

Le phoma du tournesol (*Phoma macdonaldii* forme imparfaite de *Leptosphaeria lindquistii*) : étude des périthèces et des pycnides dans le processus de la contamination

André Pérès* et Virginie Le Sourné**

CETIOM, Centre de Grignon, B.P. 4, 78850 THIVERVAL GRIGNON France
Fax : +33.01.30.79.95.90 *e-mail : peres@cetiom.fr **e-mail : lesourne@cetiom.fr

RESUME

Le phoma est l'une des maladies majeures du tournesol. Les résidus infectés laissés au sol après la récolte constituent un réservoir d'inoculum important. Les travaux rapportés dans cette présentation ont pour objectifs de rendre compte des cinétiques d'apparition des périthèces et des pycnides et de l'implication des ascospores et des pycniospores dans la contamination. Les principales conclusions sont les suivantes :

- les résidus de tournesol infectés de phoma produisent des périthèces et des pycnides de manière continue et durable au printemps et en début d'été (février à juillet)
- il y a présence simultanée de périthèces et de pycnides sur un même résidu de tournesol
- selon les sites géographiques on observe une dominante périthèces ou une dominante pycnides
- les premières apparitions de périthèces et de pycnides peuvent être précoces
- les apparitions de pycnides sont généralement plus rapides que celles de périthèces
- ascospores et pycniospores sont pathogènes (mêmes niveaux d'implication dans la contamination des cotylédons, feuilles et noeuds)
- les délais d'expression des symptômes de phoma sont plus rapides quand ils sont dûs à une contamination par ascospores (comparé à une contamination par pycniospores)
- cotylédons et jeunes feuilles sont de sensibilités identiques
- la contamination du noeud cotylédonnaire via les cotylédons est très rapide (5 jours)

L'ensemble de ces résultats met en évidence le rôle important des résidus infectés de phoma dans le processus de la contamination.

SUMMARY

Phoma is one of major diseases on sunflower. Infected stubbles on the soil following harvest make up an important inoculum reserve. The present study aimed at observing the development of pseudothecia and pycnidia and the role of ascospores and pycniospores in the contamination. The main conclusions are :

- sunflower stubbles infected by phoma produce pseudothecia and pycnidia for a long time in the spring and early summer (february to july),
- there is simultaneous presence of pseudothecia and pycnidia on the same sunflower stubble,
- the predominance of pseudothecia or pycnidia depends on the geographical site,
- the first emissions of pseudothecia and pycnidia are early under favourable conditions,
- the emissions of pycnidia are generally faster than emissions of pseudothecia,
- ascospores and pycniospores are pathogenic (same pathogenicity / cotyledon / leave / node)
- the development of phoma symptoms on cotyledons, leaves and stems are faster with ascospore contaminations (in comparison with pycniospore contaminations)
- the susceptibility of cotyledons and young leaves are identical
- the contamination from cotyledons to the subjacent-node is very fast (5 days)

All these results show the important part played by phoma infected stubbles in the contamination process.

INTRODUCTION

Le réservoir d'inoculum que constituent les résidus laissés au sol après récolte est particulièrement important dans le cas du phoma compte-tenu de la présence généralisée de cette maladie sur toute l'aire de culture du tournesol. Ces résidus émettent en fin d'hiver et au printemps des périthèces et des pycnides qui libèrent respectivement des ascospores et des pycniospores (Frezzi, 1964-1968 - Maric et al, 1983). La dynamique de ces libérations, leur implication précise sur la contamination et leur relation avec l'expression des symptômes sont mal connus ; l'étude 1 suivante tente d'éclairer ces aspects de la biologie du parasite au champ. On sait par ailleurs que les ascospores et les pycniospores sont dotées d'un pouvoir pathogène important (Penaud et al, 1994 - Pérès, 1998) mais il est important de mieux connaître leurs niveaux d'implication respectifs dans la contamination. Si des travaux tendent à démontrer le rôle limité des pycniospores dans la contamination primaire (mobilité limitée - Delos, 1997), il convient de prendre en compte le rôle des résidus de tournesol à l'intérieur même de la culture du fait des préparations de sol rapides de plus en plus courantes (présence de pailles mal enfouies ou en surface) ou dans les zones de proximité immédiate (fourrières par exemple). L'étude 2 suivante tente d'approfondir ce domaine de la biologie du parasite en comparant, en conditions contrôlées de serre, le rôle des ascospores et des pycniospores dans la contamination.

ETUDE 1 : SUIVI BIOLOGIQUE DU PATHOGENE SUR LES RESIDUS EN SURFACE AU CHAMP (PERITHECES ET PYCNIDES)

Matériels et méthodes

Dynamique d'apparition des périthèces et des pycnides

Le suivi des périthèces et des pycnides est réalisé sur des cannes de la récolte tournesol 1997 qui ont été mises en induction hivernale extérieure à l'automne suivant sur les sites de Nancy, Dijon, St. Florent, Surgères, En Crambade et St. Pathus.

Tous les 15 jours, depuis le 15.02.98 jusqu'au 30.07.98, 8 cannes sont prélevées au hasard sur chaque site et envoyées au laboratoire qui fait les suivis de périthèces et pycnides.

A réception de chaque échantillon on procède :

- à la mise en chambre humide préalable pendant quelques heures et au plus 24h (si nécessaire quand les cannes sont très sèches pour rendre périthèces et pycnides plus turgescents)
- à la recherche puis au dénombrement des périthèces et pycnides à la loupe binoculaire sur 4 pailles prises au hasard
- à l'écrasement sous lamelle des périthèces et pycnides afin de déterminer leur état de maturation en microscopie classique

Deux cas peuvent se présenter :

- la canne ne porte aucune ponctuation noire : on en déduit qu'elle n'est porteuse ni de périthèces, ni de pycnides
- la canne porte des ponctuations noires : dans ce cas, on délimite une zone de 10 ponctuations à l'intérieur de laquelle on détermine le nombre de périthèces et de pycnides

Concernant les périthèces, on précise leur état de maturation en les comptabilisant dans 4 classes A, B, C et D, la classe D correspondant au stade "périthèce mûr" (classe prise en compte dans l'établissement de la cinétique).

Symptômes en culture (station de St. Florent uniquement)

L'objectif est de tenter d'établir la relation émission d'ascospores et/ou pycniospores - apparition des symptômes. Pour ce faire, dès la levée du tournesol 1998, les cannes restantes sont remises au champ de tournesol qui va faire l'objet d'un suivi symptomatologique sur une placette. Précisons bien que ces cannes n'ont jamais subi d'enfouissement (conservées à la

surface du sol). On suit donc régulièrement cette placette (10 plantes de tournesol se suivant) en observant les symptômes de phoma sur cotylédons, sur noeud cotylédonnaire, sur jeunes feuilles et sur noeuds foliaires.

Le suivi dure environ 3 mois depuis la levée (époque de mise en place des cannes dans la culture)

Résultats

Apparition des périthèces et des pycnides

Les résultats sont exprimés en % de périthèces mûrs et % de pycnides à l'intérieur d'une zone délimitée de 10 ponctuations noires / canne (T1).

Des différences importantes entre sites apparaissent sur :

- les cinétiques d'émission des périthèces et des pycnides
- les taux de présence respectifs des périthèces et des pycnides
- les dates des 1ères apparitions de périthèces et de pycnides

Excepté le site de Surgères, on observe sur l'ensemble des sites une présence simultanée des périthèces et des pycnides sur une même canne et des débuts d'émissions précoces (mi-février à mi-mars). Dans tous les cas, les 1ères apparitions de pycnides en février-mars semblent plus rapides que les 1ères apparitions de périthèces. Ensuite, selon les sites les évolutions diffèrent entre les deux types de fructifications. A titre d'exemples :

- sur le site de Nancy, la présence des pycnides est constamment supérieure à celle des périthèces alors que c'est pratiquement l'inverse sur le site de St. Florent
- sur le site de St. Pathus, les cinétiques d'émission des périthèces et des pycnides sont très variables (croisements fréquents de ces cinétiques)
- sur le site de Surgères, seules des pycnides sont observées (à 4 dates). Une seule et unique émission de périthèces est relevée très tardivement le 31 juillet.

Symptômes en culture sur le site de St. Florent

Le suivi symptomatologique phoma de proximité réalisé sur la placette de 10 plantes donne la chronologie suivante :

- 20/5 : apport des cannes sur la placette
- 16/6 (12f) : 20% de plantes attaquées sur cotylédons
- 19/6 (E1) : 90% de plantes attaquées sur la 1ère paire de feuilles
- 23/6 (E2) : 100% de plantes attaquées sur noeud cotylédonnaire
- 10/7 (E4) : 50% de plantes attaquées avec manchon sur bas de tige
- 24/7 (F32) : 7 noeuds foliaires attaqués par plante
- 30/7 (M0) : 10 noeuds foliaires attaqués par plante
- 20/8 (M15) : 14 noeuds foliaires attaqués par plante

L'absence de tout symptôme de phoma sur le reste de la culture (hors placette contaminée) jusqu'au 23/6 permet de relier les symptômes observés sur cotylédons, noeud cotylédonnaire et 1ère feuille des plantes de la placette à la source contaminante constituée par l'apport des cannes porteuses de périthèces et de pycnides. Au delà de cette date, l'apparition généralisée du phoma à toute la parcelle ne permet plus d'observer cette relation.

L'information apportée par ce suivi symptomatologique est donc assez limitée dans le temps mais permet d'observer que :

- les cannes porteuses de périthèces et pycnides sont bien sources de contamination efficaces
- les cotylédons et la 1ère paire de feuilles sont sensibles à la contamination
- le délai de passage du phoma du cotylédon au noeud cotylédonnaire est rapide (7 jours)

La présence simultanée de périthèces et de pycnides sur les cannes ne permet pas de relier l'apparition des symptômes à l'une ou à l'autre des deux formes de fructification du phoma.

Conclusion

La présence simultanée de périthèces et de pycnides sur les cannes de phoma (âgées de 1 an dans cette étude) est confirmée sur tous les sites suivis (sauf sur le site de Surgères où seules des pycnides sont observées).

Selon les sites, on observe une dominante pycnides ou une dominante périthèces.

Sur le plan de la dynamique on peut conclure que :

- ces apparitions de périthèces et de pycnides sont précoces (dès février-mars)
- les apparitions de pycnides sont généralement plus rapides que celles de périthèces
- la présence de ces fructifications sur les cannes est durable (début février à fin juillet)

Du fait de la présence simultanée sur les cannes des deux formes de fructifications, il n'est pas possible, par ce type de suivi, d'établir leurs implications respectives précises dans la contamination, ni leurs relations respectives avec l'expression des symptômes.

ETUDE 2 : COMPARAISON D'UNE CONTAMINATION PAR ASCOSPORES ET D'UNE CONTAMINATION PAR PYCNIOAPORES EN CONDITIONS CONTROLEES DE SERRE

Matériels et méthodes

L'étude est conduite en serre et les plantes sont cultivées dans des bacs ALLIBERT 600 x 400 x 73 remplis de terre allégée par de la tourbe (var. Rigasol).

Modalités de contamination

On cherche à comparer les résultats d'une contamination par ascospores et d'une contamination par pycniospores en contaminant selon deux méthodes :

- par pulvérisation d'une suspension contaminante des deux types de spores à des concentrations identiques
- par apport sur le sol de résidus portant distinctement soit des périthèces, soit des pycnides (inoculum "naturel")

On contamine à 3 stades : B4, B8 et E1 (pour chaque type d'inoculum)

Pulvérisation de spores :

- constitution d'une suspension d'ascospores et d'une suspension de pycniospores (100000 spores / ml) à partir des productions de périthèces et de pycnides réalisées préalablement en chambre humide
- pulvérisation de la suspension contaminante sur la plante entière par 2 passages croisés
- création d'une atmosphère saturée par utilisation d'un film plastique léger pendant 5 jours
- puis application d'un brouillard pendant quelques jours (fog system)

Apport de résidus infectés :

- dépôt sur le sol de deux fragments de paille de taille équivalente portant soit des périthèces, soit des pycnides
- création d'une atmosphère saturée par utilisation d'un film plastique léger pendant 5 jours
- puis application d'un brouillard pendant quelques jours ("fog system")

Les captures de spores sur lames albuminées indiquent les émissions d'ascospores et de pycniospores et permettent ainsi de vérifier la réalité des contaminations par les résidus. Les lames sont placées à hauteur des plantes. Ces captures sur lames enduites d'albumine indiquent des émissions plus importantes de pycniospores que d'ascospores (T2).

Dispositif expérimental

12 modalités sont comparées dans un dispositif blocs à 6 répétitions (2 méthodes de contamination x 2 formes du champignon x 3 stades végétatifs = 12 modalités)

Résultats

La manifestation de la maladie est observée, selon les modalités de contamination, sur cotylédon, feuille, noeud foliaire, tige ou collet.

Concernant la contamination par pulvérisation de spores, il apparaît que (T3) :

- ascospores et pycniospores sont pathogènes (100% d'organes attaqués dans les deux cas)
- que les deux types d'organes contaminés (cotylédons et feuilles) sont de sensibilité identique
- que les délais d'expression des symptômes de phoma sur cotylédon, feuille et tige sont un plus rapides quand ils sont dûs à une contamination par ascospores

Concernant la contamination par apport de résidus, il apparaît que (T4) :

- les résidus porteurs de périthèces et les résidus porteurs de pycnides sont contaminants (100% de plantes attaquées dans les deux cas)
- le délai d'expression des symptômes est le même dans les deux cas
- la contamination du noeud cotylédonnaire via les cotylédons est très rapide (env. 5 jours)

Remarque 1 : des symptômes de phoma à partir des contaminations par les résidus se développent jusqu'au 3ème étage foliaire

Remarque 2 : dans le cas de la contamination la plus tardive (E1), la formation d'une tache encerclante au collet est plus rapide

CONCLUSION - DISCUSSION

L'ensemble de ces travaux met en évidence le rôle important, dans le processus de la contamination, des résidus infectés de phoma laissés au sol après la récolte. Ces résidus porteurs en abondance de périthèces et de pycnides constituent une pression contaminante précoce et durable dans la culture de tournesol. Le pouvoir pathogène des ascospores et des pycniospores est démontré et conduit à des dégâts de même niveau dans les conditions de l'étude en serre. On peut donc supposer que dans les conditions naturelles d'une contamination de proximité (résidus mal enfouis ou non enfouis sous le couvert végétal ou dans les zones voisines telles que les fourrières) les niveaux d'implication respectifs des ascospores et des pycniospores dans la contamination primaire sont identiques. Compte-tenu de l'omniprésence du phoma dans l'aire de culture du tournesol, la gestion des résidus dans l'assolement reste la première mesure à mettre en oeuvre pour réduire la pression contaminante.

BIBLIOGRAPHIE

- Delos M., Moinsard J. et Guerin O.,** 1997 - Acquisitions récentes sur la dynamique épidémique de *Leptosphaeria lindquistii* Frezzi, champignon parasite du tournesol : rôle de la forme asexuée - ANPP-cinquième conférence internationale sur les maladies des plantes- Tours - 3-4-5 décembre 1997 - Annales - pp. 421-427
- Frezzi M.J.** - 1964 - Especie del género Phoma parasita de *Helianthus annuus* L. en Manfredi - IDIA - Encro de 1964 - Cordoba - Republica Argentina pp. 37-40
- Frezzi M.J.** - 1968 - *Leptosphaeria lindquistii* n. sp., forma sexual de *Phoma oleracea* var. *helianthi-tuberosi* Sacc., hongo causal de la "mancha negra del tallo" del girasol (*Helianthus annuus* L.), en Argentina - Revista de Investigaciones Agropecuarias, INTA, Buenos Aires, Rep. Argentina Serie 5, Patologia Vegetal, Vol. V, N° 7, 1968 pp. 73-80
- Maric A, Crampag G. et Masirevic S.** - 1983 - Bolesti i stetocine suncokreta i njihovo suzbijanje - Nolit, Belgrade, 1983 pp.37-45
- Penaud A. et Pérès A.** - 1994 - Phoma du tournesol - Numéro Spécial Oléoscope - N° 15 - pp. 5-17
- Pérès A. et Poisson B.** 1998 - Dessèchements prématurés du tournesol : premières approches explicatives - Rencontres annuelles du CETIOM - Tournesol - pp. 40-42)

T1 : Taux de présence de périthèces et de pycnides sur les cannes aux différentes dates d'observations (étude 1)

Sites	Organes	12/2	28/2	15/3	30/3	15/4	30/4	15/5	31/5	15/6	30/6	1/7	30/7
St. Pathus	Périthèces	10	0	20	5	75	38	57.5	32.5	32.5	70	80	18
St. Pathus	Pycnides	45	55	55	40	25	55	35	35	65	25	20	85
St. Florent	Périthèces	18	0	50	35	67.5	52.5	70	82.5	65	95	82.3	80
St. Florent	Pycnides	35	87.5	25	32.5	30	35	30	17.5	27.5	2.5	17.8	20
Dijon	Périthèces	0	0	0	7.5	2.5	0	0	42.5	37.5	65	80	25
Dijon	Pycnides	65	42.5	72.5	55	50	0	0	57.5	62.5	35	20	75
Nancy	Périthèces	3.3	10	0	0	8	20	0	2.5	7.5	12.5	20	-
Nancy	Pycnides	60	42.5	52.5	72.5	82.5	77.5	100	97.5	92.5	87.5	80	-
En Cramb	Périthèces	0	2.5	0	37.5	20	0	52.5	60	72.5	77.5	90	92.5
En Cramb	Pycnides	13.3	57.5	0	47.5	30	0	40	40	27.5	22.5	7.5	7.5
Surgères	Périthèces	-	-	-	0	0	-	-	0	-	-	0	0
Surgères	Pycnides	-	-	-	100	90	-	-	100	-	-	90	65

T2 : Résultats des captures de spores (étude 2)

Stade végétatif	Nbre d'ascospores/lame	Nbre de pycniospores/lame
B4	45	87
B8	16	120
E1	20	162
E2	13	244

T3 : Résultats de l'attaque en phoma suite à la contamination de la plante par pulvérisation d'ascospores ou de pycniospores (étude 2)

Code	Contamination			1er symptôme / cotylédon ou feuille			1er symptôme/ tige (noeud cotyl. et fol.)			
	Nbre*	Stade	Inoculum	organe	Nbre**	Stade	Délai	Nbre**	Stade	Délai
A	6	B4	asco.	cotyl.	6	B6	10 j	6	B8	13 j
B	6	B8	asco.	feuille 1-2	6	B10-E1	7 j	6	E2-F2	26 j
C	6	E1	asco.	feuille 1-2	6	E2-F1	10 j	6	F2-F3.2	19 j
						Moy.	9 j			19 j
G	6	B4	pycnio.	cotyl.	6	B6	10 j	6	E1-F1	35 j
H	6	B8	pycnio.	feuille 1-2	6	E1	12 j	6	F2-F3.4	32 j
I	6	E1	pycnio.	feuille 1-2	6	F1-F2	17 j	6	F3.4-F4	30 j
						Moy.	13 j			32 j

* : nombre de plantes contaminées

** : nombre de plantes attaquées

T4 : Résultats de l'attaque en phoma suite à la contamination du collet par apport sur le sol de résidus porteurs de périthèces ou de pycnides (étude 2)

Code	Contamination			1er symptôme / noeud cotylédonnaire				Tache encerclante/collet	
	Nbre*	Stade	Inoculum	Nbre	Stade	Délai	Nbre	Stade	Délai
D	6	B4	rés./périth.	6	B4	5 j	6	F3.4-F4	54 j
E	6	B8	rés./périth.	6	B8-10	4 j	6	F3.4-M0	43 j

F		6	E1	rés./périth.	6	E1-E2	5 j	6	F3.4-F4	29 j
						<i>Moy.</i>	<i>4.7j</i>		<i>Moy.</i>	<i>42</i>
J		6	B4	rés./pyn.	6	B4	5 j	6	M0-M1.1	44 j
K		6	B8	rés./pyn.	6	B8-B10	4 j	6	F4-M1.1	46 j
L		6	E1	rés./pyn.	6	E1-E2	5 j	6	F4-M0	36 j
						<i>Moy.</i>	<i>4.7j</i>		<i>Moy.</i>	<i>42</i>
M					0			0		