



# Bulletin bibliographique n° 20

Rédactrice : Cécile Combes (Conseillère oléicole indépendante)

Comité de lecture : Hélène Lasserre (France Olive), Julien Balajas et Christian Pinatel (Centre Technique de l'Olivier).

## L'ŒIL DE PAON - PARTIE 1

### Épidémiologie, conditions environnementales et facteurs de résistances à l'infection



S'il est bien une maladie de l'olivier que les oléiculteurs du monde entier connaissent, c'est l'œil de paon (*Venturia oleaginea*). Il provoque des taches sur les feuilles, puis conduit à leur chute prématurée, avec pour conséquences des pertes de récolte parfois importantes.

Pourtant, si nous le rencontrons dans presque tous les vergers, connaissons-nous bien l'œil de paon ? La recherche de ces dernières années, grâce à des méthodes récentes, nous fournit une vision plus claire du fonctionnement de ce pathogène, et permet l'exploration nouvelles de voies de traitement pour des perspectives de luttés plus efficaces.

Dans cette première partie, nous balayerons tous les aspects de la maladie en nous attardant plus précisément sur son cycle de vie, son épidémiologie et les éléments qui expliquent la sensibilité ou la résistance des variétés.

Dans un prochain article, nous verrons les méthodes de prophylaxie et leur efficacité, les traitements courants à base de cuivre, et nous détaillerons les nouvelles pistes sur lesquelles travaillent les chercheurs pour trouver des alternatives aux traitement cupriques.

### 1 Biologie et épidémiologie de l'œil de paon

Chez les champignons, il existe souvent deux formes de reproduction, une forme sexuée et une forme asexuée, ce qui complique leur identification et entraîne de nombreux changements de noms<sup>1</sup>. Chez l'œil de paon (ODP), bien que l'existence d'une forme sexuée ne puisse pas être complètement exclue, on ne connaît pour l'instant qu'une reproduction asexuée dont les spores<sup>2</sup> sont appelées conidies.

**Figure 1 : symptôme de l'œil de paon sur feuille d'olivier**



<sup>1</sup> : L'ODP n'y échappe pas, au fur et à mesure de l'avancée des connaissances il changé de nom : *Spilocae oleagina*, *Fusicladium oleagineum*, *Cyloconium oleaginum* sont ses anciens noms

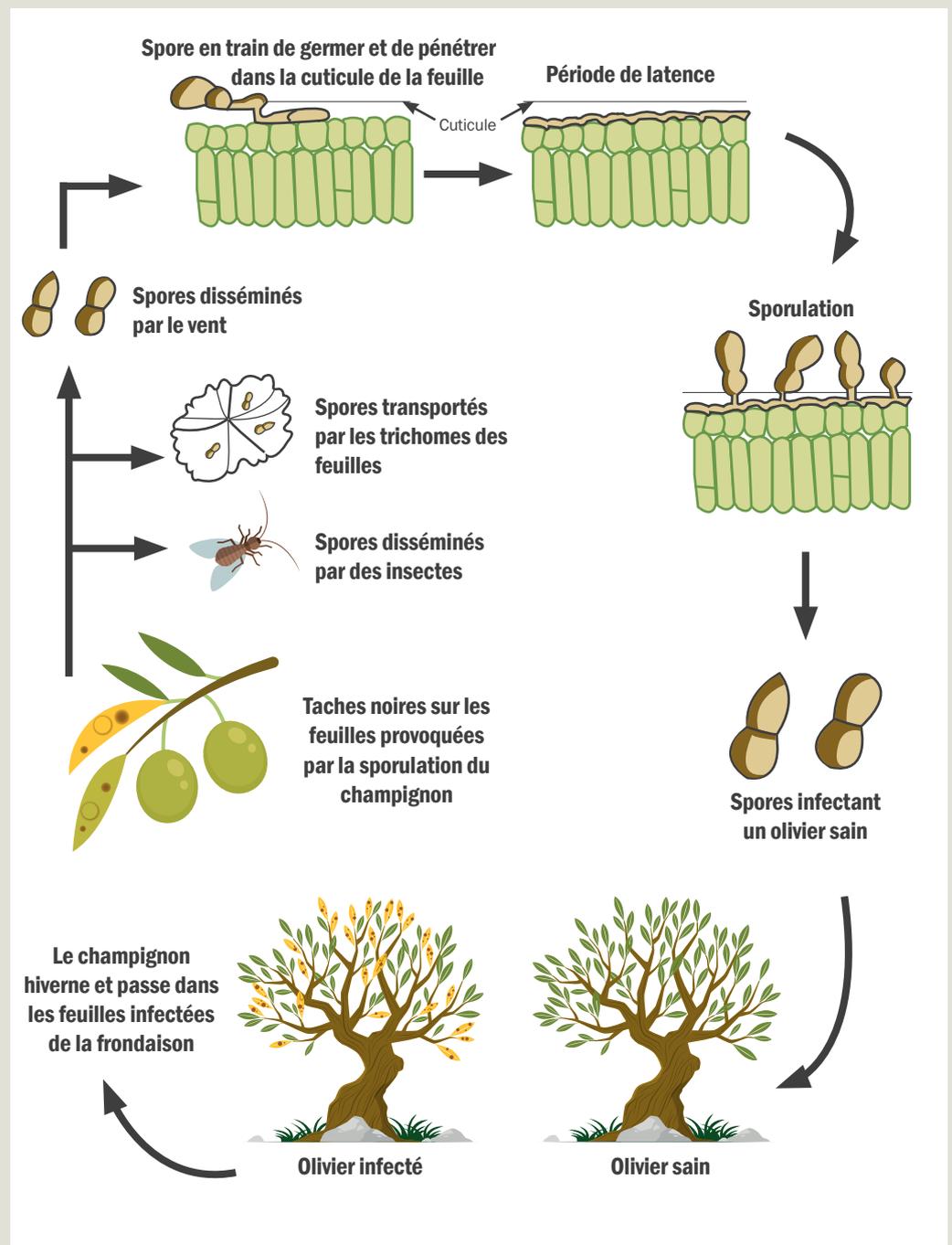
<sup>2</sup> : Pour les champignons, les spores ont une fonction proche de celle des graines pour les plantes, elles lui permettent de se multiplier et de se disséminer pour se développer ailleurs.



# 1 Une maladie qui n'est pas visible en toute saison

Lorsque l'on aperçoit la tache ronde sur les feuilles, le champignon est en train d'émettre à l'extérieur des spores. Ces spores, invisibles à l'œil nu, se déposent sur les feuilles. Lorsqu'une spore trouve des conditions favorables d'humidité et de température, elle peut entrer dans la feuille, **c'est la germination**. À l'intérieur de la feuille, le mycélium du champignon se développe de manière invisible en se nourrissant des composés de la feuille : c'est la **période de latence**. Lorsque le champignon s'est assez développé, et que les conditions de température et d'humidité lui sont favorables, il va croître vers l'extérieur de la feuille pour émettre de nouvelles **spores** qui à leur tour vont pouvoir infecter de nouvelles feuilles ; c'est la **sporulation**.

**Figure 2 : schéma du cycle de vie de l'œil de paon d'après Buonorio (Buonorio et al., 2023). Les trichomes sont des poils en forme de parasol qui participent à la protection de la feuille.**





Le cycle de vie du champignon comprend donc 3 phases :

- la **sporulation** qui correspond à l'apparition des taches et à l'**émission de spores** ;
- la **germination de la spore qui permet la contamination d'une nouvelle feuille** ;
- la croissance du mycélium pendant la phase invisible (= **période de latence**).

2

## Quelles conditions de température et d'humidité sont favorables à l'œil de paon ? Essais en conditions constantes

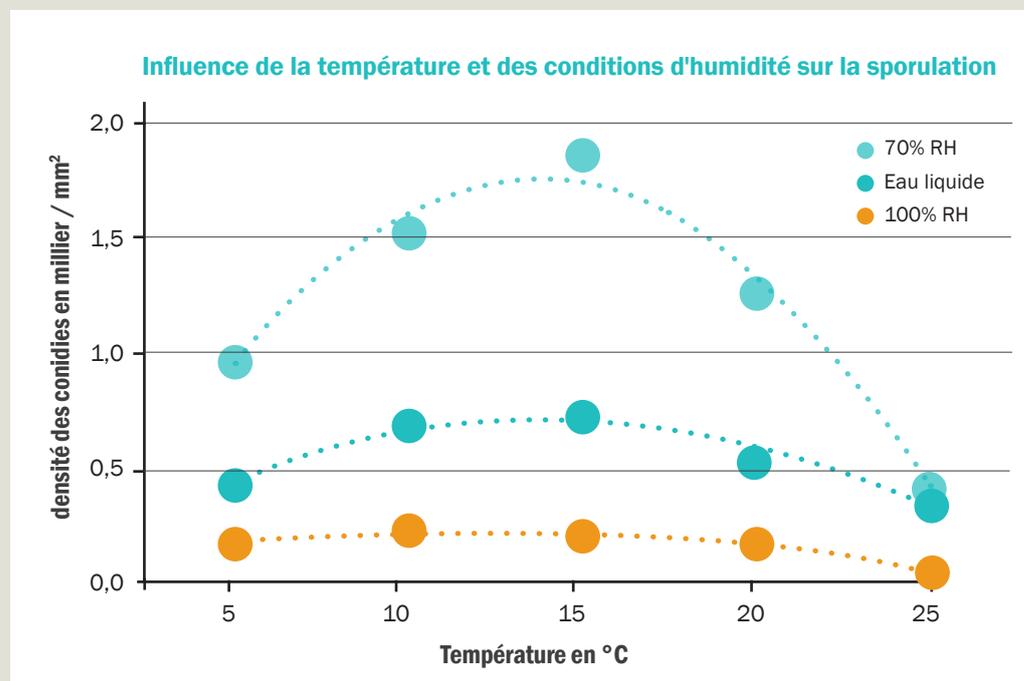
Les 3 phases du cycle de l'ODP nécessitent des conditions qui peuvent être différentes tant du point de vue de la température que des ressources en eau : eau liquide sur la feuille ou humidité relative de l'air (HR).

### Pour la sporulation

La sporulation peut avoir lieu entre 5°C et 25°C, elle est maximale autour de 15°C lorsque l'humidité relative (HR) est importante (proche de 100% HR), mais elle ne nécessite pas obligatoirement de l'eau liquide sur la feuille.

Dans la figure 3, on voit que la sporulation est plus importante à 100% d'humidité relative (courbe bleu clair) qu'avec de l'eau liquide (courbe bleu foncé).

**Figure 3 : schéma de tendance de la relation entre la température et les niveaux de sporulation observés (points) ; la courbe de régression est indiquée en pointillé. D'après Obanor, 2006.**



La sporulation peut aussi avoir lieu lorsque l'air est plus sec (ici à 70% HR en orange) mais elle reste très faible.

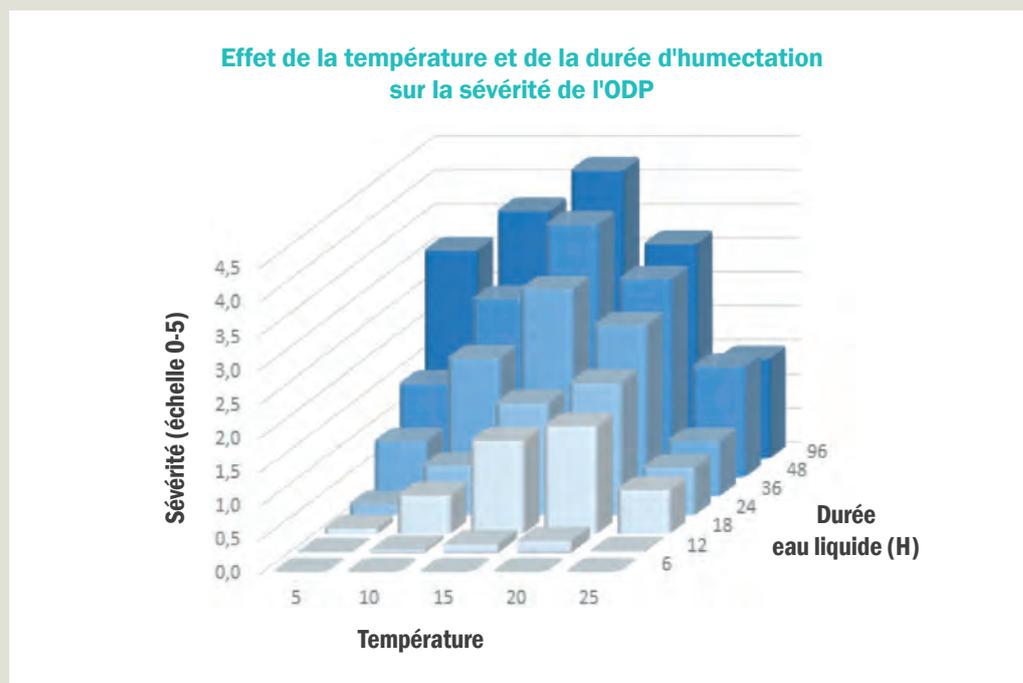
À 25°C, la sporulation existe mais elle est très faible et elle nécessite 100% HR ou de l'eau liquide sur les feuilles. À cette température, il n'y a plus du tout de sporulation à 70% HR, et dans ces conditions, les spores mettent deux fois plus de temps à apparaître qu'aux autres températures.



### Pour la germination

La germination des spores nécessite que la feuille soit mouillée (= présence d'eau liquide), elle est optimale entre 15°C et 20°C, mais elle peut se produire entre 3°C et 25°C si les conditions d'humidité sont suffisantes et durables. Il n'y a pas d'infection s'il n'y a pas au moins 12h avec un film d'eau sur la feuille (figure 4).

Figure 4 : schéma de tendance de l'effet de la température et de la durée de l'humectation sur la sévérité de l'ODP. D'après Viruega et al., 2011.



**Plus la durée d'humectation est longue, plus la sévérité de la maladie est importante.** On voit que pour 12h d'humectation et quelle que soit la température, la sévérité de la maladie reste très faible.

Dans des conditions optimales, la spore débute sa germination au bout de 6h d'humidité constante et quelques spores arrivent à achever la germination au bout de 12h.

Si la feuille reste mouillée moins de 24h c'est à 20°C qu'on a le plus d'infection ; par contre si la feuille reste humide plus longtemps le maximum d'infection est obtenu autour de 15°C. L'ODP est donc très bien adapté au climat méditerranéen, où les pluies les plus fréquentes sont en automne, en hiver et au début du printemps quand les températures sont basses. À 25°C même avec 48 à 96h d'humectation, la sévérité de la maladie reste contenue. Alors qu'à 5 ou 10°C avec des périodes d'humidité longue, la sévérité est forte.

Dans des essais comparables qui aboutissent aux mêmes conclusions, Obanor (Obanor et al., 2011) note que **pour les durées d'humidité les plus longues entre 5 et 15°C, il est observé, en plus des lésions rondes sur les feuilles, des lésions sur les pétioles et/ou sur les nervures centrales à la face inférieure des feuilles.**

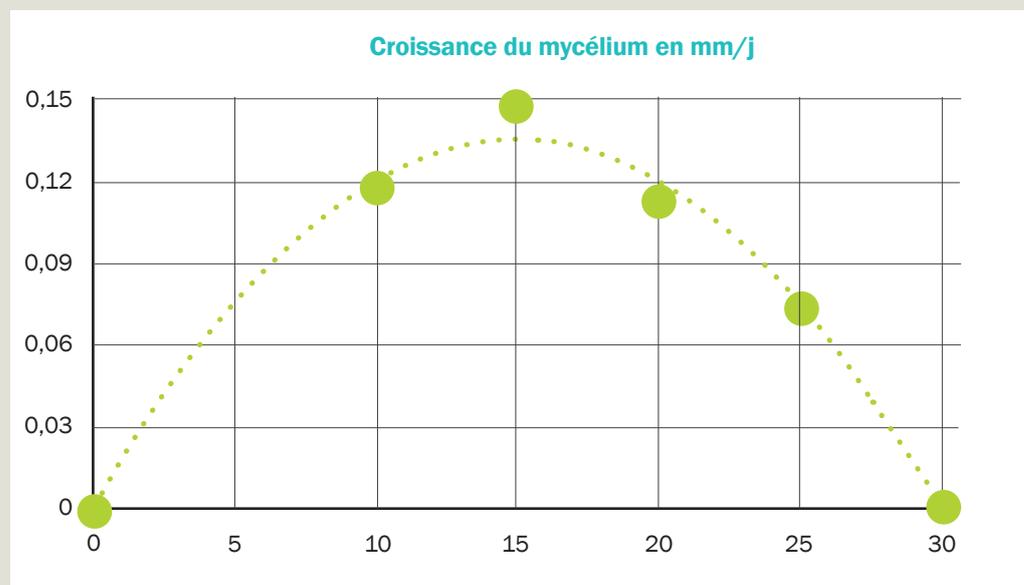
### Pour le mycélium

Le test est réalisé en boîte de pétri sur milieu de culture, on mesure l'élargissement de la colonie (figure 5).

La croissance la plus rapide est observée à 15°C, les auteurs ont vérifié l'absence de croissance à 0°C et à 30°C, par contre il n'y a pas eu de test de croissance entre 1°C et 9°C et l'on peut constater qu'à 10°C la croissance est assez rapide, elle atteint déjà 75% de la croissance maximale.



**Figure 5 : schéma de tendance de la croissance du mycélium en mm jour, les points représentent la moyenne des observations, la courbe de régression figure en pointillé. D'après Romero, 2017.**



L'œil de paon est un champignon qui provoque des taches rondes sur la face supérieure de la feuille, puis cause leur chute prématurée. Ce qui impacte la pousse et la récolte.

Les spores peuvent germer entre 3 °C et 25 °C, mais la germination est optimale entre 15 °C et 20 °C. Elle nécessite au minimum 12 h d'eau liquide sur la feuille.

Lorsque le champignon a pénétré dans l'épaisseur de la feuille il s'y développe de manière invisible, c'est la phase de latence. Cette phase ne dure que quelques semaines à 15 °C. Elle reste assez rapide entre 10 et 20 °C mais devient très lente (plusieurs mois) en dessous de 10 °C ou autour de 25 °C.

Cette phase achevée, le champignon émet de nouvelles spores à la face supérieure de la feuille : la tâche apparaît. La sporulation peut se dérouler entre 5 °C et 25 °C, mais elle est maximale à 15 °C. Elle nécessite une forte humidité relative de l'air, proche de 100%. Par contre s'il y a de l'eau liquide sur la feuille la sporulation est bien plus faible. Si l'humidité de l'air diminue la sporulation aussi, en dessous de 70% HR elle est inexistante.

La température et l'humidité jouent un rôle prépondérant dans le développement de l'œil de paon. Quelle que soit la température, plus le temps d'humidité est long, plus il y a de spores qui ont le temps de germer et plus l'impact de la maladie sera important.

La possibilité pour le champignon, pendant la période de latence, de rester présent dans les feuilles à des températures où il ne croit plus ou très peu (>25 °C en été et < 5 °C en hiver), lui permet d'être « prêt pour sporuler » aux meilleurs moments : au printemps et en automne voire même lors des hivers doux et humides.

Ces expériences assez simples permettent de bien comprendre les conditions de base nécessaires au développement du cycle complet de l'ODP dans lesquels **la température et l'humidité jouent un rôle prépondérant et sont interdépendantes.**

Cependant, **dans la nature les conditions ne sont pas aussi stables et contrôlées qu'en laboratoire.** D'autres expérimentations permettent de comprendre quels facteurs influencent la sévérité de la maladie observée des semaines, voire des mois après la contamination.



3

### Impact des variations de conditions de température et d'humidité, de l'âge des feuilles ou de la chute des feuilles au sol sur la germination et la survie des spores d'œil de paon

#### Influence de périodes d'assèchement de l'air avant la germination des spores sur la sévérité de la maladie

Des plants d'oliviers venant d'être arrosés avec une solution de spores ont été soumis à un séchage à l'air suivi d'une période allant de 0 h à 150 h dans une atmosphère avec humidité relative inférieure à 70%. Ensuite les plants sont remis dans des conditions optimales de germination des spores. Le pourcentage de feuilles touchées et la surface des feuilles malades sont mesurés 10 semaines plus tard. Les résultats figurants dans le tableau 1 montrent **que le séchage des feuilles juste après l'inoculation a peu d'effet sauf s'il est très long : on observe une diminution significative du pourcentage de feuille touchées et de la surface de feuille touchée uniquement pour la période maximale testée, 150h soit environ 6 jours avec une humidité relative inférieure à 70%.**

**Tableau 1 : effet d'une période d'assèchement immédiatement après l'inoculation sur l'incidence et la sévérité de l'infection des feuilles par d'ODP, Viruega et al., 2011. Des lettres différentes indiquent une différence statistiquement significative entre deux temps d'assèchement de l'air : seul 150h avec HR < 70% diminue significativement l'incidence et la sévérité de la maladie.**

Période d'assèchement (en heures)	Incidence (% de feuilles touchées)		Indice de sévérité (surface de feuilles touchées)	
	Visible	Totale (= visible + latente)	Visible	Totale (= visible + latente)
0 h	42 <sup>a</sup>	82 <sup>a</sup>	2,1 <sup>a</sup>	2,8 <sup>a</sup>
6 h	51 <sup>a</sup>	98 <sup>a</sup>	1,5 <sup>a</sup>	3,2 <sup>a</sup>
78 h	44 <sup>a</sup>	96 <sup>a</sup>	0,9 <sup>a</sup>	1,8 <sup>a</sup>
150 h	9 <sup>b</sup>	72 <sup>b</sup>	0,2 <sup>b</sup>	0,5 <sup>b</sup>

On peut remarquer que l'effet des 150 h avec HR < 70% a une incidence forte sur la réduction de l'incidence visible. Par contre si l'on compare l'incidence totale qui prend en compte les taches visibles et les taches révélées par la soude, la diminution est plus modeste puisque l'on passe de 96% à 72% de feuilles touchées. Toutefois, la sévérité est moindre, le pouvoir contaminant lors de la sporulation est tout de même réduit.

Ces résultats nous conduisent à penser qu'une **période de sécheresse directement après l'inoculation n'empêche pas la contamination. La période de sécheresse, si elle est très longue, peut jouer sur la vitesse de sortie des taches (la vitesse de sporulation) et la surface couverte par les taches (sévérité).**

#### Influence de périodes d'assèchement de la surface de la feuille et de l'air pendant la germination des spores sur la sévérité de la maladie<sup>3</sup>

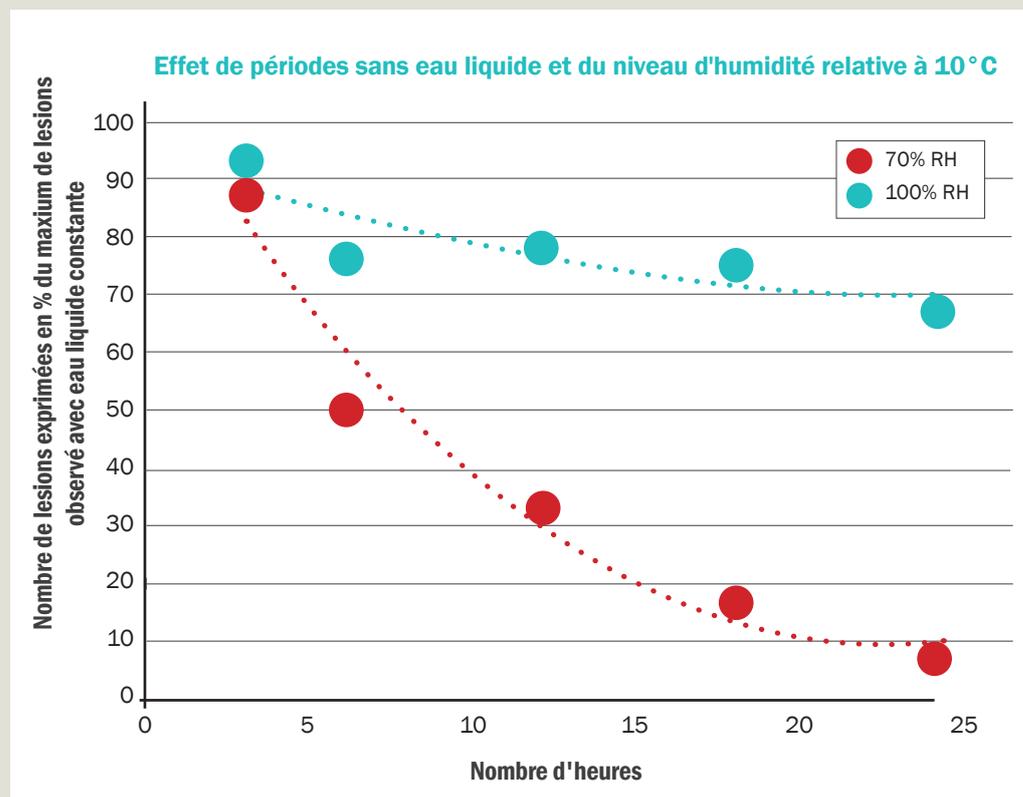
Dans une autre étude, Obanor (Obanor et al., 2011) a appliqué différents temps de d'assèchement de la feuille après un temps minimum de germination, c'est-à-dire après une période de 12h avec un film d'eau sur les feuilles et une température optimale. Lors de la période de sécheresse (= pas d'eau liquide sur la feuille), plusieurs humidités relatives de l'air (100% HR et 70% HR) et deux températures (10°C et 20°C) ont été testées. Le nombre

<sup>3</sup> : La sévérité de la maladie est notée à l'aide d'une échelle allant de 0 à 8; 0 étant 0 à 12% de surface malade, 8 étant 88% à 100% de surface malade.



de lésions est compté et exprimé en pourcentage du nombre de lésions maximales observé lorsque que l'on conserve un film d'eau permanent sur la feuille à la même température (figure 6).

**Figure 6 : schéma de tendance des effets d'une période sans eau liquide et de l'humidité relative (HR) de l'atmosphère sur le nombre de lésions, d'après Obanor et al., 2011. Le nombre de lésions est exprimé en pourcentage du maximum de lésions observé en absence de période de sécheresse (c'est-à-dire si de l'eau liquide est présente en permanence). La période de sécheresse est précédée de 12h d'humectation et suivie de 24h d'humectation.**



Il est intéressant d'observer qu'après 12 h d'humectation (qui permettent une germination complète des spores les plus rapides), une période de 12 h au sec à 70% HR diminue de moitié le nombre de lésions observées. Si ces conditions se poursuivent pendant 24 h, le nombre de lésions est divisé par 10. Par contre durant cette période de « sécheresse », si l'humidité de l'air avoisine les 100%, alors l'impact sur le nombre de lésions même au bout de 24h reste faible.

**Ces expériences éclairent certaines observations de terrain. Les vergers en coteaux, pour lesquels les périodes de germination sont interrompues par de longues périodes sèches (exposition au sud et/ou soumis aux vents) sont souvent moins touchés par l'œil de paon que les vergers littoraux et de fond de vallon.**

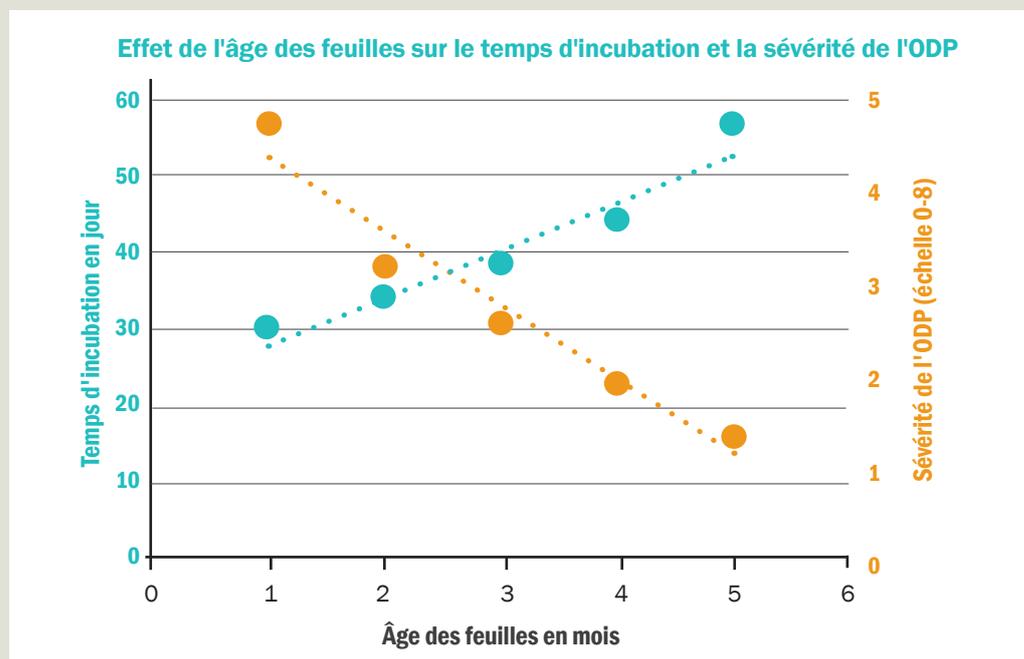
### Influence de l'âge de la feuille

Plusieurs équipes ont testé l'influence de l'âge des feuilles sur l'infection, les expériences sur des feuilles détachées ou sur des rameaux marqués sur des arbres en pots sont concordantes : **les vieilles feuilles sont moins sensibles à l'infection par l'ODP que les jeunes feuilles** (figure 7).

On observe notamment que **la sévérité de la maladie est moins forte sur les vieilles feuilles, mais également que la période de latence (ou période d'incubation) est plus longue : un peu comme si la maladie avait plus de difficulté à s'installer dans une vieille feuille**. La figure 7 montre la sévérité et la durée de la période de latence en fonction de la position de la feuille sur le rameau (donc de son âge). La paire de feuilles 1 est la plus jeune (environ 1 mois) et la paire de feuilles 6 est la plus âgée (environ 6 mois).



**Figure 7 : schéma de tendance de l'effet de l'âge des feuilles sur la période d'incubation et la sévérité de l'ODP, d'après Viruega et al., 2011. Les points représentent la moyenne des observations et la ligne en pointillé est la courbe de régression.**



Dans une autre étude Obanor (Obanor et al., 2011) montre que **les jeunes feuilles développent un plus grand nombre de lésions que les vieilles feuilles à toutes les températures de développement testées**, cet écart du nombre de lésions entre jeunes et vieilles feuilles est d'autant plus significatif que le temps d'humidité est important. Les hypothèses avancées pour expliquer ces différences sont notamment que **la jeune feuille possède une cuticule bien plus fine que la feuille plus âgée, ce qui faciliterait la pénétration du champignon.**

Ces observations sur la sensibilité des jeunes feuilles peuvent paraître contre intuitives avec les observations en verger, où l'on observe des vieilles feuilles tachées et des jeunes feuilles qui ont l'air saines : en fait dans un verger fortement touché par l'ODP elles sont souvent déjà infectées mais le champignon est en phase de latence. Les vieilles feuilles sont tachées car elles ont été contaminées plus tôt, le champignon a donc eu le temps et les conditions nécessaires pour effectuer tout son cycle.

### **Influence de l'inoculum sur la sévérité de la maladie**

L'inoculum est la quantité des spores qui sont en capacité de germer si les conditions sont favorables. Plus il y a de spores en capacité de germer, plus l'infection est importante comme l'ont montré plusieurs équipes (Obanor et al., 2011, Obanor, 2006, et Viruega et al., 2011) qui s'accordent sur le fait **qu'à conditions égales, plus la densité de spores est importante, plus la sévérité de la maladie est importante.**

### **Survie des spores**

Viruega et son équipe (Viruega et al., 2013) ont mené plusieurs expériences en verger commerciaux<sup>4</sup> et expérimentaux pour mieux comprendre la survie des spores et leur capacité de germination depuis les feuilles sur l'arbre mais aussi depuis les feuilles lorsqu'elles sont au sol.

● **Pour les feuilles tachées tombant au sol en septembre-octobre**, il n'a pas été observé de production de nouvelles spores (= en plus de celles qui avaient été fabriquées sur l'arbre). Ces feuilles sont rapidement attaquées par d'autres champignons qui les décomposent.

<sup>4</sup> : Dans les vergers des traitements antifongiques à base de cuivre sont effectués au printemps et en été, les expériences correspondent donc à des conditions réalistes.

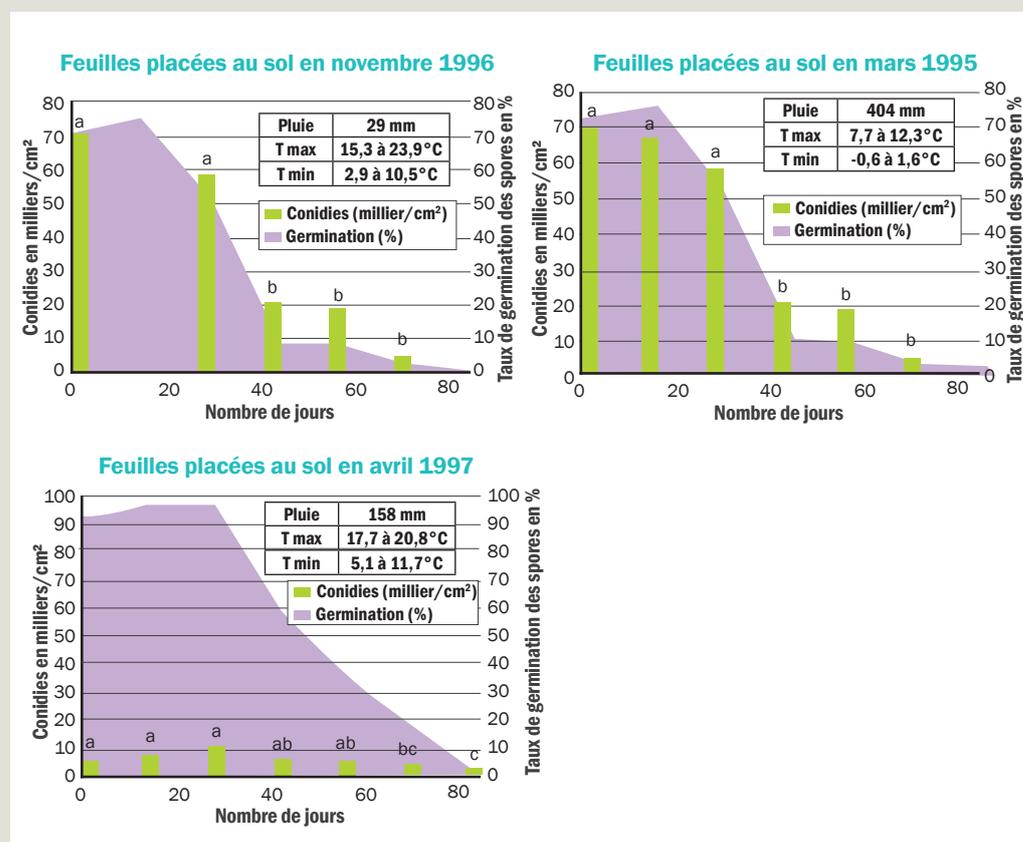


• Pour des feuilles ayant passé l'hiver au sol (feuilles tachées collectées au sol en février), l'ODP est difficilement détectable, il n'y a pas de spores observables sur les vieilles lésions et les feuilles sont colonisées par des champignons décomposeurs.

• Pour des feuilles sporulantes (tachées) collectées sur les arbres en mars 1995, novembre 1996 et avril 1997, déposées au sol (en sac nylon aéré) et suivies pendant 90 jours, il n'y a pas eu d'observation de production de nouvelles spores au sol. Par contre, les conidies préalablement formées sont détectables jusqu'à 12 semaines après la « mise au sol » des feuilles (voir figure 8).

Les feuilles sont, comme dans les expériences précédentes, rapidement colonisées par des champignons qui les décomposent. Le nombre de conidies viables et leur potentiel de germination décroît rapidement avec le temps, mais on observe néanmoins des différences très importantes suivant le climat de l'année concernée.

**Figure 8 : densité et capacité de germination des spores produites sur des feuilles placées au sol en différentes saisons et conditions climatiques. Schéma de tendance d'après Viruega et al., 2013. Pour chaque période figure la fourchette des températures minimales (Tmin) et maximales (Tmax) observées ainsi que le cumul de pluies en mm.**



• Pour les feuilles de la canopée montrant des lésions blanchâtres collectées en septembre (= feuilles tachées ayant passé l'été sur l'arbre) incubées en chambre de culture dans des conditions favorables à la sporulation, deux situations ont été observées :

- Pour les feuilles collectées en septembre 1995, après un été avec des températures atteignant 45 °C, il n'a pas été observé de production de nouvelles conidies autour de la lésion.
- Pour les feuilles collectées en septembre 1997, après un été aux températures modérées, un développement de nouvelles conidies a pu être observé.

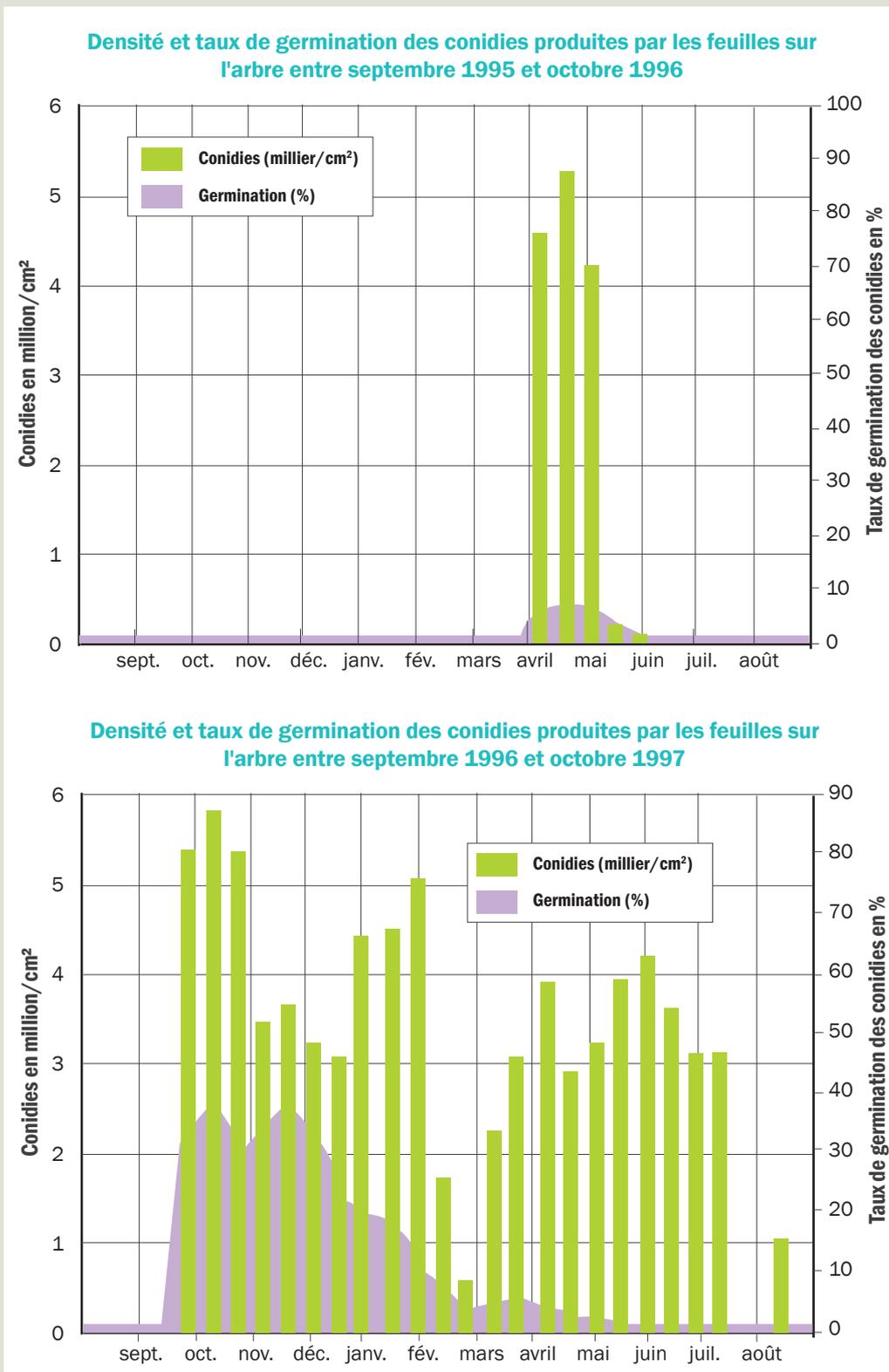
• Pour les feuilles sporulantes collectées tous les 15 jours sur 3 saisons de culture la densité des spores par cm<sup>2</sup> de feuille et leur capacité de germination (en %) a été suivie. La figure 9 montre qu'il semble y avoir des périodes de production de conidies (variables suivant le climat de l'année concernée) et que la densité des spores diminue rapidement



après ces pics. Par contre, la viabilité des spores restantes semble être parfois très durable dans le temps.

Dans un même verger, les conditions climatiques, qui influencent le développement de la maladie mais aussi la survie des spores, rendent très variable la quantité de spores présentes et leur capacité à germer suivant les années comme le montre la figure 9.

**Figure 9 : densité et taux de germination des spores produites à différentes saisons sur des feuilles de la canopée et incubées en laboratoire. Schéma de tendance d'après Viruega et al., 2013**





4

## La dispersion : comment et jusqu'où les spores contaminent-elles de nouvelles feuilles ?

Comme nous l'avons vu la source majeure d'inoculum, c'est-à-dire de spores viables, est surtout localisée sur les lésions sporulantes des feuilles encore attachées à l'arbre. Plusieurs modes de dissémination sont à l'œuvre. Le plus important est la pluie.

### • Dissémination via l'effet « splash »

Lorsque la goutte de pluie frappe la surface de la feuille tachée, la goutte explose et rebondit en emportant des spores dans chaque gouttelette issue du choc.

**Figure 10 : explosion d'une goutte sur une surface solide, effet "splash" à l'origine de la dissémination des spores**

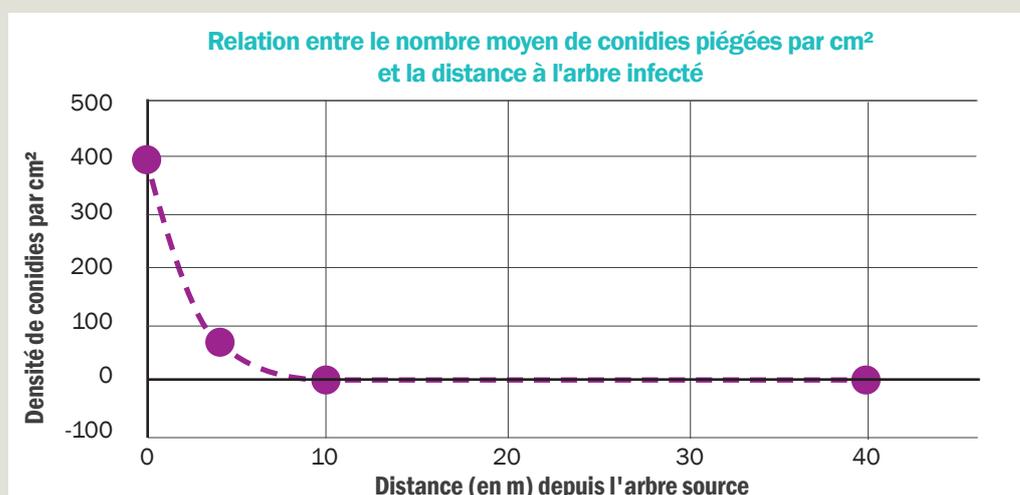


© <https://commons.wikimedia.org/wiki/index.php?curid=720313>

• **Dissémination via le ruissellement de l'eau** qui emporte les spores produites dans la partie haute de l'arbre vers les feuilles plus basses.

• Les spores peuvent aussi être disséminées par le vent ; mais cette dissémination est peu importante bien qu'elle puisse être facilitée lorsque la spore voyage sur un trichome<sup>5</sup> détaché de la feuille, un peu comme un parachute (Viruega *et al.*, 2013). Des expériences avec des pièges à spores ont montré que la distance de transport n'excédait pas une dizaine de mètres, et que le nombre de spores piégées chutait de 400 spores par cm<sup>2</sup> sous la frondaison à moins de 100 spores par cm<sup>2</sup> à 5 m, puis presque 0 à 10 m (voir figure 11).

**Figure 11 : nombre moyen de conidies piégées à 0, 5, 10 et 40m d'un arbre source de spores. Schéma de tendance d'après Viruega *et al.*, 2011**



<sup>5</sup> : Les trichomes sont des poils en forme de parasol qui participent à la protection de la surface de la feuille.





Certains auteurs ont mis en lumière le rôle possible des insectes et notamment des psoques qui se nourrissent de champignons sur les feuilles infectées. Ils seraient à l'origine d'une dissémination de spores sur de plus longues distances (De Marzo et al., 1993).

**Figure 12: psoques sur la face inférieure d'une feuille d'olivier**



© Cécile Combes

En conditions naturelles, un grand nombre de facteurs peuvent influencer la germination, le développement, la sporulation et la dissémination du champignon.

Si, après une pluie contaminante, la feuille sèche, la germination est entravée. Plus la durée de sécheresse est importante, plus la sévérité de la maladie sera faible.

Les jeunes feuilles ont une cuticule très fine, les spores d'ODP ont plus de facilité à y pénétrer rapidement : les jeunes feuilles sont donc plus sensibles à l'infection par l'ODP que les vieilles feuilles.

À conditions égales, plus la densité de spores en capacité de germer est importante, plus la sévérité de la maladie sera grande. Mais les conditions du milieu influencent beaucoup la quantité et la survie des spores produites : selon les années, dans un même verger, la quantité de spores et la durée pendant laquelle les spores restent en capacité de germer est extrêmement variable.

Ce sont essentiellement les feuilles tachées sur les arbres qui sont à l'origine de l'émission des spores qui vont contaminer d'autres feuilles. La dispersion est majoritairement assurée par la pluie sur des distances de quelques mètres ; mais des insectes pourraient être à l'origine de dispersions sur de plus longues distances.

Les feuilles tachées tombées au sol sont considérées comme ayant assez peu d'impact sur la contamination.

## 5 D'où vient la résistance ou la sensibilité à l'ODP ?

### Quelles caractéristiques des feuilles influencent leur sensibilité à l'infection ?

Les chercheurs ont observé l'épaisseur de la cuticule, la densité et le diamètre des trichomes (poils recouvrant la surface des feuilles et formant le feutrage blanchâtre sur la face inférieure, voir Figure 13) de 4 variétés (Picholine, Chétoui, Meski et Arbéquine) et leur sensibilité à l'œil de paon.

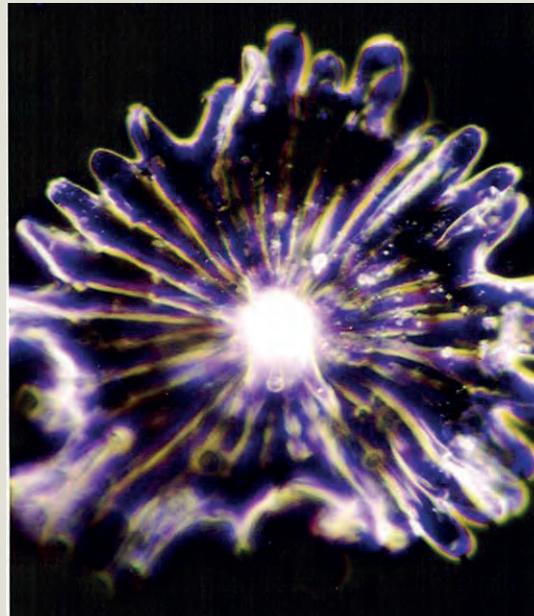
Ils montrent :

- une très bonne corrélation entre **une forte densité de trichomes et une infestation plus faible.**
- une bonne corrélation entre **une cuticule plus fine et une infestation plus forte.**



Ces observations sont concordantes avec ce qui a été observé par de nombreux auteurs (voir ci-avant « influence de l'âge de la feuille ») sur la sensibilité plus forte des feuilles jeunes à l'ODP en raison d'une cuticule plus fine.

**Figure 13 : photo d'un trichome (poil en forme de parasol) vu au microscope, Coulomb, 2004**



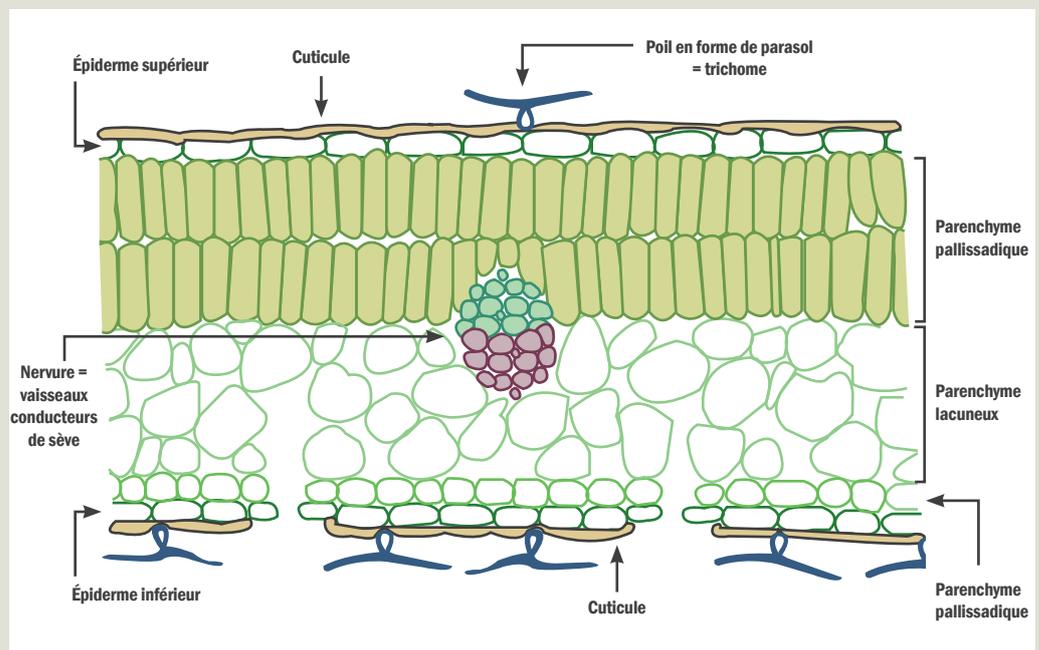
© Philippe Jean COULOMB, Université d'Avignon, Faculté des Sciences et Fédération Méditerranéenne Oleiculture et Santé (FEMOS), Mohamed El MAATOUJ, Université d'Avignon, Faculté des Sciences, 33, rue Louis Pasteur, 84 000 Avignon Philippe Olivier COULOMB, SARL ENIGMA-Recherche, Domus Claudia, Hameau de Saint Véran, 84 190 Beaumes de Venise

### Quelles sont les modifications de la feuille lors de l'infection ?

Lanza et son équipe (Lanza et al., 2017) ont étudié ce qu'il se passait dans les feuilles d'olivier (var. Conservolea) au moment de l'infection par l'ODP, puis pendant les phases suivantes lorsque le développement du mycélium progresse.

Ils ont d'abord observé au microscope électronique la surface de la feuille pour voir comment les spores y pénètrent. Conformément à ce qui avait été décrit par des prédécesseurs (Obanor, 2006), ils observent **la pénétration directe du tube de germination de la spore à travers la cuticule.**

**Figure 14 : schéma d'organisation d'une feuille vue en coupe transversale**



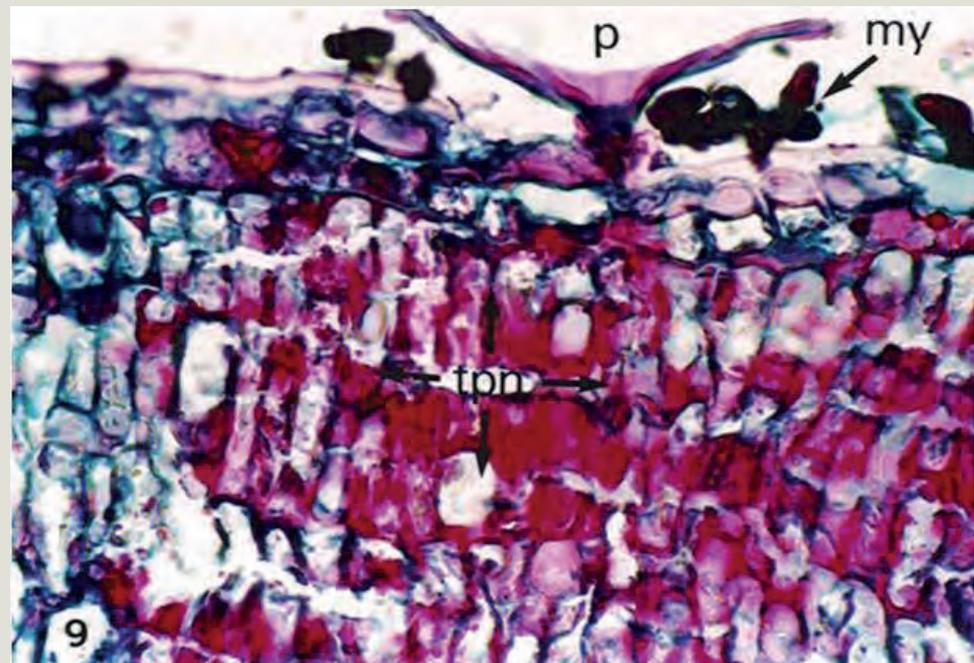


La figure 14 montre l'organisation de la face supérieure de la feuille : cuticule, parasol ou trichome, cellules de l'épiderme supérieur, et dessous, le parenchyme palissadique constitué de cellules bien alignées qui réalisent la photosynthèse.

Des coupes de feuilles infectées et saines ont été colorées pour révéler l'état des cellules. Les observations de Lanza révèlent que le mycélium du champignon croît dans la cuticule, plus précisément entre les couches externes et internes de la cuticule qui protègent les cellules épidermiques. La cuticule n'est pas constituée de cellules vivantes, c'est une couche de protection constituée de cutine, une matière très hydrophobe et difficile à dégrader.

Le champignon ne pénètre donc pas à l'intérieur même des cellules<sup>6</sup>, pourtant on observe lorsque l'infection avance, **une dégénérescence des cellules situées dessous : elles perdent leur contenu.**

**Figure 15 : coupe de feuille d'olivier infectée par l'ODP. Coloration vert lumière-safranine (X840). Coulomb, 2004.**



© Philippe Jean COULOMB/Université d'Avignon, Faculté des Sciences et Fédération Méditerranéenne Olericulture et Santé (FEMOS), Mohamed El MAATAOUI, Université d'Avignon, Faculté des Sciences, 33, rue Louis Pasteur, 84 000 Avignon, Philippe Olivier COULOMB, SARL ENIGMA-Recherche, Domus Claudia, Hameau de Saint Vrain, 84 190 Beaumes de Venise.

La figure 15 montre l'atteinte du parenchyme palissadique (tpn), on voit les cellules éclatées et colorées en rouge en raison de la présence de composés phénoliques. On voit également les spores de champignon (my) accumulées au pied du trichome (p).

Les mécanismes de cette dégénérescence ne sont pas complètement élucidés, mais les auteurs pensent que la **dégradation de la cuticule rend les cellules de la feuille plus sensibles aux variations de teneur en eau** ce qui dérègle sa capacité de régulation. Ils rapprochent leurs observations de l'**augmentation de la transpiration des feuilles infectées**, et des modulations de gènes impliqués dans les réactions à la sécheresse qui ont été montrées par d'autres auteurs. Ils remarquent également qu'en fin d'infection, lorsque le champignon traverse la cuticule pour aller « porter » ses spores à l'extérieur, les dégradations de la cuticule sont encore plus importantes et expliquent aussi, en partie, les dommages des cellules de la feuille.

### Quels mécanismes mobilisent les oliviers pour lutter ?

Les coupes de feuilles (variété Conservolea) saines et à différents stades d'infection ont été colorées pour révéler certains **marqueurs chimiques** qui indiquent que **la plante se défend**, notamment l'activité de l'enzyme polyphénol oxydase (PPO). **Cette enzyme est dans de nombreuses plantes responsable de la transformation des biophénols en composés toxiques pour les ennemis des plantes.** Ces réactions provoquent le brunissement des

<sup>6</sup> : Il ne traverse pas la paroi pectocellulosique des cellules de la feuille et reste en surface.



tissus<sup>7</sup> que l'on constate par exemple en cas de blessure sur une feuille ou d'attaque par un pathogène.

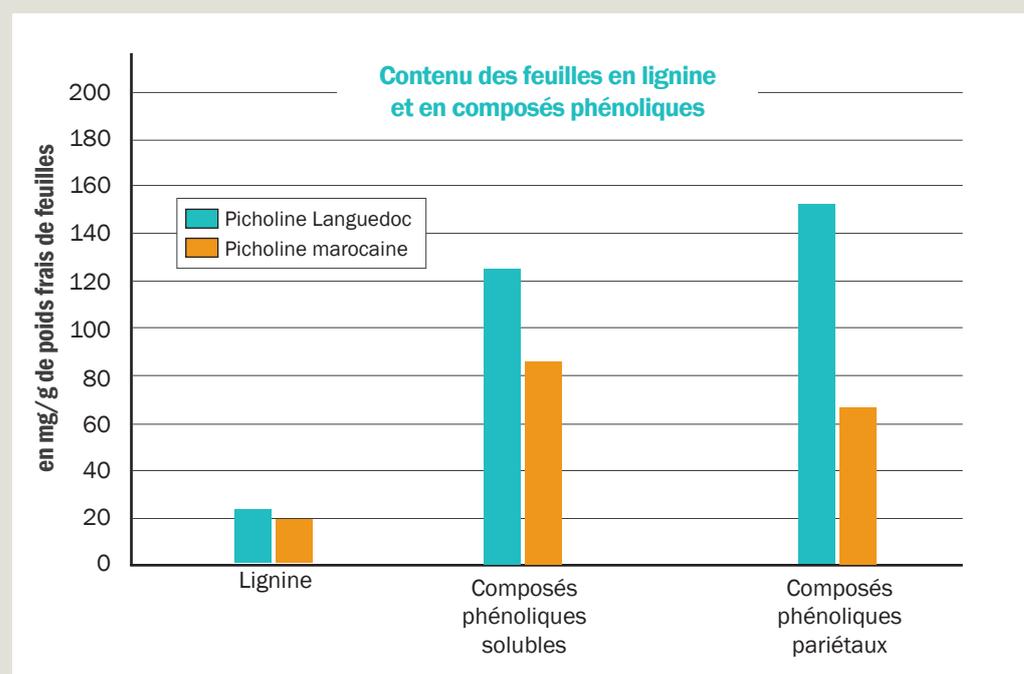
Pour une infection par l'ODP sur feuille d'olivier de la variété « Conservolea », on observe **qu'il n'y a qu'une activation très localisée de ces enzymes de défense dans les cellules de l'épiderme. Cette activation** est plus importante dans les feuilles présentant un stade avancé de l'infection. Il y a donc **une réaction de défense de l'olivier mais elle est limitée au voisinage immédiat du champignon dans les cellules qui sont juste sous la cuticule.** Les auteurs mentionnent que plusieurs équipes ont mis **en concordance des teneurs hautes en composés phénoliques et une meilleure résistance à l'œil de paon**, nous abordons ces aspects en détail un peu plus loin.

### Quelle est l'importance des bio phénols dans la résistance à l'infection ?

Dans ce travail, la composition de feuilles d'une variété réputée résistante (la Picholine du Languedoc) et d'une variété réputée sensible (la Picholine du Maroc) est étudiée depuis l'inoculation de l'ODP et pendant les 2 mois suivants.

En l'absence d'infection (figure 16), on observe que la variété résistante montre une composition plus riche en phénols solubles, en phénols dans parois cellulaires (phénols pariétaux) et en lignine.

**Figure 16 : teneur en lignine et composés phénoliques constitutifs de la Picholine Marocaine et de la Picholine du Languedoc. Schéma de tendance d'après Rahioui, 2013.**

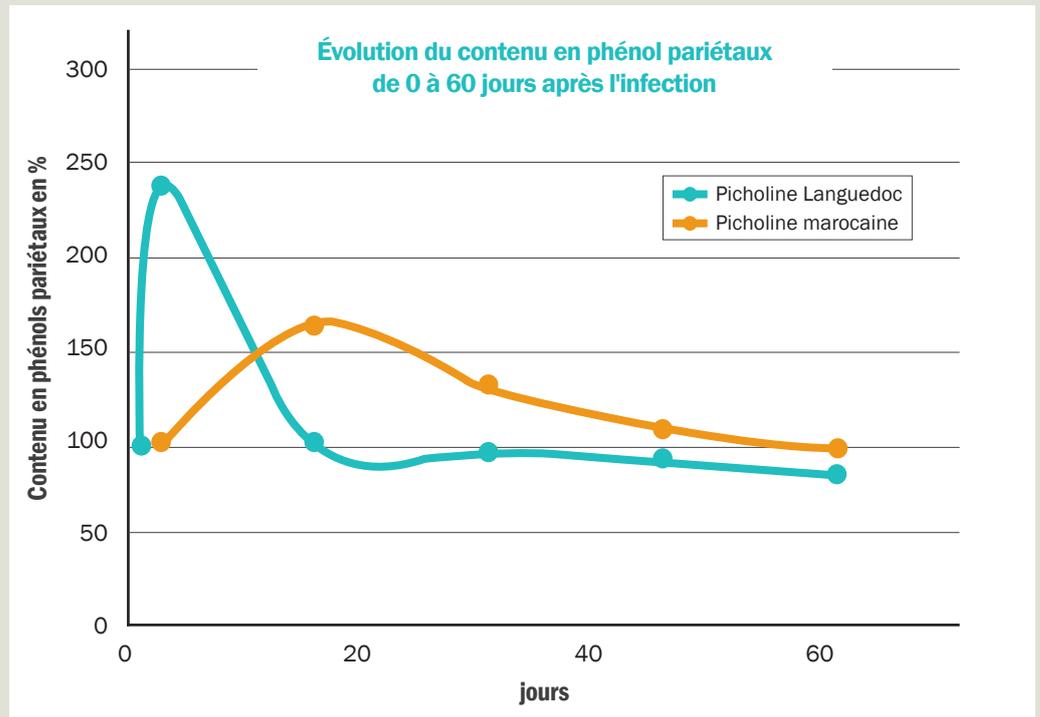


L'interaction olivier/œil de paon est accompagnée par une augmentation de l'accumulation des composés phénoliques solubles et pariétaux et une intensification de la lignification. Pour tous ces composés, la réponse de la variété résistante (Picholine du Languedoc) est plus rapide et plus intense que la réponse de la variété sensible (Picholine marocaine) à l'ODP. Lors de l'infection, la variété résistante présente une augmentation très rapide de ces composés : dès le second jour après l'inoculation, le maximum est atteint (figure 17). Pour la variété sensible, l'augmentation de ces composés est plus faible et beaucoup plus tardive, le maximum est atteint autour du 16<sup>e</sup> jour.

<sup>7</sup> : Certains composés de réactions secondaires sont des mélanines qui sont très colorées.



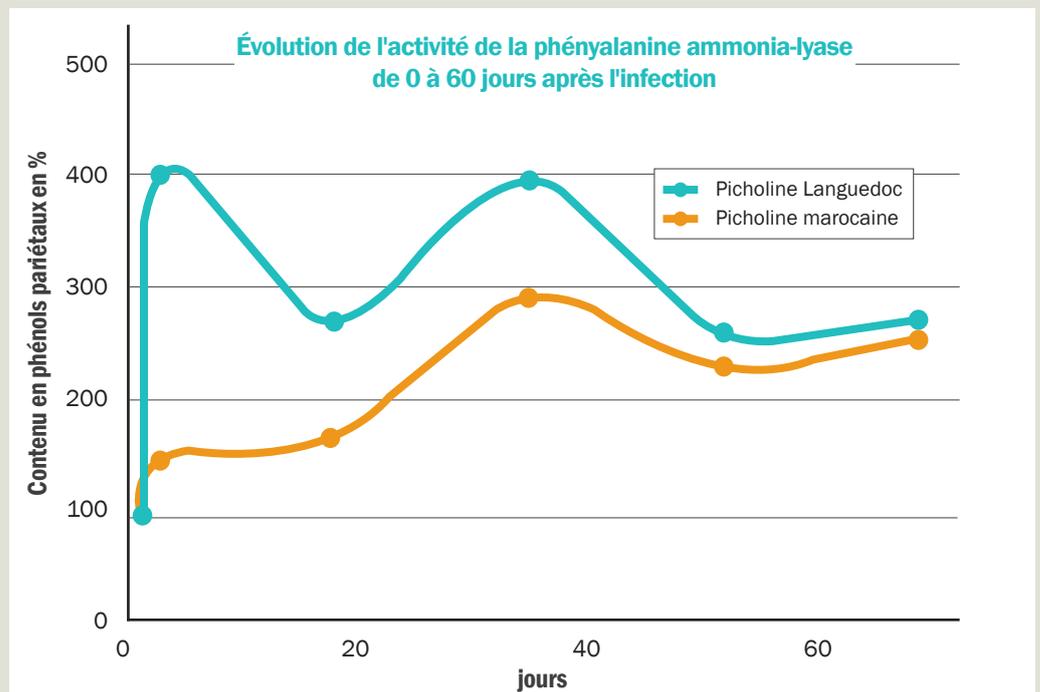
**Figure 17 : accumulation des composés phénoliques dans les parois cellulaires au cours du temps après une infection par l'ODP. Schéma de tendance d'après Rahioui, 2013.**



Les auteurs ont également observé l'activité de la phénylalanine ammonia-lyase (PAL) qui est une enzyme clé de la synthèse des composés phénoliques. Ces composés sont toxiques pour les champignons, ce sont par exemple des phytoalexines ou des composés salicyliques ou des précurseurs de lignine.

Cette enzyme est activée très tôt et très intensément pour la variété résistante (figure 18), alors que pour la variété sensible (orange) elle est activée plus modérément et plus tardivement. Ce qui est cohérent avec une accumulation plus faible et plus tardive des composés riches en phénols comme nous l'avons vu ci-avant.

**Figure 18 : évolution de l'activité de l'enzyme phénylalanine ammonia-lyase après une infection par l'ODP. Schéma de tendance d'après Rahioui, 2013.**





## Quelle est l'importance d'une bonne signalisation de l'infection ?

Dans les plantes, certaines substances jouent le rôle d'hormones. Elles sont des messagers qui activent des mécanismes de croissance, de synthèse d'autres composés ou même de chute des feuilles ou des fleurs. C'est le cas de l'acide abscissique, l'éthylène, de l'acide sacylique et du jasmonate qui, entre autres, peuvent signaler une attaque et activer la synthèse de composés de défense par la plante. Une des premières étapes de la défense est donc la fabrication de ces hormones, et donc l'activation des gènes qui codent pour ces hormones.

En analysant quels sont les gènes activés dans les feuilles d'une variété sensible (Nocellara del Belice) et d'une autre peu sensible (Koroneiki), Marchese et son équipe ont montré que les deux variétés présentent de grandes différences. Pour la variété Koroneiki (plus résistante) on observe :

- **une expression hormonale forte**, où l'acide abscissique, l'éthylène et le jasmonate agissent en synergie et signalent précocement l'infection.
- **l'expression de gènes de défenses**. Nombre d'entre eux sont impliqués dans la **synthèse et le renforcement des parois cellulaires** et notamment dans la synthèse de lignine. Ces éléments indiquent un rôle possible de la composition des parois cellulaires dans la résistance à la maladie.

Les auteurs notent qu'il est remarquable que beaucoup de gènes activés ne soient exprimés que chez Koroneiki, alors que Nocella del Belice manque d'un système de défense effectif.

## Quel est le rôle de la nutrition dans la sensibilité à l'ODP ?

Dans sa synthèse bibliographique de 2019, Fernandez-Escobar note que les effets nutritionnels (notamment pour N et K) sur la sensibilité aux maladies et ravageurs des plantes sont nombreux mais parfois contradictoires. L'impact du statut nutritionnel de la plante dépend de l'équilibre azote/potasse, mais aussi de l'espèce de plante considérée, de la maladie et de la sensibilité de la variété à cette maladie.

### Nutrition azotée (N)

Plusieurs équipes ont étudié les relations entre la nutrition azotée et la sensibilité à l'œil de paon. Sur les essais de plantes en pot et sur des cultures hydroponiques, les résultats sont concordants : **l'augmentation de la nutrition azotée provoque une augmentation de la sévérité de la maladie.**

**Sur les essais en verger, les résultats sont plus contradictoires.** Une étude (notamment sur variété sensible) montre une augmentation des symptômes alors que d'autres études sur des variétés où la sensibilité n'est pas précisée ne montrent pas de relations claires. **Cependant, ces essais sont menés pendant de courtes périodes (2 ans en général)** ce qui est peu. En effet, nous avons vu dans les articles sur l'azote, qu'en verger il était nécessaire de poursuivre plus de 3 ans les études avec différents niveaux de nutrition azotée pour que les arbres se comportent réellement différemment (cf. Le Nouvel Olivier n° 121).

Dans le tableau 2, sont présentés les résultats d'une étude de référence comprenant des essais sur des plantes cultivées en hydroponie en une chambre de culture, en pot sous serre et en verger (Roca et al., 2018) : les 5 expérimentations montrent une augmentation des symptômes avec la nutrition azotée la plus forte (N2) pour la variété Picual qui est considérée comme sensible.



**Tableau 2 : susceptibilité à l'ODP de plants d'olivier recevant différents niveaux d'azote : N1 =niveau faible, N2= niveau fort. Une lettre différente signifie une différence statistiquement significative (P=0.05). L'index de la maladie est un calcul permettant de faire une moyenne pondérée de la sévérité mesurée sur toutes les feuilles observées pour un traitement donné exprimé en %. Donc 100% correspond à la situation toutes les feuilles sont atteintes avec une sévérité maximale, 0% correspond à aucune feuille n'est touchée (donc sévérité 0 pour toutes les feuilles).**

Conditions et durée d'expérience	Index de maladie en %	
	Traitement N1	Traitement N2
1 - Hydroponique 5 mois en chambre de culture	52,7 <sup>b</sup>	81,3 <sup>a</sup>
2 - En pot 8 mois en serre	68,1 <sup>b</sup>	87,7 <sup>a</sup>
3 - En pot 5 mois en chambre de culture	4,4 <sup>b</sup>	12,6 <sup>a</sup>
4 - En pot 5 mois	53,4 <sup>b</sup>	79,3 <sup>a</sup>
5 - En verger 2 ans	17,6 <sup>b</sup>	29,4 <sup>a</sup>

Pour l'expérience en verger, les feuilles sont collectées en verger puis inoculées avant d'être placées en incubation.

Les auteurs attribuent la plus grande sévérité de l'attaque d'ODP sur les plants fertilisés avec de forts niveaux d'azote à des changements physiques et physiologiques dans la feuille. Ces changements peuvent :

- D'une part, favoriser l'infection et le développement de la maladie : la nutrition azotée favorise l'émission de nouvelles feuilles et nous avons vu que les jeunes feuilles étaient plus sensibles.
- D'autre part, ces changements peuvent aussi réduire les capacités de la plante à se défendre en diminuant sa capacité de synthèse de composés de défense.

C'est cette seconde hypothèse qui est souvent retenue pour expliquer la relation entre l'azote et les maladies des plantes. Les auteurs notent que pour des champignons de la même famille (*Venturia inaequalis* qui touche la pomme et *V. pirina* qui affecte la poire) la fertilisation azotée et l'augmentation des maladies sont positivement corrélées pour les variétés de poires et de pommes sensibles.

Compte tenu des travaux sur les composés phénoliques dans les feuilles (cf. paragraphe 4 "Quelle est l'importance des bio phénols dans la résistance à l'infection", page 34), les auteurs suggèrent que c'est probablement la diminution des phénols dans les feuilles qui cause l'augmentation de la maladie en cas de forte fertilisation azotée. De forts taux d'azote favorisent la croissance végétative rapide ce qui consomme du carbone, le taux C/N (=carbone/azote) diminue alors dans tous les organes : les voies de biosynthèse de composés phénoliques sont limités par manque de carbone.

### Nutrition potassique

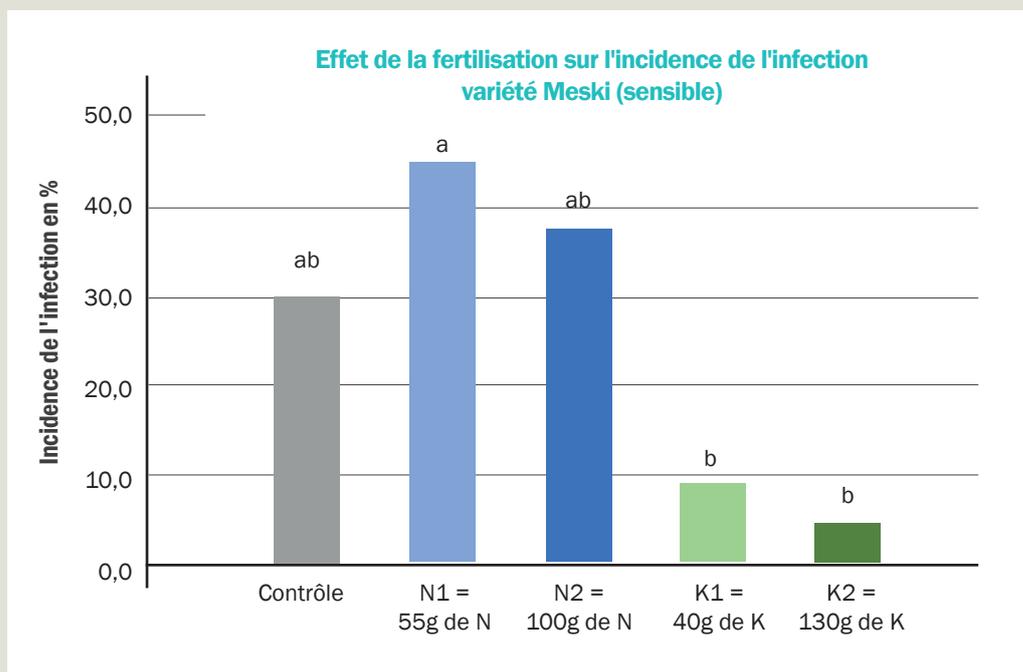
Il y a moins de travaux sur les effets de la nutrition potassique sur l'ODP. Toutefois l'étude de Ouerghi *et al.* de 2016 comporte un essai d'inoculation avec des nutriments potassiques différentes pour la variété Meski (qui est la plus sensible des 4 variétés testées dans les autres essais réalisés par cette équipe).

Les résultats détaillés dans le schéma figure 19 montrent que l'augmentation de la dose phospho-potassique semble améliorer la résistance à l'œil de paon alors que la dose azotée diminue la résistance à l'œil de paon sur la variété sensible Meski.

Toutes les plantes utilisées pour l'expérience ont reçu pendant la croissance un engrais retard de type 15/4/7,5. Puis tous les plants ont été inoculés. Et enfin, les plants N1 et N2 ont reçu de l'azote sous forme d'ammonitrate (55 g pour N1 ou 100 g pour N2 par pot), et les plants K1 et K2 de la potasse et du phosphore sous forme de mono-potassium de phosphate (40 g/pot pour K1 et 130 g/pot pour K2). Les plants témoins n'ont rien reçu après inoculation.



**Figure 19 : influence de la nutrition de plants de variété Meski sur l'incidence de l'ODP, schéma de tendance d'après Ouerghi et al., 2016.**



L'expérience est intéressante car elle montre de vraies différences en fonction des équilibres de fertilisation azote et potasse, mais le protocole ne permet pas de déterminer si c'est la présence de phosphore et/ou de potasse et/ou le plus faible taux d'azote qui sont à l'origine de la diminution de l'infection pour les deux traitements. Par contre l'expérience montre qu'une balance azote /potasse déséquilibrée peut avoir une influence forte sur l'infection de la variété Meski à l'ODP.

### Comment déterminer la sensibilité à l'ODP des variétés ?

La détermination de la sensibilité des variétés d'olivier à l'ODP est un sujet complexe. Si des études de comparaisons de quelques variétés entre elles peuvent nous aider à comprendre les mécanismes expliquant sensibilité et résistance, la sensibilité reste une notion relative si l'on considère un faible nombre de variétés :

- Comme nous l'avons constaté dans tous les travaux présentés dans la première partie, chaque équipe de chercheurs teste des variétés différentes, souvent celles qui sont importantes pour leurs pays. La sensibilité donnée est souvent relative, car évaluée au regard des 2, 3 ou 4 autres variétés testées dans l'essai. De ce fait, une même variété (surtout si elle est moyennement sensible) peut apparaître très sensible dans une étude si elle est testée avec d'autres moins sensibles, ou plutôt résistante dans une autre étude si elle est testée avec des variétés plus sensibles qu'elle.
- Enfin, les inoculations sont faites avec des souches issues du milieu naturel du pays où se déroule l'expérience. Buonaurio et son équipe notent que des recherches ont récemment montré qu'il existait une variabilité de virulence des différentes souches d'ODP en fonction de l'origine géographique.
- Et pour finir, dans les essais au champ, les conditions climatiques très différentes des pays où se déroulent les études peuvent jouer un rôle important dans la sévérité observée.

Malgré ces difficultés d'extrapolation des résultats, deux études sont intéressantes et complémentaires dans leurs approches :

- une étude réalisée sur les arbres du Conservatoire de Perugia qui compare de très nombreuses variétés en un seul lieu géographique, c'est-à-dire soumises à la même climatologie et à la même souche d'ODP (Rapport BeFORE Project, 2019).



- une analyse de la banque génomique OLEA Databases dans laquelle sont reportées, depuis 2007, des données solides concernant les traits biologiques et moléculaires des variétés, notamment concernant la résistance aux maladies, aux ravageurs, et aux conditions du milieu.

Ces deux études concernent de nombreuses variétés non présentes en France et peu ou pas de variétés françaises ; aussi nous ne présentons dans le tableau 3 que les données des variétés qui peuvent être présentes en France.

**Tableau 3 : présentation en parallèle des résultats de l'analyse de Olea Databases sur la résistance à l'œil de Paon et de l'étude portant sur la sensibilité des variétés de la collection de Peruggia en Italie.**

Variété	Pourcentage d'études où la variété est peu sensible (nb d'études)	Étude sur les arbres du conservatoire de Peruggia
Références	Analyse Olea Databases (Buaunorio, 2023)	Rapport BeFORE project, 2019
Leccino	100% (18)	Sensibilité faible
Koroneiki	100% (2)	Sensibilité faible
Ascolana Tenera	48% (43)	Sensibilité moyenne
Cipressino		Sensibilité moyenne
Gordal Sevillana		Sensibilité moyenne
Arboussane	50% (2)	
Picholine du Languedoc		Sensibilité moyenne
Pendolino	20% (25)	
Frantoio (=Cailletier)	12% (73)	Sensibilité moyenne à haute
Arbequine	5% (18)	Sensibilité moyenne à haute
Grossanne		Sensibilité moyenne à haute
Cornicabra		Sensibilité haute
Picual		Sensibilité haute
Verdale de l'Hérault		Sensibilité haute
Tanche		Sensibilité haute

Dans ce chapitre, nous avons vu que plusieurs mécanismes expliquaient la sensibilité ou la résistance d'une variété à l'ODP.

- Une faible épaisseur de cuticule et/ou une faible densité de trichomes rend les feuilles plus sensibles à l'œil de paon. Les feuilles jeunes sont plus sensibles, car leur cuticule est moins épaisse que celle des feuilles anciennes.
- La mise en place de défenses telles que composés phénoliques, dépôts de lignine sur les parois, est plus importante et plus rapide chez les variétés plus résistantes à l'ODP.
- Les variétés plus résistantes disposent d'un système de signalisation de l'invasion plus efficace et plus rapide : c'est-à-dire une meilleure immunité.

La nutrition a une influence sur le comportement des arbres face à la maladie. Un fort excès d'azote ou un déficit de potasse peuvent favoriser la maladie pour les variétés sensibles :

- La nutrition agit à la fois sur les voies chimiques et les éléments disponibles pour fabriquer des composés de défense.



- Un fort apport d'azote conduit aussi à de nouvelles pousses plus longues, et donc un nombre de jeunes feuilles sensibles plus important.
- Cependant, la croissance des pousses permet aussi à l'arbre de remplacer les feuilles malades, et de garder ainsi un plus grand nombre de feuilles actives, permettant plus de photosynthèse, donc plus de ressources en carbone.

En matière de nutrition, il faut viser l'équilibre : suffisamment d'azote pour avoir une pousse assurant de bonnes récoltes, tout en évitant un excès d'azote et un déficit en potasse qui pourraient augmenter la sensibilité aux maladies.

Si les facteurs de résistance intrinsèque des variétés commencent à être mieux compris, ils ne sont pas totalement élucidés. Le rôle joué par l'environnement reste très important et c'est l'attelage variété / environnement de la parcelle / itinéraire cultural qui est déterminant pour contrôler la maladie.

### BIBLIOGRAPHIE

**Marchese A, Balan B, Trippa D et al.** NGS transcriptomic analysis uncovers the possible resistance mechanisms of olive to *Spillocaea oleagina* leaf spot infection. *Frontiers in Plant Science* 2023; **14**. doi:10.3389/fpls.2023.1219580.

**Buonaurio R, Almadi L, Famiani F, Moretti C, Agosteo GE, Schena L.** Olive leaf spot caused by *Venturia oleaginea* : An updated review. *Front Plant Sci* 2023; **13** : 1061136.

**Lanza B, Ragnelli AM, Priore M, Aimola P.** Morphological and histochemical investigation of the response of *Olea europaea* leaves to fungal attack by *Spillocaea oleagina*. *Plant Pathology* 2017; **66** : 1239–1247.

**Joaquín Romero Rodríguez JR.** *Desarrollo y verificación del modelo epidémico 'Repilos' en el olivar andaluz*. 2017

**Ouerghi F, Rhouma A, Aloui S, Rassaa N, Hennachi I, Nasraoui B.** Histological characterization of resistance and some alternative control for leaf spot disease in olive tree. 2016; **27**.

**IFAPA, UNIPG. D.3.8** Phenotypic profile of varieties (resistant/susceptible) related to the olive leaf spot ( *Spillocaea oleagina* ) fungus. Before project, 2019.

**Rahioui B, Aissam S, Messaouri H, Abdelmajid M, Khadari B, El Modafar C.** Role of Phenolic Metabolism in the Defense of the Olive-tree against Leaf-spot Disease Caused by *Spillocaea oleagina*. *International Journal of Agriculture and Biology* 2013; **15**.

**Viruega JR, Roca LF, Moral J, Trapero A.** Factors Affecting Infection and Disease Development on Olive Leaves Inoculated with *Fusicladium oleagineum*. *Plant Disease* 2011; **95** : 1139–1146.

**Viruega JR, Moral J, Roca LF, Navarro N, Trapero A.** *Spillocaea oleagina* in Olive Groves of Southern Spain: Survival, Inoculum Production, and Dispersal. *Plant Disease* 2013; **97** : 1549–1556.

**Roca LF, Romero J, Bohórquez JM, Alcántara E, Fernández-Escobar R, Trapero A.** Nitrogen status affects growth, chlorophyll content and infection by *Fusicladium oleagineum* in olive. *Crop Protection* 2018; **109** : 80–85.

**Obanor FO, Walter M, Jones EE, Jaspers MV.** Effects of temperature, inoculum concentration, leaf age, and continuous and interrupted wetness on infection of olive plants by *Spillocaea oleagina*. *Plant Pathology* 2011; **60** : 190–199.

**Obanor FO.** *Olive leaf spot : epidemiology and control*. 2006. <https://hdl.handle.net/10182/1516>.

**Fernández-Escobar R.** Olive Nutritional Status and Tolerance to Biotic and Abiotic Stresses. *Front Plant Sci* 2019; **10** : 1151.

**PhJ Coulomb, Mohamed El Maataoui et Ph. O. Coulomb.** L'oeil de Paon (*Cycloconium oleaginum*). *Le Nouvel Olivier* 2004, n° 42, novembre/décembre.