant un désherbage soigneux de la parcelle pour éviter une multiplication du parasite.

D'autres facteurs liés aux techniques culturales telles que la densité de semis, la date de semis ou l'irrigation peuvent impacter sur le niveau d'infestation (Musselman, 1980 ; Karkanis *et al.*, 2007 ; Palleau, 2010). Les modèles quantifiant les effets des systèmes de culture sur les populations des bioagresseurs apparaissent indispensables pour concevoir des stratégies de gestion de lutte. En effet, les scénarii à tester pour lutter contre les bioagresseurs, peuvent être très complexes et se déroulent sur plusieurs années. Dans cet optique, un modèle, appelé PHERASYS, est en cours de développement pour le parasite *P. ramosa*, couplé à un modèle FLORSYS qui prédit la flore adventice dans les systèmes de culture, pour aider notamment à déterminer l'impact de différents systèmes de culture et de la flore adventice sur le stock grainier d'orobanche dans les sols au cours du temps (Colbach *et al.*, 2011).

### Traitement physique et chimique

Certaines méthodes de traitement chimique ou physique des sols sont efficaces pour détruire les graines d'orobanches. Différents essais associant le traitement thermique des sols et/ou des résidus de culture ont été menés en France sur l'orobanche rameuse ou cumana (Mornet, 2008 ; Pineault *et al.*, 2010 ; Jestin et Lecomte, 2013) : ces résultats démontrent tous une perte de viabilité des graines d'orobanches. La solarisation, technique qui consiste à utiliser la chaleur du soleil afin de produire une forte chaleur sous une bâche de polyéthylène, a également fait ses preuves lors d'une application en discontinue pendant 4 à 8 semaines (Rubiales *et al.*, 2009 ; Boz *et al.*, 2012), notamment en combinaison avec un apport ammoniacal sous forme de lisier (Haidar et Sidhamed, 2000). L'application d'un traitement chimique directement dans le sol pour détruire/inhiber (*e.g.* Nemli *et al.*, 1991 ; Cooke, 2002) ou stimuler la germination (*e.g.* Johnson *et al.*, 1976 ; Zwanenburg *et al.*, 1997 ; Benvenuti *et al.*, 2002 ; Vurro *et al.*, 2006 ; Yoneyama *et al.*, 2009) des graines d'orobanches ont montré une certaine efficacité, mais qui peut être contrastée selon l'espèce d'orobanche. Le dibromide d'éthylène a été utilisé aux USA pour lutter contre *O. crenata*, mais cette molécule reste inefficace face à *P. ramosa* (Foy *et al.*, 1989). L'utilisation d'analogues de stimulants de germination pour entraîner une germination suicide des graines d'orobanches est une approche attractive car elles agissent à faible concentration, et par leur action spécifique elles n'ont pas d'effets indésirables sur l'environnement. Benvenuti *et al.* (2002) ont pu réduire l'infestation de *P. ramosa* sur tabac jusqu'à 75% par rapport au témoin, par l'application d'un analogue de strigol, le Nijmegen-1. Néanmoins, Plakhine *et al.* (2009) ont montré que des plantes hôtes mises en culture quelques mois après traitement, présentaient un taux d'infestation important. Ces résultats semblent souligner une possible synergie entre les résidus de Nijmegen-1 dans le sol et les stimulants naturels relargués par la culture. D'autres molécules peuvent agir directement sur l'hôte en activant les mécanismes de défenses, limitant les fixations de l'orobanche. Cela a été montré sur différents couples hôte-parasite, tels que tournesol – *O. cumana* ou Féverole – *O. crenata* (*e.g.* Sauerborn *et al.*, 2002 ; Perez-de-luque *et al.*, 2004 ; Fan *et al.*, 2007). Véronési *et al.* (2009) a également montré qu'une application foliaire d'Acibenzolar-S-methym pouvait induire la résistance du colza vis-à-vis de *P. ramosa*, avec une réduction de 70% du nombre de fixation du parasite sur les racines de l'hôte. Bien que toutes ces méthodes soient efficaces, elles présentent l'inconvénient d'être dangereuses pour l'environnement ou pour la santé humaine, et/ou difficile ou trop coûteuse à mettre en œuvre au champ, notamment sur de grandes surfaces.

D'autres méthodes chimiques visent à réduire l'infestation de l'orobanche, une fois celle-ci fixée à l'hôte, par l'utilisation d'herbicides. Les herbicides à action systémique, pénètrent par les parties foliaires et circulent dans le phloème jusqu'à la plante parasite sans être métabolisés. Différentes études ont montré l'efficacité du glyphosate sur différents parasites dont l'orobanche rameuse pour différentes cultures : fève, tournesol, tomate, céleri, vesce, pomme de terre, colza, chanvre (Sauerborn *et al.*, 1989 ; Americanos, 1991 ; Kotoula-Syka et Eleftherohorinos, 1991 ; Nandula *et al.*, 1999 ; Haidar *et al.*, 2005 ; Pérez-de-Luque *et al.*, 2010 ; Rubiales *et al.*, 2012 ; source CETIOM)... Si son action peut être efficace, un risque de phytotoxicité peut exister, et de manière inégale entre les cultures hôtes. L'efficacité de l'hydrazine maléique, a été rapportée dans plusieurs études, notamment pour la culture de tabac lorsque la molécule était appliquée au stade floraison du parasite *P. ramosa* et au stade inhibition des bourgeons de tabac (Mornet, 2008). Les herbicides de la famille des sulfonilurées et des imidazolinones ont également montré une efficacité relative vis-à-vis des orobanches notamment pour les cultures de tomates, de pomme de terre, ou de fabacées (Rubiales *et al.*, 2012). La connaissance de la phénologie du parasite est importante afin de pouvoir apporter la dose optimale au moment opportun. Les applications chimiques doivent être souvent répétées car les graines d'orobanches peuvent germer à plusieurs périodes du cycle de développement de la plante hôte. Différents modèles ont été développés afin d'anticiper l'apparition du parasite pour faciliter, par exemple, le choix de la date optimale du traitement herbicide, pour plusieurs parasites tels que *O. minor* (Eizenberg *et al.*, 2005) et *O. cumana* (Eizenberg *et al.*, 2012).

Globalement, l'utilisation d'herbicide est souvent contrainte par des problèmes de phytotoxicité pour la plante hôte, en dépit de son efficacité contre l'orobanche. L'utilisation de variétés tolérantes aux herbicides (VTH) est une solution envisageable pour contourner cette limite. L'utilisation de mutants de cible des herbicides (ALS : acétolactate synthase; ACCase : acétyl-coenzyme A carboxylase ; EPSPS : enoyl pyruvyl shikimate 3-phosphate synthase), permet à l'herbicide d'être véhiculé jusqu'au parasite sans que cela n'affecte la plante hôte (Radi *et al.*, 2001; Groote *et al.*, 2008 ; Gressel, 2009 ; Beckert *et al.*, 2011). La stratégie VTH est notamment employée pour lutter contre l'orobanche cumana, parasite du tournesol (Eizenberg *et al.*, 2009 ; Jestin et Lecomte, 2013). Ces mutations ont été découvertes et/ou exploitées pour d'autres cultures telles que le maïs, blé, soja, riz, colza ou lentille (Rubiales *et al.*, 2012 ; Beckert *et al.*, 2011). Néanmoins, si cette possibilité est attrayante, les recommandations pour une efficacité optimale du traitement contre l'orobanche peuvent être différentes de celles utilisées pour lutter contre les autres adventices du champ. De plus, l'utilisation de cette solution sans une gestion raisonnée peut entraîner l'apparition de plantes parasites résistantes à l'herbicide. La résistance aux herbicides inhibiteurs de l'ALS tels que le chlorsulfuron et le sulfometuron-méthyl a déjà été observée pour le parasite *Cuscuta campestris* (Rubin, 1994). Par ailleurs, cette problématique existe pour de nombreuses adventices, pour lesquelles des résistances à différentes herbicides sont apparues (Beckert *et al.*, 2011).

### **Lutte biologique**

Des solutions dites biologiques ont été également étudiées, par l'utilisation de champignons pathogènes à l'orobanche notamment ceux appartenant au genre *Fusarium spp.* (*e.g.* Bozoukov et Kouzmanova, 1994 ; Boari *et al.*, 2004 ; Kohlschmid *et al.*, 2009 ; Müller-stöver *et al.*, 2009 ; Abouzeid et El-Tarabily, 2010). D'autres organismes (*Ucladium spp.*, *Rhizobium spp.*,...) ont montré leur potentiel contre diverses orobanches (*e.g.* Linke *et al.*, 2002 ; Müller-Stöver et Kroschel, 2005), et pour certaines contre l'orobanche rameuse (Abouzeid et El-Tarabily, 2010). En dépit de l'efficacité de ces solutions en conditions contrôlées, les conditions favorables à leur développement ne sont pas toujours réunies au champ. Il est en plus risqué de modifier l'équilibre biologique du sol, d'autres maladies pouvant émerger. Différents travaux soulignent également l'intérêt d'utiliser ces substances « naturelles » comme stimulateur de défense de la plante hôte. Des travaux utilisant bactéries et algues ont ainsi montré qu'il était possible de diminuer de plus de 80% le taux d'infestation de la culture hôte vis-à-vis de *P. ramosa* (*e.g.* Gonsior *et al.*, 2004). En 2012, le CETIOM s'est impliqué avec Maisadour Semences, l'université de Nantes et le Groupe Roullier, dans le projet Helios visant à développer l'utilisation des extraits de végétaux marins pour stimuler les voies de défense de cultures hôtes vis-à-vis de *P. ramosa* et *O. cumana*. Certaines études soulignent également l'intérêt de certains insectes, phytophages des orobanches, telles que *Phytomyza orobanchia*, permettant de réduire de 30 à plus de 80% la production grainière de l'orobanche dans

un champ infesté (Klein et Kroschel, 2002). Mais les conditions de réussite sont fortement dépendantes des conditions environnementales favorables à l'insecte.

### **Vers une lutte génétique ?**

L'exploitation de variétés résistantes est une stratégie prometteuse pour lutter contre les orobanches. Cependant la nature de la résistance est souvent complexe et la base de l'interaction entre l'hôte et le parasite reste largement méconnue. En dépit des programmes d'amélioration végétale, les sources de résistance disponibles sur le marché restent relativement rares pour les différents couples hôte/parasite. Des résistances ont été identifiées chez le tournesol vis-à-vis de l'orobanche cumana, avec à la fois une composante monogénique et polygénique selon les populations d'orobanches, conférant jusqu'à une résistance totale de la plante. L'exploitation de ces résistances monogéniques ou qualitatives chez le tournesol a favorisé l'émergence de populations d'orobanches plus agressives, nécessitant l'exploitation de nouveaux gènes de résistances en combinaison avec des sources de résistances quantitatives (review Pérez-de-Luque *et al.*, 2009). Des sources de résistance monogénique ont été également identifiées chez la tomate : Dor *et al.* (2010) a identifié un mutant qui présentait une résistance relative à 4 orobanches *P. aegyptiaca*, *P. ramosa*, *O. cernua*, *O. crenata*. Si ce gène récessif n'a pas permis d'apporter une résistance totale au mutant, il a permis à celui-ci d'avoir une croissance et un rendement similaire au témoin, suggérant l'intérêt d'exploiter cette seule mutation en sélection. Si les cas relatifs à la résistance monogénique restent peu nombreux, davantage d'exemples dans la littérature font références à la résistance quantitative ou polygénique pour différentes cultures. Néanmoins, le niveau de résistance offert par ces sources est pour la plupart aujourd'hui relativement faible ou modéré. Différents exemples de résistance partielle ont été répertoriés chez les cultures hôtes de *P. ramosa* tels que le colza (*e.g.* Gauthier *et al.*, 2012), la tomate (*e.g.* Qasem et Kasrawi, 1995), le tabac (*e.g.* Mornet *et al.*, 2008) ou la carotte (*e.g.* Zehhar *et al.*, 2003). Différents mécanismes sous-jacents à la résistance totale ou partielle exprimée de la plante hôte vis-à-vis des plantes parasites ont été répertoriés à différents niveaux (Perez-de-luque *et al.*, 2009) : production faible ou absente de stimulants de germination relargués par la plante hôte ; mise en place de barrière mécaniques et chimiques limitant la pénétration de l'haustorium du parasite dans les racines de l'hôte ; accumulation de composés toxiques perturbent qui ralentissent le développement du parasite notamment en perturbant les connexions vasculaires qui se sont créés avec l'hôte. Gauthier *et al.* (2012) a réussi à mettre en évidence ces différents mécanismes de défense/résistance à différent stade de développement du parasite, au sein d'un panel de génotypes de colza qui est une espèce réputée relativement sensible à *P. ramosa*. La variabilité de réponse observée par Gauthier *et al.* (2012) en conditions contrôlées a été également mise en évidence au champ, mais d'une année à une autre, le comportement des variétés deviennent moins résistantes (Palleau, 2010) suggérant une évolution potentielle des populations d'orobanche rameuse au cours du temps. La connaissance de ces mécanismes associés à la résistance partielle ou totale de la plante, peut contribuer à une réflexion pour les sélectionneurs dans la construction de génotypes à résistance efficace et durable, en particulier pour les espèces présentant peu de sources de résistance.

### **Conclusion**

Une panoplie de solutions existe pour lutter contre les plantes parasites. Pour éradiquer l'orobanche rameuse, les solutions efficaces et utilisables au champ à court terme restent cependant peu nombreuses. Il apparaît nécessaire de prendre en compte l'ensemble des moyens de lutte et de prophylaxie pour réduire l'expansion de ce parasite. Des efforts sont encore nécessaires dans la compréhension de l'interaction hôte parasite, dans la variabilité génétique du parasite et dans la recherche de sources de résistance en vue de construire des génotypes à résistance efficace et durable.

### **Références bibliographiques**

Abouzeid A.M., Boari A., Maria Chiara Zonno C.M., Vurro M., Evidente A., 2004. Toxicity profiles of potential biocontrol agents of Orobanche ramosa. Weed Science, 52:3, 326-332.

- Abouzeid M.A., El-Tarabily A.K., 2010. *Fusarium spp.* suppress germination and parasitic establishment of bean and hemp broomraps. *Phytopathol. Mediterr.*, 49, 51–64.
- Abu-Irmaileh B.E., 1984. Effect on planting flax on the subsequent infestation of tomato by orobanche ramosa. *Proceedings of the 3<sup>rd</sup> international symposium on parasitic weeds*, Alep, Syrie, 250-255.
- Abu-Irmaileh B.E., 1994. Nitrogen reduces branched broomrape (*Orobanche ramosa*) seed germination. *Weed Science*, 42, 57–60.
- Al-Menoufi O., 1994. The orobanche problem management in Egypt. *Proceedings of the international workshop on related Striga research royal tropical institute*, Amsterdam, 663-671.
- Americanos, P.G., 1991. Control of Orobanche in celery. *Technical Bulletin – Cyprus Agricultural Research Institute*, No. 137.
- Beckert M., Dessaux Y., Charlier C., Darmency H., Richard C., Savini I., Tibi A. (éditeurs), 2011. Les variétés végétales tolérantes aux herbicides. Effets agronomiques, environnementaux, socio-économiques. *Expertise scientifique collective, rapport*, CNRS-INRA (France).
- Benvenuti S., Pompeiano A., Macchia M., Miele S., 2002. Orobanche Seed Bank Dynamics in Tobacco by Using a Germination Stimulant. *12th EWRS Symposium*, Wageningen, 380–381.
- Boulet C., Pineault D., Benharrat H., Bozec D., Delavault P., Simier P., 2007. AFPP, 20<sup>ème</sup> conférence du coloma, journées internationales sur la lutte contre les mauvaises herbes, Dijon, 19pp.
- Boari A., Vurro M., 2004. Evaluation of *Fusarium spp.* and other fungi as biological control agents of broomrape (*Orobanche ramosa*). *Biological control*, Volume 30, Issue 2, 212–219.
- Boz Ö., Nedim M.D., Doğan, Öğüt D., 2012. The effect of duration of solarization on controlling branched broomrape (*Phelipanche ramosa* L.) and some weed species. *25th German Conference on Weed Biology and Weed Control*, March 13-15, 2012, Braunschweig, Germany
- Bozoukov H., Kouzmanova I., 1994. Biological control of tobacco broomrape (*Orobanche spp.*) by means of some fungi of the genus *Fusarium*. *Proceedings of the 3rd International workshop on Orobanche and related Striga Research*. Royal Tropical Institute, Amsterdam.
- Brault M., Betsou, F., Jeune, B., Tuquet, C., Sallé, G., 2007. Variability of *Orobanche ramosa* populations in France as revealed by cross infestations and molecular markers. *Environ. Exp. Bot.* 67, 271–280.
- Calchei E., 2011. Methods of combating broomrape in tobacco plantations. *International symposium on broomrape (Orobanche spp.) in sunflower*, Chisinau, Moldavie, p15.
- Cechin C., Press M.C., 1993. Nitrogen relations of the Sorghum–*Striga hermonthica* host–parasite association: germination, attachment and early growth. *The New Phytologist*, 124, 681–687.
- Cooke D., 2002. Control of branched broomrape. *Animal and plant control commission of SA*, October 2002, 39p.
- Colbach N., Abdennebi-Abdemedess N., Gibot-Leclerc S., 2011. A preliminary approach for modelling the effects of cropping systems on the dynamics of broomrape (*Phelipanche ramosa*) in interaction with the non-parasitic weed flora. *OCL*, 18, 39-45.
- Dor E., Alperin B., Wininger B., Ben-Dor B., Somvanshi V. S., Koltai H., Kapulnik Y., Hershenhorn J., 2010. Characterization of a novel tomato mutant resistant to the weedy parasites *Orobanche* and *Phelipanche* spp. *Euphytica*, Volume 171, Issue 3, 371-380.
- Eizenberg H., Colquhoun J.B., Mallory-Smith C.A., 2005. A predictive degree-days model for small broomrape (*Orobanche minor*) parasitism in red clover Oregon. *Weed Sci*, 53, 37-40.
- Eizenberg H., Hershenhorn J., Ephrat J.E., 2009. Factors influencing the efficacy of *Orobanche cumana* chemical control in sunflower. *Weed research*, 49, 308-315.
- Eizenberg H., Hershenhorn J., Achdari G., Ephrat J.E., 2012. A thermal time model for predicting parasitism of *Orobanche cumana* in irrigated sunflower—Field validation. *Field crops res.*, 137, 49–55.
- Fan Z.W., Buschmann H., Sauerborn J., 2007. *Prohexadione-calcium* induces sunflower (*Helianthus annuus*) resistance against the root parasitic weed *Orobanche cumana*. *Weed research*, Volume 47, Issue 1, 34–43.
- Foy, C.L., Jain, R. & Jacobsohn, R., 1989. Recent approaches for chemical control of broomrape. *Rev. Weed Sci.*, 4: 123-152.
- Gauthier M., Véronesi C., El-Halmouch Y., Leflon M., Jestin C., Labalette F., Simier P., Delourme R., Delavault P., 2012. Characterisation of resistance to branched broomrape, *Phelipanche ramosa*, in winter oilseed rape. *Crop protection*, 42, 56–63.
- Ghersa C.M., Martinez-Ghersa M.A., 2000. Ecological of weed seed size and persistence in the soil under different tilling systems: implications for weed management. *Field Crops Research*, 67, 141–148.
- Gibot-Leclerc S., Brault M., Pinochet x., Sallé G., 2003. Rôle potential des plantes adventices du colza d’hiver dans l’extension de l’orobanche rameuse en Poitou-Charentes. *C.R. Biologies*, 326, 645-658.
- Gibot-Leclerc, S., Charles, F., Dessaint, F., 2009. Potential host plant susceptibility to two *Orobanche ramosa* L. races. In: XIII Colloque International sur la Biologie des Mauvaises Herbes, Dijon, France, pp. 446–456.
- Girma A., Sahile G., and Al-Tawaha M.A-R., 2005. Evaluation of Potential Trap Crops on Orobanche Soil Seed Bank and Tomato Yield in the Central Rift Valley of Ethiopia. *World Journal of Agricultural Sciences*, 2, 148-151.
- Gonsior G., Buschmann H., Szinicz G., Spring O., Sauerborn J., 2004. Induced resistance—an innovative approach to manage branched broomrape (*Orobanche ramosa*) in hemp and tobacco. *Weed Science*, Vol. 52, No. 6, pp. 1050-1053.
- Gressel J., 2009. Crops with target-site herbicide resistance for *Orobanche* and *Striga* control. *Pest Management Science*, Volume 65, Issue 5, 560–565.
- Groote H.d., Wangare L., Kanampiu F., Oendo M., Diallo A., Karaya H., Friesen D., 2008. The potential of a herbicide resistant maize technology for *Striga* control in Africa. *Agricultural Systems*, 97(1/2): 83-94.
- Haidar M.A., Sidhamed M.M., 2000. Soil solarization and chicken manure for the control of *Orobanche crenata* and other weeds in Lebanon. *Crop Protection*, 19, 169–173.
- Haidar M.A., Sidahmed M.M., Darwish R., Lafta A., 2005. Selective control of orobanche ramosa in potato with rimsulfuron and sublethal doses of glyphosate. *Crop protection*, 24, 743-747.
- Jain R., Foy C.L., 1992. Nutrient effects on parasitism and germination of Egyptian broomrape (*Orobanche aegyptiaca*). *Weed Technology*, 6, 269–275.
- Jestin C., Lecomte V., 2013. Plante parasite : l’orobanche cumana émerge sur tournesol en France. *Perspectives agricoles*, 401, 10-14.

Joel D.M., Hershenhorn Y., Eizenberg H., Aly R., Ejeta g., Rich P.J., Ransom J.K., Sauerborn J., Rubiales D., 2007. Biology and management of weedy root parasites. In: Horticultural Reviews (ed J. Janick), 33, 267-349.

Joel D.M., 2009. The new nomenclature of Orobanche and Phelipanche. Weed research, 49, 6-7.

Johnson A.W., Rosebery g., Parker C., 1976. A novel approach to Striga and Orobanche control using synthetic germination stimulants. Weed Research 16, 223–227.

Jupp P., Warren P., Secomb N., 2002. The branched broomrape eradication program: methodologies, problems encountered and lessons learnt. In: Proceedings of the Thirteenth Australian Weeds Conference (eds H Spafford Jacob, J Dood and J.H. Moore), 270-273.

Karkanis A., Bilalis D., Efthimiadou A., 2007. Tobacco (*Nicotiana tabacum*) infection by branched broomrape (*Orobanche ramosa*) as influenced by irrigation system and fertilization, under east mediterranean conditions. Journal of Agronomy 6, 3, 397-402.

Kleifeld Y., 1998. Progress in Orobanche control. Proceeding 4<sup>th</sup> international workshop on orobanche and related Striga research, Amsterdam, 327-330.

Klein O., Kroschel J., 2002. Biological control of Orobanche spp. with *Phytomyza orobanchia*, a review. BioControl, Volume 47, Issue 3, pp 245-277.

Kohlschmid E., Sauerborn J., Müller-Stöver D., 2009. Impact of *Fusarium oxysporum* on the holoparasitic weed *Phelipanche ramosa*: biocontrol efficacy under field-grown conditions. Weed research, 49, 56-65.

Kotoula-Syka E., Eleftherohorinos I.G., 1991. *Orobanche ramosa* L. (broomrape) control in tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) with chlorsulfuron, glyphosate and imazaquin. Weed research, Volume 31, Issue 1, 19-27.

Lavergne G., 1893. Contribution à l'histoire des orobanches. Etudes des espèces vivant sur les plantes cultivées. Traitement et procédés culturaux usités contre ces parasites. Edition : Coulet C. et Feret et Fils, Montpellier et Bordeaux, 71pp.

Linke K-H., Scheibel C., Saxena M.C., Sauerborn J., 1992. Fungi occurring on *Orobanche* spp. and their preliminary evaluation for Orobanche control. Tropical Pest Management, Volume 38, Issue 2.

Mariam E.G., Suwanketnikom R., 2004. Effect of Nitrogen Fertilizers on Branched Broomrape (*Orobanche ramosa* L.) in Tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.). Nat Sci, 38, 311-319.

Mornet F., 2008. L'orobanche rameuse. Association nationale interprofessionnelle et technique du tabac (ANITTA), 75pp.

Müller-Stöver D., Kroschel J., 2005. The potential of *Ulocladium botrytis* for biological control of *Orobanche* spp. Biological control, Volume 33, Issue 3, 301–306.

Müller-Stöver D., Kohlschmid E., Sauerborn J., 2009. A novel strain of *Fusarium oxysporum* from Germany and its potential for biocontrol of *Orobanche ramosa*. Weed Research, 49, 175–182.

Musselman, L.J. 1980. The biology of Striga, Orobanche, and other root parasitic weeds. Ann. Rev. Phytopathol., 18: 463- 489.

Nandula, V.K., Foy, C.L. & Orcutt, D.M. (1999) Glyphosate for *Orobanche aegyptiaca* control in *Vicia sativa* and *Brassica napus*. Weed Science 47: 486-491.

Nemli y., Emiroglu U., Kucukozden R., 1991. Chemical control of broomrape (*Orobanche ramosa* L.) on tobacco. Proc. Int. Workshop on Orobanche research 1989, Tubingen, 191-199.

Nowak B., Leflon M., 2010. Lutter contre l'orobanche rameuse. Perspectives agricoles, 372, 59-61.

Palleau J-P., 2010. Oléomail, lettre d'informations régionales : Comportement des variétés de colza testées face à l'orobanche – Résultats 2009, 2p.

Parker C., 2009. Observations on the current status of Orobanche and Striga Problems worldwide. Pest Manag Sci., 65, 453-459.

Pérez-de-Luque A., Sillero J.C., Moral A., Rubiales D., 2004. Induction of systemic resistance in pea and faba bean to crenate broomrape (*Orobanche crenata*) by exogenous application of benzothiadiazole, in : Use of natural compound for parasites plant management, COST 849 Meeting, 29-30 October 2004, Naples, Italy, p12.

Pérez-de-Luque A., Fondevilla S., Pérez-Vich b., Aly R., Thoiron S., Simier P., Castillejo M.A., Fernandez-Martinez J.M., Jorin J., Rubiales D., Delavault P., 2009. Understanding Orobanche and Phelipanche-host plant interactions and developing resistance. Weed research, 49, 8-22.

Pérez-de-Luque A., Eizenberg H., Grenz J.H., Sillero J.C., Avila C., Sauerborn J., Rubiales D., 2010. Broomrape management in faba bean. Field crop research, 115, 319-328.

Pieterse A.H., 1979. The broomrapes (Orobanchaceae). Tropical Agriculture, 5, 9-35.

Pineault D., Boulet C., Benharrat H., 2010. L'orobanche rameuse, les plantes-pièges et le feu. Phytoma, 630, 22-25.

Plakhine D., Ziadna H., Joel D.M., 2009. Broomrape seed conditioning and response to germination stimulants in soil. In: Proceeding of the 10th IPPS Congress (eds D Rubiales, J Westwood & A Uludag), 69. IPPS (International Parasitic Plant Society), Kusadasi, Turkey.

Qasem J.R., Kasrawi M.A., 1995. Variation of resistance to broomrape (*Orobanche ramosa*) in tomatoes. Euphytica, Volume 81, Issue 1, pp 109-114.

Qasem, J. R., Foy, C.L., 2007 Screening studies on the host range of branched broomrape (*Orobanche ramosa*). Journal of Horticultural Science and Biotechnology, Vol. 82 No. 6 pp. 885-892.

Radi A., Goldwasser Y., Eizenberg H., Hershenhorn J., Golan S., Kleifeld Y., 2001. Broomrape (*Orobanche cumana*) control in sunflower (*Helianthus annuus*) with imazapic. Weed Technology, 15(2), 306-309.

Rubiales D., Fernandez-Aparicio M., Wegmann K., Joel D., 2009. Revisiting strategies for reducing the seedbank of *Orobanche* and *Phelipanche* spp. Weed res., 49, 23-33.

Rubiales D., Fernandez-Aparicio M., 2012. Innovations in parasitic weeds management in legume crops. A review. Agron. Sustain. Dev., 32, 433-449.

Rubin B., 1994. Group B/2 resistant field dodder (*Cuscuta campestris*). Available at <http://www.weedscience.org/case/case.asp?ResistID=104>. Accessed 31 may 2010.

Sauerborn, J., Saxena, M.C. & Meyer, A., 1989. Broomrape control in faba bean (*Vicia faba* L.) with glyphosate and imazaquin. Weed Res. 29: 97-102.

Sauerborn J., Buschmann H., Ghiasvand G.K., Kogel K-H., 2002. Benzothiadiazole activates resistance in sunflower (*Helianthus annuus*) to the root-parasitic weed *Orobanche cumana*. Phytopathol., 92, 59-64.

Van Hezewijk M.J., Verkleij J.A.C., 1996. The effect of nitrogenous compounds on in vitro germination of *Orobancha crenata* Forsk. Weed Research, 36, 395–404.

Véronési C. Delavault P., Philippe Simier P., 2009. Acibenzolar-S-methyl induces resistance in oilseed rape (*Brassica napus* L.) against branched broomrape (*Orobancha ramosa* L.). Crop Protection, Volume 28, Issue 1, 104–108.

Vurro M., Boari A., Pilgeram A.L., Sands D.C., 2006. Exogenous amino acids inhibit seed germination and tubercle formation of *Orobancha ramosa* (Broomrape): Potential application for management of parasitic weeds, Biol. Control 36, 258–265.

Yoneyama K., Xie x., Kusumoto D., Sekimoto H., Sugimoto Y., Takeuchi Y., Yoneyama K., 2007. Nitrogen deficiency as well as phosphorus deficiency in sorghum promotes the production and exudation of 5-deoxystrigol, the host recognition signal for arbuscular mycorrhizal fungi and root parasites. Planta, 227, 125–132.

Yoneyama K., Xie X., Yoneyama K., Takeuchi Y., 2009. Strigolactones: structures and biological activities. Pest Manag Sci., 65, 467-470.

Yoneyama K., Xie X., Kim H., Kisugi T., Nomura T., Sekimoto H., Yokota T., Yoneyama K., 2012. How do nitrogen and phosphorus deficiencies affect strigolactone production and exudation? Planta, 235, 1197–1207.

Zehhar N., Pascal Labrousse P., Marie-Claire Arnaud M-C., Christian Boulet C., Driss Bouya D., André Fer A., 2003. Study of Resistance to *Orobancha ramosa* in Host (Oilseed Rape and Carrot) and Non-host (Maize) Plants. European Journal of Plant Pathology, Volume 109, Issue 1, pp 75-82.

Zwanenburg b., Thuring J.W.J.F., 1997. Synthesis of strigolactones and analogs: a molecular approach to the witchweed problem. Pure Appl Chem., 69, 651-654.

# BILAN DE 10 ANNEES DE LUTTE CONTRE L'OROBANCHE RAMEUSE EN CULTURE DE TABAC

B. FONTAINE

ANITTA - Domaine de la Tour - 769 route de Sainte Alvère - 24100 Bergerac - France

[www.anitta.fr](http://www.anitta.fr) - Tél : 05 53 74 43 60 - [anitta@anitta.asso.fr](mailto:anitta@anitta.asso.fr)

## RESUME

Malgré d'importants moyens engagés par la filière tabac au début des années 2000, et la mise en œuvre par les producteurs des pratiques censées contrôler le parasite, l'orobanche rameuse reste une problématique majeure dans certaines zones de production tabacole.

Ce document dresse un inventaire des principaux travaux menés depuis plus de 10 ans. A ce jour, aucune solution idéale, c'est-à-dire efficace, techniquement vulgarisable et économiquement supportable, n'a été découverte.

De nouveaux essais sont déployés depuis 2010 pour tenter d'améliorer les solutions préconisées jusqu'alors, et tester de nouvelles techniques (chemigation, produits alternatifs). Deux approches sont menées en parallèle, la première pour définir des méthodes permettant de produire du tabac malgré la présence d'orobanche, la deuxième pour évaluer à plus long terme des pratiques agronomiques supposées limiter le développement de l'orobanche rameuse.

## MOTS-CLES

Herbicides, hydrazide maléique, chemigation, effets cumulatifs, système de culture

---

Dans la longue liste des espèces végétales parasitées par l'orobanche rameuse, le tabac cultivé, *Nicotiana tabacum*, figure en bonne place. Déjà connue des tabaculteurs depuis plusieurs générations, *Orobanche ramosa* a commencé à être étudiée par l'Institut du Tabac de Bergerac dans les années 1950. À cette époque, et jusqu'au début des années 2000, la production de tabac nécessitait de nombreuses interventions humaines. Les foyers d'orobanche étaient alors assez facilement repérés et détruits manuellement.

Avec l'amélioration des techniques de production, les ateliers tabac n'ont cessé de s'agrandir. De 2,30 Ha en 1990, la surface moyenne des chantiers Virginie (variété de tabac blond particulièrement concernée par l'orobanche rameuse) s'approche aujourd'hui des 10 Ha. Mais ce progrès a très certainement favorisé l'expansion du parasite, en multipliant sa dissémination via les engins agricoles.

C'est donc en pleine phase de développement agricole que l'orobanche est apparue en force dans certains secteurs, en particulier dans les anciennes zones de production de chanvre. La filière tabacole française s'est alors mobilisée dans les années 2000, avec un vaste programme de recherches, qui ont permis de mieux comprendre le fonctionnement du pathosystème orobanche – tabac, et d'aboutir à des pistes, voire des solutions pour les agriculteurs. Les espoirs se cristallisent ainsi, en 2003, dans l'homologation de l'hydrazide maléique. Utilisée pour ses propriétés régulatrices de croissance, cette substance active bloque la division cellulaire et donc le développement des bourgeons axillaires du tabac. Cet effet inhibiteur est indispensable en production de tabac pour assurer rendement et qualité, mais aussi pour faciliter les travaux de récolte et de triage. La systémie descendante de l'hydrazide maléique (des feuilles vers les racines) lui confère également un intérêt dans la lutte contre l'orobanche rameuse, en s'accumulant dans les fixations d'orobanche qui se nécrosent alors, et en rendant stériles les graines du parasite.

L'utilisation d'hydrazide maléique se développe fortement, et se généralise même sur les exploitations de type Virginie. Les secteurs concernés par l'orobanche rameuse sont alors certains de voir reculer le parasite.

Pourtant, malgré la mise en œuvre des bonnes pratiques prophylactiques et l'utilisation de cette nouvelle molécule, la problématique demeure. Dans les cas d'infestation très précoce et donc

très sévère, la récolte peut être anéantie, conduisant même certains tabaculteurs à cesser la production.

France entière, on estime qu'environ 3% des surfaces de tabac sont concernées par cette problématique. Mais, la présence du parasite est très hétérogène d'une région à l'autre, d'une exploitation à l'autre, d'une parcelle à l'autre, et même au sein d'une même parcelle. La zone tabacole la plus touchée en pourcentage de sa surface de production se situe sur les départements de Charente, Charente Maritime, et Deux-Sèvres, avec près de 20% des surfaces tabacoles impactées (cf Figure 1).

La filière tabac se mobilise donc de nouveau en 2010 pour relancer des actions de recherche et des travaux d'expérimentation. Des essais en pots avec de la terre contaminée, ont été conduits en 2012 pour s'affranchir des contraintes liées à l'hétérogénéité de la pression d'orobanche au sein d'une même parcelle,

La présentation qui suit dresse un inventaire des pistes testées, avec une évaluation de leur efficacité sur le stock semencier, sur le renouvellement de ce stock, ainsi que l'impact de ces solutions sur la culture de tabac mise en place. Chaque fois que cela est possible, des commentaires sont apportés sur la faisabilité technique, organisationnelle, et surtout économique, de ces travaux, dont la finalité consiste à pouvoir les déployer sur les exploitations tabacoles impactées par l'orobanche rameuse. Une grande partie des données ici présentées sont issues de la thèse *L'orobanche rameuse en France - Le couple *Orobanche ramosa* L. / *Nicotiana tabacum* L. : biologie, spécificité et méthodes de lutte* - Marianne BRAULT HERNANDEZ - septembre 2006

En définitive, aucune solution réellement efficace n'a été trouvée à ce jour. Néanmoins, les derniers essais laissent entrevoir des pistes prometteuses, notamment en cumulant les effets positifs de diverses méthodes.

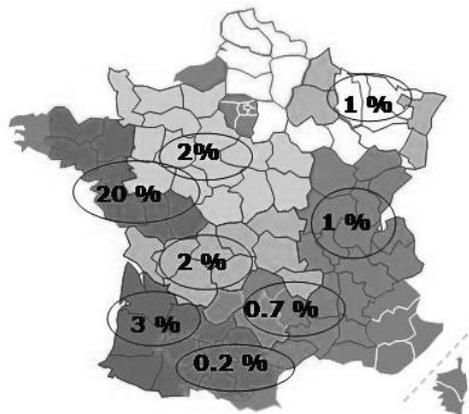


Figure 1 : Surfaces concernées par l'O. ramosa, dans les différents bassins de production de tabac en 2005

### 1) Traitement thermique du sol

Cette technique consiste à provoquer un choc thermique, par élévation de la température à la surface du sol jusqu'à 1200°C, entraînant la mort des tissus végétaux et des graines. Cette méthode a également été testée sur parcelles de tabac en 2003 et 2004 afin de mesurer le potentiel de destruction du stock semencier du sol. Un seul traitement thermique a totalement altéré la viabilité des graines d'orobanche et leur pouvoir germinatif, réduisant à néant la production de graines d'orobanche de l'année et ainsi les risques d'extension du parasite au sein de la parcelle. D'un point de vue technique, cette méthode de lutte donne donc entière satisfaction en termes de destruction des graines d'orobanche produites durant la saison culturale. Cependant, un seul traitement est totalement insuffisant pour diminuer de façon significative le niveau d'infestation de la parcelle considérée. Ce traitement nécessiterait d'être répété sur plusieurs années. Il reste de plus à en déterminer l'efficacité sur les graines présentes dans le sol en fonction de leur niveau d'enfouissement. Outre l'impact sur la biologie du sol, la lutte thermique entraîne des coûts très élevés, qui ne sauraient être compensés par les gains de productivité.

## 2) Solarisation et/ou fumigation du sol

La solarisation consiste à recouvrir le sol contaminé, préalablement humidifié, d'un film en polyéthylène, durant 20 à 30 jours pendant la saison chaude. La température sous la bâche dépassant les 50°C, cette technique a un effet létal sur les graines d'orobanche ainsi que sur la microfaune et la microflore du sol.

Si cette technique a montré son efficacité sur les graines d'*O. ramosa*, son coût élevé (environ 0,15 € HT / m<sup>2</sup>) limite son utilisation à des parcelles expérimentales ou en serre.

De même, l'application de fumigants dans le sol (en association ou non avec la solarisation) est efficace. Les limites de ces traitements sont leur coût très élevé (0,60 € HT / m<sup>2</sup> avec la fumigation) et les difficultés d'application liées à des risques d'intoxication pour les agriculteurs, sans oublier les contraintes réglementaires relatives à l'autorisation de ces molécules.

## 3) Plantes pièges et faux-hôtes

Les plantes faux-hôtes sont capables de stimuler la germination des graines d'orobanche mais ne sont pas des hôtes potentiels du parasite. Elles ne permettent donc pas le développement de l'orobanche et leur utilisation conduit à des "germinations suicides".

Les plantes pièges, véritables hôtes de l'orobanche, permettent, quant à elles, l'accomplissement du cycle du parasite. Leur utilisation a pour objectif de faire germer un grand nombre de graines d'orobanche. Cependant, comme le parasite se développe normalement, il est impératif de détruire l'ensemble plante piège/parasite avant la fructification de ce dernier (Sallé et Aber, 1986). Cette technique permet donc de réduire progressivement le stock de graines d'orobanche. Testé pendant 2 ans en culture dérobée, le Trèfle incarnat, détruit avant la culture de tabac, n'a pas donné satisfaction, d'autant plus que le tabac blond de type Virginie est très sensible aux excès d'azote générés par la minéralisation de cet engrais vert. On pourrait également envisager d'immobiliser les parcelles infectées pour implanter successivement plusieurs séries de cultures pièges, mais la question est de savoir pendant combien de temps ces « terres à tabac » resteront improductives.

## 4) Sélection variétale

Des avancées notables ont été obtenues en matière de sélection variétale, par l'Institut du Tabac de Bergerac. Deux hybrides tolérants (ITB 6172 et ITB 6177) sont en culture expérimentale depuis 2011. Le premier va même être développé sur de plus grandes surfaces, dans les zones infestées en 2013. Ces hybrides montrent une certaine tolérance vis-à-vis de l'orobanche rameuse, notamment en ralentissant le cycle du parasite (cf Figures 2 et 3). Néanmoins, en fin de saison, les résultats obtenus sont équivalents au témoin (ITB 683).

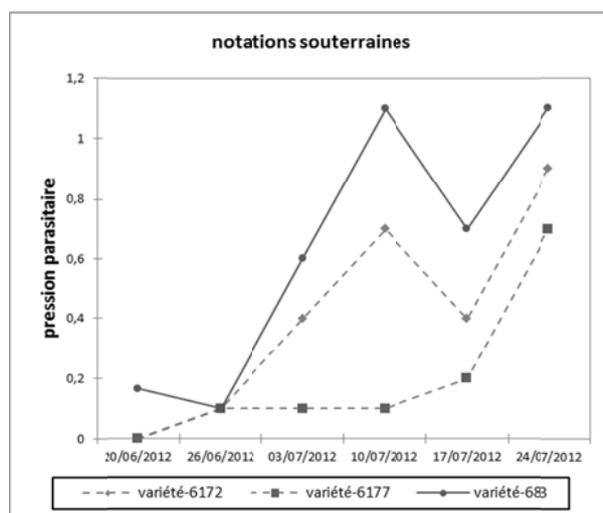


Figure 2 : évolution de l'intensité parasitaire (stades souterrains) – 0= absence de fixations, 1= de 1 à 5 fixations, 2= plus de 5 fixations

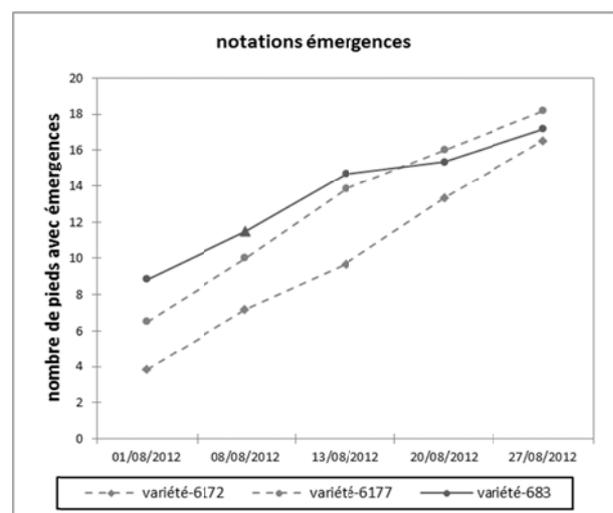


Figure 3 : évolution de la pression orobanche (notations émergences) – nombre de pieds avec émergences sur spots de 20 pieds

## 5) Stimulant de germination

Des molécules de synthèse, proches des substances contenues dans les exsudats racinaires des plantes sensibles, ont été utilisées pour stimuler la germination des graines parasites qui, en l'absence d'hôtes meurent.

Un stimulateur de germination de synthèse (Nijmegen-1) a été appliqué en 2003 et 2004, non sans difficultés. En effet, si en laboratoire, cette molécule semble donner satisfaction, les conditions requises pour une bonne efficacité du produit (température, humidité du sol) sont trop strictes et non adaptées au contexte de la production du tabac en France, sans oublier les questions d'homologation.

## 6) Herbicides systémiques

Appliqués à faibles doses sur les feuilles de tabac, certains herbicides peuvent être véhiculés par systémie descendante vers le système racinaire de l'hôte où ils s'accumulent dans les stades souterrains de l'orobanche et y atteignent une concentration létale qui entraîne la nécrose du parasite.

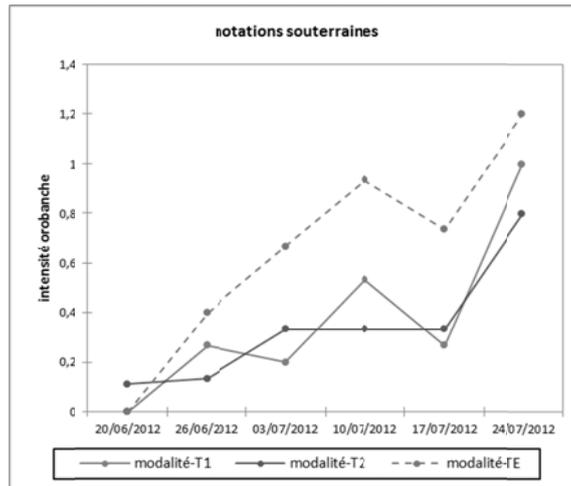
En 2003, cette approche a été tentée avec une première molécule, mais suppose une parfaite adéquation entre dose, stade du tabac et stade de l'orobanche. Appliqué trop tard ou à trop faible dose, la technique n'a aucun effet sur le parasite. Apporté trop tôt ou à trop forte dose, l'orobanche est contrôlée, mais la phytotoxicité de l'herbicide pénalise la culture. Sachant que l'efficacité dépend du stade de développement du parasite au moment du traitement, un institut de recherche allemand (LTZ Augustenberg) a développé un programme de traitement, déclenché dès le stade tubercule de l'orobanche (déterminé par une somme de température). Des traitements sont ensuite réalisés tous les 15 jours, jusqu'à ce que la culture soit en mesure de supporter une application d'hydrazide maléique.

Une modélisation plus complète du cycle de l'orobanche avait été établie par Marianne BRAULT HERNANDEZ, en s'appuyant sur des sommes de températures (cf Tableau 1). Ces données sont depuis utilisées et communiquées dans le Bulletin de Santé du Végétal Tabac. Néanmoins, dans la zone ouest de la France, ce cycle théorique ne correspond pas toujours aux constats de terrains qui font parfois état d'émergences dès la fin juin, alors que le modèle n'a pas encore prédit de tubercules. De nouveaux travaux sont engagés depuis 2011 pour réadapter le programme de traitement allemand, aux conditions pédoclimatiques françaises.

Stade orobanche	Somme de température
Tubercule	410°C
Tiges souterraines	800°C
1ères émergences	850°C
Émergence	1000°C
Floraison	1430°C
Fructification	2000°C

**Tableau 1 : Stades et somme de températures correspondante** (*L'orobanche rameuse en France - Le couple Orobanche ramosa L. / Nicotiana tabacum L. : biologie, spécificité et méthodes de lutte - Marianne BRAULT HERNANDEZ - septembre 2006*)

En 2012, une autre molécule de la même famille chimique que celle utilisée contre orobanche sur tabac oriental au Kazakhstan a été mise en essai (cf modalités T1 et T2 de la figure 4). Cet herbicide permet de ralentir la cinétique de développement du parasite. Cette matière active remplacera dorénavant celle initialement testée dans le programme allemand ci-avant.



**Figure 4 : évolution de la pression orobanche (stades souterrains)**  
 0= absence de fixations, 1= de 1 à 5 fixations, 2= plus de 5 fixations

## 7) Méthodes alternatives et fertilisation

Un essai avec un stimulateur racinaire a été conduit en 2012, en partant de l'hypothèse selon laquelle, le tabac pourrait bénéficier d'un effet « starter » lui permettant de prendre l'ascendant sur son parasite. Les résultats montrent, à l'inverse, un niveau d'infestation identique, voire supérieur au témoin non traité. On suspecte même que le chevelu racinaire développé a permis de faire germer un plus grand nombre de graines !

Grâce au réseau européen qu'elle a constitué, l'ANITTA a pu collecter et tester des échantillons de produits à base de mycorhizes, champignons ou bactéries. Pour des raisons pratiques, une première phase d'essais en pots a été conduite en 2012, sans succès. Il est prévu de reconduire ce protocole en 2013 en étant davantage vigilant sur la conservation, la préparation et l'application de ces produits « vivants ».

Des doses croissantes en phosphore ont également été mises en comparaison dans des séries de pots, à partir de l'hypothèse selon laquelle le phosphore inhibe la synthèse des exsudats racinaires nécessaires à la germination des graines d'orobanche. Encore une fois, les résultats sont décevants, sans doute en raison du panel trop restreint de doses apportées. Ce protocole sera reconduit en 2013, en augmentant les écarts de doses de phosphore.

## 8) Chemigation

Depuis quelques années, de nouvelles méthodes d'irrigation et de fertilisation se sont développées grâce aux installations goutte-à-goutte, en particulier sur les exploitations de tabac Virginie. De nouvelles techniques d'application de substances actives via ce réseau sont à l'étude (chemigation) pour améliorer l'efficacité des intrants. Des tests préliminaires en pots sont en cours dans le but de reproduire l'apport de doses infimes d'herbicides, directement au niveau des racines. L'idée est de vérifier la faisabilité et l'efficacité de cette méthode, sans passer par la voie foliaire, et à terme, de déposer un dossier d'homologation pour ce nouvel usage.

## **Conclusion**

Des échantillons de hampes florales ont été prélevés en 2012 sur les essais ayant reçu des applications d'herbicides ou d'hydrazide maléique, et transmis à l'Institut du Tabac de Bergerac (Imperial Tobacco) afin d'évaluer l'impact de ces substances sur le pouvoir germinatif des graines. Il s'avère que le taux de germination est fortement diminué suite aux traitements effectués. Néanmoins, ce résultat reste encore très nettement insuffisant pour contrôler les infestations. En effet, après une application d'hydrazide maléique, 15% des graines restent viables. L'ensemencement perdure. Ceci explique très certainement le fait que, malgré l'utilisation régulière d'hydrazide maléique, l'orobanche rameuse reste si problématique. En revanche, après des pulvérisations foliaires avec l'herbicide employé au Kazakhstan, seulement 2% des graines peuvent germer.

De plus, bien que cela ne soit pas suffisant, les pistes variétales, agronomiques et chimiques travaillées, permettent chacune de ralentir la cinétique de développement du parasite, en particulier dans la zone ouest où l'orobanche parvient à réaliser plusieurs cycles sur une même saison tabacole.

Dès lors, nos travaux s'orienteront dorénavant vers la combinaison des différents facteurs jusqu'alors testés indépendamment. En effet, ne pourrait-on pas, en cumulant les effets bénéfiques de chaque protocole, retarder le cycle de l'orobanche, de telle sorte qu'elle affecte moins la culture, et que cette dernière soit en mesure de supporter les traitements chimiques, capables de nécroser les jeunes fixations, et de stériliser les graines ? Ces projets associeront par ailleurs les nouvelles pistes d'application des substances actives, afin d'atteindre plus directement le parasite, tout en réduisant les risques de phytotoxicité.

Enfin, de nouvelles approches « systèmes de culture innovants » viseront à évaluer l'intérêt d'augmenter la matière organique des sols pour réduire le risque orobanche à plus long terme.

# DEVELOPPEMENT ET EVALUATION DES OUTILS DE QUANTIFICATION DES GRAINES D'OROBANCHE

B. Bammé<sup>1</sup>, D. Molenat<sup>2</sup>, C. Boulet<sup>3</sup>, P. Delavault<sup>3</sup>, M. Leflon<sup>1</sup>

<sup>1</sup> CETIOM, Avenue Lucien Brétignières, 78850 Thiverval-Grignon

<sup>2</sup> Chambre d'agriculture de la Vendée, Impasse J.Maingueneau, 85200 Fontenay le Comte

<sup>3</sup> LBPV, Faculté des Sciences et des Techniques Université de Nantes, 2 rue de la Houssinière, 44322 Nantes cedex

## Résumé :

La détection des graines d'orobanche rameuse dans les lots de semences ou dans les sols est difficile du fait de la taille des graines d'orobanche (inférieure à 200µm) et de l'absence de caractères morphologiques permettant d'identifier les différentes espèces d'orobanche. Dans cet article, nous présentons différentes méthodes de détection et de quantification des graines d'orobanche dans des lots de semences de colza ou dans les sols, de l'étape de prétraitement de l'échantillon à l'étape de dénombrement.

**Mots-clés :** méthode, PCR, semence, sol, extraction

## Introduction :

Réduire les niveaux d'infestation par l'orobanche des parcelles et éviter l'infestation de nouvelles parcelles sont deux enjeux majeurs de la lutte contre l'orobanche rameuse (*Phelipanche ramosa* L. Pomel) (Joel, 2009). Or, il n'existe pas aujourd'hui de méthode miracle, et seul le cumul de solutions génétiques, chimiques et agronomiques (*e.g.* Rubiales *et al.*, 2009) à l'échelle du système de culture d'une part, et la mise en œuvre de mesures prophylactiques d'autre part, peuvent concourir à l'atteinte de cet objectif. Des travaux de recherche ont été et sont encore conduits afin d'évaluer l'impact de certaines pratiques sur l'évolution du stock grainier d'orobanche dans les sols. Très vite, il est apparu indispensable de développer des outils de laboratoire pour la détection et la quantification des graines dans les sols pour ces études : en effet, les niveaux d'infestation observés dans une culture ne reflètent pas parfaitement la quantité de graines d'orobanche présentes dans le sol. Des facteurs climatiques et des facteurs biotiques, liés à la plante hôte et au sol, interviennent également dans le processus d'infestation. Sans outil de mesure fiable, il n'est donc pas possible d'évaluer l'effet des différentes pratiques sur le taux de contamination des sols. Il n'est pas possible non plus de définir un seuil de nuisibilité de l'orobanche. D'autre part, il est souvent admis que l'introduction de semences d'orobanche dans de nouveaux secteurs est principalement due à l'utilisation de lots de semences contaminés. Le développement d'un outil fiable et rapide de détection et de quantification des graines d'orobanche présente donc également un fort intérêt pour analyser les lots de semences des variétés.

La détection ou la quantification des graines d'orobanche peut s'avérer fastidieuse pour plusieurs raisons : tout d'abord, les graines sont très petites, de l'ordre de 200 µm et donc non identifiables à l'œil nu et impossible à observer dans des échantillons de sol bruts, sans traitement préalable. D'autre part, il existe de nombreuses espèces d'orobanche pouvant coexister sur le territoire, or les espèces des genres *Phelipanche* et *Orobanche* ont des graines impossible à distinguer les unes des autres sur des critères morphologiques.

L'objet de cet article est de faire un inventaire et un bilan sur différentes méthodes testées à ce jour pour quantifier les graines d'orobanche rameuse dans les sols ou dans les semences.

## **Méthode de quantification des graines dans les lots de semences :**

Le principal vecteur de dissémination des graines d'orobanche sur de longue distance est le lot de semences. C'est pourquoi, vu la nuisibilité de certaines espèces d'orobanche, il est nécessaire d'éviter la contamination des lots de semences, par le choix et le contrôle des parcelles de production de semences, mais aussi par la vérification des lots produits. La méthode officielle à l'échelle internationale de vérification des lots de semences est basée sur une observation sous loupe binoculaire des résidus fins isolés des lots de semences par tamisage et / ou lavage. Cette analyse permet de détecter la présence de graines d'orobanche, mais n'est pas spécifique et ne permet donc pas d'identifier l'espèce d'orobanche en présence. Une méthode de détection et de quantification des graines d'orobanche dans les lots de semences de colza, basée sur des techniques de PCR quantitative, a été développée au LBPV (Dongo *et al.*, 2012). Cette méthode permet de détecter 0,1mg de graines d'orobanche dans des lots de 20g de semences de colza. Ce seuil de détection peut sembler élevé au vu des enjeux, et peut être amélioré en ne pratiquant l'analyse que sur la « poussière » de fond de sac, où se concentrent les graines d'orobanche. Par exemple, une analyse sur le résidu obtenu après filtration d'un échantillon de semences permet d'abaisser le seuil de détection à 0,05mg d'orobanche (soit environ 12 graines) par kg de semences. Un deuxième inconvénient de cette méthode est qu'elle n'est pas totalement spécifique : l'orobanche rameuse peut être confondue avec d'autres espèces d'orobanche telle que *O. mutellii*, *O. nana*, *O. oxyloba* ou encore *P. georgii-reuteri* qui présente la même séquence cible. Un projet financé par le Comité Technique Permanent de la Sélection (CTPS) est en cours, afin de développer une méthode PCR plus sensible et plus spécifique pour détecter les graines d'orobanche dans les lots de semences.

## **Méthodes d'extraction et de quantification des graines dans le sol :**

La quantification des graines d'orobanche dans les sols repose sur au moins deux étapes clés que sont la séparation des graines d'orobanche de la matrice sol, indispensable pour le comptage sous loupe binoculaire, et la quantification (nombre de graines observées ou quantité d'ADN mesurée), avec le souci permanent de maintenir la représentativité des échantillons analysés par rapport à l'échantillon de terre initial. Ces méthodes doivent être reproductibles et sensibles pour être utilisables sur le terrain.

### **Méthodologies**

#### Extraction des graines du sol

L'extraction des graines du sol repose sur deux étapes : une étape de flottaison, pour séparer la matière minérale de la matière organique, et une étape de tamisage ou filtration, pour ne récupérer de la phase organique que la fraction ayant le diamètre des graines d'orobanche.

Différents protocoles de flottaison existent dans la bibliographie (Malone 1967 ; Berner *et al.*, 1997). Plusieurs méthodes, dérivées de ces publications, ont été testées et sont décrites ci-dessous. Pour cela, des échantillons de sol de 100g ou 200g de terre sains (non contaminés naturellement) sont mélangés à différentes quantités de graines d'orobanche de pathovar C ou T et différentes méthodes de traitement y sont appliquées.

*Méthode Tamisage-Flottaison-Filtration (TFF)* : cette méthode est dérivée de celle développée par Malone (1967). Le substrat sol est tout d'abord tamisé soit à sec (sable) soit sous eau courante (terre de Groie) en utilisant un système de tamiseuse rotative avec 4 tamis de 4mm, 0,5 mm, 0,315mm et 0,125mm. Seule la fraction de sol bloquée sur le tamis 0,125mm (1/5 de la quantité totale pour la terre de Groie) est conservée et déposée dans le tube de flottaison.

L'extraction par flottaison est alors réalisée dans un tube de flottaison en plexiglas de 25cm de long pour 5cm de diamètre. La solution utilisée est composée de 25g de sulfate de magnésium, 10g d'hexaméthaphosphate de sodium et de 5g de bicarbonate de sodium pour 200 mL d'eau. La séparation des deux phases minérale et organique est réalisée par décantation pendant au moins 30min. La fraction organique (surnageant) est alors siphonnée et filtrée. Le matériel utilisé est rincé plusieurs fois, et l'eau de rinçage filtrée, afin de récupérer les graines collées sur les parois. Après filtration, le résidu, contenant les graines d'orobanche, est séché.

*Méthode Flottaison-Centrifugation-Filtration (FCF)* : après un broyage grossier de l'échantillon de sol au marteau et retrait des cailloux ayant un diamètre supérieur à 0,5cm, les échantillons de 200g de sol sont placés dans un bécher avec 40g de kaolin. 600mL d'une solution composée de saccharose (à 2,5M) et de 50g/L de sodium polyphosphate est alors versée sur l'échantillon. L'échantillon est homogénéisé pendant un minimum de 30min avec un agitateur à pales, permettant la désagrégation des mottes et la mise en suspension des particules. La solution obtenue est alors centrifugée pendant 10min à 2500rpm. Après centrifugation, le surnageant est filtré avec deux filtres successifs en toile, le premier à 250 µm (pour récupérer les gros résidus de type pailles...), le deuxième à 80µm pour récupérer les graines d'orobanche. Après plusieurs rinçages du matériel utilisé et filtration des eaux de rinçage, la toile à 80µm contenant le résidu est séchée à l'étuve à 65°C pendant 1 à 2h. Le résidu est récupéré en frottant la toile, pesé, et conservé dans des tubes de 2mL.

#### Quantification des graines d'orobanche du sol

Trois méthodes de quantification des graines d'orobanche dans les résidus de filtration sont comparées : une méthode par pesée (uniquement pour la validation des méthodes, sur substrat sable), une méthode par comptage sous loupe binoculaire et une méthode par PCR quantitative.

*Pesée* : sur le substrat sable (utilisé pour tester la méthode), la fraction organique récupérée n'est quasiment constituée que de graines. C'est pourquoi, pour des quantités de graines importantes, la quantification est réalisée par pesée du résidu après séchage à 65°C pendant 1h30, plutôt que par un dénombrement sous loupe binoculaire.

*Comptage des graines sous loupe binoculaire* : tout ou partie de l'échantillon est observé sous loupe binoculaire. Dans les cas où seul un sous-échantillon est observé, celui-ci est pesé. Le ratio entre ce poids et celui du résidu total est utilisé pour calculer la quantité de graines dans l'échantillon de 100g initial.

*Quantification des graines par PCR* : Une bille en acier de 4mm de diamètre est placée dans le tube contenant le résidu. Une lyse physique de l'échantillon est alors réalisée dans un broyeur Precellys® avec quatre cycles de 15sec à 6000 rpm. Les tubes sont ensuite centrifugés pendant 1min à 10.000g. Les ADN de l'échantillon sont alors extraits en utilisant le kit PowerSoil® DNA isolation selon le protocole du fabricant (société Ozyme). L'amplification de l'ADN est réalisée sur 5µL d'ADN extraits dans un volume total de 20µL en utilisant le mix TaqMan® Gene Expression Mastermix (Applied Biosystem), les amorces ITS11F et ITS2R (à 900nM chacune) et la sonde ITS12ram-FAM (à 250nM) développées par Dongo *et al.* (2012). L'amplification est réalisée sur un thermocycleur AB7500-Fast (Applied Biosystem) avec une étape de 2min à 50°C, une étape de 10min à 95°C, puis 40 cycles d'amplification de 15sec à 95°C et 1min à 60°C. En témoin de manipulations, en plus des témoins négatifs (eau et sol sain), des analyses sont faites également sur des ADN d'orobanche extraits directement à partir des graines : une gamme obtenue par dilution à 1/1, 1/10<sup>e</sup>, 1/100<sup>e</sup> et 1/1000<sup>e</sup> de l'ADN extraits de 10mg de graines d'orobanche et des ADN extraits de 100 ou 75 graines d'orobanche.

## **Résultats et discussion**

### Comparaison des différentes méthodes de récupération de graines du sol

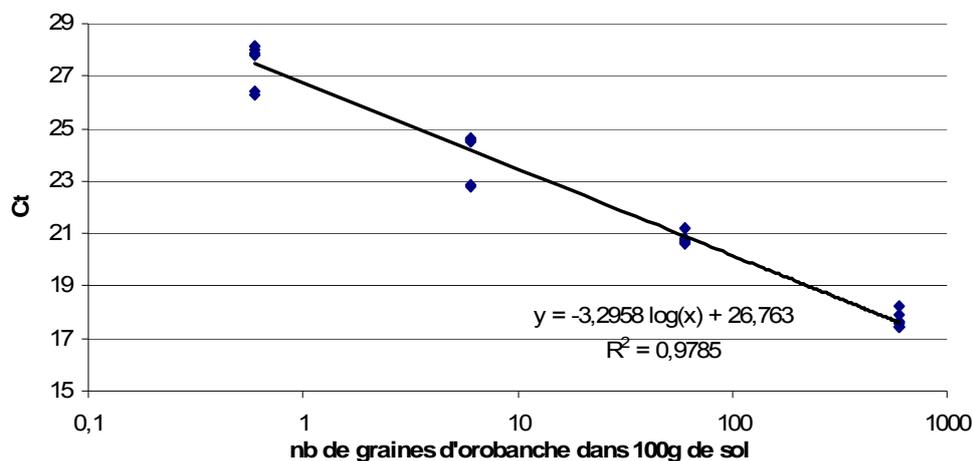
La méthode tamisage-flottaison-filtration (TFF) a été testée sur deux substrats (sable et argilo-calcaire). Les résultats obtenus (tableau 1) révèlent que le taux de récupération des graines du sol est en moyenne de 86% avec le substrat sable, mais seulement de 53% avec un substrat argilo-calcaire (terre de groie du sud Vendée). Il est probable que cette différence soit due à une plus grande rétention des graines par l'argile que par le sable. Même si ce taux de récupération dépend du substrat, il convient de noter que ces taux sont assez peu variables entre les répétitions. Par ailleurs, les résultats sur sable montrent que le taux de récupération ne dépend pas du nombre de graines dans le sol. Avec la méthode flottaison-centrifugation-filtration (FCF), les taux de récupération de graines semblent meilleurs (Tableau 1), mais varient de 60 à 98% selon le type de sol, mais surtout, selon le pathovar d'orobanche présent. Cet effet est difficile à expliquer car il ne semble pas y avoir de différences morphologiques ou de densité entre les graines d'orobanche des pathovars C et T.

**Tableau 1.** Efficacité des méthodes d'extraction des graines d'orobanche du sol

matrice sol	quantité de graines introduites	Nombre de répétitions	méthode d'extraction des graines	méthode de quantification	taux de récupération des graines	écart type
100g sable	1g (C)	15	TFF	pesée	85,60%	5,9
100g sable	0,1g (C)	15	TFF	pesée	87,87%	5,2
100g sable	100 graines (C)	15	TFF	comptage	85,60%	4,2
100g argilo-calcaire (85)	100 graines (C)	15	TFF	comptage	52,93%	3,9
200g argilo- calcaire (18)	100 graines (C)	3	FCF	comptage	76,30%	9,2
200g argilo-calcaire (18)	100 graines (T)	3	FCF	comptage	80,60%	16,8
200g limon (78)	100 graines (C)	3	FCF	comptage	98%	2,8
200g limon (78)	100 graines (T)	3	FCF	comptage	84,30%	8,6
200g sol Troyes (10)	100 graines (C)	3	FCF	comptage	96,30%	4,5
200g sol Troyes (10)	100 graines (T)	3	FCF	comptage	61,30%	13,2

#### Quantification des graines dans le sol par PCR

La méthode de quantification des graines d'orobanche par PCR a été validée sans matrice ou sur matrice semences de colza (Dongo *et al.*, 2012); la question de la validation de la méthode sur sol se pose du fait de la possible présence de particules ou de molécules dans le sol pouvant favoriser ou défavoriser l'extraction (taux de récupération de l'ADN) et la purification (élimination ou non d'inhibiteur de la PCR) de l'ADN. Généralement, la quantification d'ADN dans le sol est réalisée et efficace pour des bactéries. Dans ces études, des échantillons de terre de petite taille sont analysés. Afin de pouvoir analyser des échantillons de terre plus importants (100-200g), la méthode de quantification présentée dans cette partie est mise en œuvre à partir de résidus de filtration obtenus par la méthode FCF. Des tests de validation de la méthode ont été réalisés sur des échantillons initiaux de 100g de sol argilo-calcaire contaminés avec 6, 60, 600 graines et 24mg de graines (correspondant environ à 6.000 graines) avec 4 points par niveau de gamme et 2 répétitions PCR de chaque point. Les amplifications PCR réalisées à partir de ces échantillons (auquel s'ajoute l'ADN du point le plus bas dilué 10 fois) montrent une bonne linéarité et répétabilité de la réaction ( $R^2=0.98$ ), et une sensibilité satisfaisante de la méthode : le seuil de détection est en deçà de 6 graines dans 100g de terre. L'efficacité de la PCR dans cette réaction est de 101,1% (Figure 1). Sur des essais ultérieurs, nous avons vu que cette efficacité variait de 93% à 105%. Cette forte efficacité valide à la fois la réaction PCR, mais aussi permet de vérifier que les rendements de l'extraction des graines du sol et de l'extraction de l'ADN dans ces graines ne dépend pas de la quantité de graines initiale. Pour les quantités de graines les plus faibles, la quantification est cependant moins juste que pour les quantités de graines les plus élevées avec une marge d'erreur (au seuil de 95%) de l'ordre de 50% pour 6 graines, contre « seulement » 15% pour les points 60 et 600 graines.



**Figure 1** . Courbe standard obtenues pour la quantification par PCR de l'orobanche.

Des essais ultérieurs ont été réalisés pour évaluer la robustesse de la méthode vis-à-vis des types de sol utilisés comme matrice. Dans ces essais, des situations très contrastées ont été rencontrées, avec soit un effet important de la matrice sol sur la PCR, soit aucun effet. Dans tous les cas, lorsque le sol a un effet, il semble que ce soit plutôt l'étape d'extraction d'ADN qui est en cause plutôt que la PCR. Des travaux sont encore en cours pour améliorer la robustesse de la PCR.

#### Avantages et inconvénients des différentes méthodes

Les méthodes de quantification des graines d'orobanche dans les sols présentées ont toutes deux défauts en commun : d'une part, elles sont longues à mettre en œuvre, car elle nécessite une phase de prétraitement des échantillons pour l'extraction des graines du sol pouvant prendre jusqu'à 3h par échantillon. Pour la phase de quantification, la PCR est plus rapide que le dénombrement sous loupe binoculaire. D'autre part, le taux de récupération des graines du sol et la quantification des graines par PCR dépendent du type de sol. Dans tous les cas, il est nécessaire, pour quantifier les graines de façon absolue, d'étalonner les méthodes sur des sols similaires à ceux des échantillons à analyser ; cet inconvénient peut être réellement critique par exemple si l'on cherche à cartographier et quantifier la présence d'orobanche sur des territoires plus ou moins étendus, avec des sols très différents (composition physico-chimique pour la PCR, texture pour l'extraction des graines du sol). Au final, l'application de la PCR telle qu'elle a été mise en œuvre dans notre étude présente peu d'intérêt comparée au dénombrement sous loupe binoculaire. En effet, si elle nécessite moins de temps de travail, elle est en contrepartie moins précise (marge d'erreur) et plus coûteuse. Par ailleurs, des fragments d'orobanche présents dans les sols sont également détectés par la PCR, alors que sous la loupe binoculaire, seules les graines sont comptabilisées. Une utilisation différente de la PCR et certains développements supplémentaires pourraient permettre de répondre aux critiques de temps d'analyse et de spécificité : des méthodes d'extraction d'ADN du sol et de quantification par PCR à partir de ces ADN très robustes sont décrites dans la littérature (Ranjard *et al.*, 2003 ; Terrat *et al.*, 2012). Utiliser ces méthodes directement sur les échantillons de sol sans prétraitement pourrait permettre un gain de temps considérable. Toutefois, en contrepartie, cette méthode n'est applicable que sur des volumes de terre beaucoup plus faibles (entre 100mg et quelques grammes de terre), ce qui soulève un autre problème qui est celui de la représentativité des échantillons. Par exemple, Ali *et al.* (2012) ont développé une méthode de détection d'orobanche (*O. aegyptiaca*) dans les sols, avec une sensibilité permettant de détecter (mais sans quantifier) l'orobanche dès la première graine. Cette méthode permet l'analyse d'échantillons de 0,5g de sol. Sur la question de la spécificité, des travaux sont en cours afin d'identifier des séquences spécifiques des différentes espèces d'orobanche. A partir de là, il sera envisageable de définir des systèmes d'amplification PCR plus spécifiques de l'orobanche rameuse, et pourquoi pas des différents pathovars.

## Conclusion :

Les différentes méthodes de quantification des graines d'orobanche dans les sols et dans les lots de semences sont encore imparfaites : elles sont soit trop coûteuses en temps, soit ne permettent d'analyser que des échantillons de très petites tailles, et sont par ailleurs encore à ce jour non spécifiques. Si des travaux sont en cours pour améliorer la spécificité du diagnostic moléculaire par PCR, les questions de sensibilité de la détection, de robustesse (effet des matrices sol) et de taille d'échantillons (représentativité des échantillons) sont encore difficiles à résoudre à ce jour.

## Remerciements :

La mise au point de la méthode d'extraction des graines du sol « TFF » a été réalisée par D. Pineault en 2006 dans le cadre d'un stage intitulé « Mise au point et validation d'une technique de mesure des stocks semenciers de l'orobanche rameuse et expérimentation au champ du pouvoir épurateur de quelques cultures pièges », financé par la chambre d'agriculture de la Vendée et encadré par le Laboratoire de Biologie et Pathologie Végétales de l'université de Nantes. Le travail de mise au point de la méthode « FCF » et de quantification moléculaire des graines d'orobanche dans le sol a été réalisé par le Laboratoire de Biologie et Pathologie Végétales de l'université de Nantes et le CETIOM. Il a débuté avec un financement du Fond de Soutien à la Recherche Semencière Oléagineuse (FSRSO ; 2008-2009) et a été poursuivi dans le cadre du projet CasDAR « stock orobanche » (2010-2013) avec le soutien financier du Ministère de l'Agriculture, de l'Alimentation, de la Pêche, de la Ruralité et de l'Aménagement du territoire.

## Références bibliographiques :

- Aly R., Eizenberg H., Kocherman M., Abu-Nassar J., Taha L., Saadi I., 2012. Use of ITS nuclear sequences from *Phelipanche aegyptiaca* as a direct tool to detect single seeds of broomrape species in the soil. *European Journal of Plant Pathology*, 2012, 133, 523.
- Berner D.K., Winslow A.E., Awad A.E., Cardwell K.F., Mohan Raj D.R., Kim S.K., 1997. *Striga* research methods. International Institute of Tropical Agriculture, Ibadan.
- Dongo A., Leflon M., Simier P., Delavault P., 2012. Development of a high-throughput real-time quantitative PCR method to detect and quantify contaminating seeds of *Phelipanche ramosa* and *Orobanche cumana* in crop seed lots. *Weed Research*, 52,34-41.
- Joel D.M., 2009. The new nomenclature of Orobanche and Phelipanche. *Weed research*, 49, 6-7.
- Malone C.R., 1967. A rapid method for enumeration of viable seed in soil. *Weeds*, 15,381-382.
- Ranjard L., Lejon D.P.H., Mougél C., Schehrer L., Merdinoglu D., Chaussod R., 2003. Sampling strategy in molecular microbial ecology: influence of soil sample size on DNA fingerprinting analysis of fungal and bacterial communities. *Environ Microbiol*, 5, 1111-1120.
- Rubiales D., Fernandez-Aparicio M., Wegmann K., Joel D., 2009. Revisiting strategies for reducing the seedbank of *Orobanche* and *Phelipanche* spp. *Weed res.*, 49, 23-33.
- Terrat S., Christen R., Dequiedt S., Lelièvre M., Nowak V., Regnier T., Bachar D., Plassart P., Wincker P., Jolivet C., Bispo A., Lemanceau P., Maron P.-A., Mougél C., Ranjard L., 2012. Molecular biomass and MetaTaxogenomic assessment of soil microbial communities as influenced by soil DNA extraction procedure. *Microbial Biotechnology*, 5, 135-141.

## INTRODUCTION DES CULTURES PIÈGES OU NON-HÔTES DANS LES SYSTEMES CULTURAUX AFIN DE LUTTER CONTRE L'OROBANCHE RAMEUSE : DU LABORATOIRE AU TERRAIN.

D. Molenat<sup>1</sup>, C. Boulet<sup>2</sup>, M. Leflon<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Chambre d'agriculture de la Vendée, Impasse J. Maingueneau, 85200, Fontenay le Comte, France

<sup>2</sup> Université de Nantes, Nantes-Atlantique Universités, Laboratoire de Biologie et Pathologie Végétales, EA 1157, UFR Sciences et Techniques, 2, Rue de la Houssinière, F44322 Nantes, France

<sup>3</sup> CETIOM, Avenue Lucien Brétignières, 78850, Thiverval-Grignon, France

### Résumé :

Les cultures pièges ou non hôtes de l'orobanche rameuse (*Phelipanche ramosa*) sont des espèces qui permettent dans certains systèmes de culture d'assainir le sol en diminuant les stocks grainiers du parasite. L'étude de ces espèces au laboratoire permet de faire une première sélection des espèces afin de préciser leur statut vis-à-vis des deux pathovars du parasite et de détecter celles qui pourraient être utilisées dans la lutte contre l'orobanche rameuse. Dans un second temps, les expérimentations en plein champ permettent de tester ces diverses espèces dans différentes situations : en interculture (courte ou longue), dans la rotation ou en cultures associées et ceci afin de confirmer ou d'infirmer le statut qui leur a été dévolu au laboratoire.

**Mots-clés :** cultures faux-hôtes, cultures pièges, stocks grainiers, systèmes de culture, lutte intégrée.

### 1. Introduction:

L'orobanche rameuse (*Phelipanche ramosa* (L.) Pomel) (Joel, 2009) est une plante non chlorophyllienne parasite possédant une large gamme d'hôtes, parmi lesquelles plusieurs espèces cultivées. Différentes populations (pathovars) d'orobanches ont été mises en évidence, sur la base d'analyses génétiques et d'infections croisées, avec une adaptation au regard de la plante hôte (Benharrat *et al.*, 2005 ; Brault *et al.*, 2007). L'utilisation conjointe d'un ensemble de méthodes de lutte est la seule voie pour contrôler *a minima* l'extension de ce parasite, car aucune individuellement ne permet efficacement d'éradiquer *P. ramosa* (Rubiales *et al.*, 2009). L'exploitation du comportement de certaines espèces dans les systèmes de culture peut être une solution pour assainir les sols contaminés en réduisant le stock grainier (Nowak *et al.*, 2010). Certaines espèces sont en effet capables de stimuler la germination des graines d'orobanche sans que celle-ci se fixe à la plante, certaines peuvent être partiellement ou totalement résistantes limitant la multiplication de l'orobanche, d'autres sont immunes. Les espèces sensibles peuvent être également être exploitées, à condition de détruire ces cultures avant fructification de l'orobanche. Cette étude a pour objectif de dresser un état des lieux du comportement de différentes espèces vis-à-vis de l'orobanche rameuse, et d'identifier celles qui sont susceptibles d'être intégrées dans les systèmes culturaux régionaux pour lutter contre l'orobanche. Ce travail a été réalisé dans un premier temps en conditions contrôlées. Les résultats obtenus ont permis de choisir les espèces à grand potentiel pour valider leur comportement en conditions naturelles d'infestation.

### 2. Nomenclature du comportement des espèces vis-à-vis de l'orobanche :

Les termes utilisés pour décrire les comportements (statuts) des différentes espèces testées ont été définies ci-après. Ces définitions ne constituent pas une terminologie officielle, et restent discutables : elles sont données en faisant prévaloir la notion de variabilité génétique aussi bien pour les espèces hôtes que pour l'espèce parasite. **Une espèce hôte** de *P. ramosa* est une espèce **sensible** à au moins un pathotype de *P. ramosa* (déroulement complet du cycle du parasite). Une **espèce non-hôte** est une espèce pour laquelle l'accomplissement du cycle de *P. ramosa* (tous pathotypes) est impossible pour diverses raisons, avec 3 variantes : (1) espèce parasitée mais pour laquelle l'accomplissement du cycle de *P. ramosa* (tous pathotypes) ne se fait pas (**espèce résistante non hôte**) ; (2) espèce stimulant la germination du parasite à des degrés divers (germination suicide) mais n'étant pas parasitée (**espèce faux-hôte**) ; (3) espèce ne stimulant pas la germination du parasite et n'étant pas parasitée (**avec les espèces faux-hôtes, elles correspondent aux espèces immunes**).

### 3. Evaluation du comportement des espèces cultivées en laboratoire

#### 3.1. protocole expérimental :

La co-culture en phytotron hôte-parasite est réalisée en boîtes de Pétri (24x24 cm) sur laine de roche et papier filtre Whatman en microfibres de verre (réf. Cat.1820-915). Les espèces testées appartiennent à neuf familles végétales : Poacées, Astéracées, Fabacées, Brassicacées, Chénopodiacées, Linacées, Hydrophyllacées, Polygonacées, Papavéracées. Les espèces ont été choisies en fonction de leur probabilité d'utilisation dans les rotations régionales et des éventuelles possibilités d'intégration dans les différents systèmes de culture (rotations, intercultures, cultures associées). L'inoculum (pv C ou T) est de 20 mg de graines préconditionnées par plante (2000 graines environ). Trois boîtes sont préparées par espèce hôte, par témoin (colza var. Alienor pour le pathovar C et chanvre var. Férimon pour le pathovar T) et par pathovar. Les plantes sont alimentées en solution de Coïc à 50%. La température des enceintes de culture est de 21°C le jour et de 17°C la nuit avec comme photopériode : 14h de jour à 21°C et 10h de nuit à 17°C, l'intensité lumineuse étant de 100µmoles de photons PAR.m<sup>-2</sup>.sec<sup>-1</sup>. Les pourcentages de germination (après 6 semaines) et de fixation (après 6 et 18 semaines : fructification de l'hôte) de l'orobanche sont déterminés en dénombrant l'intégralité des graines germées et fixées dans la boîte, sous loupe binoculaire. Leur stade de développement et leur état vivant ou nécrosé sont également notés. Le pourcentage de germination final est exprimé en % de graines germées (moyenne des 3 boîtes) et le pourcentage de fixation en % de graines germées et fixées (moyenne des 3 boîtes), en tenant compte de la capacité germinative des lots de graines.

#### 3.2. Principaux résultats :

La synthèse de l'ensemble des résultats acquis en matière de sensibilité des espèces cultivées en conditions de laboratoire (tableaux 1, 2 et 3) montre leur diversité de réaction face au parasite aussi bien entre différentes familles botaniques qu'entre genres de la même famille voire entre espèces du même genre. Ceci traduit la complexité des relations interspécifiques en matière d'allélopathie (notamment actions stimulantes ou inhibitrices liées ou non à la concentration des substances mises en cause). Les principaux résultats obtenus pour chacune des familles testées sont présentés ci-dessous.

**Poacées** : toutes les espèces (y compris les adventices) sont immunes mais soit ce sont des faux-hôtes (maïs) soit immunes (orge de printemps et d'hiver, blé tendre d'hiver, triticale..). D'une façon générale, les monocotylédones ne sont pas parasitées par l'orobanche rameuse (exception faite d'une espèce du genre *Allium* mentionnée par Capdebon, 1983). L'absence de parasitisme pourrait être liée à la structure de l'endoderme racinaire (endoderme en fer à cheval) de ces espèces qui entraîne peut-être une résistance mécanique à la pénétration du « procaulôme » de l'orobanche. Des expérimentations sur blé et orge avec des graines « préconditionnées » et « prégermées » (grâce au GR 24) n'ont pas permis d'observer de fixations. De très rares fixations peuvent être observées mais celles-ci nécrosent très rapidement (Boulet *et al.*, 2001 et 2007)

**Astéracées** : les réactions sont variables : de nombreuses adventices (Boulet, 2013 dans ce recueil) sont plus ou moins sensibles, très peu sont résistantes (lampsane commune). Le tournesol est également sensible avec le pathovar C, le nyger s'est révélé immun.

**Fabacées** : les comportements sont très variables : certaines sont immunes (sainfoin) et parfois plus ou moins faux-hôtes : soja, vesce pourpre (*Vicia atropurpurea*), pois, trèfle hybride, trèfle blanc, trèfle violet, trèfle incarnat,... D'autres espèces apparaissent sensibles à des degrés divers : vesce cultivée (*Vicia sativa*), fenugrec, trèfle d'Alexandrie, gesse, lentille.

Il est important de noter l'extrême variabilité de comportement entre genres mais aussi entre espèces de la même famille (cas des vesces). De ce fait, l'utilisation des Fabacées dans les cultures associées notamment avec le colza (sujet d'actualité) demande donc une extrême prudence quant aux statuts des différentes espèces de cette famille (caractère gélif ou non, exigences agronomiques, spectre des autres ravageurs, etc..).

**Brassicacées** : elles sont globalement sensibles mais avec des variations dans l'intensité de cette sensibilité et selon les pathovars. Certaines sont très sensibles : colza (surtout avec pathovar C), d'autres plus ou moins avec les 2 pathovars : moutarde blanche et brune, caméline,... Certaines variétés de colza par exemple sont plus ou moins tolérantes. De la même façon la navette d'hiver montre des stades avancés (fructification) mais aussi des nécroses précoces des procaulômes du parasite (préfixation) et des nécroses dès le stade 1 (post-fixation).

**Chénopodiacées** : seule la betterave fourragère a été testée et s'est révélée immun.

**Linacées** : seul le lin oléagineux a été testée et s'est révélé être un faux-hôte presque strict car quelques fixations (stade 1) ont pu être observées mais ont rapidement nécrosé.

**Hydrophyllacées** : seule la phacélie a été étudiée et s'est révélée très peu sensible.

**Polygonacées** : le sarrasin (seule espèce testée) semble être immun avec le pathovar C et plus ou moins sensible au pathovar T.

**Papavéracées** : seule l'oeillette a été testée et s'est montrée un peu sensible.

### 3.3. Conclusions :

Certaines espèces apparaissent sensibles, mais à des degrés divers et sont donc à utiliser avec prudence surtout en rotation mais également en dérobée (moutarde blanche et navette d'hiver par exemple qui doivent être retournées avant fructification du parasite).

Certaines espèces stimulent fortement la germination du parasite (en conditions contrôlées et surtout le pathovar C), telles que la lentille, et peuvent présenter un intérêt en cultures associées, à condition de s'assurer de leur destruction avant la fructification des orobanches..

Certaines espèces apparaissent immunes et pourraient donc être utilisées sans crainte en dérobée (engrais verts) ou dans les rotations : c'est le cas de nombreuses céréales (blé, orge, triticale, sorgho,...) mais aussi de certaines dicotylédones comme la betterave fourragère ou encore le moha, le nyger,...

Enfin, les faux-hôtes, tels que le maïs mais aussi certains trèfles et notamment le trèfle hybride, constituent « le nec plus ultra » en matière de possibilités de lutte.

#### **4. Utilisation des cultures pièges au champ :**

Suite aux travaux de laboratoire, des espèces ont été sélectionnées afin d'être utilisées au champ pour valider leur intérêt à épurer les sols contaminés par l'orobanche rameuse. Différentes implantations ont été réalisées soit comme culture principale dans la rotation, soit en interculture (courte ou longue).

##### **4.1. Utilisation en interculture (interculture courte ou interculture longue)**

**Interculture courte d'été** : Les premiers essais au champ ont été réalisés dans le Sud-Vendée (85) en 2006 et 2007 sur des intercultures courtes (interculture d'été de mi-juillet à fin septembre) par la Chambre d'Agriculture de la Vendée (Pineault *et al.*, 2010). Ces 2 expérimentations ont permis de tester, sur la même parcelle deux années de suite, 5 plantes pièges : le colza, le maïs, la navette d'hiver, le lin et le trèfle hybride. Ce dernier n'a pu être exploité car il a eu des difficultés à s'implanter en été. Sur chaque modalité, la cinétique des fixations d'orobanche rameuse a été suivie par des observations à la loupe binoculaire et des mesures d'évolution du stock grainier avec la méthode Tamisage-Flottaison-Filtration puis comptage des graines sous loupe binoculaire ont été réalisées. Le stock grainier initial était important : en moyenne 7000 graines d'orobanche pour 100 grammes de terre, soit environ 15 millions de graines par m<sup>2</sup> de terre sur une profondeur de 15 cm, au début du premier essai en 2006.

Nous observons que pour la modalité « sol nu », considérée comme la modalité témoin, le stock grainier a peu évolué. Pour toutes les autres modalités, les plantes pièges entraînent une diminution plus ou moins importante du nombre de graines d'orobanche rameuse (Tableau 4). Pour le maïs, le colza et la navette, nous avons réalisé un traitement statistique permettant de relier les deux années (facteur plante piège et facteur année). Il en ressort que les variations du stock grainier sont expliquées à hauteur de 75 % par le facteur efficacité des plantes pièges et seulement 1 % pour le facteur année. Le climat influe donc peu sur l'efficacité et c'est bien l'effet espèce qui explique les résultats. L'analyse de Newman-Keuls (tableau 4) montre que les plantes pièges testées sont toutes statistiquement différentes du témoin : elles ont toutes un effet positif sur la diminution du nombre de graines d'orobanche dans le sol. Cette diminution peut varier dans le temps et l'espace (suivant la densité d'orobanche dans la parcelle), mais dans tous les cas, les plantes pièges diminuent le stock grainier des sols et sont efficaces pour lutter contre le parasite.

**Interculture longue d'hiver** : Les premiers essais sur des intercultures d'hiver ont été mis en place en Deux Sèvres (79) en 2009 par le CETIOM. Les semis ont été réalisés en août et deux dates de destructions ont été testées : novembre et mars. Trois plantes pièges ont été étudiées : le colza, la moutarde et le nyger (Nowak *et al.*, 2010). Sur chaque modalité, les cinétiques de fixations d'orobanche rameuse ont été suivies et des mesures d'évolution du stock grainier avec la méthode Flottaison-Centrifugation-Filtration avec quantification des graines par PCR ont été réalisées.

L'évolution du stock grainier pour chaque modalité, chaque bloc et chaque année est présentée dans le tableau 5. L'analyse des échantillons montre que l'infestation de la parcelle au début de l'essai est importante avec en moyenne un peu plus de 28 000 graines par 100 g de terre soit une densité supérieure à 60 millions de graines au m<sup>2</sup> pour les 15 premiers centimètres du sol (Nowak *et al.*, 2010)

Pendant la première partie de l'interculture, un grand nombre de graines d'orobanche est détruit pour l'ensemble des modalités, y compris sur le témoin sol nu qui présente un pourcentage de réduction moyen supérieur à 60%. Si les différences entre les cultures et le témoin ne sont pas significatives, la moutarde semble néanmoins être l'interculture la plus efficace avec un pourcentage de réduction moyen de près de 86%, soit 22% de mieux que le témoin et 34% de mieux que le nyger. Il est à noter que, pour le témoin, les dernières analyses ne relèvent quasiment plus de réduction pendant l'hiver, entre Décembre et Mars. Pour les deux intercultures les plus efficaces, les repousses de colza et la moutarde, les réductions de stocks grainiers observées sont compatibles avec des modèles linéaires de pente 0,92 et 0,94 respectivement, avec des coefficients de détermination R<sup>2</sup>=95% et 99% respectivement.

Au vue des différences sur les résultats entre intercultures courtes et intercultures longues et sur les différences de méthodologie de comptage du stock grainier, quatre autres essais ont été mis en place dans le cadre d'un projet financé par le DAR. Deux essais (CETIOM et CA85) ont été implantés en 2010-2011 et deux autres en 2011-2012 avec 6 couverts : lentille fourragère, vesce de printemps, moutarde brune, moutarde blanche, colza et navette. Seule la vesce n'a pas eu de fixation visible d'orobanche rameuse. Le suivi du stock grainier devait être réalisé avec la méthode PCR. Mais, au vue des niveaux d'incertitude avec la méthode PCR, c'est un comptage sous loupe binoculaire qui a été effectué. Une partie de ses modalités a été analysée et semble indiquer des évolutions du stock grainier contraires à ce qui était attendu à travers les résultats obtenus en laboratoire. Ainsi, il apparaît que le nombre de graines est très variable entre les différents points de prélèvement d'une même modalité, et l'évolution du stock grainier l'est également pour l'ensemble des modalités. De part cette variabilité observée, il apparaît difficile de tirer des tendances. Plusieurs modalités (y compris le témoin), ont montré pour certains points de prélèvement) une augmentation de graines dans le sol alors que l'inverse était attendu. Cela est d'autant plus surprenant que les orobanches n'ont pas fructifié sur l'essai. Un problème lié à la méthodologie d'échantillonnage du sol pourrait expliquer ces résultats.

## 4.2. Utilisation dans la rotation

Comme pour l'interculture, les plantes pièges utilisables dans la rotation ont été testées sur leur période optimale de culture. Le choix des espèces prenait en compte à la fois les résultats de laboratoire ainsi que les plantes pouvant être cultivées sur le secteur : pois de printemps, féverole de printemps, luzerne, maïs, sorgho et tournesol. Ces essais comparables à ceux sur les intercultures ont été mis en place en 2011 et en 2012 par la chambre d'agriculture de la Vendée et le CETIOM pendant deux ans. Le dénombrement des fixations d'orobanches a été réalisé pour l'ensemble des modalités. Comme attendu, aucune fixation était présente sur ces cultures, exceptées pour la culture de tournesol qui présentait un nombre de fixation très faible et uniquement à un stade très jeune de la plante hôte.

Seule une partie des prélèvements de sols a été analysée pour la quantification de graines. Les résultats sont variables d'un point de prélèvement à un autre. L'évolution du stock grainier de l'orobanche pour les différentes modalités de l'essai mis en place en 2011 (site CETIOM) est présentée dans la figure 1. Des résultats surprenants ont été observés, suggérant un problème de

méthodologie (prélèvement, comptage, contamination par les parcelles adjacentes...). A titre d'illustration, le témoin sol nu a montré une augmentation du nombre de graines dans le sol (sans hôte et sans orobanche arrivant à fructification). Le stock grainier a augmenté pour la féverole et le sorgho, est resté stable pour le pois et le maïs, et a diminué pour le tournesol. L'augmentation du nombre de graines au printemps peut être due, dans ce cas-ci, à une ré-infestation en lien avec le broyage de la parcelle (colza infesté autour de l'essai). En considérant cette « contamination », il peut être possible d'expliquer en partie ces résultats, et de supposer une réduction du nombre de graines d'orobanche dans le sol pour chacune des cultures testés.

#### **4.4. Conclusion :**

Les différents résultats acquis à travers les expérimentations au champ ne sont pas aussi démonstratifs qu'attendus, sans doute du fait d'une répartition très hétérogène des graines d'orobanche dans le sol entraînant des problèmes de représentativité des échantillons de sol. Toutefois, même si les taux de décroissance obtenus restent apparemment faibles au regard du fort pouvoir de production grainière, la répétition systématique de cultures pièges en interculture, dans la rotation, voire en association, devrait permettre, en l'absence de nouvelles infestations, de diminuer sensiblement les stocks grainiers des parcelles contaminées. L'utilisation de plantes pièges en tant que faux hôtes, pourrait être un intérêt potentiel dans la lutte contre l'orobanche, dans le cadre de système de culture « couverts associés ». Ce potentiel est actuellement en cours d'étude (communication personnelle). Enfin, il est important de rappeler que l'exploitation de ces espèces pour lutter contre l'orobanche n'est pas la solution unique, mais que c'est bien la combinaison des solutions génétiques, chimiques et agronomiques qui permettront de limiter la pression de l'orobanche rameuse dans les secteurs cultivés.

#### **Remerciements :**

Le travail d'évaluation du comportement des espèces vis-à-vis de l'orobanche au Laboratoire de Biologie et Pathologie Végétales à l'université de Nantes a été réalisée notamment grâce au soutien financier du Centre technique interprofessionnel des oléagineux et du chanvre (CETIOM), et dans le cadre du projet CasDAR « stock orobanche » (2010-2013) avec le soutien financier du Ministère de l'Agriculture, de l'Alimentation, de la Pêche, de la Ruralité et de l'Aménagement du territoire du Ministère. Les différentes expérimentations au champ en 2010-2011 et 2011-2012 ont été réalisées dans le cadre du projet CasDAR « stock orobanche » (2010-2013) avec le soutien financier du Ministère de l'Agriculture, de l'Alimentation, de la Pêche, de la Ruralité et de l'Aménagement du territoire du Ministère.

#### **Références bibliographiques :**

Benharrat H., Boulet C., Théodet C., Thalouarn P., 2005 - Virulence diversity among branched broomrape (*O. ramosa* L.) populations in France. *Agron. Sustain., Dev.* 25, p. 123-128.

Boulet C., Labrousse P., Arnaud M.C., Zehhar N., Fer A., 2001 - Weed species present various responses to *Orobanche ramosa* L. attack. In : Fer A., Thalouarn P., Joël DH., Musselman L.J., Parker C., Verkleij J.A.C. (eds). *Proceedings of the seventh International Parasitic Weed Symposium*. Faculté des Sciences de Nantes, 228-231.

Boulet C., Pineault D., Benharrat H., BOZEC D., Delavault P., Simier P., 2007. Adventices du colza et orobanche rameuse - AFPP – XX ième conférence du COLUMA – Journées internationales sur la lutte contre les mauvaises herbes.

Brault, M., Betsou, F., Jeune, B., Tuquet, C., Sallé, G., 2007. Variability of *Orobancha ramosa* populations in France as revealed by cross infestations and molecular markers. *Environ. Exp. Bot.* 67, 271–280.

Capdebon M., 1983 - La lutte contre les Phanérogames parasites, *Ann. Sci. Nat. Bot.*, Paris, 13 ième série, 5, 1-27.

Joel D.M., 2009. The new nomenclature of *Orobancha* and *Phelipanche*. *Weed research*, 49, 6-7.

Nowak B., Pineault-Molénat D., Boulet C. Leflon M., 2010. Impact des cultures intermédiaires épuratrices sur l'évolution du stock semencier d'orobanche rameuse. AAFP-XXI ième conférence du COLUMA.

Pineault D., Boulet C., Benharrat H., 2010. L'orobanche rameuse, les plantes-pièges et le feu. *Phytoma*, 630, 22-25.

Rubiales D., Fernandez-Aparicio M., Wegmann K., Joel D., 2009. Revisiting strategies for reducing the seedbank of *Orobancha* and *Phelipanche spp.* *Weed res.*, 49, 23-33.

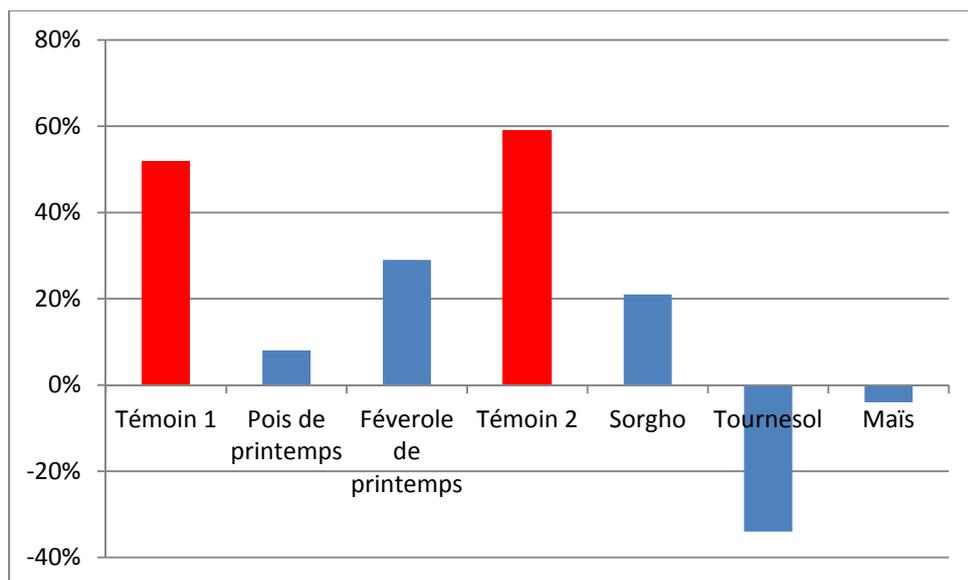


Figure 1 : Evolution du stock grainier pour chaque modalité sur l'essai Cetiom 2011

**Tableau 1. Espèces cultivées testées en phytotron, précisions sur leur statut face à *P. ramosa***

	rotation	pathovars	variétés	statut
<b>blé tendre d'hiver</b>	oui	C et T	1	immune (**), non faux-hôte
<b>orge de printemps</b>	oui	C et T	1	immune (**), non faux-hôte
<b>orge d'hiver</b>	oui	C et T	1	immune (***), non faux-hôte
<b>triticale</b>	oui	C et T	1	immune (***), non faux-hôte
<b>maïs</b>	oui	C	3	faux-hôte
<b>maïs</b>	oui	T	1	faux-hôte
<b>sorgho</b>	oui	C et T	1	immune
<b>tournesol</b>	oui	C	12	plante-piège *
<b>pois de printemps</b>	non citée	C	1	immune
<b>pois d'hiver</b>	oui	C et T	1	immune (ou presque)
<b>féverole d'hiver</b>	oui	C et T	1	résistante
<b>luzerne</b>	oui	C et T	1	un peu sensible (à voir)
<b>betterave fourragère</b>	oui	C et T	1	immune
<b>lin oléagineux</b>	oui	C et T	1	faux-hôte
<b>soja</b>	oui	C	1	faux-hôte
<b>ray gras d'Italie</b> <i>(Lolium multiflorum)</i>	non citée	C et T	-	Immune (après culture en serre)

Tableau 2. suite tableau 1

ray grass anglais ( <i>Lolium perenne</i> )	non citée	C et T	-	Immune (après culture en serre)
phacélie	oui	C et T	1	un peu sensible
moutarde blanche	oui	C et T	1	sensible (<1% fixation)
navette d'hiver	non citée	C	1	sensible (<1% fixation)
moha	non citée	C	1	immune
trèfle d'Alexandrie ( <i>T. alexandrinum</i> )	non citée	C	1	sensible (<2% fixation)
trèfle blanc ( <i>T. repens</i> )	non citée	C	2	faux-hôte (<5% germination)
trèfle violet ( <i>T. pratense</i> )	non citée	C	1	faux-hôte (<5% germination)
trèfle incarnat ( <i>T. incarnatum</i> )	non citée	C	1	faux-hôte (16% de germination)
trèfle hybride ( <i>T. hybridum</i> )	non citée	C	1	faux-hôte (25% de germination)
gesse ( <i>Lathyrus sativus</i> )	non citée	C	1	faux-hôte ou sensible ? (6 à 8% de germination)
lentille ( <i>Lens esculentum</i> )	non citée	C	1	faux-hôte ou sensible ? (3 à 4% de germination)
sainfoin ( <i>Onobrychis viciifolia</i> )	non citée	C	1	immune
nyger ( <i>Guizotia abyssinica</i> )	non citée	C	1	immune
sarrasin ( <i>Fagopyrum</i> )				Immune (un peu sensible peut-

**Tableau 3. Espèces nouvellement testées en 2012**

Espèce testée	pathovar	variété	statut
caméline ( <i>Camelina sativa</i> – Brassicacées)	C et T	1	sensible
Fenugrec ( <i>Trigonella foenum-graecum</i> – Fabacées)	C et T	1	sensible
Moutarde brune ( <i>Brassica juncea</i> – Brassicacées)	C et T	1	sensible
Oeillette ( <i>Papaver somniferum</i> – Papavéracées)	C et T	1	sensible
Soja ( <i>Glycine max</i> – Fabacées)	C et T	1	immune
Vesce cultivée ( <i>Vicia sativa</i> – Fabacées)	C et T	1	sensible
Vesce pourpre ( <i>Vicia atropurpurea</i> – Fabacées)	C et T	1	immune

Tableau 4. Evolution du stock grainier pour chaque modalité et chaque année pour les intercultures courtes

Les lettres différentes indiquent que les résultats sont significativement différents au seuil de 5 % selon le test de Student-Newman-Keuls.

L'écart-type entre les pourcentages de réduction des différentes modalités est donné entre parenthèses dans la case moyenne modalité

Modalités	Colza	Maïs	Navette d'hiver	Lin d'Hiver	Trèfle hybride	Témoin
% de réduction 2006	- 26.34 % <b>B</b> (+/- 3,1 %)	- 29.17 % <b>B</b> (+/- 3.0 %)	- 34.06 % <b>B</b> (+/- 7.1 %)	X	Résultats non exploitables	- 1.86 % <b>A</b> (+/- 9.0 %)
% de réduction 2007	- 40,65 % <b>C</b> (+/- 2,2 %)	- 31,73 % <b>C</b> (+/- 11,2 %)	- 29.03 % <b>C</b> (+/- 6,7 %)	- 15.11 % <b>B</b> (+/- 11,0 %)		- 2,34 % <b>A</b> (+/- 9,8 %)

Tableau 5. Evolution du stock grainier pour chaque modalité et chaque année pour les intercultures longues.

Les lettres différentes indiquent que les résultats sont significativement différents au seuil de 5 % selon le test de Student-Newman-Keuls.

L'écart-type entre les pourcentages de réduction des différentes modalités est donné entre parenthèses dans la case moyenne modalité.

	Nyger	Colza	Moutarde	Témoin
Destruction novembre	<b>51,5% A</b> (+/- 30,7%)	<b>76,2% AB</b> (+/- 18,3%)	<b>85,8% B</b> (+/- 21,7%)	<b>63,7% AB</b> (+/- 15,4%)
Destruction mars	<b>77,0% AB</b> (+/- 16,9%)	<b>90,9% B</b> (+/- 7,1%)	<b>80,4% AB</b> (+/- 10,2%)	<b>65,9% A</b> (+/- 24,7%)

# INDUCTION DE LA GERMINATION SUICIDE DE L'OROBANCHE RAMEUSE (*P. ramosa* L. Pomel) DANS LE CADRE DU PATHOSYSTEME *Brassica napus* L. / *Phelipanche ramosa* L. Pomel

H. BENHARRAT<sup>1</sup>, D. MOLENAT<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Laboratoire de Biologie et Pathologie Végétales (LBPV), Faculté des Sciences et des Techniques  
Université de Nantes, 2 rue de la Houssinière 44322 Nantes cedex

<sup>2</sup>Chambre d'Agriculture de Vendée, Impasse J.Maingueneau, 85200 FONTENAY LE COMTE

## Résumé :

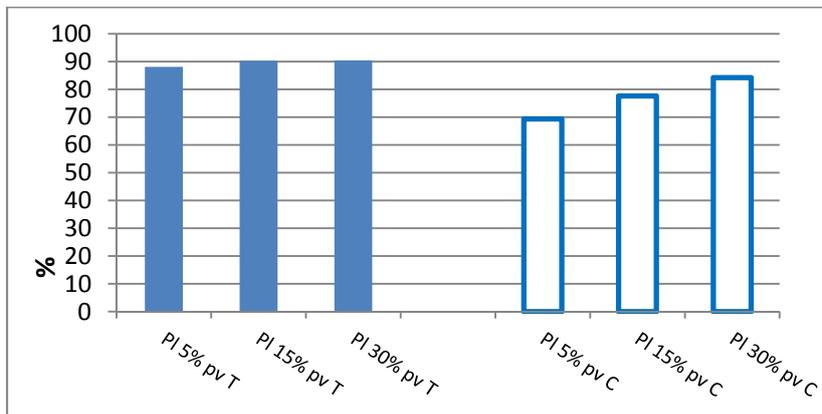
Dans le cadre de la stratégie de lutte contre *P. ramosa* et afin d'induire de la germination suicide des graines du parasite, avec l'objectif de réduire le stock grainier du sol et l'infestation de la plante hôte (colza), nous avons testé l'utilisation de résidus de trituration de colza comme biostimulant de la germination. Pour conduire cette étude, des expérimentations ont été menées en serre et au champ avec des pellicules et des tourteaux de colza. Malgré l'importante variabilité de réponse mise en évidence chez les plantes de colza, une réduction significative du nombre d'orobanches fixées sur la plante hôte a été observée dans le cas de l'utilisation de pellicules obtenues à partir de la variété Campo. Cette étude révèle que la nature de la fraction issue des résidus de trituration du colza est un facteur important à considérer. Une importante réduction du stock grainier est également observée dans les expérimentations conduites au champ avec des biostimulants, mais sans effet dose.

**Mots-clés :** biostimulant, colza, germination suicide, pathovar, *P. ramosa*

## Introduction :

L'une des particularités de l'orobanche est qu'elle ne germe qu'en présence d'un hôte : ceci peut compliquer les stratégies de réduction des stocks grainiers dans les parcelles, car l'un des risques est que l'orobanche boucle son cycle sur son hôte et se remultiplie. Dans ce contexte, des travaux sont conduits depuis plusieurs années au LBPV afin de trouver un produit naturel pouvant induire la germination des graines de *P. ramosa* en absence d'hôte, avec une utilisation possible par exemple en interculture.

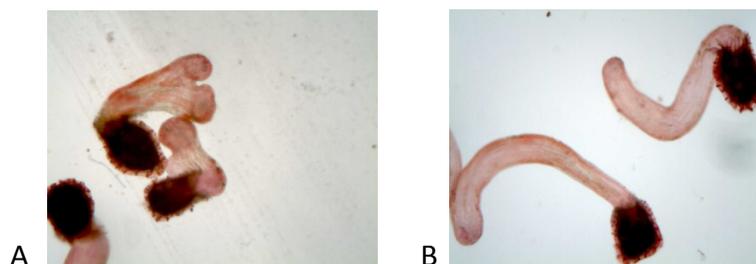
Des travaux préliminaires (Benharrat, communication personnelle, 2005) ont permis de démontrer qu'il était possible d'induire la germination des graines du parasite en absence d'exsudats racinaires la plante hôte, en l'utilisant de résidus de trituration de graines de colza. Nous avons réalisé *in vitro* des tests complémentaires de germination de graines de *P. ramosa* de pathovar C et T en présence d'une fraction de pellicules de colza et d'une fraction de flocons de tourteaux de graines dépelliculées et délipidées ont permis de confirmer les résultats précédents (figure 1) et de démontrer que selon les concentrations utilisées en biostimulant, le développement du procaulôme de la germination était affecté (figure 2).



**Figure 1** : Induction de la germination des graines des pathovars T et C de *P. ramosa* à l'aide de la fraction "pellicules de colza"

PI : pellicules ; x % : concentration de fraction pellicule ; pv C : pathovar ; pv T : pathovar T

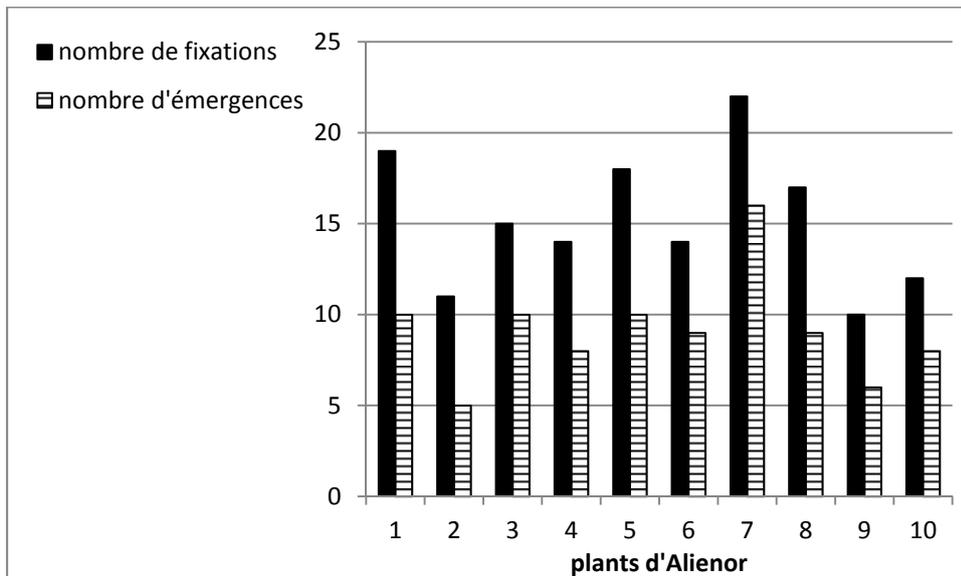
L'ensemble de ces travaux nous ont conduit à proposer d'utiliser les résidus de trituration de colza comme biostimulants de la germination des graines de *P. ramosa* dans la stratégie de germination suicide du parasite afin de réduire l'infestation de la plante hôte et le stock grainier du sol. Pour conduire cette étude, des expérimentations ont été menées en serre et au champ sur le pathosystème *Brassica napus* L. et du pathovar C de *P. ramosa* L. Pomel.



**Figure 2** : Morphologie de la germination des graines du pathovar T de *P. ramosa* selon la concentration de la fraction de pellicule utilisée pour l'induction (A = fraction pure pellicules ; B = fraction diluée).

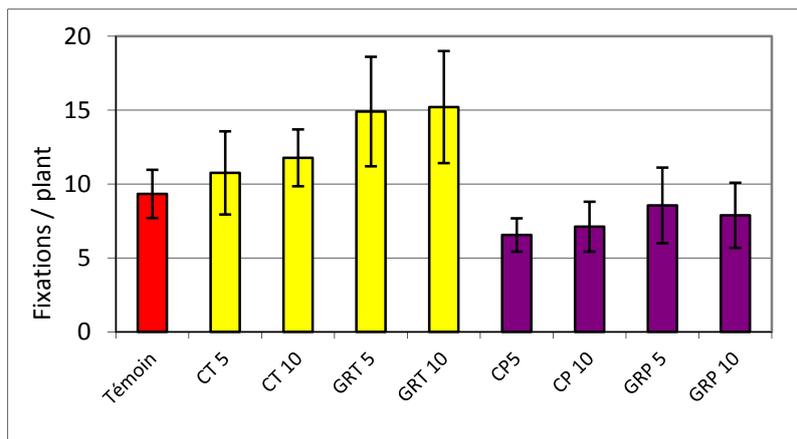
#### Expérimentation en serre :

Des pellicules et des tourteaux de deux variétés de colza (Campo et Grizzly) ont été testés au cours de cette expérience. Incorporés dans le sol à deux doses différentes (5g et 10g), leur efficacité quant à la réduction de l'infestation de l'hôte (colza, variété Aliénor) par le pathovar C de *P. ramosa* a été mesurée par comptage des orobanches fixées et émergées. Les résultats obtenus montrent une importante variabilité de la réponse à l'infestation de l'hôte au sein des différents individus d'un même lot. Ainsi en fonction des plants considérés le nombre de fixations et d'émergences varie respectivement de 10 à 22 et de 5 à 16 (figure 3). Cette variabilité s'observe aussi bien chez les lots témoins que chez les lots traités par les biostimulants.



**Figure 3 :** Variabilité des nombres de fixations et d'émergences pour 10 plants d'un même lot

En dépit de cette variabilité de réponse mise en évidence chez les lots témoin et essais, les fractions "pellicules" et "tourteaux" ont été comparées quant à leur impact sur l'infestation de la plante hôte, en fonction de leur nature et des doses utilisées. Dans tous les cas, il apparaît que la fraction "pellicules" induit un nombre inférieur de fixations comparativement à la fraction "tourteaux", ceci quelle que soit l'origine de ces pellicules (Campo ou Grizzly) et quelles que soient les doses utilisées (5g et 10g) (figure 4). Ces deux doses donnent des réponses similaires de l'hôte en termes de fixations et d'émergences. L'efficacité du traitement consistant à incorporer dans le substrat de culture des pellicules de graines de colza a pu être démontrée dans le cas de pellicules obtenues à partir de la variété Campo avec une réduction significative du nombre d'orobanches fixées par plante hôte (figure 4). L'incorporation de tourteaux de colza dans le substrat de culture, se traduit, pour les doses utilisées dans cette expérience, par une augmentation du nombre d'orobanches fixées par plante hôte, notamment avec des tourteaux produits à partir de la variété Grizzly. Dans le cas des émergences, nous n'observons pas de réduction significative de leur nombre quelles que soient les doses utilisées et l'origine des fractions utilisées.



**Figure 4 :** Nombre de fixations en fonction de la dose et de la fraction de biostimulant incorporé dans le sol.

*CP : pellicules de Campo ; CT : tourteaux de Campo ; GRP : pellicules de Grizzly ; GRT : tourteaux de Grizzly ; 5 : 5g ; 10 : 10g*

Ces résultats mettent en évidence que dans le cadre de la lutte contre l'orobanche:

- La nature de la fraction issue des résidus de trituration du colza est un facteur important à considérer (les pellicules sont plus efficaces que les tourteaux).
- L'origine variétale des pellicules doit être considérée avec attention (les pellicules de Chicon sont plus efficaces que celles obtenues à partir de la variété Grizzly). Ces résultats sont d'autre part confirmés par une étude impliquant le pathosystème composé de *Cannabis sativa* L. et du pathovar T de *P. ramosa* L. Pomel .
- Les quantités de pellicules incorporées dans le sol sont un paramètre déterminant pour obtenir une réduction de l'infestation.
- La variabilité de réponse de l'hôte à l'infestation reste un problème important quant au suivi statistique de ces traitements.

### Expérimentation terrain :

Un essai a été mis en place au champ en 2010-2011 et un second en 2011-2012 pour tester l'effet des biostimulants sur la culture du colza. Pour cette seconde expérimentation, les orobanches de la parcelle ont nécrosé pour une raison non identifiée aujourd'hui, mais sans lien avec les biostimulants. C'est pourquoi seuls les résultats obtenus en 2010-2011 sont analysés et discutés.

L'essai a été implanté à l'automne 2010 sur une parcelle de colza fortement touchée par l'orobanche rameuse, sur la commune de St Maxire (79). C'est un essai en microparcelles de 15 m<sup>2</sup> agencé en 3 blocs complets randomisés avec 3 modalités : une modalité témoin sans biostimulant, une modalité à 0.5 kg de biostimulant/m<sup>2</sup> (équivalent à la dose réelle du au laboratoire), et une modalité à ½ dose, soit 0,25kg/m<sup>2</sup>. Dans ces tests, les biostimulants testés sont des mélanges de pellicules. L'incorporation des pellicules a été effectuée le 20 août 2010 (épandage à la main sur les microparcelles puis enfouissement avec une fraise de motoculteur). Le colza (variété Aliénor) a ensuite été semé début septembre. Des notations sur le nombre de tubercules d'orobanche fixés, puis sur le nombre de hampes florales ont été réalisées en décembre 2010, mars 2011 et mai 2011 sur 15 plantes par microparcelle.

Les observations réalisées (Tableau 1) montrent tout d'abord que le nombre de tubercules est toujours inférieur chez les lots avec biostimulant que chez le témoin sans biostimulant, avec peu de différence entre les deux doses. Il apparaît de même, que le développement des hampes florales est réduit (de l'ordre de 30 %) chez les lots traités comparativement aux plants témoins, toujours sans effet de la dose de biostimulant appliquée. Toutefois, cet effet du traitement sur la diminution du nombre de fixations et d'émergences par rapport au témoin (20 à 30% environ selon la dose et la variable mesurée) n'est pas statistiquement significatif (au seuil  $\alpha=15\%$ ), ce qui peut s'expliquer par la variabilité importante observée entre bloc et entre plantes pour chacune des modalités.

**Tableau 1** : Nombre de tubercules et de hampes florales en fonction des différentes modalités de pellicules de colza testées

	<i>Nombre moyen de tubercules par plante</i>		<i>Nombre de hampes florales</i>
	Décembre 2010	Mars 2011	mai 2011
Témoin	2,36	2,87	76
Pleine dose	1,71	1	53
1/2 dose	1,72	0,73	53

Des prélèvements de sol ont été effectués à l'état initial avant traitement (août 2010) et à l'état final (mai 2011, avant la dissémination des graines d'orobanche des hampes florales de l'année). pour suivre l'évolution du stock grainier sur chaque modalité. Les graines de *P. ramosa* ont été

dénombrées au laboratoire sous loupe binoculaire après avoir extraites du sol (200g) par une méthode de flottaison-centrifugation-filtration (Bammé *et al.*, dans ce recueil). Les analyses révèlent tout d'abord une forte hétérogénéité du stock semencier d'orobanche dans la parcelle avant l'apport de pellicules de colza, pouvant être liée à l'historique de la parcelle et au travail du sol. Malgré cette hétérogénéité, l'analyse de l'évolution du nombre de graines entre le début et la fin de l'expérimentation (tableau 2) montre plusieurs résultats intéressants : pour toutes les modalités, la quantité moyenne de graines est plus faible à la fin de l'expérimentation qu'au début (avec des disparités entre blocs), et la réduction la plus importante (de l'ordre de 60%) est observée pour les modalités avec des biostimulants, sans effet dose. Cet effet n'est toutefois pas significatif au niveau statistique (analyse de variance au seuil  $\alpha=15\%$ ), sans doute du fait de la forte hétérogénéité au sein du dispositif et du faible nombre de répétitions.

**Tableau 2** : Quantification des graines d'orobanche dans le sol en fonction des différentes modalités de pellicules de colza testées (données moyennes sur 3 blocs).

	Quantité moyenne de graines d'orobanche dans 200 g de terre		Evolution moyenne du nombre de graines entre les deux dates de prélèvement en %	
	Etat initial	Etat final		
Témoin	988	661	-	23.80
Pleine dose	1076	354	-	62.44
1/2 dose	1169	452	-	61.03

#### Discussion et conclusion :

L'ensemble des résultats obtenus dans cette étude montre une variabilité importante de la réponse du colza à l'infestation (en serre et au champ). Ceci permet de dégager une tendance quant à l'efficacité du traitement par les pellicules mais ne permet pas de valider ces résultats statistiquement.

Cette variabilité ne semble pas liée à un facteur génétique (faible variabilité génétique de l'hôte et du parasite). Pour les expérimentations terrain, le rôle de la microflore de la rhizosphère pourrait être évoqué car il est non négligeable dans l'établissement de la relation hôte-parasite. L'hétérogénéité de la répartition du stock grainier (révélée dans cette étude) pourrait également rendre compte de cette disparité de réponse. Pour les expériences menées en serre, où le même substrat et les mêmes conditions de culture sont employés, ces hypothèses ne suffisent pas à expliquer la variabilité observée.

Sur la base des tendances observées, il apparaît, pour les expériences menées en serre et sur le terrain, que l'utilisation de pellicules a permis de réduire le nombre de fixations en serre, le nombre de fixations et d'émergences sur le terrain et le stock grainier du sol. Cet ensemble de résultats confirme donc les observations réalisées *in vitro* quant au pouvoir stimulant de la fraction "pellicule" (Benharrat, 2005).

L'origine variétale de ces pellicules est un paramètre important à considérer car la teneur et la composition en glucosinolates en dépendra. Dans le sol, au niveau de la rhizosphère, ces glucosinolates, via leurs produits de dégradation (notamment les isothiocyanates), sont susceptibles d'induire la germination des graines de *P.ramosa* (Auger *et al.*, 2012). L'analyse précise de la composition en glucosinolates des pellicules de Campo et Grizzly permettrait ainsi peut être de comprendre pourquoi les pellicules de Campo permettent de réduire en serre le nombre de fixations, à la différence de celles de Grizzly. Le lien entre les expériences terrain et serre reste difficile à établir car il n'a pas été utilisé le même type de pellicules pour ces deux expériences. Cette dégradation des glucosinolates dans la rhizosphère est directement liée à la microflore du sol qui, en fonction de sa nature, de sa répartition et de son importance, peut constituer un des facteurs de la variabilité de la réponse observée sur le terrain. Il est à noter qu'il n'existe pas de lien direct entre l'activité stimulante des exsudats racinaires d'une variété de colza et celle des pellicules de ses graines. Ainsi,

alors que les exsudats racinaires de Campo stimulent moins la germination des graines du parasite que ceux de Grizzly, les pellicules des graines de Campo permettent une réduction de l'infestation de l'hôte plus importante que celles de Grizzly (Gauthier *et al.*, 2012). Une analyse minérale des différentes pellicules utilisées dans ces expérimentations pourraient également apporter des précisions quant au rôle éventuel de composés tel que l'azote, le phosphore et le potassium dans l'interaction colza/*P. ramosa*.

Le fait qu'aucun effet dose ne soit mis en évidence dans les expériences au champ, nous amène à nous interroger sur les valeurs des teneurs en pellicules incorporées dans le sol. En effet, dans le cadre d'un autre pathosystème étudié (*Cannabis sativa* / pathovar T de *P. ramosa*), nous avons pu observer une réduction de l'infestation avec des pellicules de Campo (travaux personnels). Cette réduction est observée pour la plus petite dose utilisée dans nos expériences. Cette dernière s'avère être 5 à 10 fois inférieure à celle expérimentée pour le pathosystème colza/*P. ramosa*. L'utilisation de doses plus importantes en pellicules de Campo dans le pathosystème *Cannabis sativa*/*P. ramosa* induisent une augmentation du nombre de fixations. Il apparaît donc important d'adapter ces teneurs en pellicules aux pathosystème étudiés. Ces travaux confirment la complexité de l'interaction Colza/*P. ramosa* du fait de l'implication de nombreux paramètres : température, pH, composition des exsudats en glucosinolates... Le rôle de la microflore dans la rhizosphère apparaît maintenant comme étant également un élément déterminant dans cette interaction. Ce troisième partenaire, via la myrosinase, une enzyme permettant la dégradation des glucosinolates, devient un élément à considérer avec attention.

#### **Remerciements :**

Ce travail a été réalisé dans le cadre du projet CasDAR « stock orobanche » avec le soutien financier du Ministère de l'Agriculture, de l'Alimentation, de la Pêche, de la Ruralité et de l'Aménagement du territoire. Les pellicules et tourteaux ont été produits et fournis par CREOL. Les expérimentations au champ ont été réalisées conjointement par la chambre d'agriculture de la Vendée et les stations d'expérimentation du CETIOM de Surgères et de Troyes.

#### **Références bibliographiques :**

- Auger B., Pouvreau J.B., Pouponneau K., Yoneyama K., Montiel G., Le Bizec B., Yoneyama K., Delavault P., Delourme R., Simier P., 2012. Germination stimulants of *Phelipanche ramosa* in the rhizosphere of *Brassica napus* are derived from the glucosinolate pathway. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 7,993-1004
- Benharrat H., Boulet C., Theodet C., and Thalouarn P., 2005. Virulence diversity among branched broomrape (*O. ramosa* L.) populations in France, *Agronomy for Sustainable Development*, 25, 1, 123-128
- Gauthier, M., Véronési, C., El-Halmouch, Y., Leflon M., Jestin C., Labalette F., Simier P., Delourme R., Delavault P., 2012. Characterisation of resistance to branched broomrape, *Phelipanche ramosa*, in winter oilseed rape. *Crop Protection*, 42, p. 56-63

# DIVERSITE DES MECANISMES DE RESISTANCE DU COLZA A L'OROBANCHE RAMEUSE

M. Gauthier<sup>1</sup>, C. Veronesi<sup>1</sup>, M. Leflon<sup>2</sup>, P. Simier<sup>1</sup> et P. Delavault<sup>1</sup>

<sup>1</sup>LBPV, Faculté des Sciences et des Techniques Université de Nantes, 2 rue de la Houssinière, 44322 Nantes cedex

<sup>2</sup>CETIOM, Avenue Lucien Brétignières, 78850 Thiverval-Grignon

## Résumé

La lutte génétique contre l'orobanche rameuse dans le colza est une voie à explorer, qui combinée à des solutions prophylactiques, permettrait de maintenir la production de colza dans les zones infestées, et voire à long-terme, de réduire les infestations. Les divers criblages réalisés au champ montrent des différences de comportement entre variétés vis-à-vis de l'orobanche, mais ne permettent pas de mettre en évidence de facteurs majeurs de résistance. Dans ce contexte, et afin de faciliter le démarrage de programme de sélection du colza pour ce caractère, des travaux ont été réalisés dans le cadre d'une thèse, afin d'identifier les différentes composantes de la résistance du colza à l'orobanche. Cette analyse, basée sur l'observation d'un panel de 10 variétés dans des cultures en conditions hydroponiques (mini-rhizotrons) et en serre, permet de mettre en évidence différents mécanismes de résistance, liés au niveau d'induction de la germination des graines d'orobanche, à l'existence de barrière à la fixation des orobanches, ou encore à un ralentissement du développement des tubercules d'orobanche, avec de la variabilité pour ces caractères entre variétés. Même si ces différents mécanismes ont des effets mineurs, un criblage d'un panel plus large pour ces caractères, et le cumul de ces mécanismes dans des variétés pourrait offrir une solution de lutte contre l'orobanche sur colza.

**Mots clés :** *Brassica napus*, interaction, *Phelipanche ramosa*, sélection

## Introduction

Les orobanches sont des parasites affectant de nombreuses cultures d'intérêt économique, et pour certaines espèces, des travaux de sélection ont abouti à la création de variétés résistantes notamment chez le tournesol ou chez certaines espèces de légumineuses (Pérez-de-Luque *et al.*, 2009 ; Rubiales *et al.*, 2012). Il existe cependant peu de travaux sur l'interaction entre l'orobanche rameuse (*P. ramosa*) et le colza (*B. napus*), du fait sans doute du caractère trop récent des problèmes posés par les infestations d'orobanche sur colza. Aucune des variétés de colza actuellement implantées pour des tests ou en culture ne semble être totalement résistante à *P. ramosa*, mais des différences de réponses à l'infestation ont été observées (Nowak *et al.*, 2013). Dans ce contexte, des travaux ont démarré en 2008 afin d'évaluer la diversité des mécanismes de résistance du colza vis-à-vis de l'orobanche. L'ensemble des résultats de ces travaux a déjà été publié (Gauthier *et al.*, 2012), nous ne rapportons donc dans cet article que les principaux résultats.

## Matériels et méthodes

Différents tests ont été réalisés afin d'analyser l'interaction entre 10 variétés de colza ayant des comportements contrastés au champ (Adriana, Alesi, Aviso, Campo, Cooper, Darmor, Expert, Grizzly, Shakira et Yudal) et une population d'orobanche rameuse (pathotype I), prélevée en 2007 sur une parcelle de colza en Poitou-Charentes.

### *Co-cultures en système hydroponique en chambre de culture*

Après stérilisation des graines de colza et d'orobanche, une douzaine de graines de colza sont mise en germination dans des boîtes de Petri entre deux feuilles de papier filtre. Les plantules sont alors transférées dans des boîtes de Petri de 25x25cm, sur une feuille de papier filtre superposée à une couche de laine de roche et fertilisées avec une solution Coïc à 50% (Coïc et Lesaint, 1975) et cultivées pendant 4 semaines avant l'infestation par les graines d'orobanche. En parallèle, les graines d'orobanche sont conditionnées (dans l'obscurité à 23°C pendant 7j), et certains lots sont également

pré-germés (induction de la germination sur les graines pré-conditionnées par traitement pendant 30h avec une solution de GR24 à  $3.10^{-8}$  M, et rinçage à l'eau avant inoculation). L'inoculation est alors réalisée par dépôt dans chaque boîte de 20mg de graines d'orobanche conditionnées ou prégermées à moins de 5mm des racines de colza. A différentes dates, entre 12 et 33j après inoculation, le taux de germination des graines d'orobanche à proximité des racines est déterminé par observation d'au moins 400 graines par boîte sous microscope. Le développement des orobanches fixées est suivi à une fréquence hebdomadaire jusqu'à 75j après inoculation, selon la classification de Labrousse *et al.* (2001). A la fin de l'essai, les racines sont récoltées, débarrassées des tubercules d'orobanche, séchées puis pesées.

#### *Co-culture en pots en serre*

Des pots Jiffy de 400cm<sup>3</sup> sont remplis d'un mélange terre/sable/terreau (1:1:1) contaminé avec 5mg de graines d'orobanche. Ces pots sont eux-mêmes placés dans des pots d'un volume de 1,3 L, remplis avec le même substrat mais non contaminés. Après une semaine de conditionnement des graines d'orobanche pendant laquelle les pots sont recouverts d'une bâche opaque, trois graines de colza sont semées dans chaque pot. Les plantes sont cultivées en serre à une température moyenne de 23°C à une photopériode de 16h d'alternance lumière/obscurité. Les plantes sont arrosées et fertilisées avec une solution commerciale de « lycoplant bleu » 3 ‰ une à deux fois par semaine. Après quatre semaines de culture, les plantes sont éclaircies et une seule plante de colza est conservée par pot. Au cours de la culture, les dates d'apparitions des émergences sont notées. Après 3 mois et demi, les plantes sont déterrées, les orobanches fixées à chaque stade de développement sont dénombrées puis détachées du système racinaire du colza. Les racines sont alors nettoyées, séchées et pesées.

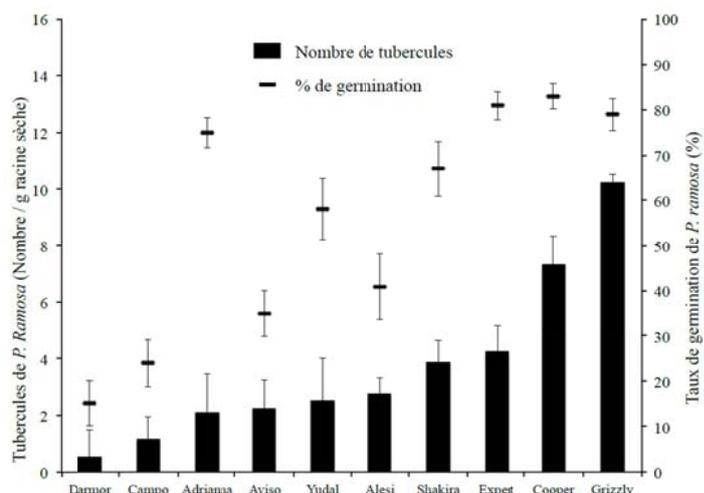
## **Résultats**

Les techniques de phénotypage utilisées permettent de caractériser l'interaction entre les différentes variétés de colza et l'orobanche à différentes étapes clés du développement du parasite.

#### *Niveau de stimulation de la germination des orobanches*

L'évaluation du taux de germination des graines d'orobanche au voisinage des racines dans l'essai en culture hydroponique (mini-rhizotron) avec des graines conditionnées révèle que le maximum de germination est atteint autour du 12<sup>e</sup> jour après inoculation quel que soit le génotype, mais avec des taux variables entre 15 et 83% (33j après inoculation) selon les variétés (figure 1). Le nombre de fixations d'orobanche avec formation de tubercules observé à 75j est également très variable. Il peut être expliqué en partie, mais pas totalement, par le niveau d'induction de germination des graines d'orobanche après inoculation. Par exemple, alors qu'Expert et Grizzly stimulent autant la germination des graines d'orobanche, ils montrent des taux d'infestation significativement différents.

Ces différences de taux d'induction de germination pourrait être dues à des différences de production des exsudats racinaires (en quantité et composition), comme cela a déjà été observé chez d'autres espèces (Labrousse *et al.*, 2001 ; Rubiales *et al.*, 2003 ; Sillero *et al.*, 2005).



**Figure 1.** Taux de germination des graines de *P. ramosa* (33 jours après inoculation) et nombre d'orobanches fixées sur les racines (75 jours après inoculation). D'après Gauthier (2012).

Les résultats représentent la moyenne ( $n=20$ ) et les barres d'erreurs représentent l'intervalle de confiance à 95 %.

#### Barrières à la fixation des orobanches

Une deuxième expérimentation en culture hydroponique a été réalisée avec des graines d'orobanche pré-germées (taux de germination de 85%) sur les quatre génotypes. Dans cet essai, le nombre de tubercules fixés sur les racines 75j après inoculation est significativement plus faibles sur Darmor et Campo (avec des moyennes respectives de  $5,6 \pm 2,2$  et  $6,1 \pm 2,5$  tubercules/g MS racinaire) que sur Shakira et Grizzly (avec des moyennes respectives  $12,0 \pm 3,2$  et  $9,8 \pm 1,3$  tubercules/g MS racinaire). Ces résultats suggèrent l'existence de variabilité entre génotypes sur des mécanismes de résistance à la fixation des orobanches.

Cette barrière à la fixation pourrait être due, comme cela a déjà été observé chez le pois chiche, le pois ou le tournesol (Labrousse *et al.*, 2001 ; Rubiales *et al.*, 2003 ; Pérez de Luque *et al.*, 2005a,b ;), à des renforcements pariétaux des tissus de la racine hôte.

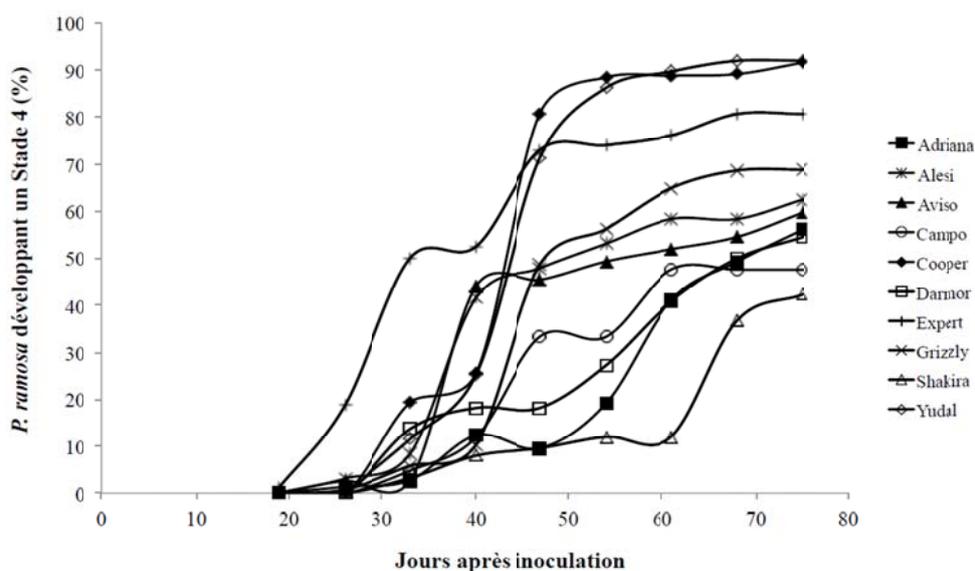
#### Ralentissement du développement du parasite

L'analyse des cinétiques de développement des orobanches est réalisée sur 10 variétés à partir des tests en co-culture hydroponique (avec graines conditionnées) et sur 5 variétés en serre. La comparaison directe des différentes variétés est complexe car (1) des nouvelles fixations sont observées au moins jusqu'à 47j après inoculation, et (2) le nombre final de fixations (75j après inoculation) est très variable entre variétés (entre 3,1 et 52,3 tubercules/plante pour Darmor et Grizzly respectivement). Compte-tenu de ces contraintes dans l'analyse, deux grandeurs synthétiques ont été calculées : d'une part, le nombre de jours au bout duquel le nombre de tubercules observé vaut la moitié du nombre de tubercules maximum observé en fin d'expérimentation ; d'autre part, les dates de transition entre stade de développement, correspondant à la date à laquelle le nombre d'orobanches au stade  $n+1$  est supérieur au nombre d'orobanches au stade  $n$ . Ces variables n'ont cependant pas pu être calculées pour Darmor et Campo, qui présentaient trop peu de tubercules pour faire ce calcul.

De manière remarquable, la date de demi-infestation est très similaire pour les différents génotypes et se situe aux alentours de 16j après inoculation. Ainsi, quel que soit le nombre de tubercules finaux, la cinétique globale de production des tubercules est comparable entre génotype. En revanche, la vitesse de développement des tubercules, représentée par les dates de transition entre stades, est variable selon les variétés. Si la transition entre les stades « tubercule formé » et « tubercule présentant des racines adventices » se fait à une date comparable pour tous les génotypes (autour

de 26j après inoculation), la transition du stade « tubercule avec des racines adventices » au stade « tubercule avec un bourgeon en croissance » se produit à une date variant entre 33j après inoculation sur la variété Expert à 75j après inoculation sur la variété Shakira. Ainsi, il semble exister un mécanisme assez tardif de ralentissement ou de blocage du développement du tubercule et de la variabilité entre variété sur ce caractère (Figure 2). Cette vitesse de développement des orobanches ne semble pas être corrélée au nombre de tubercules. Il a par ailleurs été observé qu'à la fin de l'expérimentation, aucune orobanche n'a atteint le stade « hampe florale » sur les variétés Grizzly, Shakira, Adriana et Campo, alors que de 1,8 à 27% des tubercules ont atteint ce stade sur les 6 autres variétés.

Ce type de mécanisme de résistance a déjà été observé chez des légumineuses, sur lesquelles le développement de *O. crenata* peut être retardé (Sillero *et al.*, 2005 ; Fernandez-Aparicio *et al.*, 2009). Dans le cas présent, le ralentissement du développement des orobanches sur Shakira pourrait être dû à une dérégulation hormonale et une altération de la force puits du parasite (Péron, 2010).



**Figure 2.** Cinétique de développement des tubercules de *P. ramosa* en stade 4 (présence d'un bourgeon en développement sur les tubercules) pour les 10 variétés analysées en culture hydroponique. D'après Gauthier (2012).

### Bilan des mécanismes de résistance observés

Différents mécanismes d'évitement du parasite ou de résistance ont été mis en évidence par l'étude d'un panel très réduit de 10 variétés de colza en culture hydroponique (tableau 1). Le comportement des variétés en serre est le reflet du cumul de ces mécanismes sous-jacents.

**Tableau 1.** Mécanismes de résistance observés dans chaque variété et évaluation en serre

Variété	réduction de la stimulation de la germination	Barrière à la fixation	Frein au développement des tubercules	Comportement en serre Nb fixations/date d'apparition des émergences
Darmor	Forte	Forte	-	1,9/90
Campo	Forte	Forte	-	4,8/93
Aviso	Moyen	-	Moyen	-
Alesi	Moyen	-	Moyen	-
Yudal	Moyen	-	Faible	6,2/89
Shakira	Moyen	Faible	Fort	5,1/102
Adriana	Faible	-	Fort	-
Grizzly	Faible	Faible	Moyen	5,9/96
Expert	Faible	-	Moyen	-
Cooper	Faible	-	Faible	-

- : absence de notation

## Conclusion

Les travaux réalisés n'ont pas permis de mettre en évidence des mécanismes de résistance majeurs, confortant les observations faites au champ. Toutefois, par la diversité des approches, différents comportements ont été mis en évidence, révélant l'existence d'une panoplie de mécanismes de résistance, distribués entre les différentes variétés de colza. Un screening d'un panel plus large avec ces approches pourrait permettre de trouver des sources de résistances avec les meilleurs niveaux pour chaque mécanisme afin de les combiner. Ce travail indique qu'il est possible de créer des variétés de colza plus résistantes à *P. ramosa* que les variétés actuelles, même s'il n'est pas possible à ce jour, de déterminer *a priori* si le niveau de résistance de ces nouvelles variétés sera suffisant ou non pour maintenir le niveau de rentabilité des cultures de colza dans les zones infestées. Par ailleurs, le faible effet de chaque mécanisme de résistance et la diversité des stades auxquels ils interviennent limitent les possibilités de caractérisation du matériel au champ, dans les programmes de sélection. Ces programmes de sélection ne peuvent donc s'envisager qu'avec un phénotypage fin en conditions contrôlées, ou à terme, si des analyses génétiques sont réalisées, par des outils moléculaires.

## Remerciements

Les travaux présentés sont l'un des volets d'un travail de thèse intitulé « Etude et caractérisation des mécanismes de résistance de *Brassica napus* (colza, *Brassicaceae*) vis-à-vis de la plante parasite *Phelipanche ramosa* (L.) Pomel (*Orobanchaceae*) », réalisée au LBPV (Université de Nantes) et soutenue par M. Gauthier en 2012. Ce travail était financé par le MSER, Promosol, le CETIOM et l'ONIDOL.

## Références bibliographiques

- Coïc Y., Lesaint C., 1975. La nutrition minérale et en eau des plantes en horticulture avancée. La documentation technique de la SCPA, 23, 1-22.
- Fernandez-Aparicio M., Sillero J., Rubiales D., 2009. Resistance to broomrape species (*Orobanche* spp.) in common vetch (*Vicia sativa* L.). *Crop prot.*, 28, 7-12.
- Gauthier M., 2012. Etude et caractérisation des mécanismes de résistance de *Brassica napus* (colza, *Brassicaceae*) vis-à-vis de la plante parasite *Phelipanche ramosa* (L.) Pomel (*Orobanchaceae*). Thèse de doctorat, Université de Nantes, Nantes.
- Gauthier M., Véronesi C., El-Halmouch Y., Leflon M., Jestin C., Labalette F., Simier P., Delourme R., Delavault P., 2012. Characterisation of resistance to branched broomrape, *Phelipanche ramosa*, in winter oilseed rape. *Crop protection*, 42, 56–63.
- Labrousse P., Arnaud M.C., Serieys H., Berville A., Thalouarn P., 2001. Several mechanisms are involved in resistance of *Helianthus* to *Orobanche cumana* Wallr. *Ann. Bot.*, 88, 859-868.
- Nowak B., Palleau J.P., Levengeux T., Labeille D., Jestin C., 2013. Du champ à la serre : évaluation du comportement des variétés de colza vis-à-vis de l'orobanche rameuse. Colloque orobanche, CETIOM, Poitiers, France.
- Pérez-de-Luque A., Jorin J., Cubero J.I., Rubiales D., 2005a. Resistance and avoidance against *Orobanche crenata* in pea (*Pisum* spp.) operate at different developmental stages of the parasite. *Weed Res.*, 45, 379-387.
- Pérez-de-Luque A., Rubiales D., Cubero J.I., Press M.C., Sholes J., Yoneyama K., Takeuchi Y., Plakhine D., Joel D.M., 2005b. Interaction between *Orobanche crenata* and its host legumes: unsuccessful haustorial penetration and necrosis of the developing parasite. *Ann. Bot.*, 95, 935-942.
- Pérez-de-Luque A., Fondevilla S., Pérez-Vich b., Aly R., Thoiron S., Simier P., Castillejo M.A., Fernandez-Martinez J.M., Jorin J., Rubiales D., Delavault P., 2009. Understanding *Orobanche* and *Phelipanche*-host plant interactions and developing resistance. *Weed research*, 49, 8-22.
- Péron T., 2010. Caractérisation moléculaire et régulation de la force de puits de la plante parasite *Phelipanche ramosa* (L.) Pomel vis-à-vis du saccharose prélevé chez son hôte. Thèse de doctorat, Université de Nantes, Nantes.
- Rubiales D., Alcántara C., Pérez-de-Luque A., Sillero J.C., 2003. Characterization of resistance in chickpea to crenate broomrape (*Orobanche crenata*). *Weed Sci.*, 51, 702-707.
- Rubiales D., Fernandez-Aparicio M., 2012. Innovations in parasitic weeds management in legume crops. A review. *Agron. Sustain. Dev.*, 32, 433-449.
- Sillero J.C., Moreno M.T., Rubiales D., 2005. Sources of resistance to crenate broomrape among species of *Vicia*. *Plant Dis.*, 89, 23-27.

# DU CHAMP A LA SERRE : EVALUATION DU COMPORTEMENT DES VARIETES DE COLZA VIS-A-VIS DE L'OROBANCHE RAMEUSE

B. Nowak.<sup>1</sup>, J-P. Palleau<sup>2</sup>, T. Levengeux<sup>2</sup>, D. Labeille<sup>2</sup>, C. Jestin<sup>3</sup>

<sup>1</sup>INRA, UMR 1220 TCEM, CS 20032, 33882 Villenave D'Ornon, France

<sup>2</sup>CETIOM, Domaine du Magneraud, 17700 St Pierre d'Amilly

<sup>3</sup>CETIOM, Avenue Lucien Brétignières, 78850, France

## Résumé

L'orobanche rameuse (*Phelipanche ramosa*), plante parasite au spectre d'hôte relativement large, sévit en France depuis de nombreuses années, en particulier sur les cultures de colza (*Brassica napus*), occasionnant des pertes économiques importantes. Les moyens de lutte existant peinent à contrôler ce parasite au pouvoir invasif très important. Parmi les moyens de lutte, l'utilisation de variétés résistantes est une solution. Aucune variété de colza ne présente une résistance totale à l'orobanche, mais il existe des différences de comportement. Le CETIOM met en place depuis une dizaine d'années une évaluation au champ. Les divers facteurs non contrôlés au champ, ont conduit à la mise en place d'un test en serre pour tenter de le substituer à celui du champ. Chacune des méthodes a montré un intérêt potentiel, mais également ses limites, dans l'évaluation variétale. Ces deux stratégies sont apparues complémentaires.

**Mots-clés :** *Phelipanche ramosa*, évaluation variétale, serre, champ, colza

## Introduction

L'orobanche rameuse (*Phelipanche ramosa* L. Pomel) est une plante parasitant de nombreuses espèces végétales sauvages ou cultivées dont le colza (Parker et Wilson, 1986 ; Parker et Riches, 1993 ; Gibot-Leclerc *et al.*, 2003).

Le cycle de vie des parasites est intimement lié à celui de leur hôte. La germination des graines de *P. ramosa* est induite par des molécules spécifiques présentes dans les exsudats émis par les racines de la plante hôte, tels que les isothiocyanates mis en évidence chez le colza (*Brassica napus* L.) (Auger *et al.*, 2012). En se fixant aux racines de son hôte, et après établissement d'une connexion au système vasculaire de la plante, l'orobanche rameuse est capable de détourner l'eau et les nutriments afin de combler son incapacité à réaliser la photosynthèse pour croître et se multiplier (Joel *et al.*, 2007). La conséquence de ce parasitisme pour la culture hôte est une perte de rendement importante, voire totale dans les zones les plus infestées pour des espèces relativement sensibles. Les stratégies pour lutter contre cette espèce sont multiples mais restent inefficaces pour une éradication totale. Ces moyens reposent sur la prophylaxie, des pratiques culturales associées avec des moyens chimiques et/ou génétiques (*e.g.* Rubiales *et al.*, 2009 ; Pineault *et al.*, 2010 ; Nowak et Leflon, 2010 ; Jestin, 2013).

En France, le colza, culture oléagineuse d'importance économique, est devenu l'hôte principal de *P. ramosa*, et ce depuis plus de 10 ans, au côté du chanvre, du tabac et du melon (Gibot-Leclerc *et al.*, 2003 ; Brault *et al.*, 2007 ; Nowak et Leflon, 2010). L'orobanche sur colza est surtout présente en région Poitou-Charentes et en Vendée, où elle est devenue un problème phytosanitaire majeur pour la culture de colza, et plus récemment dans le Nord-Est (Nowak et Leflon, 2010) L'extension de *P. ramosa* est probablement associée à l'augmentation de la sole de colza, en lien avec l'absence de méthodes de lutte efficaces et l'extraordinaire capacité de multiplication du parasite (production grainière importante, spectre d'hôte large). D'autres pays européens ont souligné cette nuisance sur la culture de colza, tels que la Grèce ou la Bulgarie (Shindrova et Kostov, 2009 ; Tsialtas et Eleftherohorinos, 2011). L'utilisation de variétés résistantes pour lutter contre l'orobanche rameuse est une voie séduisante, car davantage économique, plus facile à mettre œuvre et plus respectueuse de l'environnement que d'autres méthodes explorées. C'est pourquoi le Centre Technique Interprofessionnel des Oléagineux et du Chanvre (CETIOM) participe depuis plus de 10 ans à

l'évaluation du comportement des variétés de colza vis-à-vis de *P. ramosa* dans des zones fortement infestées, pour guider l'agriculteur dans son choix variétal. Les objectifs sont multiples : limiter l'extension de l'orobanche, minimiser les pertes de rendements dues à ce parasite et conserver la rentabilité de la culture de colza. En dépit de l'absence de variétés présentant une résistance totale à *P. ramosa*, il existe des différences de comportement entre variétés (Palleau, 2010). Les composantes de cette résistance partielle ont été décortiquées par Gauthier *et al.* (2012). L'auteur a mis en évidence différents mécanismes de défense au sein d'un panel d'une dizaine de géotypes de colza, à trois stades de développement du parasite : lors de l'induction de la germination des graines de *P. ramosa*, lors de la phase de fixation du parasite sur les racines de l'hôte, et après fixation du parasite avec un ralentissement de la croissance de *P. ramosa*. Ces résultats suggèrent l'intérêt d'exploiter ces différents mécanismes en sélection pour la construction de géotypes à résistance efficace et durable. Si l'évaluation au champ permet d'avoir une vision globale du niveau de résistance et de tolérance de la variété à l'orobanche, les essais menés par le CETIOM mettent en exergue des différences de comportement pour une même variété entre années et lieux (Palleau, 2010) (Tableau 1). Ces différences sont probablement dues à un ensemble de facteurs non contrôlés (hétérogénéité intra- et inter-parcellaire des graines d'orobanches, stress abiotiques, conditions climatiques favorisant l'une ou l'autre des variétés...)

**Tableau 1** : Comportement de plusieurs variétés de colza évaluées au champ en France de 2007 à 2009 (d'après Palleau, 2010).

'++' : très bon comportement ; '+' : bon comportement ; '-' : comportement moyen ; '- -' : comportement sensible à *P. ramosa* ; case blanche : non connu. ES Alienor : témoin sensible

Variété	2007	2008	2009
Aviso	++	-	-
Campala	++	+	+
Campo	++	+	+
DK Cabernet		-	+
ES Aliénor		- -	- -
ES Hydromel	++	-	- -
Grizzly	++	+	+
Shakira	++	+	-
Talent	+	-	-

Pour pallier à ces différents problèmes, la présente étude a pour objectif d'analyser la possibilité de substituer l'évaluation au champ par une évaluation en serre, ce qui permettrait de maîtriser les conditions de culture (substrat, pression parasitaire, température...). Un même set de variétés a été évalué face à *P. ramosa* au champ et en serre. Les résultats obtenus sont discutés pour déterminer les limites et l'intérêt de chacune des méthodes d'évaluation.

### Méthodologies

Chaque année, le CETIOM réalise une expérimentation au champ pour évaluer les variétés testées dans les réseaux post inscription, vis-à-vis de l'orobanche, et confirmer le bon comportement observé l'année précédente de certaines variétés. Parmi ce set de variétés mis en place annuellement, neuf variétés de colza ont été évaluées en 2009-2010 à la fois au champ et en serre : 'Alesi', 'Es Alienor' (témoin de sensibilité), 'Angelina', 'Aviso', 'Campo', 'ES Hydromel', 'Grizzly', 'NK Petrol', 'Talent'. Ce panel a été choisi de manière à représenter différents comportements observés au champ.

### Evaluation au champ

L'expérimentation est réalisée sur deux parcelles naturellement contaminées et connues pour présenter des taux d'infestations relativement importants et homogènes : Luxé, lieu-dit La Folatière en Charente (16) ; Saint-Maxire dans les Deux-Sèvres (79). Chaque variété est semée sur deux rangs adjacents à une densité de 30 plantes par m<sup>2</sup>, et sur une longueur de 50 mètres. Le semis est réalisé de manière perpendiculaire au travail du sol, pour limiter une hétérogénéité potentielle causée par la répartition des graines de *P. ramosa*. La variété ES Aliénor est utilisée comme variété témoin, et répétée toutes les 3 variétés. Différentes notations sont réalisées sur ce panel de neuf variétés à différentes périodes de l'année (Tableau 2) : peuplement et vigueur du colza ; nombre d'orobanches fixées et émergées. Le dénombrement des orobanches fixées en entrée hiver est obtenu en prélevant 2\*15 plantes consécutives par variété, après avoir déterré les plants de colza et lavé le système racinaire. Le dénombrement des orobanches émergées est réalisé sur un mètre par rang.

**Tableau 2 :** Observations réalisées au champ sur les variétés de colza expérimentées dans une parcelle contaminée par *P. ramosa*.

	Notations colza			Comptages phélipanches	
	Peuplement	Vigueur	Comportement	Fixées	Emergées
Pause végétative	X	X		X	
Reprise de végétation	X	X		Témoins	
Floraison		X			X
Avant récolte		X	X		
Après récolte					X

Les variétés sont également classées selon leur comportement en quatre catégories. Cette note est basée sur une visualisation subjective de l'état du colza (vigueur de la plante, aspect et densité des siliques...). Ce classement constitue une base pour guider l'agriculteur dans son choix variétal lui permettant de contrôler au mieux l'orobanche.

### Evaluation en serre

Les graines de *P. ramosa* utilisées dans cette étude correspondent à un pathovar ou type génétique adapté au colza (Benharrat *et al.*, 2005). Elles sont issues de prélèvements réalisés dans l'ouest de la France. Les variétés, au nombre de neuf, dont ES Aliénor comme témoin sensible et témoin non contaminé, sont randomisées en bloc complet, avec huit répétitions par variété. Les variétés sont semées en pot, dans un substrat composé de 2/3 sable et 1/3 vermiculite. Le choix de ce substrat, basé sur différents tests, est un compromis entre niveau d'infestation et facilité à réaliser des notations sur le système racinaire (Nowak, 2009). Pour chaque modalité et répétition, un pot en tourbe de 400 mL est rempli du substrat auquel est ajouté 5mg de graines d'orobanche rameuse. Ces pots sont eux-mêmes disposés dans un pot en tourbe de 3L rempli du même substrat que précédemment. La densité moyenne des graines a été estimée à un équivalent sur le terrain de 500 000 graines par m<sup>2</sup>. Les graines ont subi une phase de pré-conditionnement de 10 jours, au cours de laquelle les pots sont disposés à l'obscurité à une température d'environ 20°C et le substrat est maintenu humide. Trois graines de colza par variété sont semées dans chaque pot, mais une seule plante est conservée au-delà du stade deux feuilles. La culture est conduite avec un apport de fertilisant N/P/K (5/11/26), et arrosée deux à trois fois par semaine. La culture est réalisée avec une photopériode de 10h par jour et une température comprise entre 15-25°C, pendant au moins 3 mois, jusqu'à ce que toutes les variétés présentent au moins une orobanche émergée.

Les dates d'émergence des orobanches sont enregistrées en cours d'expérimentation. A la fin de l'expérimentation, les plantes sont déterrées et les nombres d'orobanche à chaque stade de développement sont notés, selon la classification décrite par Labrousse *et al.* (2001) : tubercule, bourgeon ou tige souterraine, émergence, floraison.

## Résultats

### Evaluation au champ : des différences entre lieux et variétés

Dans un premier temps, les variétés sont comparées entre elles sur la base du nombre de fixations d'orobanches à l'entrée hiver (Tableau 3) pour les deux sites. Les infestations sont très variables d'un site à un autre. Le classement des variétés met en évidence une discrimination plus importante à Saint Maxire qu'à Luxé, lié probablement à une différence dans le taux d'infestation entre les deux sites. Ce classement varie également entre les deux sites soulignant une interaction variété \* lieu. A titre d'illustration, la variété 'Campo' présentait 5,45 fixations et se détachait significativement des autres variétés à Luxé comme variété sensible, tandis qu'elle présentait seulement moins d'une fixation en moyenne à Saint Maxire et apparaissait comme l'une des variétés les plus résistantes.

En mars, 90% des plantes du témoin sensible présentaient au moins une fixation, ayant atteint pour la grande majorité le stade « tige souterraine ». A cette période, le témoin était déjà fortement pénalisé par l'orobanche rameuse et montrait une vigueur et un peuplement déjà très faible. A cette période, la vigueur des plantes ne reflètent pas toujours le nombre de fixations observées sur les variétés : Talent, avec peu de fixations, montrait une vigueur relativement faible par rapport à d'autres variétés qui présentaient de nombreuses fixations et une bonne vigueur.

Les premières émergences sont apparues en mai, à la floraison du colza, uniquement sur le témoin sensible. Aucun comptage concernant l'émergence n'a donc été réalisée sur les variétés avant (absence d'émergence) et après récolte (difficulté à dénombrer les émergences). Une note d'appréciation globale a été portée pour chacune des variétés à la récolte (Tableau 3). Les variétés ont montré un comportement bon à sensible, et globalement similaire à l'année précédente, exceptée pour ES Hydromel dont le comportement était inférieur.

**Tableau 3** : Notations orobanches et vigueur sur les sites de Luxé et Saint Maxire en 2009 sur un panel de 9 variétés de colza.

Comportement final des variétés (Récolte)	Luxé		Saint Maxire	
	Fixations novembre	Vigueur mars	Fixations novembre	Vigueur mars
Alesi (-)	0,7 BC	1	5,3 AB	2
ES Alienor (--)	2 B	3	0,4 D	3
Angelina (+)	0,4 C	1	4,7 ABC	1
Aviso (-)	1,2 BC	1	7,8 A	2
Campo (+)	5,5 A	1	0,9 D	1
Es Hydromel (--)	0,6 C	1	2,5 BCD	1
Grizzly (+)	0,2 C	1	1,5 CD	1
NK Petrol (-)	0,8 BC	1	2,3 BCD	1
Talent (-)	0,4 C	2	1 D	2

Des lettres différentes indiquent que les résultats sont significativement différents au seuil de 5% selon le test de Student-Newman-Keuls. Les notes de vigueur vont de 1 pour une variété à bon comportement à 3 pour une variété présentant un affaiblissement. Le comportement des variétés est indiqué par une note allant de '++' à '--'.

### Evaluation en serre

La date des premières émergences en serre, représentée par la somme des températures (Tableau 5) est très variable et difficile à interpréter. En fin d'expérimentation, toutes les variétés testées présentent des fixations sur leur système racinaire, excepté le témoin non contaminé. La variété 'Campo' possède le plus de fixations, suivie du témoin sensible 'ES Aliénor'. A l'opposé, Grizzly présente 4 fois moins de fixations que la variété témoin sensible. Les différences entre variétés sont peu significatives, sans doute du fait de la grande hétérogénéité du nombre de fixations observées entre les répétitions d'une même modalité. Au niveau des émergences, seule la variété 'ES Aliénor'

se détache avec un nombre d'émergences plus important que les autres variétés (significatif au seuil de 5%). C'était aussi la variété sur laquelle les émergences sont apparues en premier (Tableau 4).

**Tableau 4 :** Dénombrement des orobanches sur un panel de variétés de colza évalué en serre, et au champ (moyenne des 2 lieux St-Maxire et Luxé) et somme des températures à la première émergence des orobanches en serre.

Variété	Nombre moyen de phélipanches fixées		Nombre moyen de phélipanches émergées (serre)	Σ T° à la première émergence (serre)
	Serre	Champ		
Grizzly	1,63 C	0,825 C	0,25 B	2159
Angelina	3,38 BC	2,53 ABC	0,38 B	2521
Alés	4,63 BC	3 ABC	0,13 B	2408
Aviso	4,75 BC	4,5 A	0,75 B	2408
NK Petrol	5,63 ABC	1,55 ABC	0,5 B	2620
ES Hydromel	5,88 ABC	1,50 BC	0,75 B	2408
Talent	6,5 AB	0,675 C	0,88 B	2226
ES Aliénor	6,63 AB	1,2 BC	2,5 A	1914
Campo	9,25 A	3,15 AB	0,25 B	2620

Des lettres différentes indiquent que les résultats sont significativement différents au seuil de 5% selon le test de Student-Newman-Keuls.

#### Comparaison des évaluations en serre et au champ

Les comportements des variétés au champ et en serre ne sont pas toujours bien corrélés : certaines variétés présentant un grand nombre de fixations au champ montrent parfois peu de fixations en conditions contrôlées, et *vice versa*. Déjà entre les deux essais au champ, les variétés se classent différemment pour le nombre d'émergence. De même le nombre de fixations en serre et au champ n'est pas toujours représentative de l'appréciation globale portée à la variété. Toutefois, dans ces essais, les nombres de fixations d'orobanche observés sur le site de Luxé apparaissent très corrélés à ceux observés en serre. En complément, cinq de ces variétés ont également été analysées sous serre par l'université de Nantes et les nombres d'émergences et de fixations ainsi que le rapport entre ces deux données ont été analysés (Gauthier, 2012). Les résultats de cet essai sont très cohérents avec ceux obtenus au CETIOM. De plus, le rapport Emergence/fixation apparait corrélé négativement avec la somme de température de la première émergence.

#### Discussion

L'évaluation en serre et au champ d'un panel de 9 variétés de colza, a permis de mettre en évidence une variabilité génétique du colza vis-à-vis de l'orobanche rameuse. Toutefois, le classement des variétés varie selon le caractère de notation pris en compte, mais également entre la serre et le champ. Chacune des méthodes a montré un intérêt potentiel, mais également ses limites, dans l'évaluation variétale. Cependant, ces deux stratégies apparaissent complémentaires.

Une variabilité génétique existe au sein des géotypes de colza pour la résistance à *P. ramosa*, et s'exprime à travers différents mécanismes de défense. En se basant sur différents critères tels que le nombre de fixations et le nombre d'émergences, les variétés présentent des réponses variables vis-à-vis de l'orobanche suggérant que toutes les variétés n'ont pas les mêmes mécanismes de défense. Ainsi, la variété Grizzly présente moins de fixations que les autres variétés. A l'inverse, Campo « favorise » les fixations d'orobanche tout comme le témoin sensible ES Aliénor mais l'émergence est réduite. L'interprétation de ces variables doit être réalisée avec prudence car derrière celles-ci se cachent plusieurs mécanismes de défense. Gauthier *et al.* (2012) a mis en évidence que certaines variétés de colza n'induisent pas de la même manière la germination de *P. ramosa*, et que d'autres mécanismes interviennent à des stades de développement postérieurs, de la fixation à l'émergence du parasite. Une variété de colza peut stimuler fortement la germination des graines et présenter peu de fixations, et *vice versa*. Plusieurs des variétés testées étaient présentes dans l'étude de

Gauthier *et al.* (2012) (Campo, Aviso, Alesi et Grizzly). Si une corrélation positive existe entre les données obtenues en serre entre le CETIOM et l'université de Nantes, des résultats contradictoires ont été observés entre cette étude et celle de Gauthier *et al.* (2012) pour certaines variétés. Par exemple, dans cette étude, la variété Grizzly a montré un nombre de fixations très inférieur à celui de Gauthier *et al.* (2012). Les différences observées sont probablement liées aux conditions d'évaluation. En effet, Gauthier *et al.* (2012) ont utilisé deux procédés d'évaluation : l'un en phytotron, l'autre en serre en utilisant un mélange sable-terreau-terre comme substrat. Il est probable que la différence de substrat explique ces différences, qui intervient dans l'interaction hôte\*orobanche. Dans le cas du phytotron, les exsudats racinaires sont probablement plus mobiles qu'à travers le substrat de cette étude. Les glucosinolates émis par le colza doivent également être dégradés en isothiocyanate pour stimuler les graines d'orobanches (Auger *et al.*, 2012). La différence de substrat explique probablement les différences de comportement pour certaines variétés. Par ailleurs, le développement racinaire n'est pas pris en compte dans cette étude : une variété avec un faible système racinaire stimulera différemment (production de stimulant de germination, probabilité de contact graine – racine) qu'une variété avec un système racinaire très développé. Des mesures de fixation par unité de biomasse racinaire (et non plus simplement par plante) pourraient être envisagées dans de futurs essais.

Enfin, malgré un niveau de contamination équivalent entre les pots, le nombre de fixations est apparu très variable entre répétitions d'une même modalité. Cette variation, que l'on retrouve aussi chez Gauthier *et al.* (2012) peut provenir d'une mauvaise homogénéité de la répartition des graines dans le substrat. En raison de ces fortes variations, la mise en évidence de différences significatives statistiquement reste difficile, alors même que les résultats des différentes études sont cohérents entre eux. Des efforts restent donc à faire afin d'améliorer le dispositif actuel pour mieux rendre compte des différences de comportement entre variétés.

Les nombres de fixation et d'émergence de l'orobanche sur les variétés ne sont pas les seuls paramètres à prendre en compte pour évaluer la variabilité génétique du colza en réponse aux orobanches. L'évaluation des variétés au champ a l'intérêt de pouvoir déterminer le potentiel final de la variété en présence du parasite, quel que soit le nombre d'orobanche fixées ou émergées, et cette information est capitale pour l'agriculteur car elle est déterminante de la rentabilité de la culture. Ces mécanismes, associés à la tolérance variétale, ne peuvent pas être mis en évidence lors d'une évaluation en conditions contrôlées. Un génotype peut présenter de nombreuses fixations et émergences sans pour autant que son rendement soit affecté. Le critère de notation globale permet de prendre en compte tous les mécanismes de défense de la plante mais est aussi fortement influencé par divers stress biotiques et abiotiques. En effet, un stress azoté peut impacter aussi bien directement qu'indirectement le développement de l'orobanche et donc le niveau d'infestation de la plante hôte (Rubiales *et al.*, 2009). Les variétés de colza peuvent avoir des réponses différentes aux stress auxquelles elles sont soumises. Un même stress peut conduire à une sur-sensibilité chez certaines variétés, et pour d'autres au contraire induire des mécanismes de défense. Toutefois, les dispositifs actuels ne permettent pas d'évaluer parfaitement les variétés pour leur tolérance vis-à-vis de l'orobanche : par exemple, les différences de vigueur ou de rendement final entre variétés ne sont pas forcément liées à la présence d'orobanche. Il faudrait disposer au champ des modalités contaminées et non contaminées pour faire cette analyse, et sans moyen de protection efficace contre l'orobanche, ce n'est pas envisageable.

L'évolution du comportement des variétés au cours des années pose question, et laisse supposer une évolution des populations d'orobanche ou une forte interaction entre génotypes et conditions pédo-climatiques. La variabilité génétique de l'orobanche rameuse est assez mal connue, et repose sur quelques marqueurs génétiques (Benharrat *et al.*, 2005). Les analyses génétiques et les infestations croisées mettent en évidence trois populations (pathovars) (Benharrat *et al.*, 2005 ; Brault *et al.*, 2007). L'analyse génétique des populations de *P. ramosa* dans l'ouest de la France montre une population homogène mais basée seulement sur quelques marqueurs. Ces marqueurs ne sont pas forcément associés à l'agressivité ou à la spécificité d'hôte de l'orobanche. Il est fort possible qu'en dépit de cette homogénéité présente sur les parcelles de colza dans l'ouest de la France, il existe des différences entre parcelle voire sur une même parcelle que l'on ne peut pas encore mettre en évidence. Face à toute cette variabilité, une solution à court terme serait de réaliser des

expérimentations sur différents lieux qui soient représentatifs de différentes conditions pédoclimatiques de la culture de colza mais contaminés de façon homogène en orobanche.

En conclusion, les essais en conditions contrôlées permettent de mettre en évidence différents mécanismes de résistance dans les génotypes de colza vis-à-vis de l'orobanche. La connaissance de ces mécanismes présente un grand intérêt en sélection pour faciliter la construction de génotypes à résistance efficace et durable. L'évaluation au champ reste fastidieuse pour décortiquer les mécanismes de résistance, mais a l'intérêt d'exprimer la réponse globale de la plante à l'orobanche dans des conditions plus « réalistes ». Les différents facteurs potentiels qui font varier le niveau d'infestation et la réponse de la plante au parasite nécessitent de multiplier les sites d'évaluation et/ou d'aborder une réflexion sur une autre variable de mesure ou méthode pour caractériser le comportement du colza à l'orobanche au champ.

## Références bibliographiques

- Auger B., Pouvreau J.B., Pouponneau K., Yoneyama K., Montiel G., Le Bizec B., Yoneyama K., Delavault P., Delourme R., Simier P., 2012. Germination stimulants of *Phelipanche ramosa* in the rhizosphere of *Brassica napus* are derived from the glucosinolate pathway. *Mol. Plant Microbe. Int.*, 25, 993-1004.
- Benharrat, H., Boulet, C., Theodet, C., Thalouarn, P., 2005. Virulence diversity among branched broomrape (*O. ramosa* L.) populations in France. *Agron. Sustain. Dev.* 25, 123-128.
- Brault, M., Betsou, F., Jeune, B., Tuquet, C., Sallé, G., 2007. Variability of *Orobanche ramosa* populations in France as revealed by cross infestations and molecular markers. *Environ. Exp. Bot.* 67, 271-280.
- Jestin C. 2013. La lutte contre l'orobanche rameuse : panorama des solutions. Colloque orobanche, CETIOM, Poitiers, France.
- Joel D., Hershenthorn J., Eizenberg H., Aly R., Ejeta G., Rich P.J., Ransom J.K., Sauerborn J., Rubiales D., 2007. Biology and management of weedy root parasites. *Hort. Rev.*, 33, 267-349.
- Labrousse P., Arnaud M.C., Serieys H., Berville A., Thalouarn P., 2001. Several mechanisms are involved in resistance of *Helianthus* to *Orobanche cumana* Wallr. *Ann. Bot.*, 88, 859-868.
- Palleau J-P., 2010. Oléomail, lettre d'informations régionales : Comportement des variétés de colza testées face à l'orobanche – Résultats 2009, 2p.
- Parker A., Riches C.R., 1993. Parasitic weeds of the world biology and control. Wallingford, UK, CAB International.
- Parker C., Wilson A., 1986. Parasitic weeds and their control in the near east. *Plant protection Bulletin FAO*, 34, 83-98.
- Pineault D., Boulet C., Benharrat H., 2010. L'orobanche rameuse, les plantes-pièges et le feu. *Phytoma*, 630, 22-25.
- Nowak B., 2009. Evaluation du comportement des variétés de colza vis-à-vis de l'orobanche rameuse. Rapport de stage CETIOM Grignon, Ingénieur 2<sup>ème</sup> année Agronomie générale, AgroParisTech.
- Nowak B., Leflon M., 2010. Lutter contre l'orobanche rameuse. *Perspectives agricoles*, 372, 59-61.
- Rubiales D., Fernandez-Aparicio M., Wegmann K., Joel D., 2009. Revisiting strategies for reducing the seedbank of *Orobanche* and *Phelipanche* spp. *Weed res.*, 49, 23-33.
- Shindrova P., Kostov, A., 2009. Broomrape as a future problem for oilseed rape production in Bulgaria. In: Proc 10<sup>th</sup> world congress on parasitic plants (Kusadasi), p61.
- Tsialtas J.T., Eleftherohorinos I.G., 2011. First report of branched broomrape (*Orobanche ramosa*) on oilseed rape (*Brassica napus*), wild mustard (*Sinapis arvensis*), and wild vetch (*Vicia* spp.) in Northern Greece. *Plant disease*, 95, 1322.

# LA VARIABILITE GENETIQUE DU CHANVRE INDUSTRIEL *Cannabis sativa* FACE A L'OROBANCHE RAMEUSE

S. LEGROS

CETIOM, Technopole de l'Aube en Champagne, Hôtel de Bureaux 2, BP 601, 10901 Troyes Cedex 9

## Résumé :

L'orobanche rameuse est actuellement le seul ravageur du chanvre industriel. De plus, les infestations d'orobanches sur chanvre industriel (*Cannabis sativa*) sont de plus en plus problématiques dans les zones historiques de production. Plusieurs observations ont été réalisées sur les différentes variétés de chanvre disponibles en France. Toutes les variétés actuelles sont très sensibles à l'orobanche rameuse mais uniquement au pathovar T, car à ce jour, le pathovar C ne se fixe pas sur les variétés françaises de chanvre. Les dégâts occasionnés par les infestations d'orobanches sont très variables. Par ailleurs, il semblerait qu'il y ait une longue co-existence des différents stades de développement de l'orobanche sur le chanvre contrairement aux autres cultures. Enfin, les sélectionneurs travaillent actuellement sur la recherche de variétés plus tolérantes à ce parasite.

**Mots-clefs :** *Cannabis sativa*, variété, sensibilité, orobanche rameuse, précocité

## Introduction :

L'orobanche rameuse (*Phelipanche ramosa* L.Pomel) (Joel, 2009) est le seul parasite majeur sur la culture du chanvre industriel, *Cannabis sativa* L. Les pertes de rendement liées aux infestations d'orobanches sur chanvre sont très variables et pas systématiques. En effet, la problématique de l'orobanche sur le chanvre s'observe à une dimension plus large que son seul impact sur la culture puisque les zones concernées par la présence d'orobanche sur le chanvre sont des zones très productrices de colza également. Cette culture pourrait être fortement pénalisée dans le cas où les infestations présentes sur chanvre passeraient de façon massive sur le colza. Dans ce cas, les agriculteurs seraient fortement handicapés car les solutions qui s'offrent à eux sont très limitées tant en termes de cultures de remplacement qu'en méthodes de lutte. De plus, compte-tenu des usages faits des différentes composantes de la plante, la présence de graines d'orobanches dans les produits finis est un frein majeur pour le développement de certains débouchés de la culture. En effet, deux produits issus de la transformation de la paille de chanvre peuvent être concernés par la problématique orobanche. La chènevotte est utilisée pour réaliser du paillage horticole, une infestation de celle-ci pourrait polluer d'autres zones aujourd'hui indemnes. Les poussières issues de la transformation peuvent être utilisées comme amendements organiques dans les parcelles agricoles et présenteraient un vecteur certain de propagation du parasite.

L'orobanche rameuse est très présente dans les zones historiques de production de chanvre et des recherches sont en cours depuis plusieurs années pour essayer de proposer des solutions aux producteurs. Différents aspects agronomiques, chimiques, physiologiques et génétiques ont été testés afin de mieux comprendre le cycle du parasite sur la culture du chanvre mais également de tenter de trouver des méthodes de lutte opérationnelles. La principale difficulté des essais sur l'orobanche en conditions naturelles est de trouver des parcelles avec une haute infestation qui soit homogène. En effet, la présence d'orobanche sur les parcelles est souvent localisée sur des zones précises et non sur toute la parcelle de façon égale. De plus, les conditions climatiques et les dates de semis des cultures vont impacter le degré d'infestation une année donnée rendant d'autant plus difficiles les observations. Les principales connaissances sur la sensibilité des variétés de chanvre cultivées en France seront présentées dans ce document.

## Principaux résultats et discussion :

L'objectif des essais mis en place était de tester le comportement des principales variétés françaises de chanvre vis-à-vis de l'orobanche dans l'est et dans l'ouest de la France, deux zones pour lesquelles les pathovars concernés sont différents : le pathovar C dans l'ouest et le pathovar T dans l'est. Les variétés Uso 31, Férimon, Féline 32, Santhica 27, Santhica 70, Epsilon 68 et Futura 75 ont été testées dans les essais. Les notations ont été réalisées à plusieurs stades du développement de la culture et principalement lors des premières émergences des orobanches soit début juillet et dans les jours proches de la floraison des variétés de chanvre les plus tardives soit mi-août.

Dans les différents essais réalisés dans l'est de la France, toutes les variétés de chanvre ont été parasitées par l'orobanche et celle-ci a pu accomplir la totalité de son cycle. Cela montre que les variétés de chanvre françaises présentent toutes une certaine sensibilité à l'orobanche. Une variabilité génétique a déjà été montrée pour des variétés caucasiennes et italiennes (Artemov et Arsirii, 1935) qui étaient considérées comme résistantes, cela signifie qu'elle existe et pourrait donc être exploitée pour la construction de nouvelles variétés résistantes ou plus tolérantes.

En France, il a été observé que le taux d'infestation progresse entre début juillet et mi-août impliquant un étalement des émergences dans le temps. Les prélèvements tardifs confirment l'étalement des germinations des orobanches dans le temps. Il y a une longue coexistence des différents stades phénologiques des orobanches. A une même date et pour une même variété, sont observés des orobanches à tous les stades : tubercule, bourgeon, tiges souterraines, émergences et hampes florales. Ce genre d'observation n'a pas été fait sur la culture de colza par exemple, donc il semblerait que ce soit une caractéristique spécifique du pathosystème *P. ramosa* / *C. sativa* (Alunni, 2003). Il est probable qu'à l'inverse du couple colza – *P. ramosa*, que la production de stimulants de germination se fasse sur une période plus importante. Sur la variété Fédora 17 qui est la plus utilisée dans les zones concernées par le parasite, les observations laissent penser que les premières fixations ont lieu vers la mi-juin.

Les observations ont également mis en évidence quelques tendances sur l'affinité des orobanches aux variétés selon la période d'observation et leur précocité. Les variétés les plus précoces montrent des infestations plus importantes mais plus tardives que la variété F17 qui est utilisée comme témoin alors que les variétés plus tardives présentent des infestations plus limitées (Figure 1). Cette limitation peut être due à un décalage des fixations lié à une tardiveté plus importante des variétés et les fixations n'ont alors pas fait l'objet d'observations. La variété Epsilon 68 montre un comportement particulier (Figure 1) : elle présente une très forte infestation proportionnellement au témoin dès début juillet mais celle-ci ne se confirme pas à la seconde observation du mois d'août, suggérant que des mécanismes de défense se soient déroulés chez Epsilon et pas chez la variété témoin.

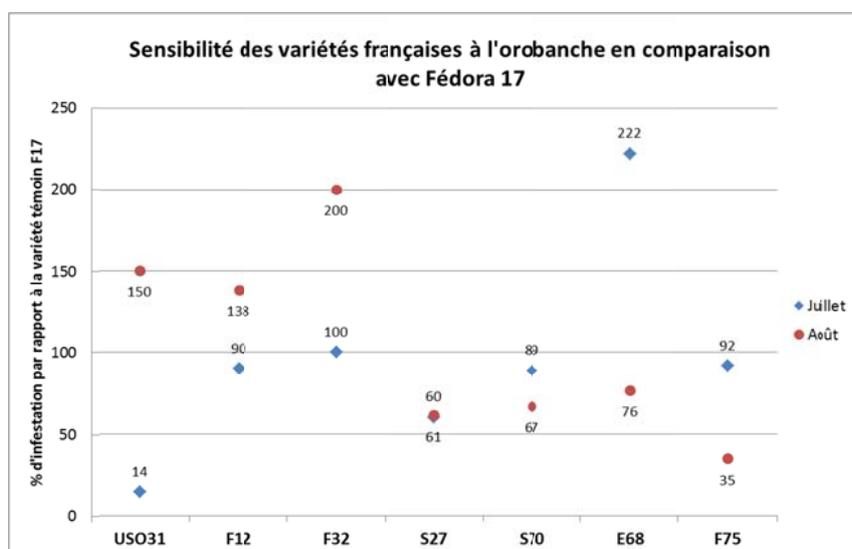


Figure 1 : Sensibilité des variétés de chanvre en pourcentage des témoins Fédora 17 adjacents

Les symptômes de baisse de vigueur sur la culture du chanvre apparaissent principalement à la floraison du parasite. Cela se caractérise par une réduction de croissance, un flétrissement et un jaunissement des plantes. Cependant sur les observations faites sur la variété témoin Fédora 17, aucune relation entre la hauteur des plantes et le degré d'infestation n'a pu être mise en évidence. Cela traduit bien le fait que les infestations d'orobanches n'ont pas toutes le même impact sur le rendement du chanvre pour une même variété et dans les mêmes conditions climatiques.

Cependant, l'ensemble des résultats des essais en plein champ sont à prendre avec précautions car malgré des dispositifs permettant une comparaison avec un témoin proche, la répartition du stock de semences d'orobanche n'est jamais homogène, il faut donc rester prudent quant au diagnostic sur la sensibilité de chacune des variétés. Cette hétérogénéité est confirmée par les différences de taux d'infestation sur la variété témoin pouvant aller de 5 à plus de 35 % des pieds touchés.

Par ailleurs, les observations réalisées dans l'ouest de la France sur une parcelle connue pour être très fortement infestée en orobanche sur colza n'ont pas montré de fixation (Fauvin, 2008). En effet, aucune orobanche du pathovar C n'a été observée sur les différentes variétés de chanvre. Le pathovar C ne s'est donc pas fixé sur le chanvre et il n'y a pas de stimulation différente de ce pathovar suivant les variétés de chanvre.

### **Conclusion :**

Aujourd'hui toutes les variétés de chanvre cultivées en France sont très sensibles au pathovar T de l'orobanche rameuse. Actuellement, le pathovar C ne se fixe pas sur le chanvre industriel mais la culture du chanvre se développe dans les zones de l'ouest de la France concernées par ce pathovar, il faudra donc rester très vigilants dans ce secteur afin de déceler des éventuelles adaptations du parasite à ses hôtes.

Les nouvelles pistes de sélection du chanvre s'orientent aujourd'hui dans la recherche de variétés tolérantes voire résistantes à l'orobanche. Compte-tenu des spécificités de la culture et des moyens disponibles dans la filière chanvre, aujourd'hui, les variétés de chanvre sont des variétés populations et les méthodes de sélection utilisées sont classiques. Il n'y a pas d'aide avec les nouvelles approches moléculaires qui pourraient permettre de gagner du temps dans les recherches de nouvelles variétés. De plus, la difficulté avec les méthodes classiques de phénotypage est toujours d'obtenir en plein champ des infestations homogènes et régulières d'une année sur l'autre pour fiabiliser les résultats obtenus.

### **Références bibliographiques :**

Alunni B., 2003. Quelques aspects agronomiques et écophysio-logiques d'Orobanche ramosa parasite du chanvre. Mémoire de maîtrise de biologie des populations et des écosystèmes. Université Pierre et Marie Curie.

Artemov P.K., Arsirii A.T., 1935. Varieties of hemp in the USSR. Results of variety tests 1928-1933. 119 pp.

Fauvin P., 2008. Compte-rendu d'essai variété chanvre et Orobanche, CETIOM.

Joel D.M., 2009. The new nomenclature of Orobanche and Phelipanche. Weed research, 49, 6-7.

# VARIABILITE GENETIQUE, D'HISTOIRE DE VIE ET D'INFECTION DES POPULATIONS DE L'OROBANCHE RAMEUSE EN FRANCE

Stéphanie Gibot-Leclerc<sup>a,\*</sup>, Fabrice Dessaint<sup>b</sup>, Carole Reibel<sup>a</sup> et Valérie Le Corre<sup>b</sup>

<sup>a</sup> AgroSup Dijon, UMR1347 Agroécologie, F-21000, Dijon, France

<sup>b</sup> INRA, UMR1347 Agroécologie, F-21000, Dijon, France

## Résumé

L'orobanche rameuse est une Angiosperme holoparasite épirhize qui infecte une large gamme de cultures annuelles. Selon la culture hôte, la durée de son cycle peut varier de 14 semaines (sur tomate/tabac) à 40 semaines (sur colza). Nous avons mené une expérimentation d'infections croisées afin d'évaluer l'intensité et la cinétique d'infection de populations d'orobanche. Deux populations du parasite, *P-long* collectée sur le colza et *P-short* collectée sur le tabac, ont été cultivées sur deux cultures (colza et tomate). Après, 4, 8, 12 et 16 semaines de culture, l'intensité d'infection et la distribution des stades de développement de l'orobanche ont été déterminées. Les deux populations d'orobanche ont montré des profils distincts d'intensité et de cinétique d'infection. Le taux de succès d'infection de *P-long* a été plus élevé que celui de *P-short* au cours des premiers stades. Les deux populations du parasite ont montré une agressivité plus élevée sur leurs hôtes naturels que sur leurs hôtes non naturels. Seule la population *P-short* a terminé son cycle de vie sur les deux hôtes, et avec des taux de développement similaires sur les deux hôtes, tandis que la population *P-long* n'a pas pu terminer son cycle de vie au cours des 16 semaines de l'expérimentation. Nous avons ainsi mis en évidence que le changement dans la spécificité d'hôte ayant permis à *P. ramosa* d'infecter le colza depuis le début des années 1990 a conduit à une divergence de pathovars possédant des durées de cycle de vie différentes.

**Mots-clés:** *Phelipanche ramosa*; infections croisées; pathovar; plante parasite; spécificité d'hôte

## 1. Introduction

Parmi les plantes parasites, les plantes holoparasites sont dépourvues d'activité photosynthétique et dépendent entièrement de leurs hôtes pour leur nutrition (Sauerborn, 1991 ; Parker et Riches, 1993 ; Bouwmeester *et al.*, 2003; Rispail *et al.*, 2007). Pour ces espèces, deux traits de vie peuvent avoir une incidence sur leurs performances au niveau des populations : (1) la gamme d'hôtes ou la capacité d'infecter une large gamme de plantes avec plus ou moins d'efficacité et (2) l'histoire de vie ou la capacité de se développer et compléter leur cycle de vie avant la mort de leur hôte (Schneeweiss, 2007). La majorité des orobanches (*Orobanche* et *Phelipanche* spp), holoparasites épirhizes, possède une gamme étroite d'hôtes et se développe sur des plantes hôtes vivaces. Ces espèces se trouvent généralement dans les écosystèmes naturels (Teryokhin, 1997). En revanche, quelques espèces sont devenues des mauvaises herbes spécialisées dans l'infection de cultures annuelles dans les écosystèmes humains perturbés engendrant des pertes de rendement de 5 à 100% (Press et Graves, 1995; Press et Phoenix 2005 ; Joel *et al.*, 2007). Parmi elles, différents profils de spécificité d'hôte ont été rapportés : *Orobanche cumana* infecte préférentiellement le tournesol (Echevarría-Zomeño *et al.*, 2006 ; Molinero-Ruiz *et al.*, 2008) tandis qu'*O. minor* et *Phelipanche ramosa* possèdent un large spectre d'hôtes potentiels (Rumsey et Jury, 1991 ; Gibot-Leclerc *et al.*, 2003, 2012 ; Benharrat *et al.*, 2005 ; Thorogood *et al.*, 2008, 2009).

*Phelipanche ramosa* (L.) Pomel, qui est essentiellement autogame (Parker et Riches, 1993), est principalement observée sur la tomate dans les pays du bassin méditerranéen (Joel *et al.*, 2007). En Europe centrale, *P. ramosa* s'est surtout développée sur le tabac et le chanvre (Buschmann *et al.*, 2005). Le colza semble être un nouvel hôte préférentiel de *P. ramosa* avec une augmentation des parcelles infectées en Bulgarie, France, Italie et Espagne (Benharrat *et al.*, 2005 ; Parker, 2009). En France, une extension massive de *P. ramosa* dans les parcelles de colza a été observée depuis le début des années 1990 (Gibot-Leclerc *et al.*, 2003). Cette culture est même devenue l'hôte principal du parasite avec le tabac, le chanvre et le sarrasin (Benharrat *et al.*, 2005 ; Brault *et al.*, 2007). Selon son hôte, le parasite montre des traits d'histoire de vie très contrastés et des durées variables de cycle de vie. Sur colza, *P. ramosa* a un cycle de

vie de 40 semaines, tandis qu'il dure de 14 à 16 semaines sur tabac, tomate, sarrasin, chanvre et seulement 45 jours sur *Arabidopsis thaliana* (Kogan, 1994 ; Labrada, 1994 ; Neumann et Sallé, 2000 ; Brault et al., 2007 ; Gibot-Leclerc et al., 2012). *Phelipanche ramosa* semble ajuster étroitement la durée de son cycle à celui de son hôte. Bien que des facteurs environnementaux comme la température (Eizenberg et al., 2004) ou la photopériode (Holdsworth et Nutman, 1947) pourraient influencer sur la durée du cycle de vie de *P. ramosa*, il est probable que ce trait soit principalement contrôlé par des interactions hôte-parasite permettant au parasite de maximiser l'absorption des ressources de l'hôte et son succès reproducteur (Press et Graves, 1995). La variation de la durée du cycle de vie sur différents hôtes peut également résulter de la plasticité de réponse d'un parasite généraliste à une large gamme d'hôtes. Alternativement, il peut contribuer à la divergence génétique entre pathovars avec des spécificités d'hôtes distinctes.

Par le passé, des populations distinctes de *P. ramosa* ont été différenciées au moyen de traits morphologiques (Vinogradov et al., 1981, 1984 ; Musselman et Parker, 1982 ; Cubero, 1986). Plus récemment, l'utilisation de techniques moléculaires a permis de caractériser différentes populations *P. ramosa*. Benharrat et al. (2005) ont étudié l'agressivité de certaines populations françaises de *P. ramosa* vis-à-vis de leurs plantes hôtes potentielles. Il a été observé une variation significative de l'agressivité compatible avec l'existence d'au moins deux pathovars identifiés par marqueurs moléculaires : le pathovar A caractérisé par un hôte unique, le colza et le pathovar B caractérisé par une gamme d'hôtes (tabac, chanvre, sarrasin) (Benharrat et al., 2005). Par ailleurs, les infections croisées et l'utilisation de marqueurs RAPD ont révélé la possible existence de trois pathovars distincts au sein de l'espèce *P. ramosa* parasitant respectivement le chanvre, le tabac et le colza en France (Brault et al., 2007). L'intensité de l'infection de ces pathovars varie fortement en fonction de l'hôte et de l'identité génétique du parasite mais montre toujours une agressivité plus élevée sur l'hôte naturel (Brault et al., 2007).

Notre objectif a été de déterminer si les différences de durées de cycle de vie de *P. ramosa* sont principalement déterminées par sa propre identité génétique (pathovar) ou conduites par son hôte (synchronisation du cycle de vie du parasite avec celui de son hôte). Nous avons utilisé deux populations de *P. ramosa* que nous avons caractérisées par leur variation génétique à un gène candidat impliqué dans la durée du cycle de vie. Une expérimentation d'infections croisées a été menée afin de comparer le succès de l'infection des deux populations parasites sur deux espèces hôtes contrastant par leur durée de vie : sur une culture à cycle long (colza) et sur une culture à cycle court (tomate). La répartition temporelle des stades de développement du parasite et l'intensité de l'infection ont été évaluées.

## 2. Matériel et méthodes

Les graines du parasite ont été collectées à partir de populations naturelles de *P. ramosa* ayant fortement infecté des parcelles de colza (culture à cycle long de 40 semaines) et de tabac (culture à cycle court, 16 semaines). Pour ces deux populations, les génotypes sont identiques à ceux de l'étude de Brault et al. (2007). Deux échantillons de graines de *P. ramosa* ont été préparés : "P-long" et "P-short". Les plantes hôtes utilisées pour les infections avec *P-long* et *P-short* ont été choisies pour leur importante sensibilité à *P. ramosa* : le colza (Gibot-Leclerc et al., 2003) et la tomate (Joel et al., 2007), respectivement. La durée du cycle du colza (40 semaines) étant 2,5 fois plus longue que le cycle de la tomate (16 semaines).

Nous avons étudié les variations moléculaires à un homologue du gène FT d'*Arabidopsis thaliana* qui a un rôle central dans le contrôle du développement et de la floraison et qui est très conservé chez les Angiospermes (Ballerini et Kramer, 2011). Nous avons identifié un homologue de FT chez *P. aegyptiaca* (<http://ppgp.huck.psu.edu/>). L'amplification par PCR et le séquençage d'une partie du gène ont été effectués pour nos deux populations de *P. ramosa*, pour des échantillons des pathovars A et B (Benharrat et al., 2005 - semences fournies par Philippe Simier) et pour dix populations de *P. aegyptiaca* (fournies par Georges Sallé). L'alignement de séquences a été réalisé avec le logiciel MEGA5 (Tamura et al., 2011).

Pour les infections croisées associant nos deux populations de *P. ramosa* (*P-long* et *P-short*) avec les deux espèces hôtes (le colza et la tomate), nous avons appliqué la méthode décrite par Brault et al. (2007) avec quelques modifications. Le développement de *P. ramosa* sur les racines de colza et de tomate a été étudié pendant 16 semaines car le pathosystème *P. ramosa*/colza ne se cultive pas plus longtemps en conditions contrôlées en pots (Zehhar et al., 2003, Benharrat et al. 2005, Brault et al., 2007). Pour évaluer la cinétique d'infection de *P. ramosa*, 8 plantes hôtes de chaque traitement ont été déterrées après 4, 8, 12 et 16 semaines. L'intensité de l'infection a été estimée en comptant le nombre de stades de

développement de *P. ramosa* fixées sur les racines de l'hôte selon la nomenclature de Gibot-Leclerc *et al.* (2012).

La répartition des stades de développement a été comparée avec un test du  $\chi^2$ . Les analyses statistiques ont été effectuées avec la version 2.15.1 du logiciel R (R Core Team, 2012).

### 3. Résultats

#### Variation génétique de *P. ramosa* à un gène de floraison

Dans la partie codante de l'homologue FT, nous avons uniquement observé des changements nucléotidiques fixés entre *P. ramosa* et *P. aegyptiaca* et aucun polymorphisme intraspécifique. Les changements observés étaient tous synonymes, soulignant la nature conservée du gène. La région 5 'du gène contenait un motif poly-A qui était variable entre les deux espèces et aussi à l'intérieur de *P. ramosa*. Les lignées séquencées de *P. aegyptiaca* contenaient tous un motif (A) 5. Pour *P. ramosa*, un motif (A)8 a été observé à la fois pour notre échantillon *P-long* et le pathovar A tandis qu'un motif (A)7 a été observé dans notre échantillon *P-short* et le pathovar B. Les résultats du séquençage ont ainsi montré l'existence d'une différenciation génétique entre nos deux populations *P-long* et *P-short* analogues à la différenciation génétique décrite précédemment entre les pathovars A et B (Benharrat *et al.*, 2005).

#### Différences d'intensité d'infection entre les populations de *P. ramosa*

Bien que nos deux populations puissent infecter et se développer avec succès sur le colza et la tomate, nous avons observé d'importantes différences d'intensité d'infection : plus de 1800 individus ont été dénombrés sur les racines hôtes pour l'association *P-long/colza* et une intensité de *P-long* sur la tomate beaucoup plus faible mais tout de même plus élevée que les intensités observées pour *P-short* sur le colza ou sur la tomate (Tableau 1). Dans l'ensemble, les intensités d'infection observées pour *P-long* étaient plus de deux fois supérieures à celles observées pour *P-short*. Quel que soit l'hôte, nos deux populations commencent à infecter les racines hôtes en même temps (Tableau 1). Après 4 semaines, l'infection par *P-long* et *P-short* était faible. Un mois plus tard, l'infection atteint le plus haut niveau, en particulier pour l'association *P-long/colza*. Enfin, à 12 et à 16 semaines, le nombre total d'individus fixés pour les deux populations de *P. ramosa* a diminué plus ou moins rapidement en fonction de l'association orobanche/plante hôte.

**Tableau 1.**

Nombre total d'individus pour les deux populations (*P-long* et *P-short*) infectant le colza et la tomate. Les associations hôte-parasite naturelles sont indiquées en gris. Les valeurs des données représentent le nombre total d'individus parasites (tous stades confondus) récoltés sur les 8 plantes hôtes à 4, 8, 12 et 16 semaines.

		Temps (en semaines)				
Population de <i>P. ramosa</i>	Hôte	4	8	12	16	Total
<i>P-long</i>	Colza	158	1230	258	178	1824
	Tomate	59	451	157	146	813
<i>P-short</i>	Colza	46	191	112	86	435
	Tomate	58	316	244	72	690

#### Intensités d'infection selon la préférence d'hôte

Nous avons observé des différences d'intensité d'infection d'une population parasite en fonction de son hôte. Pour *P-long* et *P-short*, le nombre d'individus était plus élevé pour les infections naturelles (colza et tomate, respectivement) que les non-naturelles (tomate et colza, respectivement) : diminution de 50% de l'infection sur l'hôte étranger (tomate) que sur l'hôte naturel (colza) dans le cas de *P-long* (Tableau 1). Néanmoins, pour *P-long*, la diminution beaucoup plus marquée entre la semaine 8 et la semaine 12 sur colza par rapport à la tomate (Tableau 1) suggère que l'hôte naturel peut résister au parasite. Un schéma

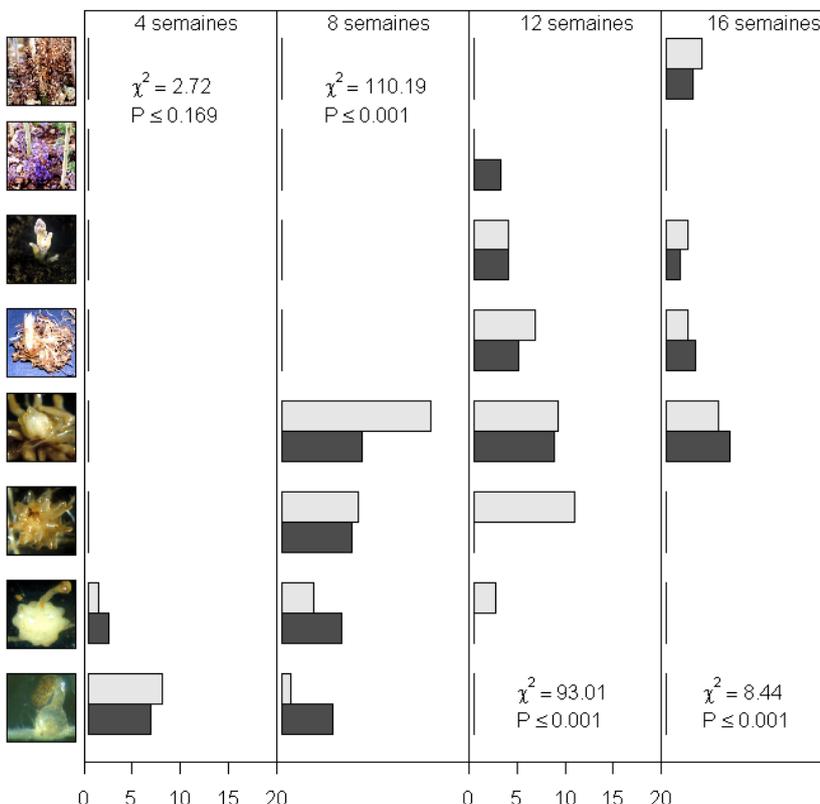
similaire de préférence hôte a été observé pour *P-short* (Tableau 1) ce qui signifie que la tomate peut aussi développer une certaine résistance à la population *P-short*.

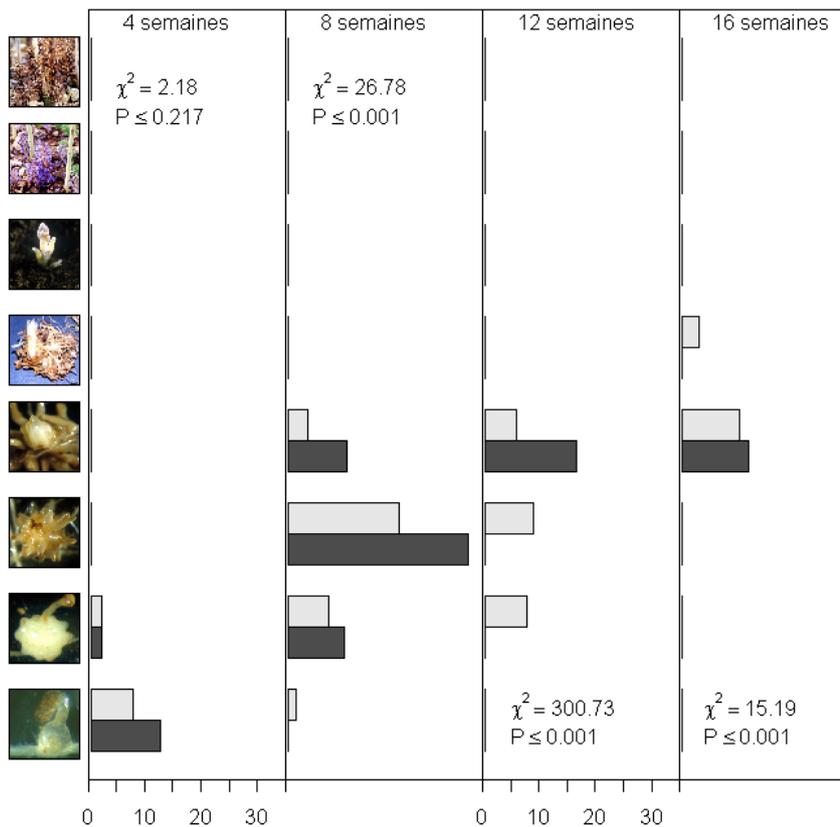
### Variation du cycle de vie de *P. ramosa*

La Figure 1 montre la dynamique d'infection de chaque population sur chaque hôte. Malgré son plus faible succès d'infection pendant toute la durée de l'expérimentation, seul *P-short* peut terminer son cycle de vie et produire les stades reproducteurs sur les deux hôtes (tomate et colza, Figure 1A). Inversement, *P-long* n'a pas pu terminer son cycle de vie au cours de la durée de l'expérimentation (16 semaines), quel que soit l'hôte (Figure 1B). L'analyse des résultats suggère que la population *P-long* possède un taux de mortalité élevée au stade bourgeon sur son hôte naturel (colza) pouvant être causée par un changement dans le phénotype de la plante hôte i.e. des mécanismes de résistance. Pour chaque population *P. ramosa*, nous avons testé si la distribution des stades de développement diffère entre les deux espèces hôtes. Pour *P-short*, les différences significatives entre hôtes varient dans leur direction au cours du temps (développement plus avancé sur la tomate à 8 et 16 semaines, mais plus avancé sur le colza à 12 semaines, Figure 1A) ce qui signifie que dans l'ensemble, le cycle de vie de *P-short* n'a pas montré un comportement spécifique en fonction de l'hôte. *P-long* avait un développement plus avancé sur le colza par rapport à la tomate à 8 et 12 semaines. A 16 semaines, les stades les plus avancés ont été observés sur la tomate parce que le développement n'a pas dépassé le stade 4 sur le colza.

**Figure 1.** Distribution des stades de développement de *P-short* (A) et de *P-long* (B) sur le colza (gris foncé) et la tomate (gris clair).

Valeur ( $\chi^2$ ) et probabilité (P) du test du  $\chi^2$ . Les valeurs sur l'axe des abscisses correspondent aux racines carrées du nombre d'individus observés. Les stades sont, de bas en haut : S1 : fixation, S2 : jeune tubercule, S3 : tubercule âgé, S4 : bourgeon, S5 : tige souterraine, S6 : émergence, S7 : floraison et S8 : fructification. Note: les échelles ne sont pas les mêmes sur les deux figures.





#### 4. Discussion

L'objectif de cette étude était de déterminer si les différences de durée du cycle de vie observées sur le terrain entre les populations de *P. ramosa* infectant différentes cultures sont dues à une synchronisation du cycle du parasite avec celui de l'hôte ou si elles sont principalement déterminées par la spécificité génétique de chaque population. En utilisant les données de séquences d'ADN à un homologue du gène FT chez *A. thaliana*, nous avons confirmé que nos populations *P-long* et *P-short* sont génétiquement différentes. Nos résultats concordent avec ceux de Benharrat *et al.* (2005) ce qui suggère que nos populations *P-long* et *P-short* sont génétiquement identiques aux pathovars A et B, respectivement (Benharrat *et al.*, 2005).

Avec les infections croisées, nous avons montré que la durée du cycle de vie du parasite est déterminée par les populations de *P. ramosa* (*P-long* par rapport à *P-short*) et non par le cycle de vie de l'hôte. Seule *P-short* prélevée sur une culture à cycle court (tabac) a pu compléter son cycle de vie à la fois sur l'hôte naturel (tomate, une Solanaceae à cycle court comme le tabac) et l'hôte étranger (colza, une Brassicaceae à cycle long) au cours des 16 semaines de notre expérimentation. Inversement, *P-long* dont l'hôte naturel a un cycle de vie de 40 semaines, n'a pas pu terminer son cycle dans la durée de notre expérimentation. L'arrêt du développement observé ici au stade de bourgeon a été probablement dû à la quantité limitée des ressources disponibles dans les pots utilisés pour l'expérimentation. Plusieurs auteurs ont rapporté un ajustement fin entre l'hôte et le cycle de développement du parasite : durées de 45 à 150 jours selon les hôtes considérés avec un ajustement correspondant de la croissance et une capacité à régler la floraison en fonction de la quantité des ressources obtenues à partir de l'hôte (Kogan, 1994 ; Labrada, 1994 ; Neumann et Sallé, 2000 ; Brault *et al.*, 2007 ; Gibot-Leclerc *et al.*, 2012). Nos résultats suggèrent que ces changements dans le cycle de vie sont liés à une certaine différenciation génétique entre les populations. Nous n'avons pas observé de substitution de remplacement dans la séquence codante de l'homologue de FT qui pourrait être liée à la différence observée dans la durée du cycle des deux populations étudiées. Le déterminisme de la durée du cycle de vie des plantes parasites a été peu étudié. Des études antérieures

ont suggéré une synchronicité avec l'hôte mais aussi une influence possible de facteurs environnementaux tels que la photopériode (Holdsworth et Nutman, 1947) ou la température (Eizenberg *et al.*, 2004) ont été pris en compte. De toute évidence, d'autres investigations de la variation génétique pour la durée du cycle de vie au sein des espèces orobanche sont nécessaires, avec une meilleure appréciation de la façon dont cela peut affecter son succès reproducteur à travers différentes cultures.

La variation de la durée de cycle de vie est associée à une variation de l'agressivité du parasite. Les deux populations de *P. ramosa* ont montré des profils distincts d'intensité d'infection. *P-long* a montré un succès d'infection plus élevé dans les premiers stades que *P-short*. Toutefois, les deux populations ont montré un taux d'infection plus élevé sur leurs hôtes naturels que sur les hôtes étrangers. Par ailleurs, la diminution du nombre d'individus de *P. ramosa* au cours de notre expérimentation pourrait être due au développement d'un mécanisme de résistance post-pénétration de l'hôte impliquant un processus d'occlusion des vaisseaux avec du mucilage comme cela a été suggéré par Pérez-de-Luque *et al.* (2006) pour *O. crenata* et *Vicia sativa* et par Fernandez-Aparicio *et al.* (2008) pour *O. crenata* et *Lens culinaris*. Des mécanismes de défense ont été également suggérés par Gauthier *et al.* (2012) à différents stades de développement de *P. ramosa*, dont en post-fixation, au sein d'un panel de colza.

Nos résultats sont en accord avec les précédentes recherches menées sur la spécificité de la relation hôte-parasite. Brault *et al.* (2007) ont montré des différences de virulence des populations de *P. ramosa* récoltées sur chanvre, colza et de tabac, et une plus grande affinité entre une espèce hôte et sa population d'orobanche. De même, Benharrat *et al.* (2005) ont démontré que les variétés de colza semblent être plus sensibles aux populations de *P. ramosa* récoltées dans les parcelles de colza et plus résistantes aux populations provenant des parcelles de chanvre, et vice versa pour les variétés de chanvre. Chez *O. minor*, Thorogood *et al.* (2008, 2009) ont démontré l'existence de deux sous-espèces, *O. minor var. minor* et *O. minor ssp. maritima* qui se distinguent par leurs spécificités d'hôtes : *O. minor var. minor* est un généraliste qui peut infecter à la fois le trèfle rouge et la carotte de mer, mais avec un plus haut degré de préférence pour le trèfle rouge, l'hôte fréquemment observé pour ce pathovar. *Orobanche minor ssp. maritima* est incapable d'infecter le trèfle rouge et infecte seulement la carotte de mer. Les auteurs suggèrent que chez *O. minor*, des changements dans la spécificité d'hôte peuvent conduire à une divergence allopatrique et, finalement, la spéciation, en raison des différences d'écologie de l'hôte.

*Phelipanche ramosa* a été décrite comme un généraliste ayant une très large gamme d'hôtes potentiels composée de diverses cultures annuelles et de mauvaises herbes annuelles (Rumsey et Jury, 1991 ; Gibot-Leclerc *et al.*, 2003 ; Benharrat *et al.*, 2005). En accord avec des données antérieures (Benharrat *et al.*, 2005 ; Brault *et al.*, 2007), nos résultats suggèrent que l'acquisition d'un nouvel hôte préférentiel (le colza) est associée à une certaine divergence génétique. En outre, il semble que le transfert d'hôte est accompagné d'une évolution de la durée du cycle de vie du parasite. Nous émettons l'hypothèse que le transfert de préférence d'hôte vers le colza (culture à cycle long) a conduit à la sélection de génotypes de *P. ramosa* à cycle long et donc à l'acquisition d'une nouvelle niche écologique du fait que ces génotypes ne sont plus en mesure de terminer leur cycle de vie sur une culture de cycle court comme la tomate. Selon Thorogood et Hiscock (2007), et Thorogood *et al.* (2008) pour *O. minor*, cela peut conduire avec le temps à une divergence allopatrique entre pathovars susceptible d'être renforcée par la consanguinité car ces espèces sont principalement autogames.

Les stratégies visant à lutter contre les plantes parasites dans les cultures annuelles nécessitent une meilleure compréhension de leur cycle de vie et de leur dynamique démographique. Jusqu'à présent, les modèles élaborés pour décrire les infections par les parasites ne prenaient pas en compte la divergence intraspécifique dans la spécificité d'hôte et les caractéristiques du cycle de vie (Grenz *et al.*, 2005 ; Hautier *et al.*, 2010). Nous avons déjà développé un modèle mécaniste préliminaire (appelé PHERASYS) des effets des systèmes de culture sur la dynamique *P. ramosa* en interaction avec la présence de mauvaises herbes hôtes (Colbach *et al.*, 2011). Si de considérables travaux de recherche sont encore nécessaires pour améliorer nos connaissances sur le cycle biologique du parasite dans différentes cultures et pour différents modes de gestion, nos résultats soulignent l'importance de prendre en compte la variabilité intraspécifique de *P. ramosa* dans le modèle PHERASYS que nous avons développé.

## Conclusion

Comprendre si les différences des durées de cycle de vie au sein de *P. ramosa* sont déterminées par l'hôte ou par l'identité génétique des pathovars, et décrire la variabilité génétique parmi les populations de *P. ramosa* en se basant sur des marqueurs moléculaires est essentiel pour développer de manière plus durable les stratégies de lutte contre ce parasite. Notre étude a démontré que la durée du cycle de vie de *P. ramosa* est déterminée principalement par l'identité de la population du parasite plutôt que par le cycle de vie de l'hôte, et que les différentes populations peuvent appartenir à différentes races de *P. ramosa*. Le défi de la recherche future sera de confronter ces résultats expérimentaux avec des données d'infection sur le terrain.

## Remerciements

Ce projet a été financé par l'INRA, ANR OGM VIGIWEED (ANR-07-POGM-003-01) et par le programme FABER (FABER 2008-9201AAO035S00135) de la région Bourgogne.

## Références bibliographiques

- Ballerini, E.S., Kramer, E.M., 2011. In the light of evolution: a reevaluation of conservation in the *CO-FT* regulon and its role in photoperiodic regulation of flowering time. *Front. Plant Sci.* 2, 81.
- Benharrat, H., Boulet, C., Theodet, C., Thalouarn, P., 2005. Virulence diversity among branched broomrape (*O. ramosa* L.) populations in France. *Agron. Sustain. Dev.* 25, 123-128.
- Bouwmeester, H.J., Matusova, R., Zhongkui, S., Beale, M.H., 2003. Secondary metabolite signalling in host-parasitic plant interactions. *Curr. Opin. Plant. Biol.* 6, 358-364.
- Brault, M., Betsou, F., Jeune, B., Tuquet, C., Sallé, G., 2007. Variability of *Orobanche ramosa* populations in France as revealed by cross infestations and molecular markers. *Environ. Exp. Bot.* 67, 271-280.
- Buschmann, H., Gonsior, G., Sauerborn, J., 2005. Pathogenicity of branched broomrape (*Orobanche ramosa*) populations on tobacco cultivars. *Plant Pathol.* 54, 650-656.
- Colbach, N., Abdennebi-Abdemessed, N., Gibot-Leclerc, S., 2011. A preliminary approach for modelling the effects of cropping systems on the dynamics of broomrape (*Phelipanche ramosa*) in interaction with the non-parasitic weed flora. *Oléagineux, Corps Gras, Lipides* 18, 39-45.
- Cubero, J.I., 1986. Breeding for resistance to *Orobanche* and *Striga*: a review. In: ter Borg, S.J. (Ed.), *Biology and Control of Orobanche*. Proceedings of a Workshop on Biology and Control of *Orobanche*. Wageningen, The Netherlands, pp. 127-139.
- Echevarría-Zomeño, S., Pérez de Luque, A., Jorrín, J., Maldonado A.M., 2006. Pre-haustorial resistance to broomrape (*Orobanche cumana*) in sunflower (*Helianthus annuus*): cytochemical studies. *J. Exp. Bot.* 57, 4189-4200.
- Eizenberg, H., Colquhoun, J.B., Mallory-Smith, C.A., 2004. The relationship between growing degree days and small broomrape (*Orobanche minor*) parasitism in red clover. *Weed Sci.* 52, 735-741.
- Fernandez-Aparicio, M., Sillero, J.C., Pérez-De-Luque, A., Rubiales, D., 2008. Identification of sources of resistance to crenate broomrape (*Orobanche crenata*) in Spanish lentil (*Lens culinaris*) germplasm. *Weed Res.* 48, 85-94.
- Gauthier M., Véronési C., El-Halmouch Y., Leflon M., Jestin C., Labalette F., Simier P., Delourme R., Delavault, P., 2012. Characterisation of resistance to branched broomrape, *Phelipanche ramosa*, in winter oilseed rape. *Crop protection*, 42, 56-63.
- Gibot-Leclerc, S., Brault, M., Pinochet, X., Sallé, G., 2003. Potential role of winter rape weeds in the extension of broomrape in Poitou-Charentes. *C. R. Biol.* 326, 645-58.
- Gibot-Leclerc, S., Sallé, G., Reboud X., Moreau, D., 2012. What are the traits to *Phelipanche ramosa* (L.) Pomel that contribute to the success of its biological cycle on its host *Brassica napus* L. ? *Flora* 207, 512-521.
- Grenz, J.H., Manschadi, A.M., Uygur, F.N., Sauerborn, J., 2005. Effects of environment and sowing date on assimilate competition between faba bean (*Vicia faba*) and the parasitic weed *Orobanche crenata*. *Field Crop. Res.* 93, 300-313.
- Hautier, Y., Hector, A., Vojtech, E., Purves, D., Turnbull, L.A., 2010. Modelling the growth of parasitic plants. *J. Ecol.* 98: 857-866.
- Holdsworth, M., Nutman, P.S., 1947. Flowering response in a strain of *Orobanche minor*. *Nature* 160, 223-224.
- Joel, D.M., Hershenshorn, Y., Eizenberg, H., 2007. Biology and management of weedy root parasites. *Hort. Rev. (Am Soc Hortic Sci)* 38, 267-349.
- Kogan, M., 1994. *Orobanche* in Chile: a research report. In: Pieterse, A.H., Verkleij, J.A.C., ter Borg, S.J. (Eds), *Biology and management of Orobanche*. Proceedings of the Third International Workshop on *Orobanche* and related *Striga* Research, Royal Tropical Institute, Amsterdam, Pays-Bas, pp 599-603.
- Labrada, R., 1994. Occurrence and control of *Orobanche ramosa* L. in Cuba. In: Pieterse, A.H., Verkleij, J.A.C., ter Borg, S.J. (Eds), *Biology and management of Orobanche*. Proceedings of the Third International Workshop on *Orobanche* and related *Striga* Research, Royal Tropical Institute, Amsterdam, Pays-Bas, pp 604-610.
- Molinero-Ruiz, M.L., Pérez-Vich, B., Pineda-Martos, R., Melero-Vara, J.M., 2008. Indigenous highly virulent accessions of the sunflower root parasitic weed *Orobanche cumana*. *Weed Res.* 49, 169-178.

Musselman L.J., Parker C., 1982. Preliminary host ranges of some strains of economically important broomrapes (Orobanche). *Econ. Bot.* 36, 270–273.

Neumann, U., Sallé, G., 2000. Defence mechanisms of plants against parasitic angiosperms. *C. R. Acad. Agric France* 86, 85-96.

Parker, C., 2009. Observations on the current status of Orobanche and Striga problems worldwide. *Pest Manag. Sci.* 65, 453-459.

Parker, C., Riches, C.R., 1993. *Parasitic Weeds of the World: Biology and Control*. CAB International, Wallingford.

Pérez-De-Luque, A., Lozano, M.D., Cubero, J.I., Gonzales-Melendi, P., Risueno, M.C., Rubiales, D., 2006. Mucilage production during the incompatible interaction between Orobanche crenata and Vicia sativa. *J. Exp. Bot.* 57, 931-942.

Press, M.C., Graves, J.D., 1995. *Parasitic plants*. Chapman and Hall, London.

Press, M.C., Phoenix, G.K., 2005. Impacts of parasitic plants on natural communities. *New Phytol.* 166, 737-751.

R Core Team., 2012. *R : A Language and Environment for Statistical Computing*, R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria (<http://www.R-project.org/>).

Rispail, N., Dita, M.A., Gonzáles-Verdejo, C., Pérez-de-Luque, A., Castillejo, M.A., Prats, E., Román, B., Jorrín, J., Rubiales, D., 2007. Plant resistance to parasitic plants: molecular approaches to an old foe. *New Phytol.* 173, 703-712.

Rumsey, F.J., Jury, S.L., 1991. An account of Orobanche L. in Britain and Ireland. *Watsonia* 18, 257–295.

Sauerborn, J., 1991. *Parasitic flowering plants, Ecology and Management*. Verlag Josef Margraf, Germany.

Schneeweiss, G.M., 2007. Correlated evolution of life history and host range in the non photosynthetic parasitic flowering plants Orobanche and Phelipanche (Orobanchaceae). *J. Evol. Biol.* 20, 471-478.

Tamura, K., Peterson, D., Peterson, N., Stecher, G., Nei, M., Kumar, S., 2011. MEGA5: Molecular Evolutionary Genetics Analysis using Maximum Likelihood, Evolutionary Distance, and Maximum Parsimony Methods. *Mol. Biol. Evol.* 28, 2731-2739.

Teryokhin, E.S., 1997. *Weed Broomrapes: systematics, ontogenesis, biology, evolution*. Aufstieg-Verlag. Landshut, Germany.

Thorogood C.J., Hiscock S.J., 2007. Host specificity in the parasitic plant Cytinus hypocistis. *Res Lett Ecol.* 2007, ID 84234, 4pp.

Thorogood, C.J., Rumsey, F.J., Harris, S.A., Hiscock S.J. 2008. Host-driven divergence in the parasitic plant Orobanche minor Sm. (Orobanchaceae). *Mol. Ecol.* 17, 4289-4303.

Thorogood, C.J., Rumsey, F.J., Hiscock, S.J., 2009. Host-specific races in the holoparasitic angiosperm Orobanche minor: implications for speciation in parasitic plants. *Ann. Bot.* 103, 1005-1014.

Vinogradov, V.A., Mironov, E.K., Strelyeva, N.I., Sarychev, Yu, F., 1981. Breeding tobacco for resistance to Orobanche. *Plant Breed. Abstr.* 54, 6089.

Vinogradov, V.A., Mironov, E.K., Sarychev, Yu, F., 1984. Degree of field resistance to Orobanche in tobacco mutants, hybrids and varieties. *Plant Breed. Abstr.* 54, 3464.

Zehhar, N., Labrousse, P., Arnaud, M.C., Boulet, C., Bouya, D., Fer, A., 2003. Study of resistance to Orobanche ramosa in host (oilseed rape and carrot) and non-host (maize) plants. *Eur. J. Plant. Pathol.* 109, 75-82.

# PHERASYS – UN PROJET DE MODÉLISATION DE LA DYNAMIQUE DE L'OROBANCHE DANS LES SYSTÈMES DE CULTURE

N. COLBACH<sup>1</sup>, D. MOREAU<sup>1</sup> et S. GIBOT-LECLERC<sup>2</sup>

<sup>1</sup>INRA, UMR1347 Agroécologie, F-21000 Dijon, Nathalie.Colbach@dijon.inra.fr

<sup>2</sup>AgroSup Dijon, UMR1347 Agroécologie, F-21000 Dijon

**Résumé.** La gestion de la plante parasite *Phelipanche ramosa* (L.) Pomel (orobanche) est surtout basée sur des méthodes préventives, notamment le travail du sol et la rotation. Ce parasite peut infecter les racines d'une large gamme d'espèces cultivées mais aussi d'adventices non-parasites. L'objectif de notre projet est de développer un modèle, appelé PHERASYS, quantifiant les effets de système de culture sur la dynamique du parasite, en interaction avec la flore adventice non-parasite, et de le coupler avec le modèle existant FLORSYS qui prédit la flore adventice dans les systèmes de culture. Nous avons déjà développé une version préliminaire à partir de la littérature que nous avons utilisée pour tester une méthode d'évaluation de systèmes de culture existants et prospectifs pour le risque d'orobanche et la contribution de la flore adventice à la dynamique du parasite. Cette version préliminaire a permis d'identifier les lacunes de connaissances majeures, ce qui nous a amené à planifier trois expérimentations: la quantification du potentiel infectieux des semences parasites dans le sol en fonction de leur âge et des saisons, l'analyse de l'architecture racinaire des plantes cultivées et adventices pour prédire la proximité entre semences parasites et racines hôtes et donc la proportion de graines parasites pouvant germer et se fixer sur un hôte, et enfin l'étude des relations trophiques entre l'hôte et le parasite pour prédire la biomasse accumulée par le parasite au dépend de l'hôte.

**Mots-clés.** système de culture, adventice, modèle, relations trophiques, stock semencier

## 1 Introduction

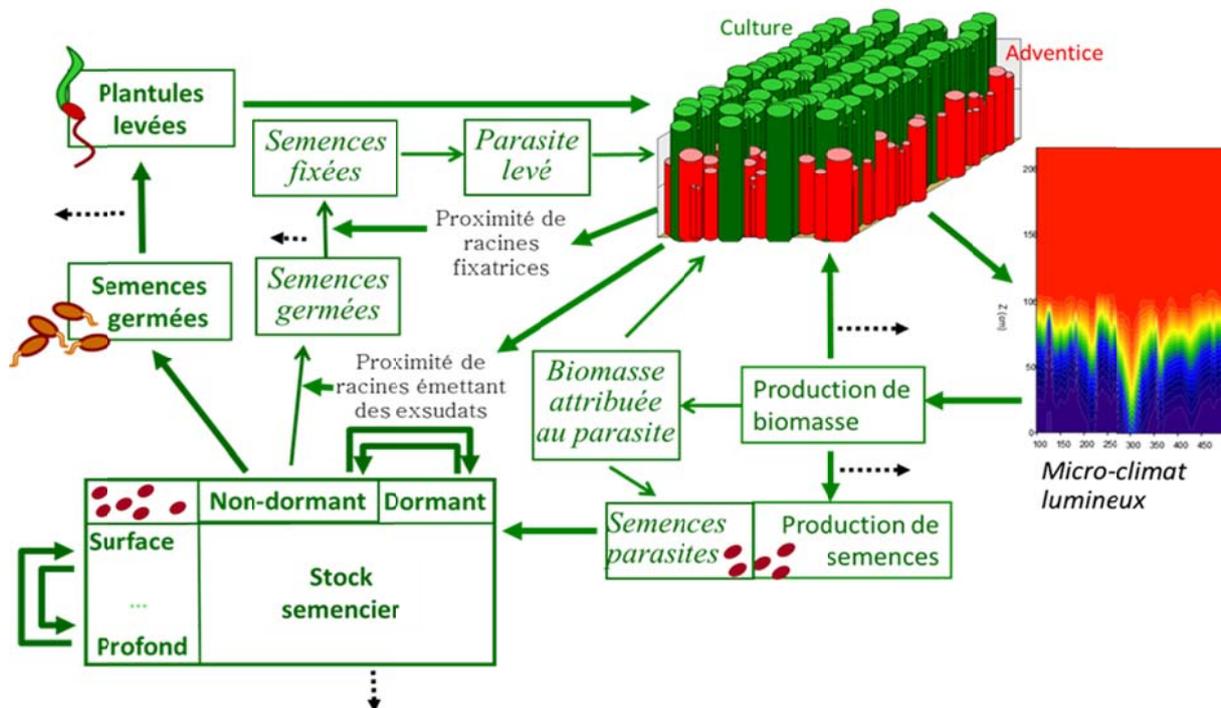
À ce jour, il n'y a aucun herbicide homologué pour lutter contre l'orobanche *Phelipanche ramosa* (L.) Pomel (Joel, 2009), et les méthodes curatives se limitent au désherbage manuel (Rubiales *et al.*, 2009). La gestion du parasite est essentiellement basée sur des méthodes préventives, notamment le travail du sol et la rotation (Buschmann *et al.*, 2005 ; Lins *et al.*, 2006 ; Parker, 2009 ; Rubiales *et al.*, 2009). Ce parasite peut infecter une large gamme de cultures mais aussi des adventices non-parasites (Gibot-Leclerc *et al.*, 2003 ; Boulet *et al.*, 2007 ; Gibot-Leclerc *et al.*, 2009 ; 2013a ; 2013b). De plus, la présence d'adventices non-hôtes peut augmenter l'infection des cultures hôtes (Gibot-Leclerc *et al.*). Or, la gestion des adventices "classiques" (i.e. non parasite) est récemment devenue plus compliquée, avec la réduction des molécules herbicides autorisées au niveau européen (EU directive REACH, [http://ec.europa.eu/environment/chemicals/reach/reach\\_intro.htm](http://ec.europa.eu/environment/chemicals/reach/reach_intro.htm)) et la nécessité de réduire la consommation des pesticides dans le cadre du programme ECOPHYTO 2018 (<http://agriculture.gouv.fr/ecophyto-2018,510>). Par conséquent, il est impératif de raisonner et optimiser l'ensemble du système de culture pour gérer à la fois le parasite et les adventices non-parasites sensibles.

Les modèles quantifiant les effets des systèmes de culture sur la démographie des bioagresseurs sont aujourd'hui un outil indispensable pour synthétiser les connaissances sur les bioagresseurs et concevoir des stratégies de gestion (Aubertot *et al.* ; Rossing *et al.*, 1997 ; Colbach, 2010). Afin de comprendre et de prédire la variabilité des effets observés pour les différentes techniques et d'utiliser les modèles dans une large gamme de situations sans reparamétrage, des modèles mécanistes découpant le cycle de vie en processus élémentaires dépendant des effets biophysiques des systèmes de culture, en interaction avec les états biologiques (ex. stade des adventices) et physiques (ex. structure du sol) du milieu sont nécessaires (Colbach et Debaeke, 1998 ; Colbach *et al.*, 2005). Nous disposons déjà d'un tel modèle pour les adventices non-parasites (FlorSys, Gardarin *et al.*, 2012 ; Munier-Jolain *et al.*, 2013 ; Munier-Jolain *et al.* ; Colbach *et al.*), et nous développons actuellement un nouveau module, appelé PHERASYS (pour *Phelipanche ramosa* et système de culture),

qui quantifiera les effets des systèmes de culture sur la dynamique du parasite, en interaction avec la flore adventice non-parasite.

## 2 Organisation du modèle

Le modèle couplé FLORSYS-PHERASYS est un ensemble de deux cycles de vie, le premier pour les adventices non-parasites annuelles (dorénavant "adventices") et la culture, et le second pour l'orobanche (dorénavant "parasite") (Figure 1).



**Figure 1** : Organigramme du modèle couplé FLORSYS-PHERASYS prédisant la dynamique de l'orobanche et des adventices non-parasites dans les systèmes de culture. Cycle de vie représentant les stades des adventices non-parasites (**Plantules levées**, ←) et parasite (**Semences fixées**, →), avec des processus de mortalité (←...)

**Le cycle des adventices et de la culture.** Ce cycle est générique et valable pour toutes les espèces adventices et cultivées annuelles; il est constitué d'une succession de stades-clés choisis pour leurs interactions avec les effets des systèmes de culture. Le cycle considère en premier lieu les semences non-dormantes proches de la surface, dont la majeure partie germe après pluie ou travail du sol. Une partie de ces graines germées meurt cependant avant de lever. Certaines semences ne peuvent pas germer, soit parce qu'elles ont été enfouies trop profondément par le travail du sol, soit parce qu'elles sont dormantes. Ces semences survivent au fil des années et constituent le stock semencier.

Après la levée, le couvert plurispécifique composé de plantes cultivées et adventices est représenté en 3D avec chaque plante, cultivée ou adventice, sous forme de cylindre, de hauteur et de diamètre variable, avec une distribution des feuilles à l'intérieur des cylindres. Cette représentation permet de prédire chaque jour en chaque point du couvert 3D la quantité de lumière absorbée par chaque plante et transformée en biomasse nouvellement accumulée, résultant en un agrandissement des cylindres. Un module phénologique détermine la date des différents stades des plantes et lorsque celles-ci arrivent à maturité, une partie de la biomasse des plantes est convertie en semences nouvellement produites, puis rajoutée au stock semencier.

**Le cycle du parasite.** Comme pour le cycle précédent, le modèle distingue également des semences superficielles et profondes, des semences "non-dormantes" (c'est-à-dire sensibles à la stimulation par les exsudats racinaires d'hôtes potentiels) et "dormantes" (non sensibles). Mais la germination des semences ne se fait qu'à proximité immédiate (moins de 4 mm, Gibot-Leclerc *et al.*, 2012) de racines de plantes (cultivées ou adventices) exsudant des stimulants. Ensuite, le parasite doit se fixer sur des racines de plantes proches et sensibles à la fixation pour pouvoir croître et lever. Le parasite ne produit pas de biomasse lui-même, étant dépourvu de chlorophylle; il prélève les assimilats nécessaires à sa croissance directement sur la plante sur la plante hôte dont la vitesse de croissance

est alors réduite. Lorsque sa plante hôte arrive à maturité, une partie de la biomasse du parasite est transformée en nouvelles semences qui alimentent le stock semencier.

### 3 L'impact des adventices non-parasites sur la démographie de l'orobanche

Les adventices non-parasites peuvent intervenir de plusieurs manières. Tout d'abord, certaines ont la capacité de stimuler des germinations du parasite. Si cette stimulation a lieu en interculture, les adventices parasitées sont généralement détruites avant que le parasite ne se reproduise; par conséquent, le stock semencier parasite et donc le risque pour la culture suivante sont réduits. Si la stimulation a lieu pendant la culture, tout dépend si l'adventice stimulatrice est également fixatrice. Le cas échéant, le parasite a une opportunité supplémentaire pour se reproduire et d'alimenter le stock semencier. Les adventices peuvent ainsi servir de relais dans les cultures non-hôtes qui ne permettent pas au parasite de se reproduire. Si l'adventice n'est pas fixatrice (et qu'il n'y a pas de plante fixatrice à proximité), le stock semencier parasite est de nouveau réduit. À ce jour, nous avons essentiellement identifié des adventices stimulatrices et fixatrices (**Tableau 1**).

**Tableau 1** : Identification d'espèces adventices dicotylédones stimulant la germination du parasite et sensibles aux fixations (Gibot-Leclerc *et al.*, 2003, 2009).

Nom latin	Nom commun	Saison de levée	Culture préférée
<i>Aphanes arvensis</i>	Alchémille des champs	Automnale	Colza
<i>Calepine irregularis</i>	Calépine irrégulière	Automnale	Colza
<i>Capsella bursa-pastoris</i>	Capselle bourse à pasteur	Échelonnée	
<i>Crepis foetida</i>	Crépe de fétide	Automnale	Colza
<i>Euphorbia helioscopia</i>	Euphorbe	Échelonnée	Colza
<i>Geranium dissectum</i>	Géranium découpé	Échelonnée	Colza
<i>Geranium molle</i>	Géranium mou	Échelonnée	Colza
<i>Mercurialis annua</i>	Mercuriale annuelle	Printanière	Tournesol, maïs
<i>Picris echioides</i>	Picride fausse vipérine	Échelonnée	
<i>Raphanus raphanistrum</i>	Radis ravenelle	Échelonnée	Colza
<i>Senecio vulgaris</i>	Herbe aux coitrons	Échelonnée	
<i>Sonchus asper</i>	Laiteron âpre	Échelonnée	Colza
<i>Sonchus oleraceus</i>	Lait d'âne	Échelonnée	Colza

### 4 Impact du système de culture sur la dynamique du parasite

La succession culturale est le facteur majeur du système de culture influant sur le parasite. Elle détermine la fréquence de plantes cultivées émettant des exsudats racinaires et celles sensibles à la fixation. Les cultures présentant le plus de risque sont stimulatrices et fixatrices (cultures hôtes), comme le colza ou le chanvre (Gibot-Leclerc *et al.*, 2012 ; 2013b). Les cultures non-stimulatrices et non-fixatrices (non-hôtes) telles que le blé et l'orge n'ont pas d'effet sur la dynamique du parasite. Les cultures faux-hôtes, comme le lin, sont stimulatrices mais non-fixatrices et permettent ainsi de réduire le stock semencier parasite (Abu-Irmaileh, 1984 ; Lins *et al.*, 2006). Les cultures pièges, semées généralement en couvert temporaire, sont des cultures hôtes détruites avant que le parasite ne se reproduise (Lins *et al.*, 2006 ; Fernandez-Aparicio *et al.*, 2007). De plus, les cultures se distinguent aussi par leur architecture racinaire et notamment la densité racinaire et le tropisme, deux facteurs qui influencent directement la distance entre les semences parasites et la racine de l'hôte et donc la quantité de semences parasites qui pourront germer.

La succession culturale joue aussi via le choix des techniques culturales, la plus importante étant le travail du sol qui détermine l'enfouissement des semences parasites et donc la proximité avec le système racinaire des plantes stimulatrices et fixatrices. La densité de semis des cultures joue également sur le facteur-clé qu'est la proximité entre la semence parasite et la racine de l'hôte.

L'impact des autres techniques reste à clarifier. Décaler la date de semis pourrait éventuellement décaler la levée des cultures par rapport à la période où les semences parasites sont le plus sensibles à la stimulation. Une modulation de la fertilisation azotée, en modulant la croissance de l'hôte, pourrait moduler les relations trophiques hôte-parasite.

Et surtout, la présence d'adventices change la donne, directement en tant que stimulateur ou fixateur, indirectement en augmentant la fixation sur les cultures hôtes proches. La partie FLORSYS du modèle quantifie ainsi l'impact du système de culture sur ces adventices (Tableau 2).

**Tableau 2** : Effets du système de culture sur le cycle de vie des adventices non-parasites (Gardarin *et al.*, 2012 ; Munier-Jolain *et al.*, 2013 ; Munier-Jolain *et al.*, in revision ; Colbach *et al.*, submitted) et parasite dans le modèle FLORSYS-PHERASYS

Système de culture	Effet intermédiaire	Effet sur	
		les adventices non-parasites	le parasite
Travail du sol et désherbage mécanique	Structure du sol	La compaction du sol augmente la mortalité des semences germées	Pas d'effet
	Mouvements du sol = f(structure du sol)	L'enfouissement diminue la germination et augmente la mortalité pré-levée; les semences à la surface germent mal et meurent fréquemment. Stimule la germination des semences imbibées Destruction de semences germées et plantes levées	L'enfouissement modifie la distance des semences aux racines des plantes stimulatrices/fixatrices Effet indirect si plus d'adventices hôtes lèvent
Couvert temporaire	Lumière dans le couvert	Moins de reproduction pendant l'interculture	Effet indirect si la plante hôte produit moins de biomasse Germinations fatales avant le semis des cultures primaires
	Espèce stimulatrice?		
Espèces et variétés cultivées (culture primaire)	Choix des techniques	Voir effets des techniques culturales	Absence/présence de cultures hôtes pendant la période de sensibilité des semences parasites? Stimule la germination Fixation du parasite Proximité parasite-racines stimulatrices/fixatrices Effet indirect si la plante hôte produit moins de biomasse
	Période de semis	Sélectionne les espèces non-dormantes au moment du semis	
	Espèce stimulatrice? Espèce fixatrice? Architecture racinaire	Pas d'effet Pas d'effet	
	Lumière dans le couvert	L'ombrage réduit la photosynthèse et l'accumulation de biomasse, il cause de l'étiollement	
Date de semis	Date de levée de la culture	Plus les adventices lèvent tôt par rapport à la culture, mieux elles survivent et grandissent	Levée de la culture décalée par rapport à la période de sensibilité des semences parasites?
	Date du dernier travail du sol	En cas de travail tardif, plus de semences auront détruites par le travail (dans le cas du parasite, uniquement vrai si couvert temporaire stimulant)	germé avant et pourront être
Densité de semis	Réduit la lumière dans le couvert	L'ombrage réduit la photosynthèse et l'accumulation de biomasse, il cause de l'étiollement	Effet indirect si la plante hôte produit moins de biomasse
	Localisation des plantes cultivées		Augmente la proximité racine-parasite
Motif de semis	Variabilité de la lumière dans le couvert	Le semis irrégulier favorise des trous de couvert où poussent les adventices	Effet indirect si la plante hôte produit moins de biomasse
Herbicides	Efficacité = f(matière active, technicité), diminue avec la densité du couvert, la profondeur des semences (herbicides racinaires) et le stade des adventices	Les herbicides foliaires détruisent les plantes levées, les racinaires les plantes dont les semences sont proches de la surface, les pseudo-racinaires les plantules en cours de levée; les herbicides racinaires et pseudo-racinaires persistent et agissent pendant plusieurs jours	Pas d'effet direct, effet indirect en réduisant les hôtes adventices
Récolte et fauche		Coupe les plantes; plus les plantes coupées sont âgées et leur biomasse résiduelle réduite, moins elles survivent	Coupe les plantes et réduit la biomasse; mortalité inconnue
Fumier etc.	Ajoute une couche sur le sol	Améliore la germination des semences de surface Ajoute des semences adventices au sol	Effet indirect si plus de levée d'adventices hôtes
Tous	Les roues compactent le sol	Augmente la mortalité des semences germées	Pas d'effet direct, effet indirect si moins de levée d'adventices hôtes

## 5 Les expérimentations à réaliser

Une ébauche de PHERASYS a été développée (Colbach *et al.*, 2011) ce qui nous a permis d'identifier les lacunes de connaissances au niveau du cycle de vie de l'orobanche. Nous allons mettre en place plusieurs expérimentations pour étudier les processus mal connus.

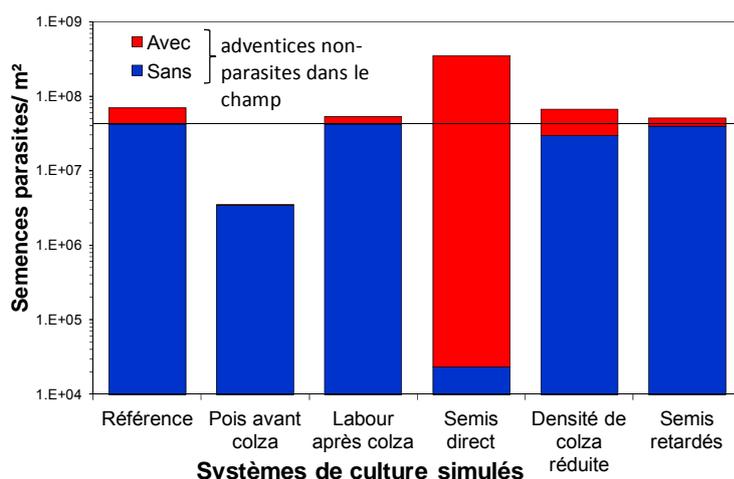
Une première expérimentation tentera d'évaluer la persistance des semences d'orobanche en l'absence de plantes hôtes, en mesurant le potentiel infectieux (aptitude à germer) des semences dans le sol au cours de la saison et de l'âge des semences.

Une deuxième expérimentation aura pour objectif de caractériser l'architecture racinaire des plantes stimulatrices/fixatrices de l'orobanche. Pour ce faire, nous utiliserons un modèle simplifié de l'architecture racinaire (Pagès *et al.*, 2012) qu'il s'agira de paramétrer pour les différentes espèces. Ce modèle paramétré sera alors "dégradé" (i.e. réduit aux effets pertinents pour notre objectif) puis couplé à FLORSYS. Des expérimentations de paramétrage du modèle sont en cours actuellement pour une douzaine d'espèces contrastées.

La dernière expérimentation visera à caractériser l'écophysiologie des interactions trophiques hôte/parasite dans le cas de l'orobanche rameuse et pour une large gamme d'hôtes. Il s'agira d'évaluer l'existence d'un « équilibre » entre d'une part l'allocation des assimilats vers la plante parasite et d'autre part la conservation des assimilats par la plante hôte pour maintenir sa croissance. Pour cela, une gamme d'espèces hôtes parasitées par l'orobanche et non parasitées (témoins) sera expérimentée en serre. Différentes variables (ex. accumulation de biomasse, production de semences) seront mesurées au cours du cycle de culture.

## 6 Quelques résultats préliminaires

Nous avons déjà réalisé quelques simulations de systèmes de culture avec une ébauche du modèle FLORSYS-PHERASYS dans le but d'évaluer des systèmes de culture existants et prospectifs pour leur risque d'orobanche et la contribution de la flore adventice à l'infection par le parasite (Colbach *et al.*, 2011). Le système de référence est une rotation typique bourguignonne, colza/blé d'hiver/orge d'hiver sans labour. La présence d'une flore adventice contenant des espèces hôtes augmente le stock semencier parasite avant le semis du colza d'environ 70% (Figure 2). Introduire du pois avant le colza dans la rotation diminue le risque parasitaire de plus de 90% et le surplus de semences parasites dû aux adventices devient alors négligeable. Labourer après colza a peu d'influence directe sur le parasite mais diminue le risque via les adventices de plus de 60%. Le semis direct divise le risque parasitaire direct par environ 1800 parce que les semences parasites restent majoritairement à la surface du sol, loin des racines. Mais comme l'absence de travail du sol favorise simultanément la flore non-parasite, le risque global est au final multiplié par 5. Diminuer la densité de semis du colza réduit le risque direct de 30% en diminuant la probabilité de contact parasite-racine mais laisse plus de place aux adventices et n'a, au final, que peu d'impact. Retarder le semis des cultures de trois semaines diminue les risques directs et indirects et réduit le stock parasite global d'environ 30%.



**Figure 2 :** Impact du système de culture et de la flore adventice non-parasite sur le risque d'infestation parasite dans une rotation colza/blé/orge. Stock semencier du parasite *Phelipanche ramosa* dans le sol avant colza après 12 années de simulation avec PHERASYS (Colbach *et al.*, 2011)

## 7 Conclusion

L'ébauche de PHERASYS a permis d'évaluer la possibilité de développer un modèle mécaniste des effets des systèmes de culture sur la dynamique des adventices parasites. Cette version a non seulement démontré la faisabilité de notre objectif de modélisation mais a également identifié les lacunes dans nos connaissances sur le cycle de vie du parasite et ses interactions avec les adventices non parasites. C'est sur ces résultats que se basent les expérimentations que nous sommes actuellement en train de mettre en place pour développer la nouvelle version de PHERASYS.

La version préliminaire de PHERASYS a aussi démontré comment un tel modèle peut être utilisé pour évaluer des systèmes de culture existants et prospectifs pour leur risque d'orobanche. Cependant, bien que cohérents avec les connaissances actuelles sur le parasite, ces résultats de simulation ne sont qu'une illustration des applications possibles du modèle et non pas des conseils prêts à l'emploi. En effet, PHERASYS doit d'abord être amélioré puis évalué avec des données indépendantes de terrain pour déterminer son domaine de validité.

## 8 Remerciements

Ce projet est financé par l'INRA, l'ANR OGM VIGIWEED (ANR-07-POGM-003-01), le Plan d'Action Régional pour l'Innovation de la Région Bourgogne (PARI 2010-9201AAO050S01397) et le Programme de Recherche "Évaluation et réduction des risques liés à l'utilisation des pesticides" porté par le Ministère de l'Écologie (APR 2011 – Ecophyto 2018 "Changer les pratiques agricoles pour préserver les services écosystémiques") pour soutenir l'implémentation du plan d'action national sur les pesticides par le Ministère de l'Agriculture et avec les crédits provenant des taxes pour la pollution diffuse gérée par l'ONEMA.

## 9 Références

- Abu-Irmaileh B. E., 1984. Effect of planting flax on the subsequent infestation of tomato by *Orobanche ramosa*. In: C. Parker, L.J. Musselmann, R. M. Polhill et A. K. Wilson, editors. Third International Symposium on Parasitic Weeds, Alep, Syrie, 250-255
- Aubertot J. N., Lescourret F., Bonato O., Colbach N., Debaeke P., Doré T., Fargues J., Lô-Pelzer E., Loyce C., Sauphanor B., How to improve pest management in cropping systems. Effects of cultural practices on pest development. A review. *Agronomy for Sustainable Development*.
- Boulet C., Pineault D., Benharrat H., Simier P., Delavault P., 2007. Adventices du colza et orobanche rameuse. In: XXème Conférence du COLUMA: Journées Internationales sur la Lutte contre les Mauvaises Herbes. AFPP, Dijon, France
- Buschmann H., Gonsior G., Sauerborn J., 2005. Pathogenicity of branched broomrape (*Orobanche ramosa*) populations on tobacco cultivars. *Plant Pathology*, 54, 650-656.
- Colbach N., Debaeke P., 1998. Integrating crop management and crop rotation effects into models of weed population dynamics: a review. *Weed Science*, 46, 717-728.
- Colbach N., Dürr C., Roger-Estrade J., Caneill J., 2005. How to model the effects of farming practices on weed emergence. *Weed Research*, 45, 2-17.
- Colbach N., 2010. Modelling cropping system effects on crop pest dynamics: how to compromise between process analysis and decision aid. *Plant Science*, 179, 1-13.
- Colbach N., Abdennebi-Abdemessed N., Gibot-Leclerc S., 2011. A preliminary approach for modelling the effects of cropping systems on the dynamics of broomrape (*Phelipanche ramosa*) in interaction with the non-parasitic weed flora. *OCL*, 18, 39-45.
- Colbach N., Collard A., Guyot S. H. M., Mézière D., Munier-Jolain N. M., submitted. Assessing innovative sowing patterns for integrated weed management with a 3D crop:weed competition model. *European Journal of Agronomy*.
- Fernandez-Aparicio M., Sillero J. C., Rubiales D., 2007. Intercropping with cereals reduces infection by *Orobanche crenata* in legumes. *Crop Protection*, 26, 1166-1172.
- Gardarin A., Dürr C., Colbach N., 2012. Modeling the dynamics and emergence of a multispecies weed seed bank with species traits. *Ecological Modelling*, 240, 123-138.
- Gibot-Leclerc S., Brault M., Pinochet X., Sallé G., 2003. Rôle potentiel des plantes adventices du colza d'hiver dans l'extension de l'orobanche rameuse en Poitou-Charentes. *Comptes Rendus de Biologie*, 326, 645-658.
- Gibot-Leclerc S., Charles J., Dessaint F., 2009. Sensibilité d'hôtes potentiels vis-à-vis de deux pathovars d'*Orobanche ramosa* L. In: XIIIème Colloque International sur la Biologie des Mauvaises Herbes, Dijon, France, 446-456
- Gibot-Leclerc S., Sallé G., Reboud X., Moreau D., 2012. What are the traits of *Phelipanche ramosa* (L.) Pomel that contribute to the success of its biological cycle on its host *Brassica napus* L.? *Flora*, 207, 512-521.
- Gibot-Leclerc S., Abdennebi-Abdemessed N., Reibel C., Colbach N., 2013a. Non-host facilitators, a new category that unexpectedly favors parasitic weeds. *Agronomy for Sustainable Development*, doi: 10.1007/s13593-13013-10153-x.
- Gibot-Leclerc S., Reibel C., Dessaint F., Le Corre V., 2013b. *Phelipanche ramosa* (L.) Pomel populations differ in life-history and infection response to hosts. *Flora*, doi:10.1016/j.flora.2013.1003.1007.
- Joel D. M., 2009. The new nomenclature of *Orobanche* and *Phelipanche*. *Weed Research*, 49, 6-7.

- Lins R. D., Colquhoun J. B., Mallory-Smith C. A., 2006. Investigation of wheat as a trap crop for control of *Orobanche minor*. *Weed Research*, 46, 313-318.
- Munier-Jolain N. M., Guyot S. H. M., Colbach N., 2013. A 3D model for light interception in heterogeneous crop:weed canopies. Model structure and evaluation. *Ecological Modelling*, 250, 101-110.
- Munier-Jolain N. M., Collard A., Busset H., Guyot S. H. M., Colbach N., in revision. Modelling the morphological plasticity of weeds in multi-specific canopies. *Field Crops Research*.
- Pagès L., Moreau D., Boukcim H., Nguyen C., 2012. ArchiSimple: a parsimonious model of the root system architecture. In: Fourth International Symposium on Plant Growth Modeling, Simulation, Visualization and Applications, ShangHai, China
- Parker C., 2009. Observations on the current status of *Orobanche* and *Striga* problems worldwide. *Pest Management Science*, 65, 453-459.
- Rossing W. A. H., Meynard J. M., van I., M.K., 1997. Model-based explorations to support development of sustainable systems: case studies from France and the Netherlands. *European Journal of Agronomy*, 7, 271-283.
- Rubiales D., Fernandez-Aparicio M., Wegmann K., Joel D. M., 2009. Revisiting strategies for reducing the seedbank of *Orobanche* and *Phelipanche* spp. *Weed Research*. *Weed Research*, 49, 23-33.

## LUTTE CHIMIQUE CONTRE L'OROBANCHE RAMEUSE EN CULTURE DE COLZA

F. DUROUEIX<sup>(1)</sup>, T. GUILLET<sup>(2)</sup>

<sup>(1)</sup> CETIOM, 1 rue péchabout, 47 000 AGEN

<sup>(2)</sup> BASF Agro, 21 chemin de la sauvegarde, 69 134 ECULLY

### RÉSUMÉ

Pour lever une impasse technique et parmi les différentes méthodes de lutte envisagées, la lutte chimique contre l'orobanche rameuse en culture de colza a toujours été une des pistes de travail prioritaire. Mais compte tenu de la sensibilité de cette culture à une grande diversité d'herbicides de nombreuses pistes ont été abandonnées alors qu'elles sont aujourd'hui des solutions sur d'autres cultures (glyphosate à très faible dose, hydrazide maléïque, etc...).

L'utilisation de l'imazamox sur des variétés tolérantes (Clearfield® colza) est aujourd'hui considérée comme la voie la plus prometteuse. Cet article réalise la synthèse de 7 années d'expérimentation en plein champ. Les essais montrent que les solutions herbicides récemment homologuées telles qu'elles recommandées (stade d'application) pour lutter contre les adventices, sont mal adaptées à la lutte contre l'orobanche. De bons résultats d'efficacités, sur la vigueur de la culture, sur la population d'orobanche rameuse en fin de cycle et sur le rendement sont obtenus par une double application de 25 g/ha d'imazamox (soit 50 g/ha au total) en 2<sup>ème</sup> quinzaine quinzaine d'octobre et en sortie hiver (février). La stratégie en trois applications (mi-octobre puis mi-novembre et en sortie hiver) peut se montrer encore plus performante, mais dans ce cadre, la dose totale du programme reste encore à confirmer. Par ailleurs, les travaux indiquent clairement que les moyens de s'approcher au plus près du potentiel permis par la culture, la parcelle et l'année consistent à combiner une lutte chimique appropriée à l'utilisation d'une variété à bon comportement face au parasite. Dans ce cas, les essais montrent un gain de rendement de l'ordre de 17 q/ha.

La méthode de lutte chimique qui se dessine dans cet article, sera basée sur l'obtention d'une AMM spécifique soumise aux contraintes de l'homologation en vigueur aujourd'hui.

Mots-clés : colza, orobanche rameuse, *Phelipanche ramosa*, lutte chimique, imazamox

## INTRODUCTION

L'orobanche rameuse (*Phelipanche ramosa*) du colza s'est rapidement développée au cours des années 80, 90 et 2000 dans les rotations céréalières de la région Poitou-Charentes. Face à la nuisibilité de ce parasite et compte tenu de l'absence de génotype exprimant une tolérance suffisante au maintien du potentiel de la culture, le CETIOM et les producteurs de colza ont toujours envisagé la piste du contrôle chimique pour lever l'impasse dans laquelle ils se trouvaient.

L'orobanche après s'être fixée aux racines de l'hôte, est capable de prélever les nutriments nécessaires à sa croissance, au détriment de l'hôte. Certains herbicides systémiques ne sont pas métabolisés avant leur transport par la sève élaborée ce qui théoriquement rendait la lutte chimique possible. Ce fut le raisonnement appliqué dans la lutte contre la cuscutte (Fer et Thalouarn. 1997), entièrement extrapolable à la lutte contre l'orobanche.

Les premières expérimentations de glyphosate sur *Orobanche crenata* en culture de fève montraient des résultats positifs (Kasacian, 1973) et la technique a depuis été affinée sur le compromis entre sélectivité pour la culture et efficacité contre l'orobanche. Cette lutte chimique est aujourd'hui une pratique courante en désherbage de postlevée, au Maroc notamment (Zemrag, 1999).

Les expérimentations du CETIOM en culture de colza ont démarré à l'automne 1999. Les résultats montraient une sensibilité de l'orobanche rameuse à de faibles doses de glyphosate, seules compatibles avec une relative sélectivité vis-à-vis la culture. En effet, des efficacités sur les émergences d'orobanches étaient observées dès 160 g/ha de substance active et jusqu'à 216 g/ha, doses appliquées à l'automne. Le compromis sur la sélectivité restait positif en cas de fortes attaques, mais ce n'était pas le cas dans les situations de faibles attaques. Les applications de sortie hiver se montraient moins efficaces et plus préjudiciables en matière de sélectivité.

De nombreuses substances actives systémiques telles que imazamethabenz, piclorame, imazaquine, chlortal, hydrazide maléïque et chlorprophame ont été testées. Parmi elles, seul l'hydrazide maléïque, régulateur de croissance et antigerminatif pomme de terre montrait une efficacité significative. Ce qui conduit le CETIOM a poursuivre l'expérimentation, d'autant que les résultats de l'ANITTA semblaient prometteurs sur tabac. Le meilleur positionnement du produit correspondait à une application de fin novembre. L'effet dose était très significatif entre 700 g/ha et 1400 g/ha de s.a. (substance active). La double application se montrait enfin la plus efficace. Néanmoins, les symptômes de phytotoxicité, bien que tardifs étaient assez marqués. Ils se montraient inférieurs à ceux du glyphosate sur la biomasse mais nous observions une déformation des organes reproducteurs (hampes florales, siliques).

L'action des herbicides inhibiteurs de l'acétolactate synthétase (ALS) et en particulier les imidazolinones ont montré leur efficacité pour lutter contre *Orobanche cernua* dans les cultures de tabac en Inde, contre orobanche en cultures de fèves (Garcia-Torres et al, 1991 ; Jacobson et al, 1998) ou en culture de tournesol (Garcia Torres et Lopez Granados, 1991)). L'Espagne ainsi que les pays bordant la mer Noire, tels que la Turquie, la Bulgarie, la Roumanie et l'Ukraine, sont particulièrement concernés par *Orobanche cumana* / *O. cernua* en culture de tournesol. Dans ces pays les agriculteurs disposent depuis plusieurs années déjà de solutions commerciales particulièrement efficaces, basées sur l'emploi conjugué d'herbicides de la famille des imidazolinones tel que l'imazamox et de variétés de tournesol Clearfield tolérantes à ces mêmes herbicides. Dans ces régions, la lutte contre l'orobanche du tournesol (culture d'été à cycle court comparativement au colza) est basée sur une application d'imazamox entre les stades 6 à 10 de feuilles de la culture.

La première expérimentation du CETIOM sur colza tolérant à l'imazamox date de l'automne 1999. Les résultats montraient une piste prometteuse dépendante cependant du progrès génétique (en 1999, la sélection des colza d'hiver tolérants n'en était qu'à ses débuts) et du développement d'un tel projet.

Les sulfonylurées ont également fait l'objet d'expérimentation. En culture de tournesol, les applications de tribénuron-méthyl sur *Orobanche cumana* se sont montrées décevantes. La connaissance du profil herbicide de cette substance active, comparée à l'imazamox semble montrer une relation très importante entre la métabolisation dans la plante, rapide pour le tribénuron-méthyl, lente pour l'imazamox, et l'efficacité sur orobanche. L'éthametsulfuron-méthyl, substance active en cours de développement sur colza ne présente pas d'efficacité sur orobanche rameuse.

Le développement du programme Clearfield par BASF Agro était alors l'occasion de pouvoir disposer d'une molécule herbicide présentant une efficacité significative tout en étant parfaitement sélective. Ceci permettait alors d'explorer différentes doses de produit et différents positionnements en s'affranchissant de problèmes de sélectivité

## MATERIEL ET MÉTHODE

La technique Clearfield colza développée par BASF Agro s'appuie sur l'utilisation de variétés tolérantes à l'imazamox. Les herbicides Cleranda et Cleravis bénéficient depuis 2011 et 2012 d'une AMM (Autorisation de Mise en Marché) pour le désherbage du colza. Ils contiennent chacun 17.5 g/ha d'imazamox et 375 g/l de métazachlore associant également 100 g/l de quinmérac pour Cleravis seulement. Ces deux produits de postlevée s'utilisent à 2 l/ha (soit 35 g/ha d'imazamox) en mélange avec l'adjuvant Dash HC au stade deux-trois feuilles du colza et visent un large spectre d'adventices, en particulier géraniums et crucifères.

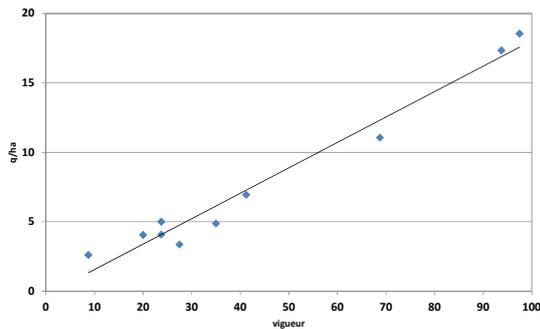
Cette application de 35 g/ha d'imazamox peut sembler précoce puisque les jeunes tubercules du parasite ne se fixeraient que vers le stade B8 (8 feuilles, soit 550°j base 0 après le semis). L'historique de nos expérimentations montre que le fractionnement est nécessaire et qu'une quantité d'herbicide doit être présente dans la plante durant la phase de repos végétatif. Différents stades d'application d'automne sont alors mis en œuvre ainsi qu'une application de sortie hiver (tableau 1). Enfin, l'expérimentation devait intégrer une échelle de doses compatible avec les différents scénarios possibles de demande d'AMM. Ainsi, trois doses totales d'imazamox sont testées : 35, 50 et 75 g/ha.

<b>Stades ou période d'application</b>	Stade B2-B4 (2 à 4 feuilles du colza)	2 <sup>ème</sup> quinzaine d'octobre	2 <sup>ème</sup> quinzaine de novembre	Sortie hiver, reprise de végétation
<b>Code</b>	Stade B4	mi-oct	mi-nov	SH
<b>commentaires</b>	Stade préconisé pour la lutte herbicide	Apparition des tubercules d'orobanche	Développement des orobanches en turions	Application pour prolonger l'efficacité du produit

Tableau 1 : stades et périodes d'application de l'imazamox dans les essais

Les infestations d'orobanche rameuse ne sont pas toujours très homogènes. Les essais sont implantés en blocs de Fisher à 3 ou 4 répétitions avec des témoins non traités semi-adjacents, inclus multiples ou imbriqués selon les essais. L'efficacité des différentes modalités est évaluée classiquement par un % de réduction de peuplement d'orobanche mais cet indicateur n'est pas toujours représentatif de la nuisibilité du parasite. Par contre, cette notation permet d'évaluer l'incidence d'une modalité sur l'évolution du stock grainier à venir.

Par ailleurs l'effet des traitements mis en œuvre est évalué par une notation de vigueur (sur une échelle 0-100, où 0 équivaut à une absence totale de végétation et où 100 est attribué à la parcelle la plus vigoureuse de l'essai). Cette observation de vigueur établie visuellement, liée à l'action du parasite, est parfaitement corrélée au rendement comme en atteste l'exemple de l'essai 12-118 présenté en figure 1.



Coefficient de corrélation : 0,98

Figure 1 : corrélation entre la note « vigueur » et les données de rendement (q/ha) sur l'exemple de l'essai 12-118

Cette dernière méthode a l'avantage de parfois discriminer les modalités entre elles au cours du printemps les années où les émergences d'orobanches sont faibles et tardives. L'ensemble de ces notations est réalisée entre les stades G4 (les siliques bosselées ont atteint leur taille finale) et G5 (50% des siliques sont à maturité) pour disposer d'une évaluation finale au plus proche de la nuisibilité réelle. Certains essais ont été récoltés ce qui permet là-encore d'affiner l'analyse et de corroborer les rendements avec les notations. Enfin, pour certains essais, tout au long du cycle de la culture, la dynamique de développement de l'orobanche est observée : date d'apparition des tubercules, nombre de bourgeons, date d'apparition et nombre d'inflorescences.

A partir de l'année 2012, le facteur comportement variétal à l'orobanche est introduit dans ces dispositifs utilisant des variétés Clearfield (tolérante à l'imazamox). Il s'agit d'évaluer l'ensemble des modalités selon deux comportements distincts face au parasite.

Quarante-cinq (45) essais ont été implantés en France par le Cetiom et BASF Agro entre 2006 et 2012. Ces essais sont mis en place au cœur de la zone concernée par l'orobanche du colza, dans les départements de la Charente Maritime (secteur de Saint-Jean d'Angely), des Deux Sèvres (secteur de Saint Maxire), de la Vendée (secteur de Thénézay) et de la Vienne (secteur de Cherves).

## RESULTATS

Au fil de l'expérimentation au champ, la pression en orobanche rameuse se montre parfois irrégulière. Les témoins non traités sont parfois très affectés (allant jusqu'à la disparition des plantes au printemps) alors qu'à d'autres occasions ils ne sont que très peu affectés voire pas du tout. L'effet « année » lié à la biologie de l'orobanche en est le principal facteur explicatif. Par ailleurs la pression orobanche n'étant pas nécessairement homogène dans les parcelles, de nombreux essais se sont révélés être peu exploitables ou peu informatifs.

Les résultats présentés ici sont issus d'une sélection des essais les plus significatifs, selon l'appréciation de l'expérimentateur (validation), la présence d'une notation de vigueur et selon le niveau d'attaque sur les témoins non traités (exclusion des essais dans lesquels la notation de vigueur est supérieure à 90%). Ainsi, dix huit (18) essais sont par exemple retenus pour les notations de vigueur. Six d'entre-eux intègrent le facteur comportement variétal. Les regroupements en moyenne offrent une plus grande robustesse des résultats même s'ils tamponnent quelque peu les écarts.

### LA DOSE DE 35 G/HA, CORRESPONDANT A L'AMM ET A SA VALORISATION

Les essais montrent que la dose de 35 g/ha appliquée en une seule fois au stade B4 du colza (positionnement des herbicides Cleravis ou Cleranda) permet une augmentation significative de la vigueur de la culture (figure 2). Nous sommes cependant au tout début de la formation des tubercules. L'application un peu plus tardive, réalisée sur la deuxième quinzaine d'octobre n'offre qu'un très léger gain d'efficacité.

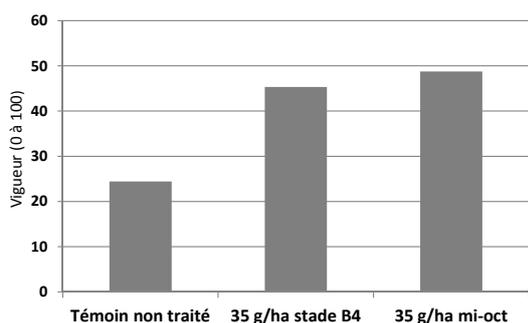


Figure 2 : Efficacité d'une application de 35 g/ha d'imazamox sur la vigueur du colza (5 essais)

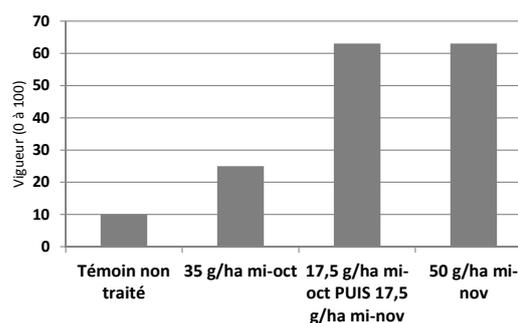


Figure 3 : Efficacité du fractionnement à l'automne de la dose 35 g/ha d'imazamox sur la vigueur(1 essai).

Dans un essai (figure 3) les modalités mises en oeuvre mettent en évidence un supplément significatif d'efficacité par le fractionnement de cette dose à l'automne. Cependant, ces résultats sont insuffisants au regard de doses plus élevées testées dans les essais et permettant encore une progression de la vigueur. Ce même essai montre qu'en application unique, la dose de 50 g/ha est plus performante que la dose de 35 g/ha.

#### LA DOSE DE 50 G/HA, ET SON UTILISATION

Le regroupement d'essais avec fractionnement des 50 g/ha d'imazamox (figure 4) montrent que cette technique permet une augmentation de l'efficacité comparativement à l'application de la pleine dose en passage unique. Les meilleurs résultats sont obtenus lorsque 25 g/ha sont réservés à une application en sortie hiver. Cette différence est étroite mais le gain est plus fréquent (confirmé par un regroupement similaire de 8 essais non présenté ici).

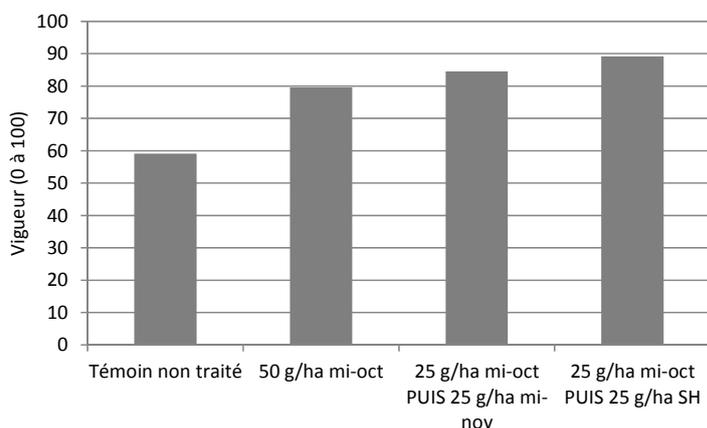


Figure 4 : Efficacité du fractionnement de la dose 50 g/ha d'imazamox sur la vigueur du colza (5essais).

Enfin, les efficacités en terme de réduction du peuplement d'orobanches rameuses émergées, en fin de cycle, montrent que le fractionnement intégrant l'application de sortie hiver est plus performant (figure 7).

Il est assez difficile de mettre en évidence la meilleure date d'application de la dose de 25 g/ha à l'automne (deuxième quinzaine d'octobre ou de novembre). Les résultats peuvent se contredire et cela, semble t il, en fonction de la dynamique du parasite. De fait, il est nécessaire d'évaluer l'intérêt du fractionnement de la dose de 50 g/ha en trois apports : deuxième quinzaine d'octobre, puis deuxième quinzaine de novembre et enfin sortie hiver. La moyenne des sept essais que nous avons pu regrouper

(figure 5) montre seulement un très léger bénéfice mais surtout cette stratégie paraît plus sécurisante par l'homogénéité des résultats obtenus.

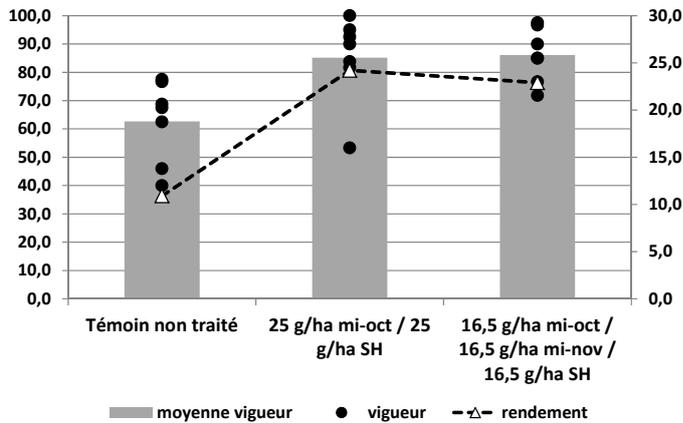


Figure 5 : Efficacité du fractionnement de la dose de 50 g/ha en trois applications (vigueur – 7 essais, rendement – 4 essais)

Par contre, les notations d'efficacité en terme de peuplement d'orobanche en fin de cycle, montrent qu'un fractionnement trop important, limitant la dose de chaque application, et particulièrement celle de sortie hiver, semble préjudiciable à l'efficacité (figure 6) avec un écart de -10%. Compte tenu, du faible écart sur la vigueur, la répartition de la dose de 50 g/ha d'imazamox en deux applications plutôt qu'en trois paraît préférable ce que semble confirmer l'analyse des rendements sur quatre essais (figure 5).

#### LA DOSE DE 75 G/HA EN TROIS APPORTS

L'augmentation de la dose d'imazamox à 75 g/ha n'est pas valorisée sur la vigueur tant que l'on reste à deux applications. Mais contrairement à la dose de 50 g/ha dont le fractionnement en trois applications de 16.5 g/ha n'apporte qu'un bénéfice limité, nous obtenons les meilleures efficacités sur la vigueur avec le fractionnement en trois applications de 25 g/ha. Ceci est également confirmé par l'analyse des rendements (figure 6). Enfin, les notations d'efficacité désherbage (figure 7) montrent que l'augmentation de la dose de chaque application améliore l'efficacité finale sur la réduction des émergences d'orobanche. Ces résultats restent cependant à consolider dans un plus grand nombre d'essais comparant notamment trois applications de 16.5 g/ha et trois applications de 25 g/ha.

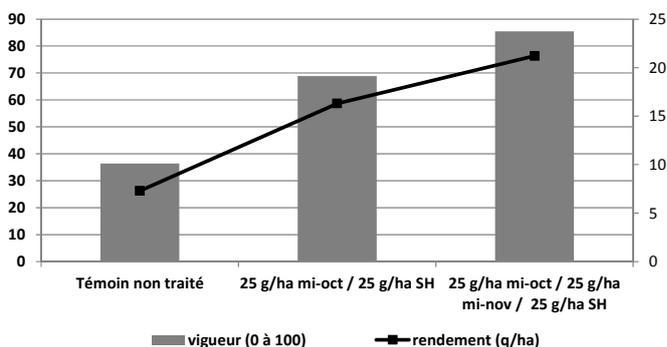


Figure 6 : Efficacité de la dose de 75 g/ha en 3 application (vigueur – 7 essais, rendement 4 essais)

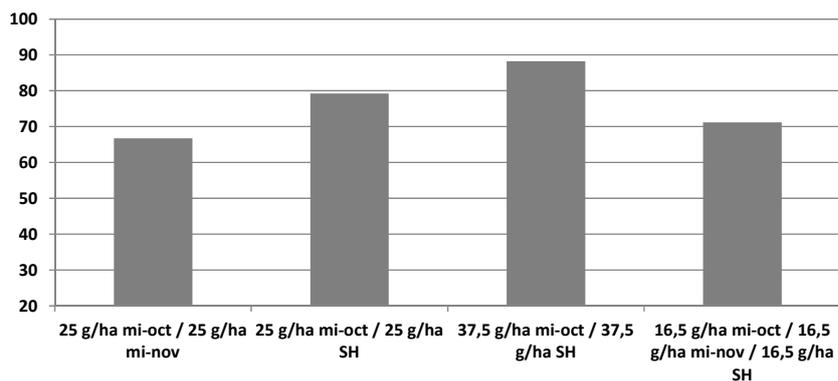
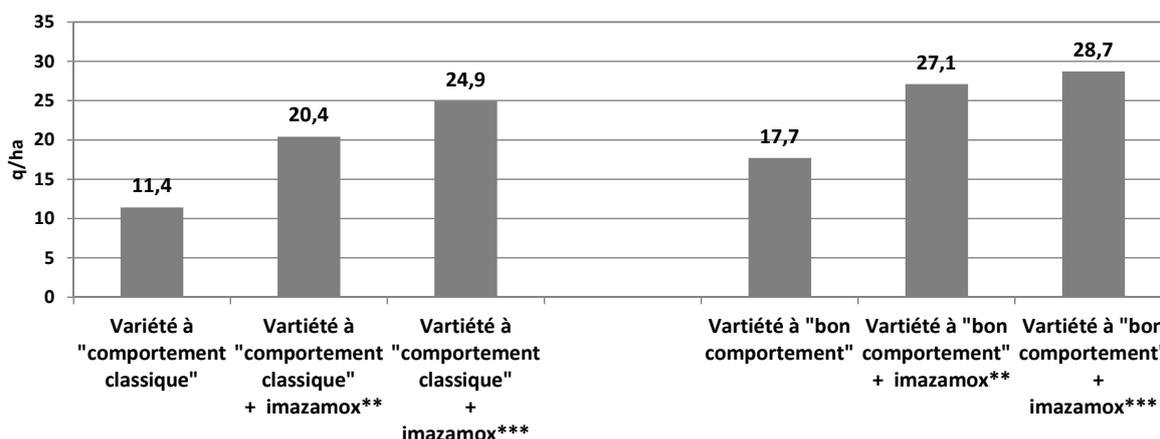


Figure 7 : Efficacité (% de réduction du peuplement) sur orobanche rameuse en fin de cycle – 5 essais

## LE FACTEUR GENETIQUE

Les essais CETIOM sont conduits sur la même plateforme expérimentale que les essais d'évaluation variétale. Bien entendu, ces dispositifs ne sont pas imbriqués. Par conséquent, les comparaisons ne sont qu'indicatives. Cependant, cette comparaison des deux dispositifs montrent qu'en 2010 et 2011, années de forte pression orobanche, la vigueur de la meilleure modalité avec imazamox (variété Clearfield) est équivalente aux meilleurs comportements variétaux sans protection imazamox (notations vigueur des variétés NK Petrol, Monica, etc., .). Ce résultat, avec des variétés Clearfield de la première heure, laissait alors à penser qu'une marge de progrès existait en associant lutte chimique et utilisation de bon comportements variétaux face à l'orobanche. L'introduction en 2012 de ce facteur dans les essais herbicides confirme que cette conjugaison de moyens permet un gain de rendement élevé, s'approchant probablement du potentiel de la parcelle et de l'année. La figure 8 (essais rendement) fait état d'un gain de rendement de 17 q/ha entre une variété Clearfield à comportement « classique » non traitée et une variété Clearfield à « bon comportement » pour laquelle la dose de 75 g/ha est fractionnée en trois applications.

L'utilisation d'une telle variété tendrait à limiter fortement l'écart sur les résultats entre la dose totale d'imazamox de 50 g/ha et celle de 75 g/ha. Par conséquent, ces données sont à consolider.



\*\* : 2 applications d'imazamox de 25 g/ha

\*\*\* : 3 applications d'imazamox de 25 g/ha

Figure 8 : Rendement de stratégies de lutte chimique associant deux types variétaux de comportement face à l'orobanche rameuse (q/ha - 7 essais)

## CONCLUSION

La lutte herbicide contre l'orobanche consiste à véhiculer par systémie l'imazamox des feuilles aux racines dès la fixation de l'orobanche lors de son développement en tubercule. La dose homologuée de

35 g/ha répond à cet objectif avec un gain d'efficacité sur la vigueur et sur le rendement nettement significatif. L'ensemble de nos résultats démontrent que le contrôle automnal est primordial. Mais cette dose n'est pas suffisante pour parfaire une efficacité tout au long du cycle automnal voire printanier et s'approcher du potentiel permis par la culture et par l'année. Le fractionnement est un moyen de prolonger cette action ainsi que l'augmentation de la dose à 50 g/ha. Le meilleur positionnement de la double application de 25 g/ha consiste à réaliser une première application à l'automne, lors de la phase d'installation du parasite en octobre. Durant l'hiver, lors de l'arrêt végétatif du colza, nos expériences passées (hydrazide maléïque, glyphosate) montraient qu'en métabolisme ralenti la substance active encore présente dans la plante n'est que très peu détoxifiée ce qui, semble t il, prolonge l'efficacité sur le parasite. L'application, en relais de 25 g/ha en sortie hiver limite probablement quelques fixations tardives et continue à agir sur les orobanches encore présentes. Les notations en fin de cycle sur le peuplement d'orobanches émergées montrent que ce fractionnement est plus efficace que la double application d'automne, mais cette différence s'estompe quelque peu à l'approche de la récolte. La répartition de cette dose de 50 g/ha en trois applications (2<sup>ème</sup> quinzaine d'octobre puis 2<sup>ème</sup> quinzaine de novembre et sortie hiver) montre peu d'écart avec la stratégie en double application. Les essais montrent également qu'un fractionnement trop important peu s'avérer insuffisant en raison certainement du manque d'efficacité propre à chacune des applications (notion de dose « plancher »). Dans ce type de stratégie en trois applications, les meilleures performances (vigueur, rendement, efficacité sur le peuplement d'orobanche) sont obtenues avec la dose totale de 75 g/ha. Mais il reste cependant à consolider la comparaison avec la triple application de 16.5 g/ha (soit 50 g/ha d'imazamox au total).

Les essais réalisés montrent que la lutte chimique est insuffisante seule, tant que la variété utilisée ne présente pas non plus un bon comportement face au parasite. L'expérimentation 2012 confirme que la meilleure stratégie consiste donc à combiner ces deux solutions. Les résultats restent cependant à consolider. Il semble en effet qu'un bon comportement variétal tend à limiter l'écart entre les doses totales de 50 et 75 g/ha d'imazamox.

Les doses d'imazamox et les programmes testés dans l'expérimentation commune CETIOM et BASF Agro et discutées sont spécifiques et sortent du cadre de l'homologation herbicide de Cleranda et Cleravis. De ce fait, le moyen de lutte chimique envisagé ici sera basé sur l'emploi d'une solution dédiée spécifiquement pour l'usage « orobanche » et dont l'obtention de l'AMM sera soumise aux exigences réglementaires de respects des normes de toxicité, d'écotoxicité, d'environnement et autres obligations. Ces contraintes impacteront à coup sûr la dose totale retenue, d'où l'intérêt de poursuivre l'expérimentation à différentes doses. De fait cet article reste un exposé de l'avancée de nos travaux, étape préalable à la définition des positions techniques qui seront retenues dans la demande d'AMM et pour les préconisations futures.

L'orobanche rameuse est un parasite à très fort taux de multiplication et souvent présent en très forte densité de population dans les parcelles. Dans ce cadre, la méthode de lutte qui consiste à mettre en œuvre un herbicide de type inhibiteur de l'ALS rend incontournable la conjugaison des moyens de lutte disponibles (lutte chimique, utilisation de variétés à bon comportement, mise en œuvre d'itinéraires techniques adaptés et de tout autre moyen de lutte) afin de limiter tout risque de développement de populations résistantes.

La solution proposée s'inscrit dans le cadre du plan d'accompagnement défini pour les variétés tolérantes aux herbicides (VTH) qui précise en particulier les bonnes pratiques à mettre en œuvre afin de pérenniser les bénéfices des solutions.

## REMERCIEMENTS

A tous les techniciens et hommes de terrains qui ont mis en place et suivi les essais au champ contre l'orobanche : Thierry Levengeux, Patrice Cabiac, Christophe Caudron, Florian Girardeau, Antonio Garcia, Jacky Morencé et les agriculteurs dont monsieur Goulard.

## BIBLIOGRAPHIE

Fer A., Thalouarn P., 1997. L'orobanche, une menace pour nos cultures. Phytoma n°499. 34-39

Garcia-Torres et López-Granados (1991) Control of broomrape (*Orobanche crenata* Forsk.) in broad bean (*Vicia faba* L.) with imidazolinones and other herbicides. Weed Research 31, 227-235

Garcia-Torres et López-Granados (1991) Progress of herbicide control of broomrape (*Orobanche* spp.) in legumes and sunflower (*Helianthus annuus* L.). 5th Int. Symposium on Parasitic Weeds, Nairobi. pp.306-309

Kasasian (1973) Miscellaneous observations on the biology of *Orobanche crenata* and *Orobanche aegyptiaca*. European Weed Research Council, Proceedings, pp.68-75

Zemrag A., 1999. L'orobanche Monographie et gestion dans la culture des légumineuses alimentaires. Transfert de technologie en agriculture n°63. Décembre 1999.