

**AFPP – VINGT ET UNIÈME CONFÉRENCE DU COLUMA
JOURNÉES INTERNATIONALES SUR LA LUTTE CONTRE LES MAUVAISES HERBES
DIJON – 8 ET 9 DÉCEMBRE 2010**

**MODELISATION DE CLAVICEPS PURPUREA : MISE EN PHASE AVEC LES
GRAMINEES ET FACTEURS DE RISQUE.**

D. JACQUIN⁽¹⁾, L. DIGALOU⁽²⁾, C. NOROY⁽²⁾ et X. Reboud⁽¹⁾

(1) INRA, UMR Biologie et Gestion des Adventices, BP 86510, 21065 Dijon cedex dominique.jacquin@dijon.inra.fr

(2) Université de Bourgogne Esplanade Erasme BP 27877 21078 Dijon cedex

RÉSUMÉ

**MODELISATION DE CLAVICEPS PURPUREA : MISE EN PHASE AVEC LES
GRAMINEES ET FACTEURS DE RISQUE**

Claviceps purpurea, agent de l'ergot du seigle, est un bioagresseur inféodé aux graminées. L'impact sanitaire que pourrait provoquer une réémergence de ce parasite conduit à reprendre son étude. La modélisation est une première approche pour formaliser les connaissances acquises et tenter de répondre à quelques questions : Quelles sont les années où la climatologie conduit à une coïncidence entre la projection d'ascospores et la floraison des céréales ou des adventices présentes dans la parcelle, notamment d'*Alopecurus myosuroides* ? Quels sont les facteurs déterminant les zones à risque (nature ou travail du sol, graminées en floraison dans l'environnement ...) ?

Mots-clés :

Claviceps purpurea, *Alopecurus myosuroides*, modélisation, bioagresseur, vernalisation

SUMMARY

**MODELLING OF CLAVICEPS PURPUREA: LINING UP WITH GRASSES AND RISK
FACTORS**

Claviceps purpurea, agent of rye ergot is a bioaggressor submitted to grasses. The sanitary impact that could follow a re-emergence of this parasite leads to resume its study. Modelling is a first approach to formalize the acquired knowledge and try to answer a few questions: which years does weather lead to a coincidence between projections of ascospores and the flowering of cereals or of the weeds present in the parcel, particularly *Alopecurus myosuroides*. Another question is to determine the risk an area is more at risk than another (nature of soil, tillage techniques or grasses flowering nearby ...)

Key words:

Claviceps purpurea, *Alopecurus myosuroides*, modelling, bioaggressor, vernalization

INTRODUCTION

L'ascomycète, *Claviceps purpurea*, agent de l'ergot du seigle, se rencontre très fréquemment sur de nombreuses graminées et il a été source de dégâts considérables au cours de l'histoire. Cependant, aujourd'hui les cas où ce champignon pose de réels problèmes en agriculture sont rares. A cela, on peut voir deux raisons principales :

Tout d'abord, les espèces actuellement cultivées sont peu sensibles. Ainsi, bien que l'ergot puisse parasiter le blé, l'orge le triticales et l'avoine, seul le seigle est l'objet d'attaques régulières. Ensuite en contrôlant la qualité des semences, on a fortement limité l'inoculum primaire. Malgré cela, on observe des fluctuations notables dans le temps et depuis une dizaine d'années les cas d'attaques significatives sur des céréales majeures comme le blé et l'orge sont régulièrement signalés. (Jacquin et al., 2010). Les analyses d'alcaloïdes qui devraient se mettre en place dans le cadre de plans de surveillance recommandés par la commission européenne permettront de se faire une image réelle de la contamination des aliments. Des contrôles systématiques peuvent réserver des surprises, ainsi des tests sur orge destiné à l'alimentation animale ont décelé des taux élevés d'alcaloïdes de l'ergot (Liesener et al. 2010).

Les risques que font courir les alcaloïdes produits par l'ergot, aussi bien en médecine humaine que vétérinaire, justifient une attention rigoureuse et les techniques pour résoudre le problème en amont, c'est-à-dire le nettoyage des grains, peuvent être difficiles à mettre en œuvre et coûteuses. (Orlando et al., 2010). Il est donc important de comprendre la dynamique de la maladie pour prévenir son développement en amont.

Or d'une part, dans le domaine de l'agronomie, les recherches effectuées en France sur *Claviceps purpura* sont déjà anciennes (Rapilly, 1968 ; Guillaumin et al., 1980). D'autre part, on sait que la variabilité intraspécifique à l'intérieur de *Claviceps purpurea* est grande et plusieurs études ont montré que l'on ne trouve pas une spécificité d'hôte type pathovar mais plutôt une spécificité liée au terroir avec une adaptation écologique (Jungehülsing et Tudzynski, 1997 ; Pažoutová et al., 2000 ; Pažoutová et al., 2002 ; Eken et al. 2006 ; Douhan et al. 2008). L'affinité des souches pour leur hôte variant selon les zones géographiques, il est difficile de transposer des résultats d'une région à l'autre et l'intérêt de nouveaux travaux sur l'épidémiologie de *Claviceps purpurea* apparaît naturellement.

Pour se réapproprié la question, la première démarche avant d'approfondir un point particulier est de parvenir à une vue globale du problème et pour cela la modélisation est un instrument approprié.

MATERIEL ET METHODES

MODELISATION

Actuellement, la modélisation est une technique répandue dans le domaine phytosanitaire, elle a été un outil utilisé en routine par les agents des services de la protection des végétaux ces vingt-cinq dernières années. On peut citer par exemple la septoriose du blé, le mildiou de la vigne, le carpocapse de pommes ou le diabrotica sur maïs. Cet outil permettait au praticien de s'approprié les connaissances acquises et de formaliser ses observations. Cela lui fournissait par la suite une aide indispensable pour ses préconisations. (Rouzet et Jacquin, 2003 ; Jacquin et al., 2003).

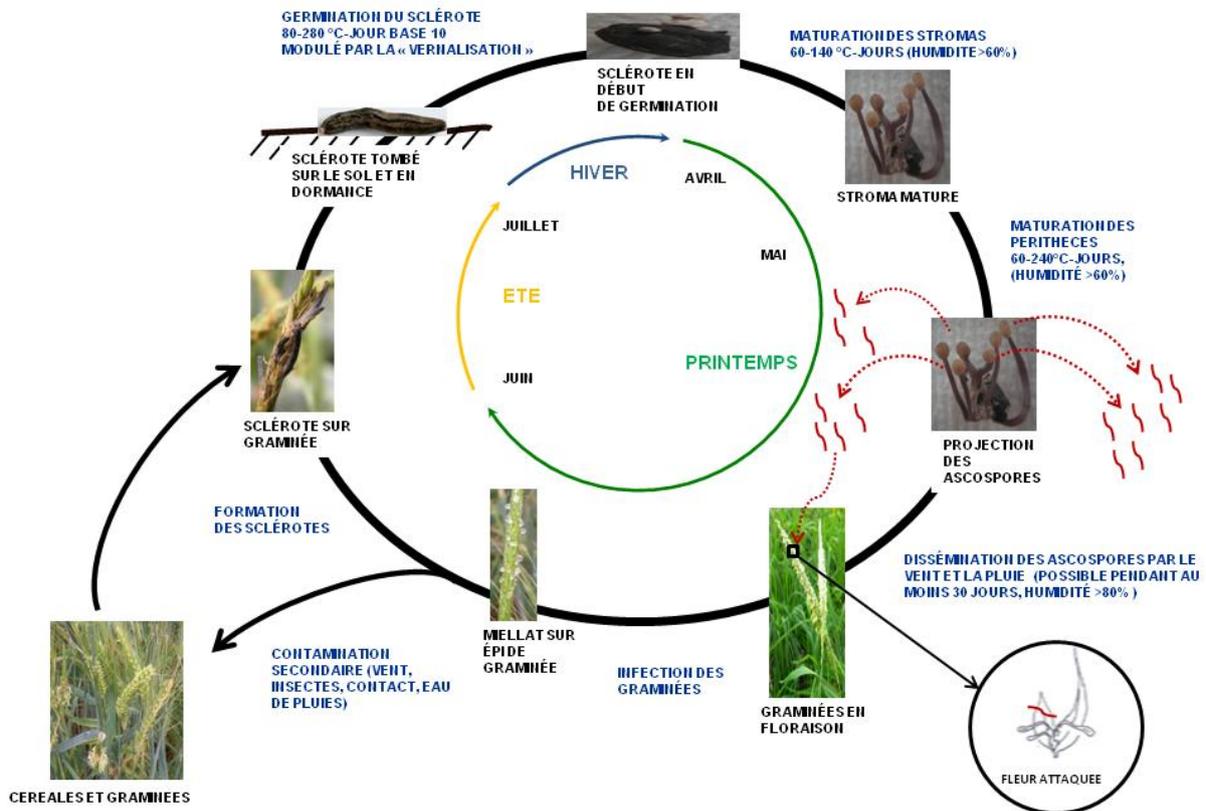
La première question à se poser quand on construit un modèle est : A quelles questions veut-on répondre ?

Le premier objectif est de synthétiser ce que l'on sait et de repérer les points où il manque des connaissances. Au-delà de cet aspect purement euristique les questions opérationnelles sont définies par les points pratiques sur lesquels on pourrait avoir un levier. En ce qui concerne *Claviceps purpurea*, deux types principaux de questions se posent :

Le premier type de questions est qualitatif, il s'agit de savoir à quels moments les événements ont lieu. La question finale est de savoir si les projections de spores sont synchrones avec la floraison des céréales ou des graminées de l'environnement.

En effet *Claviceps purpurea* est un parasite de l'ovaire et les spores ne contaminent que durant une fenêtre très étroite qui correspond à la floraison et à la sortie des stigmates hors de la fleur.

Figure 1 : Cycle simplifié de *Claviceps purpurea*
(simplified cycle of *Claviceps purpurea*)



La phénologie de la plante conditionne fortement la réussite de la contamination. Nous disposons actuellement de modèles Alomysys ou Florys qui permettent de simuler les dates de floraison avec en entrée les données météorologiques de l'année (Colbach et al., 2007) et d'évaluer ainsi la synchronisation entre la présence de spores et l'ouverture des fleurs. Il y a également une phase qui est sous l'étroite dépendance du climat, c'est le stade méiose où la fertilité du pollen peut être altérée suite à un manque d'ensoleillement (Gate, 1995). Ce fait est important à noter car toute baisse de la fécondité entraîne une augmentation de la sensibilité de la plante. En effet, une fois la fleur fécondée les stigmates dessèchent rapidement et la plante devient résistante.

Un modèle purement qualitatif est suffisant pour caractériser une année, un modèle quantitatif pourrait avoir l'ambition de déterminer un niveau de contamination potentiel et aider à décider d'un traitement de protection de l'épi. Ce n'est pas actuellement utile, nous sommes dans un contexte où l'on cherche à diminuer les traitements et au delà de cet aspect la protection est difficile et les résultats décevants.

Le deuxième type de questions est quantitatif. Pour comprendre pourquoi une zone est plus touchée qu'une autre, il est important de quantifier les risques.

L'importance des risques est liée à la présence d'inoculum primaire. Sur la parcelle, les ergots peuvent avoir été apportés au semis avec les semences ou s'être formés l'année

précédente sur la culture ou ses adventices (voir figure 1). Il faut ensuite que le travail du sol ait enfoui les ergots à une profondeur propice à leur conservation et à leur germination.

Les caractéristiques de la parcelle comme la nature du sol ou la densité du semis conditionne également le maintien d'une humidité qui favorise la germination et empêche le dessèchement des têtes à périthèces. Les organismes vivants dans le sol détruisent aussi les sclérotés plus ou moins efficacement (Ondřej et al., 2010).

Les caractéristiques de la parcelle jouent également sur la durée de la floraison. La conduite de la parcelle entraîne une plus grande hétérogénéité dans le début de l'anthèse et une plus ou moins grande présence de talles avec des épis tardifs.

Une fertilisation mal maîtrisée peut retarder la floraison des carences en oligoéléments peuvent causer des stérilité (Morasse et al., 1996). La disponibilité en pollen est aussi fonction de la densité de semis. Les hybrides avec une plus grande ouverture des fleurs ou une moins bonne fertilité sont plus sensibles. Différents caractères variétaux liés directement à la fécondation ont une influence sur la sensibilité à l'ergot : qualité du pollen, aptitude de l'ovaire à la fécondation, plus ou moins grand bâillement des glumes. Mais des mécanismes différents existent également comme une plus ou moins grande aptitude du mycélium à se développer dans le tissu végétal selon la variété (Miedaner, 2010).

La présence de graminées adventices avec floraison précoce dans la parcelle peut servir de relais pour amplifier l'épidémie. On l'a constaté avec *Alopecurus myosuroides*, le miellat apparaît précocement et permet la contamination secondaire des céréales. La présence plus ou moins importante d'insectes circulant sur les épis permet également de diffuser les conidies du champignon (Rapilly, 1968).

L'inoculum de départ peut venir également de l'extérieur de la parcelle. Et c'est un point important à vérifier pour nous. Des essais sur seigle en Lettonie (Bankina et al., 2008) ont montré des taux d'attaque significativement plus importants lorsque la parcelle était située à côté d'une jachère que lorsqu'elle voisine une forêt ou une prairie. En Bourgogne, nous avons observé en bordure de champ la présence d'ergot sur des graminées à floraison précoce *Arrhenatherum elatius*, *Festuca arundinacea*, *Festuca pratensis*, *Bromus erectus* ... On peut penser que sur ces graminées des conidies sont produites et contaminent ensuite la parcelle. Il faudrait vérifier que ce sont les mêmes souches. Nous avons également observé dans les bordures des graminées à floraison plus tardive mais fortement infestées comme *Lolium spp* et *Elytrigia repens*. Nous pouvons penser que des projections d'ascospores issues des bordures herbacées peuvent être la source primaire des projections d'ascospores qui infectent les parcelles adjacentes. Là aussi des analyses plus fines doivent être conduites pour vérifier qu'il ne s'agit pas de souches différentes.

ACQUISITION DE DONNEES NOUVELLES

Depuis le premier article publié sur l'ergot dans une revue scientifique (Dodart D., 1676) beaucoup d'observations précises ont été notées. Les données anciennes méritent d'être exploitées de nouveau au regard des questions actuelles. On trouve beaucoup d'éléments de réponses à des questions que l'on se pose encore. Néanmoins une connaissance approfondie du parasite et une appropriation personnelle des méthodes reste une clé pour une interprétation pertinente des données. Il est utile pour cette raison de refaire des manipulations déjà réalisées.

Pour la phénologie refaire des cultures en enceintes climatisées constitue une validation des données de Kirchhoff (1929) ou de Mitchell (1968). Et même si l'on s'en tient aux seuls effets des températures, des notions comme la pertinence de la base 10 pour la sommation de degrés jour, ont besoin d'être confirmées. Les effets de l'hygrométrie, difficile à maîtriser en laboratoire autrefois et même encore maintenant sont à travailler.

Pour estimer les facteurs de risque, l'expérimentation est une aide pour tester l'effet du travail du sol, la durée de la viabilité des sclérotés, l'effet du désherbage ou des traitements insecticides. L'expérimentation ne suffit cependant pas. En effet la maladie reste sporadique,

ne serait ce que parce que la coïncidence entre l'exposition d'un stigmate d'une céréale autogame et la présence d'une spore est un évènement peu probable et une question clé demeure, lorsque le climat de l'année est favorable, d'où vient l'inoculum ? Les essais terrains où l'on apporte l'inoculum sous forme de sclérotés dans le sol à l'automne ou ceux où l'on pulvérise une suspension de conidies à la floraison ne permettent pas de répondre à cela.

Pour y voir plus clair des observations en conditions naturelles sont nécessaires, d'où l'enquête en cours à télécharger sur le site <http://www2.dijon.inra.fr/bga/umrbga/>.

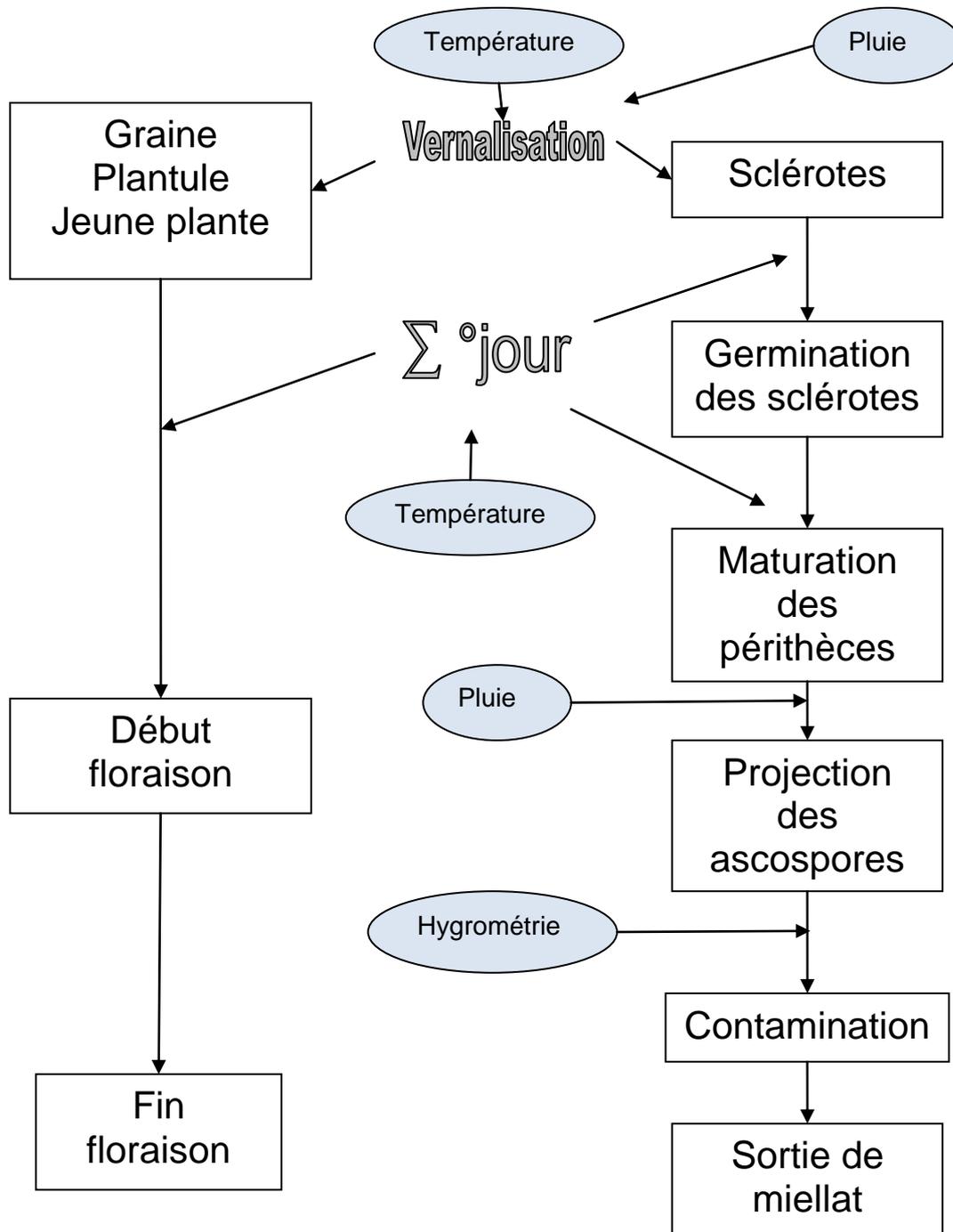
Une autre approche consiste à tester la similarité entre les souches que l'on trouve dans l'environnement et celle que l'on rencontre en parcelles. Pour cela, on peut comparer les alcaloïdes que les souches produisent (Mantle et al., 1977). C'est un caractère génétiquement fixé qui reste constant lorsque la souche passe d'un hôte à l'autre. On peut aussi directement s'intéresser au génome, l'étude est complexe (Pažoutová et al., 2000 ; Pažoutová et al., 2002) et la variabilité au sein du groupe G1, le sous-groupe de l'espèce *Claviceps purpurea* qui se trouve sur les céréales en France, est difficile à cerner avec les méthodes classiques d'empreintes PCR (ISSR, ERIC) mais d'autres techniques comme les microsatellites pourraient être prometteuses (Pažoutová 2010 communication personnelle).

RESULTATS

Pour établir un premier modèle, nous avons analysé la bibliographie et retenu le schéma suivant :

Figure 2 : Compartiments et données en entrée retenus pour le modèle phénologie de l'ergot

(Compartments and input data retained for the phonological model of ergot)



Pour la phénologie des graminées, nous utiliserons des modèles existants (Alomysys et Florsys).

Pour établir un premier modèle champignon, nous avons essentiellement travaillé sur les données d'Heinrich Kirchohff qui dans un article de 1929 consigne précisément les résultats

d'une expérimentation où il soumet 40 lots de 30 sclérotés à 4 températures différentes (0, 2-3, 5-6, 8-10 °C) pendant 9 durées différentes (5, 10, 15, 20, 25, 30, 40 50 et 60 jours) plus un lot témoin où la durée est nulle. Après la phase froide, il place les sclérotés à 14-16°C et il note l'apparition des germinations.

Dans ses expériences seul le facteur température est étudié, les conditions d'humidité des sclérotés sont toujours optimales.

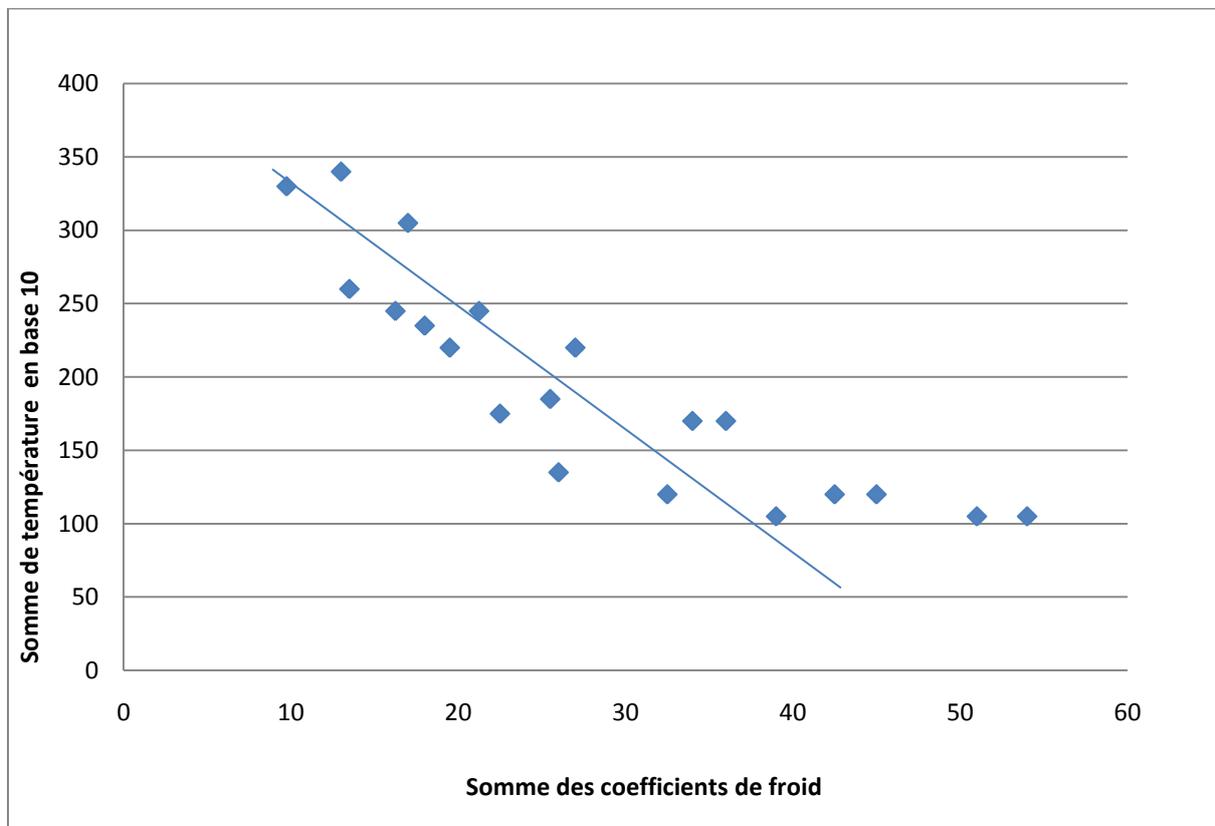
Ces travaux nous permettent de dégager quelques principes :

Comme le vulpin (Chauvel et al., 2002) ou le blé (Gate, 1995), l'ergot a besoin d'une vernalisation et les températures « froides » qui sont impliquées dans ce phénomène, sont en fait des températures fraîches, 0-9 °C. Les températures négatives n'ont à ce niveau pas d'effets biologiques.

La somme de température en base 10 nécessaire à l'apparition des premières germinations est modulée donc par la vernalisation. La figure 3, reprend des données de Kirchhoff et l'on comprend que plus l'hiver est « froid » plus la germination est rapide au printemps, mais il existe un pallier au-delà duquel le froid n'a plus d'action.

Le champignon est adapté à son climat local. Pour notre modèle, l'idée retenue est que les températures normales hivernales peuvent servir de base pour caractériser les souches qui sont adaptées au climat.

Figure 3 : Relation entre accumulation de froid et somme de températures pour atteindre les premières germinations d'ergot
(Relation between the accumulation of cold and the sum of growing-degree day required for the first germinations of ergot)



DISCUSSION

La modélisation n'est pas un objectif en soi. Le modèle est ici d'abord un outil d'aide à la recherche et peut-être en restera t'il là mais il est aussi conçu dès le départ pour évoluer

vers un mode opérationnel. Le module phénologique n'utilise que des données météorologiques simples et standards : les températures mini et maxi en station à 1,5 m du sol. Il faudra probablement rapidement introduire la pluie quotidienne et peut-être l'hygrométrie horaire. Le travail de mise au point d'un modèle peut-être long mais si on veut envisager une utilisation concrète, il faut d'emblée le caler sur des données simples en entrée. Partir sur des données plus fines, comme des températures du sol, rend la généralisation et la validation plus difficile. A partir du moment où l'on obtient des sorties plausibles compatibles avec des stades repérables en conditions naturelles (germination, sortie de miellat) la validation est enclenchée. On peut également tester la validité dans l'espace sur des lieux à climats différents.

La grille de risques si elle peut être établie sur des résultats tangibles comme les résultats de l'enquête, des expérimentations terrain et laboratoire, aura un impact pratique car elle permettra directement d'orienter les préconisations entre les différents leviers possibles : contrôle des graminées dans et aux abords des parcelles, travail du sol, suivi des semences

....

CONCLUSION

La construction d'un modèle par compartiment simplement phénologique et l'élaboration d'une grille de risques pourraient fournir une aide à la gestion du risque ergot. Beaucoup d'observations de praticiens existent et les études des chercheurs des siècles passés méritent d'être réanalysées. Des manipulations de laboratoires et de terrains permettent également d'affiner les paramètres. Pour quantifier les sources d'inoculum et déterminer les flux de population entre l'environnement et les parcelles, nous allons à présent nous intéresser à des techniques modernes d'analyse du génome et aux dosages des alcaloïdes, chaque sclérote étant considéré comme un individu et analysé séparément.

REMERCIEMENTS

Les auteurs remercient vivement les personnels techniques du centre INRA de Dijon et d'Epoisses, qui ont permis la réalisation des expérimentations.

Ils remercient également le conseil régional de Bourgogne qui participe au financement des études sur les interactions entre bioagresseurs et adventices.

Ils soulignent aussi le rôle du groupe de travail ergot et remercient ses membres. Ce groupe initié par la FNAMS avec la participation d'Arvalis, de Services Régionaux de l'Alimentation, de l'INRA et de Saaten, a notamment permis de suivre précisément les différents stades du parasite et de ses hôtes.

BIBLIOGRAPHIE

- Bankina B., Priekule L., Kokare A., Kronberga A., Lapiņš D., 2008 - Melno graudu (ier. *Claviceps purpurea*) epidemioloģija. *Agronomijas Vestis*, 10, 87-93
- Bayles R., Fletcher M., Gladders P., Hall R., Hollins W., Kenyon D., Thomas J., 2009 - *Towards a sustainable whole-farm approach to the control of Ergot*. Project Report No. 456 HGCA
- Chauvel B., Munier-Jolain N., Grandgirard D., Gueritain G., 2002 - Effect of vernalization on the development and growth of *alopecurus myosuroides*. *Weed Research*, 42, 166-175
- Colbach N., Chauvel B., Gauvrit C., Munier-Jolain N. 2007 - Construction and evaluation of ALOMYSYS, modelling the effects of cropping systems on the blackgrass life-cycle. *Ecological Modelling* 201 : 283-30
- Douhan G.W., Smith M. E, Huyrn K.L., Westbrook A., Beerli P., Fisher A.J., 2008 - Multigene analysis suggests ecological speciation in the fungal pathogen *Claviceps purpurea*. *Molecular Ecology*, 17, 2276-2286
- Dodart, D. 1676 - Gangrène causée par le pain fait avec du seigle corrompu. *Le journal des savants*, 1, 69-72

- Eken, C., Pažoutová, S., Honzátko, A., Yildiz S., 2006 - First report of *Alopecurus arundinaceus*, *A myosuroides*, *Hordeum violaceum*, and *Phleum pratense* as hosts of *Claviceps purpurea* population G2 in Turkey. *Journal of Plant Pathology*, 88, 121-121
- Gate P., 1995 – *Écophysiologie du blé* TEC Lavoisier
- Guillaumin J.J., Bernard M., Rousset M., Aïache, J.M. , Foucher J.P.,1980 - Obtention d'ergot par inoculation d'un blé mâle stérile et d'un triticales avec cinq souches de *Claviceps purpurea* (fr.) tul. *Annales de l'amélioration des plantes*, 30, 1,:55–65
- Jacquin D., Rouzet J., Delos M. 2003 - Filière agrométéorologie pour l'élaboration des Avertissements Agricoles en France . Bulletin OEPP/EPPO, 33, 381-388
- Jacquin D., Délos M., Reboud X., 2010 - L'ergot dépasse le seigle, cet ancien compagnon de l'homme ressort les griffes. *Phytoma La défense des végétaux*, 633, 38–41.
- Jungehülsing U., Tudzynski P., 1997 - Analysis of genetic diversity in *Claviceps purpurea* by RAPD markers. *Mycological Research*, 101, 1–6.
- Kirchhoff.H., 1929 - Beiträge zur Biologie und Physiologie des Mutterkornpilzes. *Centralblatt für Bakteriologie, Parazitenkunde und Infektionskrankheiten*, 2, 77, 310–369.
- Liesener, K., Curtui V., Dietrich R., Märtlbauer E., Usleber E., 2010 - Mycotoxins in horse feed. *Mycotoxin Research*, 26, 23-30
- Miedaner T., Daenicke S., Schmiedchen B, Wilde P., Wortmann H., Dhillon B. S., Geiger H.H., Mirdita V. 2010 - Genetic variation for ergot (*claviceps purpurea*) resistance and alkaloid concentrations in cytoplasmic-male sterile winter rye under pollen isolation. *Euphytica* 173, 299–306
- Mitchell D., Cooke R. 1968 - Some effects of temperature on germination and longevity of sclerotia in *Claviceps purpurea*. *Transactions of the British Mycological Society*, 51, 721-729
- Mantle P., Shaw S., Doling D.A. 1977. Role of weed grasses in etiology of ergot disease in wheat. *Annals Of Applied Biology*, 86, 339-350
- Morassee I, Pageau D., Lafond J., Tremblay G.F., 1996 - La fertilisation en bore et l'ergot de l'orge au Saquenay-Lac-Saint-Jean *Phytoprotection*, 77,2, 146-147
- Ondřej, M., Cagaš B., Ondráčková E., 2010 - Effect of the mycoflora of ergot (*claviceps purpurea*) sclerotia on their viability. *Plant Protection Science*, 46, 66-71
- Orlando B., Mathie M., Labrunie T., 2010 - Ergot des céréales Quelle stratégie de nettoyage adopter pour réduire le risque ?. *Perspectives Agricoles*, 369, 8–11.
- Pažoutová, S., Olšovská J., Linka M., R.,Kolinská R., Flieger M., 2000 - Chemoraces and habitat specialization of *claviceps purpurea* populations. *Applied and Environmental Microbiology* 66, 12, 5419–5425
- Pažoutová, S., Cagaš B., Kolinská R., Honzátko, A., 2002 - Host specialization of different populations of ergot fungus (*claviceps purpurea*). *Czech Journal of Genetics and Plant Breeding*, 38, 2, 75–81
- Rapilly, F., 1968 - Etudes sur l'ergot du blé : *Claviceps purpurea* (fr.) tul. *Ann. Epiphyties*, 19, 2, 305–329
- Rouzet J., Jacquin D., 2003. Development of overwintering oospores of *Plasmopara viticola* and severity of primary foci in relation to climate. Bulletin OEPP 33, 437-442