

MODALITÉS DE LA CONTAMINATION DU TOURNESOL
PAR LE *PLASMOPARA HELIANTHI*

C. ALLARD et CLAUDINE LAMARQUE
(France)

Depuis les travaux de Novotelnova (1966), la description par un certain nombre d'auteurs du cycle de développement du mildiou du tournesol (*Plasmopara helianthi* Novot.) a donné lieu à des interprétations contradictoires.

Avant d'exposer les premières phases de nos expérimentations, il est indispensable de confronter les auteurs puis d'examiner le sens des hypothèses proposées.

LE DÉROULEMENT DE LA MALADIE AU CHAMP OU PRINCIPAUX ASPECTS
DE LA MALADIE

Nous décrivons ici les manifestations que nous avons reconnues et nous donnons également les interprétations des auteurs.

Il s'agit d'un mildiou systémique intercellulaire qui intervient dans le développement de l'hôte. Nous distinguerons deux types de plantes malades.

1. Au stade 2-ème paire de feuilles et par temps humide, on remarque que certaines plantes sont chlorotiques, leur tige ne s'allongera plus (10 cm au maximum avec INRA 6501) avant de se dessécher. A la face inférieure des feuilles du 1-er noeud apparaît un feutrage blanc de sporangiophores (sporangies α). Ces plantes correspondent vraisemblablement à la forme I de Novotelnova (infections létales). Cet auteur estime en outre qu'il y a d'abord un retard visible dans la croissance. Cela ne nous paraît pas évident sur la moyenne des plantes, mais seulement lorsqu'il y a colonisation des cotylédons. Etant donné la date de leur apparition, nous dirons que ces éclosions résultent de l'infection primaire.

Les semences infectées ne donnent pas naissance à ce type de plante. Il est donc évident que l'inoculum primaire est constitué par des oospores libérées dans le sol par la décomposition des débris de plantes

malades. Les conditions d'hivernation et de germination ont été étudiées par Delanoë. Les différents auteurs s'accordent sur le fait que de fortes précipitations à l'époque de la levée sont indispensables pour les contaminations primaires.

La capacité potentielle d'un sol donné à réaliser des infections primaires est semble-t-il très variable bien que des essais systématiques en ce sens restent à pratiquer.

2. Quelques temps après (3 semaines environ) se manifeste un deuxième type de plantes jusque là à feuilles inférieures indemnes et à tige normale. A chaque relevé l'observateur note de nouvelles plantes malades dont la tige ne s'allonge plus par la suite. Au stade 6 ou 7 feuilles vraies les entre-nœuds ne s'allongent pas et la plante présente l'aspect d'une laitue sur un grand pédoncule. Les feuilles sont fortement chlorosées à la base et portent à la face inférieure des sporangio-phores. Le raccourcissement n'est pas toujours aussi brutal. Parfois la tige est presque normale à la floraison, les feuilles présentant une décoloration du limbe autour des nervures. Même les plus petites plantes (30 cm environ) ne meurent qu'après avoir produit un très petit capitule stérile.

3. Les infections latentes (type IV de Novotelnova) se manifestent à la floraison seulement. Delanoë a décrit la présence de mycélium dans les bractées. La semence issue de tels capitules, quoique d'apparence normale, serait vectrice d'oospores au niveau du tégument. Hamant a constaté la présence des sporangio-phores dans la moelle. D'après Tikhonov ces plantes seraient elles-mêmes issues de capitules contaminée tardivement et ce mode de transmission par la semence expliquerait la dissémination du mildiou dans le monde entier.

LA TRANSMISSION SECONDAIRE

Novotelnova a montré que les sporanges β des racines possédaient des capacités infectieuses remarquables et a estimé que ces sporanges jouaient un rôle épidémiologique, la période de susceptibilité des racines pouvant se prolonger jusqu'au stade 4 feuilles vraies.

Delanoë qui a expérimenté dans le Sud-Ouest de la France en région très contaminée ne fait pas de distinctions entre les plantes malades suivant le stade où apparaissent les éclosions. Il a analysé la répartition des plantes attaquées sur les lignes et conclut à un ruissellement des unités infectieuses suivant la pente. En raison de la faible durée de la période de sensibilité (dix jours) la contamination secondaire (par sporange β) aurait peu de conséquences.

Les symptômes de la contamination primaire peuvent ou non s'extérioriser suivant la compatibilité de la plante au niveau de l'hypocotyle lors de l'infection.

Tikhonov a reconnu que, passé le stade plantule, l'infection des racines donnerait surtout des formes latentes (80%). Dans l'hypothèse de la prépondérance de l'infection radiculaire, l'infection secondaire ne

peut donc pas être à l'origine des plantes de type II. Cet auteur a malgré tout constaté la sensibilité de l'axe négatif aérien jusqu'au premier noeud, mais n'en a tiré aucune conséquence épidémiologique.

Il est à remarquer que Novotel'nova a étudié les conditions de l'infection des limbes par les zoospores et constaté que celle-ci peut devenir systémique. Kristova et Mitoff ont trouvé que le champignon après avoir pénétré par les nervures et les pétioles passe dans la tige et la racine ce qui concerne les résultats de Nishimura (1922).

Il semble donc que les auteurs n'aient pas envisagé les conséquences pratiques éventuelles d'une infection des parties végétatives par la voie aérienne jusqu'à Cohen et Sackston (1973) qui ont montré que l'infection systémique du tournesol se produisait beaucoup plus facilement par les hypocotyles que par les racines et par les bourgeons apicaux que par les feuilles. Alors que les symptômes sont facilement obtenus par l'infection de bourgeons apicaux de plantes n'ayant pas dépassé le stade 8 feuilles, on obtient rien en inoculant les racines au stade 4 feuilles. „Il semble que les infections systémiques du tournesol puissent se produire dans les champs à la suite d'une infection secondaire des jeunes feuilles par des sporanges transportés par le vent“. C'est aussi l'opinion de Zimmer (1971). Il est évident que les climats locaux modifient profondément le cycle biologique de la maladie et qu'il est difficile de comparer le mildiou vu par Novotel'nova au mildiou vu par Zimmer.

Depuis le début de notre étude, il nous est apparu qu'avec le climat du Bassin Parisien la distribution des plantes de type II, les plus fréquentes, ne correspond pas davantage que celles du type III à celles d'une maladie en foyers.

En outre, la fréquence de ces plantes est en corrélation avec les précipitations saisonnières enregistrées alors que ces plantes sont au stade 2-ème paire de feuilles, c'est-à-dire de l'humidité de l'air indispensable au maintien de la capacité de germination des zoosporanges.

Ce serait également l'avis de Tuboly. L'infection secondaire par sporanges serait quantitativement plus importante que l'infection primaire par oospores lorsque le taux d'humidité relative est de 85% pendant plusieurs jours et une épidémie est possible.

OBSERVATIONS SUR UNE ÉPIDÉMIE DE MILDIOU

C'est en 1971 que nous avons commencé la culture du tournesol à Versailles. La semence INRA 6501 s'est révélée indemne de mildiou en dehors de la zone soumise à la contamination.

Dans une parcelle le mildiou a été introduit artificiellement avec 3 lignes de plantules contaminées par immersion au laboratoire. La sécheresse nous a contraint à arroser abondamment pour accélérer la levée. Les cotylédons des plantules inoculées présentent le feutrage ha-

bituel de sporangiosphores, avant de disparaître très rapidement comme à l'accoutumée.

Trois semaines après, une centaine de plantes manifestèrent au voisinage du foyer artificiel les symptômes de nanisme avec chlorose systémique sur l'ensemble du feuillage. On peut relever en outre, à la même période, des dizaines de plantes de même aspect (type II) dispersées, sous le vent dominant à partir du foyer.

En dehors de la zone „sous le vent“, il n'y avait pas de mildiou. Apparemment, la période de sensibilité réelle était plus étalée que ne le laissaient prévoir les données bibliographiques.

La dispersion de la maladie n'avait pu se faire de racine à racine puisque certaines plantes étaient très isolées. Il n'y eut pas de symptômes sur capitule.

En 1972, nous avons implanté dans la culture un nouveau foyer constitué de lignes de plantules contaminées. L'éclosion primaire fut très étalée en raison de la température. Les manifestations de mildiou furent constatées à l'occasion de relevés successifs et confirmèrent la dispersion de la maladie suivant les vents dominants de l'Ouest à partir du foyer artificiel, de zoosporanges aériens et la longueur de la période de sensibilité.

La contamination secondaire après transport par voie aérienne a permis d'observer pratiquement toutes les manifestations pathologiques.

ÉTUDE EXPÉRIMENTALE DE L'INFECTION DU BOURGEON VÉGÉTATIF APICAL. MODE OPÉRATOIRE.

Après un essai préliminaire en serre qui nous permit d'obtenir un certain nombre de plantes naines du type II de Novotelnova nous avons opéré en conditions plus standardisées :

— chambre climatique à 14° s'abaissant à 10° pendant les 8 h d'obscurité. Chambres à 8° et 20°C.

— plantules de l'hybride INRA 6501 (1 et 2 plantules par godet) inoculées aux stades : „crosse“ ; cotylédons dressés ; cotylédons étalés ; I-ères feuilles „pointant“ ; I-ères feuilles étalées.

— inoculum constitué par une suspension de sporanges de moins de 48 h récoltés sur des plantules placées en chambre humide, les gouttes déposées correspondaient à 500 et 250 sporanges. Le taux de germination dans l'eau est de l'ordre de 40% avec cet inoculum.

— après la pollution la goutte polluante était protégée de l'évaporation grâce à un sac de polyéthylène.

— la protection des racines superficielles des plantules est assurée par le dépôt de 2 mg de manébe au pied de chaque plantule. Sur les témoins, on a constamment vérifié que la goutte d'inoculum utilisée pour polluer l'apex déposée directement à la base de l'hypocotyle, était incapable de provoquer des symptômes dans ces conditions ; en outre des essais d'inoculation des racines par le sol ont montré qu'avec la terre utilisée, le taux d'infection n'était que de 17% avec 5000 sporanges.

Après 48 heures d'incubation la plupart des zoosporanges déposés ont germé ce qui prouve que le contact avec les cotylédons en particulier est extrêmement favorable à l'émission par les sporanges des zoospores infectieuses.

La face inférieure des cotylédons est peu sensible à la contamination, l'extrémité des cotylédons est moins facile à polluer que le bourgeon central et le dépôt des spores à cet endroit ne permet pas d'obtenir des plantes naines mais seulement des lésions locales. Dans la plupart des essais on peut se contenter de déposer une goutte de 0,05 ml à la partie apicale, soit entre les cotylédons dressés, soit directement sur le bourgeon.

La température optimale est de 20° mais la goutte polluante est difficile à conserver plusieurs heures. La plupart des essais a donc été réalisée à une température moyennement favorable de 14° qui se rapproche d'ailleurs des températures nocturnes. A 8° on obtient encore des résultats positifs. L'obscurité n'a pas paru particulièrement favorable à l'infection.

Dix jours après l'incubation, les plantules sont placées en chambre humide pour 48 heures. Les cotylédons et les feuilles abritant du mycélium portent alors du feutrage. Par la suite, les plantes qui sont contaminées sont suivies une à une pendant plusieurs mois et conservées en serre. Les plantes ayant présenté des sporanges ou une chlorose présentent plus tard le symptôme de raccourcissement des entre-noeuds et ne s'allongent plus. En lumière printanière ces plantes rappellent tout à fait les plantes de type II et peuvent même fleurir avant de mourir.

INFLUENCE DU STADE VEGETATIF DE LA PLANTULE AU MOMENT DE LA CONTAMINATION

Les résultats montrent une certaine fluctuation.

Il faut dire qu'en cas d'attaque trop violente, l'hypocotyle se nécrose sous les cotylédons et le nanisme ne peut être constaté. D'autre part, les plantes ainsi affaiblies sont facilement détruites par des champignons du sol.

Au stade cotylédonaire on a pu obtenir 17% de plantes naines avec 500 sporanges. Malgré une diminution avec l'âge qui est évidente, la sensibilité reste notable au stade 4-ème feuille qui est le plus intéressant dans la pratique. Nous n'avons pas expérimenté au-delà.

INFLUENCE DE LA DOSE D'INOCULUM POLLUANT

Nous avons diminué la dose de 250 à 25 sporanges et constaté que la capacité infectieuse n'était pas très différente entre 250 et 100 sporanges et restait appréciable avec 25 sporanges.

Modalités de l'infection. En séchant la goutte polluante après 5 heures de contact, on a la même réussite qu'après 24 heures.

Remarques. L'état de l'inoculum joue un rôle important et peut amener des échecs (2 sur 25 essais). L'inoculum le plus actif n'est pas nécessairement celui qui donnera le plus de plantes naines : en cas de forte attaque sur les 1-ères et 2-èmes feuilles à la fois, il n'est pas rare que la présence de mycélium dans l'hypocotyle entraîne une nécrose sous-cotylédonaire. C'est l'inoculum le plus récent qui donne de meilleurs résultats. La conservation des plantules portant des sporanges en humidité saturante ne suffit pas à maintenir le pouvoir infectieux de l'inoculum.

HISTOLOGIE DE L'INFECTION APICALE, DESTINÉE DU MYCELIUM

Si l'on cherche à localiser le mycélium dans les plantes naines — contaminées comme ci-dessus, on constate que la racine principale est toujours colonisée. Il faut donc démontrer également que la progression du mycélium dans l'hypocotyle s'effectue bien des cotylédons au collet soit de haut en bas et qu'il ne s'agit pas d'une contamination accidentelle par racine, ayant échappé à l'expérimentateur, malgré les précautions prises et décrites ci-dessus.

A différentes dates au cours de l'incubation, des plantules ont été fixées dans le F.A.A. Des coupes transversales de l'hypocotyle à différents niveaux ont permis de rechercher le mycélium : présence ou absence de suçoirs visibles dans la lumière cellulaire, ou de mycélium brun et plus dense dans la lamelle moyenne de la membrane. On a aussi localisé le front de la progression du mycélium. Au 5-ème jour, il est évident que le mycélium n'a pas quitté une zone proche de l'apex. Ensuite :

	6 J	7 J	8 J	9 J	10 J
Cotylédons	+	+	+	+	+
6 cm du $\frac{7}{8}$ collet		+	++	+++	+++
3 cm du collet			+	++	+++
Collet				+	++
Racines					+

MODALITÉS DE L'INFECTION PAR LE SYSTÈME RACINAIRE

Ne disposant pas d'une quantité d'oospores infectieuses suffisante pour une étude quantitative, nous avons réalisé les infections à l'aide de sporanges aériens, dont l'efficacité n'est peut-être pas la même que celle des sporanges des racines.

Sur un même lot de plantules, on a comparé la sensibilité par la voie apicale et par la voie racinaire, en l'absence de toute interférence du sol, avec la mobilité des zoosporanges. Les racines des plantes élevées dans la vermiculite ont été contaminées par contact avec 1 ml de suspension de zoosporas à 50.000 sp/ml.

Avec des plantules au stade cotylédonaire, nous avons obtenu 92% de réussite en inoculant par voie apicale 250 sporanges. La contamination des racines n'a fourni que 25% de plantes infectées au niveau des cotylédons, mais pas plus haut. Dans un autre essai au stade cotylédons étalés : 25% des plantules contaminées ont donné 6% de nains précoces. Il semble que l'on se rapproche des conditions de l'infection primaire de type I.

Au stade 1-ères feuilles (dix jours après la mise en germination) on a obtenu 9% de plantes avec cotylédons et 1-ères feuilles contaminés mais pas d'infection systémique. Les plantules ne semblent pas sensibles après le stade 2-èmes feuilles.

La contamination tellurique doit effectivement avoir lieu au stade cotylédonaire pour être efficace. Elle semble nécessiter des doses d'inoculum très importantes. L'importance des manifestations pathologiques est variable.

TRANSPORT AÉRIAN ET CONTAMINATIONS AÉRIENNES A DISTANCE

La dispersion à distance du *Plasmopara helianthi* ne semble pouvoir se manifester que par l'intermédiaire de la contamination du bourgeon apical : l'inoculum est présent lors des éclosions primaires sur les plantes de type I. A cette date, au champ, le second internœud est dégagé et les 5 et 6-èmes feuilles apparaissent, ce stade est sensible. La possibilité de contaminations secondaires dans un champ dépend donc de la libération des sporanges en période suffisamment humide pour assurer la survie des sporanges lors de leur transport à quelques dizaines de mètres.

Delanoë a montré que, comme pour de nombreux mildious, l'alternance de dessications relatives et de réhumidifications de fin de printemps est particulièrement favorable à la libération des zoosporanges. Ces sporanges recueillis dans une solution convenable, germent dans les proportions importantes si le transport s'effectue à une humidité relative $> 90\%$. Mais ce chercheur n'a tiré aucune conséquence épidémiologique de ces données car il a eu l'impression que les zoosporanges étaient incapables de germer sur les feuilles, ce qui est erroné.

Nous avons vérifié ces résultats à Versailles, avec de petites parcelles d'inoculum artificiel. Des vents faibles et des courants de convection sont capables d'entraîner les zoosporanges après une certaine période de dessication qui se situe normalement au milieu de la journée. Un transport à quelques mètres rend compte de la dissémination des plantes de type II dans une parcelle.

DISCUSSION, EXISTE-T-IL UNE EPIDÉMIOLOGIE DU TOURNESOL ?

Il est maintenant prouvé que tous les organes de la plante sont sensibles au stade convenable. L'existence de pénétration par la radicule à un stade très précoce facile à montrer expérimentalement est

difficile à prouver au champ. Est-il justifié de privilégier le rôle des contaminations des parties souterraines ? Les auteurs qui adoptent ce point de vue minimisent le rôle des contaminations secondaires. La différenciation des plantes malades suivant le stade d'apparition des symptômes ne correspondrait qu'à des différences morphologiques indiscernables lors de l'infection. Or dans le cas où les infections secondaires semblent négligeables, où il paraît bien n'y avoir qu'une seule période de pollution et de contamination, il n'est même pas nécessaire que le voie de pénétration soit souterraine. La migration des oospores et leur évolution en surface par temps de pluie avec pollution des hypocotyles explique aussi bien la répartition analysée par Delanoë ou les résultats de ses essais de traitement. Comment expliquer en effet que les traitements de semences n'aient aucune influence sur la contamination des plantules par les organes souterrains alors que le pouvoir d'inhibition des zoospores par ces fongicides est parfait ?

L'hypothèse d'une série d'infections de tous les organes au maximum de leur sensibilité rend toujours compte des faits expérimentaux observés. Les plantes qui sont contaminées avant d'avoir pu atteindre un certain stade de développement non précisé, ne se différencient plus morphologiquement et fonctionnellement, par la suite. Ce sont les plantes de type I.

L'existence d'une sensibilité des parties méristématiques de la plante allonge considérablement toute la gamme de plantes malades observées normalement.

Il est en outre remarquable de constater que l'incompatibilité des plantes possédant le gène dominant de HA 61 est totale au niveau des bourgeons apicaux. Cependant l'existence de formes latentes nécessite évidemment de nouvelles précisions, ainsi que des techniques permettant de les détecter. Un doute subsiste également en ce qui concerne la période d'incubation dans le cas de l'inoculation par voie radiculaire.

Les rapports hôte-parasite sont rendus très complexes par le fait que la plante peut manifester des symptômes indubitables pratiquement à tous les stades jusqu'à la floraison et que le parasite peut se multiplier abondamment pendant tout ce temps.

Suivant les conditions climatiques saisonnières ou locales, certains facteurs agronomiques, le degré inconnu d'infestation du sol, l'infection d'un organe peut manquer et le cycle biologique paraît alors différent. Inévitablement, les interprétations des auteurs sont influencées par les cas particuliers du cycle qu'ils ont observé au champ. Il est souvent difficile d'ailleurs, en outre, de savoir quelles conditions expérimentales ont été utilisées ou quel type de plantes a été dénombré. Il est évident qu'un taux très élevé d'infections primaires fournit une grande quantité d'inoculum mais que son efficacité est faible puisqu'il y a très peu de plantes capables de réagir à l'infection secondaire. Inversement s'il y a trop d'éclosions primaires, les infections secondaires sont assimilées à une infection par oospores, de longue période d'incubation.