

## Évaluation de l'efficacité de différentes pratiques culturales dans la lutte contre l'orobanche rameuse par une méthode de quantification du stock grainier et cartographie du parasite sur le territoire français

Jestin C.<sup>1</sup>, Boulet C.<sup>3</sup>, Molénat D.<sup>4</sup>, Leflon M.<sup>1</sup>, Benharrat H.<sup>3</sup>, Baraton E.<sup>5</sup>, Legros S.<sup>2</sup>, Simier P.<sup>3</sup>

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

<sup>2</sup> CETIOM, 2 rue Gustave Eiffel, CS 90601, 10901 Troyes cedex 9

<sup>3</sup> Université de Nantes, Nantes-Atlantique Universités, Laboratoire de Biologie et Pathologie Végétales, EA 1157, UFR Sciences et Techniques, 2, rue de la Houssinière, 44322 Nantes, France

<sup>4</sup> Chambre d'agriculture de la Vendée, Impasse J. Maingueneau, 85200 Fontenay-le-Comte, France

<sup>5</sup> Chambre d'agriculture Les Deux-Sèvres, Maison de l'agriculture, BP 80004, 79231 Prahecq cedex

Correspondance : [jestin@cetiom.fr](mailto:jestin@cetiom.fr)

### Résumé

L'orobanche rameuse (*Phelipanche ramosa*), plante parasite obligatoire, cause des dégâts importants en France pour les cultures de colza, chanvre et tabac. Il n'existe aucune méthode de lutte efficace. L'objectif de ce projet a consisté à mieux cartographier le parasite en France et à quantifier l'efficacité de pratiques culturales susceptibles de réduire le stock grainier de l'orobanche. Le recensement de parcelles infestées a mis en évidence des zones infestées en Poitou-Charentes et Vendée, mais aussi dans le Nord-Est et ponctuellement dans le Sud. Une analyse moléculaire de la diversité a permis de définir trois types génétiques (I, II et III) chez l'orobanche, avec une quasi-exclusivité du type I dans l'Ouest et une dominance du type II dans le Nord-Est. L'efficacité des pellicules de graines de colza pour stimuler la germination de l'orobanche s'est avérée être très relative dans des essais sur chanvre et colza. L'évaluation du comportement d'espèces adventices (76) et cultivées (34) sous infestation artificielle a permis d'identifier les espèces susceptibles de multiplier l'orobanche, mais aussi d'identifier certaines espèces cultivées non hôte ou faux hôte, pouvant de ce fait être utilisées au champ pour réduire le stock grainier : c'est le cas du lin, du maïs ou du tournesol. La variabilité des résultats obtenus au champ et certaines observations contre intuitives nécessiteront d'être vérifiées par de nouveaux travaux.

**Mots-clés :** chanvre, colza, germination suicide, faux hôte, non hôte, *Phelipanche ramosa*, quantification,

### Abstract: Efficiency evaluation of various agronomic practices for the control of branched broomrape through seed bank quantification and parasite mapping on the French territory

Branched broomrape (*Phelipanche ramosa*), an obligate parasitic plant, causes important yield losses in France for oilseed rape, hemp and tobacco crops. There is no effective control method. The objective of this project was to better evaluate the presence of this parasite in France and quantify agricultural practices to reduce the seed bank. Infested plots were identified in Poitou-Charentes, Vendée, but also in North-East and sometimes in the South. Molecular analysis of *P. ramosa* diversity has highlighted three genetic types (I, II and III), the type I being largely dominant in Vendée and Poitou-Charentes and the type II in North-East. Use of rapeseed seed hulls showed a mixed efficiency as germination stimulant to reduce the level of infestation, for hemp and oilseed rape crops. The evaluation of weed (76) and crops (34) species behavior under artificial infestation revealed the species which are a risk of multiplication for broomrape. However, several crops appeared promising to reduce the seed bank of *P. ramosa* in the field, owing to their trap-plants or non-host behavior, as the flax, corn or sunflower. The variability of the results in field assays and some counter-intuitive observations make it necessary to carry out new experiments.

**Keywords:** false host, hemp, non host, oilseed rape, *Phelipanche ramosa*, quantification, suicidal germination

## Introduction

Présente de façon endémique en France, l'orobanche rameuse (*Phelipanche ramosa* (L.) Pomel) (Joel, 2009) est une adventice parasite redoutable dont l'impact sur les cultures françaises croît depuis les années 1990 du fait du nombre de cultures concernées, de l'extension géographique des zones infestées et de la simplification des systèmes de culture. Ce parasite est capable d'adapter la durée de son cycle de développement à son hôte, de quelques semaines chez *Arabidopsis* jusqu'à 10-11 mois chez le colza (Gibot-Leclerc, 2004 ; Brault-Hernandez, 2006). Il provoque de ce fait des dégâts aussi bien sur des cultures d'hiver telles que le colza, que sur des cultures de printemps telles que le tabac, le chanvre, le melon, voire, de façon très récente, sur le tournesol (Brault *et al.*, 2007 ; Gibot-Leclerc *et al.*, 2003 ; Nowak et Leflon, 2010). En se fixant au système racinaire de son hôte, l'orobanche détourne les éléments nutritifs pour croître et se multiplier (Joel *et al.*, 2007 ; Parker 2009). Ce parasitisme affaiblit les cultures, et peut induire jusqu'à 100% de pertes de rendement sur les parcelles très infestées. Des tests d'infestation en conditions contrôlées couplés à des analyses moléculaires ont montré qu'il y avait au moins deux pathovars français, avec une spécificité d'hôte (Benharrat *et al.*, 2005 ; Brault *et al.*, 2007).

Les surfaces touchées par l'orobanche et la gravité des infestations sur ces surfaces augmentent constamment. L'orobanche est déjà fortement présente en régions Poitou-Charentes et Pays de la Loire (Chauvel *et al.*, 2005 ; Gibot-Leclerc *et al.*, 2003 ; Nowak et Leflon, 2010) (plus de 50.000 ha touchés), et de nouvelles parcelles infestées sont régulièrement signalées, en particulier dans l'Est de la France (Nowak et Leflon, 2010). Les surfaces infestées par l'orobanche continuent d'augmenter, pour plusieurs raisons : (1) l'orobanche produit de très nombreuses graines ( $>10^5$  graines/plante) ayant un fort potentiel de dispersion et une viabilité supérieure à 10 ans, (2) l'orobanche a un large spectre d'hôtes comprenant des espèces cultivées et de nombreuses adventices (Boulet *et al.*, 2001, 2007, 2013 ; Gibot-Leclerc *et al.*, 2003 ; Simier *et al.*, 2013) et (3) l'orobanche semble pouvoir se développer dans toutes les conditions pédoclimatiques françaises. Les pertes de qualité et de rendement liées au parasitisme amènent certains producteurs à réduire leurs surfaces de production par manque de terres saines disponibles, voire à abandonner la culture parasitée. Cette situation s'avère préoccupante dans le cadre de développement de certaines cultures (colza pour les biocarburants, chanvre pour les biomatériaux), de l'installation de productions nouvelles ou de coexistence de plusieurs cultures. La gestion de l'orobanche constitue un enjeu majeur aussi bien en France pour la pérennité de ces espèces cultivées, mais également au niveau international pour la garantie de semences indemnes d'orobanches.

Les nombreux travaux conduits par les filières concernées (colza, chanvre, tabac, melon) n'ont abouti à ce jour à aucune méthode de lutte efficace et durable contre ce parasite. Différentes études en conditions contrôlées et/ou champ (Boulet *et al.*, 2007 ; Nowak et Leflon, 2010 ; Qasem *et al.*, 2007 ; Rubiales *et al.*, 2009) ont montré l'intérêt de certaines cultures pour réduire le stock grainier, en exploitant le potentiel de certaines espèces (i) sensibles en tant que cultures pièges, à condition de détruire ces cultures avant fructification de l'orobanche, (ii) faux hôtes capables de stimuler la germination de l'orobanche sans que celle-ci se fixe à la plante, (iii) à résistance, totale ou partielle, voire immunes vis-à-vis du parasite. Des travaux récents, menés à l'Université de Nantes et soutenus par les semenciers et la filière oléagineuse, ont permis de développer un outil de quantification moléculaire des graines dans les lots de semences (Dongo *et al.*, 2012). L'adaptation de cet outil à la quantification d'ADN d'orobanche dans le sol offre la possibilité d'évaluer différentes méthodes de réduction des stocks grainiers, directement au champ, en conditions réelles de production.

Dans ce contexte, ce projet a eu pour ambition de finaliser la mise au point d'un outil de quantification moléculaire et de l'exploiter afin d'évaluer l'effet de différentes pratiques culturales favorables ou non à l'orobanche, en particulier pour des systèmes de culture impliquant le colza et/ou le chanvre. En parallèle de cet objectif majeur, ce projet a visé à faire progresser la cartographie de l'orobanche sur le territoire français.

Dans cette optique, les résultats issus de ce projet sont destinés à la fois (i) aux agriculteurs, par l'élaboration de recommandations visant à augmenter la durabilité de leur système de culture et (ii) à la recherche, pour aboutir à une meilleure connaissance des populations d'orobanches, et pour l'obtention d'une base de données conséquente sur les facteurs (dé)favorables à l'orobanche nécessaire à la conception de modèles de dynamique du stock grainier de cette plante parasite.

Ce projet a reposé sur un partenariat entre le centre technique des oléagineux et du chanvre industriel (CETIOM), le laboratoire de biologie et de pathologie végétale (LBPV) de l'université de Nantes et les chambres d'agriculture de Vendée (CA85) et des Deux-Sèvres (CA79). Le projet s'est articulé autour de deux axes majeurs :

- **un axe méthodologique** qui constitue un volet du projet, (i) pour la mise au point et le transfert d'une méthode de quantification moléculaire des graines d'orobanche généralisable à tout type de sol, (ii) pour la mise au point d'un protocole d'échantillonnage du sol pour évaluer les pratiques culturales sur le stock semencier d'orobanche, et (iii) pour la mise au point d'outils/stratégies pour cartographier le parasite sur le territoire français;
- **un axe de développement** qui regroupe un volet sur la **cartographie du parasite** et plusieurs volets concernant la **gestion des stocks grainiers** d'orobanche rameuse dans les sols en évaluant des pratiques culturales/facteurs (dé)favorables à la multiplication du parasite.

## 1. Cartographie de l'orobanche rameuse

L'objectif de cette tâche était de cartographier la présence de l'orobanche rameuse, et de déterminer la diversité génétique du parasite à l'échelle du territoire français.

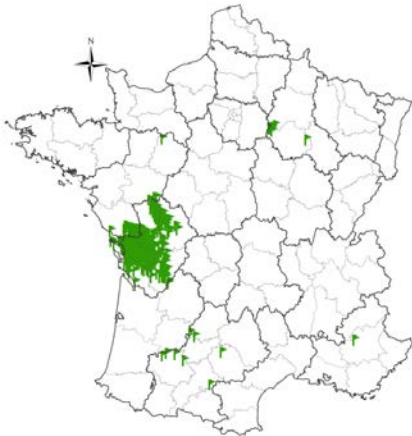
### 1.1 L'orobanche s'étend sur le territoire français

Un suivi des infestations a été réalisé selon une démarche participative : en effet, un questionnaire en ligne a été élaboré pour permettre à quiconque d'apporter sa contribution ([www.cetiom.fr/orobanche](http://www.cetiom.fr/orobanche)). La remontée de ces informations et la prospection de parcelles durant le projet, en particulier dans les bassins de production de chanvre, ont permis de recenser 220 parcelles infestées. Les coordonnées de parcelles identifiées antérieurement au projet, notamment à travers des enquêtes kilométriques réalisées par le CETIOM, sont venues enrichir la base de données. L'ensemble de ces informations met en avant plus de 930 parcelles réparties sur **plus de 400 communes**. Les infestations se concentrent essentiellement en Poitou-Charentes et en Vendée, zone historique de la présence du parasite. Cette enquête a permis de mettre en avant la présence de l'orobanche dans d'autres zones telle que le Nord-Est, en particulier dans l'Aube, et plus localement sur quelques parcelles dans le Sud-Ouest ou Sud-Est. Les cultures concernées sont essentiellement le colza (Figure 1) et le chanvre, mais des infestations ont également été observées de manière anecdotique sur tabac, tournesol et autres cultures (<http://www.cetiom.fr/orobanche/carte.php>).

### 1.2 Distribution génétique de l'orobanche rameuse sur le territoire français

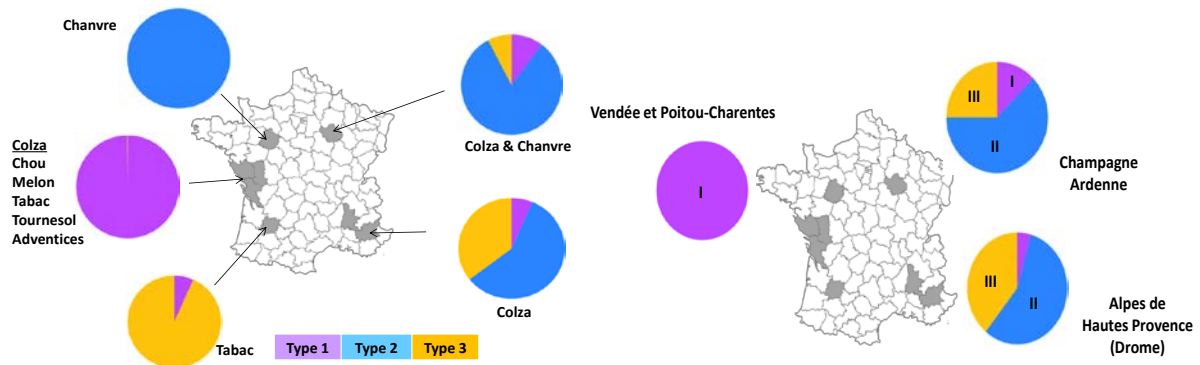
Deux marqueurs moléculaires de type cytosoliques (Nad4=mitochondrial ; Rpl2=plastidial) définis antérieurement au projet (Projet Promosol 2008-2010 ; collaboration LBPV et UMR IGEPP Rennes) ont été utilisés sur des orobanches issues d'un plan d'échantillonnage réalisé sur trois années, soit 75 sites répartis sur trois zones principales (Ouest, Nord-est et Sud-Ouest). Ces marqueurs ont permis de trier les orobanches en trois types génétiques (sur les quatre théoriquement possibles). Cumulées aux données obtenues antérieurement, les analyses réalisées révèlent des différences de proportion des types génétiques entre régions (Figure 2). Dans l'**Ouest**, seul le **type génétique 1** a été recensé (à l'exception de deux sur tabac). Dans les **autres régions**, les **trois types coexistent en proportion variable**, avec une prédominance du type 2 en Champagne-Ardenne sur chanvre et colza. La plupart des populations typées sont homogènes, même si la coexistence des trois types génétiques a été observée au sein d'une parcelle de colza dans l'Est.

Curieusement, le type 1 a parfois été trouvé sur chanvre au champ (dans l'Est), alors qu'en conditions contrôlées, le lot de référence du LBPV de type 1 ne se développe pas sur cette espèce.



**Figure 1 :** Présence de l'orobanche rameuse sur la culture de colza en France (<http://www.cetiom.fr/orobanche/carte.php>, consultée en juin 2013)

Il est probable que les marqueurs génétiques utilisés ne mettent pas en évidence toute la diversité génétique des populations françaises, et notamment qu'ils ne soient pas strictement associés au spectre d'hôtes de l'orobanche. De même, lier le type génétique aux populations présentes est encore risqué à ce stade, les différentes cultures étant plus ou moins représentées dans les différentes régions.



**Figure 2 :** Proportion des types génétiques de l'orobanche rameuse par espèce hôte, et par région pour le colza

## 2. Identification en conditions contrôlées des facteurs agissant sur le stock grainier de l'orobanche rameuse

L'orobanche a la particularité de ne germer qu'en présence d'un hôte. Le meilleur moyen de réduire les stocks grainiers d'orobanche est de semer une plante hôte pour stimuler l'orobanche, avec le risque, si la culture n'est pas détruite assez tôt, que l'orobanche puisse se re-multiplier. Les actions présentées ci-dessous et entièrement réalisées en conditions contrôlées ont eu pour objectifs (1) d'évaluer le comportement de plusieurs espèces cultivées susceptibles d'être intégrées dans les systèmes de culture incluant le colza ou le chanvre, et d'espèces adventices susceptibles d'être présentes dans les parcelles des agriculteurs vis-à-vis de l'orobanche rameuse, en conditions contrôlées et (2) d'évaluer l'effet de résidus de trituration des graines de colza comme inducteur de « germination suicide » de l'orobanche rameuse.

## 2.1 Caractérisation du comportement de différentes espèces cultivées ou adventices vis-à-vis de l'orobanche

### 2.1.1 Interaction espèces cultivées × orobanche rameuse

Différentes séries d'expérimentation ont été mises en place dès 2010 afin de tester ou de valider<sup>1</sup> les interactions analysées depuis plusieurs années au LBPV (Université de Nantes) entre différentes espèces et l'orobanche. Ces tests ont été réalisés en boîte de Petri (mini-rhizotrons) sous contamination artificielle, afin de comptabiliser les orobanches à chacun des stades de leur développement.

**Trente-quatre espèces** (dont 22 au cours du projet), appartenant à 9 familles botaniques, ont été testées pour leur sensibilité à l'un et/ou l'autre des types génétiques I et II de l'orobanche rameuse. Pour certaines de ces espèces, plusieurs variétés ont été testées. Des espèces sensibles, non hôtes parasitées (l'orobanche se fixe mais son développement est bloqué) ou non parasitées (faux hôtes ou non hôtes stricts) ont été observées (Boulet *et al.* en préparation).

Plusieurs espèces ont montré un intérêt dans la lutte contre l'orobanche, en raison de leur caractère non hôte, notamment chez les Poacées (maïs, blé tendre d'hiver, orge de printemps et d'hiver, triticale, moha, sorgho) mais également chez les Astéracées (tournesol, niger), Chénopodiacées (betterave fourragère), Linacées (lin oléagineux), Hydrophyllacées (phacélie), Fabacées (sainfoin, soja, vesce pourpre, pois, trèfle hybride, trèfle blanc, trèfle violet, trèfle incarnat), Polygonacées (sarrasin) et Papavéracées (oeillette). Certaines de ces espèces ont présenté un intérêt supplémentaire en raison de leur capacité à stimuler la germination de l'orobanche sans que celle-ci puisse se fixer à l'hôte, c'est le cas du lin oléagineux. D'autres espèces ont montré un potentiel en tant que culture sensible pour piéger l'orobanche : c'est le cas de certaines Brassicacées (moutarde blanche, navette d'hiver, moutarde brune, caméline, colza) ou Fabacées (vesce cultivée, fenugrec, trèfle d'Alexandrie, gesse, lentille).

Même si l'extrapolation à l'espèce de comportements observés sur quelques variétés est risquée (Palleau 2010 ; Gauthier *et al.*, 2012 ; Nowak *et al.*, 2013), ces résultats ont permis d'établir une liste d'espèces prometteuses dans la lutte contre l'orobanche, dont les effets restent à mesurer au champ.

### 2.1.2 Interaction adventices × orobanche rameuse

Les adventices sensibles constituent un facteur important de multiplication de l'orobanche. Les adventices majeures associées à la culture du colza ou du chanvre ou/et aux cultures rentrant en rotation avec ces dernières ont été analysées en priorité. Les tests de sensibilité de ces espèces à *P. ramosa* ont été réalisés en pot en serre, et sous infestation artificielle avec les types génétiques I et II d'orobanche. Le degré de sensibilité des adventices a été estimé en fonction du nombre d'orobanches fixées par gramme de matière fraîche racinaire ou par plante hôte. Quarante espèces, appartenant à différentes familles, ont été (re)testées<sup>1</sup> durant le projet : *Aethusa cynapium*, *Alopecurus myosuroides*, *Ammi majus*, *Anagallis arvensis*, *Anthriscus caucalis.*, *Aphanes arvensis*, *Bromus hordeaceus ssp. Mollis*, *Bromus sterilis*, *Capsella bursa-pastoris*, *Centaurea cyanus*, *Chenopodium album.*, *Cirsium arvense*, *Daucus carota*, *Erodium cicutarium*, *Erodium moschatum*, *Euphorbia helioscopia*, *Fumaria muralis*, *Fumaria officinalis*, *Geranium molle*, *Geranium pusillum*, *Lamium purpureum*, *Lolium multiflorum*, *Lolium perenne*, *Matricaria discoidea*, *Matricaria perforata*, *Matricaria recutita*, *Mercurialis annua*, *Myosotis arvensis*, *Papaver rhoeas*, *Polygonum aviculare*, *Polygonum convolvulus*, *Polygonum persicaria*, *Raphanus raphanistrum*, *Sherardia arvensis*, *Silybum marianum*, *Sinapis arvensis*, *Sisymbrium irio*, *Sisymbrium officinale*, *Veronica hederifolia*, et *Veronica persica*. A ces résultats, se sont ajoutés ceux obtenus antérieurement par le LPBV, soit 76 espèces évaluées.

Les adventices ont montré une grande variabilité de réponse vis-à-vis des différents types génétiques du parasite (voir détails dans Boulet *et al.*, 2013). Parmi les **76 espèces adventices** appartenant à 24 familles botaniques, 41 espèces (soit 54%) sont apparues sensibles mais à des degrés divers, 17

<sup>1</sup> Ce travail a été en partie financé par le CETIOM (convention de recherche CETIOM-Univ. de Nantes, LBPV).

espèces (soit 22%) ont présenté un comportement non hôte parasité (l'orobanche se fixe mais son développement est bloqué) et 18 espèces (soit 24%) sont apparues non hôtes non parasitées (non hôtes stricts ou faux hôtes).

**Certaines familles** botaniques se sont montrées particulièrement **pourvoyeuses d'adventices sensibles** : Astéracées, Brassicacées, Géraniacées et Rubiacées. En cas d'abondance sur le terrain, elles constituent des réservoirs secondaires permettant d'enrichir le stock grainier du parasite. A l'inverse, de nombreuses autres espèces issues de différentes familles botaniques sont apparues être non hôtes (parasitées ou non) : Amaranthacées, Borriginacées, Chénopodiacées, Convolvulacées, Dianthacées, Euphorbiacées, Fabacées, Onagracées, Papavéracées, Plantaginacées, Poacées, Polygonacées, Portulacacées, Primulacées, Rosacées, Solanacées et Violacées.

Il a cependant été noté que certaines espèces ont présenté un comportement différent de celui observé en conditions naturelles. C'est le cas de la pensée des champs (*Viola tricolor* ssp. *arvensis*), qui, espèce non hôte parasitée avec le type I et II en conditions contrôlées, est apparue sensible au champ. Ces différences peuvent être expliquées par (i) l'utilisation de génotypes/populations hôtes différents, puisqu'une variabilité de réponse au sein de l'espèce peut exister comme c'est le cas pour le colza (e.g. Gauthier *et al.*, 2012), (ii) des facteurs environnementaux méconnus non reproduits en serre qui modulent l'interaction orobanche\*plante hôte (stress/facteur abiotique ou biotique, populations d'orobanches différentes de celles utilisées en laboratoire...) ou (iii) par une mauvaise évaluation au champ de l'espèce ayant stimulé la germination de l'orobanche.

Ces données acquises sur la flore adventice vont permettre de sensibiliser davantage les agriculteurs aux adventices hôtes de l'orobanche et d'élaborer un meilleur conseil dans le désherbage pour limiter les facteurs de multiplication de l'orobanche. Ces résultats sont également valorisés à travers l'outil infloWeb (CASDAR AAP 2010) qui aide au raisonnement des stratégies de désherbage compatibles avec les objectifs de la profession agricole.

## 2.2 Résidus de trituration des graines de colza comme inducteur de « germination suicide » de l'orobanche rameuse

Des travaux préliminaires (Benharrat, comm. pers., 2005) ont permis de démontrer qu'il était possible d'induire la germination des graines du parasite par l'utilisation de résidus de trituration de graines de colza.

Des expérimentations ont été menées en pot et en serre afin d'évaluer l'impact d'un amendement avec différentes modalités de pellicules et/ou des tourteaux de colza (Tableau 1) sur le degré d'infestation de la plante hôte par l'orobanche. Ces tests consistaient à incorporer dans le substrat (mélange terre/sable/tourbe), infesté artificiellement en graines d'orobanche, des pellicules ou du tourteau issus de la trituration de graines de colza. L'impact des amendements a été évalué en comparaison avec un témoin non traité par le dénombrement des orobanches fixées et émergées par plante hôte, et par la cinétique d'émergence des orobanches (n=10 par modalité). Deux pathosystèmes ont ainsi été analysés : colza variété ES Alienor / *P. ramosa* (type génétique I) ; chanvre variété F17 / *P. ramosa* (type génétique II), le colza étant exclusivement confronté au type génétique I en région Poitou-Charentes, et le chanvre plus fréquemment au type génétique II dans l'Aube. Différents facteurs, seuls ou en interaction (nature des pellicules \* dose) ainsi que l'efficacité dans le temps (3, 6 et 9 mois) des pellicules et tourteaux (rémanence) ont été étudiés (Tableau 1).

L'**incorporation des résidus** de trituration a permis dans certaines situations de **réduire le taux d'infestation** (émergence et fixation) et/ou de réduire la cinétique de développement du parasite (Figures 3 et 4) avec un effet davantage marqué pour les pellicules que le tourteau. Ce dernier a parfois favorisé le taux d'infestation. Un effet azote *via* les tourteaux a été soupçonné mais non vérifié dans le projet.

**Tableau 1** : Facteurs étudiés dans l'interaction hôte\*orobanche en présence de résidus de trituration de graines de colza.

	Colza * orobanche type I	Chanvre * orobanche type II	
<b>Effet Nature des pellicules/tourteau</b>	PC PG TG	PC PG TG	PA PE PO
<b>Effet Dose</b>	5 et 10 g (P+T)	5 et 10 g (PC, PG, TG) puis 4, 2, 1 et 0,5 g (P)	
<b>Effet Formulation pellicules</b>	-	PC+PA ; PC+PE ; PC+PG (1 : 1 pour une dose de 2 g)	
<b>Effet Rémanence pellicules</b>	PC ; PG ; TG (5 g) (*)	PC ; PG ; TG (5 g)	

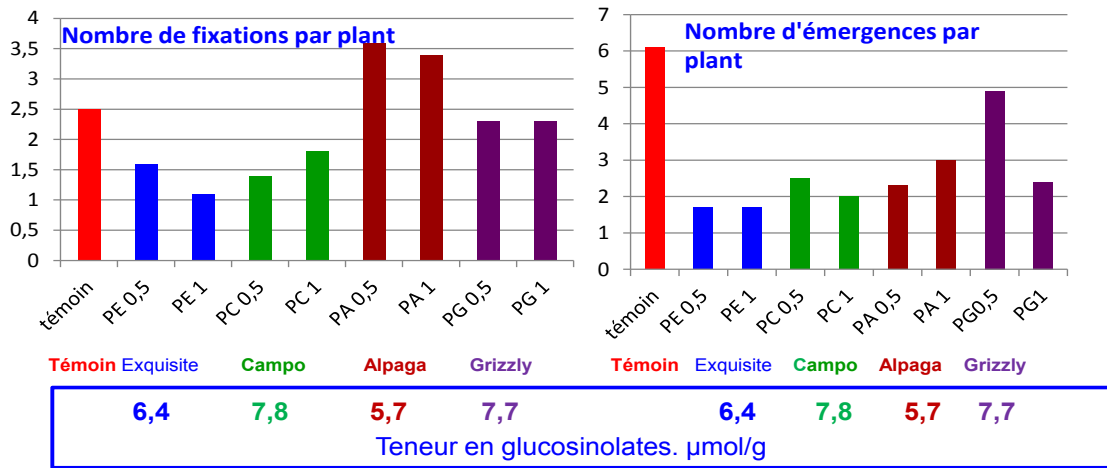
PC, PG, PA, PE, PO : pellicules de la variété de colza Campo, Grizzly, Alpaga, Exquise, Ovation ; P : pellicules ; T : tourteau ; TG : Tourteau des graines de la variété de colza Grizzly ; (\*) échec de l'expérimentation

**L'efficacité des pellicules** s'est révélée être **dépendante de la variété** de colza d'origine, de la **dose** utilisée et de la **durée d'incorporation**, avec une interaction entre les facteurs, pour les différentes variables mesurées : nombre de fixations, émergences (Figure 3), cinétique de développement (Figure 4), et architecture de l'orobanche. A titre d'illustration, les pellicules n'ont pas eu d'effet sur la variable nombre d'émergences dans le pathosystème Chanvre \* orobanche type II aux doses 2g et 4g, mais ont eu un effet à des doses inférieures, en particulier avec les pellicules Campo et Exquise (Figure 3). De plus, selon la dose et la variété de pellicules, il a été possible de réduire la cinétique de développement du parasite (Figure 4). La formulation d'un mélange de pellicules n'a cependant pas permis de réduire le taux d'infestation par rapport au témoin.

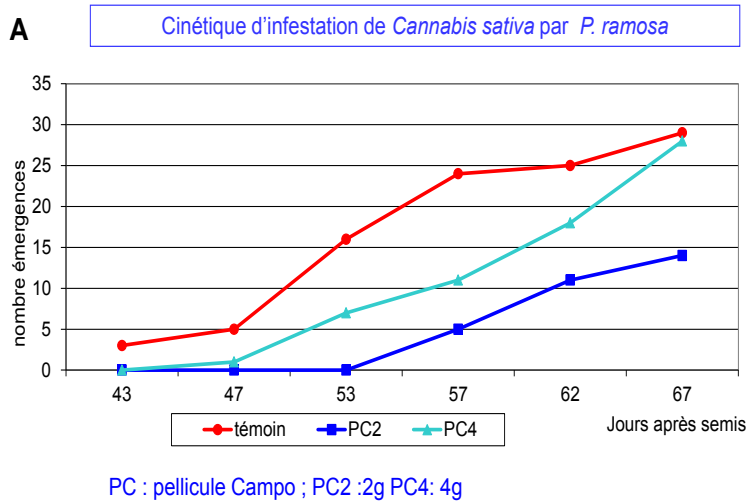
Les pellicules (ou leurs produits de dégradation) semblent avoir entraîné une **dérégulation hormonale chez l'orobanche**, à l'origine de la **modification architecturale** (inhibition de la ramification de la hampe florale). Ces résultats ouvrent des pistes prometteuses dans l'étude de l'interaction plante \* orobanche. Aucun effet marqué n'a été observé chez la plante hôte (colza, chanvre), autre qu'un gain net de croissance en raison d'un moindre développement de l'orobanche.

Dans le sol, au niveau de la rhizosphère, les glucosinolates, *via* leurs produits de dégradation (notamment les isothiocyanates), sont susceptibles d'induire la germination des graines de *P. ramosa* (Auger *et al.*, 2012). **Aucun lien** n'a cependant été observé entre les variables mesurées et la **teneur en glucosinolates** contenus dans les pellicules (Figure 3), mais il n'est pas exclu que certaines classes de glucosinolates ou produits de dégradation de ces dernières soient à l'origine de l'effet du traitement. Les travaux récents de Gaudin (2013) ont souligné l'influence de la fertilisation NPK sur l'agressivité de l'orobanche vis-à-vis de la plante hôte (colza dans cette étude). Une analyse minérale des différentes pellicules utilisées dans ces expérimentations pourraient également apporter des précisions quant à l'implication de ces composés minéraux dans l'activité des pellicules sur l'interaction hôte-parasite.

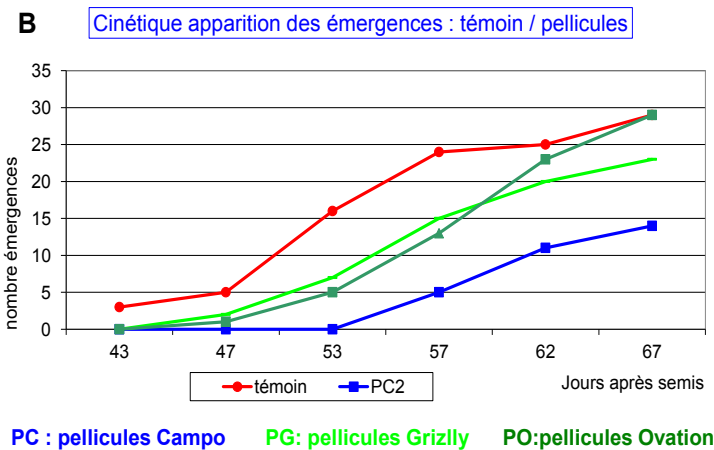
La flore microbienne peut intervenir dans la mise en place de l'interaction hôte\*parasite (Auger *et al.* 2012). Cette flore microbienne reste inconnue et n'est donc pas contrôlée. Ceci **peut expliquer l'échec de certaines expérimentations**, et la variabilité importante observée entre répétitions dans les tests en conditions contrôlées.



**Figure 3 :** Impact des pellicules d'exquiste (PE), campo (PC), alpaga (PA) et grizzly (PG) à deux doses, 0.5 et 1g, sur le nombre de fixations et d'émergences d'orobanche dans le pathosystème Chanvre \* orobanche type II. La teneur en glucosinolates des pellicules est présentée sous chaque modalité.



**Figure 4 :** Cinétique du développement de l'orobanche dans le pathosystème chanvre \* orobanche type II avec effet dose (A) et effet nature des pellicules (B).



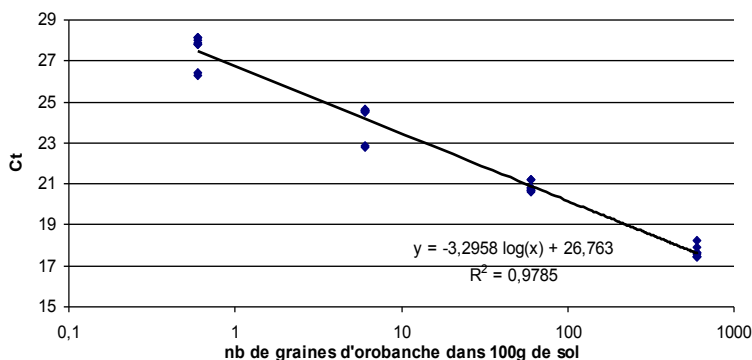


### 3. Évaluation de méthodes de lutte pour réduire le stock grainier de l'orobanche en conditions naturelles d'infestations

#### 3.1 Quelles méthodes pour évaluer le stock grainier ?

Les graines d'orobanche dans les sols peuvent être quantifiées de deux manières : un dénombrement à la loupe binoculaire ou une quantification basée sur la technique d'amplification de l'ADN (PCR). Elle repose donc sur au moins deux étapes-clés que sont la séparation des graines d'orobanche de la matrice sol, 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 (Bammé *et al.* 2013). L'objectif de ce volet était de valider un outil moléculaire développé par Dongo *et al.* (comm. pers.) qui puisse être utilisé dans l'évaluation du stock grainier sur tout type de sol, en lieu et place d'un dénombrement à la loupe binoculaire qui reste fastidieux et moins spécifique (pas de distinction des différentes espèces d'orobanche).

La question de la validation de la méthode sur sol s'est posée du fait de la possible présence de particules ou de molécules dans le sol pouvant favoriser ou entraver l'extraction (taux de récupération de l'ADN) et la purification de l'ADN (élimination ou non d'inhibiteurs de la PCR). La méthode de quantification présentée dans cette partie est mise en œuvre à partir de résidus de sol obtenus par la méthode Flottaison-Centrifugation-Filtration lors de l'extraction des graines (Bammé *et al.* 2013). 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**. 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 dépendent 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 5 :** Courbe standard obtenue pour la quantification par PCR de l'orobanche dans un sol argilo-calcaire.

L'application de cette méthode à d'autres types de sols a cependant révélé un effet variable de la matrice sol sur la PCR. 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. La méthode PCR établie ne permet donc pas d'estimer une quantité absolue de graines d'orobanche dans un échantillon de sol, mais permet toutefois de donner des quantités relatives de graines d'orobanche entre échantillons sur une même matrice sol (même parcelle, même date de prélèvement). Des travaux sont encore en cours pour améliorer la robustesse de la méthode.

En raison des difficultés rencontrées, nous avons préféré réaliser un **comptage à la loupe binoculaire** dans l'évaluation des méthodes de lutte destinées à réduire le stock grainier de l'orobanche.

### 3.2 Pellicules de graines de colza comme inducteur de la germination suicide

Ce volet a eu pour objectif de valider au champ l'intérêt qu'ont présenté les pellicules de graines de colza dans la réduction du niveau d'infestation en conditions contrôlées, comme inducteur de stimulant de germination des graines d'orobanche.

#### 3.2.1 Dispositif

Un essai « colza » et un essai « chanvre » ont été mis en place deux années consécutives dans des parcelles naturellement infestées d'orobanche rameuse. La première année d'expérimentation a consisté pour chaque culture à tester plusieurs doses (0, 0.5 et 0.25 kg/m<sup>2</sup>) d'un mélange de pellicules d'origine inconnue dans un dispositif en microparcelles avec trois blocs/modalité. La seconde année, les modalités ont été choisies en lien avec les résultats de l'année précédente et ceux obtenus en conditions contrôlées. Pour la culture de colza, des pellicules de deux origines distinctes (variétés de colza DK Exquise ou Alpaga) ont été testées à trois doses (0, 0,25 et 0,125 kg/m<sup>2</sup>). Pour la culture de chanvre, les modalités à tester ont été l'origine des pellicules (variétés de colza DK Exquise et Alpaga) et la date d'incorporation des pellicules par rapport au semis (J-21 et J-2) à la dose pleine (0,5 kg/m<sup>2</sup>).

La validation de l'effet des pellicules de graines de colza a été réalisée au champ pour la culture de colza et de chanvre, en mesurant le nombre de fixations et d'émergences d'orobanche sur la culture hôte, et en quantifiant le nombre de graines d'orobanches sous loupe binoculaire après les avoir extraites du sol (200g) par une méthode de flottaison-centrifugation-filtration (Bammé *et al.* 2013).

#### 3.2.1 Impact des pellicules de graines de colza sur l'interaction colza×orobanche

La seconde année d'expérimentation, les orobanches ont nécrosé sans lien avec le traitement, c'est pourquoi seuls les résultats de la première année sont présentés. Les observations (Tableau 2) 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 d'effet dose. De même, le traitement réduit le développement des hampes florales de l'ordre de 30 %, toujours sans effet de la dose de biostimulant appliquée. Toutefois, les différences observées entre le témoin et les modalités traitées sur ces deux variables ne sont pas significatives (au seuil  $\alpha=15\%$ ), ce qui peut s'expliquer par la variabilité importante observée entre bloc et entre plantes pour chacune des modalités.

**Tableau 2** : Nombre moyen de tubercules et de hampes florales d'orobanche par pied de colza 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

Les analyses de sol révèlent une forte hétérogénéité (données non montrées) 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 3) 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. Vu l'hétérogénéité du dispositif, le nombre de répétitions est trop faible pour que ces différences soient démontrées au niveau statistique (pas de différence au seuil  $\alpha=15\%$ ).

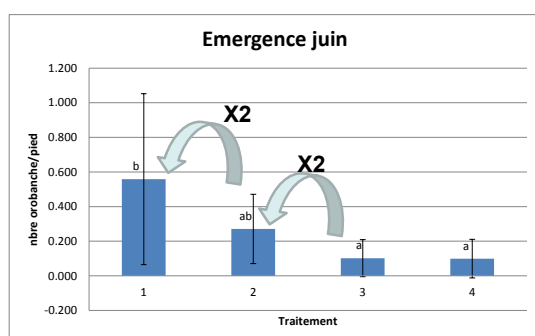
**Tableau 3** : Quantification des graines d'orobanche dans le sol en fonction des différentes modalités de pellicules de colza testées (données moyennes sur 3 blocs).

	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

L'utilisation d'un mélange de **pellicules** semble avoir **induit la germination** des graines d'orobanche tout en réduisant leur capacité à se fixer sur la plante, dans le cadre de la culture de colza. L'effet des biostimulants sur la « germination suicide » est apparu peu bloc dépendant, à l'inverse de celui sur les fixations et les émergences d'orobanche qui sont plus variables probablement en lien avec l'entrée d'un autre acteur, à savoir le colza. Cet ensemble de résultats confirme donc les observations réalisées en conditions contrôlées quant au pouvoir stimulant de la fraction "pellicule". L'échec de la seconde expérimentation n'a pas permis de valider l'intérêt de faibles doses ou de montrer un effet origine des pellicules.

### 3.2.2 Impact des pellicules de colza sur l'interaction chanvre × orobanche

La seconde année d'expérimentation, des pluies importantes n'ont pas permis de mener l'essai à son terme. Seuls les résultats de la première année sont présentés. A l'inverse de ce qui avait été observé pour le colza, l'apport de **pellicules favorise le développement de l'orobanche**, sur la base du nombre d'émergences, avec un effet dose (Figure 6). Cet effet se confirme statistiquement ( $\alpha=5\%$ ) en juin pour la pleine dose par rapport au témoin. L'absence d'effet dose en terme statistique est probablement due à la variabilité importante observée au sein de la parcelle. Si l'effet des pellicules sur le développement de l'orobanche semble perdurer en particulier pour la pleine dose au mois d'août, statistiquement il n'y a plus de différences ( $\alpha=5\%$ ) entre les modalités. La perte de pieds de chanvre très importante entre juin et août n'a probablement pas permis de dénombrer suffisamment de plantes pour différencier statistiquement les modalités entre elles.



**Figure 6** : Nombre d'émergences d'orobanche rameuse par pied de chanvre en juin par modalité. Avec 1 = dose pleine, 2=1/2 dose, 3 et 4=témoin ; une même lettre signifie qu'il n'y a pas différences significatives entre les modalités (test snk,  $\alpha=5\%$ )

Les prélèvements de sol réalisés selon la même méthodologie que précédemment ont été analysés afin de déterminer l'impact d'un apport de pellicules de graines de colza sur l'interaction chanvre\*orobanche. De façon surprenante, le nombre de graines comptabilisé sous loupe binoculaire était proche ou égal à zéro dans les différents échantillons. Différentes possibilités ont été évoquées pour expliquer l'absence de graines d'orobanche : problème d'échantillonnage, problème d'extraction, différence de tailles entre les graines des types génétiques I et II (perte au cours du tamisage du sol), différence liée au sol... Des analyses complémentaires montrent que le substrat de l'expérimentation « chanvre » inoculé artificiellement avec des graines d'orobanches (type II) sont extraites dans les proportions attendues. A ce jour aucune explication n'a été trouvée.

Contrairement au colza, les observations sur chanvre n'étaient pas celles attendues. Les expérimentations réalisées en conditions contrôlées avaient néanmoins montré que les pellicules pouvaient impacter positivement ou négativement sur le développement de l'orobanche pour une même culture selon l'origine et la dose des pellicules. Le lien entre les expériences terrain et serre reste difficile à établir car des types de pellicules différents ont été utilisés pour ces deux expériences. D'autre part, la microflore du sol semble jouer un rôle prépondérant dans l'interaction hôte\*parasite (Auger *et al.* 2012). L'utilisation d'une matrice sol différente entre champ et serre peut expliquer certaines discordances, et rajoute de la complexité dans la comparaison des études. Par ailleurs, les deux pathosystèmes étudiés ne sont pas les mêmes (colza/orobanche type I et chanvre/orobanche type II). Ils réagissent vraisemblablement différemment au traitement. Dans le cas du chanvre par exemple, le développement racinaire est plus rapide que celui colza, ce qui pourrait favoriser le contact avec les graines germées. Cette hypothèse est appuyée par le fait que les pellicules sur chanvre ont été incorporées au moment du semis, à l'inverse du colza pour lequel trois semaines environ séparaient le semis de l'incorporation des pellicules. Tout ceci avait conduit à tester la date d'incorporation et l'origine des pellicules comme facteurs au cours de l'expérimentation 2011-2012 pour la culture chanvre qui a échoué en raison de conditions climatiques défavorables.

### 3.3 Évaluation des espèces sensibles, non hôte et faux hôte sur l'évolution du stock grainier

L'objectif de cette tâche a consisté à vérifier et quantifier l'effet épurateur au champ de certaines espèces cultivées (sensibles en tant que plantes pièges, non hôtes et faux hôtes), utilisées dans la rotation ou en interculture dans un système de culture impliquant principalement le colza (voir également Jestin *et al.* 2013).

#### 3.3.1 Dispositif

Deux essais identiques (CA85 et CETIOM) ont été implantés en 2010 puis en 2011 sur des parcelles naturellement infestées. Ces essais, réalisés en bande, ont été implantés à l'automne avec six intercultures (moutarde blanche, moutarde brune, colza, navette, lentille fourragère, vesce+phacélie) et une culture d'hiver (le lin d'hiver). Après destruction des intercultures pendant l'hiver et travail du sol, cinq cultures (sorgho, tournesol, maïs, pois de printemps, féverole) ont été implantées au printemps, perpendiculairement aux précédentes modalités interculture. Deux témoins sol nu ont été implantés dans le dispositif. Les différentes modalités ont été désherbées, pour limiter l'impact des mauvaises herbes sur le stock grainier d'orobanche. En 2011, le dispositif a été réitéré en supprimant les modalités sorgho et pois de printemps et en y ajoutant la luzerne.

Des échantillons de sol (5 pour les intercultures, 6 pour les cultures de printemps) ont été prélevés à chaque implantation et destruction du couvert sur chacune des modalités. Le taux d'infestation a été déterminé en dénombrant le nombre de pieds parasités, et le nombre d'orobanches fixées par pied pour chaque modalité. L'effet des différentes cultures/intercultures sur le stock grainier d'orobanche a été déterminé en quantifiant le nombre de graines d'orobanche dans le sol avant et après chaque pratique selon la méthodologie précédemment décrite. L'évolution du stock grainier d'orobanche est déterminée en pourcentage pour chaque modalité :  $(\text{Quantité de graines à l'état final} - \text{état initial}) / \text{état final} * 100$ .

#### 3.3.2 Des résultats encourageants à confirmer

La présence d'orobanches nécrosées, probablement en lien avec des conditions environnementales particulières, n'a pas permis d'exploiter les résultats CETIOM 2011-2012. Par ailleurs, en raison des difficultés rencontrées dans la mise au point de la méthode quantification moléculaire du stock grainier, seule une partie des modalités des campagnes 2010-2011 a été analysée dans le temps du projet.

L'observation de fixations d'orobanche sur la plupart des cultures implantées à l'automne confirme l'effet « plantes pièges » recherché et attendu. De même, l'absence d'orobanches sur la quasi-totalité des modalités des cultures de printemps souligne le caractère non hôte ou faux hôte attendu.

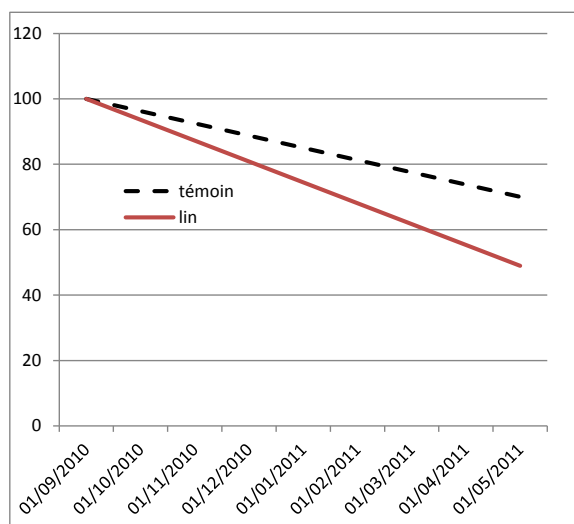
Toutefois, il paraît difficile d'émettre des conclusions sur l'impact quantitatif des couverts d'automne pour assainir les sols infestés, car les résultats sont très variables au sein d'une même modalité et présentent quelques incohérences. En effet, dans les deux essais et pour quasiment chaque modalité (et les témoins), les quantités de graines déterminées dans les échantillons ainsi que l'évolution de ces quantités pendant la culture sont très variables entre points de prélèvement d'une même modalité. A titre d'illustration, sur le témoin sol nu de l'essai CA85, l'état initial entre les cinq points de prélèvement variait d'un facteur 11 (de 175 à 1866 graines par échantillon de 200 g de sol). Plus gênant encore, il a été observé entre deux dates des augmentations du nombre de graines (de plus de 100%) ou des diminutions du nombre de graines pour différents points de prélèvement sur une même modalité. L'augmentation du stock grainier observée sur plusieurs points de prélèvements pose également question, puisqu'il n'a été observé sur les parcelles aucune orobanche à maturité. Une hypothèse serait que la parcelle a été contaminée par la multiplication de l'orobanche dans les environs immédiats ; l'hypothèse la plus probable au regard de l'ensemble des résultats est qu'il s'agit d'un artefact lié à une faible représentativité des échantillons analysés.

En ne s'attachant qu'aux valeurs médianes d'évolution du stock semencier d'orobanche dans le sol pour chaque modalité, plusieurs tendances plutôt encourageantes peuvent être dégagées de ces essais. Sur le **témoin sol nu**, les deux essais mettent en évidence une diminution du nombre de graines au cours de l'automne (-39% pour l'essai CETIOM, et -17.2% pour l'essai CA85). Pour les témoins printemps, cette diminution a varié de -16.22 à -25.5% (selon les témoins associés aux cultures de printemps) pour l'essai CA85, tandis qu'une augmentation du stock grainier a pu être observée pour l'essai CETIOM. Il apparaît donc qu'une quantité non négligeable de graines se dégrade au cours du temps, et qu'un **désherbage soigneux** de la parcelle peut permettre **d'éviter d'entretenir l'inoculum**.

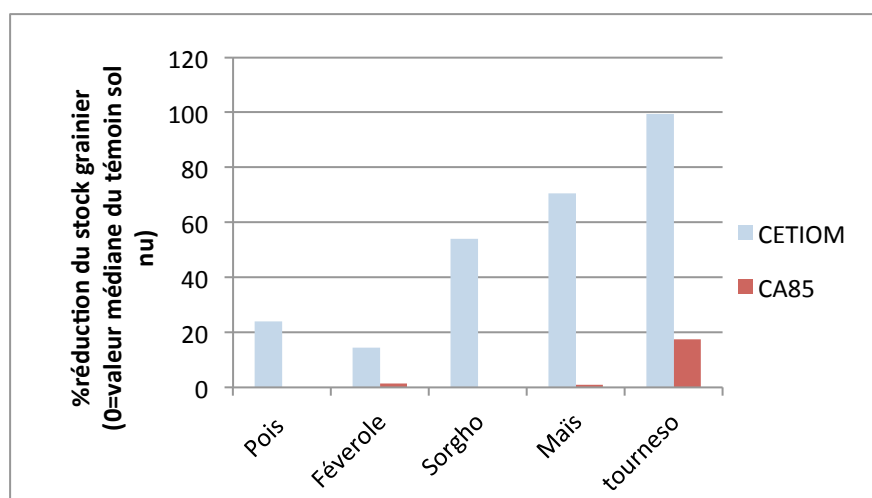
En ce qui concerne les intercultures, les résultats sont assez mitigés (Jestin *et al.*, 2013). La **culture de lin**, considérée comme faux-hôte en conditions contrôlées, semble être la plus efficiente et régulière dans cette étude pour réduire le stock grainier, car en dépit d'une valeur extrême isolée, tous les points de prélèvements vont dans le sens d'une réduction plus forte que celle observée sur le témoin (Figure 7). En dépit des réserves émises à l'interprétation de ces résultats, ceux-ci sont cohérents avec une étude antérieure (Nowak *et al.*, 2010) qui avait souligné les potentialités de plusieurs de ces couverts tels que le lin d'hiver, le colza, la navette d'hiver, la moutarde mais aussi le niger, pour réduire jusqu'à -30% le stock grainier par rapport au témoin.

Sur l'ensemble des cultures de printemps testées, une diminution du stock grainier d'orobanche a été observée par comparaison au témoin sol nu (Figure 8). L'écart au témoin est apparu plus net pour l'essai CETIOM que celui de la CA85 (Figure 8). Ces résultats sont cohérents avec ce qui était attendu car l'ensemble des espèces testées était destiné à réduire le stock grainier par leur comportement, immun, résistant, faux hôte...vis-à-vis de l'orobanche. La **culture de tournesol** a été la plus efficace pour réduire le stock grainier sur les deux sites (CETIOM et CA85), suivie du **maïs** et du **sorgho** pour l'essai CETIOM (Figure 8). Si le tournesol peut être hôte de l'orobanche sous certaines conditions non définies, ces expérimentations soulignent la possibilité d'utiliser cette espèce pour assainir les sols.

Dans une étude antérieure, Nowak *et al.* (2010) avaient également montré que le maïs réduisait de manière significative le stock grainier à hauteur de 30% par rapport au témoin, soit plus de deux fois moins par rapport à l'essai CETIOM (-70%), mais une réduction qui reste supérieure à l'essai CA85. Une telle différence entre les deux études peut être expliquée par le dispositif expérimental : celle menée par Nowak *et al.* (2010) est réalisée dans le cadre d'une interculture courte, soit de juillet à septembre, un laps de temps bien plus court que celui de notre étude. Ces auteurs avaient également montré que le maïs avait un potentiel significativement non différent du colza et de la navette d'hiver selon l'année, ce qui n'a été pas possible de conclure dans le cadre de le présent projet en raison des problèmes de variabilité préalablement évoqués.



**Figure 7 :** Evolution du stock grainier d'orobanche en pourcentage de la quantité initiale pour la culture de Lin d'hiver et du témoin au cours du temps (essai CETIOM 2010).



**Figure 8 :** Réduction de la quantité de graines d'orobanche (dans le sol) des cultures de printemps par rapport au témoin. Valeur médiane représentée entre les six points de prélèvements (% d'évolution de la modalité-% d'évolution sur le témoin correspondant). Le pois et le sorgho n'ont pas été analysés pour l'essai CA85.

### 3.3.3. Enseignements à tirer de ces essais

Divers enseignements peuvent être tirés des échecs rencontrés dans l'interprétation des résultats de ces essais. Tout d'abord, si l'hétérogénéité intra-parcellaire n'est pas surprenante (comme beaucoup d'organismes inféodés au sol, l'orobanche se multiplie en formant des foyers), cette hétérogénéité n'était pas attendue à l'échelle des prélèvements effectués. En effet, un échantillon analysé correspondait en fait au mélange de quatre prélèvements de sol réalisés sur une surface de 1m<sup>2</sup> ; les prélèvements des états initiaux et finaux étaient réalisés dans ce même rayon de 1m<sup>2</sup>. Ces précautions n'ont toutefois pas permis d'assurer la représentativité des échantillons, puisque des évolutions très différentes ont été observées entre points de prélèvements sans explication d'après les observations terrain (pas de différence de peuplement ou de nombre de fixations observées sur les plantes). **Pour réaliser ce genre d'étude de suivi temporel d'infestation des parcelles, il apparaît donc indispensable de travailler sur cette question d'échantillonnage.** Cette question méthodologique réapparaîtra certainement dans l'étude d'autres organismes du sol.

Par ailleurs, la comparaison des modalités communes entre sites (CETIOM/CA85) mais également de ces essais avec les études réalisées en conditions contrôlées et celles menées par Nowak *et al.* (2010) montre une forte variabilité d'effet. Plusieurs hypothèses peuvent l'expliquer : la **stratégie**

**d'échantillonnage**, le **dispositif** (bloc vs bande), **la période de culture** et la **méthode de quantification** différaient entre nos expérimentations et celle de Nowak *et al.* (2010). Deux autres hypothèses en lien avec la biologie de l'orobanche ont retenu notre attention : la **flore microbienne**, que l'on suspecte intervenir dans l'interaction orobanche\*hôte (Auger *et al.*, 2012), n'est pas la même entre les conditions contrôlées et le champ, et probablement entre deux parcelles, ce qui peut expliquer des différences de comportement pour certaines espèces. De plus, l'**effet variété** n'est pas à négliger : une variabilité génétique au sein de l'espèce testée pour son comportement vis-à-vis de l'orobanche peut exister et expliquer les différences entre les expérimentations CETIOM/CA85 qui différaient par leurs variétés. Cette hypothèse est confortée par des travaux réalisés par Ma *et al.* (2013) et Zhang *et al.* (2013) qui ont montré que tous les génotypes d'une même espèce ne stimulent pas de la même façon la germination des orobanches. Si certaines modalités ont donc semblé prometteuses, **les probables différences intra-espèces nécessitent d'évaluer le comportement d'une grande palette de variétés commercialisées d'une espèce donnée afin de garantir et de mettre en avant les variétés les plus pertinentes pour lutter contre l'orobanche.**

### 3.4. Vers l'identification de pratiques culturales (dé)favorables au développement de l'orobanche ?

L'objectif de ce volet a consisté à élaborer une base de données conséquente regroupant pratiques agricoles et niveau d'infestation de parcelles agriculteurs pour identifier les facteurs favorables ou non à l'orobanche. Un réseau de 21 parcelles « agriculteurs » infestées par l'orobanche situées dans l'Ouest et l'Est de la France a été constitué dans ce sens. Des échantillons de terre ont été prélevés sur quatre points fixes à l'implantation, juste avant la récolte ou destruction ou travail du sol. Une base de données renseignant le descriptif des parcelles et des conduites pratiques culturales opérées pendant ces trois ans a été élaborée. L'analyse des prélèvements de terre à l'état initial souligne une bonne homogénéité du niveau d'infestation, excepté pour deux sites. Pour 31 échantillons sur 70, moins de 60 graines d'orobanche ont été dénombrées dans 200 g de terre. Les parcelles les plus infestées avaient entre 470 et 4200 graines dans 200 g de terre. Les difficultés méthodologiques rencontrées dans la quantification moléculaire n'ont pas permis d'analyser les prélèvements finaux. Des efforts sont à poursuivre dans l'analyse de ces échantillons afin d'identifier les potentiels facteurs favorables ou non à l'orobanche.

### Conclusion

Les travaux réalisés durant l'ensemble du projet ont permis d'aboutir à une meilleure connaissance de la cartographie de l'orobanche rameuse à travers une stratégie participative. L'évaluation du comportement de la flore adventice et des espèces cultivées apporte des éléments dans la construction d'une méthode de gestion de la lutte contre l'orobanche. Des efforts restent à poursuivre, en particulier sur un point méthodologique afin de lever les difficultés ou verrous qui ont été rencontrés. Ce projet a renforcé considérablement les échanges (connaissances et compétences) entre les partenaires concernés par la problématique Orobanche en France.

### 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.

Bammé B., Molénat D., Boulet C., Delavault P., Leflon M., 2013. Développement et évaluation des outils de quantification des graines d'orobanches. Colloque CETIOM orobanche, Poitiers, France.

- Benharrat H., Boulet C., Theodet C., Thalouarn P., 2005. Virulence diversity among branched broomrape (*O. ramosa* L.) populations in France, *Agronomy for Sustainable Development* 25, 1, 123-128.
- Boulet C., Labrousse P., Arnaud M.C., Zehhar N., Fer A., 2001. Weed species present various responses to *Orobancha 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 – XXième conférence du COLUMA – Journées internationales sur la lutte contre les mauvaises herbes.
- Boulet C., Molénat D., Benharrat H., Delavault P., Simier P., 2013. Etude de la sensibilité des adventices vis-à-vis de l'orobanche rameuse (*Phelipanche ramosa* (L.) Pomel) en vue d'une lutte intégrée. AFPP – XXIIIème conférence du COLUMA, Dijon, France.
- 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.
- 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.
- 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 *Orobancha cumana* in crop seed lots. *Weed Research* 52, 34-41.
- Jestin C., Molénat D., Boulet C., Bammé B., Leflon M., 2013. Impact des cultures pièges et non-hôtes dans les systèmes culturaux pour lutter contre l'orobanche rameuse. AFPP – XXIIIème conférence du COLUMA, Dijon, France.
- Joel D.M., 2009. The new nomenclature of *Orobancha* and *Phelipanche*. *Weed Research* 49, 6-7.
- Joel D.M., Hershenthorn 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.
- Gaudin Z., 2013. Place de l'azote dans l'interaction plante-parasite : *Brassica napus* L. – *Phelipanche ramosa* (L.) Pomel. Thèse de doctorat. Université de 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.
- Gibot-Leclerc S., 2004. Etude épidémiologique, écophysiological et agronomique du couple *Orobancha ramosa* L. / *Brassica napus* L. Thèse de doctorat. Université Paris 6.
- 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. *C.R. Biologies*, 326, 645-658.
- Ma Y., Jia J., Wang Z., Mao J., 2013. Potential of some hybrid maize lines to induce germination of sunflower broomrape. *Crop Science* 53, 260-270.
- Nowak B., Leflon M., 2010. Lutter contre l'orobanche rameuse. *Perspectives agricoles* 372, 59-61.
- Nowak B., Pineault-Molénat D., Boulet C., Leflon L., 2010. Impact des cultures intermédiaires épuratrices sur l'évolution du stock semencier d'orobanche rameuse. AFPP-XXIIème conférence COLUMA, Dijon, France.
- 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 CETIOM orobanche, Poitiers, France.
- 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 *Orobancha* and *Striga* Problems worldwide. *Pest Manag Sci.* 65, 453-459.



- Rubiales D., Fernandez-Aparicio M., Wegmann K., Joel D., 2009. Revisiting strategies for reducing the seedbank of *Orobanche* and *Phelipanche* spp. *Weed Research* 49, 23-33.
- Pineault D., Boulet C., Benharrat H., 2010. L'orobanche rameuse, les plantes-pièges et le feu. *Phytoma* 630, 22-25.
- Qasem J. R., Foy C.,L., 2007. Screening studies on the host range of branched broomrape (*Orobanche ramosa*). *Journal of Horticultural Science and Biotechnology* 82, 885-892
- Simier P., Boulet C., Voisin M., Quenouilles J., Molénat D., Duffé P., Leflon M., Legros S., Dauvergnés X., Benharrat H., Delgrange S., Schmidt J., Pouvreau B., Jestin C., Delourme R., Delavault P., 2013. Variabilité génétique de l'orobanche rameuse et son spectre d'hôtes. Colloque CETIOM orobanche, Poitiers, France.
- Zhang W., Ma Y., Wang Z., Ye X., Shui J., 2013. Some Soybean Cultivars Have Ability to Induce Germination of Sunflower Broomrape. *PLoS ONE*, 8(3): e59715. doi:10.1371/journal.pone.0059715.