

DIAPORTHE HELIANTHI Munt.Cvet.et al. : ELEMENTS DE BIOLOGIE ET D'EPIDEMIOLOGIE APPLIQUES AUX ESSAIS DE LUTTE

A. PERES

C.E.T.I.O.M., C.B.A., rue de Lagny, 77178 - Saint-Pathus, France

Y. REGNAULT

C.E.T.I.O.M. 174, avenue Victor Hugo 75116 - Paris, France

RESUME

Une série d'études en laboratoire et en serre permettent d'avancer vers une meilleure connaissance de la biologie et de l'épidémiologie de Diaporthe/Phomopsis helianthi. Elles aboutissent à la mise au point d'une méthode de contamination artificielle performante utilisable dans les essais de lutte fongicide en serre.

INTRODUCTION

La première attaque sérieuse de Diaporthe /Phomopsis helianthi est observée dans le Sud-Ouest de la France en 1985 (15 000 ha touchés). En 1986, la forte sécheresse estivale limite la gravité des attaques mais, en 1987, 50000 ha sont touchés surtout dans le Sud-Ouest et l'inoculum est présent pratiquement dans toutes les zones de production. Pour combattre cette maladie, les travaux de recherche sont orientés dans deux directions :

- la lutte génétique (création et utilisation de variétés tolérantes ou résistantes),
- la lutte chimique (recherche de produits efficaces applicables en végétation).

Le C.B.A. du CETIOM apporte sa contribution dans l'étude de la lutte chimique qui nécessite en un premier temps la réalisation des travaux indispensables à la compréhension du phénomène épidémique et à la mise au point des méthodes d'études.

MATERIELS, METHODES ET RESULTATS

- Etude de la formation des périthèces sur les débris de culture

En 1986 et 1987, juste après la récolte (20 Septembre) des cannes de tournesol attaquées par Diaporthe/Phomopsis helianthi sont placées sur une pelouse en conditions naturelles extérieures. Tous les 15 jours des lots de ces pailles sont introduits en chambre humide à 23 °C.

Dans ces conditions les premiers périthèces fructifiés se forment en 8-10 jours dans la chambre humide et 2 mois après la récolte (20 novembre). Des contaminations artificielles réalisées avec les ascospores émises par ces périthèces mettent en évidence le haut pouvoir infectieux de ces fructifications.

Ces résultats tendent donc à prouver que la morphogénèse périthéciale est rapide et que son induction ne nécessite pas l'intervention des températures basses hivernales.

- Etude de l'expulsion et du piégeage des ascospores

Trois expériences conduites en laboratoire permettent d'étudier l'expulsion et le piégeage des ascospores à partir de pailles de tournesol induites à la formation des périthèces en chambre humide.

La première expérience (schéma 1) montre que des périthèces placés pendant 10 mn à l'air ambiant, après avoir séjourné en chambre humide, expulsent des ascospores pendant la phase de dessèchement (17300 ascospores/mm² piégées sur lame de verre vaselinée). Cette expulsion est

précédée d'une sécrétion de cirrhes mucilagineuses gorgées d'ascospores. Ces cirrhes, d'abord liquides, puis filamenteuses, se dessèchent rapidement en adhérant au périthèce et ne semblent pas transportables par le vent. Par contre, en atmosphère humide, elles se liquéfient à nouveau très rapidement.

Les lames vaselinées placées à des distances croissantes des pailles dans la deuxième expérience (schéma 2) montrent que la distance maximale d'expulsion des ascospores est faible et comprise entre 12 et 25 mm (tableau 1).

La troisième expérience (schéma 3), déjà conduite par Bertrand (2), montre que la réhumidification des périthèces qui suit une phase de dessèchement déclenche de nouvelles projections d'ascospores dont l'intensité diminue avec le temps comme l'indique le graphique 1.

- Etude de la contamination naturelle par expulsion des ascospores

16 plantes de tournesol sont cultivées en serre et sont entourées d'un manchon en polyéthylène permettant de créer un "effet cheminée". Des pailles de tournesol infectées porteuses de périthèces fertiles de Diaporthe helianthi sont placées sur la terre des vases de végétation, au pied des plantes au stade bouton floral E5. La culture est soumise pendant 23 jours à 4 alternances sec-humide, la séquence humide étant assurée par la diffusion d'un brouillard. Les températures varient entre 12 °C et 26 °C.

La maladie se déclare sur les feuilles 26 jours après la date d'apport des pailles contaminantes et au 51^{ème} jour 75 % des plantes sont attaquées sur feuilles et tiges.

Cette étude montre que les ascospores expulsées sont entraînées par l'air ascendant et contaminent les plantes jusqu'au 15^{ème} étage foliaire.

- Etude de la contamination naturelle par rejaillissement de gouttes de pluie chargées d'ascospores

20 plantes de tournesol sont cultivées en vases de végétation et placées dans un compartiment de serre hermétique où aucun courant d'air ne circule. On place sur la terre des vases, au pied de chaque plante au stade bouton floral E5, des pailles de tournesol infectées porteuses de périthèces fertiles de Diaporthe/helianthi. Dès que les périthèces sécrètent des cirrhes gorgées de spores, on provoque artificiellement sur les pailles une pluie cinglante pendant 30 secondes, puis on retire les pailles des vases et on place pendant 48 heures les plantes dans une atmosphère humide. Cette opération est répétée 3 fois à 4 jours d'intervalle. Des lames vaselinées placées sur le végétal captent des gouttelettes d'eau éclaboussées jusqu'au 3^{ème} étage foliaire. L'examen microscopique révèle que ces gouttelettes sont chargées d'asques et d'ascospores de Diaporthe helianthi (tableau 2).

20 jours après la 1^{ère} pluie cinglante 85 % des plantes portent des nécroses du champignon.

Une pluie violente peut donc contribuer à contaminer des plantes de tournesol par simple rejaillissement sur les feuilles basses de gouttes d'eau chargées d'asques et d'ascospores.

- Mise au point d'une méthode de contamination artificielle utilisable dans les essais de lutte fongicide

La mise au point de cette méthode est le résultat d'une étude méthodologique comparative conduite en serre (3 méthodes sont expérimentées). La méthode retenue et décrite ci-après s'avère être la plus performante et la mieux adaptée à l'expérimentation de serre. Les pailles porteuses de symptômes de Diaporthe/Phomopsis helianthi sont conservées sur une pelouse en conditions naturelles extérieures, juste après la récolte (Octobre). Après 2 mois de conservation elles sont introduites en chambre humide. La chambre humide utilisée est une boîte parallélépipédique hermétique 178 mm x 118 mm x 54 mm en

polystyrène transparent au fond de laquelle on dépose sur un double buvard humide les pailles infectées préalablement débitées en petites paillettes. Le côté externe des paillettes (épiderme) est mis au contact du buvard humide. Les boîtes ainsi préparées sont placées en étuve éclairée pendant 8-10 jours, délai au terme duquel les périthèces apparaissent bien formés et capables de sécréter des cirrhes mucilagineuses gorgées d'asques et d'ascospores.

Afin de faciliter la libération des ascospores on élimine les cols des périthèces par grattage superficiel des paillettes au rasoir. Les paillettes sont alors plongées dans l'eau et brassées pendant 5 minutes. L'eau de filtration récupérée est ensuite passée durant 3 minutes à la cuve à ultra-sons afin d'obtenir une libération complète des ascospores.

La suspension contaminante amenée à la concentration de 1,4.10⁵ ES ascospores/ml est pulvérisée sur le feuillage, les plantes de tournesol étant alors soumises pendant les 3 à 4 jours qui suivent à une atmosphère saturante (brouillard ou enceinte plastique hermétique). Deux séquences humides supplémentaires sont appliquées au 10^{ème} jour et au 15^{ème} jour après la contamination.

Cette méthode de contamination provoque l'apparition des premiers symptômes de la maladie sur feuilles vers le 12^{ème} jour et conduit à un taux d'attaque sur tige de 80 % au 30^{ème} jour et de 100 % au 45^{ème} jour.

- Etude de la virulence du champignon sur jeunes plantes

4 lots de 20 plantes de tournesol issues de semis décalés sont contaminés respectivement aux stades végétatifs suivants :

- lot A (1^{er} semis) = contamination au stade 1-2 paires de feuilles
- lot B (2^{ème} semis) = contamination au stade 3-4 paires de feuilles
- lot C (3^{ème} semis) = contamination au stade 5-6 paires de feuilles
- lot D (4^{ème} semis) = contamination au stade 7-8 paires de feuilles

Les résultats exprimés par les courbes des taux d'attaques sur feuilles et tiges des graphiques 2 et 3 montrent que :

- des contaminations précoces de Diaporthe helianthi provoquent la manifestation de la maladie quel que soit le stade des jeunes plantes au moment de la contamination

- le délai d'apparition des symptômes sur feuille est d'autant plus long que le stade de contamination est précoce (temps de latence du champignon plus long) mais il est identique sur tige quel que soit ce stade.

- les niveaux d'attaque sur feuilles et tiges sont proportionnels à l'âge des plantes au moment de la contamination.

- Etude de la progression d'une attaque sur plante adulte

Les observations réalisées depuis l'apparition du tout premier symptôme sur feuille jusqu'à l'attaque totale de la plante donnent les résultats suivants:

- le délai contamination sur feuille - petite tache non encerclante sur tige est de 25 jours en moyenne (la colonisation totale feuille + pétiole est donc assez rapide)

- la progression de la maladie sur tige de l'état petite tache non encerclante à l'état de nécrose mortelle (tache encerclante profonde) se fait en 32 jours.

La mort de la plante pouvant donc survenir 57 jours après la contamination, il apparaît qu'une attaque de Diaporthe/Phomopsis helianthi compromettra d'autant plus l'avenir de la culture que la contamination sera précoce.

DISCUSSION - CONCLUSION

L'ensemble de ces travaux permet d'aboutir à un certain nombre de conclusions et d'applications.

- L'induction périthéciale est rapide et ne nécessite pas l'action des

températures basses hivernales. Une contamination précoce est donc possible au printemps avec l'arrivée des pluies printanières et l'élévation des températures.

- Les périthèces libèrent leurs ascospores au cours de la phase de dessèchement ou de réhumidification. Des alternances climatiques rapides pluvieuses puis sèches seront donc des conditions favorables au déclenchement des contaminations.

- La contamination naturelle est assurée sur les feuilles:

. par la libération des ascospores reprises par le vent

. par le rejaillissement de gouttes de pluie cinglantes frappant les périthèces au moment où ils secrètent des cirrhes gorgées d'ascospores.

- Diaporthe helianthi est capable de contaminer le tournesol à tous les stades végétatifs dès que surviennent les conditions climatiques favorables. L'attaque qui en résulte sera d'autant plus compromettante pour l'avenir de la culture que la contamination sera précoce.

- La technique de contamination artificielle par pulvérisation sur le feuillage d'une suspension d'ascospores est très performante et bien adaptée à l'expérimentation de serre en conditions climatiques contrôlées.

Ces études n'ont été rendues possibles qu'après une étude bibliographique réalisée sur les publications émanant des travaux importants conduits notamment par Acimović et al. (1), Muntañola-Cvet et al.

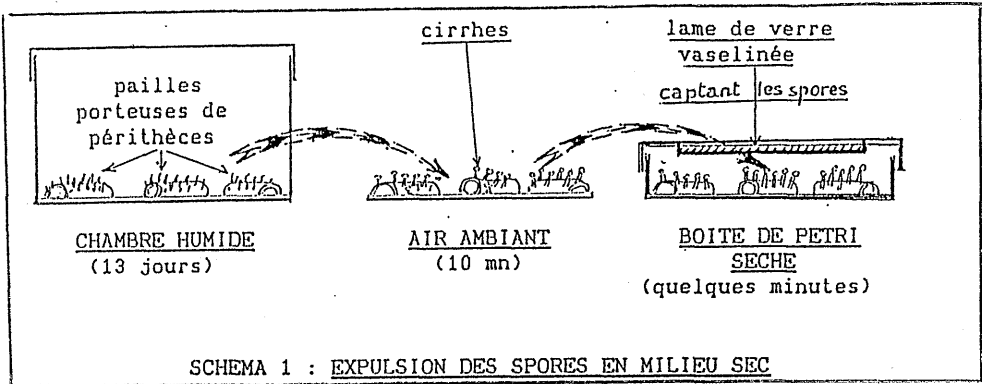
BIBLIOGRAPHIE SUCCINCTE

(1) Acimović M., Staser Nada, 1982, Phomopsis sp - a new parasite in sunflower - Zastita Bilja, Vol.33 (2), n°160, p 117 -158 - Beograd.

(2) Bertrand F, 1986, Mise au point de méthodes de contamination artificielle pour sélectionner les tournesols tolérants à Diaporthe helianthi Munt.Cvet et al. DEA-INRA Clermont Ferrand.

(3) Muntañola - Cvétković M. Mihaljčević M and Petrov M. 1981: Identity of the causative agent of a serious Phomopsis Diaporthe disease in sunflower plants. Institute for Biological Research " Sinisa Stankovic", Belgrade.

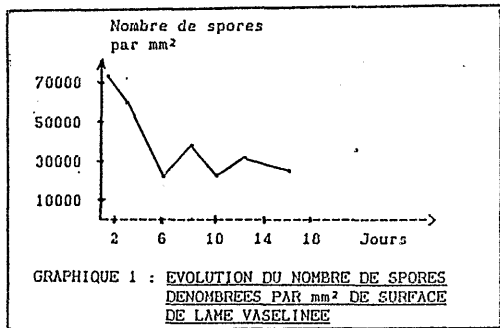
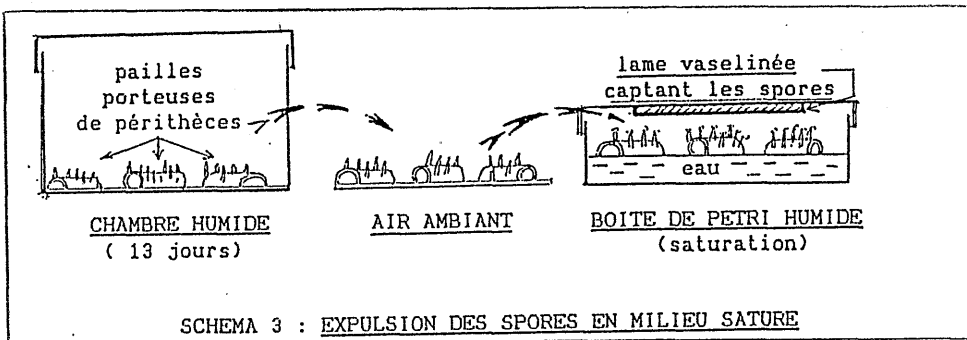
(4) Fayret J. et Assémat P. 1986 : Evolution du Diaporthe helianthi (Phomopsis helianthi) Munt. Cvet et al. et différenciation des organes reproducteurs sur les plants de tournesol après la période de végétation. Laboratoire de cryptogamie Université Paul Sabatier, 118, route de Narbonne, 31062 TOULOUSE CEDEX.



SCHEMA 2 : MESURE DE LA DISTANCE DE PROJECTION DES SPORES

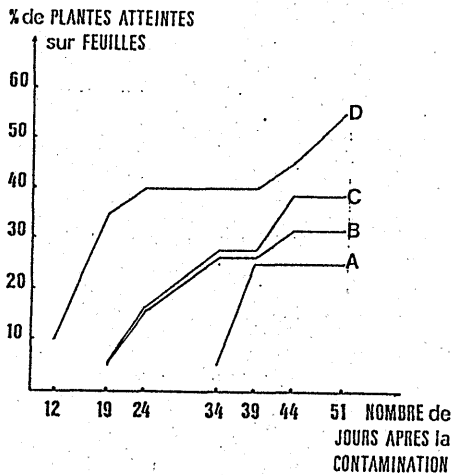
DISTANCE PERITHECES - LAMES	NOMBRE DE SPORES CAPTEES / mm ²
8 mm	62640
12 mm	33432
25 mm	0
40 mm	0

TABLEAU 1 : NOMBRE DE SPORES CAPTEES SUR LES LAMES

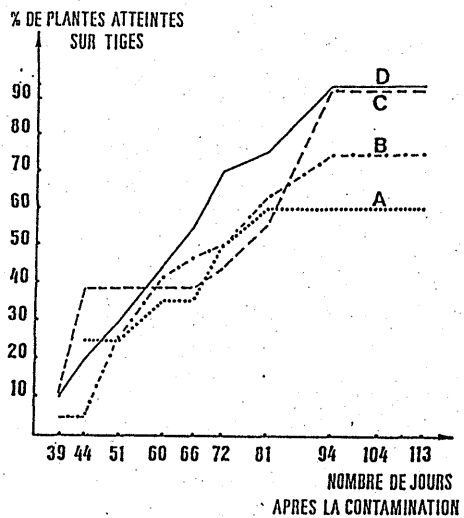


DISTANCE PAILLES - LAME en cm	NOMBRE D'ASQUES DANS UNE GOUTTE D'EAU	NOMBRE D'ASCOSPORES DANS UNE GOUTTE D'EAU
3 cm	210	50
5 cm	6	19
10 cm	7	20
(1er étage foliaire)		
15 cm	30	16
20 cm	5	4
(2ème étage foliaire)		
25 cm	11	6
30 cm	9	7
(3ème étage foliaire)		

TABLEAU 2 : DISTANCE DE PROJECTION DES GOUTTES D'EAU ET
DENOMBREMENT DES ASQUES ET ASCOSPORES QU'ELLES
CONTIENNENT



Graph 2 : EVOLUTION DES TAUX D'ATTAQUES
EN PHOMOPSIS SUR FEUILLES
EN FONCTION DU STADE DE CONTAMINATION



Graph 3 : EVOLUTION DES TAUX D'ATTAQUE EN PHOMOPSIS
SUR TIGES EN FONCTION DU STADE DE CONTAMINATION