



Epidémiologie du cavity spot de la carotte - Perspectives d'application en protection intégrée

Frédéric Suffert

► To cite this version:

Frédéric Suffert. Epidémiologie du cavity spot de la carotte - Perspectives d'application en protection intégrée. Ecologie, Environnement. Agrocampus - Ecole nationale supérieure d'agronomie de rennes, 2006. Français. NNT: . tel-00119268v1

HAL Id: tel-00119268

<https://theses.hal.science/tel-00119268v1>

Submitted on 8 Dec 2006 (v1), last revised 18 Feb 2009 (v2)

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

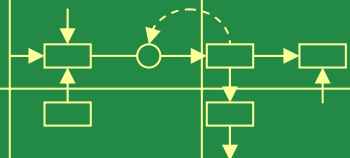
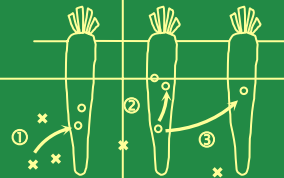
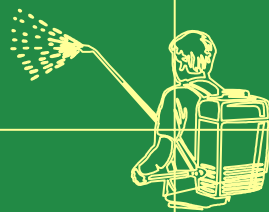
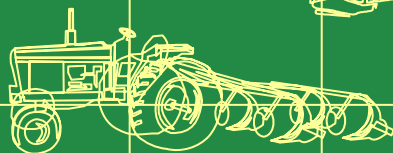
L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

Frédéric Suffert

Epidémiologie du cavity spot de la carotte

perspectives d'application
en protection intégrée

THESE



Première de couverture : symptômes de cavity spot sur carotte causés par *Pythium violae* et *P. sylvaticum-irregulare* (bassin de Rennes, Ille-et-Vilaine). Quatrième de couverture : racine source inoculée par *P. violae*, à l'origine d'allo-infections et arrachée cinq semaines après sa transplantation ; dispositif en pot composé d'une racine source et de six racines cibles, destiné à démontrer l'occurrence d'allo-infections par *P. violae*.

Version 03

© Frédéric Suffert et INRA, juillet 2006

UMR BiO3P INRA / Agrocampus Rennes
Domaine de la Motte - F35653 Le Rheu

Droits de reproduction, d'adaptation ou de traduction réservés
Contact : fredsuffert@yahoo.fr

Epidémiologie du cavity spot de la carotte

perspectives d'application
en protection intégrée

Epidémiologie du cavity spot de la carotte

perspectives d'application
en protection intégrée

Thèse pour l'obtention du grade de Docteur de l'Agrocampus Rennes

Discipline : Epidémiologie Végétale
Ecole Doctorale : Vie Agro Santé

présentée et soutenue publiquement le 20 juin 2006 par

Frédéric Suffert
Ingénieur Agronome

devant le jury composé de

P. Leterme, Professeur, Agrocampus Rennes
M-L. Desprez-Loustau, Directrice de Recherches, INRA Bordeaux
I. Sache, Chargé de Recherches, INRA Versailles-Grignon
B. Marçais, Chargé de Recherches, INRA Nancy
P. Reignault, Maître de Conférences, Université de Calais
P. Lucas, Directeur de Recherches, INRA Rennes

Président
Rapporteur
Rapporteur
Examineur
Examineur
Directeur

AVANT PROPOS

Ce travail a été réalisé à l'Institut National de la Recherche Agronomique (INRA) dans l'Unité Mixte de Recherche Biologie des Organismes et des Populations appliquée à la Protection des Plantes (UMR BiO3P), dirigée successivement par M. Charles-Antoine Dedryver, M. Bernard Tivoli et M. Didier Andrivon.

Je suis reconnaissant à M. Pierre Ricci, Chef du Département Santé des Plantes et Environnement, pour m'avoir laissé toute latitude pour mener à bien ce projet de thèse en formation continue.

Je remercie M. Philippe Leterme, Président du jury, Mme Marie-Laure Desprez-Loustau et M. Ivan Sache, membres rapporteurs, ainsi que, M. Philippe Reignault et M. Benoît Marçais, membres examinateurs, pour le jugement qu'ils ont accepté de porter sur ce travail.

M. Philippe Lucas, responsable de l'équipe Epidémiologie Sol et Systèmes (EPSOS), a bien voulu diriger cette thèse et suivre l'ensemble de mon travail. Je le remercie pour ses conseils et les discussions que nous avons eues malgré son emploi du temps chargé. Ma gratitude revient également à M. Francis Rouxel, l'une des premières personnes à m'avoir témoigné sa confiance en m'accueillant il y a cinq ans dans son équipe dans le cadre d'un contrat de travail à durée déterminée.

Je remercie M. Serge Savary pour son aide, ainsi que Mme Laetitia Willocquet, M. Doug Bailey, M. Jean-Noël Aubertot et M. Philippe Nicot pour avoir participé au comité de pilotage de la thèse.

Un projet de recherche s'éprouve et s'étoffe à l'occasion d'animations scientifiques, d'ateliers, de réunions de laboratoire, mais aussi d'échanges informels. C'est pourquoi je tiens à remercier tous ceux qui ont accepté de lire des versions fragmentaires de ce travail, et qui, par leurs réactions, leurs critiques et leurs suggestions, ont donné une bouffée d'air frais à ma réflexion. Je remercie tout particulièrement Mme Françoise Montfort pour son suivi et sa collaboration dans la rédaction de plusieurs projets de publications. Un grand merci à Mlle Marie Gosme, qui m'a accompagné dans l'utilisation du logiciel SAS en modélisation non-linéaire, pour son aide précieuse. Merci également à Mme Danielle Breton, Mme Lydia Bousset, M. Didier Andrivon, M. Claude Masson, M. Lionel Lebreton, M. Christophe Lemay, M. Sylvain Fournet et M. Bernard Tivoli pour les conseils qu'ils m'ont prodigués.

La richesse, la diversité et l'intégrité des données expérimentales sur lesquelles s'appuie ce travail n'auraient pu être mobilisées sans l'assistance technique de collaborateurs compétents et motivés. Je remercie tout particulièrement Mme Maryvonne Prunier et Mme Michèle Guibert pour leur précieuse aide au quotidien. Merci également à M. Christian Guérin, M. Serge Carrillo, M. Jean-Marie Lucas, M. André Mouton et Mme Micheline Leray. Merci enfin aux stagiaires de passage que j'ai eu plaisir à encadrer et qui m'ont aidé, à savoir Mlle Camille Gilard, Mlle Estelle Rémy, M. Julien Beuzeulin, M. Vincent Boaglio et M. David Delalande, ainsi que tous les saisonniers pour leurs coups de main ponctuels.

Un clin d'oeil à M. Frédéric Fabre, Mlle Valérie Balme-Sinibaldi, Mlle Sabine Dessender, Mlle Natacha Motisi et M. Josselin Montarry, désormais presque tous Docteurs, pour la bonne ambiance générale qu'ils ont contribué à créer.

Merci à tous ceux qui me sont si chers, le savent et se reconnaîtront.
Souvent loin, toujours si proches.
Leur soutien est précieux.

EPIGRAPHE

A chaque fois que quelqu'un descend un escalier sans en voir et en tout cas sans en regarder les marches une par une, il prend de sérieux risques : une marche pourrait manquer ou être de hauteur différente ; mais si l'on ne procédait pas ainsi, on mettrait un temps considérable pour descendre cet escalier. Et si un vieil homme met plus de temps qu'un autre pour le faire, c'est peut-être davantage parce qu'il n'accepte plus ces risques que parce que ses mouvements sont devenus plus lents (...).

On fait le tour de l'objet avant de le reconnaître, on teste non pas toutes, bien sûr, mais au moins quelques-unes de ses propriétés. On ne se contente pas de voir, on regarde longtemps, on cherche à démontrer, à expliciter les hypothèses et à décomposer les étapes du raisonnement, à identifier ce qui est inconnu. Tous les moyens sont employés pour rendre les risques aussi petits que possible, et c'est là qu'on rentre dans les méthodes ; on calcule, on expérimente, on discute, on essaie constamment de réfuter les hypothèses disponibles. On tente même d'évaluer les risques que l'on prend en acceptant une certaine hypothèse.

Une logique scientifique tente donc de réduire les risques parce qu'elle n'a pas pour objectif immédiat de préparer des décisions ponctuelles, mais de produire un système de connaissances, dont la construction risquerait de s'effondrer chaque fois qu'un élément de base de ce système se révélerait faux. C'est ce qui explique la lutte acharnée contre l'erreur, la lenteur du processus cognitif et l'incompréhension du grand public vis-à-vis de ce type de démarche. Ainsi, dans l'exemple des marches d'escalier, on aurait pu se rapprocher d'une logique scientifique en prévoyant un système de mesure des marches, un détecteur d'irrégularités, etc. ; mais on n'imagine pas un instant que l'architecte qui a construit l'escalier ait pu avoir l'idée saugrenue de prévoir des marches de hauteurs différentes...

Jean-Marie Legay

(L'expérience et le modèle, un discours sur la méthode,
Sciences en questions, INRA Editions, 1997)

SOMMAIRE

Introduction		15
Chapitre I	Le cavity spot de la carotte, une maladie racinaire aux implications épidémiologiques complexes	23
	Cavity spot of carrot : a soil-borne disease with complex epidemiological implications	
Chapitre II	Phytopathométrie du cavity spot	85
	II.A. Définition de variables de maladie	87
	II.B. Progression d'une épidémie et relations pathométriques	105
	Phytopathometry of carrot cavity spot	
	II.A. Standardised disease assessment method	
	II.B. Pathometric relationships for quantifying disease progress	
Chapitre III	Modélisation de cinétiques de cavity spot et formulation d'hypothèses mécanistes	125
	Modelling of cavity spot progress curves and mechanist hypotheses	
Chapitre IV	Analyse de la diversité d'une communauté de <i>Pythium</i> appliquée à l'épidémiologie du cavity spot : perspectives d'approches écologiques	155
	Diversity and fluctuations in a <i>Pythium</i> community applied to epidemiology of cavity spot: a need for ecological studies	
Chapitre V	Démonstration expérimentale des infections secondaires par transplantation racinaire	187
	Demonstration of secondary infection in epidemics of carrot cavity spot using root transplantation as a method of infestation	

Chapitre VI	Effet de trois facteurs culturaux sur le développement d'épidémies de cavity spot	211
	VI.A. Période d'application d'un fongicide anti-oomycètes	215
	VI.B. Humidité du sol	227
	VI.C. Distance entre racines et densité de peuplement	235
	Effects of three cropping factors on secondary infection during a carrot cavity spot epidemic	
	VI.A. Anti-oomycete fungicide treatment	
	VI.B. Soil moisture	
	VI.C. Root-to-root distance and sowing density	
Chapitre VII	Perspectives d'application et de modélisation	251
	VII.A. Cadre théorique de la notion de complémentation caractérisant des stratégies de protection des cultures	253
	VIII.B. Perspectives d'application à la protection intégrée de carottes	259
	VII.C. Modélisation d'une épidémie de cavity spot	265
	Prospects of application for integrated pest management and modelling	
	VII.A. Theoretical framework of the complementation concept for characterisation of plant protection strategies	
	VII.B. Prospect of vertical integrated management of cavity spot	
	VII.C. Modelling cavity spot epidemics	
Conclusion générale		281
Références		289
Annexes		307
Table des matières		329



INTRODUCTION



INTRODUCTION

Les cultures légumières de plein champ, parmi lesquelles la carotte, représentent des agrosystèmes particulièrement sensibles. Les problèmes parasitaires qui affectent ces cultures, principalement de nature tellurique, sont aujourd'hui traités de façon non spécifique et avec des moyens chimiques souvent perturbants pour le milieu. Le contexte actuel est favorable à des recherches ayant pour finalité une réduction de l'utilisation des produits phytosanitaires (Aubertot *et al.*, 2005) et la mise en œuvre de stratégies de protection intégrée, basées sur des moyens physiques et biologiques prenant en compte l'ensemble des bioagresseurs. Une partie de ces recherches concerne la compréhension du développement des maladies racinaires.

Les *Pythium* sont des parasites majeurs des racines de carotte. Ils forment un complexe pathogène, constitué de plusieurs espèces, dont la composition est variable d'une région à l'autre en France et dans le monde. Ils provoquent différents types de symptômes et de dégâts, parmi lesquels le cavity spot qui entraîne des pertes de rendement en dépréciant la qualité des récoltes. Cette maladie a été identifiée assez tardivement (Guba *et al.*, 1961). Elle a été étudiée dans le monde par une dizaine d'équipes de recherches entre 1980 et 1990, et encore moins à partir de 1995 (Figure 1), malgré le développement de méthodes de caractérisation et de détection faisant appel à de nouvelles techniques moléculaires. Actuellement, moins de cinq équipes s'y intéressent de façon permanente.

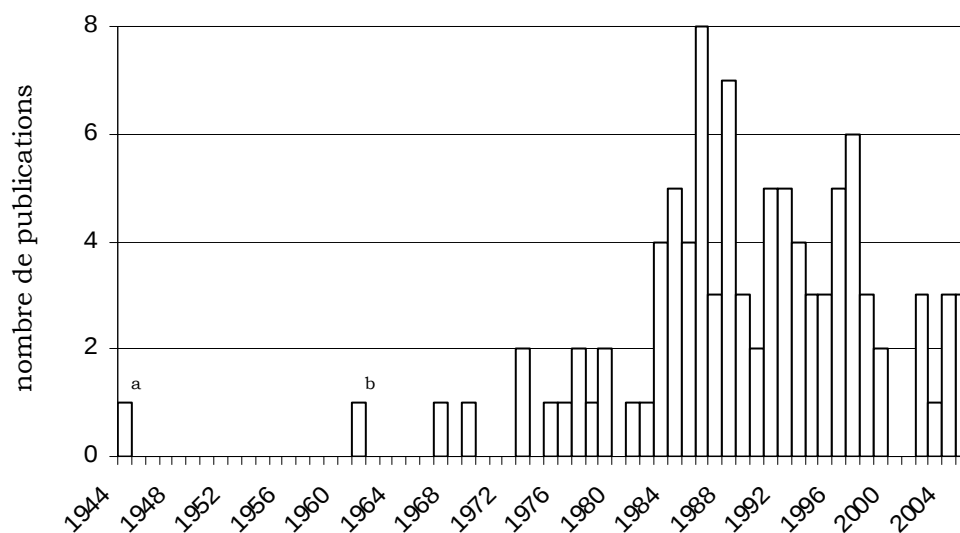
La revue de synthèse de Hiltunen & White (2002) reflète un état de connaissances épidémiologiques encore très lacunaire. La plupart des travaux publiés sur ce pathosystème se sont en effet limités à des approches relevant de la Pathologie Végétale¹ : étiologie, caractérisation du pouvoir pathogène, estimation du potentiel infectieux de sols, influence de facteurs pédo-climatiques et efficacité de traitements fongicides. Ces préalables ont permis de combler l'absence initiale de connaissances, mais ils ont finalement débouché sur peu de solutions alternatives à la lutte chimique. Rares ont été les approches ayant eu pour objectif une description exhaustive des dynamiques spatio-temporelles de la maladie et la compréhension du fonctionnement d'une épidémie (McDonalds, 1988; Phelps *et al.*, 1991), basée par exemple sur des hypothèses mécanistes classiquement développées en Epidémiologie Végétale² (Van der Plank, 1969; Zadoks & Schein, 1979; Kranz & Hau, 1980; Campbell & Madden, 1990; Campbell & Benson, 1994). Parmi la centaine d'articles et résumés accessibles à l'heure actuelle (Figure 1),

¹ Discipline qui étudie les maladies des plantes.

² Discipline qui étudie le développement des maladies des plantes à l'échelle de populations (Van der Plank, 1963).

Figure 1 Evolution du nombre de publications scientifiques consacrées au cavity spot de la carotte dans le monde.

Seules les publications de rang A (articles, synthèses, notes, résumés), auxquelles s'ajoutent les thèses de doctorat, ont été prises en compte ; ont été exclues les publications issues de revues techniques agricoles, les annales de congrès et résumés publiés dans des revues sans comité de lecture.



^a Première identification de *P. violae* (Chester & Hickman, 1944).

^b Première description du cavity spot de la carotte (Guba *et al.*, 1961).

seule une vingtaine de publications majeures présente des résultats exploitables « épidémiologiquement » parlant.

L'acquisition de connaissances en Epidémiologie Végétale avance par étapes successives. Dans un ensemble de phénomènes en interaction, les hypothèses explicatives que l'on formule prennent une tournure complexe. Il faut donc consentir autour de l'action expérimentale une dépense conceptuelle, naviguant entre formalisations, modèles et théories. La question de la modélisation se pose en des termes quasi épistémologiques, si on s'en réfère au travail de réflexion disponible dans la littérature (Zadoks & Schein, 1979; Legay, 1997; Jeger, 2000). La difficulté est d'y répondre en faisant des choix qui sont souvent irrémédiables à l'échelle d'un programme de recherches conduit sur quelques années, sachant que la plupart des données qui permettent d'élaborer puis d'alimenter le modèle *Pythium* - carotte sont à acquérir en quasi-totalité.

Un des enjeux de ce travail est donc de considérer les apports de l'expérimentation d'une part, et l'utilité de la modélisation d'autre part. Dans l'immédiat, nous nous contenterons de mettre l'accent sur deux travers, que nous chercherons à éviter (Legay, 1997) :

- Deux modèles consacrés à un même pathosystème peuvent s'enrichir de leur comparaison, en particulier lorsqu'ils procèdent de l'adoption de points de vue différents ; malgré cela, ils peuvent n'avoir aucun rapport entre eux. Inversement, et pour des raisons analogues, deux pathosystèmes explorés par un même modèle peuvent n'avoir aucun point commun. Nous retiendrons ici que relever d'un même outil ne crée pas de liens de parenté sur le fond.
- L'insuffisance du travail expérimental est un second piège possible. Plus le sujet est complexe et les hypothèses nombreuses, plus le contrôle par l'expérience est nécessaire, mais plus celui-ci s'avère difficile à organiser et à interpréter. Inversement, plus les hypothèses sont réduites et le modèle organisé, plus la tentation est grande de ne limiter les expérimentations qu'à un seul champ disciplinaire, en réponse à la question stricte posée.

Intéressons-nous maintenant à la problématique de recherche de cette thèse de façon explicite.

Le pathosystème *Pythium* spp. – *Daucus carotta* est un support de recherches intéressant, mais d'un abord difficile pour diverses raisons, autres qu'historiques ou scientométriques. Le cycle infectieux de l'agent pathogène fait théoriquement intervenir plusieurs types de propagules contribuant au maintien de la densité d'inoculum dans un sol : mycélium saprophyte présent sur des débris végétaux, oospores issues de la reproduction sexuée, et zoospores seulement chez certaines espèces de *Pythium*. L'importance relative de chacune de ces formes d'inoculum dans l'initiation et le développement d'une épidémie n'a jamais été quantifiée ; l'estimation du potentiel infectieux d'un sol est longtemps restée l'unique base de gestion du risque parasitaire. Le système à étudier s'en trouve d'autant plus

complexifié que le « cycle d'infection » théorique ne fait jusqu'à présent intervenir que des infections à partir de l'inoculum du sol, alors que le caractère monocyclique ou polycyclique d'une épidémie n'a jamais été discuté.

Le principal enjeu de cette étude est de mieux comprendre la dynamique spatio-temporelle de la maladie, due en particulier à *P. violae* qui est la principale espèce pathogène en France. L'objectif est d'acquérir et de formaliser de nouvelles connaissances au sein d'un modèle, basé sur des processus infectieux avérés et quantifiés expérimentalement. Une hypothèse majeure, à tester, puis à intégrer à ce modèle le cas échéant, repose sur l'existence conjointe de processus primaires (infections à partir de l'inoculum du sol) et secondaires (infections à partir de lésions déjà présentes sur les racines de carottes). Il doit permettre de faire la synthèse de notre compréhension du développement des épidémies de cavity spot pour ensuite agir sur certains des paramètres qui les régissent (conditions pédo-climatiques et facteurs cultureux).

Ce mémoire s'articule autour de sept chapitres, présentés comme une succession de questions et de résultats acquis selon une logique scientifique, et néanmoins consultables indépendamment les uns des autres ; pour en rendre la lecture plus aisée, certaines informations sont quelquefois redondantes. Les chapitres sont structurés autour d'un corpus de connaissances présentés sous le format d'un ou plusieurs projets d'article, rédigés en français ou en anglais, et reliés entre eux par des transitions³ permettant de repositionner chacune des parties dans la problématique générale de recherche.

Malgré un cadre épidémiologique théorique étoffé, les connaissances relatives au cavity spot sont hétérogènes et les bases méthodologiques perfectibles : cycle biologique complexe non élucidé, diversité spécifique au sein du complexe pathogène rarement prise en compte, absence de bases de données, méthodes de quantification de l'inoculum non disponibles. Le Chapitre I constitue une synthèse bibliographique et fait le point sur le contexte scientifique dans lequel la problématique de recherche a vu le jour. Les principales connaissances concernant la carotte et le cavity spot y sont synthétisées : croissance de la plante, espèces pathogènes impliquées, méthodes d'identification, cycle biologique, effets de facteurs et pratiques culturelles sur la maladie. L'accent est également mis sur les conditions d'expressions spécifiques des maladies d'origine tellurique et quelques éléments méthodologiques ou conceptuels y afférant (potentiel infectieux, modèles déterministes). De nombreuses informations sont détaillées dans ce premier chapitre ; bien que quelquefois connexes et ensuite non remobilisées, elles ont leur importance pour comprendre les choix que nous avons fait.

³ Les chapitres rédigés en anglais sont généralement précédés d'une introduction en français (problématique) et d'un paragraphe de conclusion (perspectives).

Le Chapitre II concerne des éléments de pathométrie du cavity spot. Une synthèse exhaustive constate la quasi-absence dans la littérature de méthodes homogènes de quantification des symptômes, et légitime la définition de variables de maladie. Cette partie est aussi un préalable visant à formuler des hypothèses mécanistes, à partir de l'analyse fine des relations pathométriques entre les variables de maladie et leurs évolutions au cours du temps ou dans des conditions d'expression distinctes.

Le Chapitre III a pour objectif de tester les hypothèses proposées dans le chapitre précédent par l'ajustement de modèles non-linéaires, intégrant chacun l'occurrence d'infections primaires et secondaires, à des données obtenues au champ au cours d'un essai triennal. L'influence de la densité d'inoculum sur la première phase de l'épidémie est testée par ce biais et constitue un argumentaire intéressant pour le choix du modèle. Si une qualité d'ajustement correcte ne permet de réfuter aucun des modèles, l'un d'entre eux est néanmoins retenu.

Le Chapitre IV introduit une approche « écologique » du pathosystème, et suggère de considérer non pas une seule espèce pathogène, entité par définition relativement homogène, mais un « complexe d'espèces » dont la composition est susceptible de fluctuer, tant dans le temps que dans l'espace. De telles variations sont analysées à partir de l'essai triennal conduit au champ. La possibilité d'interactions entre espèces est discutée : celles intervenant au temps t pourraient en effet remettre en cause certaines des hypothèses mécanistes démontrées au temps $t-1$, mais aussi la structure du modèle conçu à partir des résultats issus d'une situation locale, qui ne reste finalement qu'un cas particulier.

Le Chapitre V fait écho au Chapitre III. Il a pour objectif de démontrer expérimentalement l'existence des infections secondaires et d'estimer leur importance au cours d'une épidémie de cavity spot. Cette partie élabore la méthodologie expérimentale ensuite utilisée dans des essais en microcosmes visant à quantifier les contaminations racines à racines.

Le Chapitre VI met en évidence l'influence de différentes variables sur le développement d'une épidémie. Les effets de trois facteurs culturaux (période d'application d'un fongicide anti-oomycètes, humidité du sol et distance entre racines ou densité de semis) sur les cinétiques de maladie, et plus spécifiquement sur la dynamique des infections secondaires par *P. violae*, sont testés au champ et en microcosmes.

Le Chapitre VII est le cadre d'une réflexion sur les moyens à envisager pour lutter contre le cavity spot. Nous y discutons la notion de « complémentarité » de pratiques, utilisable dans l'évaluation de stratégies de protection intégrée. Ce terme recouvre en effet plusieurs fonctionnalités, pour lesquelles nous soumettons

quelques définitions, applicables au cas de la protection de cultures de carottes contre le cavity spot. En guise de perspectives, nous proposons d'élaborer un modèle déterministe, basé sur les processus identifiés et démontrés dans les chapitres précédents. Ce modèle vise à organiser les connaissances et susciter une réflexion autour de sa structure en intégrant les effets génériques des principaux facteurs susceptibles d'influencer le développement d'une épidémie.

La dernière partie fait office de conclusion générale, propose un bilan des connaissances acquises, et dégage de nouvelles perspectives de recherches et d'application.



CHAPITRE I



Le cavity spot de la carotte, une maladie racinaire
aux implications épidémiologiques complexes

CHAPITRE I - LE CAVITY SPOT DE LA CAROTTE : UNE MALADIE RACINAIRE AUX IMPLICATIONS EPIDEMIOLOGIQUES COMPLEXES

1. La carotte

1.1. La culture de la carotte

La carotte (*Daucus carota* L.) est le principal légume racine cultivé dans le monde après la pomme de terre (Villeneuve & Leteinturier, 1992a ; 1992b). Appartenant à la vaste famille des *Apiaceae* (ou Ombellifères), elle est répandue sous sa forme primitive dans toute l'Europe, le bassin méditerranéen, l'Afrique du Nord, l'Asie centrale et l'Asie du Sud-Est (Heywood, 1983). Contrairement à la forme sauvage, les variétés cultivées accumulent des réserves sous la forme d'une racine principale tubérisée, pigmentée, pivotante et non ramifiée, correspondant à la partie consommée appréciée pour ses qualités gustatives et nutritionnelles exceptionnelles. La forme recherchée pour le marché de frais actuel est le type « nantais » (racines cylindriques, boutées, lisses et bien colorées) (Villeneuve & Letouzé, 1994).

Pendant la première année de son cycle biologique bisannuel, la carotte accumule des réserves carbonées dans la racine. Cette première phase s'observe au cours d'un cycle de culture traditionnellement destiné à la production de carottes de consommation. Au cours des premiers stades de croissance, le système foliaire se développe plus rapidement que le système racinaire. Alors que le nombre de racines latérales augmente, le diamètre du pivot évolue peu. Il faut attendre 4 à 5 semaines après la levée pour que l'extension diamétrale soit perceptible. La tubérisation débute ainsi lentement, avant de s'accélérer au détriment de la croissance des feuilles (Courchet, 1884 ; Havis, 1938 ; Esau, 1940). La seconde année de son cycle biologique, après vernalisation, la plante utilise ses réserves pour produire une hampe florale composée de plusieurs ramifications de différents ordres et des ombelles. Cette seconde phase s'observe au cours d'un cycle de culture destiné à la production de semences.

Pour les carottes de primeur, la récolte a lieu entre mi-avril et début mai. Pour les carottes de saison, puis de garde (conservées au champ pendant l'hiver), qu'elles soient destinées au marché de frais ou à la transformation, la récolte intervient selon les régions entre septembre et mars de l'année suivante. Dans les zones faiblement exposées au gel, les racines peuvent ainsi être arrachées au fur et à mesure des besoins. La protection contre le froid est assurée au champ soit par une couverture du sol avec de la paille, soit par buttage ou retournement des rangs, comme cela se pratique en Normandie et dans les Landes. Mais le choix de la date de récolte, et donc de la durée de conservation des racines au champ, n'est pas

uniquement déterminé *a posteriori* en fonction des aléas climatiques et des contraintes culturelles. Il s'agit réellement d'une décision adossée à une prise de risque, qui prend une dimension souvent opportuniste ou spéculative, déterminée par l'état de l'offre et de la demande sur le marché de frais, voire une anticipation des marchés futurs et de la situation de concurrence. En cas d'offre faible face à une demande soutenue, par exemple à la suite d'une période de gel dans certains bassins de production, des producteurs ayant conservé des carottes durant l'hiver (ayant donc pris le risque de voir leur production également affectée par le gel) peuvent vendre sur un marché dont les prix sont tirés vers le haut, même si la qualité de la récolte a été affectée par des conditions de conservation défavorables. Les critères de qualité évoluent donc sensiblement avec le niveau de la demande. Il demeure que ce calcul, à savoir si la diminution de l'offre compensera la baisse d'exigence de qualité, est pour l'agriculteur un enjeu de moyen terme : la stratégie adoptée s'évalue nécessairement à une échelle pluri-annuelle. En plus du risque climatique, le risque parasitaire est bien évidemment à prendre en compte, en particulier celui lié aux maladies d'origine tellurique dont les épidémies peuvent être initiées dès la fin de l'hiver à la faveur d'un radoucissement des températures et d'une humidité du sol plus importante (attaques de *Sclerotinia sclerotiorum*, *Phytophthora megasperma* et *Pythium* spp.).

La récolte se fait soit par une machine qui opère par préhension du feuillage (carottes de primeur et carottes de saison, généralement jusqu'en novembre), soit par une machine opérant par déterrage et qui, en parallèle, procède au chargement des racines. Après la récolte, les carottes sont lavées, calibrées puis conditionnées en bottes, en vrac, en sachets de polyéthylène, filets ou emballages de carton. Sont également proposées sur le marché de frais des carottes de sable non lavées, parfois labélisées (carotte de sable Label Rouge de Créances ; carotte de sable Atout Qualité Certifiée des Landes).

1.2. Importance économique en France et en Europe

La carotte est produite de manière significative dans la plupart des pays de l'Union Européenne, notamment en Pologne (950000 t en 2000), au Royaume-Uni (710000 t en 2000), en France (680000 t en 2000), en Italie (640000 t en 2000), en Espagne (430000 t en 2000), en Allemagne (430000 t en 2000) et aux Pays-Bas (390000 t en 2000), pour lesquels elle est d'une importance économique majeure. Le potentiel de production communautaire ne cesse de progresser : évalué à 3700000 t en 2002 dans l'Europe des 15, il est estimé à plus de 5000000 t depuis l'élargissement à 10 nouveaux états membres en 2004. L'Union fait désormais jeu égal avec la Chine, premier producteur mondial (5740000 t en 2000), loin devant les Etats-Unis (1940000 t en 2000) et la Russie (1400000 t en 2000) (FAO, 2002). Entre 1998 et 2002, les surfaces emblavées en Europe ont progressé à un rythme annuel moyen de 2,8 %, tout comme la consommation moyenne des ménages qui est passée de 5,9 kg en 1992 à 7,5 kg en 2002.

En France, sur les 700000 t produites en 2002, 450000 t étaient destinées au marché de frais. La balance commerciale est légèrement positive avec un écart significatif entre les exportations (environ 110000 t/an, surtout à destination du Royaume-Uni et du Portugal) et les importations (environ 100000 t/an, principalement en provenance d'Espagne).

L'Aquitaine (Landes et Gironde), zone d'implantation récente, notamment en carotte de primeur, est devenue le premier bassin de production en France (300000 t en 2002), suivi par la Champagne (Marne, Aube) (80000 T en 2002) et la région Nord-Picardie (Pas-de-Calais, Somme et Aisne) (80000 t en 2002) qui restent des zones de production majeures pour la carotte d'industrie destinée à la transformation (Agreste, 2002). La Normandie (Manche), région traditionnelle de production en frais, n'arrive désormais qu'en quatrième position (70000 t en 2002), suivie par la Bretagne (60000 t en 2002). La production du Val-de-Loire est devenue quasiment anecdotique (moins de 10000 t en 2002), bien que ce bassin ait dominé¹ dans les années 80. A l'échelle nationale, la perte de vitesse de la culture de carotte dans les systèmes de production traditionnels est compensée depuis une décennie par la stratégie commerciale plus agressive des structures aquitaines. La Normandie continue néanmoins de faire jeu égal en matière de qualité et d'image, grâce au développement de filières diversifiées et par le biais de produits labellisés, malgré la baisse régulière de ses tonnages.

1.3. Croissance et développement de la carotte

1.3.1. Modèles empiriques

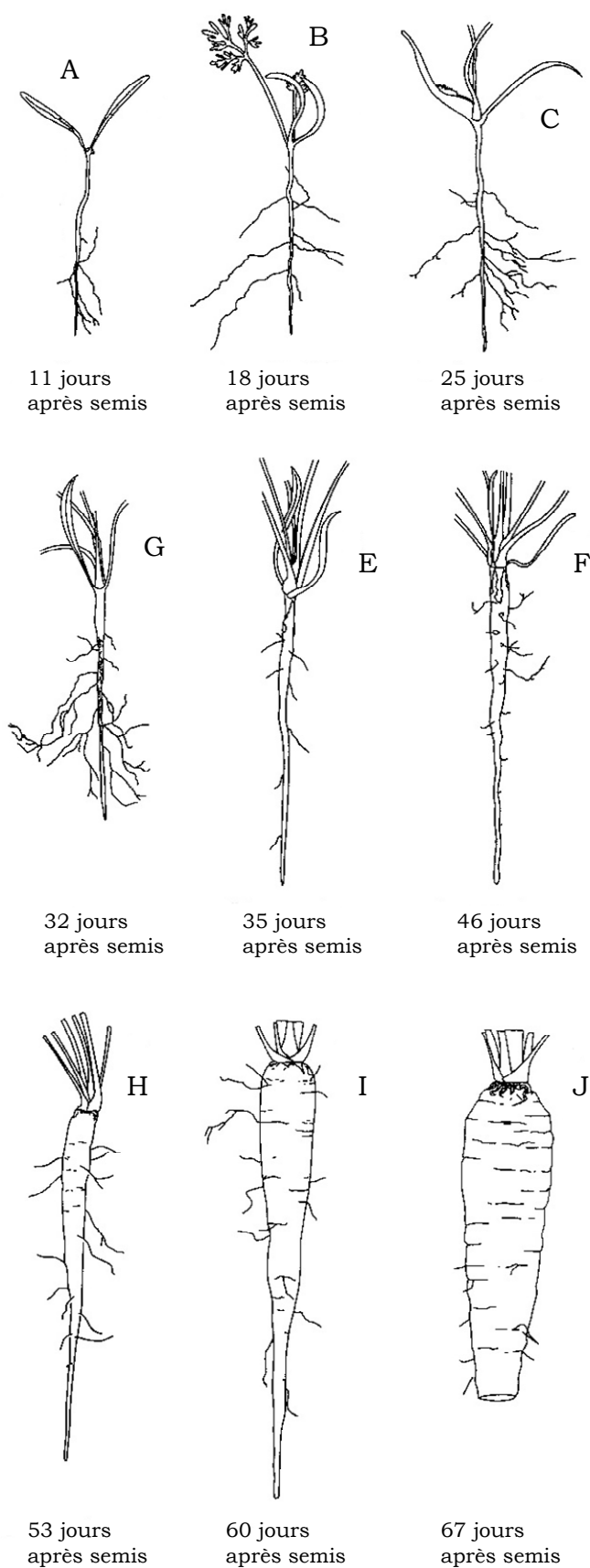
1.3.1.1. Cycle cultural de la carotte et définition de stades-états

1.3.1.1.1. Croissance continue et absence de stades repères définis

Le contrôle des changements morphogénétiques d'un végétal est habituellement assuré soit par des états internes du peuplement, soit par les conditions climatiques responsables des variations de durées de certaines phases de développement. Ces deux types de transition permettent généralement de distinguer plusieurs stades-états chez une plante cultivée. Mais à la différence de beaucoup de cultures annuelles pour lesquelles les cycles sont rythmés par des états bien

¹ Les premières études scientifiques ayant conduit à l'identification du cavity spot en France ont été cofinancées au début des années 80 par les professionnels nantais et normands acteurs de la filière carotte (Montfort & Rouxel, 1988 ; Breton & Rouxel, 1993). Ces travaux ont marqué l'avènement d'un partenariat exemplaire entre les milieux professionnels et l'INRA (Institut National de la Recherche Agronomique), ensuite étoffés au travers d'une collaboration étroite avec le SILEBAN (Société d'Investissement et de Développement des Cultures Légumières de Basse-Normandie), et depuis la fin des années 90 avec l'AIREL (Association Interrégionale d'Expérimentation Légumière, récemment regroupée au sein du centre d'expérimentation HORTIS AQUITAINE).

Figure I-1 Stades successifs de développement de la carotte au cours de la première année de son cycle bisannuel (d'après Essau, 1940 ; Villeneuve & Leteinturier, 1992a).



distincts (par exemple levée, montaison, floraison, maturité), il n'existe pas de stades morphologiques accessibles *de visu* chez la carotte (Caneill *et al.*, 1994). C'est le cas de la majorité des légumes-racines et des plantes bisanuelles dont le système racinaire tubérise. Il n'est donc pas possible de piloter des techniques de culture en fonction de stades bien définis, comme dans le cas des céréales, et l'élaboration de modèles de croissance opérationnels pose problème. L'absence de tels modèles chez la carotte fait de la comparaison avec la betterave, espèce plus largement étudiée, une approche pertinente. Les tentatives de description du cycle de développement de cette plante par Bouillenne *et al.* (1940) sur des bases morpho-physiologiques, puis celle d'Ulrich (1952), peuvent en effet servir de support méthodologique à l'étude de la croissance de la carotte. Cinq stades racinaires ont été définis : différenciation primaire, différenciation secondaire, décortication, tubérisation et maturation.

De nombreux éléments de l'élaboration du rendement d'une culture de carotte sont communs à d'autres légumes racines :

- forme essentiellement carbonée des assimilats mis en réserve ;
- épaississement secondaire d'un organe végétatif pour lequel il n'est pas possible d'identifier de phase sensible, tant d'un point de vue physiologique qu'épidémiologique ;
- rendements quantitatif et qualitatif dépendant fortement de l'état du peuplement à l'issue de la phase d'implantation (Salter *et al.*, 1980) ;
- tubérisation de la racine susceptible d'être perturbée par l'état structural du sol (fourches, déformations, éclatements, réduction de longueur) ;
- absence de vraie phase de maturité : l'arrêt de la végétation est dicté soit par la récolte, soit par un arrêt de croissance du fait des conditions climatiques.

1.3.1.1.2. Stades racinaires

Les stades successifs de croissance d'une racine de carotte en conditions naturelles ont été décrits par Esau (1940) (Figure I-1) et repris par White & Strandberg (1973). En plein champ, le développement du système racinaire est encore peu actif au cours du mois qui suit le semis. On assiste ensuite à une ramification plus importante, sans pour autant que la racine principale gagne beaucoup en épaisseur (Roche *et al.*, 1991). Tandis que la croissance des feuilles ralentit, l'extension diamétrale (tubérisation) débute lentement, puis s'accélère pour atteindre son maximum au stade de maturité biochimique. La manière la plus simple et la plus efficace de décrire cette évolution consiste à suivre un indicateur représentatif de la grosseur de la racine, au travers par exemple d'une mesure de son diamètre maximal (ou moyen) et de son poids frais.

1.3.1.1.3. Stades foliaires

Les changements de stade morphologique foliaire sont conditionnés à l'apparition de nouvelles feuilles : une méthode simple de suivi consiste à définir des stades de référence correspondant au nombre de feuilles. Il est possible d'utiliser la description des stades foliaires inspirée de l'échelle de Hack, associée à la hauteur de feuillage (distance entre le collet et la feuille la plus haute) (Hack *et al.*, 1992). L'identification d'un stade phénologique par la morphologie foliaire est une méthode pratique car non destructive. Elle s'avère erronée s'il n'y a pas stabilité des expressions morphologiques foliaires et racinaires au cours du temps. Or, l'hypothèse d'un rapport constant entre le poids frais des racines wf_r et le poids frais des feuilles wf_f pour un même stade phénologique n'est pas vérifiée. Des suivis de cultures au champ ont montré que l'évolution temporelle de ce rapport était similaire à celle de la betterave (Caneil *et al.*, 1994) : à partir de l'émergence, le ratio wf_r / wf_f décroît jusqu'à un minimum, atteint généralement entre 400 et 600 degrés-jour (base 3,5°C) après le semis, avant d'augmenter jusqu'à la récolte (F. Suffert, données non publiées).

1.3.1.2. Suivi de la croissance calée sur une échelle de degrés-jour

Le degré-jour (dj) constitue généralement une bonne unité de temps « physiologique » qui se substitue à une échelle chronologique (ou échelle calendaire), tant pour le suivi d'une culture et la modélisation de la croissance d'une plante (Trudgill *et al.*, 2005), que pour la mesure de paramètres épidémiologiques et de cinétiques de maladies (Wurr *et al.*, 2002 ; Lovell *et al.*, 2004). L'échelle peut être basée sur la température de l'air ou la température du sol, cette dernière étant à privilégier lorsque le pathosystème étudié est exclusivement souterrain (Lovell *et al.*, 2004). En ce qui concerne les végétaux dont la phase racinaire est déterminante, l'utilisation d'une échelle hydro-thermique se justifie (Dahal & Bradford, 1994). L'utilisation d'une telle échelle est d'autant plus intéressante que ses applications épidémiologiques sont de nature tellurique et que le potentiel hydrique du sol est un déterminant important de l'expression d'une maladie racinaire.

Chez la carotte en particulier, la chronologie du développement est étroitement liée à la température. Des modèles de croissance simples font état d'un effet fort de ce facteur. Comme pour la betterave, il semble possible de procéder à un repérage de stades sur la base de relations allométriques en lien avec la température (Caneil *et al.*, 1994), même s'il n'y a pas toujours stabilité des expressions morphologiques (nombre de feuilles, taille de la racine) et du temps exprimé en somme de températures. Stanhill (1977a, 1977b) a mis en évidence que le rapport allométrique de croissance entre la racine et le feuillage est fonction de la température journalière moyenne. D'après ses travaux consacrés à la croissance de

la carotte, les températures optimales sont ainsi de 18,5°C pour l'air et 9°C pour le sol.

1.3.1.2.1. Formule générale

La formule générale permettant de définir une somme de températures (exprimée en degrés-jour), par exemple dans le cas de mesures horaires, est la suivante :

$$\sum_{J_1}^{J_n} \left(\sum_{h=1}^{24} T_h / 24 - T_b \right) \quad (1)$$

où J_1 et J_n représentent respectivement le premier et le dernier jour de la période étudiée, T_h la température moyenne à l'heure h , et T_b la température de base².

Cette formule est applicable seulement si la température journalière moyenne n'est pas inférieure à la température de base. Lorsque cela se produit, la température moyenne journalière prise en compte est remplacée par la valeur nulle :

$$\sum_{J_1}^{J_n} \max \left\{ \left(\sum_{h=1}^{24} T_h / 24 - T_b \right); 0 \right\} \quad (2)$$

En cas d'absence d'enregistrements des températures à une fréquence horaire, il est possible de se baser sur les températures journalière minimale $T_{\min}$ et maximale $T_{\max}$ (Lovell *et al.*, 2004) :

$$\sum_{J_1}^{J_n} \max \{ (T_{\max} + T_{\min}) / 2 - T_b; 0 \} \quad (3)$$

Cette dernière définition pose néanmoins problème lorsque les variations de températures diurnes ne sont pas symétriques (Reader & Phelps, 1991). Dans la mesure où les données météorologiques le permettent, l'équation (2) est donc à privilégier au détriment de la (3).

1.3.1.2.2. Echelle degrés-jour adaptée à la carotte

Pour la betterave, la vitesse d'apparition des différents stades-états est étroitement fonction de la température dans l'intervalle de 1-2°C à 18-20°C (Milford *et al.*, 1985). Cela conduit à utiliser, de façon approximative, une évaluation en degrés-jour de base $b = 0^\circ\text{C}$, tandis que pour la germination de la carotte, la borne

² Température en dessous de laquelle la croissance est considérée comme nulle.

inférieure de cet intervalle de température est estimée à 3,5°C (Villeneuve & Leteinturier, 1992b ; Tamet *et al.*, 1993). De la germination à l'émergence, l'évolution d'une jeune plantule dépend encore de la température ; la quantité de chaleur nécessaire à la levée a été évaluée à 130 dj en base 3,5°C.

1.3.2. Dynamique de croissance d'une racine de carotte

1.3.2.1. Relations allométriques, croissance et compétition entre racines de carotte

Différents critères morphologiques décrivant la forme d'une racine tubérisée ont été définis, tels que la « cylindricité » (Bleasdale & Thompson, 1963) ou le rapport longueur / diamètre (Benjamin & Sutherland, 1989). Le modèle de Benjamin (1990), tout comme celui proposé par Morris & Currah (1983), décrit une relation allométrique entre le poids des racines et leur diamètre.

Il existe plusieurs modèles décrivant la croissance de carottes au sein d'un peuplement, du début de la phase de tubérisation jusqu'à la maturité (Benjamin, 1982 ; 1988 ; 1990 ; Morris & Currah, 1983 ; Benjamin & Sutherland, 1989). Certains modèles tiennent compte de façon explicite des effets de compétition entre plantes sur la croissance et la taille des racines (Sutherland & Benjamin, 1987 ; Benjamin & Aikman, 1995 ; Benjamin *et al.*, 1999 ; Li *et al.*, 1996 ; Reid & English, 2000)³. De tels modèles de croissance sont indispensables dans le cas d'un couplage entre un module épidémiologique et un module agronomique. Notre objectif n'est pas là, et des relations allométriques relativement simples permettent de répondre aux besoins de la thèse.

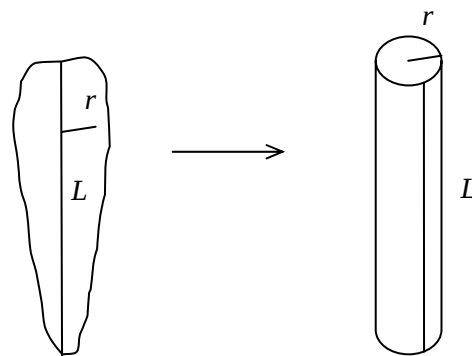
La densité de semis est un facteur sur lequel il est difficile de jouer tant les conséquences agronomiques et physiologiques de certaines modifications, peu évidentes à appréhender d'un point de vue théorique⁴, peuvent être complexes. Il est nécessaire d'éviter les problèmes de compétition entre plantes qui engendrent des déformations racinaires causées par la proximité d'autres racines. Paradoxalement, certaines déformations peuvent être dues à un espacement trop important. De façon imagée, la carotte est assimilable à un légume racine « sociable » : *elle doit pouvoir « faire son trou », tout en restant « en famille »* (Villeneuve & Leteinturier, 1992b).

³ On pourra également se référer aux travaux engagés par Krzesiński & Knaflowski (2004) (Faculté d'Horticulture de Poznan, Pologne) et par Bourgeois (Agriculture Canada) sur la modélisation de la croissance et du rendement d'une culture de carotte. Le modèle SUCROS 87 a ainsi été ajusté pour la carotte et une adaptation du modèle STICS est en cours.

⁴ Voir Chapitre VI p. 245.

1.3.2.2. Evolution de la surface d'une racine de carotte

D'un point de vue épidémiologique, connaître la surface saine d'une racine de carotte, c'est à dire la surface de tissus encore non nécrosée et pouvant potentiellement faire l'objet d'attaques, est important. Les relations allométriques décrites précédemment ne permettent pas d'accéder directement à une estimation de la surface totale. En se fondant sur des relations géométriques simples il est possible d'estimer son évolution en fonction du poids de la racine et de son diamètre moyen.



Une racine de carotte peut être assimilée à un cylindre d'un volume égal à celui du pivot tubérisé, estimé par l'équation (4).

$$V = \pi \cdot r^2 \cdot L \quad (4)$$

$$S = \frac{2w}{r \cdot d_{vol}} \quad (5)$$

L est la longueur moyenne d'une racine (partie tubérisée), r son rayon moyen, S sa surface totale, V son volume, et w son poids ; d_{vol} est la densité moyenne des tissus (ou masse volumique).

Nous faisons l'hypothèse que les racines de carottes ont la même densité moyenne d_{vol} au cours de leur développement et que la longueur de la partie tubérisée L est constante au cours du temps, dès lors que la phase d'implantation est achevée.

1.4. Les enjeux de la protection des cultures de carottes

Les cultures légumières de plein champ représentent des agrosystèmes particulièrement sensibles :

- la forte valeur ajoutée des productions incite les agriculteurs à une prise de risque minimale, malgré le caractère spéculatif de certaines cultures ;
- les consommateurs sont particulièrement vigilants sur les modes de production des légumes, souvent consommés sans transformation industrielle ;

Encadré I-1 Protection raisonnée et protection intégrée des cultures.

La distinction entre protection raisonnée et protection intégrée mérite d'être précisée. Par opposition à la *lutte systématique* caractérisant l'étape initiale de la lutte chimique selon un calendrier de traitement ignorant tout du risque réellement encouru, la *lutte raisonnée* consiste en un aménagement de cette lutte chimique grâce à l'utilisation des seuils de tolérance économique et à l'emploi raisonné de produits spécifiques. Pour certains scientifiques, le passage de ces deux concepts à celui de *protection intégrée* se fait de façon progressive ; pour d'autres, plusieurs étapes doivent être franchies. La première consiste à éviter les traitements systématiques en liant la décision d'intervention à une information sur le risque encouru à un niveau régional. La deuxième étape vise la personnalisation du risque au niveau d'une parcelle, en recourant à la technique du seuil de tolérance qui implique l'estimation d'un niveau de population de bioagresseurs. La troisième étape permet d'atteindre le stade de la *lutte intégrée* contre un ravageur dans un contexte agronomique déterminé. Elle est caractérisée par l'intégration, au système précédent, de moyens biologiques de lutte, de procédés cultureux et de sélection variétale, de manière à réduire le recours à la lutte chimique. Elle suppose aussi que des mesures préventives aient été prises pour réduire l'importance des risques phytosanitaires encourus. Historiquement, le groupe de travail se consacrant à la *lutte intégrée* en arboriculture fruitière a été pionnier : confronté à la diversité des organismes nuisibles des pommiers, il a été amené à préconiser simultanément, et de façon cohérente, des techniques de *lutte intégrée* contre différents ravageurs en un même lieu, le verger. Cette particularité a logiquement conduit à la définition de *stratégie de protection intégrée* englobant toutes les techniques susceptibles d'être appliquées dans un même agro-écosystème, en respectant des critères économiques et éco-toxicologiques spécifiques. La définition de *protection intégrée* (ou IPM pour *Integrated Pest Management*) que nous retiendrons est celle proposée par l'OILB (Organisation Internationale de Lutte Biologique) qui la décrit comme étant un système de lutte contre les organismes nuisibles (idéalement, profil de bioagresseurs ou complexe parasitaire considéré dans son entièreté) qui utilise un ensemble de méthodes satisfaisant les exigences à la fois économiques, écologiques et toxicologiques, en réservant la priorité à la mise en œuvre délibérée des éléments naturels de limitation et en respectant les seuils de tolérance, qui s'accompagne d'une réduction de l'utilisation des pesticides. La *protection intégrée* met en œuvre des moyens qui ne sont pas choisis en fonction de leur seule efficacité sur les cibles visées, mais également en fonction de leur impact sur l'environnement ou la santé. Ainsi, une méthode de plus faible efficacité, choisie parce que moins préjudiciable pour l'environnement, peut être corrigée par assemblage de méthodes *complémentaires, additives, compatibles* ou *supplétives* (voir Chapitre VII p. 253). Cet assemblage de méthodes à effets partiels offre notamment la possibilité d'agir par des modes d'action différents et sur des processus épidémiologiques variés, et donc d'accroître l'efficacité et la durabilité des stratégies. Le choix d'une stratégie de *protection intégrée* plutôt qu'une autre repose sur une analyse coût-bénéfice intégrant les risques engendrés par les bioagresseurs eux-mêmes et ceux qui pèsent sur l'environnement ou le consommateur. Pour un aperçu historique encore plus détaillé et une actualisation des perspectives de *protection intégrée* en épidémiologie végétale, on se référera aux travaux de Ferron (2000), Ehler (2000), Meynard *et al.* (2003), McRoberts *et al.* (2003).

- les bassins de production sont généralement des zones sensibles (côtières, périurbaines) ;
- pour une même production, les modes de culture sont variés, et les bassins connaissent parfois des mutations rapides.

Les problèmes parasitaires qui affectent cette culture, principalement de nature tellurique, sont aujourd'hui traités de façon non spécifique et avec des moyens chimiques perturbants pour le milieu (désinfection de sol), sérieusement remis en question par la réglementation européenne et nationale. Le contexte actuel est favorable à des recherches ayant pour finalité la conception et la mise en œuvre de stratégies de protection intégrée (Encadré I-1), basées sur des moyens physiques et biologiques plus que sur la lutte chimique, et prenant en compte l'ensemble des bioagresseurs telluriques.

Les résultats de programmes de recherche antérieurs ont montré que l'inventaire des parasites fongiques et le poids relatif des problèmes qu'ils engendrent variaient selon le passé cultural des zones de production :

- Dans les bassins traditionnels normands, les problèmes parasitaires sont majoritairement spécifiques et liés à la prééminence de la carotte dans les rotations. Le genre *Pythium* responsable du cavity spot peut causer d'importants dommages, avec deux principales espèces en cause : *P. violae* et *P. sulcatum*. Les épidémies sont cependant assez sporadiques et la maladie ne semble plus être à l'origine de pertes aussi importante que dans les années 80. Les attaques de « bague » dues à *Phytophthora megasperma* sont également un problème récurrent. Les années 2004 et 2005 ont été marquées par une forte augmentation de la prévalence de cette maladie dans le bassin de Créances.
- L'Aquitaine, région « nouvelle » qui a récemment supplanté la Normandie, est davantage concernée par un parasitisme polyphage (*Rhizoctonia solani* responsable du « crater rot »), en lien avec les successions culturales pratiquées (maïs, haricot, carotte). La prévalence des *Pythium* n'est pas négligeable, quoique difficile à évaluer à une large échelle⁵ ; les attaques de cavity spot, moins fréquentes qu'en Normandie, sont essentiellement dues à *P. sulcatum* et à des espèces appartenant au groupe *P. coloratum* (Breton *et al.*, 2003a).

⁵ Un projet de recherche appliquée ADAR (Agence de Développement Agricole et Rurale) a été initié en 2005 en partenariat avec le SILEBAN et HORTIS AQUITAINE. Son objectif est de développer des méthodes contribuant à la gestion durable des bioagresseurs telluriques : caractérisation et évaluation des risques, identification de facteurs défavorables à l'expression des parasites, analyse spécifique de l'effet de plantes d'interculture à vocation assainissante.

2. Le cavity spot de la carotte

2.1. Origine de la maladie et perspectives historiques

Le cavity spot, ou maladie de la tache, a été décrit pour la première fois sur carotte aux Etats-Unis en 1961 (Guba *et al.*, 1961), avant d'être observé en Grande-Bretagne en 1967 puis en France dans les années 80 (Montfort & Rouxel, 1988), d'abord sur carottes de primeur dans le bassin nantais, puis sur la plupart des types de production (Messiaen *et al.*, 1991). C'est actuellement un problème phytosanitaire commun à la plupart des pays producteurs de carottes, toujours régulièrement décrit en France (Breton & Rouxel, 1993), en Grande-Bretagne (White, 1986), au Canada (Benard & Punja, 1995, Allain-Boulé *et al.*, 2004a), aux Etats-Unis (Vivoda *et al.*, 1991), au Japon (Nagai *et al.*, 1986), en Australie (El-Tarabily *et al.*, 1996) et en Israël (Soroker *et al.*, 1984)⁶.

L'origine de la maladie a été initialement attribuée à des désordres physiologiques, avant que ne soient émises les hypothèses d'une carence en calcium (Maynard *et al.*, 1961 ; Dekock *et al.*, 1981), l'ammonification des sols (Scaife *et al.*, 1980), leur compaction, puis le rôle de bactéries anaérobies du genre *Clostridium* (Perry & Harrison, 1979 ; Perry, 1983). Des études menées en Europe dans les années 80 ont finalement mis en évidence l'origine biologique des symptômes. Grâce à des travaux en serre établissant l'efficacité de traitements anti-oomycètes contre le cavity spot, Lyshol *et al.* (1984) ont pu établir l'origine parasitaire de la maladie et incriminer la présence de champignons⁷ du genre *Pythium* (embranchement des Stramenopiles, classes des Oomycètes, ordre des Péronosporales, famille des Pythiacées). Ces résultats ont été confirmés par White (1984) et Green & Makin (1985), respectivement avec l'emploi de métalaxyl et de propamocarbe. Groom & Perry (1985a ; 1985b) puis White (1986) ont été les premiers à identifier formellement *Pythium violae* Chesters & Hickman⁸ comme étant une des espèces pathogènes. Les travaux menés parallèlement par différents chercheurs ont permis d'affirmer que la maladie de la tache et le cavity spot⁹ constituaient un seul et même problème.

⁶ Pour davantage de précisions on pourra se reporter à la revue bibliographique très complète proposée par Hiltunen & White (2002).

⁷ Les études phylogénétiques les plus récentes montrent que les *Pythium* sont plus proches des algues brunes et des diatomées que des champignons (Leipe *et al.*, 1994 ; Baldauf *et al.*, 2000). Parce que morphologiquement et écologiquement proches des champignons vrais, les *Pythium* sont souvent considérés dans le langage courant comme étant des champignons *lato sensu*, filamenteux, à thalle cœnocytaire, pouvant vivre de manière saprophytique ou parasitaire. Par habitude et par aisance terminologique, nous continuerons à les qualifier comme tel.

⁸ *P. violae* a été isolé pour la première fois à partir de *Viola* sp. (violette) en Grande-Bretagne par Chesters & Hickman (1944).

⁹ Traduction littérale de *cavity spot disease of carrots* ou *carrot cavity spot*, que nous abrègerons en anglais par 'CCS', et quelquefois décrit improprement par les termes *brown*

Depuis la mise en évidence de son implication dans le cavity spot, *P. violae*, à croissance lente¹⁰, est restée l'espèce la plus souvent impliquée dans le monde. Elle est fréquemment isolée au champ à partir de symptômes en Grande-Bretagne (White, 1986), en France (Montfort & Rouxel, 1988 ; Guerin *et al.*, 1994) ou au Canada (Benard & Punja, 1995), et souvent décrite comme une des plus agressives (Vivoda *et al.*, 1991) (Tableau I-1). Une seconde espèce à croissance lente, *P. sulcatum* Pratt & Mitchell, identifiée depuis une trentaine d'années comme pathogène de la carotte (Pratt & Mitchell, 1973 ; Kalu *et al.*, 1976 ; Howard *et al.*, 1978), est également fréquemment associée aux symptômes de cavity spot (Watanabe *et al.*, 1986 ; White, 1988). Cette espèce est majoritairement isolée en Australie (El-Tarabily *et al.*, 1996 ; Davison & McKay, 1998) et au Canada (Benard & Punja, 1995 ; Allain-Boulé *et al.*, 2004a) ; elle vient en deuxième position en France (Guerin *et al.*, 1994). L'implication d'une espèce polyphage à croissance rapide, *P. ultimum* Trow var. *ultimum*, a été soulignée par différents travaux (White, 1988 ; Briard, 1990), en particulier aux Etats-Unis, où elle cause les plus gros dégâts avec *P. violae* (Vivoda *et al.*, 1991). Quatre autres espèces à croissance rapide, *P. intermedium* de Bary, *P. irregulare* Buisman, *P. sylvaticum* Campbell & Hendrix et *P. coloratum* Vaartaja sont aussi associées au cavity spot (White, 1986 ; Benard & Punja, 1995 ; El-Tarabily *et al.*, 1996). Au total, ce sont 11 espèces de *Pythium* qui seraient impliquées dans la maladie en France (Guerin, 1993 ; Rouxel & Breton, 1998 ; Villeneuve *et al.*, 2001), d'où la nécessité d'introduire la notion de « complexe parasitaire » et de « complexe d'espèces ».

2.2. Symptomatologie et nuisibilité des *Pythium* pathogènes de la carotte

Les symptômes provoqués par les espèces appartenant au complexe *Pythium* sont décrits dans la littérature de manière peu homogène et varient avec le stade de développement des carottes, des espèces pathogènes, et vraisemblablement des conditions pédo-climatiques. Il n'y a pas de lien univoque clairement établi entre, d'une part, les espèces pathogènes et le stade d'attaque de la culture, et, d'autre part, les dégâts provoqués. Parfois très précoces, les attaques de *Pythium* spp. s'observent dès le stade cotylédon. Heureusement assez peu fréquentes, elles conduisent à la disparition de plantules soit avant, soit immédiatement après l'émergence. Ces fontes de semis sont généralement associées à des sols froids et humides. Les espèces responsables sont principalement *P. ultimum*, et dans une moindre mesure *P. irregulare* (Howard *et al.*, 1978), *P. sylvaticum* (Blok, 1970), *P. intermedium* (Kalu *et al.*, 1976) et *P. sulcatum* (Howard *et al.*, 1978). Les attaques de *Pythium* peuvent ainsi entraîner une diminution de la densité de peuplement et

root (Mildenhall *et al.*, 1971), *Pythium* root dieback (McErloy *et al.*, 1971) et *brown-blotted root rot* (Watanabe *et al.*, 1986) dans des publications antérieures.

¹⁰ La distinction entre espèces à croissance *lente* et à croissance *rapide* a été proposée par Van der Plaats-Niterink (1981) sur la base de critères de développement *in vitro* mesurés en boîtes de Petri.

Tableau I-1 Association des principales espèces de *Pythium* au sein du complexe parasitaire impliqué dans les attaques de cavity spot dans le monde (d'après Hiltunen & White, 2002).

Pays	Espèces de <i>Pythium</i> impliquées						Source
	<i>Pvi</i>	<i>Psu</i>	<i>Pco</i>	<i>Psy</i> ^a	<i>Pin</i>	<i>Pul</i>	
Australie ^b	+	+	+				El-Tarabily <i>et al.</i> (1996) Davison & McKay (1998, 2000)
Belgique	+						White (1991)
Canada ^{c, d, e}	+	+		+		+	Kalu <i>et al.</i> (1976) McDonald (1994) Benard & Punja (1995) Allain-Boulé <i>et al.</i> (2004a, 2004b)
Danemark	+	+					White (1991)
Egypte		+				+	El-Tarabily <i>et al.</i> (2004)
Espagne	+						White (1991)
Etats-Unis	+					+	Vivoda <i>et al.</i> (1991)
Grande-Bretagne ^{e, f}	+	+		+	+		Groom & Perry (1985a, 1985b) White (1986, 1988)
France ^e	+	+	+	+	+	+	Montfort & Rouxel (1988) Breton & Rouxel (1993) Guerin <i>et al.</i> (1994) Breton & Rouxel (1998) Breton <i>et al.</i> (2003) Suffert (2005, non pub.)
Israël	+			+			Shlevin <i>et al.</i> (1987) White <i>et al.</i> (1993)
Japon		+					Watanabe <i>et al.</i> (1986)
Pays-Bas	+	+					Wagenvoort <i>et al.</i> (1989) White (1991)
Portugal	+						Breton (2004, non pub.)

Pvi = *P. violae*, *Psu* = *P. sulcatum*, *Pco* = *P. coloratum*, *Psy* = *P. sylvaticum-irregulare*, *Pin* = *P. intermedium*, *Pul* = *P. ultimum*

^a La distinction entre *P. sylvaticum* et *P. irregulare* n'est pas proposée par certains auteurs, en particulier Shlevin *et al.* (1987), Breton & Rouxel (1993) et Guerin *et al.* (1994). Nous avons fait le choix de présenter conjointement ces deux espèces, regroupées sous le symbole *Psy*. Pour davantage de précision, il est suggéré de se reporter au Chapitre IV ainsi qu'aux travaux de Kalu *et al.* (1976), Benard & Punja (1995) et White (1986, 1988).

^b El-Tarabily *et al.* (1996) rapportent avoir isolé *P. coloratum* en Australie alors que cette espèce n'a jamais été mise en évidence par Davison & McKay (1998) travaillant pourtant dans la même zone géographique.

^c L'espèce *P. attrantheridium* Allain-Boulé & Lévesque, récemment décrite comme étant taxonomiquement proche de *P. intermedium*, ainsi que *P. macrosporum* Vaartaja & Van der Plaats-Niterink sp. nov., *P. debaryanum* Hesse, *P. dissotocum* Drechsler et *P. rostratum* Butler, ont été mises en évidence à partir de symptômes de cavity spot sur culture de

carottes au Canada (Allain-Boulé *et al.*, 2004a, 2004b). Le pouvoir pathogène de ces espèces n'a pas été formellement établi.

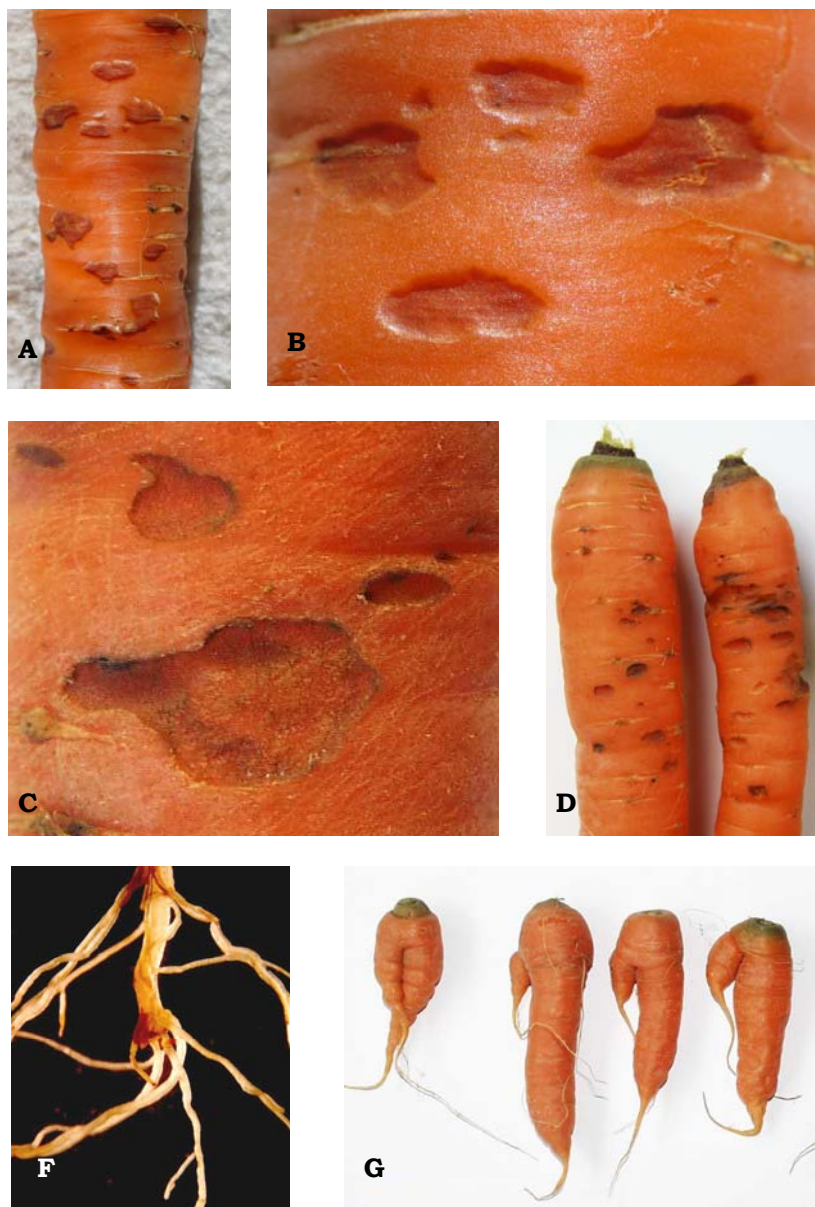
^d Les espèces *P. acanthicum* Drechsler et *P. paroecandrum* Drechsler ont été isolées sporadiquement à partir de symptômes de cavity spot sur culture de carottes au Canada (Benard & Punja, 1995 ; Allain-Boulé *et al.*, 2004b). Le pouvoir pathogène de ces espèces n'a pas été établi.

^e Les espèces *P. aphanidermatum* (Edson) Fitzp. et *P. mamillatum* Meurs ont été signalées en Grande-Bretagne, au Canada puis en France, et isolées à plusieurs reprises à partir de symptômes de cavity spot (White, 1986 ; 1988 ; Benard & Punja, 1995 ; Breton & Rouxel, 1993 ; Breton *et al.*, 2003). Des doutes subsistent néanmoins quant à leur implication réelle et leur importance au sein du complexe parasitaire.

^f L'espèce *P. rostratum* Butler a été isolée de façon anecdotique à partir de symptômes de cavity spot sur culture de carottes en Grande-Bretagne (White, 1988). Son pouvoir pathogène n'a pas été établi.

Figure I-2 Symptômes provoqués par des *Pythium* sur racines de carotte.

A et **B** - Attaque intense de cavity spot, lésions en creux de forme elliptique. **C** et **D** - Lésions plus âgées, à l'aspect cicatrisé. **F** et **G** - Carottes fourchues dues à des attaques précoces.



affecter le rendement brut d'une culture. Il arrive également que la racine principale se nécrose et que sa croissance s'arrête. Ces attaques provoquent des déformations racinaires, conduisant alors à des carottes « boutées », ou « fourchues » lorsque l'attaque est compensée par un développement excessif de racines latérales à partir du point de destruction (McErloy *et al.*, 1971) (Figure I-2). Il a été montré que *P. violae*, *P. ultimum*, *P. sulcatum* et *P. sylvaticum* étaient capables d'engendrer de telles déformations (White, 1986 ; Liddell *et al.*, 1989 ; Rouxel & Breton, 1998). L'implication de *Pythium* dans ces symptômes, si elle est aisée à démontrer en conditions contrôlées après infestation artificielle d'un sol (D. Breton, SILEBAN-INRA, données non publiées), est moins évidente à diagnostiquer au champ : les carottes fourchues peuvent aussi être dues à une mauvaise structure du sol. Dans d'autres cas, le système racinaire est affecté dans son ensemble sans qu'aucun site d'infection ne puisse être localisé ; il en résulte un dysfonctionnement généralisé de l'appareil racinaire ayant un fort impact sur la croissance des carottes, qui restent alors petites et « cordelées ». Les *Pythium* affectent ainsi la croissance racinaire sans pour autant provoquer de symptômes facilement identifiables ; les travaux de White (1986) ont établi que les attaques de certaines espèces en conditions contrôlées, en particulier *P. violae*, entraînaient une diminution du poids moyen d'une carotte. Ces résultats sont à relier aux pertes de rendement pondéral parfois constatées en France dans des parcelles très contaminées.

Les attaques correspondant aux symptômes de cavity spot *sensu stricto* sont plus tardives et concernent des carottes en cours de tubérisation, matures ou en sur-maturité. Sur le pivot apparaissent des taches en creux, elliptiques, aux contours nettement délimités et plus ou moins translucides (Figure I-2). Celles-ci peuvent rapidement évoluer en dépressions grisâtres à marron clair, correspondant à un brunissement et un affaissement de l'assise des cellules superficielles. Les premières lésions se manifestent à un stade précoce, lorsque les racines ont un diamètre compris entre 3 et 5 mm. Tandis que la dépression s'agrandit, la partie supérieure de l'épiderme se dessèche, et quelquefois se détache, laissant apparaître une lésion à l'aspect « cicatrisé ». Ces symptômes s'accompagnent parfois de fendillements et de craquelures longitudinales de l'épiderme et des tissus sous-jacents au fur et à mesure que la racine grossit. En Normandie, Bretagne et Val-de-Loire, des symptômes tardifs apparaissent parfois sur carottes de primeur à l'approche de la récolte. La surface des lésions peut alors être très importante : affectées par des envahisseurs secondaires (*Fusarium solani*, *Cylindrocarpon* spp.), les taches évoluent en pourriture bactérienne (Montfort & Rouxel, 1988).

Certaines espèces de *Pythium* ont également été reconnues comme responsables d'autres types de symptômes sur carottes matures : des rapprochements ont été établis entre le cavity spot et la « tavelure », qui se manifeste par des micro-taches brunes ou rouilles, parfois très nombreuses, généralement diffuses, et des micro-fendillements conférant à l'épiderme un aspect liégeux. Les espèces *P. sulcatum* et

Tableau I-2 Association de différentes espèces de *Pythium* au sein du complexe pathogène responsable d'attaques de cavity spot dans les bassins de production et sites d'expérimentation français.

Région, bassin ou site	Espèces de <i>Pythium</i> impliquées						Source
	<i>Pvi</i>	<i>Psu</i>	<i>Pco</i>	<i>Psy</i> ^a	<i>Pin</i>	<i>Pul</i>	
Nord-Picardie	+			+	+	+	Guerin <i>et al.</i> (1993)
Val-de-Saire	+	+		+			Breton & Rouxel (1993)
Créances	+	+		+	+		Breton & Rouxel (1993) Suffert (2004, non pub.)
Mont Saint-Michel		+			+		Breton & Rouxel (1993)
Santec	+	+			+		Guerin <i>et al.</i> (1993)
Le Rheu ^b	+	+	+	+	+	+	Suffert (2003, non pub.)
Ille-et-Vilaine	+	+		+			Guerin <i>et al.</i> (1993) Suffert (2004, non pub.)
Val de Loire	+	+		+			Montfort & Rouxel (1988) Guerin <i>et al.</i> (1993)
Landes		+	+	+			Breton <i>et al.</i> (2003)
Pyrénées Orientales	+		+				Breton (2002, comm. pers.)
Sud-Est	+						Breton (2002, comm. pers.)

Pvi = *P. violae*, *Psu* = *P. sulcatum*, *Pco* = *P. coloratum*, *Psy* = *P. sylvaticum-irregulare*, *Pin* = *P. intermedium*, *Pul* = *P. ultimum*

^a La distinction n'est actuellement pas toujours effectuée entre *P. irregulare* et *P. sylvaticum* (voir Chapitre IV).

^b Site d'expérimentation du Domaine de la Motte, Station INRA du Rheu.

P. sylvaticum sont impliquées dans cette affection qui se développe exclusivement dans les sols de polders de la baie du Mont Saint-Michel (Breton *et al.*, 1997). Si des désinfections de sols ont mis en évidence l'origine biologique des symptômes, il apparaît que les caractéristiques physico-chimiques des sols (limons fins, pH = 8,5) jouent un rôle prépondérant, expliquant que cette affection soit inféodée à ce petit bassin de production.

En France, les premiers symptômes de cavity spot ont été décrits au début des années 80 sur carottes de primeur dans la région nantaise. Depuis, la maladie a été décrite dans d'autres zones de production : Normandie et Bretagne (carottes de garde, fin des années 80), Landes (fin des années 90) et Nord de la France (carottes de transformation). Actuellement moins préjudiciables dans les Landes, les attaques de cavity spot sont récurrentes, quoique irrégulières, en Normandie (bassin de Créances) et sporadiquement dommageables sur certaines parcelles dans des régions de moindre spécialisation (Pyrénées Orientales, bassin de Rennes). Depuis la fin des années 90, la prévalence de la maladie reste difficile à évaluer. Les suivis phytosanitaires ponctuels mis en place au cours des dix dernières années ont apporté des informations sur les espèces pathogènes, mais assez peu d'indications sur l'impact réel de maladie à l'échelle d'un bassin de production, d'une exploitation ou d'une parcelle (D. Breton, SILEBAN-INRA, France, comm. pers.). Variables selon les années, les niveaux d'attaque diffèrent selon l'historique des parcelles et le type de culture (durée de conservation). Un suivi mené au cours de la saison 2002-2003 dans le bassin de Créances a montré que sur 23 parcelles récoltées entre janvier et février, seules 4 présentaient des niveaux d'attaques susceptibles d'affecter la qualité de la récolte (F. Suffert, données non publiées).

2.3. Populations de *Pythium* associées au cavity spot de la carotte en France

En France, les différentes espèces de *Pythium* spp. ne semblent inféodées ni à une aire géographique, ni à un type de culture particulier (Guerin, 1993) ; la composition du complexe varie d'un bassin à l'autre (Tableau I-2). Les résultats de plusieurs échantillonnages dans la région nantaise ont montré que *P. violae* était l'espèce la plus fréquente (Montfort & Rouxel, 1988), suivie de *P. sylvaticum*, *P. sulcatum* et *P. intermedium* (Breton & Rouxel, 1993). Dans le bassin de Créances, *P. violae* est également, avec *P. sulcatum*, l'espèce la plus fréquemment isolée. Dans les polders du Mont Saint-Michel, c'est *P. sulcatum* qui est plus fréquemment impliqué (tavelure de la carotte). Enfin, dans les Landes, ont fréquemment été isolés *P. sulcatum* ainsi que plusieurs souches appartenant au groupe *P. coloratum* dont l'exacte identification est encore malaisée (D. Breton et C. Béasse, SILEBAN-INRA et AIREL-INRA, données non publiées). La présence de *P. violae* n'y a jusqu'à présent pas été établie.

Le cavity spot est donc une affection provoquée par une communauté de *Pythium*, ensemble que nous qualifierons de « complexe d'espèces ». Ce complexe pathogène est variable dans sa composition, à la fois dans le temps et dans l'espace, généralement constitué de deux ou trois espèces d'importance majeure ; la prise en compte de cette diversité dans des études d'épidémiologie quantitative est indispensable¹¹.

En Grande-Bretagne, White (1991) constate que les deux principales espèces, *P. violae* et *P. sulcatum*, sont rarement isolées à partir de carottes provenant d'une même parcelle, élément qui témoigne d'exigences écologiques spécifiques et d'une certaine compétition entre espèces. En France, il est fréquent que plusieurs espèces de *Pythium* cohabitent non seulement au sein d'une même parcelle, mais aussi sur une même racine, voire même soient isolées à partir d'une unique lésion¹². Gold & Stanghellini (1985) ont montré que les différences de pouvoir pathogène entre *P. dissotocum* et *P. aphanidermatum* à une température donnée favorisaient l'espèce la plus adaptée à cette température, même si pour Guerin (1993) la coexistence de plusieurs espèces sur une même lésion semble indépendante de l'agressivité des souches. L'existence de telles associations dans un sol ou sur une racine ne signifie toutefois pas que la composition des populations de *Pythium* observée à un instant donné soit stable. Compte tenu des exigences thermiques différentes de *P. violae* et *P. sulcatum*, les conditions climatiques pendant la période culturale peuvent favoriser l'une ou l'autre espèce, ce qui, à terme, peut se traduire par une prédominance transitoire de l'une d'elles. C'est probablement ce qui explique que *P. violae*, adapté à des températures douces, prédomine dans les principaux bassins de production français (Landes et Normandie), et plus généralement dans les régions tempérées océaniques (Guerin, 1993). Les traits d'histoire de vie de chaque espèce font que l'équilibre au sein du complexe peut varier en fonction de l'environnement et des pratiques agricoles : les caractéristiques pédo-climatiques et les traitements phytosanitaires sont susceptibles d'influencer la composition du complexe. White signale qu'en Angleterre *P. sulcatum* est plutôt inféodé à des sols riches en matière organique et à pH peu élevé (White, 1988) et que *P. sulcatum* est moins sensible que *P. violae* au métaxyl (White *et al.*, 1988).

2.4. Caractéristiques biologiques des *Pythium*, traits d'histoire de vie et mécanismes d'infection

2.4.1. Cycle biologique théorique

Aux premières clefs de détermination établies dans les années 30 et 40 (Matthews, 1931 ; Sideris, 1932 ; Middleton, 1943) ont succédé celles de Waterhouse (1968), de

¹¹ Le chapitre IV est consacré à l'analyse détaillée d'un cas particulier.

¹² On parle dans ce cas de « co-infection » ou « infection multiple » (en anglais *mixed infection*).

Hendrix & Papa (1974), puis de Van der Plaats-Niterink (1981) et Dick (1990) qui font actuellement référence. L'identification des espèces de *Pythium* y est essentiellement basée sur des critères morphologiques (observables à l'œil nu ou en microscopie optique). L'aspect du thalle mycélien d'un *Pythium* en boîte de Petri est variable ; il dépend de l'espèce de *Pythium* mais aussi du milieu de culture utilisé. Il est par exemple courant d'observer un mycélium en forme de rosette, de chrysanthème, mixte (à la fois rosette et chrysanthème), radial ou sans arrangement particulier (Van der Plaats-Niterink, 1981). Alors que la monographie de Van der Plaats-Niterink (1981) recense 87 espèces de *Pythium*, de nouvelles descriptions portent actuellement ce nombre à 120 (Dick, 1990). La phylogénie de 116 espèces et variétés de *Pythium* a récemment été proposée à partir d'analyses moléculaires comparatives de l'ADN ribosomal nucléaire (Lévesque & De Cock, 2004).

P. violae est un « champignon » homothallique diplobiontique. Le mycélium des *Pythium* est de type cœnocytaire, c'est à dire non cloisonné. Les hyphes sont hyalines, leur diamètre moyen atteignant 5–7 µm. Les septum sont absents, excepté au niveau des organes de reproduction et des parties les plus âgées. La vitesse de croissance de *P. violae* est estimée à 15 mm / 24 h à 25°C, optimum thermique déterminé par Van der Plaats-Niterink (1981), alors que d'autres auteurs le situent entre 15°C et 20°C (Montfort & Rouxel, 1988 ; Briard, 1990 ; White *et al.*, 1993). Lors de la phase sexuée, le mycélium forme des oogones lisses, intercalaires ou terminaux, dont le diamètre varie entre 25 µm et 38 µm (Van der Plaats-Niterink, 1981) (Figure I-3). Les anthéridies varient de 1 à 8 par oogone ; sessiles ou ramifiées, ils sont généralement d'origine monocline, plus rarement dicline. La phase haploïde du cycle est restreinte à ces gamètes. Après fécondation, le contenu oogonial se transforme en oospore : aplérotique, à paroi très épaisse, son diamètre varie entre 22 µm et 32 µm. La production d'oospores permet au champignon de survivre dans le sol lorsque les conditions pédo-climatiques deviennent limitantes (sécheresse, températures extrêmes, anaérobiose, etc.), jusqu'à une dizaine d'années en l'absence de culture hôte sensible (Hoppe, 1966). La germination des oospores, puis la croissance hyphale conduisant à l'infection racinaire, seraient induites par des conditions favorables régnant dans la rhizosphère. En conditions naturelles la capacité saprophytique des *Pythium* est relativement faible (Hendrix & Campbell, 1973). Il est probable que *P. violae* puisse se conserver sur des débris racinaires (fragments de radicelles ou de racines tubérisées non récoltées).

La multiplication asexuée est généralement assurée par des sporanges ou sporocystes de forme globuleuse (sphérosporangies) ou filamenteuse (nématosporangies) qui produisent des zoospores. Dans des conditions particulières, par exemple à proximité d'une source nutritive, ils émettent un tube germinatif qui se renfle à son extrémité pour former une vésicule terminale. Les zoospores, au nombre de 8 à 10 selon la taille du sporange, se différencient dans cette vésicule et sont rapidement libérées dans le milieu où ils perdent leurs

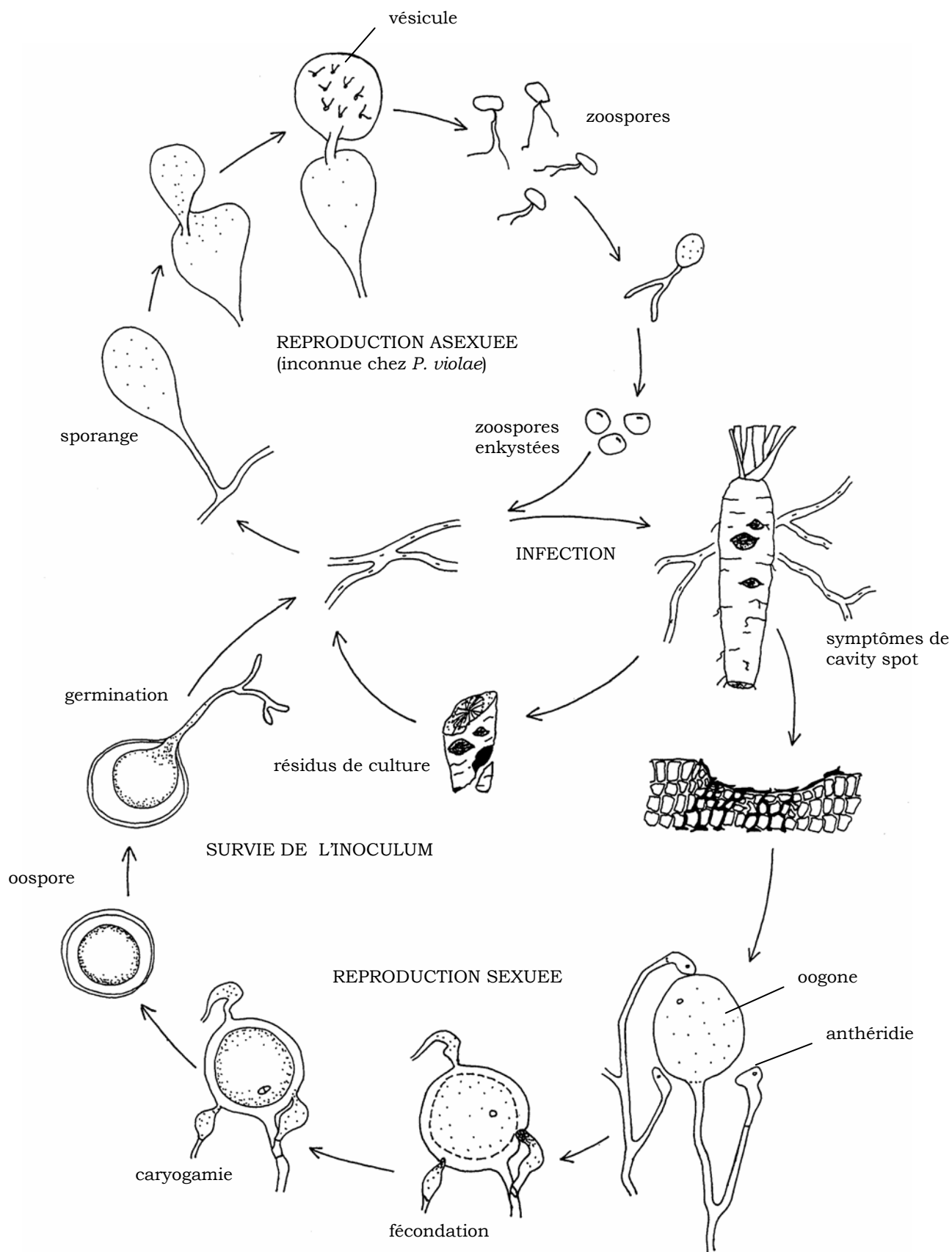


Figure I-3 Cycle biologique des *Pythium* responsables du cavity spot de la carotte (d'après Agrios, 2005).

flagelles et s'enkystent (Hendrix & Campbell, 1973 ; Estrada-Garcia *et al.*, 1990). Contrairement à la plupart des autres espèces pathogènes de la carotte, chez *P. violae* sporanges et zoospores n'ont quasiment jamais été observés (Van der Plaats-Niterink, 1981). Ils ont été décrits par Chesters & Hickman (1944) comme étant sphériques à subsphériques, terminaux ou intercalaires, leur diamètre variant de 14 μm à 42 μm , mais aucune technique n'a permis de les mettre en évidence de façon reproductible. Les difficultés méthodologiques rencontrées par de nombreux phytopathologistes pour induire leur formation et les observer *in vitro* paraissent rédhibitoires. Si l'existence de zoospores n'a jamais été prouvée, il n'en demeure pas moins que leur absence en conditions naturelles n'est qu'une simple hypothèse, que nous considérons néanmoins comme étant la plus vraisemblable.

2.4.2. Processus infectieux

Les mécanismes d'infection par des *Pythium* pathogènes de la carotte et les processus épidémiologiques qui en résultent sont peu connus. Rares sont les publications scientifiques qui ont été consacrées à ce sujet, faisant ainsi reposer les études d'épidémiologie quantitative ultérieures sur des hypothèses phénoménologiques génériques¹³. A notre connaissance, il n'existe dans la littérature que très peu de données illustrant la dynamique temporelle d'une épidémie au cours d'un cycle de culture complet. Vivoda *et al.* (1991) ont tenté de mettre en relation l'incidence de maladie avec le temps écoulé après le semis dans des parcelles de carottes (Figure I-4). Sans surprise, les niveaux d'attaque mesurés entre 14 et 18 semaines ont été plus importants qu'entre 2 et 10 semaines ; une simple régression linéaire a été réalisée, sans pour autant que ne soit caractérisée de cinétique épidémique à proprement parler. McDonald (1994) a décrit quelques cinétiques d'incidence, en relation avec différents facteurs (hauteur de précipitations, traitements fongicides et cultivars moins sensibles), en utilisant des aires sous la courbe ou AUDPC¹⁴ (*area under the disease progress curve*). L'interprétation des corrélations entre les AUDPC et les facteurs testés s'est cependant avérée incomplète, car ni la forme de chacune des cinétiques de maladie, ni les processus infectieux éventuellement différents pour une même aire sous la courbe, n'ont été pris en compte.

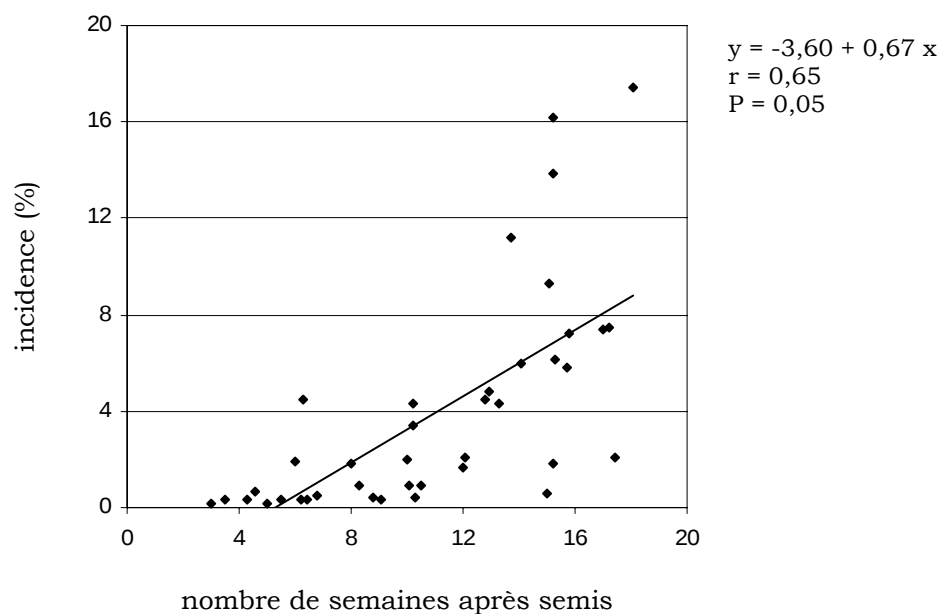
L'inoculum contenu dans un sol peut être de nature diverse : oospores, mycélium saprophyte contenu sur des débris de culture ou sous forme libre, et zoospores selon qu'il s'agisse ou non de *P. violae* (Campbell & Benson, 1994). Il est probable que la survie de ces différentes formes ne soit pas identique et dépende de facteurs pédo-climatiques tels que la température et l'humidité du sol.

¹³ Voir Chapitre II p. 64 et Chapitre V p. 190.

¹⁴ Voir définition au Chapitre VI p. 215.

Figure I-4 Relation entre incidence de cavity spot et temps écoulé après le semis.

Des échantillons constitués d'une centaine de carottes ont été prélevés dans 6 parcelles naturellement infestées de la vallée de San Joaquin (Californie, USA) entre 2 et 18 semaines après le semis (d'après Vivoda *et al.*, 1991).



Les infections à l'origine de taches de cavity spot concernent exclusivement les tissus du pivot racinaire tubérisé, et jusqu'à présent aucun symptôme caractéristique n'a pu être observé sur les racines adventives. Théoriquement, les infections primaires permettent l'initiation d'une épidémie (Gilligan, 1985) et correspondent à la contamination des racines à partir de l'inoculum du sol - quelque soit sa nature - ayant pour origine des épidémies antérieures (caractère polyétique¹⁵). L'occurrence d'infections secondaires¹⁶ (auto-infections provenant de la même racine, ou allo-infections provenant de racines adjacentes) n'a jamais été démontrée, et seules quelques observations de terrain suggèrent que ce mécanisme générique puisse jouer un rôle dans la dynamique épidémique. Il n'est pas rare de relever au champ la présence de racines indemnes, alors que d'autres présentent de très nombreuses lésions. Cette disparité a été confirmée statistiquement par Phelps *et al.* (1991) qui ont établi que la répartition des lésions était souvent agrégée, tant à l'échelle de la parcelle que d'une racine.

L'ensemble des processus infectieux d'une maladie racinaire se décompose classiquement en trois phases : une phase saprophytique (progression du champignon dans le sol par croissance du mycélium à partir d'une propagule infectieuse), une phase pré-parasitaire (colonisation externe ou ectotrophique des racines) et une phase parasitaire (progression des hyphes dans les tissus). Peu de données concernent les deux premières phases chez les *Pythium* pathogènes de la carotte. Seule la phase parasitaire a été étudiée de façon spécifique. La production d'enzymes pectinolytiques et cellulolytiques est fortement impliquée dans la dégradation des parois végétales et l'expression des symptômes de cavity spot (Campion, 1996 ; Campion *et al.*, 1997 ; 1998). Une étude détaillée portant sur les processus infectieux de *P. violae*, *P. sulcatum* et *P. ultimum* a montré que, quelle que soit l'espèce considérée, la colonisation des tissus est très rapide et peut atteindre son maximum 24 h après inoculation artificielle (Campion *et al.*, 1997) ; les symptômes externes apparaissent 48 h après. La couche péridermique des tissus constitue une barrière efficace au développement des trois espèces. La formation d'appressoria à la surface des racines témoigne du rôle de la pression mécanique dans la pénétration de la couche subérifiée (Briard, 1990). Le développement mycélien est ensuite limité aux couches externes du parenchyme libérien, les cellules vivantes voisines du site de l'infection sécrétant de la lignine et d'autres composés phénoliques qui stoppent la progression de l'agent pathogène dans les tissus (Zamski & Peretz, 1995). Cela explique en partie l'aspect « limité » des lésions (Campion *et al.*, 1997 ; Campion *et al.* 1998).

¹⁵ A récurrence pluri-annuelle, c'est à dire faisant référence à une succession d'au moins deux années (saisons culturales) au cours desquelles la maladie progresse (Zadoks & Schein, 1979).

¹⁶ Voir p. 70 et Chapitres II, III et V.

2.5. Influence des facteurs pédo-climatiques sur le développement du cavity spot et méthodes de lutte culturales

2.5.1. Influence de l'humidité du sol

De manière générale, chez la plupart des « champignons » à zoospores flagellées et à affinités aquatiques (*Pythium*, *Phytophthora*, *Aphanomyces*), de fortes teneurs en eau favorisent à la fois la dispersion et l'infection (Davet, 1996) ; une humidité du sol élevée constitue un avantage écologique pour la plupart des *Pythium* (Hendrix et Campbell, 1973 ; Stanghellini, 1974). Alors que la cause du cavity spot n'était pas encore connue, les travaux de Guba *et al.* (1961) ont montré que l'incidence de la maladie était plus élevée à des périodes au cours desquelles les sols étaient très humides. Perry & Harrison (1977, 1979) ont également constaté que la maladie s'exprimait préférentiellement dans des sols mal drainés ou tassés, en particulier après des périodes de fortes pluies. Pour Goh & Ali (1983), l'augmentation du régime hydrique accroît l'incidence du cavity spot en provoquant une asphyxie du sol due à la saturation en eau. Son impact sur le nombre de lésions de cavity spot, provoquées par exemple par *P. violae* et *P. ultimum*, a été démontré par Vivoda *et al.* (1991). En France, des températures clémentes et une forte humidité associée à des sols lourds (compactage et mauvais ressuyage) augmentent les risques de maladie (Montfort & Rouxel, 1988).

L'impact de l'humidité a généralement été quantifié à la récolte, mais jamais sur une cinétique de maladie dans sa globalité. A la lumière des travaux cités précédemment, il n'est donc pas possible de préciser si ce facteur a une influence à des stades précoces ou à des stades plus tardifs, par exemple en hiver pendant la conservation de carottes au champ.

2.5.2. Influence de la structure et de l'aération du sol

Le tassement du sol, en réduisant le drainage et par conséquent en maintenant un niveau d'humidité élevé après de fortes précipitations, est souvent considéré comme un facteur favorisant le développement de maladies dont le cycle comporte des formes mobiles de l'agent pathogène (zoospores). Plusieurs études ont montré qu'une faible aération, liée par exemple à une culture en buttes et des passages répétés de tracteur, était un facteur favorisant le développement d'épidémies de cavity spot (Perry & Harrison, 1979), par ailleurs réduites en cas de travail du sol dans les entre-rangs (Perry, 1983) ou de semis réguliers en sillons (Jacobsohn *et al.*, 1984). Les résultats d'une enquête menée en 2002-2003 dans le bassin de Créances (Manche, France) portant sur 23 parcelles cultivées confirment ces résultats : les champs ayant fait l'objet, au cours des 5 années précédentes, de nombreux passages d'outils susceptibles d'avoir un impact sur la structure et l'aération du sol (travaux profonds et superficiels, semis, désinfection, buttage,

retournement, etc.), ont été sujets à des attaques moins intenses (F. Suffert, données non publiées).

Si les attaques parasitaires sont généralement aggravées par une faible aération, il est difficile de préciser si cette dernière modifie la résistance du système racinaire, la croissance et la sporulation de l'agent pathogène, ou son adaptation aux conditions asphyxiantes. En conditions fortement anaérobies, racines et graines en germination sécrètent de l'éthanol. Les zoospores de plusieurs Oomycètes parasites sont sélectivement attirées : placées dans un gradient d'éthanol, elles orientent leurs déplacements vers les concentrations les plus élevées (Allen & Newhook, 1973). Une faible aération du sol, en amplifiant les mécanismes de chimiotactisme, pourrait ainsi favoriser la progression de la maladie.

Une semelle de labour compacte empêche la dissémination verticale de l'agent pathogène, mais en limitant le drainage, favorise l'accumulation d'eau à sa surface et ainsi la dissémination latérale du parasite. Des blocs compacts (mottes delta) (Manichon, 1982) peuvent ponctuellement jouer un rôle similaire de part la modification des flux d'eau qu'ils entraînent. L'influence du compactage du sol n'est pourtant pas aussi évidente qu'elle n'y paraît. La dispersion souterraine des zoospores se fait en effet au travers des pores, lesquels doivent être suffisamment larges et nombreux. Si le tassement d'un sol peut accroître les risques de maladie, il peut aussi limiter la mobilité des zoospores en réduisant la micro- et la macro-porosité¹⁷ : le nombre et le diamètre des pores sont ainsi plus ou moins réduits. En limitant les voies de dissémination des zoospores, le compactage d'un sol peut dans certains être cas un facteur qui défavorise des épidémies, comme par exemple celles résultant d'attaques de racines de pois par *Aphanomyces euteiches* (Sanssené *et al.*, 2005).

2.5.3. Influence de la température du sol

Plusieurs observations au champ suggèrent que le cavity spot est favorisé par des températures du sol clémentes, voisines de 15-20°C (Vivoda *et al.*, 1991 ; White *et al.*, 1993). McDonald (1994) a constaté qu'en Ontario (Canada) la maladie était capable de se développer entre 3°C et 22°C, son incidence étant plus importante à des température modérées (16-17,5°C) qu'à des températures élevées (20-22°C). Des

¹⁷ L'espace vide de matière solide constitue la porosité d'un sol. Il s'agit d'une caractéristique essentielle de son état structural, puisqu'elle détermine les conditions de circulation des fluides (air et eau), et de façon plus générale le fonctionnement du peuplement végétal associé. La micro-porosité correspond à l'ensemble des espaces générés par l'assemblage des particules élémentaires (porosité texturale) et par des micro-fissures (porosité structurale) ; elle est donc en grande partie liée à la texture du sol (composition granulométrique) et à sa structure (état interne et mode d'assemblage des mottes, niveau de compaction). La macro-porosité correspond à l'ensemble du réseau structuré et des espaces générés par l'activité macro-biologique : galeries de vers de terre et vides engendrés par l'exploration puis la sénescence racinaire.

températures plus hautes n'entraînent pas pour autant l'absence de risques : en saison chaude (28°C), de fortes attaques ont pu être observées en Israël pour peu que l'humidité du sol ait été élevée (Soroker *et al.*, 1984).

Température et humidité gouvernent aussi bien les phases de croissance saprophytique des *Pythium* (Lifshitz & Hancock, 1983) que les phases de germination des oospores (Ayers & Lumsden, 1975) et les phases d'infection (Hendrix & Campbell, 1973). Si l'humidité du sol favorise tous les *Pythium*, leurs exigences thermiques sont en revanche assez différentes (Van der Plaats-Niterink, 1981). Dans des sols placés en conditions contrôlées, les attaques de cavity spot causées par *P. violae* ont par exemple été plus intenses à 15°C qu'à 20°C et 25°C (Vivoda *et al.*, 1991). Ces observations ont été confirmées par Montfort & Rouxel (1988), qui ont établi que l'optimum thermique d'attaque de *P. violae* se situait aux alentours de 15°C. Van der Plaats-Niterink (1981) et Schrandt *et al.* (1994) évaluent ce même optimum respectivement à 25°C et 20°C. Les optima thermiques des autres espèces pathogènes sont variables : 20-25°C pour *P. intermedium*, 25°C pour *P. sulcatum* et *P. sylvaticum*, 25-30°C pour *P. ultimum* et 30°C pour *P. irregulare* (Van der Plaats-Niterink, 1981). Il est plausible que les différentes espèces pathogènes soient plus ou moins représentées d'une zone de culture à l'autre (Tableau I-2) en fonction de leurs exigences pédoclimatiques.

2.5.4. Influence du pH et de la teneur du sol en calcium

De manière générale nous disposons de peu d'éléments convaincants concernant l'influence de la composition physico-chimique des sols sur le développement du cavity spot. Le chaulage, amendement massif de carbonate de calcium ayant pour effet une élévation du pH, est rapporté comme limitant les risques d'attaques, bien que les mécanismes de suppression n'aient jamais été clairement identifiés (Hiltunen & White, 2002). A ce sujet, des résultats contradictoires rappellent qu'il est difficile de séparer les effets du calcium et du pH *sensu stricto* : la richesse d'un sol en calcium est en effet un facteur important de « résistance » à diverses maladies racinaires, mais bien souvent il ne ressort pas clairement de la littérature si c'est l'ion calcium lui-même ou si c'est l'augmentation du pH qu'il engendre qui provoque cet effet (Davet, 1996).

Maynard *et al.* (1961 ; 1963) ont établi que les symptômes de tache étaient provoqués par des teneurs du sol en calcium faibles. Même si l'origine physiologique de la maladie a par la suite été démentie, d'autres travaux ont montré qu'un déficit en calcium était un facteur qui augmente l'intensité des attaques. Perry & Harrison (1979) ont ainsi observé une diminution substantielle de l'incidence de la maladie consécutive à un abaissement du pH obtenu par apport de gypse (CaSO₄) ou d'acide sulfurique (H₂SO₄). Soroker *et al.* (1984) ont rapporté que le cavity spot était davantage présent dans des sols calcaires (pH compris entre 7,8 et 8,3). D'autres résultats ont mis en évidence une relation négative entre

l'incidence et le pH (Scaife *et al.*, 1980 ; Scaife *et al.*, 1983 ; White, 1988), alors que Vivoda *et al.* (1991) ont fait état de l'absence de lien dans une gamme de pH compris entre 5,7 et 7,7.

Malgré ces résultats contradictoires, il ressort que des sols à pH élevé paraissent moins propices à la maladie que les sols acides ; dans la pratique, un pH élevé ne permet pas de constater pour autant une baisse systématique de l'intensité des attaques. Lorsqu'elle est observée, cette diminution ne semble d'ailleurs pas avoir une origine purement physico-chimique, car dans une partie des expériences décrites, il a été mis en évidence que les amendements calciques diminuaient la réceptivité du sol en augmentant la microflore totale, pour partie identifiée comme antagoniste de certains *Pythium* pathogènes. Indépendamment de son effet élévateur du pH lorsqu'il est apporté sous forme de CaCO_3 (chaux), le calcium peut effectivement avoir un impact sur les équilibres microbiens. L'exemple des sols de Hawaï devenus résistants¹⁸ à *P. splendens* après amendement calcique est assez éloquent (Kao & Ko, 1986). Les travaux de synthèse réalisés par Ko recensent plusieurs cas de contrôle de maladies dues à des *Pythium* grâce à des applications de calcium : pourriture brune des racines de blé (*P. arrhenomanes*), fonte de semis sur pois, soja, betterave, haricot (*P. ultimum*), concombre (*P. splendens*), tomate (*P. myriotylum*), ou oignon (Ko & Kobayashi, 1985). L'incidence d'un déficit calcique sur la biologie de plusieurs espèces de *Pythium* a été illustrée par Huber & Watson (1970). En ce qui concerne le cavity spot, l'application de CaCO_3 dans des sols infestés artificiellement a permis de réduire significativement la prévalence de *P. coloratum*. Des études antérieures portant sur *P. violae* (Vivoda *et al.*, 1991) et *P. sulcatum* (White, 1988) ont examiné les effets du pH du sol sur l'intensité de la maladie sans s'intéresser à son influence sur l'activité générale de la microflore.

2.5.5. Influence de la fertilisation

Des teneurs élevées en azote ont souvent été associées au cavity spot (Scaife *et al.*, 1980 ; DeKock *et al.*, 1981 ; Goh & Ali, 1983). Il est couramment admis que des apports azotés fractionnés assurent une meilleure protection (Messiaen *et al.*, 1991), une fumure excessive entraînant généralement des niveaux de maladie élevés. Les résultats de Goh & Ali (1983) montrent en particulier que l'ajout d'ammoniaque (NH_3) dans un sol accroît l'intensité du cavity spot, tandis que les nitrates (NO_3^-) n'ont pas vraiment d'effet. Le pH est souvent corrélé au ratio $\text{NH}_4^+ /$

¹⁸ On parle de sol résistant - ou peu réceptif - à une maladie lorsque l'expression de celle-ci est limitée malgré la présence du couple hôte / parasite. Dans la situation opposée, on qualifie le sol de sensible ou réceptif. Il n'est pas rare de constater que deux parcelles analogues sont diversement atteintes par une même maladie racinaire, indépendamment du niveau de contamination par l'agent pathogène ou de la sensibilité de la culture (Rouxel *et al.*, 1991). Pour davantage de précisions sur ces notions on se reportera au paragraphe consacré au potentiel infectieux p. 59 et à l'Encadré I-2.

NO₃⁻, ce qui rend l'interprétation de tels résultats peu aisée, comme dans le cas de la teneur en calcium.

L'utilisation d'engrais azotés, qui agissent généralement de façons multiples, modifie aussi l'ensemble des équilibres microbiens. L'azote peut avoir un effet direct sur les champignons du sol (agents pathogènes ou antagonistes), en inhibant ou stimulant leur développement, surtout s'il est apporté sous forme ammoniacale ou d'urée. L'urée a par exemple réduit les populations de sporanges de *P. ultimum* dans des sols sableux (Chun & Lockwood, 1985) et inhibé la germination des zoospores de *P. aphanidermatum* (Lin & Lo, 1988).

Plusieurs auteurs ont mis en évidence l'absence de relation entre l'intensité des attaques de cavity spot et les teneurs d'un sol en sels minéraux (Perry & Harrison, 1979 ; Scaife *et al.*, 1981, 1983 ; Soroker *et al.*, 1984 ; White, 1986 ; Vivoda *et al.*, 1991). Aucun lien n'a ainsi été établi avec les teneurs au champ en magnésium, manganèse, cuivre bore, calcium, potassium et ratio des deux derniers (Perry & Harrison, 1979).

2.5.6. Influence des amendements organiques

L'apport de matière organique a des effets bénéfiques sur la structure, la fertilité et l'état sanitaire d'un sol. Le fumier et le compost réduisent les attaques de nombreux agents pathogènes (Messiaen *et al.*, 1991). Cette amélioration peut être le fait de trois mécanismes génériques :

- une régulation quantitative et qualitative de l'azote disponible

Les amendements organiques peuvent influencer la conservation et le développement de certains parasites. L'enfouissement de débris dont le rapport C/N est élevé et la décomposition plus lente (paille, engrais vert fauché à maturité) provoque une rétrogradation de l'azote (immobilisation de l'azote minéral) défavorable à de nombreux agents pathogènes.

- une stimulation globale ou sélective de la microflore antagoniste

L'apport de matière organique fraîche provoque une augmentation de la biomasse active, se traduisant par une microbiostase accrue et des phénomènes de compétition. C'est sans doute la cause principale de l'effet positif des fumures organiques observé vis-à-vis de *Pythium* (Bouhot, 1981). Dans certains cas, des groupes de la microflore totale (Mucorales, *Trichoderma* et bactéries) peuvent avoir un rôle prépondérant, alors que dans d'autres c'est simplement l'activité de la biomasse microbienne totale, avec la concurrence nutritionnelle qui en résulte, qui est très nettement corrélée avec la diminution de l'intensité d'une maladie.

- une libération de composés inhibiteurs, dont l'application espérée est la biodésinfection

Les débris végétaux en décomposition, moins riches en azote que les déchets d'origine animale, ne constituent généralement pas une importante source d'ammoniaque. Il s'en dégage en revanche de grandes quantités d'alcools (méthanol et éthanol) et d'aldéhydes pouvant influencer le développement des *Pythium* (Davet, 1996). Certains résidus de cultures de Crucifères libèrent en se décomposant divers composés soufrés toxiques (sulfures de méthyle et isothiocyanates issus de la dégradation des glucosinolates). En quelques jours, ils peuvent atteindre des concentrations suffisantes dans la rhizosphère pour inhiber irréversiblement des champignons parasites tels que *Aphanomyces euteiches* (Lewis & Papavizas, 1971) ou *Rhizoctonia solani* (Lewis & Lumsden, 1984). Des expériences simples consistant à placer au dessus d'une fiole contenant un broyat de feuilles de diverses Crucifères (dont la moutarde indienne) des boîtes de Petri renfermant des souches de *Rhizoctonia solani* et *Pythium* sp. (Charron & Sams, 1999) ont démontré l'efficacité de ces substances : la croissance radiale des deux champignons a été limitée par les composés volatils issus de moutarde indienne, dont l'analyse a révélé la présence d'isothiocyanates.

2.5.7. Influence des rotations et de quelques précédents cultureux

Dans un sol, l'inoculum formé au cours d'une épidémie (débris de culture, mycélium, oospores, zoospores) a longtemps été considéré comme étant la principale source d'infections pour la culture hôte suivante. Il est couramment admis que, dans des parcelles fréquemment cultivées en carottes, l'intensité des attaques de cavity spot augmente au cours du temps, confirmant le caractère polyétique de ces épidémies. Un intervalle de 1 à 3 ans entre deux cultures de carottes ne suffit pas toujours à en limiter durablement l'incidence¹⁹ (Lyshol *et al.*, 1984).

La colonisation d'autres plantes hôtes est également possible et conduit à l'accroissement de la source initiale d'inoculum. *P. violae* a ainsi été isolé sur choux brocoli, céleri, concombre, betterave et melon, si bien que l'introduction de ces cultures dans la rotation est considérée comme favorisant la maladie (Schrandt *et al.*, 1994). La gamme d'hôtes de *P. sulcatum*, essentiellement des Apiacées (carotte, céleri, persil), semble plus restreinte que celle de *P. violae* (Van der Plaats-Niterink, 1981), même si Davison & McKay (2003) indiquent en avoir isolé à partir de haricot et d'épinard. Les effets de quelques autres précédents ont été testés sur la densité de population de *Pythium* spp. : luzerne, orge, coton, oignon ou sol nu (Davis & Nunez, 1999). Après un an, les rendements commercialisables de carottes ont été

¹⁹ Les rotations pratiquées à Créances (Manche, France) font en moyenne revenir une culture de carotte tous les 2 à 3 ans, et dans les Landes une double culture (carottes de primeur suivies de carottes de saison ou de garde) tous les 3 à 5 ans.

réduits après la récolte de luzerne. Les populations de *Pythium* spp. ont été les plus importantes après luzerne et orge. Les autres précédents n'ont pas eu d'influence significative.

L'avoine (*Avena sativa*) et le fromental (*Arrhenatherum elatius*) constituent des précédents intéressants dans des sols infestés par des Oomycètes. Ces plantes attirent les zoospores qui s'accumulent autour de la zone d'élongation de la racine. Au lieu de s'enkyster, elles s'immobilisent à quelques dizaines de μm , se dilatent, puis se désintègrent sous l'effet de l'avénacine, un composé lytique libéré par des racines apparemment intactes. Dans des expériences en laboratoire, les racines d'avoine ont provoqué l'attraction et la lyse des zoospores de plusieurs espèces pathogènes dont *Aphanomyces* spp., *Phytophthora cinnamomi*, *Pythium arrhenomanes*, *P. aphanidermatum*, *P. graminicola*, *P. intermedium* et *P. ultimum* (Deacon & Mitchell, 1985). L'activité de l'avénacine contre la croissance mycélienne des *Pythium* est en revanche restée faible.

2.6. Méthodes de lutte actuelles

Le raisonnement global des pratiques culturales est un élément essentiel en protection des cultures. Les mesures prophylactiques occupent une place importante dans la lutte contre le cavity spot. Elles passent essentiellement par une meilleure gestion des rotations, un fractionnement des apports azotés et le drainage. Le façonnage des planches facilitant l'écoulement de l'eau permet de limiter les risques à court terme ; l'allongement des rotations avec d'autres cultures telles que maïs (dans les Landes), pois, poireau, céréales, choux-fleurs (en Normandie) limite à plus long terme la quantité d'inoculum présent dans un sol.

La lutte chimique est largement utilisée ; basée sur l'utilisation du mefenoxam (énantiomère du métalaxyl, matière active retirée de la vente depuis 2001), elle constitue la méthode la plus efficace actuellement disponible (Lyshol *et al.*, 1984 ; White, 1988). A l'échelle cellulaire, le mefenoxam inhibe la synthèse d'ARN du champignon et agit comme un fongistatique (Cohen & Coffey, 1986). Sur les cultures à cycle court (carottes de primeurs), une désinfection avant semis au métam-sodium (1200 L/ha) ou dazomet (700 L/ha), fumigant à large spectre d'action, suivie d'une application de SANTHAL²⁰ (mefenoxam) au moment de la découverte, assure une protection correcte. Sur les cultures à cycle long (carottes de saison et de garde), deux ou trois applications de métalaxyl à 3-4 semaines d'intervalle étaient préconisées en cours de culture jusqu'en 2001. Les traitements au mefenoxam ciblant les attaques de cavity spot ne sont actuellement préconisés

²⁰ Produit commercial de la société SYNGENTA AGRO.

qu'entre le semis et le stade 2-3 feuilles²¹. Les traitements de semence sont quasi-systématiques²².

Malgré des résultats significatifs, la lutte chimique n'offre qu'une efficacité de court terme. L'utilisation répétée de fongicides d'une même famille, par exemple les phénylamides, peut en effet induire rapidement l'apparition de souches résistantes (White *et al.*, 1988) ou provoquer un déplacement d'équilibre des populations de *Pythium*. *P. sulcatum* présente par exemple une bonne tolérance au métalaxyl et son développement est favorisé au détriment de *P. violae*, plus sensible (White, 1986 ; Breton *et al.*, 1993). Enfin, il est possible qu'à la suite de traitements intensifs se généralise une dégradation accélérée du métalaxyl ou du mefenoxam par une microflore spécialisée alors sélectionnée (Davison & McKay, 1998). Face à ces incertitudes la lutte chimique apparaît comme une méthode de lutte de moins en moins durable.

Certains champignons, tels que *P. oligandrum* (Martin & Hancock, 1987 ; White, 1992 ; Petch & White, 1995) et *Trichoderma harzianum* (Nelson *et al.*, 1988 ; Green & Jensen, 2000), sont des parasites indigènes de différentes espèces de *Pythium*, dont plusieurs responsables du cavity spot. El-Tarabily *et al.* (1996) ont isolé des actinomycètes de la rhizosphère de carottes, produisant des composés antifongiques particulièrement actifs contre *P. coloratum*. *P. oligandrum* est capable de limiter la croissance mycélienne et la formation d'oogones de *P. violae* et *P. sulcatum* (White, 1992), et le développement au champ de *P. ultimum* sur des résidus de culture (Martin & Hancock, 1986). L'application de ces mécanismes d'hyperparasitisme, d'antagonisme ou de prémunition demeure une perspective de lutte biologique intéressante.

Il n'existe actuellement aucune variété de carotte commercialisée résistante au cavity spot. La lutte génétique apparaît néanmoins comme une alternative séduisante ; des programmes de recherches menés par les sélectionneurs visent à proposer des variétés présentant une certaine tolérance vis-à-vis des *Pythium*.

2.7. Méthodes de détection et d'identification des *Pythium* pathogènes de la carotte

La détection dans le sol de très nombreux parasites telluriques, et des *Pythium* en particulier, peut être réalisée par différentes techniques, directes ou indirectes, dont le choix détermine l'efficacité de l'identification et de la quantification de l'inoculum.

²¹ Des traitements ayant pour cible *Phytophthora megasperma* responsable d'attaques de bague peuvent être pratiqués plus tard en cours de végétation.

²² La Société VILMORIN traite actuellement ses semences de carotte avec du thirame et de l'iprodione (formulations respectivement POMARSOL et ROVRAL) (G. Simon, VILMORIN, France, comm. pers.).

- détection et caractérisation morphologiques

L'identification des espèces selon des critères morphologiques est à la base de la classification des *Pythium*. Différentes caractéristiques appréciables à l'œil nu à partir de souches cultivées sur milieu gélosé (forme des colonies, couleur, aspect) sont utilisables. Dans un second temps, l'observation microscopique du nombre, de la taille et des formes des structures de reproduction (oogone, anthéridie, sporange et zoospore) et du mycélium permet en théorie d'identifier une espèce. Plusieurs clefs de détermination sont disponibles : celles de Van Der Plaats-Niterink (1981) et de Dick (1990) servent de références. Elles sont toutefois difficiles d'emploi et réservées à des pathologistes avertis.

L'identification de différentes espèces à partir d'échantillons végétaux par des isolements microbiologiques pratiqués sur milieu sélectif (par exemple MS2²³) est courante et aisée. Cette technique comporte néanmoins des limites : la présence d'espèces de *Pythium* à croissance rapide (par exemple *P. ultimum*) masque souvent celle de *Pythium* à croissance lente (*P. violae* et *P. sulcatum*). Ainsi, lorsque qu'un « complexe d'espèces » est responsable d'une seule et même lésion, la détection de l'ensemble des espèces peut être faussée par leurs différences de comportement sur milieu de culture ; le risque est de sous-estimer la présence d'espèces à croissance lente, voire de les considérer comme absentes.

- détection et caractérisation biochimiques

L'analyse de critères biochimiques s'effectue principalement sur l'aptitude à métaboliser tel ou tel sucre, par une recherche de métabolites cibles. La caractérisation biochimique des *Pythium*, comme de nombreux autres genres de champignons, repose sur l'électrophorèse des protéines et des isoenzymes sur gel polyacrylamide. Cette technique met en évidence un polymorphisme protéique des estérases, et permet de comparer des isolats à des souches de référence (Guerin *et al.*, 1994). Si *P. violae* et *P. sulcatum* peuvent être ainsi identifiés, les profils estérasiques ne permettent pas toujours à eux seuls de différencier toutes les espèces. L'identification de quatre autres espèces présentes en France (*P. intermedium*, *P. ultimum*, *P. irregulare* et *P. sylvaticum*) passe en particulier par l'utilisation combinée de critères morphologiques, biologiques et biochimiques.

- détection et caractérisation sérologiques

La caractérisation sérologique repose sur la reconnaissance d'un antigène par un anticorps spécifique. En ce qui concerne les *Pythium* inféodés à la carotte, à partir d'anticorps polyclonaux, Lyons & White (1992) proposent une méthode pour détecter spécifiquement *P. violae* et *P. sulcatum* directement dans des sols. La technique ELISA (*Enzyme-Linked Immunosorbant Assay*), basée sur la fixation d'un anticorps sur une matrice, permet de quantifier certaines espèces de *Pythium* par

²³ Milieu *corn meal agar* additionné de primaricine (antifongique) et de rifampycine (agent antibactérien).

une réaction immunochimique, à l'aide d'un second anticorps lié à une enzyme (White *et al.*, 1997). L'activité enzymatique est ensuite déterminée par réaction chromogénique relevant la présence de l'antigène dans une quantité définie par un taux d'absorbance comparé à celui d'une solution témoin. Des valeurs faibles de ce taux correspondent à une densité d'inoculum faible, mais ne garantissent pas pour autant un niveau de risque bas (Petch & White, 1995). Une des premières applications de cette technique sérologique, commercialisée sous forme de kit²⁴, s'est montrée assez spécifique des *Pythium*, mais en aucun cas des principales espèces inféodées à la carotte (*P. violae* et *P. ultimum*), ce qui l'a vite rendue hasardeuse et inappropriée pour l'évaluation du potentiel infectieux d'un sol (Gomez, 2001 ; D. Breton, SILEBAN-INRA, France, comm. pers.).

- détection et caractérisation moléculaires

La méthode de caractérisation la plus récente est basée sur les techniques de PCR (*Polymerase Chain Reaction*) et RFLP (*Restriction Fragment Length Polymorphism*). L'utilisation d'amorces spécifiques de *Pythium* a ouvert la voie à l'identification moléculaire de différentes espèces (Kageyama *et al.*, 1997 ; Wang & White, 1997). La digestion de l'ADN amplifié est réalisée avec cinq enzymes de restriction (par exemple *Hha* I, *Hae* III, *Hinf* I, *Taq* I et *Mbo* I) et les profils de digestion comparés après migration sur un gel d'électrophorèse²⁵ (Vasseur *et al.*, 2001). Développée à partir d'amorces spécifiques d'une espèce, cette technique relativement simple s'avère très efficace sur souche pure.

La PCR emboîtée (ou *Nested PCR*) est une méthode faisant intervenir deux couples d'amorces. La zone d'ADN ciblée pour l'amplification se situe au niveau de la séquence de l'opéron ribosomique fongique, qui est constitué de trois gènes : les gènes de la petite et de la grande sous-unité ribosomique, respectivement nommés ARN 17S et 28S, et le gène de l'ARN 5.8S, ceux-ci étant séparés par les régions non codantes 1 et 2 des ITS (*Internal Transcribed Spacer*). Ces régions ITS sont très conservées, mais présentent suffisamment de polymorphisme pour permettre l'identification d'une espèce. La technique est basée sur une première amplification des ITS par le couple d'amorces universelles ITS1/ITS4, suivie d'une amplification interne spécifique de chaque espèce de *Pythium* par le couple PV1/ITS2 (Breton *et al.*, 2003b). Le couplage de la PCR emboîtée avec une phase de piégeage biologique préalable (culture de plantules de carottes dans un sol à tester) constitue une avancée significative dans la mise au point d'une méthode de détection, en particulier à des stades précoces pré-symptomatiques. Actuellement seules des amorces spécifiques de *P. violae* et *P. ultimum* sont utilisées en France (D. Breton, SILEBAN-INRA, France, comm. pers.).

²⁴ Développé en 2004 par la société ABC BIOKIT.

²⁵ Voir Chapitre IV p. 168.

Aucune technique de détection ou de quantification directe dans le sol n'est actuellement applicable aux espèces de *Pythium* pathogènes de la carotte²⁶. Dans cet objectif, la PCR en temps réel (ou quantitative) et la technologie des puces à ADN offrent des perspectives particulièrement attrayantes (Lievens *et al.*, 2005 ; Okubara *et al.*, 2005).

3. Epidémiologie des maladies d'origine tellurique : approches théoriques et contraintes méthodologiques

3.1. Caractéristiques générales des maladies d'origine tellurique

Les maladies d'origine tellurique, qui affectent le système racinaire des plantes cultivées, ont pour origine le sol, milieu complexe et difficile à appréhender, tant d'un point de vue théorique que pratique (Baker, 1965 ; Garrett, 1970 ; Toussoun *et al.*, 1970 ; Bruehl, 1975 ; Campbell & Benson, 1994 ; Lucas, 2006). L'étude de ces maladies pose de multiples difficultés méthodologiques, liées en particulier à l'identification et la quantification des processus épidémiologiques mis en œuvre, souvent exclusivement de nature souterraine : phase de survie, dissémination de l'inoculum, phase de croissance saprophytique, phase infectieuse (Lockwood, 1988 ; Hornby, 1990 ; Campbell & Benson, 1994 ; Jeger, 2000).

Les notations de symptômes impliquent des prélèvements destructifs et sont souvent caractérisées par une forte hétérogénéité spatiale ou variabilité entre répétitions. Les échantillonnages sur le terrain, ou même en conditions contrôlées, sont assez laborieux. De ces caractéristiques, découlent également des difficultés à étudier les mécanismes et processus infectieux indépendamment les uns des autres : les combinaisons d'hypothèses sont souvent impossibles à dissocier. Lorsqu'on qualifie le système « sol », on parle de « boîte noire » ; pour de nombreux agents pathogènes, il est l'unique réservoir d'inoculum et constitue le seul milieu d'expression de l'ensemble des phases du cycle parasitaire. Compte tenu de la capacité de développement limité des parasites telluriques à l'échelle d'un cycle de culture (multiplication et dissémination), c'est le potentiel infectieux initial, reflet de la densité d'inoculum, qui a longtemps été considéré comme conditionnant l'intensité d'une épidémie.

3.2. La notion de potentiel infectieux d'un sol, ou les limites de méthodes expérimentales face aux concepts épidémiologiques les plus récents

La notion de potentiel infectieux a largement évolué depuis que l'expression est apparue. Il est utile d'en faire un bref historique (Encadré I-2), en particulier en

²⁶ A l'exception de celle proposée par la société norvégienne CARROTECH qui développe et commercialise depuis 2003 une technologie d'extraction d'ADN à partir d'échantillons de sols, combinée à une détection spécifique de différentes espèces de *Pythium*.

mettant l'accent sur ses évolutions successives de sens, qu'elles aient été le fruit d'améliorations conceptuelles ou de critiques faites au regard de nouvelles avancées scientifiques. C'est avec le travail de réflexion entrepris par des pathologistes anglo-saxons - Horsfall et Dimond (de 1930 à 1970) puis Baker aux Etats-Unis (de 1960 à 1980), Garrett en Angleterre (de 1950 à 1970) - que le concept a mûri et pris une signification que la majorité des chercheurs admet désormais (Figure I-5). Le concept de potentiel infectieux (en anglais *inoculum potential*) a été enrichi à partir des années 80 par les travaux de scientifiques que nous rattachons à « l'école française » - Bouhot (de 1970 à 1980), Hornby (de 1970 à 2000), Alabouvette (de 1970 à 2000) et Rouxel (de 1970 à 2000) - et qui ont utilisé le terme dans une acception un peu différente. Depuis sa création, le concept de potentiel infectieux, au travers de multiples définitions, de diverses représentations théoriques, mais aussi d'applications pratiques variées, a suscité de vifs débats, non clos à l'heure actuelle. La controverse s'est amplifiée au sein même de l'école anglo-saxonne lorsque des chercheurs ont changé le contenu initial du concept au gré de leurs besoins, allant pour certains jusqu'à affirmer que l'*inoculum potential* se résumait à l'*inoculum* alors que pour d'autres l'*inoculum potential* concernait au contraire tout ce qui n'est pas l'*inoculum*, c'est-à-dire tous les facteurs extérieurs.

Aucun des auteurs anglo-saxons cités précédemment n'a cherché à utiliser le potentiel infectieux à des fins prévisionnelles ; le concept a souvent été critiqué et considéré par d'autres comme une « voie de garage ». Les critiques que l'on serait tenté de faire aujourd'hui se retrouvent en partie dans les discussions qui ont mobilisé les scientifiques au siècle dernier. Alors que l'école française a affiné la notion et l'a faite évoluer, Van der Plank, le plus virulent à l'égard du concept²⁷, a rejeté de but en blanc cette notion, sans chercher à la justifier ou à lui donner un sens. Pour lui, si l'*inoculum potential* est un terme tourné en ridicule en Phytopathologie, c'est aussi l'un des plus subversif, apparu dans de nombreux articles de journaux réputés. Van der Plank considère que dans un sol il y a *inoculum* ou il n'y a pas *inoculum* ; le « potentiel » est par définition quelque chose qui n'existe pas, donc qui ne l'intéresse pas.

Pour de nombreux phytopathologistes, la notion de potentiel infectieux a été érigée en véritable dogme, reposant essentiellement sur une approche expérimentale, justifiée par les difficultés d'étude des pathosystèmes telluriques - celles-là même

²⁷ 'It is pretentious wordy jargon to use the term *inoculum potential* where plain *inoculum* is meant. The way of the *inoculum potential* is a blind alley (...) What is *inoculum potential* ? To many – perhaps most – of those who use the term, *inoculum potential* is just *inoculum*. To few, if any, is it just *inoculum's potential*. To many – and they now include the originator of the term – it combines both *inoculum* and *inoculum's potential*, that is, it includes every factor affecting the production of disease. To others it is *inoculum* and *inoculum's potential* in varying proportions, to suit their needs. To a few it is future, potential *inoculum*. To others it is energy of growth' (Van Der Plank, 1963).

Encadré I-2 Le potentiel infectieux des sols

La notion de potentiel d'inoculum (ou potentiel infectieux d'inoculum) est pour la première fois évoquée par Horsfall (1932) et n'exprime à l'origine que la quantité et la qualité de l'inoculum disponible dans un sol pour une infection. Horsfall, puis Dimond en 1941, introduisent « l'environnement » (les conditions pédoclimatiques et les pratiques culturales) dans la définition du concept, avant qu'une signification plus complète ne lui soit finalement donnée : le potentiel d'inoculum mesure la capacité de l'agent pathogène à infecter son hôte, laquelle est conditionnée par la quantité d'inoculum, sa virulence, la sensibilité de l'hôte et la quantité de tissus disponibles, et l'effet de l'environnement sur l'ensemble. La maladie est alors vue comme le résultat de l'expression du potentiel d'un agent pathogène dans un environnement particulier (Garrett, 1960 ; Dimond & Horsfall, 1960 ; 1965).

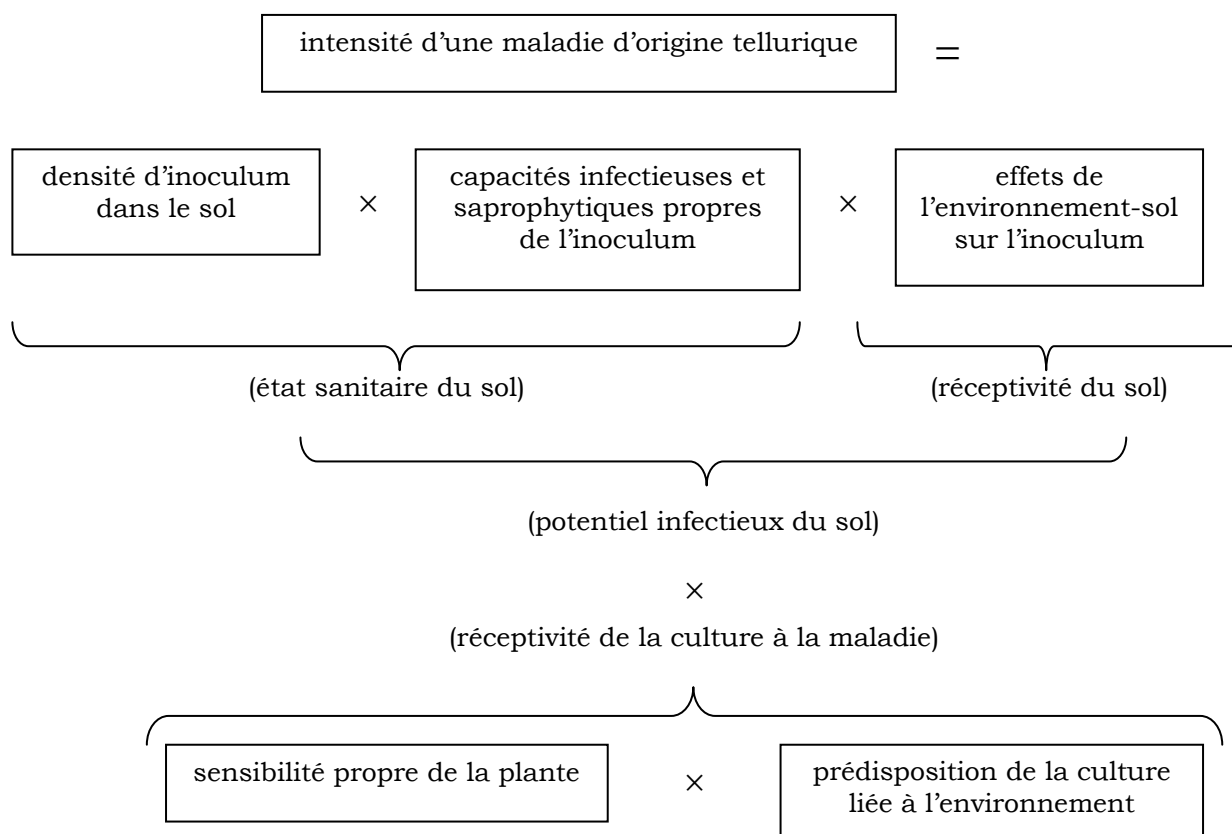
Pour les anglo-saxons, la notion plus générale de potentiel infectieux (*infection potential*) fait référence à l'énergie de croissance disponible pour une infection, calquée sur la loi d'action de masse. Initialement, pour Garrett (1970), le potentiel infectieux représente la « force invasive » d'un parasite : il est défini comme « l'énergie de croissance d'un champignon parasite disponible pour l'infection d'un hôte à la surface de l'organe à infecter ». Le potentiel infectieux est une fonction à quatre variables : la densité d'inoculum, les ressources propres du parasite ou sa capacité saprophytique, son patrimoine génétique qui détermine en particulier sa spécificité d'hôte et son agressivité, et l'environnement. Mais cette définition pose problème car elle fait de l'*infection potential* une notion difficilement mesurable en pratique. Baker (1965) tente de mieux cerner le concept en introduisant la gravité de la maladie (*disease severity*) définie par : $disease\ severity = inoculum\ potential \times disease\ potential$. L'*inoculum potential* est défini par Garrett (1956) comme étant l'énergie de croissance disponible pour la colonisation d'un substrat, et le *disease potential* par Grainger (1956) comme étant la capacité de l'hôte à contracter la maladie. Dans cette conception, l'accent est essentiellement mis sur l'agent infectieux : le potentiel infectieux de l'inoculum (potentiel d'inoculum) représente l'énergie que le microorganisme doit posséder pour infecter une racine. Sans remettre totalement en cause cette définition, l'école française adopte un point de vue sensiblement différent. L'inoculum n'est plus qu'un facteur épidémiologique parmi d'autres : indispensable, mais pas hiérarchiquement supérieur. Pour Bouhot (1980), le potentiel infectieux n'a pas de signification s'il n'est pas appliqué à un objet : on parle de potentiel infectieux d'un organisme, d'une solution, d'un sol, ou de résidus de culture.

Les facteurs qui conditionnent le potentiel infectieux sont représentés schématiquement sous forme d'un produit de plusieurs composantes, ce qui signifie que lorsque l'un des facteurs est nul, le résultat est nul, c'est-à-dire que la maladie ne se manifeste pas (Figure I-5). Le potentiel d'inoculum parasitaire peut se maintenir grâce à des formes de conservation, structures plus ou moins différenciées (oospores, chlamydospores, sclérotas, kystes), ou à des formes saprophytes (mycélium). Mais le sol n'est pas un simple réservoir ; au même titre que de nombreux paramètres climatiques conditionnent le développement de maladies aériennes sous diverses composantes biotiques et abiotiques, il régule le développement des épidémies. Le rassemblement sur une surface donnée de plusieurs oospores, ou de plusieurs hyphes, crée un potentiel infectieux plus élevé que la présence d'une seule propagule. Cette énergie infectieuse dépend également de la taille des fragments végétaux qui peuvent abriter l'agent pathogène, et de la distance limite à laquelle doit se trouver une unité infectieuse pour initier une lésion (Wilkinson *et al.*, 1985).

Pour Bouhot, l'énergie pathogène a deux origines : l'une provient de l'énergie « intrinsèque » du parasite et résulte de ses activités métaboliques propres, l'autre provient de l'écosystème sous forme d'énergie « extrinsèque ». La vision quelque peu dogmatique des équilibres microbiologiques qui en découle est très discutable. L'énergie extrinsèque n'est pas utilisée uniquement par l'agent pathogène mais aussi par l'ensemble des populations vivantes formant la composante biologique du sol. C'est pourquoi, lorsque l'énergie pathogène disponible dans le sol réussit à provoquer une infection sur la plante, c'est toujours parce que l'agent pathogène a « triomphé » sur la microflore du sol dans l'utilisation de cette énergie extrinsèque. Les questions relatives à la connaissance des facteurs pédo-climatiques

qui influencent une épidémie n'ont jamais véritablement été soulevées. L'analogie « électrique » que propose Bouhot relève d'un certain pragmatisme expérimental, mais prend difficilement en compte les aspects dynamiques d'une épidémie. Il définit l'unité de potentiel infectieux du sol (UPI) comme la quantité d'énergie pathogène nécessaire et suffisante pour induire une infection sur un hôte sensible. Considérant qu'une quantité donnée de sol contient d'autant plus d'UPI que son potentiel infectieux est plus élevé, il suggère que le volume de sol minimum nécessaire pour provoquer la mortalité de 50 % des plantes sensibles, dans les conditions les plus favorables à la maladie, correspond à une unité standard de potentiel infectieux, appelée UPI50 (Bouhot, 1980 ; Bouhot & Joannes, 1983). De tels volumes de sol sont mesurables aux moyens de tests biologiques. Selon Davet (1996), la méthode du potentiel infectieux convient essentiellement aux agents de fontes de semis (*Pythium* sp., *Rhizoctonia solani*). Le problème posé par le concept est en effet que, dans la majorité des pathosystèmes telluriques, la quantité d'énergie pathogène nécessaire à une infection est une composante « dynamique » qui évolue au cours d'une épidémie.

Figure I-5 Les différentes composantes du potentiel infectieux selon l'école française (d'après Rouxel, données non publiées).



évoquées dans le paragraphe précédent - et le besoin de « mesurer quelque chose ». Malgré son caractère fédérateur au sein d'une partie de la communauté scientifique, la notion semble avoir atteint ses limites. Exposons maintenant quelques-unes des raisons pour lesquelles l'étude des maladies telluriques, en particulier le cavity spot, ne peut se contenter d'une simple estimation de potentiel infectieux, pourtant à l'origine d'importantes avancées méthodologiques. Le concept ne prend en compte ni les aspects dynamiques d'une épidémie ni ses processus infectieux spécifiques : un sol contenant très peu d'inoculum viable et des plantes malades peut par exemple provoquer de fortes attaques par le biais de contaminations entre racines. Il est préférable de travailler sur la « densité d'inoculum », difficile d'accès en pratique malgré les progrès des techniques de détection, mais valorisable dans une perspective de modélisation. Le potentiel d'inoculum a également un sens trop imprécis : un « potentiel » fait référence à une action ou un pouvoir, alors qu'une « densité » décrit une situation et ne préjuge pas des mécanismes qui peuvent en résulter. L'objectif recherché serait d'évaluer une densité d'inoculum de façon à estimer un potentiel infectieux moyen (qui détermine à un instant donné le niveau de maladie potentiellement accessible), sous réserve que les autres facteurs n'évoluent pas au cours du temps. Or, d'un point de vue prévisionnel, pour des champignons tels que les *Pythium*, il faut attacher autant d'importance aux conditions écologiques favorables à leur développement qu'à leur densité d'inoculum initiale (Garrett, 1956 ; Geypens, 1974).

Comme nous l'avons vu, le potentiel infectieux n'est pas adapté à la formalisation de processus épidémiologiques. Il reste un concept trop statique, un élément utile pour évaluer de façon empirique l'état sanitaire d'un sol à un instant donné, mais qui ne peut apporter de nouvelles connaissances sur le fonctionnement du pathosystème, même si la décomposition en termes élémentaires relève de l'Epidémiologie (Figure I-5). Estimer un potentiel infectieux a longtemps été considéré comme un pré-requis ; nous estimons que c'est une notion fonctionnelle seulement parce qu'elle relève de la méthodologie et de l'expérience.

3.3. L'épidémiologie théorique appliquée à l'étude des maladies d'origine tellurique : de Van der Plank à Gilligan

Une première approche de la modélisation en Epidémiologie Végétale consiste à concevoir un modèle théorique, considéré comme un outil permettant de prédire le comportement d'un système (Van der Plank, 1963). Ce point de vue laisse souvent croire qu'il n'est pas nécessaire de se focaliser sur des processus particuliers pour connaître les déterminants du système, en l'occurrence une épidémie. La théorie laisse en réalité croire cela au théoricien, parfois peu enclin à la pratique ou à l'expérience au sens de Legay (1997). Cette approche de la modélisation se base sur une vision globale du système, empirique dans le sens où ce qui est modélisé doit

avoir été observé, mais sans chercher à savoir le « pourquoi » fonctionnel de l'observation. L'existence d'une série d'évènements suffit à établir leur importance. La seconde approche que l'on pourrait qualifier de « mécaniste », ou « phénoménologique » pour reprendre le terme employé par Savary (comm. pers.), se base sur les mécanismes observés, qu'ils résultent d'un processus biologique particulier ou correspondent à un effet générique résultant de plusieurs. Elle permet d'évaluer la connaissance acquise sur les processus élémentaires qui animent le système étudié (l'épidémie telle qu'elle se déroule), et ainsi, de le comprendre et le formaliser. Cette démarche prend tout son sens pour des épidémies au cours desquelles plusieurs processus infectieux se manifestent, éventuellement de façon concomitante, alors que les mécanismes *sensu stricto* restent identiques²⁸. Cette approche de la modélisation se base sur la preuve de l'existence d'un processus par l'expérience (Legay, 1997).

Les niveaux d'intégration des deux approches sont différents. La première démarche se pose à l'échelle d'une épidémie, considérée comme un ensemble de processus, accessible à l'observation sans dégradation uniquement dans son ensemble : elle permet de comprendre et modéliser par ce que l'on prédit, à partir d'un modèle théorique plus ou moins empirique. La seconde démarche se pose à l'échelle des processus, généralement accessibles à l'expérimentation : elle permet de comprendre parce que l'on effectue la synthèse de phénomènes élémentaires, assimilables à un ou plusieurs mécanismes, et quantifiables. Nous nous rallions à cette approche.

Pour certains épidémiologistes, il n'existe d'épidémies que polyétiques (Savary, comm. pers.). La prise en compte de cette réalité, si elle est acceptée, peut s'accompagner de progrès importants pour la compréhension des structures spatio-temporelles, des co-structurations d'hôtes et de pathogènes, du rôle de l'inoculum primaire du sol, et des modalités de contrôle des maladies. L'évolution d'une partie de la communauté des épidémiologistes, qui a intégré les avancées proposées par Van der Plank (1963) et Zadoks & Schein (1979), s'est faite dans les années 80 avec les travaux de Pfender (1982) et Gilligan (1983). Le siècle écoulé n'a pas totalement fait le lien entre épidémiologistes « expérimentaliens » adeptes du « tout potentiel infectieux », tirillés entre empirisme et expérimentation, et les épidémiologistes

²⁸ Un processus est défini comme un ensemble de phénomènes, conçu comme actif et organisé dans le temps. Un mécanisme est une combinaison, un agencement de pièces ou d'organes montés en vue d'un fonctionnement d'ensemble (Le Petit Robert, 2003). Un exemple concret permet d'explicitier la distinction que nous faisons entre les deux termes. Dans le cas d'infections entre plantes, les contaminations peuvent se produire à partir d'organes situés sur un même individu (on parle d'auto-infection) ou situés sur des individus voisins (on parle alors d'allo-infection). Dans ce cas, il s'agit de processus élémentaires différents. Les facteurs impliqués dans la contamination ne sont pas les mêmes ; la distance entre plantes ou l'architecture du peuplement influence par exemple assez peu les auto-infections. Pourtant, le mécanisme est par nature identique, car l'origine biologique des infections est la même : une lésion (Willoquet & Savary, 2004) (voir compléments au Chapitre VII p. 254).

« dynamiciens », mêlant approche mécaniste et théorie. Les travaux de Gilligan, exemples typiques d'approche phénoménologique, ont révolutionné l'analyse, la formalisation et la modélisation des épidémies telluriques. Une épidémie n'est pas considérée comme suivant un seul processus infectieux, mais comme pouvant en suivre au moins deux : par exemple, des infections primaires à partir de l'inoculum du sol et des infections secondaires à partir de tissus infectés capables de contaminer à leur tour des tissus sains situés à proximité.

3.4. Dynamiques épidémiques et modèles déterministes

3.4.1. Approches phénoménologiques simples : modélisation de courbes « doubles sigmoïdes »

3.4.1.1. Le modèle logistique de Verhulst-Ricatti

Les variations en fonction du temps de l'effectif d'une population isolée et placée en conditions non limitantes sont classiquement représentées par l'équation différentielle de Verhulst, reprise par Van der Plank (1963) en Epidémiologie Végétale :

$$\frac{dN(t)}{dt} = \alpha N(t) \quad (6)$$

En intégrant cette équation, on obtient :

$$N(t) = N_0 e^{\alpha t} \quad (7)$$

où N représente le nombre d'individus au temps t , N_0 l'effectif à l'instant $t_0 = 0$ et α le taux intrinsèque d'accroissement naturel (Dajoz, 1974).

L'hypothèse « α constant » est irréaliste car le taux intrinsèque d'accroissement dépend le plus souvent de l'effectif de la population, dont le développement de type exponentiel ne peut être maintenu à l'infini. Dans la population considérée, suivant l'hypothèse de Quételet (1836) et Verhulst (1838), α diminue donc proportionnellement à l'effectif. Le taux d'accroissement réel R est alors une fonction linéaire de N , donné par $R = \alpha - cN$; pour chaque individu ajouté à la population, le taux d'accroissement est réduit d'une constante c . La population N tend alors vers une constante appelée capacité limite (*carrying capacity*) et notée κ , atteinte lorsque R est nul. Une des causes de cette variation de α en fonction de N est par exemple que la quantité de nourriture (ou ressource) est toujours limitée.

L'équation résultant de ces hypothèses, également appelée équation de Verhulst-Ricatti (ou Pearl-Verhulst), est la suivante :

$$\frac{dN(t)}{dt} = (\alpha - cN(t))N(t) = \alpha N(t) \left(1 - \frac{N(t)}{\kappa} \right) \quad (8)$$

L'intégrale correspondante, équation du modèle logistique, est classiquement de la forme :

$$N(t) = \frac{\kappa}{1 + e^{(-\alpha t - \beta)}} \quad (9)$$

Ce modèle correspond au modèle déterministe SIR²⁹ proposé par Kermack & McKendrick (1927). Il décrit l'accroissement d'une population dite logistique en faisant l'hypothèse que son développement est de type exponentiel lorsque $N(t) \ll \kappa$, jusqu'à ce que cette croissance ralentisse à l'approche de la capacité limite κ . L'équation prévoit que la population tende vers un effectif stationnaire de façon asymptotique, β étant un paramètre d'ajustement local permettant de caler le modèle en fonction du temps. On définit le point médian au temps t_m lorsque $N(t_m) = \kappa/2$, donné par la forme $t_m = -\beta/\alpha$, qui correspond au point d'inflexion de la courbe. Celle-ci est symétrique, de type sigmoïde, familièrement appelée « courbe en S » (Meyer, 1994) (Figure I-6).

Par la suite, l'équation logistique sera utilisée sous la forme :

$$N(t) = \frac{\kappa}{1 + e^{(-\alpha(t-t_m))}} \quad (10)$$

Le modèle logistique introduit par Verhulst-Ricatti (1838) est à la base de nombreuses études en dynamique des populations et de la majorité des modèles développés en Epidémiologie Végétale (Van der Plank, 1963 ; Zadoks & Schein, 1979).

3.4.1.2. Le modèle bi-logistique emboîté de Meyer & Ausubel : un modèle mécaniste simple utilisé par les démographes énoncé sous la théorie du changement technologique

Dans la nature, certains processus de développement sont caractérisés par des phases de croissance distinctes, chacune déterminée par un certain taux d'accroissement. Les courbes en résultant ont classiquement une forme de « double sigmoïde » avec un point d'équilibre intermédiaire (point d'inflexion avec asymptote

²⁹ SIR pour *Susceptible* (individu sain mais susceptible de contracter la maladie), *Infected* (individu infecté et potentiellement contagieux) et *Retired* (individu retiré du système, c'est-à-dire mort ou ayant acquis une immunité définitive le rendant non sensible et non contagieux).

horizontale). L'existence de paliers, matérialisant les étapes clés d'une cinétique, est un élément propre à de nombreux phénomènes populationnels et démographiques. C'est ce que l'on observe avec le modèle de Verhuslt-Ricatti lorsque la capacité limite du système change subitement au cours de la période de croissance : une seconde phase de croissance logistique induite par une augmentation de la capacité limite se surimpose à la première.

A titre didactique, nous développons ici l'analyse de Meyer et Ansubel (1999) portant sur l'évolution de la population humaine de l'Angleterre de 1541 à 1975 et du Japon de 1100 à 1992. Cette étude démographique est basée sur le principe selon lequel la capacité limite d'une société humaine est fixée par son niveau courant de technologie, lequel est sujet au changement (Meyer, 1994). Le modèle proposé est une extension du modèle logistique simple tendant vers une capacité limite évoluant après l'apparition d'un nouveau « mécanisme », qui, dans le cas des deux populations étudiées, correspond à la diffusion de nouvelles techniques. Cette théorie a été proposée par d'autres démographes, en particulier pour l'analyse de la croissance de la population humaine depuis ses origines sur terre : la trajectoire démographique met en évidence trois périodes de croissance correspondant respectivement à l'invention des outils, de l'agriculture et à la révolution scientifique et industrielle (Deevey, 1960). Afin d'expliquer et de modéliser des changements de ce type, les démographes suggèrent que la capacité limite augmente avec le temps : des vagues d'innovation, illustrées par l'apparition de nouvelles technologies (Meyer, 1994), changent la façon dont sont produites ou transformées les ressources et modifient la capacité limite dont la valeur dépend de ces mêmes ressources (Hopfenberg, 2003).

En notant $\kappa(t)$ la capacité limite de la population au temps t (jusqu'à présent supposée constante et égale à κ), une trajectoire démographique peut être modélisée par l'équation logistique modifiée :

$$N(t) = \frac{\kappa(t)}{1 + e^{(-\alpha(t-t_m))}} \quad (11)$$

où $N(t)$ est l'effectif de la population au temps t , α le paramètre correspondant au taux de croissance.

Coleman (1979) a étudié des formes générales de cette équation et déterminé quelques propriétés mathématiques particulières. Des modèles pour lesquels $\kappa(t)$ augmente de façon sinusoïdale, exponentielle, linéaire (Banks, 1994), ou est elle-même une fonction de la population $N(t)$ (Cohen, 1995), ont été proposés. Dans le modèle de Meyer & Ausubel (1999), la capacité limite $\kappa(t)$ est une fonction logistique :

Figure I-6 Modèles logistique et bi-logistique.

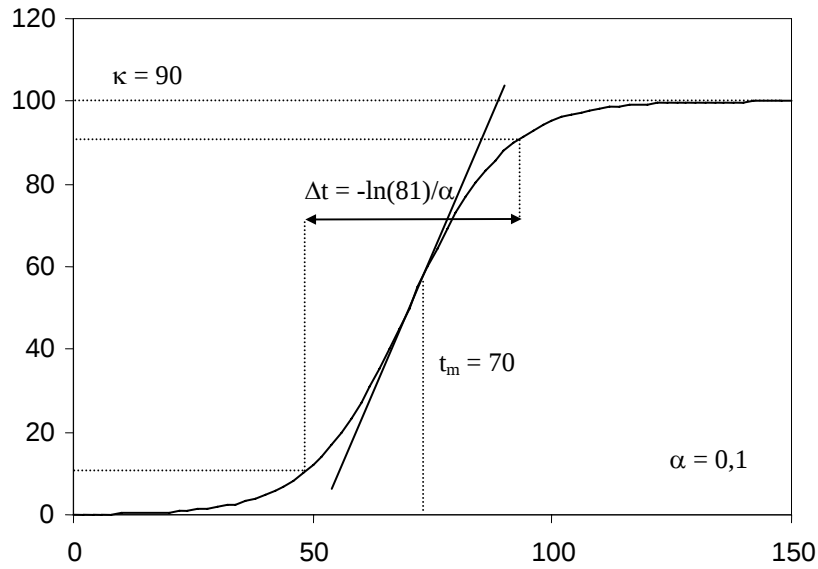
A - Courbe logistique. **B** - Courbe bi-logistique (modèle de Hau & Amorim) obtenue à partir d'un accroissement logistique de la capacité limite $\kappa(t)$.

a : $\kappa_1 = 5$; $\kappa_2 = 85$; $\alpha_1 = 0,1$; $t_{m1} = 30$; $\alpha_2 = 0,1$; $t_{m2} = 100$

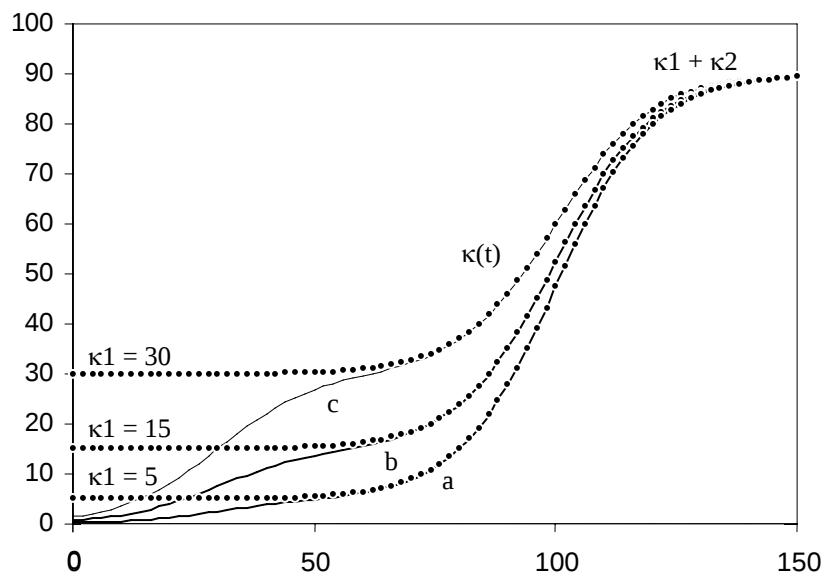
b : $\kappa_1 = 15$; $\kappa_2 = 75$; $\alpha_1 = 0,1$; $t_{m1} = 30$; $\alpha_2 = 0,1$; $t_{m2} = 100$

c : $\kappa_1 = 30$; $\kappa_2 = 60$; $\alpha_1 = 0,1$; $t_{m1} = 30$; $\alpha_2 = 0,1$; $t_{m2} = 100$

A



B



$$\frac{d\kappa(t)}{dt} = \alpha_{\kappa} \kappa(t) \left(1 - \frac{\kappa(t)}{\kappa_{\kappa}} \right) \quad (12)$$

En considérant qu'un certain « mécanisme » se met en place alors que la capacité limite est initialement égale à un potentiel initial κ_1 non nul, et que la capacité limite liée à l'achèvement de ce même mécanisme vaut κ_2 , nous aboutissons à l'équation suivante :

$$\frac{d\kappa(t)}{dt} = \alpha_{\kappa} (\kappa(t) - \kappa_1) \left(1 - \frac{(\kappa(t) - \kappa_1)}{\kappa_2} \right) \quad (13)$$

Cette équation différentielle a pour solution analytique :

$$\kappa(t) = \kappa_1 + \frac{\kappa_2}{1 + e^{(-\alpha_{\kappa}(t - t_{m\kappa}))}} \quad (14)$$

où $t_{m\kappa}$ est le point médian (ou point d'inflexion) de la courbe.

Les conséquences de l'adoption de nouveaux mécanismes ou processus (changement de référentiel, de technique ou de régulation sociale) sont modélisées par une croissance bi-logistique. La trajectoire globale est basée sur l'emboîtement de deux cinétiques de croissance logistique, engendrant deux capacités limites théoriques. Le taux d'adoption est tout d'abord faible, correspondant à la période au cours de laquelle un nouveau processus remplace le précédent (Fisher & Pry, 1971 ; Meyer & Ansubel, 1999) ; ce taux d'adoption augmente ensuite jusqu'à ce que de nouvelles barrières physiques limitent à leur tour le processus. Dans le premier des deux exemples cités précédemment, un premier palier est atteint au milieu du XVIIIe siècle en Angleterre et à la fin du XIXe au Japon. Par analogie, la capacité limite $\kappa(t)$ peut être considérée d'un point de vue épidémiologique comme l'intensité maximale d'une maladie : taux de parcelles contaminées à l'échelle d'une région (prévalence), fréquence de plantes malades à l'échelle d'une parcelle (incidence) ou pourcentage de surface nécrosée sur un organe (sévérité). Cette capacité limite est donc habituellement égale à 100 %. L'estimation est exacte si on s'intéresse à une épidémie non limitée dans le temps et sans agrégation spatiale initiale ; souvent, le fait qu'un cycle de culture se termine par une rupture (récolte) ou que la plante se développe intrinsèquement plus vite que la maladie ne progresse (apparition de nouveaux organes), n'implique pas que la capacité limite soit égale à 100 %.

3.4.1.3. Les modèles généralisés de Hau & Amorim : cas particuliers de modèles empiriques multi-fonctions

En Phytopathologie, des cinétiques de maladie « doubles sigmoïdes » ont été décrites pour plusieurs agents pathogènes, dont certains d'origine tellurique³⁰ : *Verticillium dactylophilum* sur pin (Lackner & Alexander, 1984), *Phytophthora capsici* sur poivre (Bowers *et al.*, 1990), *Sclerotinia sclerotiorum* sur tournesol (Huang & Kozub, 1990) et *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici* sur blé (Bailey & Gilligan, 1999).

Hau et Amorim ont proposé l'ajustement de plusieurs modèles à des cinétiques de maladie. Des fonctions capables de décrire des courbes doubles sigmoïdes ont été analysées. Quatre de ces fonctions correspondent à la somme de deux équations simples : modèle logistique + modèle logistique, modèle de Gompertz³¹ + modèle de Gompertz, modèle monomoléculaire + modèle logistique, modèle monomoléculaire + modèle de Gompertz (Hau & Kranz, 1990 ; Hau *et al.*, 1993). Des modèles dits « généralisés » (basés sur les modèles logistique, monomoléculaire, ou de Gompertz, auxquels est emboîté un polynôme de degré 3) (Pearl & Reed, 1925) ont également été évalués par Amorim *et al.* (1993) à partir de données sur le charbon de la canne à sucre due à *Ustilago scitaminea*.

Nous avons choisi de nous concentrer sur le modèle bi-logistique présenté sous sa forme emboîtée - autre forme du modèle de Meyer & Ausubel (1999) - que nous dénommons modèle de Hau & Amorim (Figure I-6) :

$$N(t) = \frac{\kappa_1}{1 + e^{(-\alpha_1(t-t_{m1}))}} + \frac{\kappa_2}{1 + e^{(-\alpha_2(t-t_{m2}))}} \quad (15)$$

Il est possible de linéariser cette équation en procédant au changement de variable de Fisher-Pry $F = N_i(t)/\kappa_i$, qui aboutit à l'équation :

$$\frac{F}{1-F} = e^{(\alpha_{\kappa}(t-t_m))} \quad (16)$$

A partir de cette relation, en représentant les données sur un graphique approprié, on accède par une régression linéaire à une estimation de $\alpha_{\kappa 1}$, $\alpha_{\kappa 2}$, t_{m1} et t_{m2} . Le positionnement des deux droites de régression l'une par rapport à l'autre est à la base de la taxonomie des courbes bi-logistiques proposée par Meyer (1994). Les deux droites peuvent être séquentielles, superposées, convergentes ou divergentes.

³⁰ Voir Chapitre IV p. 191.

³¹ Modèle basé sur un taux de mortalité qui augmente de façon linéaire avec l'effectif de la population.

Chaque cas est spécifique d'un certain type de trajectoire, illustrant de façon plus ou moins explicite le caractère « bi-logistique » d'une dynamique.

3.4.2. Confrontation de l'expérience à des concepts d'épidémiologie théorique : le modèle de Brassett & Gilligan

3.4.2.1. Concomitance d'infections primaires et d'infections secondaires

Une population est constituée d'individus *lato sensu* : il peut s'agir d'un nombre de plantes, mais aussi d'un nombre ou d'une surface de sites sur une racine. L'effectif de ces deux dernières unités populationnelles, directement affectées par la maladie, est noté de façon générique i , celui correspondant à la totalité des unités étant notée n . La vitesse de développement de l'épidémie dépend de la quantité d'inoculum à partir duquel se propage la maladie, du taux d'infection et du nombre d'unités restant à infecter égal à $n - i$ (nombre de racines saines, nombre de sites ou surface de tissus encore sains) (Van der Plank, 1963). Si l'intensité d'une épidémie d'origine tellurique est en grande partie liée à la quantité d'inoculum efficace (estimé par le potentiel infectieux d'un sol, au sens de l'école française), il est probable que la source d'inoculum efficace ne se résume pas à celle contenu dans le sol au moment de l'implantation de la culture, à l'origine de cycles d'infection primaires. Des cycles d'infection secondaires sont envisageables, à partir de lésions déjà existantes.

Deux sources d'inoculum peuvent ainsi être définies :

- l'inoculum primaire du sol, sous forme de filaments mycéliens, d'oospores ou de zoospores, et l'inoculum contenu dans les résidus de carottes après un cycle de culture (racines non récoltées, fragments de tissus nécrosés), désignés par la suite par la quantité p .
- l'inoculum secondaire présent sur des racines attaquées, dont le potentiel dépend du nombre de lésions ou de leur surface.

Puisqu'il est conceptuellement possible de distinguer deux sources d'inoculum (et donc au moins deux processus infectieux élémentaires), il n'existe pas un taux unique de réussite des infections, mais un taux correspondant à chaque source d'inoculum. On désigne par r_1 le taux intrinsèque d'infection primaire et par r_2 le taux intrinsèque d'infection secondaire. La vitesse de développement de l'épidémie di/dt s'écrit alors sous la forme d'une équation différentielle (Van der Plank, 1963 ; Brassett & Gilligan, 1988) basée sur le modèle logistique de Verhulst :

$$\frac{di}{dt} = (r_1 p + r_2 i)(n - i) \quad (17)$$

Le nombre d'individus n peut être considéré comme constant dès lors que l'on s'intéresse à un nombre de racines ou de plantes (en faisant l'hypothèse que la

densité de peuplement est définie dès la levée, supposée rapide et homogène, et que la mortalité est négligeable). Il est variable lorsque l'on s'intéresse à un nombre de sites ou une surface de tissus (évoluant au rythme de la croissance racinaire). Nous posons alors $y = i/n$, ce qui conduit à l'équation :

$$\frac{dy}{dt} = (r_1p + r_2ny)(1 - y) \quad (18)$$

où y est une proportion d'individus malades, c'est-à-dire une incidence à l'échelle du peuplement (taux de racines attaquées) ou une sévérité à l'échelle d'une racine (taux de sites sains ou de surface nécrosée)³².

Pour simplifier l'écriture, nous reprendrons les simplifications proposées par Colbach (1995) en posant $c_1 = r_1p$ et $c_2 = r_2n$, en faisant l'hypothèse que n est constant :

$$\frac{dy}{dt} = (c_1 + c_2y)(1 - y) \quad (19)$$

L'intégration de cette équation, sous la condition initiale $t = 0$ et $y = 0$, conduit à la fonction suivante :

$$y = \frac{1 - e^{-(c_1 + c_2)t}}{1 + \left(\frac{c_2}{c_1}\right)e^{-(c_1 + c_2)t}} \quad (20)$$

où c_1 est le paramètre associé aux infections primaires, c_2 celui associé aux infections secondaires, t la somme de températures depuis le semis.

Cette équation est une fonction continue, de forme sigmoïde asymétrique, allant de $y = 0$ pour $t = 0$ à $y = 1$ (ou $y_{\max} < 1$ lorsque l'intensité d'attaque maximale n'est pas égale à 100 %) lorsque t tend vers l'infini. La comparaison des valeurs de c_1 et c_2 n'est pas directement possible puisque ces deux paramètres ne sont pas de même nature ; le premier résulte de la multiplication d'un taux d'infection par une quantité d'inoculum alors que le second résulte de la multiplication d'un taux d'infection avec un nombre de plantes.

³² Le choix de la variable de sortie la plus pertinente dans le cas d'une épidémie de cavity spot, c'est à dire le descripteur de la population analysée (nombre de racines malades, nombre de lésions, ou surface nécrosée), est discuté au Chapitre II.

3.4.2.2. Décroissance de l'efficacité de l'inoculum au cours du cycle de culture

Une variante du modèle de base proposé par Brassett & Gilligan (1988) intègre une diminution de l'efficacité des infections primaires à partir des propagules présentes dans le sol lors de l'implantation de la culture. Cette décroissance d'efficacité peut être due à une diminution de la densité d'inoculum du sol (capacité de survie limitée) ou à un effet du climat sur la capacité des propagules à infecter l'hôte (évolution des conditions pédo-climatiques au cours de la saison). La réalité d'une telle décroissance n'est plus à démontrer : des résultats portant sur différents agents pathogènes tels que *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici* responsable du piétin échaudage du blé, *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* responsable de la nervation noire des crucifères (Kocks *et al.*, 1998) et de nombreux *Pythium* (Watson, 1966) à l'image de *P. ultimum* responsable de fontes de semis (Hancock, 1981), justifient de faire cette hypothèse *a priori*. L'ampleur du phénomène est en revanche à déterminer pour chaque maladie³³.

$$p(t) = p_0 \cdot e^{-r_d t} \quad (21)$$

où p_0 correspond à la densité d'inoculum initiale (inoculum du sol + inoculum exogène, apporté par exemple par une infestation artificielle), p la densité d'inoculum dans le sol au temps t , r_d le taux de décroissance de l'inoculum et t la somme de températures depuis le semis.

$$r_d = \frac{\ln 2}{D_2V} \quad (22)$$

où D_2V est la demi-vie moyenne d'une propagule infectieuse (exprimée en degrés-jour)

$$\frac{dy}{dt} = (r_1 p_0 \cdot e^{-r_d t} + r_2 n y)(1 - y) \quad (23)$$

A l'origine du modèle de Hau & Amorim est un constat à la fois expérimental et visuel : l'existence de deux dynamiques sigmoïdes emboîtées. Le modèle de Brassett & Gilligan part en revanche d'une théorie, d'un mécanisme conceptuel. De ces deux approches, pourtant assez similaires, découle une différence fondamentale entre les deux modèles : la question de la continuité des processus épidémiologiques et des effets de « transition ». Dans le modèle de Hau & Amorim, la discontinuité des processus est totale, justifiée par l'empirisme : un mécanisme qui succède à l'autre est une base du modèle. Dans le modèle de Brassett & Gilligan, la question de la

³³ En ce qui concerne le cavity spot, la décroissance de l'efficacité de l'inoculum est mise en évidence au Chapitre IV p. 176.

discontinuité est traitée différemment ; les deux processus sont concomitants et l'importance relative de l'un par rapport à l'autre est régulée par le rapport entre les paramètres du modèle à un instant donné : le degré de concomitance est une conséquence du modèle.

Références bibliographiques

- Agreste (2002) Répartition de la production française de carottes en 2002. 7 pp.
- Agrios G (2005) Plant pathology. 5th edition. Elsevier, 922 pp.
- Allain-Boulé N, Lévesque CA, Martinez C, Belanger RR et Tweddell RJ (2004) Identification of *Pythium* species associated with cavity-spot lesions on carrots in eastern Quebec. Canadian Journal of Plant Pathology 26(3): 365-370.
- Allain-Boulé N, Tweddell RJ, Mazzola M, Belanger RR et Lévesque CA (2004) *Pythium attrantheridium* sp. nov.: taxonomy and comparison with related species. Mycological Research 108(7): 795-805.
- Allen RN et Newhook FJ (1973) Chemiotaxis of zoospores of *Phytophthora cinnamomi* to ethanol in capillaries of soil pore dimensions. Transactions of the British Mycological Society 61(2): 287-302.
- Amorim L, Filho AB et Hau B (1993) Analysis of progress curves of sugarcane smut on different cultivars using functions of double sigmoid pattern. Phytopathology 83(9): 933-936.
- Ayers WA et Lumsden RD (1975) Factors affecting production and germination of oospores of three *Pythium* species. Phytopathology 65(10): 1094-1100.
- Bailey DJ et Gilligan CA (1999) Dynamics of primary and secondary infection in take-all epidemics. Phytopathology 89(1): 84-91.
- Baker KF (1965) The dynamics of inoculum. In: Ecology of soil-borne plant pathogens. K. F. Baker and W. C. Snyder, University of California Press, p. 395-403.
- Baldauf SL, Roger AJ, Wenk-Siefert I et Doolittle WF (2000) A kingdom-level phylogeny of eukaryotes based on combined protein data. Science 290: 972-977.
- Banks RB (1994) Growth and diffusion phenomena: mathematical frameworks and applications. Springer-Verlag, Berlin, Germany, 455 pp.
- Benard D et Punja ZK (1995) Role of *Pythium* species in cavity spot development on carrots in British Columbia. Canadian Journal of Plant Pathology 17: 31-45.
- Benjamin LR (1982) Some effects of differing times of seedling emergence, population density and seed size on root-size variation in carrot population. Journal of Agricultural Sciences of Cambridge 98: 537-545.
- Benjamin LR (1987) Variation in plant size and the timing of carrot production. Acta Horticulturae 198: 297-304.
- Benjamin LR (1988) A single equation to quantify the hierarchy in plant size induced by competition within monocultures. Annals of Botany 62(2): 199-214.
- Benjamin LR (1990) Simulating competition between plants using mathematical models and the prospect of predicting marketable yield. Acta Horticulturae 267: 395-400.
- Benjamin LR et Aikman DP (1995) Predicting growth in stands of mixed species from that in individual species. Annals of Botany 76: 31-42.
- Benjamin LR, Hembry JK, Bowtell J, Phelps K et Gray D (1999) Predicting frequency distributions in crops of carrot (*Daucus carota* L.) and red beet (*Beta vulgaris* L.). The Journal of Horticultural Science and Biotechnology 74(2): 259-264.
- Benjamin LR et Sutherland RA (1989) Storage-root weight, diameter and length relationships in carrot (*Daucus carota*) and red beet (*Beta vulgaris*). Journal of Agricultural Science 113(1): 73-80.
- Bleasdale JKA et Thompson R (1963) An objective method of recording and comparing the shapes of carrot roots. Journal of Horticultural Science 38: 232-241.
- Blok I (1970) Pathogenicity of *Pythium sylvaticum*. Netherlands Journal of Plant Pathology 76: 296-298.

- Bouhot D (1980) Le potentiel infectieux des sols. Thèse de Doctorat. Université de Nancy, 142 pp.
- Bouhot D (1981) Induction of biological suppression of *Pythium* in soil by addition of organic matter. *Soil Biology and Biochemistry* 13(4): 269-274.
- Bouhot D et Joannes H (1983) Potentiel infectieux des sols - concepts et modèles. *Bulletin de l'OEPP* 13(2): 291-295.
- Bouillenne R, Kronacher PG et De Roubaix J (1940) Etapes morphologiques et chimiques dans le cycle végétatif de la betterave sucrière. Publication de l'Institut Belge pour l'Amélioration de la Betterave 3: 87-166.
- Bowers JH, Sonoda RM et D.J. M (1990) Path coefficient analysis of the effect of rainfall variables on the epidemiology of *Phytophthora* blight of pepper caused by *Phytophthora capsici*. *Phytopathology* 80: 1439-1446.
- Brassett PR et Gilligan CA (1988) A model for primary and secondary infection in botanical epidemics. *Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz* 95(4): 352-360.
- Breton D, Béasse C, Montfort F et Villeneuve F (2003) Focus on the recent evolution of soil-borne diseases of carrot in France. *Proceeding of the 30th International Carrot Conference*, 7-10 September 2003, Muskegon, USA.
- Breton D, Bosc JP, Levivier S, Villeneuve F, Letouzé P et Rouxel F (1997) La tavelure de la carotte: une maladie racinaire complexe due à des *Pythium* spp. en sols de polders. 5ème Conférence Internationale sur les Maladies des Plantes, 3-5 décembre 1997, 3-4-5 décembre 1997, Tours.
- Breton D, Gomez C et Montfort F (2003) Evaluation of soil infectivity with baiting technique and detection of *P.violae* and *P.ultimum* in bait plants by nested-PCR. *Proceeding of the 30th International Carrot Conference*, 7-10 September 2003, Muskegon, USA.
- Breton D et Rouxel F (1993) Données récentes sur le cavity spot de la carotte en France. *Acta Horticulturae*: 159-170.
- Briard IM (1990) Etude comparée de *Phytophthora megasperma* (Dresch.) et *Pythium violae* (Chest. et Hick.) et de leurs relations avec la plante dans l'expression des symptômes de bague et de cavity-spot sur carotte (*Daucus carota*). Thèse de Doctorat. Université de Rennes 1, Rennes, 119 pp.
- Bruehl GW (1975) Biology and control of soil-borne plant pathogens. The American Phytopathological Society, St Paul, Minnesota, 216 pp.
- Campbell CL et Benson DM (1994) Epidemiology and management of root diseases. Springer-Verlag, Berlin, 344 pp.
- Campion C (1996) Etude comparée des processus infectieux de *Pythium violae*, *P. sulcatum* et *P. ultimum* chez *Daucus carota* L. Rôles des enzymes fongiques et de la paroi végétale dans l'expression du cavity-spot. Thèse de Doctorat. Université de Rennes 1, Rennes, 142 pp.
- Campion C, Massiot P et Rouxel F (1997) Aggressiveness and production of cell wall degrading enzymes by *Pythium violae*, *Pythium sulcatum* and *Pythium ultimum*, responsible for cavity spot of carrot. *European Journal of Plant Pathology* 103(8): 725-735.
- Campion C, Vian B, Nicole M et Rouxel F (1998) A comparative study of carrot root tissue colonization and cell wall degradation by *Pythium violae* and *Pythium ultimum*, two pathogens responsible for cavity spot. *Canadian Journal of Microbiology* 44: 221-230.
- Caneill J, Fleury A et Ferre F (1994) L'élaboration du rendement de la betterave sucrière. In: *Elaboration du rendement des principales cultures annuelles*. L. Combe and D. Picard, INRA Editions, p. 143-153.
- Charron CS et Sams CE (1999) Inhibition of *Pythium ultimum* and *Rhizoctonia solani* by shredded leaves of Brassica species. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 124(5): 462-467.
- Chesters CGC et Hickman CJ (1944) On *Pythium violae* n. sp. and *P. oligandrum* Drechler from cultivated Viola. *Transactions of the British Mycological Society* 27: 55-62.
- Chun D et Lockwood JL (1985) Improvements in assays for soil populations of *Pythium ultimum* and *Macrophomina phaseolina*. *Phytopathologische Zeitschrift* 114(4): 289-294.

- Cohen JE (1995) Population growth and earth's human carrying capacity. *Science* 269: 341-346.
- Cohen Y et Coffey MD (1986) Systemic fungicides and the control of oomycetes. *Annual Review of Phytopathology* 24: 311-338.
- Colbach N (1995) Modélisation de l'influence des systèmes de culture sur les maladies du pied et des racines du blé tendre d'hiver. Thèse de Doctorat. INA P-G, Paris-Grignon, 258 pp.
- Coleman BD (1979) Nonautonomous logistic equations as models of the adjustment of populations to environmental change. *Mathematical Bioscience* 45: 159-173.
- Courchet M (1884) Etude anatomique sur les Ombellifères et sur les principales anomalies de structure que présentent leurs organes végétatifs. *Annales des Sciences Naturelles* 17(6): 107-129.
- Dahal P et Bradford KJ (1994) Hydrothermal time analysis of tomato seed germination at suboptimal temperature and reduced water potential. *Seed Science Research* 4(2): 71-80.
- Dajoz (1974) Dynamique des populations. Masson, 301 pp.
- Davet P (1996) Vie microbienne du sol et production végétale. INRA Editions, 383 pp.
- Davis RM et Nunez JJ (1999) Influence of crop rotation on the incidence of *Pythium* and *Rhizoctonia* induced carrot root dieback. *Plant Disease* 83(2): 146-148.
- Davison EM et McKay AG (1998) *Pythium* spp. associated with cavity spot of carrots in Western Australia. *Australasian Plant Pathology* 27: 163-168.
- Davison EM et McKay AG (2000) Cavity spot in Australia. Carrot Conference Australia, 25-27 October 2000, Perth, Western Australia.
- Davison EM et McKay AG (2003) Host range of *Pythium sulcatum* and the effects of rotation on *Pythium* diseases of carrots. *Australasian Plant Pathology* 32: 339-346.
- Deacon JW et Mitchell RT (1985) Toxicity of oat roots, oat root extracts, and saponins to zoospores of *Pythium* spp. and other fungi. *Transactions of the British Mycological Society* 84(3): 479-487.
- Deevey ES (1960) The human population. *Scientific American* 203: 195-204.
- Dekock PC, Hall A et Inkson RHE (1981) Cavity spot of carrots. *Anales de Edafologia y Agrobiologia* 40(1/2): 307-316.
- Dick MW (1990) Keys to *Pythium*. Reading, 64 pp.
- Dimond AE (1941) Measuring inoculum potential and coverage index of sprays. *Phytopathology* 31: 7.
- Dimond AE et Horsfall JG (1960) Prologue - Inoculum and the diseased plant. *In: Plant pathology, an advanced treatise*. A. E. Dimond and J. G. Horsfall, Academic Press, New York & London, p. 1-22.
- Dimond AE et Horsfall JG (1965) The theory of inoculum. *In: Ecology of soil-borne plant pathogens*. K. F. Baker and W. C. Snyder, University of California Press, p. 404-415.
- Ehler LE et Bottrell DG (2000) The illusion of integrated pest management. *Issues in Science and Technology* online. <http://www.issues.org/issues/16.3/ehler.htm> [consulté le 29 août 2005]. 61-64.
- El-Tarabily KA, Hardy GESJ et Sivasithamparam K (1996) Association of *Pythium coloratum* and *Pythium sulcatum* with cavity spot disease of carrots in Western Australia. *Plant Pathology* 45(4): 727-735.
- Esau K (1940) Developmental anatomy of the fleshy storage organ of *Daucus carota*. *Hilgardia* 13(5): 175-226.
- Estrada-Garcia T, Ray TC et Green JR (1990) Encystment of *Pythium aphanidermatum* zoospores is induced by root mucilage polysaccharides, pectin and a monoclonal antibody to a surface antigen. *Journal of Experimental Botany* 41: 693-699.
- FAO (2002) FAO Yearbook Production Statistics.
- Ferron P (2000) Bases écologiques de la protection des cultures: gestion des populations et aménagement de leurs habitats. *Courrier de l'Environnement de l'INRA* 41: 33-41.
- Fisher JC et Pry RH (1971) A simple substitution model of technological change. *Technological Forecasting and Social Change* 3: 75-88.
- Garrett SD (1956) Biology of root-infecting fungi. Cambridge University Press, London, 292 pp.

- Garrett SD (1960) Inoculum potential. *In: Plant pathology, an advanced treatise*. J. G. Horsfall and A. E. Dimond, Academic Press, London, p. 23-57.
- Garrett SD (1970) Pathogenic root-infecting fungi. Cambridge University Press, London, 294 pp.
- Geypens M (1974) Inoculum potential of soil-borne plant pathogenic fungi: problems encountered in analysis and significance in epidemiology. *Agro-Ecosystems* 1(2): 177-192.
- Gilligan CA (1983) Modeling of soilborne pathogens. *Annual Review of Phytopathology* 21: 45-64.
- Gilligan CA (1985) Probability models for host infection by soilborne fungi. *Phytopathology* 75(1): 61-67.
- Goh KM et Ali NS (1983) Effects of nitrogen fertilisers, calcium and water regime on the incidence of cavity spot in carrot. *Fertilizer Research* 4(3): 223-230.
- Gold SE et Stanghellini GM (1985) Effects of temperature on *Pythium* root rot of spinach grown under hydroponic conditions. *Phytopathology* 75: 333-337.
- Gomez C (2001) Validation d'une méthode de détection directe dans la plante, par nested-PCR, de *Pythium violae* et *Pythium ultimum*, agents du cavity spot de la carotte. Rapport de stage de DAA. 25 pp.
- Grainger J (1956) Host nutrition and attack by fungal parasites. *Phytopathology* 46: 445-456.
- Green CD et Makin T (1985) Soil-borne transmission of cavity spot of carrots, grown in north Lincolnshire for processing. *Crop Protection* 4(3): 351-358.
- Green H et Jensen DF (2000) Disease progression by active mycelial growth and biocontrol of *Pythium ultimum* var. *ultimum* studied using a rhizobox system. *Phytopathology* 90(9): 1049-1055.
- Groom MR et Perry DA (1985a) The epidemiology and control of cavity spot of carrots. Annual report, Scottish Crop Research Institute. 132 pp.
- Groom MR et Perry DA (1985b) Induction of 'cavity spot like' lesions in roots of *Daucus carota* by *Pythium violae*. *Transactions of the British Mycological Society* 84: 755-758.
- Guba EF, Young RE et UI T (1961) Cavity spot disease of carrots and parsnip roots. *Plant Disease Reporter* 45: 102-105.
- Guerin L (1993) Analyse de la diversité des *Pythium* spp. impliqués dans le cavity spot de la carotte et étude des relations hôte-parasite en vue de la sélection variétale pour la résistance. Thèse de Doctorat. Université de Rennes 1, Rennes, 101 pp.
- Guerin L, Briard M et Rouxel F (1994) Biochemical characterisation of *Pythium* spp. involved in cavity spot of carrots in France. *Annals of Applied Biology* 125: 255-265.
- Hack H, Bleiholder H, Buhr L, Meier U, Schnock-Fricke U, Weber E et Witzemberger A (1992) A uniform code for phenological growth stages of mono- and dicotyledonous plants. Extended BBCH scale, general. *Nachrichtenblatt des Deutschen Pflanzenschutzdienstes* 44(12): 265-270.
- Hancock JG (1981) Longevity of *Pythium ultimum* in moist soils. *Phytopathology* 71(10): 1033-1037.
- Hau B, Amorim L et Filho AB (1993) Mathematical functions to describe disease progress curves of double sigmoid pattern. *Phytopathology* 83(9): 928-932.
- Hau B et Kranz J (1990) Mathematics and statistics for analysis in epidemiology. *In: Epidemics of plant diseases. Mathematical analysis and modelling*. J. Kranz, Springer-Verlag, Berlin, p. 12-52.
- Havis L (1939) Anatomy of the hypocotyl and roots of *Daucus carota*. *Journal of Agricultural Research* 58(8): 557-566.
- Hendrix FF et Campbell WA (1973) *Pythium* as plant pathogens. *Annual Review of Phytopathology* 11: 77-98.
- Hendrix FF et Papa KE (1974) Taxonomy and genetics of *Pythium*. Symposium on the genus *Pythium*. Annual Meeting of the American Phytopathological Society.
- Heywood VH (1983) Relationships and evolution in the *Daucus carota* complex. *Israelian Journal of Botany* 32: 51-65.
- Hiltunen LH et White JG (2002) Cavity spot of carrot (*Daucus carota*). *Annals of Applied Biology* 141: 201-223.

- Hopfenberg R (2003) Human carrying capacity is determined by food availability. *Population and Environment* 25(2): 109-117.
- Hoppe PE (1966) *Pythium* species still viable after 12 years in air-dried muck soil. *Phytopathology* 65: 1411.
- Hornby D (1990) Biological control of soil-borne plant pathogens. CAB International, 479 pp.
- Hornby D, Bateman GL, Gutteridge RJ, Lucas P, Osbourne AE, Ward E et Yarham DJ (1998) Take-all disease of cereals, a regional perspective. CAB International, 384 pp.
- Horsfall (1932) Dusting tomato seed with copper sulfate monohydrate for combining damping-off. New York State Agricultural Experiment Station Technical Bulletin 198: 1-34.
- Howard RJ, Pratt RG et Williams PH (1978) Pathogenicity to carrots of *Pythium* species from organic soils of North America. *Phytopathology* 68(9): 1293-1296.
- Huang HC et Kozub GC (1990) Cyclic occurrence of Sclerotinia wilt of sunflower in western Canada. *Plant Disease* 74: 766-770.
- Huber DM et Watson RD (1970) Effect of organic amendment on soil-borne plant pathogens. *Phytopathology* 60: 22-26.
- Jacobsohn R, Zutra D, Dan H et Kelman Y (1984) Studies of carrot cavity spot. *Journal of Horticultural Science* 59: 529-535.
- Jeger MJ (2000) Theory and plant epidemiology. *Plant Pathology* 49(6): 651-658.
- Kageyama K, Ohya A et Hyakumachi M (1997) Detection of *Pythium ultimum* using polymerase chain reaction with species-specific primers. *Plant Disease* 81(10): 1155-1160.
- Kalu NN, Sutton JC et Vaartaja O (1976) *Pythium* spp. associated with root dieback of carrot in Ontario. *Canadian Journal of Plant Science* 56: 555-561.
- Kao CW et Ko WH (1986) The role of calcium and microorganisms in suppression of cucumber damping-off caused by *Pythium splendens* in a Hawaiian soil. *Phytopathology* 76(2): 221-225.
- Kermack WO et McKendrick AG (1927) A contribution to the mathematical theory of epidemics. *Proceedings of the Royal Society of London* 115: 700-721.
- Ko WH et Kobayashi N (1985) *Pythium splendens*-suppressive soils from different islands of Hawaii. 17: 889-891.
- Kocks CG, Ruissen MA, Zadoks JC et Duijkers MG (1998) Survival and extinction of *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* in soil. *European Journal of Plant Pathology* 104(9): 911-923.
- Krzesinski W et Knaflowski M (2004) Preliminary model of carrot growth. *Acta Horticulturae* 654: 235-241.
- Lackner AL et Alexander SA (1984) Incidence and development of *Verticillium dahliae* in Virginia Christmas tree plantations. *Plant Disease* 68: 210-212.
- Legay JM (1997) L'expérience et le modèle. INRA Editions, 112 pp.
- Leipe DD, Wainright PO, Gunderson JH, Porter D, Patterson DJ, Valois F, Himmerich S et Sogin ML (1994) The stramenopiles from a molecular perspective: 16S-like rRNA sequences from *Labyrinthuloides minuta* and *Cafeteria roenbergensis*. *Phycologia* 33: 369-377.
- Lévesque CA et De Cock AWAM (2004) Molecular phylogeny and taxonomy of the genus *Pythium*. *Mycological Research* 108(12): 1363-1383.
- Lewis JA et Lumsden RD (1984) Reduction of preemergence damping-off of peas caused by *Pythium ultimum* with calcium oxide. *Canadian Journal of Plant Pathology* 6: 227-232.
- Lewis JA et Papavizas GC (1971) Effect of sulfur containing volatile compounds and vapors from cabbage decomposition on *Aphanomyces euteiches*. *Phytopathology* 61: 208-214.
- Li B, Watkinson AR et Hara T (1996) Dynamics of competition in populations of carrot (*Daucus carota*). *Annals of Botany* 78: 203-214.
- Liddell CM, Davis RM, Nunez JJ et Guerand JP (1989) Association of *Pythium* spp. with carrot root diseases in the San Joaquin Valley of California. *Plant Disease* 73(3): 246-248.

- Lievens B, Brouwer M, Vanachter ACRC, Lévesque CA, Cammue BPA et Thomma BPHJ (2005) Quantitative assessment of phytopathogenic fungi in various substrates using a DNA microarray. *Environmental Microbiology* 7(11): 1698-1710.
- Lifshitz R et Hancock JG (1983) Saprophytic development of *Pythium ultimum* in soil as a function of water matric potential and temperature. *Phytopathology* 73: 257-261.
- Lin YS et Lo CT (1988) Control of *Pythium* damping off and root rot of cucumber with S-H mixture as soil amendment. *Plant Protection Bulletin, Taiwan* 30(3): 223-234.
- Lockwood JL (1988) Evolution of concepts associated with soilborne plant pathogens. *Annual Review of Phytopathology* 26: 93-121.
- Lovell DJ, Powers SJ, Welham SJ et Parker SR (2004) A perspective on the measurement of time in plant disease epidemiology. *Plant Pathology* 53(6): 705-712.
- Lucas P (2006) Diseases caused by soil-borne pathogens. *In: The epidemiology of plant diseases, Second Edition*. B. M. Cooke, D. G. Jones and B. Kaye, University College Dublin, Ireland, p. 376-386.
- Lyons NF et White JG (1992) Detection of *Pythium violae* and *Pythium sulcatum* in carrots with cavity spot using competition ELISA. *Annals of Applied Biology* 120(2): 235-244.
- Lyshol AJ, Semb L et Taksdal G (1984) Reduction of cavity spot and root dieback in carrots by fungicide applications. *Plant Pathology* 33: 193-198.
- Manichon H (1982) Influence des systèmes de culture sur le profil cultural: élaboration d'une méthode de diagnostic basée sur l'observation morphologique. Thèse de Docteur Ingénieur. Thèse de Doctorat. INA P-G, 241 pp.
- Martin FN et Hancock JG (1986) Association of chemical and biological factors in soils suppressive to *Pythium ultimum*. *Phytopathology* 76(11): 1221-1231.
- Martin FN et Hancock JG (1987) The use of *Pythium oligandrum* for biological control of preemergence damping-off caused by *P. ultimum*. *Phytopathology* 77(7): 1013-1020.
- Matthews VD (1931) Studies on the genus *Pythium*. University of North Carolina Press, Chapel Hill, 134 pp.
- Maynard DN, Gaston B, Young RE et Vernell HF (1963) The influence of plant maturity and calcium level on the occurrence of carrot cavity spot. *American Society for Horticultural Science* 78: 339-342.
- Maynard DN, Gersten B, Vlack EF et Vernell HF (1961) The effects of nutrient concentration and calcium levels on the occurrence of carrot cavity spot. *American Society for Horticultural Science* 78: 339-342.
- McDonald MR (1994) Cavity spot of carrot (*Pythium* spp.): etiology, epidemiology and control. Thèse de Doctorat. University of Guelph, 399 pp.
- McErloy FD, Pepin HS et Ormod DJ (1971) Dieback of carrot root caused by *Pythium debaryanum*. *Phytopathology* 61: 586-587.
- McRoberts N, Hughes G et Savary S (2003) Integrated approaches to understanding and control of diseases and pests in field crops. *Australasian Plant Pathology* 32(2): 167-180.
- Messiaen CM, Blancard D, Rouxel F et Lafon R (1991) Les maladies des plantes maraîchères. INRA Editions, 552 pp.
- Meyer P (1994) Bi-logistic growth. *Technological Forecasting and Social Change* 47: 89-102.
- Meyer PS et Ausubel JH (1999) Carrying capacity: a model with logistically varying limits. *Technological Forecasting and Social Change* 61(3): 209-214.
- Meynard JM, Doré T et Lucas P (2003) Agronomic approach: cropping systems and plant diseases. *Comptes Rendus de l'Académie des Sciences - Series III - Sciences de la Vie* 326(1): 37-46.
- Middleton JT (1943) The taxonomy, host range, and geographic distribution of the genus *Pythium*. *Memoirs of the Torrey Botanical Club* 20: 1-171.
- Mildenhall JP, Pratt RG, Williams PH et Mitchell JE (1971) *Pythium* brown root and forking of muckgrown carrots. *Plant Disease* 55: 536-540.
- Milford GFJ, Pocock TO et Riley J (1985) An analysis of leaf growth in sugar beet. I. Leaf appearance and expansion in relation to temperature under controlled conditions. *Annals of Applied Biology* 106(1): 163-172.
- Montfort F et Rouxel F (1988) La maladie de la tache de la carotte due à *Pythium violae*: données symptomatologiques et étiologiques. *Agronomie* 8(8): 701-706.

- Morris GEL et Currah IE (1983) Weight, size and shape relationships and their uses in the study of graded yield data. *Journal of Agricultural Science* 100(1): 211-220.
- Nagai Y, Fukami M, Murata A et Watanabe T (1986) Brown-blotted root rot of carrots in Japan. (1) Occurrence, symptoms and isolation. *Annals of the Phytopathological Society of Japan* 52: 278-286.
- Nelson EB, Harman GE et Nash GT (1988) Enhancement of *Trichoderma*-induced biological control of *Pythium* seed rot and pre-emergence damping-off of peas. *Soil Biology and Biochemistry* 20(2): 145-150.
- Okubara PA, Schroeder KL et Paulitz TC (2005) Real-time polymerase chain reaction: applications to studies on soilborne pathogens. *Canadian Journal of Plant Pathology* 27: 300-313.
- Pearl R et Reed LJ (1925) Skew growth curves. *Proceeding of the National Academy of Natural Sciences of the USA* 11: 16-22.
- Perry DA (1983) Effect of soil cultivation and anaerobiosis on cavity spot of carrots. *Annals of Applied Biology* 103: 541-547.
- Perry DA et Harrison JG (1977) Pectolytic anaerobic bacteria cause symptoms of cavity spot in carrots. *Nature* 269(5628): 509-510.
- Perry DA et Harrison JG (1979) Cavity spot of carrots. II. The effect of soil conditions and the role of pectolytic anaerobic bacteria. *Annals of Applied Biology* 93(1): 109-115.
- Petch G et White G (1995) Coping with cavity spot. *Grower* 16: 18-20.
- Pfender WF (1982) Monocyclic and polycyclic root diseases: distinguishing between the nature of the disease cycle and the shape of the disease progress curve. *Phytopathology* 72(1): 31-32.
- Phelps K, White JG et Henn AJ (1991) Studies on the frequency distribution of *Pythium*-induced cavity spot of carrots. *Annals of Applied Biology* 119(1): 21-30.
- Pratt RG et Mitchell JE (1973) A new specie of *Pythium* from Wisconsin and Florida isolated from carrots. *Canadian Journal of Botany* 51: 333-339.
- Quetelet A (1835) *Sur l'homme et le développement de ses facultés ou essai de physique sociale*. Bachelier, Paris, 329 pp.
- Reader RJ et Phelps K (1991) Modelling the development of temperature-dependent processes. *Genstat Newsletter* 28: 27-32.
- Reid JB et English JM (2000) Potential yield in carrots (*Daucus carota* L.): theory, test, and an application. *Annals of Botany* 85: 593-605.
- Robert (2003) *Le Petit Robert. Dictionnaire alphabétique et analogique de la langue française*. 2949 pp.
- Roche R, Fleury A et Villeneuve F (1991) Relation entre la morphologie du pivot de la carotte et l'état structural du profil. *Rapport interne INA P-G / CTIFL*. 76 pp.
- Roche R, Fleury A, Villeneuve F et Roger Estrade J (1994) Qualité morphologique de la racine et état du profil cultural. *Acta Horticulturae* 354: 67-82.
- Rouxel F et Alabouvette C (1991) Le sol, source et régulateur de parasites. 3ème Conférence Internationale sur les Maladies des Plantes, 3-5 décembre 1991, Bordeaux.
- Rouxel F et Breton D (1998) Variation in the pathogenicity of *Pythium* species on carrots. 7th International Congress of Plant Pathology, 9-16 juillet 1998, Edinburgh.
- Salter PJ, Currah IH et Fellows JR (1980) Further studies on the effects of plant density, spatial arrangement and time of harvest on yield and root size in carrots. *Journal of Agricultural Sciences of Cambridge* 94: 365-378.
- Sanssené J, Chauplannaz S, Navarro M, Abjean C et Richard G (2005) Effet de l'humidité et de la compacité du sol sur la pourriture du pois causée par *Aphanomyces euteiches* et sur le déplacement de ses zoospores. 6ème Congrès de la Société Française de Phytopathologie, 23-25 février 2005, Toulouse.
- Scaife MA, Burton AK et Turner MK (1980) Cavity spot of carrots - an association with soil ammonium. *Communications in Soil Science and Plant Analysis* 11(6): 621-628.
- Scaife MA, Turner MK et Barnes A (1983) Cavity spot of carrots - observance on a commercial crop. *Annals of Applied Biology* 102: 567-575.
- Scaife MA, Turner MK, Hunt MK et Barnes A (1981) Cavity spot of carrots - a pot experiment on cation effects. *Communications in Soil Science and Plant Analysis* 12(9): 897-908.

- Schrandt JK, Davis RM et Nunez JJ (1994) Host range and influence of nutrition, temperature and pH on growth of *Pythium violae* from carrot. *Plant Disease* 78(4): 335-338.
- Shlevin E, Ben-Nun R, Tzror L, Nachmias A et Ohali I (1987) Reduction of cavity spots in carrots by Ridomil applications. *Hassadeh* 97(11): 2272-2274.
- Sideris GP (1932) Taxonomic studies in the family Pythiaceae. II. *Pythium*. *Mycologia* 24: 14-61.
- Soroker E, Bashan Y et Okon Y (1984) Reproducible induction of cavity spot in carrots and physiological and microbial changes occurring during cavity formation. *Soil Biology and Biochemistry* 16: 541-548.
- Stanghellini ME (1974) Spore germination, growth and survival of *Pythium* in soil. *Proceedings of the American Phytopathology Society* 1: 211-214.
- Stanhill G (1977a) Allometric Growth Studies of the carrot crop. I. Effects of plant development and cultivar. *Annals of Botany* 41: 533-540.
- Stanhill G (1977b) Allometric Growth Studies of the carrot crop. II. Effects of cultural practices and climatic environment. *Annals of Botany* 41: 541-552.
- Sutherland RA et Benjamin LR (1987) A new model relating crop yield and plant arrangement. *Annals of Botany* 59: 399-411.
- Tamet V, Durr C et Boiffin J (1993) Croissance des plantules de carotte de la germination jusqu'à l'apparition des premières feuilles. First International Workshop on Carrot, 15 et 16 septembre 1992, Caen, France, *Acta Horticulturae / CTIFL*.
- Toussoun TA, Bega RV et Nelson PE (1970) Root diseases and soil-borne pathogens. University of California Press, 252 pp.
- Trudgill DL, Honek A, Li D et Straalen van NM (2005) Thermal time - concepts and utility. *Annals of Applied Biology* 146(1): 1-14.
- Ulrich A (1952) The influence of temperature and light factors on the growth and development of sugar beets in controlled climatic conditions. *Agronomy Journal* 44: 66-73.
- Van der Plaats-Niterink AJ (1981) Monograph of the genus *Pythium*. *Studies in Mycology* 21: 224.
- Van der Plank JE (1963) Plant diseases: epidemics and control. New York & London, 349 pp.
- Vasseur V, Breton D, Verger S et Foucher S (2001) Identification de 13 espèces de *Pythium* par PCR et PCR-RFLP: reproductibilité de techniques moléculaires. *Phytoma* 535: 33-36.
- Verhulst PF (1838) Notice sur la loi que la population suit dans son accroissement. *Correspondance Mathématique et Physique* 10: 113-121.
- Villeneuve F, Bossis M, Breton D, Brunel E, Diare N et Rouxel F (2001) La carotte en France: principaux ennemis de la culture et programmes de recherches en cours. *Phytoma* 536: 37-39.
- Villeneuve F et Leteinturier J (1992a) La Carotte: état des connaissances. Tome 2. CTIFL / SILEBAN, 227 pp.
- Villeneuve F et Leteinturier J (1992b) La Carotte: guide pratique. Tome 1. CTIFL / SILEBAN, 229 pp.
- Villeneuve F et Letouzé P (1994) Variétés de carotte: faire le bon choix. *Info-CTIFL* 105: 28-33.
- Vivoda E, Davis RM, Nunez JJ et Guerard JP (1991) Factors affecting the development of cavity spot of carrot. *Plant Disease* 75(5): 519-522.
- Wagenvoort WA, Blok I, Monbarg HFM et Velhuizen T (1989) Cavity spot of carrot in relation to a *Pythium* sp. *Gartenbauwissenschaft* 54: 70-73.
- Wang PH et White JG (1997) Molecular characterization of *Pythium* species based on RFLP analysis of the internal transcribed spacer region of ribosomal DNA. *Physiological and Molecular Plant Pathology* 51(2): 129-143.
- Watanabe T, Nagai Y et Fukami M (1986) Brown-blotted root rot of carrots in Japan. (2) Culture and identification. *Annals of the Phytopathological Society of Japan* 52(2): 287-291.

- Waterhouse GM (1968) The genus *Pythium*, diagnosis (or descriptions) and figures from the original papers. Mycological paper No. 110. Commonwealth Mycological Institute, Kew, Surrey, England, 1-71 pp.
- Watson AG (1966) Seasonal variation in inoculum potentials of spermosphere fungi. New Zealand Journal of Agriculture Research 9: 956-963.
- White G (1991) Curing spotty carrots. Grower 115: 9-10.
- White JG (1984) Association of *Pythium* and *Phytophthora* spp. with cavity spot. Report of the National Vegetable Research Station for 1983. 80-81 pp.
- White JG (1986) The association of *Pythium* spp. with cavity spot and root dieback of carrots. Annals of Applied Biology 108: 265-273.
- White JG (1988) Studies on the biology and control of cavity spot on carrots. Annals of Applied Biology 113(2): 259-268.
- White JG (1992) The effects of previous cropping and fungicides on field populations of *Pythium oligandrum*. Phytoparasitica 20: 117S-120S.
- White JG, Petch GM et Hiltunen LH (1997) Development of a commercial diagnostic test for cavity spot. Carrot Country 5(3): 7-11.
- White JG, Stanghellini ME et Ayoubi LM (1988) Variation in the sensitivity to metalaxyl of *Pythium* spp. isolated from carrot and other sources. Annals of Applied Biology 113: 269-277.
- White JG, Wakeham AJ et Shlevin E (1993) *Pythium violae* isolated from cavity spot lesions on carrots in Israel. Phytoparasitica 21: 239-243.
- White JM et Strandberg JO (1973) Early root growth of carrots in organic soil. Journal of the American Society for Horticultural Science 103(3): 344-347.
- Wilkinson HT, Cook RJ et Alldredge JR (1985) Relation of inoculum size and concentration to infection of wheat roots by *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici*. Phytopathology 75(1): 98-103.
- Willoquet L et Savary S (2004) An epidemiological simulation model with three scales of spatial hierarchy. Phytopathology 94(8): 883-891.
- Wurr DCE, Fellows JR et Phelps K (2002) Crop scheduling and prediction: principles and opportunities with field vegetables. Advances in Agronomy 76: 201-234.
- Zadoks JC et Schein RD (1979) Epidemiology and plant disease management. New York, 427 pp.
- Zamski E et Peretz I (1995) Cavity spot of carrots: interactions between the host and pathogen, related to the cell wall. Annals of Applied Biology 127: 23-32.



CHAPITRE II



- Phytopathométrie du cavity spot
- II.A. Définition de variables de maladie
- II.B. Progression d’une épidémie et relations pathométriques

PROBLEMATIQUE

Les symptômes de cavity spot sont assez homogènes dans leur faciès : comme décrits au Chapitre I, ce sont des taches en creux, elliptiques, aux contours délimités. Pourtant, la forme, le nombre et la répartition de ces taches peuvent varier : certaines lésions sont très petites (< 1 mm), d'autres beaucoup plus larges (> 10 mm) ; elles sont plus ou moins nombreuses sur une même racine, agrégées, voire coalescentes.

Il existe différentes manières de quantifier l'intensité d'une maladie, laquelle correspond à une quantité de symptômes, exprimée communément en terme d'incidence (proportion de plantes malades) ou de sévérité (quantité de surface malade à l'échelle d'une plante). Ces deux mesures ne sont pas strictement corrélées : des racines attaquées présentent parfois beaucoup de lésions, alors que la proportion de plantes malades est elle-même faible à l'échelle de la parcelle. Les pertes de rendement sont estimées en terme de réduction de produit commercialisé ; en ce qui concerne le cavity spot, les pertes sont qualitatives : les attaques affectent la valeur de la récolte en dépréciant l'aspect visuel des racines. Le poids des différentes variables de maladie sur la qualité n'est pas le même : pour une surface totale nécrosée identique, des petites lésions nombreuses ont vraisemblablement un impact moindre que quelques grosses lésions.

La plupart des publications sur le cavity spot font appel à des méthodes de quantification des symptômes qui leur sont propres. Les notations sont parfois peu adéquates : utilisation irraisonnée de classes (alors qu'il serait préférable d'utiliser des mesures effectives pour davantage de précision), classes trop peu nombreuses (0, 1, 2, 3) ou mal définies (catégories relevant d'une combinaison de notes d'incidence et de sévérité). Une première étape dans ce chapitre est donc de faire le bilan des notations utilisées dans la littérature. Alors que certains auteurs perdent à cette occasion des données importantes, notre objectif est de définir des variables de maladies informatives et suffisamment indépendantes les unes des autres.

La Phytopathométrie est la partie de la Phytopathologie qui étudie la manière de quantifier des symptômes, de mesurer l'intensité d'une attaque et les relations qui peuvent exister entre variables de maladie (Large, 1966 ; James, 1974 ; Teng, 1983 ; Nutter *et al.*, 1991). C'est une discipline souvent négligée, qui revêt pourtant un caractère fondamental. Des notations précises apportent en effet beaucoup d'informations sur le développement d'une épidémie. Certaines variables de maladie sont complémentaires en terme d'interprétation biologique : les processus qui contribuent par exemple à l'apparition d'une lésion sur une racine saine, puis à l'apparition de nouvelles lésions sur cette même racine déjà attaquée, ne sont pas obligatoirement les mêmes. Cette première partie vise à définir des hypothèses mécanistes, à partir de l'analyse fine des relations pathométriques entre les

variables de maladie et leurs évolutions au cours du temps ou dans des conditions d'expression distinctes.

CHAPITRE II - PHYTOPATHOMETRY OF CARROT CAVITY SPOT

II-A. STANDARDISED DISEASE ASSESSMENT METHOD

Summary¹

Cavity spot is one of the most important soil-borne diseases of carrot worldwide. Very few epidemiological studies have been carried out over the last 20 years to determine the dynamics of the disease in the field. In particular, few studies have dealt with the assessment of symptoms over time and changes in the size, density, and aggregation of lesions at the root and population scales. Several published studies on carrot cavity spot involved measurements of disease incidence or disease severity on the basis of diagrammatic scales and aggregated indices, but these assessments were not quantitative or had no clearly specified objective. We describe here the symptoms of cavity spot, comment on published data concerning assessment methods, and propose standardised measurement definitions adapted to the disease: incidence, lesion density, conditional lesion density, symptom intensity, and total disease area. We provide an example of disease measurements following artificial infestation with *Pythium violae*, illustrate disease characteristics as assessed with measurements at different levels, and discuss the value of such precise assessment.

1. Introduction

Cavity spot (CCS) is one of the major diseases of carrot (*Daucus carota* L.) in temperate countries (Hiltunen & White, 2002). Several species of the genus *Pythium* are known to cause CCS, but *Pythium violae* and *P. sulcatum* are the most common in France. The typical initial symptoms are sunken, circular or elliptical lesions that are initially pale olive in colour, under an intact periderm, on carrot roots (Guba *et al.*, 1961; White, 1986; Montfort & Rouxel, 1988). These lesions have a mean diameter of 2 to 15 mm and may occur on young or mature roots. They may darken with time and, depending on soil conditions, may increase rapidly in size. Lesions occur anywhere on the surface of carrot roots.

The carrot root undergoes anatomical changes during its development, becoming longer and thicker (Esau, 1940; Phan & Hsu, 1973). Lateral root production increases during the growth of the first aerial organs. Following a second phase of active leaf extension and marked root elongation, the taproot begins to enlarge laterally (Phan & Hsu, 1973). The carrot has a specific fasciculated root system and a thickened taproot, the appearance of which is intermediate between a conical and

¹ Cette première partie, écourtée et associée à la seconde (p. 105), fait l'objet d'un projet de publication unique soumis à la revue European Journal of Plant Pathology : Suffert F and Montfort F, Phytopathometry of carrot cavity spot. Nous avons choisi de maintenir une distinction entre les deux parties dans la thèse.

a fusiform root. CCS differs from several other soil-borne diseases in that disease expression is weaker in the fasciculated system than on the taproot because no symptoms occur on adventitious roots. Another specific feature of CCS is that not all the area of the taproot is affected. The total area of the root affected by disease is often much smaller than the healthy area. In several foliar diseases, a lesion often corresponds to a single infection point. In contrast, it is difficult to establish the number of infection sites in soil-borne diseases because lesions coalesce.

Over the last 20 years, scientists have been urged to provide information concerning the aetiology of the disease and the various disease management options available. The potential for disease reduction via a strategy combining several key components (agronomic factors) was discussed in a review by Hiltunen & White (2002). Such a strategy requires disease assessment and the measurement of symptoms for the accurate description and understanding of the development of a CCS epidemic.

From an agronomical and commercial point of view, diseased carrots are accepted or rejected before packaging, according to a subjective grading system based on disease severity (e.g. one or two large visible lesions) or disease incidence thresholds (e.g. percentage of roots with the disease). The acceptable ‘intensity’ (combining disease severity and incidence) of CCS for sale is variable and may change during the harvesting season: it depends on market prices and on the operators. Professional buyers may reject a lot of carrots containing a few roots with severe CCS, but accept lots containing a higher proportion of diseased carrots with less severe CCS. In practice, once disease incidence exceeds a relatively low threshold, it may become unprofitable to harvest the crop. For producers, there is a need for quality indicators and standards, the development of which requires accurate methods of disease assessment. This need justifies studies of disease measurement, although commercial aspects were not considered by plant pathologists in the past. The rudimentary disease assessment methods used by operators may not suffice for the assessment of processes responsible for disease progression in the field. However, attempts to identify control methods slowing disease progression must also focus on disease variables with a potential impact on the commercial criteria considered at harvest. Thus, indices for epidemiological studies must first be defined specifically in terms of their purpose, and must then be combined to link crop management and crop quality.

We carried out a review of the literature to identify state-of-the-art techniques for assessing CCS. We then developed standardised definitions for the assessment of CCS and standardised conditions for the use of these definitions in epidemiological studies of CCS.

2. Cavity spot assessment and disease development

General disease assessment is the quantitative measurement of a disease, as summarised in the term ‘phytopathometry’ introduced by Large (1966), developed in theoretical epidemiology by Zadoks & Schein (1979), and standardised by Nutter *et al.* (1991). Many reviews have been published on this subject (e.g. Large, 1966; Bald, 1969; Teng, 1983; Gaunt, 1995), so only those aspects of disease measurement relevant to tuberous roots are discussed in this chapter.

Although few epidemiological studies on CCS have been carried out, several indicators of the progression of symptoms show an increase in global disease ‘intensity’ over time. The severity of CCS increases as the plants age: Maynard *et al.* (1963) found that the number of lesions per root increased from 1.2 to 10.0 on field-grown carrots, from August to November, in Massachusetts (USA). In commercial carrot fields in the Val de Loire (France), another study reported the presence of small lesions on young carrots and a gradual increase in the frequency of root symptoms during the four-month growing season (Montfort & Rouxel, 1988). Perry & Harrison (1979) reported increases in the size of CCS lesions over time: these lesions were initially between 2 and 15 mm long, and eventually expanded to up to 40 mm in length and 7 mm in radial depth. Perry (1983) also found that the percentage of roots with lesions was higher (37.4%) in late-harvested carrots (November) than in carrots harvested in October (28.2%). Disease progression may therefore be summarised in two generic phases: (i) increase in the proportion of diseased roots in the field, and (ii) increase in the number and size of lesions on individual roots.

Guba *et al.* (1961) reported that, at a given location, some carrot roots had abundant lesions whilst others had few if any. This heterogeneity was confirmed statistically by Phelps *et al.* (1991). Disease aggregation scales and the distribution of symptoms on roots have also been formalised and treated theoretically in plant disease epidemiology by Hughes & Madden (1993). The aggregation of lesions may indicate that *Pythium* is still involved in a ‘pathogenic process’, with new infections caused by infectious propagules distributed in local micro-aggregates (oosporic or mycelial form) and depending on the probability of soil inoculum occurring in the pathozone and infecting the host (Gilligan, 1985). However, increases in the incidence of CCS over time and the nature of lesion clustering may also imply that CCS pathogens are involved in a ‘reproductive process’, possibly based on mycelial growth over root surfaces, as suggested by Phelps *et al.* (1991), who reported that inoculum from one lesion grew away from that lesion, leading to the formation of other lesions in a characteristic cluster. The underlying mechanism may involve an increase in the number of infected carrots over the growing season, with these initial infections leading to the subsequent reinfection of the same root, with each primary cavity producing a secondary cavity, which then produces a tertiary cavity.

Lyshol <i>et al.</i> (1984)		×								(2) - C0: no symptoms; C1: < 20%; C2: 20-39 %; C3: 40-59 %; C4: 60-79 %; C5: > 80 %.
Sweet <i>et al.</i> (1986)	×						(×)		×	(7) - C0: no lesion; C1: 0-0.3 % of infection; C2: 0.3-1.5 % of infection; C3: 1.5-3 % of infection; C4: 3-10 % of infection; C5: > 10 % of infection (Figure II-1). (9) = (1) * (7) - a disease index DI was calculated as follows: $\frac{(1 \times b) + (2 \times c) + (3 \times d) + (4 \times e) + (5 \times f)}{5 \cdot (a + b + c + d + e + f)}$ where a, b, c, d, e and f are the number of roots that fall into the class C0, C1, C2, C3, C4 and C5 respectively.
Nagai <i>et al.</i> (1986)	×		×							(3) - C1: water-soaked brown circular or elliptical lesion; C2: lenticel-like brown spot formed around the base of a lateral root; C3: small brown sunken spot with a vertical crack.
White (1986) White (1988) Phelps <i>et al.</i> (1991)	×		×	×						(3) - C1: < 1 mm; C2: 1-5 mm; C3: > 5 mm.
Rouxel (1987, unpublished) Breton & Rouxel (1992, unpublished)	×				(×)				×	(5) - 1987: C0: no lesion; C1: 1 lesion; C2: 2-9 lesions; C3: > 9 lesions. - 1992: C0: no lesion; C1: 1 lesion; C2: 2-4 lesions; C3: > 5 lesions. (9) = (1) * (5) - A disease index DI was calculated as follows: $\sum_{i=0}^3 (N_i \times i) / N_{total}$ - 1987: where i = disease coefficient 0, 0.33, 0.66 or 1 (corresponding to classes C0, C1, C2 and C3 respectively), N _i = number of carrots with disease level i, N = total number of carrots; - 1992: where i = disease coefficient 0, 0.25, 0.625 or 1.
Montfort & Rouxel (1988)	×									
Liddell <i>et al.</i> (1989)	×									
Vivoda <i>et al.</i> (1991)	×			×						
Benard & Punja (1995)				×						
El-Tarabily <i>et al.</i> (1996)	×		(×)	×					×	(4) - C1: no visible lesion; C2: up to 5 lesions smaller than 3 mm dia, C3: up to 10 lesions smaller than 3 mm dia; C4: up to 20 lesions smaller than 3 mm dia, or up to 2 lesions larger than 10 mm in dia; C5: more than 20 lesions smaller than 3 mm dia, or more than 3 lesions larger than 20 mm dia. (9) = (3) * (4) - a disease index DI was calculated for a root sample using coefficients as follows: 1 for C1, 2 for C2, 3 for C3, 4 for C4 and 5 for C5.

Smith <i>et al.</i> (1997)	×		(×)	(×)				×	×	(3) - C1: 1-5 mm; C2 : > 5 mm. (8) - A clustering index CI was calculated as follows: $\frac{A}{-\log(B).C}$ where A = total number of lesions per plot; B = proportion of roots with no lesions; C = number of roots per plot. (9) = (3) * (4) - a disease index DI was expressed as log(number of lesions < 5 mm per kg of carrot) and as log(number of lesions > 5 mm per kg of carrot).
Davison & McKay (2003)	×				×					(5) - C1: 1-3 spots per root; C2: 4 or more spots.
Sum / 20	17	1	10	9	3	0	1	1	6	
Suffert	×		×	×		×				
	i		si	d		tda				

(1) roots with lesions were counted and the percentage of disease roots was calculated for each sample.

(2) classes of percentages of diseased roots were defined and each root sample was assigned to a class, sometimes subjectively.

(3) size of lesions was evaluated using specific classes of diameter (generally at the widest point) and each lesion was assigned to a size class.

(4) lesions on carrot roots were counted, regardless of their size or with distinction of lesion size if necessary.

(5) classes of numbers of lesions on roots were defined and each root was assigned to a class.

(6) the diseased area on a root was estimated by cumulative measurements for each lesion.

(7) classes of percentages of disease area were defined and each root was assigned to a class.

(8) an index of clustering of lesions was calculated for each sample.

(9) a disease index, combining previous disease measurements, was specifically established.

A cross in brackets (×) means that a disease measurement was not directly available: the intermediate variable was used to calculate a CI or a DI instead (see (x) * (y) in 'Details').

Thus, precise disease measurements and the quantification of pathometric relationships are required if we are to obtain further insight into the biology of CCS.

3. Cavity spot assessment and disease measurements

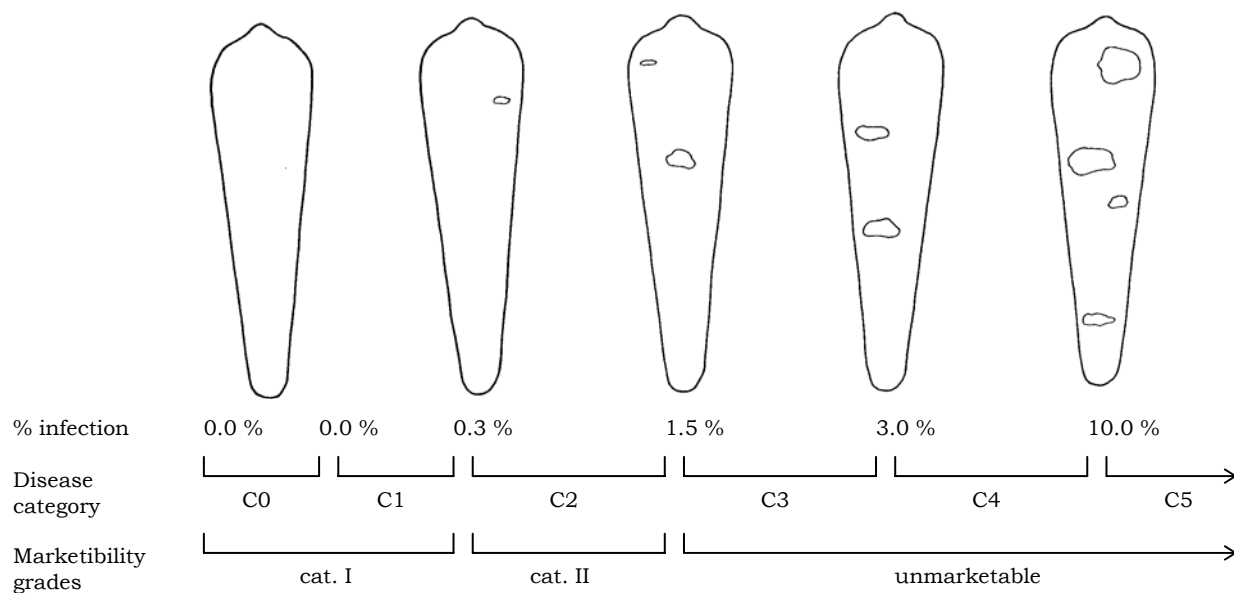
Some studies dealt with CCS measurements, classes or indices, but in several cases disease assessments were not quantitative or simply did not use a rigorous terminology. Published studies on CCS proposed several heterogeneous methods of measuring CCS intensity, based on the proportion of diseased roots in a population, descriptions of symptoms in terms of the size and appearance of lesions, the number of lesions on diseased roots, or mixed indices. It is therefore difficult to compare the results obtained in previous studies because, with the exception of conventional disease incidence and lesion size data, the statistic analysis of the distribution of lesions in carrot samples or the spatial distribution of the disease in was rarely homogeneous. We analysed several papers dedicated to the assessment of CCS (Maynard *et al.*, 1963; Perry & Harrison, 1979; Scaife *et al.*, 1980; Perry, 1983; Lyshol *et al.*, 1984; Soroker *et al.*, 1984; Sweet *et al.*, 1986; Nagai *et al.*, 1986; White, 1986; 1988; Phelps *et al.*, 1991; Montfort & Rouxel, 1988; Liddell *et al.*, 1989; Vivoda *et al.*, 1991; Benard & Punja, 1995; El-Tarabily *et al.*, 1996; Smith *et al.*, 1997; Davison & McKay, 2003; F. Rouxel, INRA, France, unpubl.) (Table II-1).

- *Proportion of diseased roots* – In most cases (17/20 papers), the number of carrot roots with and without lesions was counted to determine disease incidence at the field scale (e.g. White, 1986; Montfort & Rouxel, 1988; Liddell *et al.*, 1989; Phelps *et al.*, 1991; Vivoda *et al.*, 1991) (Table II-1). In other studies, such as those focusing on fungicide treatments against CCS (Lyshol *et al.*, 1984), disease incidence was recorded in the form of disease classes. Some studies (3/20) did not use disease incidence as a means of assessing CCS (Lyshol *et al.*, 1984; Soroker *et al.*, 1984; Benard & Punja, 1995).

- *Size and appearance of lesions* - CCS lesions may be elliptic to various degrees. This led to their description in half the papers (10/20) in terms of visual appearance, using size, depth, or circularity criteria (Nagai *et al.*, 1986; Scaife, 1980): sunken, regularly or irregularly shaped, lenticel-like, water-soaked brown, with or without vertical crack, circular, oval, elliptical and so on (Table II-1). The first problem in comparisons of epidemiological data is the heterogeneity of lesion description, especially in terms of the vocabulary used. The size of a lesion was estimated by measuring mean diameter (Perry & Harrison, 1979; Smith *et al.*, 1997) or by measuring the diameter at its widest point in others (White, 1986; 1988). Lesions were generally assigned to diameter classes after visual estimation.

- *Number of lesions, combined indices and disease ‘severity’* – In some of these studies (3/20), such as those of Maynard *et al.* (1963), Vivoda *et al.* (1991) and

Figure II-1 Example of diagrammatic scale proposed by Sweet *et al.* (1986) to describe the intensity of a CCS attack.



Benard & Punja (1995), the total number of lesions on a root was determined. The ‘severity’ of a CCS attack was therefore described in terms of the number of lesions, regardless of their size or appearance, for each carrot root or for a sample. However, it can be quicker and easier to obtain data based on appropriate severity classes corresponding to a visually estimated number of lesions per root and without real counting. Soroker *et al.* (1984), Rouxel (INRA, France, unpubl.) and Davison & McKay (2003) used such methods (4/20). The mean number of lesions in each class, characterised by intervals, was calculated for each carrot root or for a sample of roots. It was generally not as precise as that obtained by the complete and rigorous counting of lesions.

In some studies (6/20), lesions were counted (or roots were assigned to classes according to the approximate number of lesions) after being individually assigned to a symptom class on the basis of lesion size or appearance, generally assessed by means of a scale. The scales defined by White (1986; 1988) and Phelps *et al.* (1991) for the counting of lesions were based purely on lesion size. In contrast, the visual scales used by Scaife *et al.* (1980) and Nagai *et al.* (1986) were more qualitative and included the appearance of lesions.

In two cases (2/20), roots were directly assigned to classes based on the number of lesions on the root and the mean size or appearance of lesions (Soroker *et al.*, 1984, El-Tarabily *et al.* 1996), without distinction between individual lesions.

Not all of these disease categories were synthetic because they were based on individual and independent classes of size and of lesion number rather than an aggregated single severity scale. Other scales seem to respond more to a logistic increment, corresponding to a ‘diagrammatic scale’, as defined by Horsfall & Barrat (1945), showing representations of disease level, as formally proposed by Sweet *et al.* (1986) (Figure II-1), and seem to be relevant to disease ‘severity’. Several studies (7/20) used this kind of scale and formalised qualitative (appearance and shape of lesions) and quantitative combined information (number and size of lesions, or necrotic area) in the form of numerical ‘disease indices’ (DI) (Table II-1) (Perry & Harrison, 1979; Soroker *et al.*, 1984; Sweet *et al.*, 1986; El-Tarabily *et al.*, 1996; Smith *et al.*, 1997; F. Rouxel, INRA, France, unpubl.).

These combinations of measurements into aggregated DI are practical for quantifying disease severity numerically, but actually provide relatively poor disease information: for example, for a high value of the DI proposed by El-Tarabily *et al.* (1996), it is impossible to determine whether mean disease ‘severity’ was high (high value of DI due to several roots in class C5) because there was a large number of very small lesions (more than 20 lesions of less than 3 mm in diameter), or because there were a few large lesions (more than 3 lesions exceeding 20 mm in diameter) (Table II-1).

One problem in comparing epidemiological data acquired in different studies, especially ‘severity’ defined in terms of disease indices (DI), is that some authors do not even use homogeneous criteria themselves. For example, Perry & Harrison (1979) graded lesions as slight, moderate or severe (< 5 mm, 5-20 mm, > 20 mm in diameter, respectively). Disease incidence was expressed “both as a percentage of roots affected, or a weighted index calculated from the number of roots with slight, moderate or severe lesions multiplied by 1, 2 or 3 respectively and expressed as a percentage of the maximum possible” (total number of roots $\times$ 3). However, in a later study, the authors defined lesions as “slight if they were shallow and < 5 mm at their widest point, moderate if they were < 2 mm deep $\times$ 5-15 mm wide and severe if they were larger than those in the moderate category” (Perry, 1983). Thus, the largest lesion determined the disease category rather than the number of lesions on a given root. In this example, ‘severity’ classes changed between 1979 and 1983 and it is not possible to compare CCS assessment in these studies as a result.

Another problem in CCS measurement is that the expression of the data in terms of classes or indices may be too qualitative to describe the dynamics of an epidemic and the processes involved correctly. We therefore suggest that global pathological scales should be replaced by lesion counting for disease assessment, with standardised notation for each lesion on each root.

4. Standardised definitions for disease measurement

We noted R the total number of roots and I the total number of diseased roots (Table II-2). For each root $r \in [1; R]$ in a sample, N_r was the total number of CCS lesions. Lesions were counted and graded according to their mean diameter D_n (estimated visually with $D_n = (a+b)/2$, where a and b are diameters of an ellipse corresponding to a CCS lesion). Each lesion $n \in [1; N_r]$ was assigned to a class : Δ_0 when $D_n \approx 1$ mm, Δ_1 when $D_n \in]1; 3$ mm], Δ_3 when $D_n \in]3; 5$ mm], Δ_5 when $D_n \in]5; 10$ mm] or Δ_{10} when $D_n > 10$ mm. $N_{\Delta,r}$ is the total number of lesions assigned to class Δ on the carrot root $r \in [1; R]$.

Roots with at least one CCS lesion, whatever its size, were classified as diseased. A truncated disease measurement is defined as a disease measurement estimated after exclusion of symptoms that did not correspond to certain conditions. Truncated measurement is justified, for example, to avoid overestimating disease incidence, especially that due to diagnostic error when there are few or non-specific lesions on a healthy root (the detection threshold is $D_n \approx 1$ mm).

Disease incidence (i) - Disease incidence is the number of diseased host units in a sample, expressed as a proportion or percentage of the total number of host units assessed (Campbell & Madden, 1990; Nutter *et al.*, 1991; McRoberts *et al.*, 2003). The incidence $i \in [0; 1]$ is defined here as the proportion of diseased carrot roots in the field (1).

$$i = \frac{I}{R} \quad (1)$$

R is the total number of roots in the sample

I is the total number of diseased roots in the sample

The truncated disease incidence i_{Δ} is defined as the disease incidence i after a truncation at level Δ : it measures the proportion of roots with one lesion of at least D_n in diameter. Four truncation levels are defined: i_1 (smallest lesion with $D_n > 1$ mm), i_3 (smallest lesion with $D_n > 3$ mm), i_5 (smallest lesion with $D_n > 5$ mm) and i_{10} (smallest lesion with $D_n > 10$ mm).

Lesion density (d) – Lesion density is defined as the mean number of lesions per root in a sample (2).

$$d = \frac{1}{R} \sum_{r=1}^R N_r \quad (2)$$

R is the total number of roots in the sample

N_r is the total number of lesions on the root $r \in [1; R]$

Conventionally, disease severity is a measure of diseased plant surface, expressed as a percentage or proportion of a total area (James, 1974; Kranz & Rotem, 1987; Campbell & Madden, 1990; Nutter *et al.*, 1991; McRoberts *et al.*, 2003). However, according to Seem (1984) the density of lesions may be considered as a form of disease severity. The term ‘severity’ has been overused in studies of CCS. In some cases, it was expressed as a disease index (DI), including, for example, the number and size of lesions counted per root (Soroker *et al.*, 1984; Nagai *et al.*, 1986). The most commonly used scales for CCS have three or four categories and mixed qualitative and quantitative information (Perry, 1983; Soroker *et al.*, 1984; Sweet *et al.*, 1986; F. Rouxel, INRA, France, unpubl.).

Conditional lesion density (cd) - Conditional lesion density is a measurement of disease that is conditional on the plants being infected (McRoberts *et al.*, 2003). Conditional lesion density cd is defined here as the mean number of lesions per diseased root (3).

$$cd = \frac{1}{I} \sum_{r=1}^R N_r \quad (3)$$

R is the total number of roots in the sample

I is the total number of diseased roots in the sample

N_r is the total number of lesions on the root $r \in [1; R]$

Table II-2 Glossary of symbols used to represent variables and disease measurements in the text.

Disease measurement	Symbol	Definition	Unit
	R	total number of roots in the sample	-
	I	total number of diseased roots in the sample	-
	N_r	total number of lesions on the root $r \in [1; R]$	-
	$N_{\Delta,r}$	total number of lesions assigned to class Δ on the root $r \in [1; R]$	-
	D_n	mean diameter of the lesion $n \in [1; N_r]$ on a diseased root r	mm
	ta	total area of the carrot root	mm ²
Disease incidence	i	proportion of diseased roots in the sample	-
Lesion density	d	mean number of lesions per root in the sample	lesion.root ⁻¹
Lesion conditionnal density	cd	mean number of lesions per diseased root in the sample	lesion.root ⁻¹
Symptom intensity	si	mean diameter of lesions on the diseased root	mm
Total disease area	tda	total necrotic area at the surface of the carrot root	mm ²

In the context of CCS, the mean density of infected plants only, regardless of lesion size, may be of interest (Werker & Gilligan, 1990). For several diseases, conditional lesion density defined in this way is less highly correlated with disease incidence i or truncated disease incidence i_{Δ} than lesion density (Xu & Ridout, 1998).

- *Symptom intensity (si)* - Symptom intensity is an estimate of the mean diameter of the CCS lesions. The five previously described diameter classes were used for scoring purposes ($\Delta_0, \Delta_1, \Delta_3, \Delta_5$, and Δ_{10}). The mean score of a sample is calculated as the arithmetic mean, using if possible the median value Δ_m of each diameter class Δ , except for Δ_0 : $\Delta_m = 1$ for Δ_0 ($D_n \approx 1$ mm), $\Delta_m = 2$ for Δ_1 ($D_n \in]1; 3$ mm]), $\Delta_m = 4$ for Δ_3 ($D_n \in]3; 5$ mm]), $\Delta_m = 7.5$ for Δ_5 ($D_n \in]5; 10$ mm]), $\Delta_m = 10$ for Δ_{10} ($D_n > 10$)(4).

$$si = \frac{1}{R \cdot N_r} \sum_{r=1}^R \sum_{\Delta_0}^{\Delta_{10}} (N_{\Delta,r} \cdot \Delta_m) \quad (4)$$

R is the total number of roots in the sample

N_r is the number of lesions on the root $r \in [1; R]$

$N_{\Delta,r}$ is the total number of lesions assigned to diameter class Δ on the carrot root $r \in [1; R]$

Δ_m is the median diameter for each diameter class

Total disease area tda - Total disease area is defined as the total necrotic area at the surface of a carrot root, which equals the cumulative tissue area corresponding to CCS lesions on a single root (5).

$$tda = \frac{1}{R} \sum_{r=1}^R \sum_{\Delta_0}^{\Delta_{10}} (N_{\Delta,r} \cdot \pi \left(\frac{\Delta_m}{2} \right)^2) \quad (5)$$

R is the total number of roots in the sample

$N_{\Delta,r}$ is the total number of lesions assigned to diameter class Δ on the carrot root $r \in [1; R]$

Δ_m is the median diameter for each diameter class Δ ($\Delta_m = 1$ for Δ_0 , $\Delta_m = 2$ for Δ_1 , $\Delta_m = 4$ for Δ_3 , $\Delta_m = 7.5$ for Δ_5 , $\Delta_m = 10$ for Δ_{10})

Disease severity *sensu stricto* is defined as the proportion of the plant surface showing disease. Then, if ta is the epidermal area of a carrot taproot, the ratio tda / ta corresponds to the standardised definition of disease severity proposed by Nutter *et al.* (1991). This disease measurement is not straightforward due to the growth of carrot roots and their thickening in the soil: destructive sampling is required for the assessment of tda and ta . In practice, the value of tda / ta remains very low even in

Figure II-2 Illustration of different classes of CCS symptoms on mature carrot roots according lesion density d and symptom intensity si .

Total disease area tda was also estimated (mm^2).



high risk situations: generally $< 10\%$ according to our own field observations and the classes of disease area in the diagrammatic scale proposed by Sweet *et al.* (1986) (Figure II-1). We can therefore neglect tda compared to the epidermal area ta , and assume that the levels of competition for the infection of healthy sites on a root are low. Lesions could theoretically cover 100 % of the epidermal area ta but, in practice, maximum lesion size is reached when cavities seem to heal after local plant reaction, giving typical limited symptoms due to the rapid cicatrisation of superficial root tissue scars (Campion, 1997). Instead of considering tda / ta as an usable definition of disease severity *sensu stricto*, we propose to use only the total disease area tda .

5. Illustration of disease assessment

In 2001, 2002 and 2003, epidemiological data for CCS were collected from diseased carrot roots in experimental areas ('field experiment', Le Rheu, Ille-et-Vilaine, France). Symptom characteristics such as number and size of lesions, necrotic area, and aggregation on a carrot root, were described. Various distributions of CCS symptoms on a root were ranked according to disease density d and symptom intensity si (Figure II-2). Qualitative grades (low, medium or high) were used for si and quantitative grades for d . In each case, total disease area tda was calculated. Cases (a), (b) and (d) illustrate large but isolated lesions. Cases (e) (g) and (h) illustrate large lesions with a local aggregated spatial distribution. Cases (c), (f) and (i) show several little new lesions with an aggregated spatial distribution but with indistinct contours. Photographs were taken at different times in the epidemic cycle and show that several groups of symptoms may be defined for similar values of tda on the same carrot root: for example, cases (a), (d) and (h) gave very different measurements of lesion density d and qualitative estimates of symptom intensity si . Epidemiological processes with the same consequences in terms of 'necrotic area' may be different: for example, single or multiple infections, with different degrees of limitation and lesion cicatrisation.

6. Discussion

The four disease measurements describe the symptoms fully and are complementary. For example, an increase in disease incidence i , with stabilisation of lesion density d , may imply that disease is undergoing extensification at the population scale. Conversely, an increase in lesion density d , with stabilisation or a small increase in disease incidence i , may imply that the disease is becoming more intense at the root scale. An increase in total disease area tda and a stabilisation of lesion density d may indicate that infectious processes have stabilised, but that the lesion size is increasing, due to changes in soil conditions, for example. As for aerial plant diseases (Kranz & Rotem, 1987), we need to assume in this case that each CCS lesion corresponds to an initial single infection process, disregarding the

appearance of large cavities due to the coalescence of smaller single lesions (F. Suffert, INRA, France, unpubl.).

The disease measurements defined in this part will be used in future epidemiological studies of the processes responsible for CCS development in the field. For the formulation of hypotheses, we must also examine in detail the relationships between these four disease measurements, and empirical pathometric relationships in particular. This issue will be dealt with in the second part of this chapter.

References

- Bald JG (1969) Estimation of leaf area and lesion sizes for studies on soil-borne pathogens. *Phytopathology* 59: 1606-1612.
- Benard D and Punja ZK (1995) Role of *Pythium* species in cavity spot development on carrots in British Columbia. *Canadian Journal of Plant Pathology* 17: 31-45.
- Campbell CL and Madden LV (1990) Introduction to plant disease epidemiology. John Wiley & Sons, New York, 532 pp.
- Campion C, Massiot P and Rouxel F (1997) Aggressiveness and production of cell wall degrading enzymes by *Pythium violae*, *Pythium sulcatum* and *Pythium ultimum*, responsible for cavity spot of carrot. *European Journal of Plant Pathology* 103(8): 725-735.
- Davison EM and McKay AG (2003) Host range of *Pythium sulcatum* and the effects of rotation on *Pythium* diseases of carrots. *Australasian Plant Pathology* 32: 339-346.
- El-Tarabily KA, Hardy GESJ and Sivasithamparam K (1996) Association of *Pythium coloratum* and *Pythium sulcatum* with cavity spot disease of carrots in Western Australia. *Plant Pathology* 45(4): 727-735.
- Esau K (1940) Developmental anatomy of the fleshy storage organ of *Daucus carota*. *Hilgardia* 13(5): 175-226.
- Gaunt RE (1995) The relationship between plant disease severity and yield. *Annual Review of Phytopathology* 33: 119-144.
- Gilligan CA (1985) Probability models for host infection by soilborne fungi. *Phytopathology* 75(1): 61-67.
- Guba EF, Young RE and UI T (1961) Cavity spot disease of carrots and parsnip roots. *Plant Disease Reporter* 45: 102-105.
- Hiltunen LH and White JG (2002) Cavity spot of carrot (*Daucus carota*). *Annals of Applied Biology* 141: 201-223.
- Horsfall JC and Barrat RW (1945) An improved grading system for measuring plant diseases. *Phytopathology* 35: 665.
- Hughes G and Madden LV (1993) Using the beta-binomial distribution to describe aggregated patterns of disease incidence. *Phytopathology* 83(7): 759-763.
- James WC (1974) Assessment of plant disease and losses. *Annual Review of Phytopathology* 12: 27-48.
- Kranz J and Rotem J (1987) Experimental techniques in plant disease epidemiology.
- Large EC (1966) Measuring plant disease. *Annual Review of Phytopathology* 4: 9-28.
- Liddell CM, Davis RM, Nunez JJ and Guerand JP (1989) Association of *Pythium* spp. with carrot root diseases in the San Joaquin Valley of California. *Plant Disease* 73(3): 246-248.
- Lyshol AJ, Semb L and Taksdal G (1984) Reduction of cavity spot and root dieback in carrots by fungicide applications. *Plant Pathology* 33: 193-198.
- Maynard DN, Gaston B, Young RE and Vernell HF (1963) The influence of plant maturity and calcium level on the occurrence of carrot cavity spot. *American Society for Horticultural Science* 78: 339-342.

- McRoberts N, Hughes G and Madden LV (2003) The theoretical basis and practical application of relationships between different disease intensity measurements in plants. *Annals of Applied Biology* 142: 191-211.
- Montfort F and Rouxel F (1988) La maladie de la tache de la carotte due à *Pythium violae*: données symptomatologiques et étiologiques. *Agronomie* 8(8): 701-706.
- Nagai Y, Fukami M, Murata A and Watanabe T (1986) Brown-blotted root rot of carrots in Japan. (1) Occurrence, symptoms and isolation. *Annals of the Phytopathological Society of Japan* 52: 278-286.
- Nutter FW, Teng PS and Shokes FM (1991) Disease assessment terms and concepts. *Plant Disease* 75(11): 1187-1188.
- Perry DA (1983) Effect of soil cultivation and anaerobiosis on cavity spot of carrots. *Annals of Applied Biology* 103: 541-547.
- Perry DA and Harrison JG (1979) Cavity spot of carrots. I. Symptomatology and calcium involvement. *Annals of Applied Biology* 93(1): 101-108.
- Phan CT and Hsu H (1973) Physical and chemical changes occurring in the carrot root during growth. *Canadian Journal of Plant Science* 53: 629-634.
- Phelps K, White JG and Henn AJ (1991) Studies on the frequency distribution of *Pythium*-induced cavity spot of carrots. *Annals of Applied Biology* 119(1): 21-30.
- Scaife MA, Burton AK and Turner MK (1980) Cavity spot of carrots - an association with soil ammonium. *Communications in Soil Science and Plant Analysis* 11(6): 621-628.
- Seem RC (1984) Disease incidence and severity relationships. *Annual Review of Phytopathology* 22: 137-150.
- Smith BM, Crowther TC, White JG and Martyn L (1997) Screening carrot germplasm for resistance to cavity spot caused by *Pythium violae*. *Journal of Applied Genetics* 38A: 60-70.
- Soroker E, Bashan Y and Okon Y (1984) Reproducible induction of cavity spot in carrots and physiological and microbial changes occurring during cavity formation. *Soil Biology and Biochemistry* 16: 541-548.
- Sweet JB, Lake SE, Wright IR and Priestley RH (1986) Resistance of carrot varieties to cavity spot disease. *Aspects of Applied Biology* 12: 235-245.
- Teng PS (1983) Estimating and interpreting disease intensity and loss in commercial fields. *Phytopathology* 73: 1587-1590.
- Vivoda E, Davis RM, Nunez JJ and Guerard JP (1991) Factors affecting the development of cavity spot of carrot. *Plant Disease* 75(5): 519-522.
- Werker AR and Gilligan CA (1990) Analysis of the effects of selected agronomic factors on the dynamics of the take-all disease of wheat in field plots. *Plant Pathology* 39: 161-177.
- White JG (1986) The association of *Pythium* spp. with cavity spot and root dieback of carrots. *Annals of Applied Biology* 108: 265-273.
- White JG (1988) Studies on the biology and control of cavity spot of carrots. *Annals of Applied Biology* 113: 259-268.
- Xu XM and Ridout MS (1998) Effects of initial epidemic conditions, sporulation rate, and spore dispersal gradient on the spatio-temporal dynamics of plant disease epidemics. *Phytopathology* 88: 1000-1012.
- Zadoks JC and Schein RD (1979) *Epidemiology and plant disease management*. Oxford University Press, New York, 427 pp.

II-B. PATHOMETRIC RELATIONSHIPS FOR QUANTIFYING DISEASE PROGRESS

Summary¹

This study synthesises results over three years on the relationships between carrot cavity spot (CCS) measurements such as disease incidence i , total disease area tda , and other standardised variables (lesion density d , conditional lesion density cd , and symptom intensity si) defined previously. These variables were used to describe for the first time the evolution of a CCS epidemic during a long carrot growth cycle. A first step consists in the description of general correlation between the five disease measurements i , d , cd , si , and tda . A second step quantifies empirical relationships between i and tda based on the equation $i = b.[\exp(a(t).tda)-1]$, and between tda , d , and si based on the equation $tda = c.\pi.d.(si/2)^2$. Fitting to observed data showed that these relationships are robust enough to be applied for different types of epidemics (experimental field plots, survey in commercial carrot crops, experiment in pots in controlled conditions), but that the value of parameters can change with time in a season during an epidemic and with the climatic conditions. The usefulness of these mathematical relationships to formulate hypotheses about infectious processes potentially due to primary and secondary infections is discussed. Concerning the first relationship, changes over time of the parameter $a(t)$ argues for change in epidemiological processes: mobilisation of the soil inoculum, disease intensification, and disease extensification. The use of these pathometric relationships is proposed in further epidemiological studies to quantify CCS progress and analyse the performance of possible control measures on the different epidemiological processes identified.

1. Introduction

Carrot cavity spot (CCS), a major disease of carrot worldwide first described in the 1980s (White, 1986), depreciates the quality of roots. Typical symptoms are small sunken, elliptical lesions on the tap root. CCS is due to a complex of *Pythium* species, dominated by *P. violae* and *P. sulcatum* in France (Breton & Rouxel, 1993). Over the last 20 years, scientists have been asked to provide information concerning the aetiology of the disease and management options adapted to each carrot production system, but too few epidemiological studies were developed to understand the dynamics of the disease in the field (Hiltunen & White, 2002). Only recently have several CCS disease measurements (disease incidence i , lesion density d , conditional lesion density cd , symptom intensity si , and total disease area tda) been proposed.

James & Shih (1973) modelled the relation between disease incidence i and disease severity s (defined as the percentage of leaf area affected by a foliar disease), as a restricted exponential equation (1).

¹ Cette seconde partie, écourtée et associée à la première (p. 87), fait l'objet d'un projet de publication unique soumis à la revue European Journal of Plant Pathology : Suffert F and Montfort F, Phytopathometry of carrot cavity spot.

$$i = b \cdot (1 - e^{-a \cdot s}) \quad (1)$$

This equation describes the increase of disease incidence from a low value (usually zero) towards an upper value b (usually 100 on a percentage scale) according to the increase of disease severity. This model was fitted by James & Shih (1973) and Rouse *et al.* (1981) to describe relationships between incidence and severity of powdery mildew and leaf rust of small grain cereals, respectively. Other mathematical relationships have been proposed and reviewed (e.g. Seem, 1984; Gaunt, 1995; McRoberts *et al.*, 2003). Concerning soil-borne diseases, a low severity score may be indicative of an epidemiological phase in which the rate of disease development subsequent to primary infection becomes limiting, suggesting that diseases severity increase would then result from the extension of the area of existing lesions.

A long-term goal is to provide an assessment of control strategies to manage CCS. This requires a description of disease parameters allowing to describe epidemic processes involved in the development of CCS. The first step was to define a set of usable disease variables. The second step, which constitutes the purpose of the present part, was to analyse the relationships between these variables, and to include them into pathometric models that can be fitted to observed data.

2. Materials and methods

2.1. Selection of the models

The relationships between disease variables were analysed by calculating correlations between i , d , cd , si , and tda . For the second objective, two pathometric models were selected and fitted them to data sets acquired in three experimental conditions. Since Rouse *et al.* (1981) showed that the severity-incidence relationship can fluctuate with time, a modified version of equation (1) in which the parameter a is set as a linear function of time was used (2).

$$i = b \cdot (1 - e^{-a(t) \cdot tda}) \quad (2)$$

where $b = 100$, $a(t) = \alpha \cdot t + \beta$ and t is the thermal time since sowing with a base temperature of 3.5°C.

The 3.5°C threshold was chosen as it is the minimum temperature for carrot root growth (Tamet *et al.*, 1993), and is close to the minimum growth temperatures of the different *Pythium* species involved in CCS (Van der Plaats-Niterink, 1981).

The first reason for focusing attention on incidence i as a function of tda is that i may approach 1 (or 100 % of plants) more rapidly than tda , thus enabling to address the whole range of epidemic outcome. The second reason is that we do not

use a disease severity *sensu stricto*, but a total disease area that cannot be limited in practice by a maximum number of lesions per root and varies between 0 and $+\infty$. We also tested whether severity (assessed as *tda*) could be modelled as a function of *d*, *si*, and thermal time *t*, according to equation (3).

$$tda = c(t) \cdot \pi \cdot d \cdot (si/2)^2 \quad (3)$$

where *c(t)* is a parameter depending on *t* the thermal time in degree-days since sowing.

To be able to fit these equations, we first had to describe with some details (i) the kinetics of CCS obtained in field experiments after artificial soil infestation using the standardised measurements (*i*, *d*, *si*, and *tda*), and (ii) the evolution in number and size of CCS lesions. We then tested correlations between these measurements to establish whether precise recordings of all lesions were necessary to describe exhaustively CCS intensity. Finally, we tested if pathometric relationships should be developed using all the lesions, even if the disease intensity was sometimes overestimated because of the presence of only very small lesions.

2.2. Data acquisition

Field experiment - In the experimental field of the Station INRA (Le Rheu, Ille-et-Vilaine, France), three annual experiments were conducted in 2001, 2002 (in zone A) and 2003 (in another area, zone B). The soil was inoculated with *P. violae* (strain Pv490, CBS 102.609). Inoculum was produced by infecting 240 g of barley kernels, previously placed in a bag with 300 ml distilled water and autoclaved twice at 120°C for one hour at 24 hours interval, with mycelial plugs from an actively growing culture of Pv490. Inoculated bags were incubated for three weeks at 20°C in a dark room before infected kernels were used for soil inoculation.

The experimental area included 16 rectangular plots (2 x 6 m), combined into four blocks of four plots. In 2001 (zone A) and 2003 (zone B), infected barley grain was added at 5 g/m² (Pv1), 50 g/m² (Pv10), or 500 g/m² (Pv100) to plots, to obtain a complete randomised block design with four replicates. One plot per block was left as a non-inoculated control (T). The plots were seeded to carrot (cv. Nanco) on 22 May 2001, 13 June 2002, and 20 May 2003, each plot consisting of five rows 50 cm apart from each other, with a target density of 80 plants per linear meter within rows. The three central rows (r2, r3 and r4) of each plot were regularly used for disease assessments: 8, 5 and 6 samples were harvested in 2001, 2002, and 2003, respectively. Each sample consisted of all the roots present along a 50 cm long row section (30-40 carrot roots). The number and size of lesions were assessed on each root and disease measurements *i*, *d*, *cd*, *si*, and *tda* were calculated.

Field survey - An epidemiological survey was conducted in the Créances area (Manche, France), which is an intensive carrot production area with homogenous pedo-climatic, cultural, and socio-economic conditions. This area is a traditional production area of carrots with small (45 ha on average), highly specialised farms. Soils are sandy and the organic matter rate is low (between 1 and 1.5 %). Carrots are usually stored in the soil of commercial fields during the winter: rows are covered by sand or straw just before the decrease of temperature. CCS can be severe in the fields with repeated cultivation of carrots. *P. violae* and *P. sulcatum* are the species most frequently isolated from CCS lesions in this area (Breton, 1993). The survey concerned carrot crops sown between June 1th and June 20th, 2002 and harvested between January 20th and February 6th, 2003. After harvest, roots were collected into trailers and sent to the cooperative factory to be washed and graded. In each trailer containing carrots coming from a single field, 300 carrots were sampled as 10 sub-samples of 30 roots. 50 trailers corresponding to 33 different fields were sampled. Symptoms of CCS were assessed as described above.

Controlled conditions experiment - An artificial soil infestation with necrotic tissue naturally infected with *P. violae* was performed. Typical lesions on 5-month-old carrot roots were cut into small fragments (2-3 mm side), and placed in sterilised soil dispatched to 4 L plastic pots. Four inoculation doses (C1: 0.35 g fragments / 4 L pot; C2: 1.75 g fragments / 4 L pot; C3: 3.5 g fragments / 4 L pot; C4: 7 g fragments / 4 L pot) were used. Each treatment was repeated three times. Seven carrot seeds (cv. Nanco) were sown in each pot immediately after inoculation. Pots were placed in controlled growth conditions (14 hours of daylight at 20°C and 8 hours of night at 12°C), and watered on the soil surface as needed to adjust soil moisture to the water holding capacity. Carrot roots were harvested 12 weeks after sowing, washed and CCS symptoms were scored as described above.

2.3. Statistical analyses and models

Single correlation analysis was used to investigate relationships between the five disease measurements (i , d , cd , si , and tda) and truncated disease incidence i_{Δ} according to different values of Δ . This analysis determined the value of Δ (i.e. the minimal size of lesion to be taken into account) optimizing each correlation. To avoid variation caused by experimental procedures in artificially infected trials, correlations were examined only with data issued from the ‘survey’ 2003. Correlation analysis was also used without truncation ($\Delta=0$) to illustrate the relationships between i , d , cd , si , and tda with data from the ‘field experiment’ 2001, 2002 and 2003, from the ‘survey’ 2003, and from the ‘controlled conditions experiment’.

The model $i = b \cdot (1 - e^{-a(t) \cdot tda})$ (2) was fitted to the data with $b = 100$. Parameter $a(t)$ was set constant for data from the ‘survey’ and the ‘controlled condition experiment’ in

which carrot roots were harvested at a single date, but varied with t for data of the 'field experiment' for which several sampling dates were available. The linearity of $a(t)$ was tested. The model $tda = c(t) \cdot \pi \cdot d \cdot (si/2)^2$ (3) was used to examine relationships between tda , d , and si with the same data set. As previously, $c(t)$ was set constant for data from the 'survey' and the 'controlled condition experiment', but varied with t for data from the 'field experiment'.

3. Results

3.1. Dynamic of CCS epidemics

The CCS epidemics recorded in the 'field experiment' in 2001 were illustrated with four disease variables (i , cd , si , and tda) (Figure II-3). For each inoculum dose, disease progress curves correspond to the mean of the four plot repetitions. During the first part of the epidemics (June to September, i.e. 0 to 1500 degree-days), the four disease variables increased slowly. The disease level, illustrated by the mean conditional disease density cd (about 1.5 lesions per diseased root) and the mean incidence i (ranging from 10 % to 20 %), seemed stable during summer before increasing again quickly during the autumn. As with the incidence i , the total disease area tda soared between the fifth (September 9th, 2001) and sixth (November 5th, 2001) sampling dates, and marked also a second epidemic high increase meaning that the epidemic may be in a second stage. The mean incidence i was 6 % in control plots against 15-20 % in infested plots for sampling s5, and 48 % against 70-85 % for sampling s8. In controls (T), final disease intensity was high because several endogenous species responsible for CCS were present in soil.

The conditional density of lesions cd was recorded according to their diameter at different sampling dates in the 'field experiment' (s3 to s8 in 2001, s3 to s5 in 2002, s2 to s5 in 2003). The data corresponded to the number of lesions arranged by diameter (<1 to >10 mm) extrapolated to 1000 carrot roots, and to the percentage of lesions in each diameter class (Figure II-4). At the beginning of epidemic in 2001, the diameter of most lesions was less than 3 mm. After the middle stage of epidemic in autumn (s5), larger lesions appeared (ranging from 5 to 10 mm in diameter), whereas the proportion of small lesions (< 3 mm) was stable or decreased. At the end of winter and during early spring (s7 and s8), the number and the percentage of small lesions increased again. Approximately the same pattern was observed during the 2002 epidemic: largest lesions (> 5 mm) appeared during the autumn (s4 and s5), whereas the proportion of small lesions (<3 mm) was stable or decreased during the same period. In 2003, the evolution of the lesion size cohort was different: the number of smallest lesions increased regularly, whereas the proportion of largest lesions decreased at the beginning of autumn (s3 and s4).

In 2001 and 2002 the proportion of small lesions (< 3 mm) was regularly decreasing during the growth cycle, unlike the proportion of larger lesions (> 5 mm), which

Figure II-3 Disease progress curves illustrated by four CCS measurements for season 2001 in the 'field experiment' (Le Rheu, Ille-et-Vilaine, France).

Disease incidence i , conditional lesion density cd , symptom intensity si and total disease area tda are plotted against time (thermal time in degree-days after sowing; basal temperature = 3.5°C); different doses of inoculum of *P. violae* are presented: Pv1 (▲), Pv10 (●), Pv100 (◆), and control T (◇).

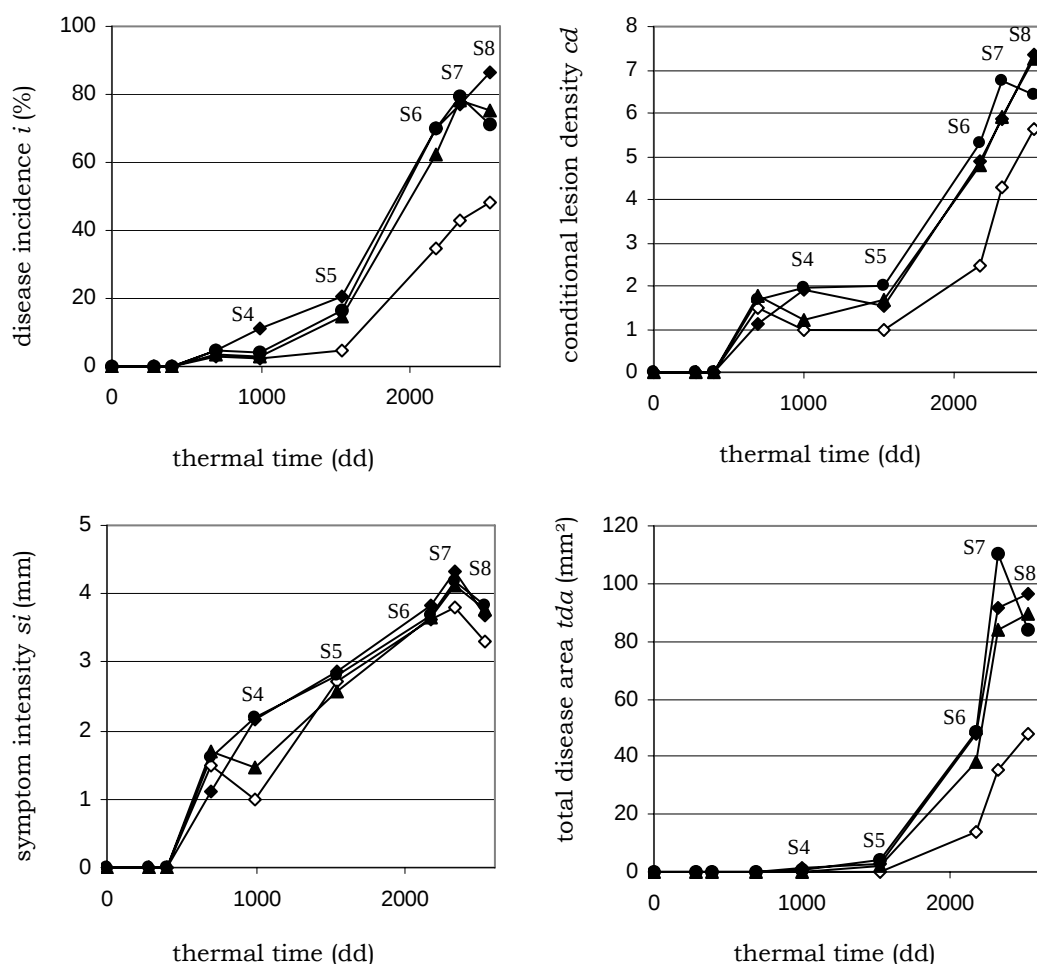


Figure II-4 Evolution in number and proportion of CCS lesions according to their mean diameter during three years of epidemic in ‘field experiment’ (Le Rheu, Ille-et-Vilaine, France).

A - 2001. **B** - 2002. **C** - 2003. White circles (○) represent the number of lesions pertaining to the same cohort size, extrapolated to 1000 carrot roots (left vertical scale); black circles (●) represent the percentage of lesions pertaining to the same cohort size (right vertical scale); curves were built with three inoculum doses pooled (Pv1, Pv10, and Pv100).

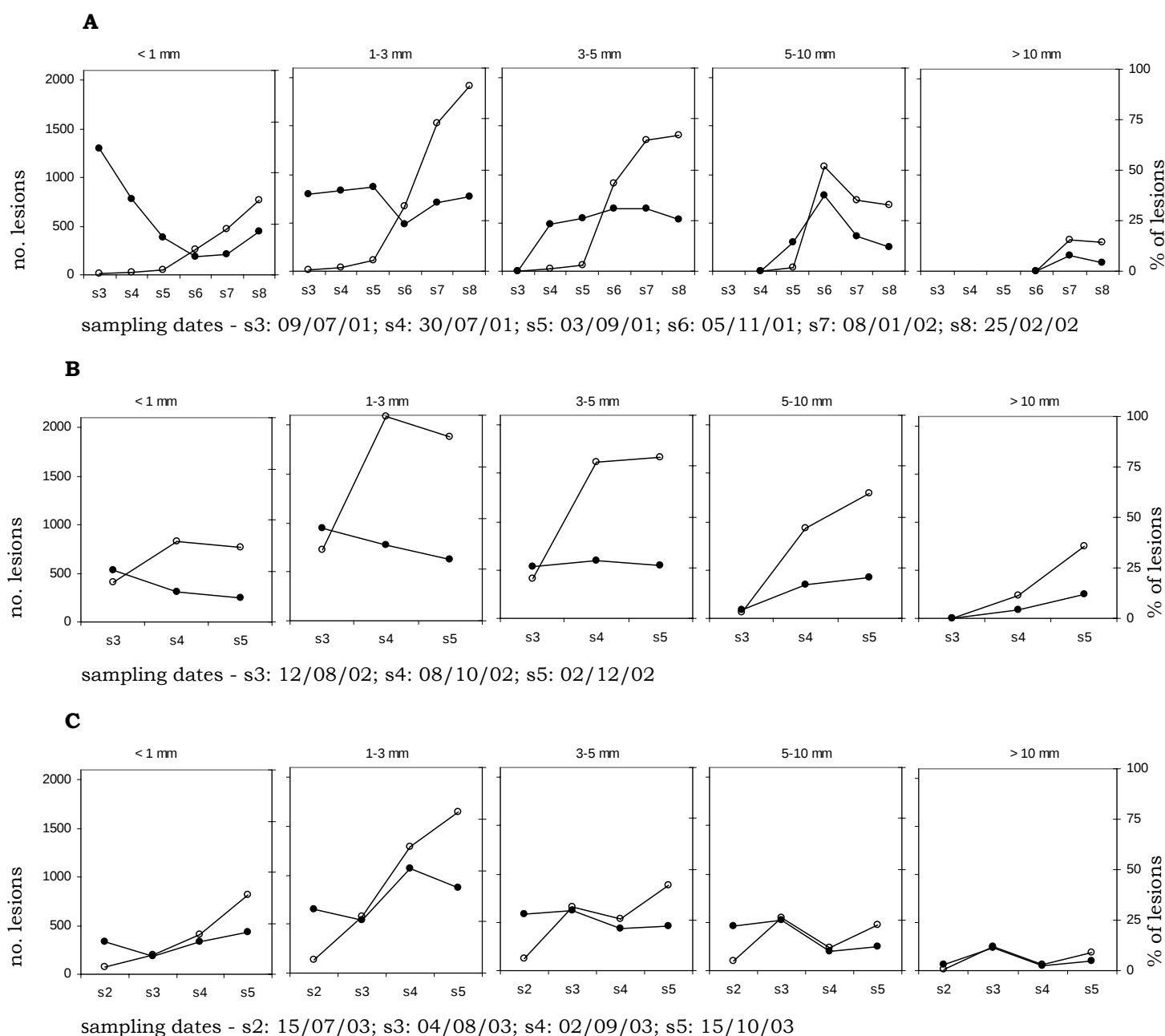
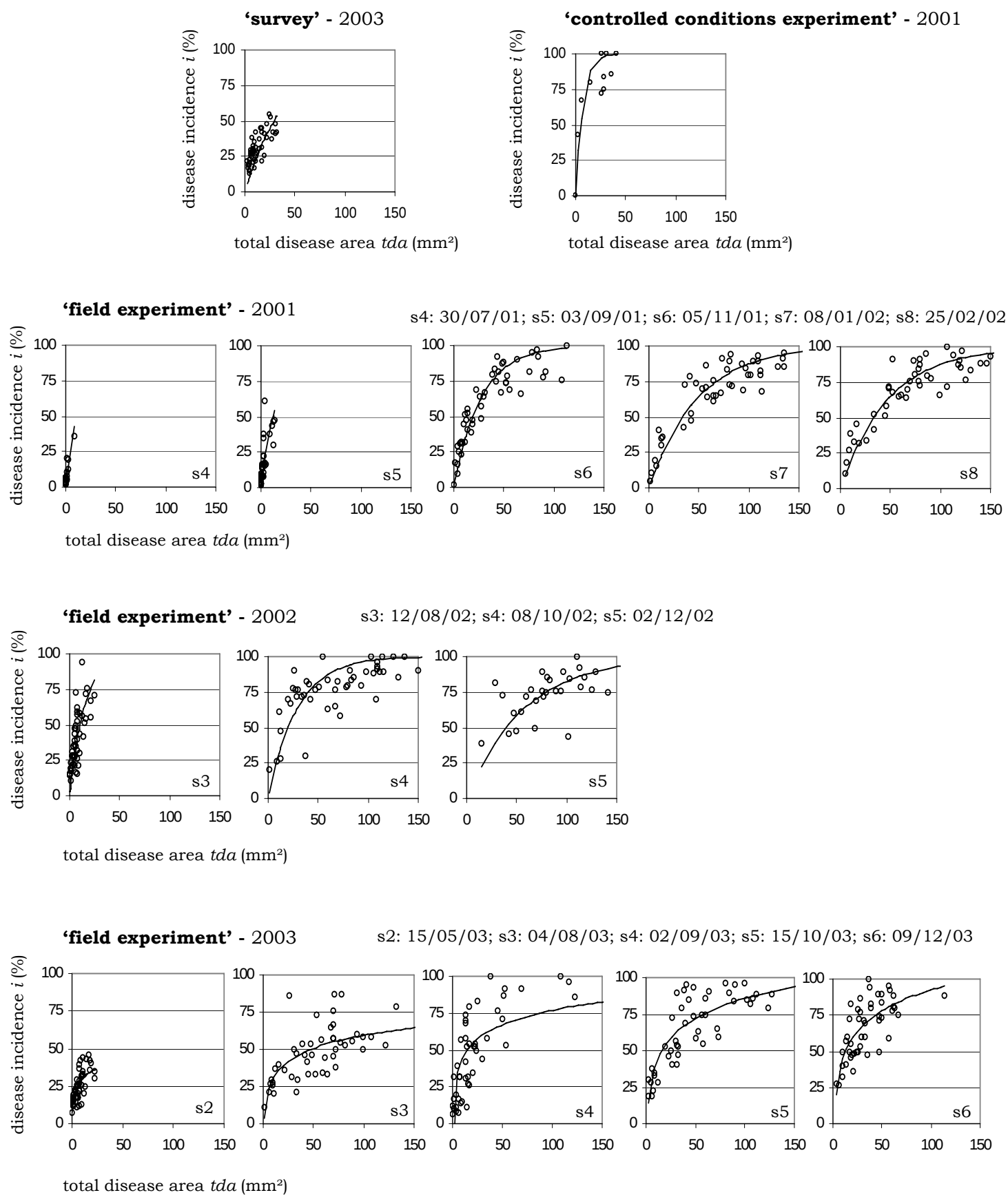


Figure II-5 Relationship between disease incidence i and total disease area tda with the equation $i = 100.(1-\exp(-a(t).tda))$, where t is the thermal time.



increased (Figure II-4). But it was difficult to establish that a given small lesion (e.g. < 3 mm) became larger (e.g. > 5 mm) because new lesions could not be distinguished from the old. Nevertheless, the decrease of the number of lesions in the 5-10 mm class and the increase of the number of lesions larger than 10 mm between s6 and s8 in 2001 suggest an increase of the size of old lesions during this period: the difference in number of lesions size 5-10 mm between s6 and s7 (a decrease of about 300 per 1000 carrots) was exactly compensated by the increase in the number of lesions bigger than 10 mm. This suggests that large lesions (> 10 mm) do not appear suddenly, but corresponded to the growth of small existing cavities.

3.2. Correlation and relationships among disease measurements

Correlation between disease measurements and truncated disease incidence i_{Δ} - Not surprisingly, a good correlation was established between disease incidence i and truncated disease incidence i_{Δ} , although correlation coefficients failed to reach statistical significance (Annexe II-1). The coefficient of correlation R decreased with increasing Δ ($R = 0.994$ between i and i_l to $R = 0.800$ between i and i_{10}). Values of Δ optimising the correlation between i_{Δ} and other disease measurements (d , cd , si , and tda) were not homogeneous: low ($\Delta = 0$ or 1 mm) for correlation with d and cd , and high ($\Delta = 5$ or 10 mm) for correlation with si and tda . To keep the most complete information available, the non-truncated disease incidence i ($\Delta = 0$) was used to establish pathometric relationships in the rest of this chapter.

Correlation between non-truncated disease measurements - Correlations between different disease measurements (i , d , cd , si , and tda) were examined for the 'field experiment' (2001, 2002 and 2003), the 'survey' (2003), and the 'controlled conditions experiment' (Annexe II-2). As expected, the correlation between lesion density d and disease conditional density cd (two linked variables) was good ($R = 0.875$ for the 'survey' data, and respectively 0.963, 0.972 and 0.963 for the 'field experiment' 2001, 2002 and 2003). High correlation was regularly obtained for disease incidence i and lesion density d ($R = 0.944$ for the 'survey' data, 0.886, 0.848 and 0.887 for the 'field experiment' in 2001, 2002 and 2003, respectively, and 0.951 for the 'controlled conditions experiment'). The correlation between incidence i and tda was also regularly good ($R = 0.840$ for the 'survey', 0.915 for the 'controlled conditions experiment', and respectively 0.832, 0.714 and 0.665 for 'field experiment' 2001, 2002 and 2003). Nevertheless, several correlations were much less: for example symptom intensity si was poorly correlated with other disease measurements. The correlation was particularly low for 'field experiment' 2003, compared to that with the data from 2001 and 2002.

Table II-3 Relation between disease incidence i and total disease area tda with the equation $i = 100.(1-\exp(-a(t).tda))$ with data obtained during three successive CCS epidemics in the 'field experiment' (Le Rheu, Ille-et-Vilaine, France).

t is referring to the thermal time expressed in degree-days after sowing (basal temperature = 3.5°C); values of the parameter a were optimised by the method of minimisation of sums of squares; R is the coefficient of correlation between experimental data and simulated data; ** means $P < 0.01$.

	date	thermal time (dd) after sowing	$a(t)$	R	size of sample
'field experiment'					
2001					
s4	30/07/01	997	0.067	0.940 **	28
s5	03/09/01	1535	0.058	0.798 **	40
s6	05/11/01	2175	0.036	0.934 **	48
s7	08/01/02	2325	0.021	0.930 **	48
s8	25/02/02	2534	0.021	0.927 **	47
2002					
s3	12/08/02	1087	0.067	0.808 **	56
s4	08/10/02	1795	0.034	0.782 **	57
s5	02/12/02	2162	0.017	0.738 **	57
2003					
s2	15/07/03	827	0.035	0.722 **	48
s3	04/08/03	1154	0.012	0.659 **	48
s4	02/09/03	1663	0.038	0.819 **	48
s5	15/10/03	2183	0.029	0.858 **	48
s6	09/12/03	2351	0.039	0.747 **	48
'survey'					
2003	15/01/03 to 30/01/03	~ 2000	0.024	0.893 **	55
'controlled conditions experiment'					
2001	-	~ 600	0.140	0.929 **	10

Figure II-6 Illustration of coefficient α and β for the linear regression $a(t) = \alpha.t + \beta$ with data obtained during three successive CCS epidemics in the ‘field experiment’ (Le Rheu, Ille-et-Vilaine, France).

A - 2001. **B** - 2002. **C** - 2003; t is referring to the thermal time expressed in degree-days after sowing (basal temperature = 3.5°C).

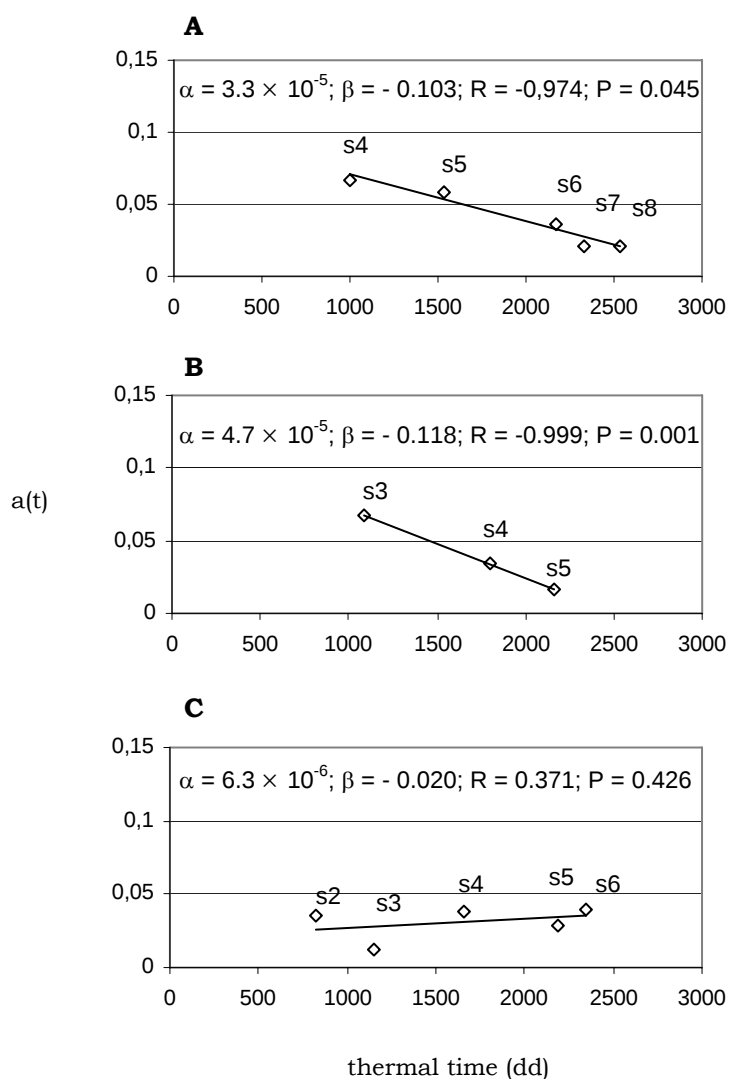


Table II-4 Relation between total disease area tda , lesion density d and symptom intensity si with the equation $tda = c(t). \pi. d. (si/2)^2$ with data obtained during three successive CCS epidemics in the 'field experiment' (Le Rheu, Ille-et-Vilaine, France).

t is referring to the thermal time expressed in degree-days after sowing (basal temperature = 3.5°C); values of the parameter c were optimised by the method of minimisation of sums of squares; R is the coefficient of correlation between experimental data and simulated data;

** means $P < 0.01$.

	date	thermal time (dd) after sowing	c(t)	R	size of sample
'field experiment'					
2001					
s4	30/07/01	997	0.957	0.991 **	28
s5	03/09/01	1535	0.896	0.929 **	40
s6	05/11/01	2175	1.047	0.995 **	48
s7	08/01/02	2325	1.405	0.992 **	48
s8	25/02/02	2534	1.440	0.985 **	47
2002					
s3	12/08/02	1087	1.953	0.988 **	56
s4	08/10/02	1795	2.204	0.998 **	57
s5	02/12/02	2162	1.886	0.992 **	57
2003					
s2	15/07/03	827	2.297	0.992 **	48
s3	04/08/03	1154	1.968	0.991 **	48
s4	02/09/03	1663	1.755	0.980 **	48
s5	15/10/03	2183	2.197	0.996 **	48
s6	09/12/03	2351	2.096	0.986 **	48
'survey'					
2003	15/01/03 to 30/01/03	~ 2000	1.238	0.994 **	55
'controlled conditions experiment'					
2001	-	~ 600	0.166	0.954 **	10

Specific relationship between disease incidence i and total disease area tda - Fitting equation (2) gave values of parameter $a(t)$ ranging from 0.012 to 0.67 for data from the 'field experiment' (R ranging from 0.659 to 0.940, $P < 0.01$) (Figure II-5; Table II-3). For the 'survey' and 'controlled conditions experiment' data, the parameter values were $a = 0.024$ ($R = 0.893$, $P < 0.01$) and $a = 0.140$ ($R = 0.929$, $P < 0.01$), respectively. The correlation between i and tda was largely independent of the intensity of CCS. Value of the fitted parameter $a(t)$ decreased constantly over time for the 'field experiment' during the seasons 2001 and 2002. The linear regression was good: the equation $a(t) = \alpha \cdot t + \beta$ was fitted with $\alpha = 3.3 \times 10^{-5}$ and $\beta = -0.103$ for 2001 ($R = -0.974$, $P = 0.045$) and $\alpha = 4.7 \times 10^{-5}$ and $\beta = -0.118$ for 2002 ($R = -0.999$, $P = 0.001$) (Figure II-6). No similar decrease was found in 2003.

Specific relationship between disease area tda , lesion density d and symptom intensity si - The fitted values of parameter $c(t)$ varied widely: between 0.896 and 2.297 with a coefficient of correlation R ranging from 0.929 to 0.998 ($P < 0.01$) for the three years of 'field experiment', 1.238 with a coefficient of correlation $R = 0.994$ ($P < 0.01$) for the 'survey', and 0.166 with a coefficient of correlation $R = 0.954$ ($P < 0.01$) for the 'controlled conditions experiment' (Table II-4). Contrary to $a(t)$, no significant change of c with time was established.

4. Discussion

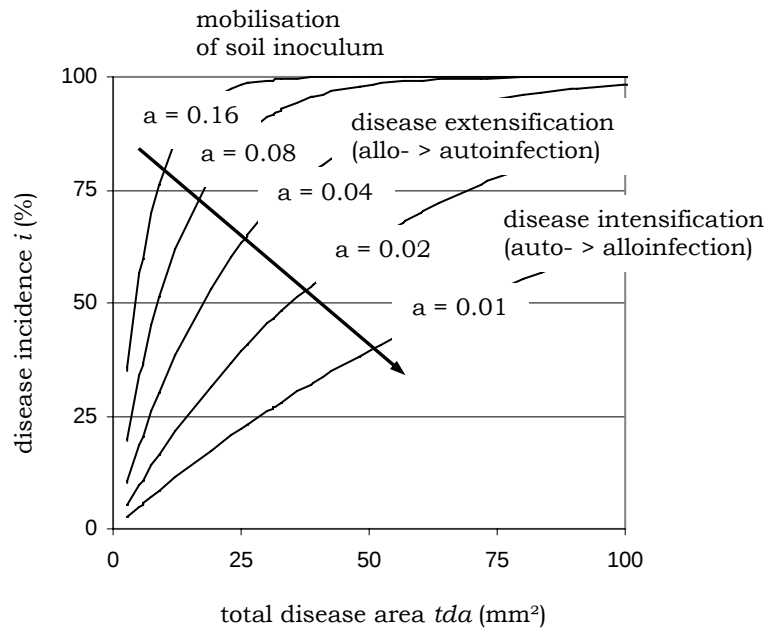
4.1. Robustness of the pathometric relationships

Correlations between disease variables d and tda , and between d and cd , were good, but not surprising. Correlations between i and d , and between i and tda , are certainly more important to notice, because these measurements are reflections of conventional 'incidence' and 'severity'. The pathometric relationships between i and tda , and tda and si , were well described by the two models (equations (2) and (3), respectively) in the three types of experiments ('survey', 'field experiment', and 'controlled conditions experiment'). Both models appear therefore robust enough to be used in different conditions and types of epidemics.

Changes in lesion sizes over time were similar in 2001 and 2002, but differed from those observed during the 2003 epidemic. Parameter $a(t)$ from equation (2) decreased regularly with increasing thermal time in 2001 and 2002, but not in 2003. These three elements suggest that epidemiological processes inducing CCS were delayed or limited in 2003. This was confirmed by the direct comparison of disease progress curves (data not shown). The exceptionally hot and dry climatic conditions in summer of 2003 (mean of mean daily temperatures in August of 21.5°C in 2003, against 18.9°C in 2001 and 17.50°C in 2002, and mean of maximal daily temperatures in August of 29.7°C in 2003, against 24.5°C in 2001 and 23.7°C

Figure II-7 Theoretical relationships between disease incidence i and total disease area tda with the equation $i = 100.(1-\exp(-a(t).tda))$.

Evolution of $a(t)$ values suggests a change of epidemiological phases with time; arrow indicates increasing level of lesions aggregation at the population root scale.



in 2002) may be a cause of the differences between epidemiological processes during the three years.

4.2. CCS infectious processes and disease intensification

Because the monitoring of lesions on underground organs can only be done by destructive sampling of the root system, the understanding of the dynamics of soil-borne diseases is often based on hypotheses and deductions about epidemiological processes. Some of these hypotheses can be elaborated from the relationships between disease measurements. The linear decrease of parameter $a(t)$ with increasing thermal time in equation (2) suggests temporal changes in epidemiological processes or scales of spatial hierarchy during CCS epidemics (Figure II-6). Indeed, the product $a(t) \times b$ represents the slope of the tangent at the origin of the graph derived from equation (2). With a set value of b (100 in our case), the decrease of $a(t)$ with thermal time means that total disease area (tda) is higher late than early in the epidemic for the same level of mean incidence i . Therefore, parameter $a(t)$ decreases with increasing disease aggregation. The value of the product $a(t) \times b$ thus reflects the balance between infection from soil inoculum (primary infections) and infection from existing lesions, corresponding to disease intensification on the same root and to plant-to-plant spread (secondary infections) (Gilligan, 1985). The fact that parameter $a(t)$ did not change over time in 2003 may be due to the exceptional dryness of the 2003 summer, which could have prevented both disease intensification (lesion growth and secondary autoinfection) and disease extensification (secondary alloinfection) between s_4 and s_6 because of low soil moisture ; the phase of soil inoculum mobilisation seems to have been less affected. In 2001 and 2002, the decrease of $a(t)$ with thermal time illustrated the disease intensification at the root scale increased ($a < 0.04$), after first phases of inoculum mobilisation ($a > 0.06$) and disease extensification (plant-to-plant spread) ($0.04 < a < 0.06$) (Figure II-6 and II-7).

Relationships between disease measurements can be framed within a spatial hierarchy approach (McRoberts *et al.*, 2003). Seem (1984) suggested also that “an incidence measure at one level can become a severity measure at a higher level”. Hughes *et al.* (1997) formulated several theoretical relationships between disease measurements made at two levels in a spatial hierarchy. Most recently, the sensitive analysis proposed by Willocquet & Savary (2004) showed the effect of the deposition pattern on the speed of epidemics at different scales in a theoretical disease model. The relationships between disease incidence at a larger scale and disease incidence at a lower scale showed that the slope of the curves decreased as the ratios of allo-leaf- and allo-plant-deposition decreased. Other theoretical and modelling studies showed that the slope of the incidence-severity curve increases with alloinfection processes, as well as when disease aggregation decreases: greater aggregation of disease is characterised by lower disease incidence at a given level of disease density (Hughes *et al.*, 1997; McRoberts *et al.*, 2003). Theoretical curves

described by equation (2) and experimentally illustrated in the literature are coherent with our experimental data: the decrease of curve slopes and the increase of disease aggregation at the root population scale may be due firstly to the increase of the ratio secondary infection / primary infection, and secondly to the increase of the ratio auto-infection / alloinfection, although these processes were not yet experimentally demonstrated for CCS.

Differences in lesion density d and total disease area tda have also considerable epidemiological significance: roots with numerous and large lesions may produce more potential new inoculum for secondary infections than roots with fewer and smaller lesions.

4.3. Prospect of application for CCS management

White (1988) reported that fungicide treatments (metalaxyl + mancozeb) reduced the percentage of carrots with CCS lesions (i.e. i) and the mean number of lesions per root (i.e. d), but their size (i.e. s) was not strongly affected: in few cases, a limited effect on size distribution was noted. Phelps *et al.* (1991) established also that the mean number of clusters of lesions per carrot root can be affected by fungicides, whereas the reproduction rate of clusters was affected by cultivars. The effects of metalaxyl and cultivars on mean root weight of carrots, percentage of CCS (i.e. i), and mean number of lesions per affected root (i.e. cd) were tested. The fungicide effect was stronger on some cultivars.

To evaluate the susceptibility of different carrot cultivars, samples of roots may be scored for both disease incidence and lesion density, or for disease incidence and total disease area. Canaday *et al.* (1991) proposed to use a pathometric relationship between incidence and severity to evaluate broccoli cultivars and lines for resistance to spear rot. A low severity score at moderate to high incidence might be indicative for a genotype that limits the rate of disease development subsequent to initial infection. We suggest extrapolating this approach to carrot, in which only quantitative differences in susceptibility exist (Villeneuve *et al.*, 1997; McKay & Davison, 1998).

Pathometric relationships can help to assess integrated control strategies of CCS in the field, especially through analysis of the influence of some cropping factors (irrigation, soil aeration, fungicide treatment, disinfection, nitrogen fertilizing, or seedlings density) on infection (as measured by incidence and lesion density) and/or on lesion growth (as assessed through the mean size of lesions). Separate disease measurements can be used to test the effects of crop practices on soil-borne disease incidence, on the amount of disease over all plants, and on disease severity (Werker & Gilligan, 1990). Pathometric relationships may thus serve as a first step to analyse the impact and the efficiency of management options on different epidemiological processes in CCS epidemics.

References

- Breton D and Rouxel F (1993) Données récentes sur le cavity spot de la carotte en France. *Acta Horticulturae* 354: 159-170.
- Canaday CH, Wyatt JE and Mullins JA (1991) Resistance in broccoli to bacterial soft rot caused by *Pseudomonas marginalis* and fluorescent *Pseudomonas* species. *Plant Disease* 75(7): 715-720.
- Gaunt RE (1995) The relationship between plant disease severity and yield. *Annual Review of Phytopathology* 33: 119-144.
- Gilligan CA (1985) Probability models for host infection by soilborne fungi. *Phytopathology* 75(1): 61-67.
- Hiltunen LH and White JG (2002) Cavity spot of carrot (*Daucus carota*). *Annals of Applied Biology* 141: 201-223.
- Hughes G, McRoberts N, Madden LV and Gottwald TR (1997) Relationships between disease incidence at two levels in a spatial hierarchy. *Phytopathology* 87(5): 542-550.
- James WC and Shih CS (1973) Relationship between incidence and severity of powdery mildew and leaf rust on winter wheat. *Phytopathology* 63: 183-187.
- McKay A and Davison E (1998) Carrot variety screening for cavity spot tolerance. Carrot Export Development Project.
- McRobert N, Hughes G and Madden LV (2003) The theoretical basis and practical application of relationships between different disease intensity measurements in plants. *Annals of Applied Biology* 142: 191-211.
- Phelps K, White JG and Henn AJ (1991) Studies on the frequency distribution of *Pythium*-induced cavity spot of carrots. *Annals of Applied Biology* 119(1): 21-30.
- Rouse DI, MacKenzie DR, Nelson RR and Elliott VJ (1981) Distribution of wheat powdery mildew incidence in field plots and relationship to disease severity. *Phytopathology* 71: 1015-1020.
- Seem RC (1984) Disease incidence and severity relationships. *Annual Review of Phytopathology* 22: 137-150.
- Tamet V, Durr C and Boiffin J (1993) Croissance des plantules de carotte de la germination jusqu'à l'apparition des premières feuilles. First International Workshop on Carrot, 15 et 16 septembre 1992, Caen, France, *Acta Horticulturae / CTIFL*.
- Van der Plaats-Niterink AJ (1981) Monograph of the genus *Pythium*. *Studies in Mycology*. Baarn. 21: 224.
- Villeneuve F, Bosc JP, Rouxel F and Breton D (1997) Intra and inter specific variability of *Pythium* and possibility of varietal resistance improvement in carrot. *Journal of Applied Genetic* 38A: 71-80.
- Werker AR and Gilligan CA (1990) Analysis of the effects of selected agronomic factors on the dynamics of the take-all disease of wheat in field plots. *Plant Pathology* 39: 161-177.
- White JG (1986) The association of *Pythium* spp. with cavity spot and root dieback of carrots. *Annals of Applied Biology* 108: 265-273.
- White JG, Stanghellini ME and Ayoubi LM (1988) Variation in the sensitivity to metalaxyl of *Pythium* spp. isolated from carrot and other sources. *Annals of Applied Biology* 113: 269-277.
- Wilocquet L and Savary S (2004) An epidemiological simulation model with three scales of spatial hierarchy. *Phytopathology* 94: 883-891.



CHAPITRE III

Modélisation de cinétiques de cavity spot
et formulation d'hypothèses mécanistes



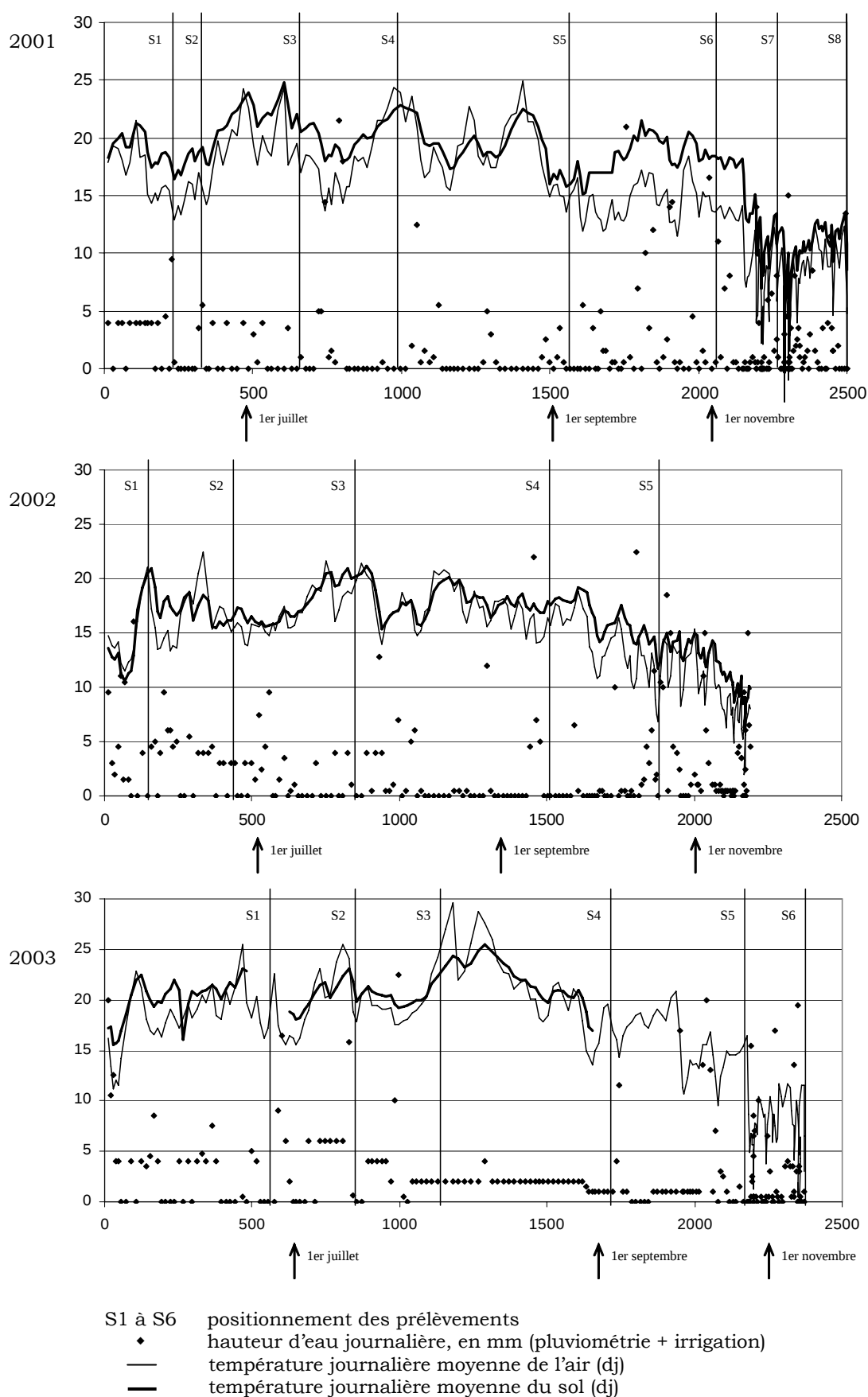
PROBLEMATIQUE

Le manque de données épidémiologiques disponibles sur le cavity spot, constatée au Chapitre I, nous a conduit dans un premier temps à définir des variables de maladie et à proposer une illustration de forme classique - en l'occurrence sigmoïde - des cinétiques de maladie (Chapitre II). Nous cherchons désormais à aller au-delà de cette analyse descriptive et à identifier des éléments sur lesquels nous appuyer pour formuler des hypothèses permettant de mieux comprendre la façon dont une épidémie de cavity spot se développe. L'objectif de cette partie est de décrire plusieurs scénarios de maladie à partir d'essais au champ, si possible avec des différences en terme de « dynamique », en faisant varier la densité initiale d'inoculum dans le sol.

Les résultats obtenus ont concerné des relations pathométriques, c'est-à-dire des relations entre les différentes variables de maladie, et ont été discutés au Chapitre II. Ils nous ont amené à proposer des hypothèses intégrant deux types de processus infectieux (infections primaires et infections secondaires). L'objectif est désormais de vérifier si l'hypothèse des infections secondaires est compatible avec des cinétiques de maladie obtenues au champ, en étudiant les effets de la densité d'inoculum sur l'intensité des attaques à différents stades de l'épidémie. Si effets il y a, à quel moment se manifestent-ils ? La question de la concomitance des infections primaires et des infections secondaires, une fois étayée l'hypothèse de leur existence, se pose également. Nous nous proposons d'étudier la façon dont différents modèles s'ajustent aux données, chacun d'entre eux intégrant ou non la concomitance des deux types de processus. Nous écartons définitivement le modèle monomoléculaire pour des raisons évidentes. Nous choisissons de tester le modèle logistique (impliquant seulement des infections secondaires), le modèle bi-logistique de Hau & Amorim (Amorim *et al.*, 1993 ; Hau *et al.*, 1993) (impliquant la non-concomitance des infections primaires et secondaires), et le modèle de Brassett & Gilligan (1988) (impliquant la concomitance des infections primaires et secondaires) sans décroissance théorique de l'efficacité de l'inoculum primaire au cours du temps. Le but est de voir si la qualité d'ajustement des modèles s'oppose à l'une ou l'autre des hypothèses, tout en comparant leur efficacité respective.

Figure III-1 Données climatiques (températures et précipitations) de l'essai triennal mené au champ entre 2001 et 2003.

En abscisses : somme de températures (dj), en base 3,5°C.



CHAPITRE III – MODELISATION DE CINETIQUES DE CAVITY SPOT ET FORMULATION D'HYPOTHESES MECANISTES

1. Matériel et méthodes

1.1. Dispositif expérimental

1.1.1. Dispositif d'essais pluriannuels

Le dispositif expérimental triennal mis en place entre 2001 et 2003 se compose de 16 micro-parcelles rectangulaires (2×6 m) disposées régulièrement sur une surface totale travaillée de 560 m^2 (16×35 m) au sein d'une parcelle du domaine expérimental de l'INRA (Le Rheu, Ile-et Vilaine, France), dans deux zones adjacentes distinctes : zone A en 2001 et 2002, et zone B en 2003.

Il ressort du profil azoté minéral de la parcelle (zone A et B) que celle-ci présente une faible teneur en azote (en moyenne $41 \text{ kg} \cdot \text{ha}^{-1}$ de N sur les 90 premiers centimètres d'épaisseur). Au printemps 2001, le sol apparaît saturé en eau (taux réel d'humidité de 22 %). Ces résultats s'expliquent par des conditions climatiques exceptionnellement pluvieuses qui n'ont pas permis un ressuyage avant le mois d'avril 2001, accentuant vraisemblablement les pertes azotées dues à un lessivage prolongé des horizons superficiels. L'analyse physique révèle que le sol de la parcelle est lourd et compact, riche en limons (62,5 %) et argiles (16,3 %), et pauvre en sable (21,2 %), avec un indice de battance élevé (2,1). Cette composition reflète bien le type de sols du bassin de Rennes. Un précédent trèfle, broyé un mois avant le dernier travail du sol en 2001, a permis de maintenir un taux de matière organique satisfaisant (2,4 %) tout en limitant la quantité de matière végétale non décomposée.

Un abri météorologique est installé au centre de la parcelle durant toute la durée des essais. Il contient un capteur électronique HOBO™ H8 (PROSENSOR) équipé de deux sondes thermiques, l'une interne sensible à la température atmosphérique (température de l'air sous abri à 1 m du sol), l'autre externe sensible à la température de la rhizosphère (température du sol à 20 cm de profondeur) ; les mesures ont lieu toutes les 15 minutes. Des relevés pluviométriques sont réalisés quotidiennement à l'aide d'un pluviomètre à augets. Les données climatiques sont présentées à la Figure III-1.

1.1.2. Préparation de l'inoculum et infestation du sol des micro-parcelles

La souche de *Pythium* utilisée pour inoculer les micro-parcelles est l'isolat Pv490 (CBS 102.609) appartenant à l'espèce *Pythium violae*. La souche a été isolée en mars 1994 à partir de lésions de cavity spot provenant d'une parcelle située à

Tableau III-1 Doses d'infestation du sol par *Pyhtium violae* pratiquées en 2001 (zone A) et 2003 (zone B).

	T	D1	D10	D100
dose / m ² (poids sec de grains / m ²)	0 g.m ⁻²	5 g.m ⁻²	50 g.m ⁻²	500 g.m ⁻²
dose / micro-parcelle ^a (poids frais de grains / micro-parcelle)	0 g.mp ⁻¹	125 g.mp ⁻¹	1250 g.mp ⁻¹	12500 g.mp ⁻¹

^a Base de la préparation : sachet autoclavé contenant initialement 200 g de grain d'orge sec et 240 ml d'eau, conduisant en moyenne à 420 g de grain frais après 3 semaines de culture de *P. violae*.

Tableau III-2 Conditions de l'essai triennal mené au champ entre 2001 et 2003.

Année	Date de semis	Zone	Date d'infestation	Dates de notation de cavity spot (et sommes de températures après semis)
2001	143 (22 mai)	A	116	164 (281,9), 173 (397,5), 191 (692,1), 212 (996,9), 247 (1535,1), 310 (2175,2), 373 (2325,3), 421 (2534,0)
2002	165 (13 juin)	A	-	178 (181,8), 198 (431,6), 225 (816,1), 282 (1523,9), 337 (1891,4)
2003	141 (20 mai)	B	126	151 (587,7), 197 (827,3), 217 (1154,5), 246 (1663,4), 289 (2182,6), 344 (2350,9)

Les dates calendaires sont transformées en somme de températures après semis, en base 3,5°C.

Saint-Remy des Landes dans le bassin de Créances (Manche, France). Son pouvoir pathogène a été vérifié en conditions contrôlées sur des tronçons de racines de carotte après dépôt d'un explantat gélosé. L'inoculum a été apporté dans les micro-parcelles sous forme de grains d'orge colonisés par *P. violae* selon 3 doses d'infestation (D1, D10 et D100) (Tableau III-1). Des sachets plastiques thermo-résistants contenant chacun 300 ml de grains d'orge secs (environ 200 g) et 240 ml d'eau ont été autoclavés à raison de 3 passages de 1 h à 120°C. Les sachets ont été laissés au repos pendant 48 h et leur contenu inoculé par la souche Pv490 à l'aide de 5 explantats mycéliens cultivés sur milieu gélosé carotte et âgés d'une semaine. Les sachets ont ensuite été mis à incuber à l'obscurité à 20°C pendant 3 semaines. Les grains d'orge ainsi contaminés ont été dispersés manuellement sur chaque micro-parcelle aux doses adéquates. Des modalités témoins T non infestées ont été mises en place. Chaque modalité a été répétée 4 fois au sein d'un dispositif en blocs randomisés (a, b, c, d) dans la zone A en 2001 et dans la zone B en 2003. Immédiatement après l'infestation, un hersage a été pratiqué sur une profondeur comprise entre 15 cm et 18 cm. Le dispositif de la zone A a été reconduit en 2002, mais sans infestation supplémentaire, avec adjonction d'une modalité néoT répétée 4 fois (« témoin neuf », i.e. parcelles non inoculées et non cultivées en carottes au cours des cinq années précédentes).

1.1.3. Itinéraire technique

Les parcelles ont été semées les 22 mai 2001 (zone A), 13 juin 2002 (zone A) et 20 mai 2003 (zone B) (Tableau III-2). Le semis a été précédé d'un traitement contre la mouche de la carotte et les taupins par un épandage manuel de CURATER¹ (Carbofuran, 1000 g.ha⁻¹) juste avant le dernier travail du sol. Le lit de semence a été préparé à plat. Des bandes de papier cellulosiques pré-ensemencées² ont été utilisées de façon à obtenir une densité de semis régulière (théoriquement 80 graines par mètre linéaire) et la levée la plus homogène possible ; dans chaque micro-parcelle, 5 bandes de 9 cm de large ont été disposées à 50 cm d'intervalle. La variété semée est Nanco³, sensible aux attaques de *Pythium* spp. (Villeneuve & Leteinturier, 1992). Les bandes ont été recouvertes de sable sur une épaisseur de 5 mm. La couverture des micro-parcelles avec du voile de croissance P17 (CELLOPLAST) a assuré une levée rapide, ainsi qu'une protection contre les intempéries durant les premières phases du cycle de culture.

Un traitement curatif herbicide DOSANEX⁴ (Métoxuton, 4000 g.ha⁻¹), complété par un désherbage manuel en cours de culture, a été réalisé trois semaines après la

¹ Produit phytosanitaire commercialisé par la société BAYER CROPSCIENCE.

² Fabrication réalisée par la société ISITECH (Nantes, Loire-Atlantique), filiale de ISITOP (Saint-Gilles, Ille-et-Vilaine).

³ Variété hybride F1 produite et commercialisée par la Société VILMORIN.

⁴ Produit phytosanitaire commercialisé par la société SYNGENTA AGRO.

levée. Un traitement fongicide curatif SCORE⁵ (Diphénoconazole, 200 g.ha⁻¹) contre des attaques foliaires de *Alternaria dauci* a été réalisé chaque année au mois d'août. Les apports annuels d'ammonitrate ont été fractionnés (20 kg.ha⁻¹ une semaine avant semis et 30 kg.ha⁻¹ un mois après la levée). Les apports en phosphate et potassium ont été réalisés un mois avant semis : 100 kg.ha⁻¹ de P sous forme de superphosphate et 130 kg.ha⁻¹ de K sous forme de patenkali.

L'arrosage par aspersion a été quotidien les 10 jours suivant le semis (entre 4 et 6 mm). Les micro-parcelles de l'essai 2003 ont été irriguées durant tout l'été pour compenser l'absence de précipitations, à raison de 2 heures d'arrosage (environ 4 mm.h⁻¹) tous les 4 à 6 jours (Figure III-1). Dès les premières fortes gelées, en décembre, les carottes ont été protégées avec du voile P17.

1.2. Notations de maladie

Des prélèvements ont été régulièrement pratiqués dans l'ensemble des micro-parcelles (S1 à S8 en 2001, S1 à S5 en 2002, S1 à S6 en 2003). Les notations de cavity spot ont fait intervenir les variables de maladie définies au Chapitre II : incidence de maladie i (*disease incidence*), densité de lésions d (*lesion density*), intensité des symptômes si (*symptom intensity*) et surface totale nécrosée tda (*total disease area*). Les différentes dates de prélèvement sont récapitulées dans le Tableau III-2.

1.3. Analyse descriptive et modélisation des cinétiques épidémiques

1.3.1. Analyse de la variance sur les variables de maladie brutes

Quatre analyses spécifiques ont été réalisées sur le jeu de données acquis en 2001 - le plus complet - et ont porté sur l'incidence moyenne de maladie i : un test d'homogénéité des variances, une ANOVA globale (toutes dates de prélèvement confondues), suivie d'une ANOVA date par date complétée par un test de comparaison des moyennes, à l'aide du logiciel SAS (Statistical Analysis System, SAS Institute Inc., 1989). Les données d'incidence i , sous forme de pourcentage, ont été préalablement transformées avec la fonction $\arcsin\sqrt{i}$. Les résultats sont présentés aux Annexes III-1a, III-1b et III-1c.

1.3.2. Analyse de la variance sur les paramètres de modélisation

1.3.2.1. Influence de la densité d'inoculum sur les paramètres du modèle

Les modèles analysés - modèle logistique, modèle bi-logistique de Hau & Amorim (Amorim *et al.*, 1993 ; Hau *et al.*, 1993), et modèle de Brassett & Gilligan (1988) -

⁵ Produit phytosanitaire commercialisé par la société SYNGENTA AGRO.

ont été présentés au Chapitre I, auquel on pourra se référer pour tout complément. L'objectif est de tester l'influence de la densité d'inoculum sur les paramètres élaborés de chacun de ces modèles.

Les données expérimentales utilisées pour ajuster les modèles sont les incidences moyennes de maladie i pour chaque modalité d'infestation (T, D1, D10, D100, et néoT le cas échéant) calculées pour chacune des quatre répétitions (a, b, c et d) à chaque date de prélèvement. Par souci d'homogénéité, et pour pouvoir comparer les trois années entre elles, le point initial de l'épidémie (point zéro) est décalé par rapport à la date du semis d'une durée correspondant à la somme de températures atteinte lors du dernier prélèvement pour lequel est constaté l'absence de symptômes de cavity spot ($i = 0$) quelque soit la modalité considérée. Les ajustements non linéaires du modèle aux données expérimentales sont réalisés à l'aide de la procédure NLIN (Non-Linear Model) de SAS (analyse intra micro-parcelle).

Les résultats de plusieurs études menées en conditions naturelles indiquent que les incidences maximales de cavity spot atteignent rarement 100 % en fin de cycle cultural, mais sont souvent comprises entre 70 et 80 % (Phelps *et al.*, 1991; McDonald, 1994) ou entre 80 et 90 % (Scaife *et al.*, 1983) ; nos observations sont similaires. Cela peut s'expliquer par la faible densité ou l'éventuelle agrégation de l'inoculum : localement, la distance hôte - propagule peut limiter l'accès de la racine à l'agent pathogène, et donc réduire l'incidence maximale de maladie potentiellement atteignable. Pour chacun des trois modèles, après analyse descriptive des cinétiques de maladie et compte tenu des niveaux d'attaques constatés en fin d'épidémie, nous avons choisi de fixer arbitrairement l'incidence maximale atteinte à l'issue d'une saison (asymptote $i_{\max}$) différente de 100 % : égale à 80 % dans la totalité des cas, à l'exception des micro-parcelles témoins T et néoT pour lesquelles elle a été fixée à 65 %.

Pour chaque modèle, l'effet de la densité d'inoculum est testé par une analyse de la variance (procédure ANOVA de SAS) pratiquée sur les paramètres estimés précédemment par les ajustements non-linéaires pour chaque répétition (a, b, c et d) des trois modalités d'infestation (D1, D10 et D100). Un test de comparaison des moyennes est ensuite réalisé (test de Scheffe, $P < 0,1$). Les résultats sont présentés aux Annexes III-2c, III-3c et III-4c.

1.3.2.2. Modèle logistique

Les données d'incidence de maladie de 2001, 2002 et 2003 sont ajustées avec un modèle logistique, prenant en compte des cycles d'infection secondaires, décrit par l'équation (2) (Van der Plank, 1963).

$$i(t) = i_{\max} \cdot \frac{e^{(a+b \cdot t)}}{1 + e^{(a+b \cdot t)}} \quad (2)$$

où i est l'incidence de maladie, $i_{\max}$ l'incidence maximale, a et b des paramètres et t la somme de température (dj) en base 3,5°C.

1.3.2.3. Modèle bi-logistique de Hau & Amorim

Les données d'incidence de maladie de 2001 sont ajustées avec un modèle bi-logistique⁶ (ou bi-sigmoïde) prenant initialement en compte des cycles d'infection primaires, puis de façon non-concomitante des cycles d'infections secondaires. Ce modèle, décrit par l'équation (3) a été exploité en épidémiologie végétale par Hau & Amorim (Amorim *et al.*, 1993 ; Hau *et al.*, 1993).

$$i(t) = \frac{\kappa_1}{1 + e^{(-\alpha_1(t-t_{m1}))}} + \frac{\kappa_2}{1 + e^{(-\alpha_2(t-t_{m2}))}} \quad (3)$$

où i est l'incidence de maladie, κ_1 , κ_2 , α_1 , α_2 , t_{m1} et t_{m2} des paramètres, et t la somme de températures (dj) en base 3,5°C.

Théoriquement, six paramètres sont à estimer : κ_1 , κ_2 , α_1 , α_2 , t_{m1} et t_{m2} . Nous avons choisi de fixer initialement ceux ayant une signification biologique forte, de façon empirique (et provisoire) à partir de l'observation des données expérimentales. Nous en avons ainsi considéré plusieurs comme identiques quelques soient les modalités de l'expérimentation, et des conditions leur ont été imposées :

- (i) C'est le cas de κ_1 et κ_2 . On impose que le niveau de la première asymptote κ_1 soit égal à une valeur intermédiaire maximale, spécifique de chaque modalité d'infestation (car dépendant de la densité d'inoculum), potentiellement atteignable entre les prélèvements S3 et S4. On décide en outre, pour les raisons évoquées précédemment, que l'incidence maximale de maladie $\kappa_1 + \kappa_2$ est limitée à la valeur maximale $i_{\max}$ (80% en ce qui concerne les micro-parcelles infestées avec *P. violae* et 65% dans les micro-parcelles témoins T).
- (ii) C'est également le cas de t_{m1} et t_{m2} , qui reflètent l'enchaînement des différents processus infectieux au cours du temps, et dépendent des conditions d'expression de la maladie. On impose pour toutes les modalités de traitement $t_{m1} = t_{m2}$. Ce choix est justifié *a priori* par l'hypothèse selon laquelle la densité d'inoculum influence peu le positionnement des points d'inflexions des cinétiques.

Pour choisir les valeurs initiales des paramètres qui permettent la convergence de la procédure d'ajustement global, nous proposons un ajustement séquentiel préalable en trois étapes : (1) α_1 et α_2 , (2) t_{m1} et t_{m2} , puis (3) κ_1 (et κ_2 par déduction, donné par la relation $\kappa_1 + \kappa_2 = i_{\max}$).

⁶ Une analyse succincte a montré que ce modèle rendait compte des cinétiques observées en 2002 et 2003 de façon beaucoup trop imprécise, voire erronée ; il n'a donc pas été ajusté aux données recueillies ces deux années.

Un premier ajustement est réalisé avec les valeurs des paramètres $\kappa_1 = 0,3$ pour T, $\kappa_1 = 2,3$ pour D1, $\kappa_1 = 7,0$ pour D10, $\kappa_1 = 18,0$ pour D100, ainsi que $tm_1 = 500$ dj et $tm_2 = 1600$ dj pour l'ensemble des modalités d'infestation. Il permet de proposer des estimations de α_1 et α_2 pour chaque modalité de traitement.

On réalise ensuite un second ajustement en utilisant ces même valeurs fixées de α_1 et α_2 de façon à obtenir des estimations de tm_1 et tm_2 .

Enfin, un troisième et dernier ajustement permet d'obtenir des estimations de κ_1 puis κ_2 en utilisant les valeurs précédemment estimées de α_1 et α_2 et de tm_1 et tm_2 . L'ajustement définitif du modèle est réalisé sous les conditions (i) et (ii) en utilisant comme valeurs initiales des paramètres κ_1 , α_1 et α_2 les estimations issues de la dernière étape de l'ajustement séquentiel précédent. La convergence de la procédure NLIN est alors assurée.

1.3.2.4. Modèle de Brassett & Gilligan

Les données d'incidence de maladie de 2001, 2002 et 2003 sont ajustées avec le modèle de Brassett & Gilligan (1988) prenant en compte des cycles d'infection primaires et secondaires concomitants, sans décroissance d'efficacité de l'inoculum. Ce modèle, décrit par l'équation (4), a été exploité par Colbach *et al.* (1997) et par Schoeny & Lucas (1999).

$$\frac{di}{dt} = (r_1 p + r_2 n i)(i_{\max} - i) \quad (4)$$

où i est l'incidence de maladie, $i_{\max}$ l'incidence maximale, r_1 le taux intrinsèque d'infection primaire, r_2 le taux intrinsèque d'infection secondaire, p la quantité d'inoculum présent dans le sol, et n le nombre total de plantes hôtes ; les paramètres r_1 et r_2 sont supposés constants au cours du temps ; c_1 et c_2 sont définis par $c_1 = r_1 p$ et $c_2 = r_2 n$.

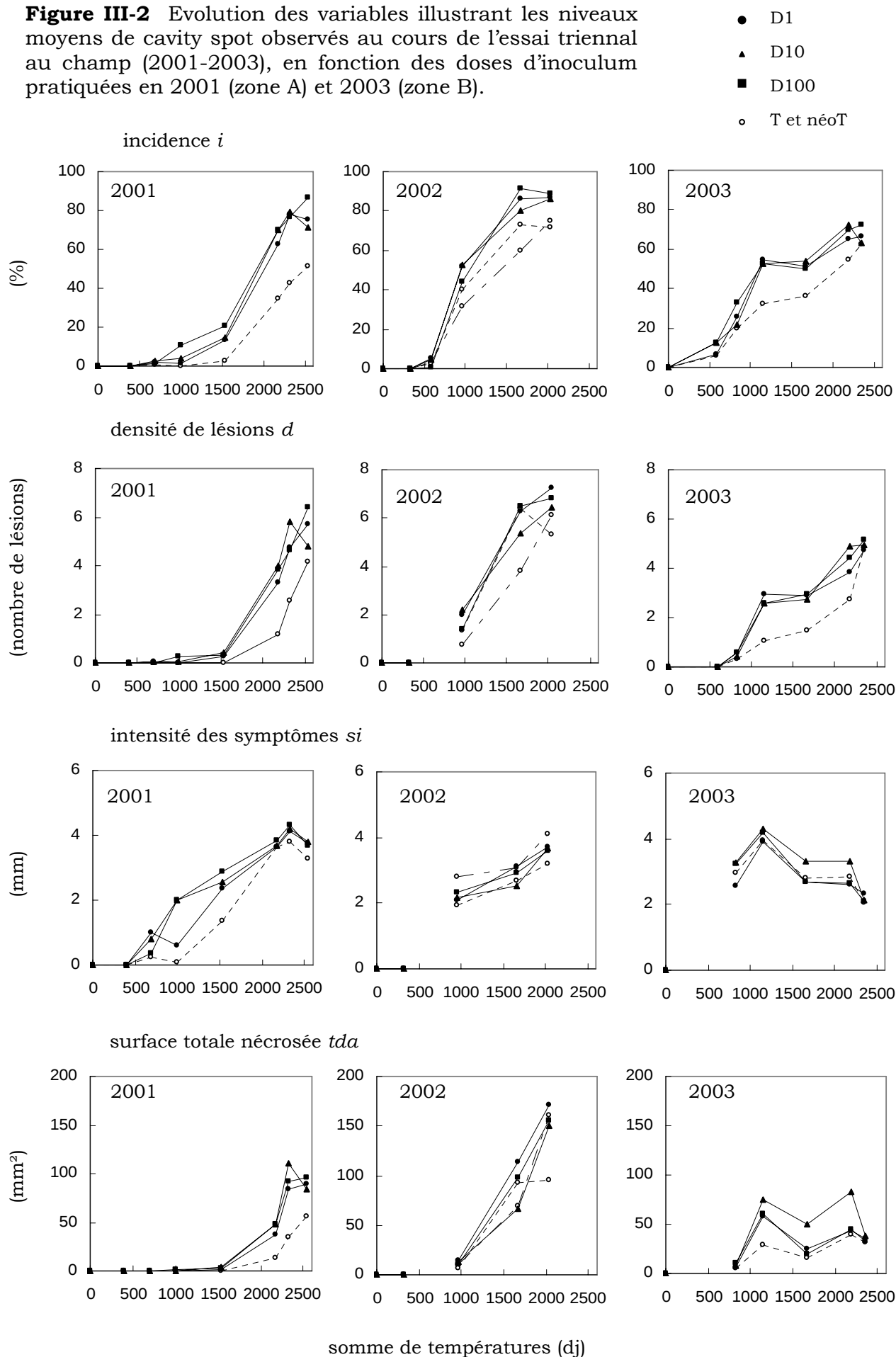
En intégrant l'équation précédente, on obtient une fonction continue (5), de forme sigmoïde asymétrique, allant de $i = 0$ pour $t = 0$ à $i = i_{\max}$ lorsque t tend vers l'infini.

$$i(t) = i_{\max} \times \frac{1 - e^{-(c_1 + c_2)t}}{1 + \left(\frac{c_2}{c_1}\right)e^{-(c_1 + c_2)t}} \quad (5)$$

où c_1 est le paramètre associé aux infections primaires, c_2 celui associé aux infections secondaires, t la somme de températures (dj) en base 3,5°C.

La comparaison des valeurs de c_1 et c_2 n'est pas possible dans l'absolu puisque ces deux paramètres ne sont pas de même nature. La comparaison des taux intrinsèques d'infection r_1 et r_2 est en revanche possible, tout comme la

Figure III-2 Evolution des variables illustrant les niveaux moyens de cavity spot observés au cours de l'essai triennal au champ (2001-2003), en fonction des doses d'inoculum pratiquées en 2001 (zone A) et 2003 (zone B).



comparaison des valeurs de c_1 ou c_2 obtenues dans différentes modalités d'infestation.

1.3.2.5. Comparaison des trois modèles

Pour comparer la qualité d'ajustement des trois modèles, nous avons retenu les probabilités de dépasser les valeurs observées des statistiques de Fisher d'ajustement global $F_{x,y}$: $p_{x,y}$ est la probabilité critique associée donnée par la table de loi de Fisher. Le modèle associé à $F_{x1,y1}$ est considéré comme étant mieux ajusté que le modèle associé à $F_{x2,y2}$ si $p_{x1,y1} < p_{x2,y2}$. Les valeurs des racines carrées des carrés moyens des écarts résiduels (RMSE) (procédure NLIN de SAS) sont données à titre indicatif.

2. Résultats

2.1. Description générale des épidémies de cavity spot

Les deux premières années d'épidémie 2001 et 2002 ont été clairement différentes de 2003, comme en témoigne l'analyse des relations pathométriques portant sur certaines variables de maladie (incidence de maladie i , densité de lésions d , surface totale nécrosée tda) présentée au Chapitre II. Une analyse succincte des cinétiques de maladie montre que les niveaux d'attaque finaux ont été plus élevés en 2001 et 2002 qu'en 2003 (Figure III-2) : incidence moyenne de maladie i de 2000 à 2500 dj comprise respectivement entre 80% et 90% pour 2001 et 2002, contre 70% en 2003 ; densité moyenne de lésions d de 2000 à 2500 dj comprise respectivement entre 6 et 7 pour 2001 et 2002, contre 5 en 2003 ; intensité moyenne des symptômes si de 2000 à 2500 dj comprise respectivement entre 3 mm et 4 mm pour 2001 et 2002, contre moins de 3 mm en 2003 ; surface totale nécrosée tda de 2000 à 2500 dj comprise entre 90 mm² et 100 mm² en 2001 et supérieure à 150 mm² en 2002, contre à peine 50 mm² en 2003. Les cinétiques des différentes variables sont clairement croissantes en 2001 et 2002, alors que leur comportement apparaît plus irrégulier en 2003, à l'exemple de si et tda .

2.2. Effet de la densité d'inoculum sur les variables brutes de l'épidémie de 2001

L'analyse de variance portant sur l'ensemble des données acquises en 2001 (toutes les dates de prélèvement) montre qu'il existe un effet de la dose d'inoculum (Annexe III-1a). Un effet bloc et une interaction dose $\times$ bloc sont mis en évidence. Le test de Student-Newman-Keuls (SNK) est néanmoins appliqué et montre des différences significatives ($\alpha = 0,05$) entre les modalités témoins non inoculées T et D1, et entre les modalités D10 et D100 (Annexe III-1b). Notons que l'homogénéité des variances est respectée (Test de Levene, $\alpha = 0,05$) pour chaque date de prélèvement (toutes

Figure III-3 Ajustement du modèle logistique. Cinétiques d'incidence de maladie pour l'essai densité d'inoculum 2001 (zone A), en fonction des doses d'infestation par *P. violae*.

Les points représentent les valeurs moyennes des données expérimentales (blocs a, b, c et d), les barres verticales représentent les écart-types, les lignes représentent les courbes ajustées à ces moyennes. Les asymptotes $i_{\max}$ ont été fixées à 65 pour la modalité témoin T et à 80 pour l'ensemble des modalités inoculées (D1, D10 et D100). L'échelle de temps est exprimée en somme de degrés-jour depuis le dernier prélèvement sans symptômes, en base 3,5°C.

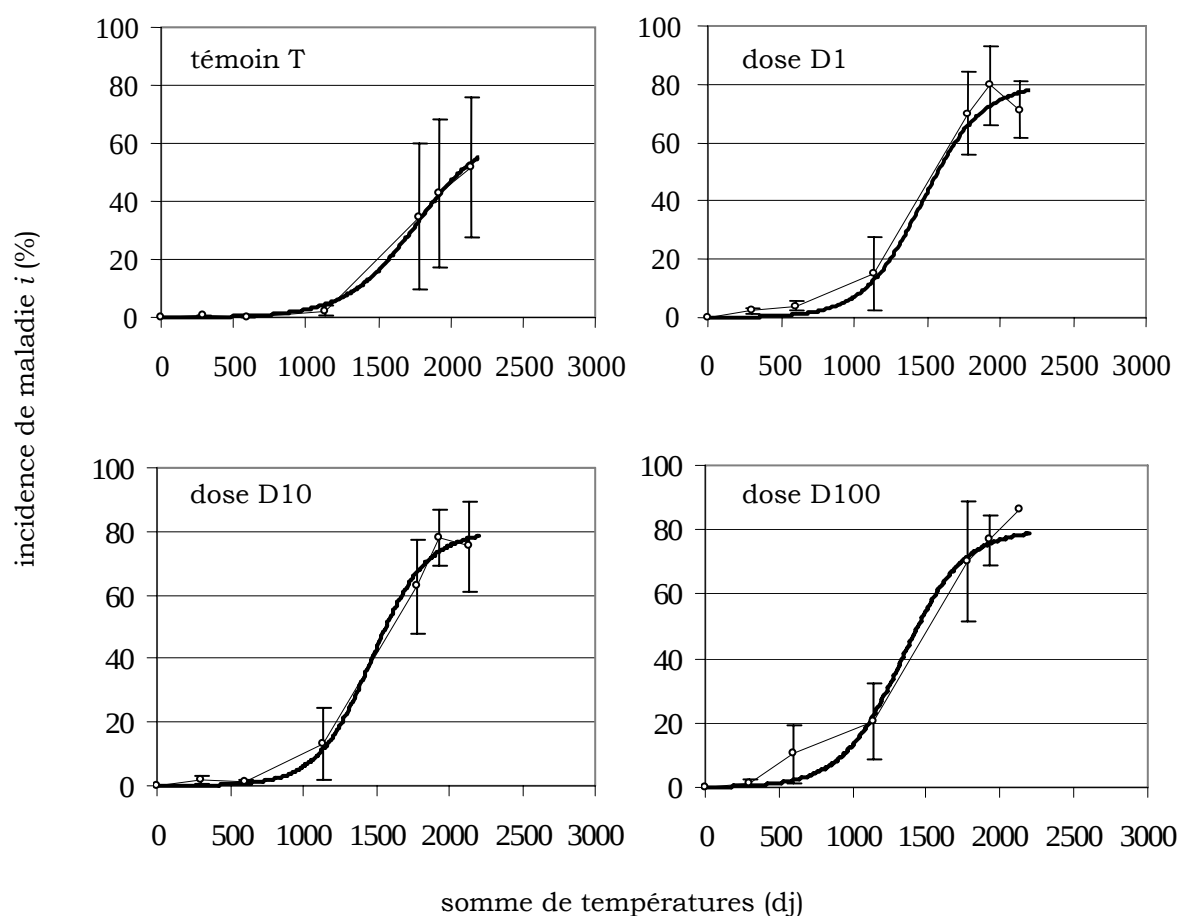


Figure III-5 Ajustement du modèle logistique. Cinétiques d'incidence de maladie pour l'essai densité d'inoculum 2003 (zone B), en fonction des doses d'infestation par *P. violae*.

Les points représentent les valeurs moyennes des données expérimentales (blocs a, b, c et d), les barres verticales représentent les écart-types, les lignes représentent les courbes ajustées à ces moyennes. Les asymptotes $i_{\max}$ ont été fixées à 65 pour la modalité témoin T et à 80 pour l'ensemble des modalités inoculées (D1, D10 et D100). L'échelle de temps est exprimée en somme de degrés-jour depuis le dernier prélèvement sans symptômes, en base 3,5°C.

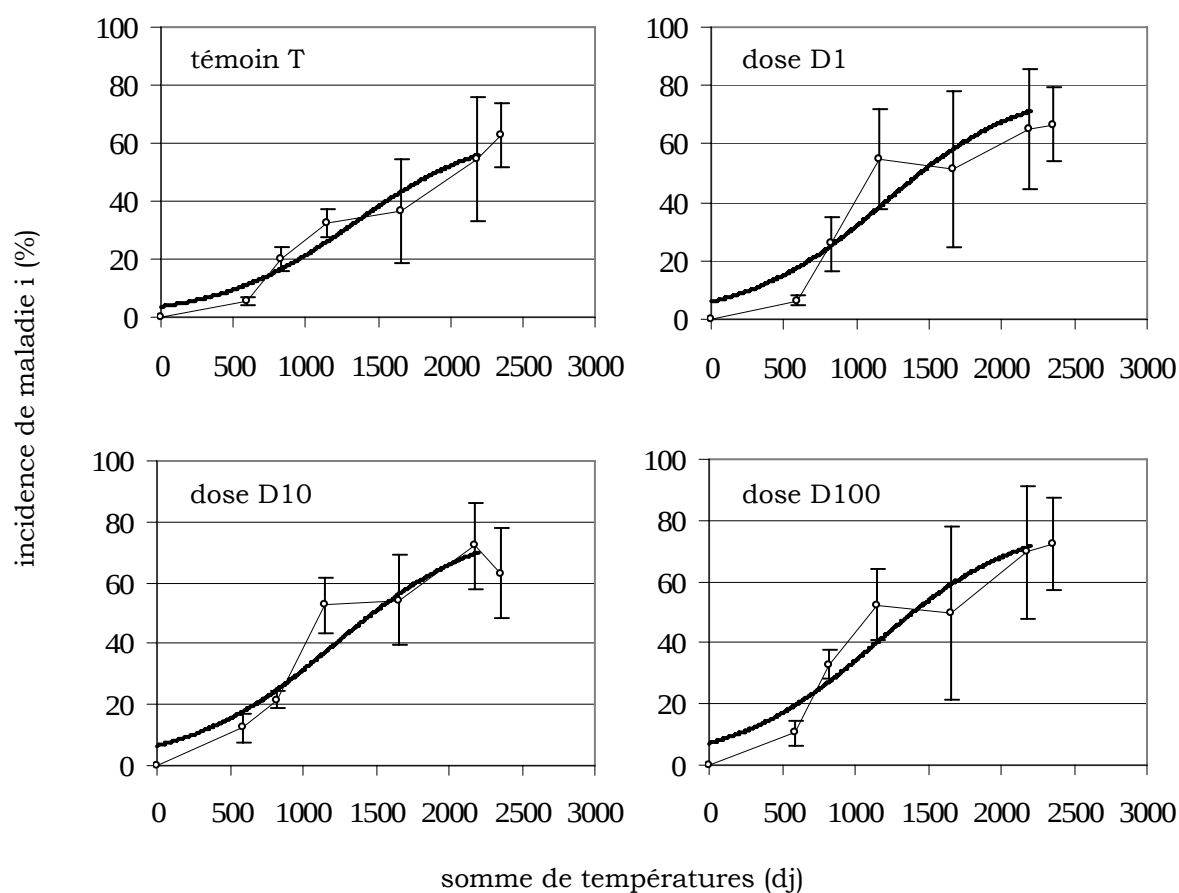


Figure III-6 Ajustement du modèle bi-logistique de Hau & Amorim (1993). Cinétiques d'incidence de maladie pour l'essai densité d'inoculum 2001 (zone A).

Les points représentent les valeurs moyennes des données expérimentales, les barres verticales représentent les écart-types, les lignes représentent les courbes ajustées à ces moyennes. Les valeurs des paramètres tm_1 et tm_2 ont été posées comme identiques pour chacune des modalités inoculées (D1, D10 et D100). Avec les deux autres paramètres du modèle α_1 et α_2 , les asymptotes κ_1 et κ_2 ont été ajustées séparément pour chaque modalité, en respectant les conditions $\kappa_1 + \kappa_2 = i_{\max} = 65$ pour la modalité T et $\kappa_1 + \kappa_2 = i_{\max} = 80$ pour les modalités inoculées (D1, D10 et D100). L'échelle de temps est exprimée en somme de degrés-jour depuis le dernier prélèvement sans symptômes, en base 3,5°C.

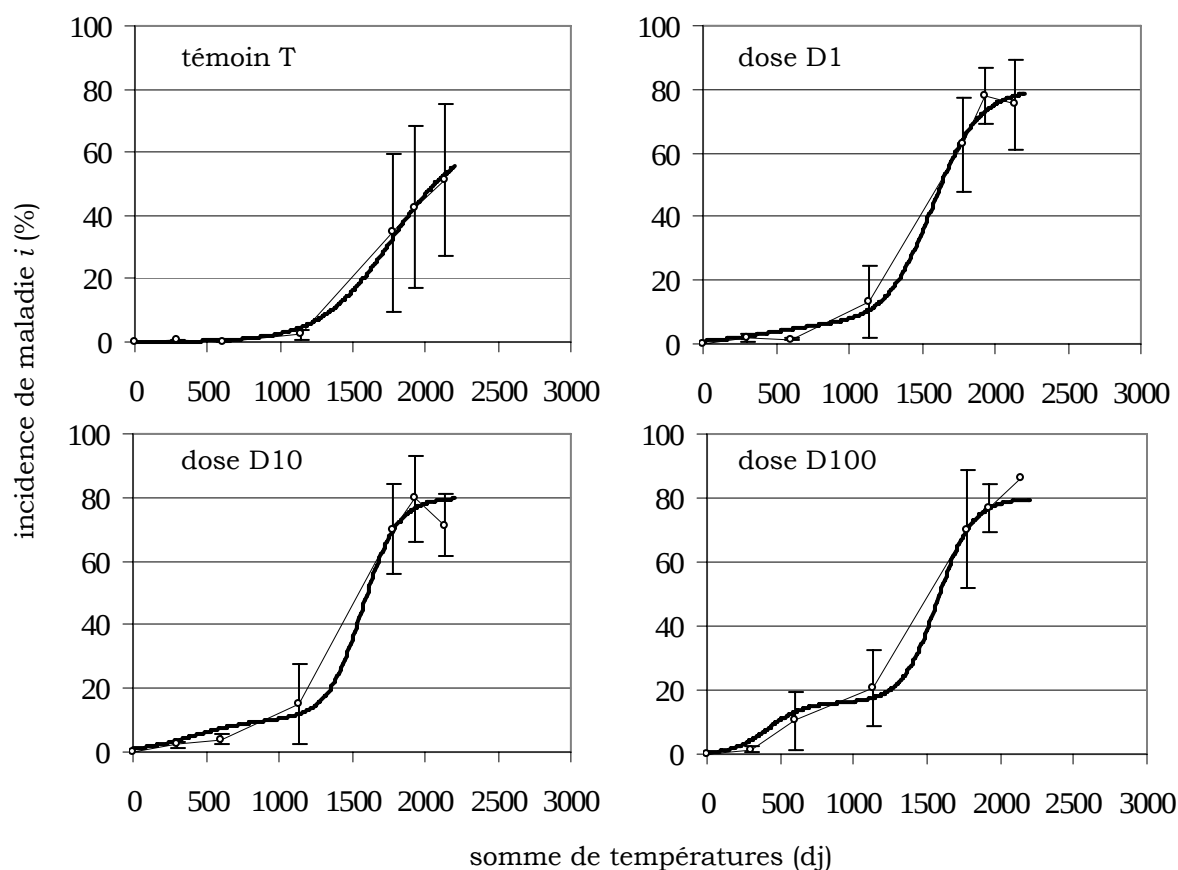


Figure III-7 Modèle de Brassett & Gilligan (1988). Cinétiques d'incidence de maladie pour l'essai densité d'inoculum 2001 (zone A), en fonction des doses d'infestation par *P. violae*.

Les points représentent les valeurs moyennes des données expérimentales, les barres verticales représentent les écart-types, les lignes représentent les courbes ajustées à ces moyennes. Les asymptotes $i_{\max}$ ont été fixées à 65 pour la modalité témoin T et à 80 pour l'ensemble des modalités inoculées (D1, D10 et D100). L'échelle de temps est exprimée en somme de degrés-jour depuis le dernier prélèvement sans symptômes, en base 3,5°C.

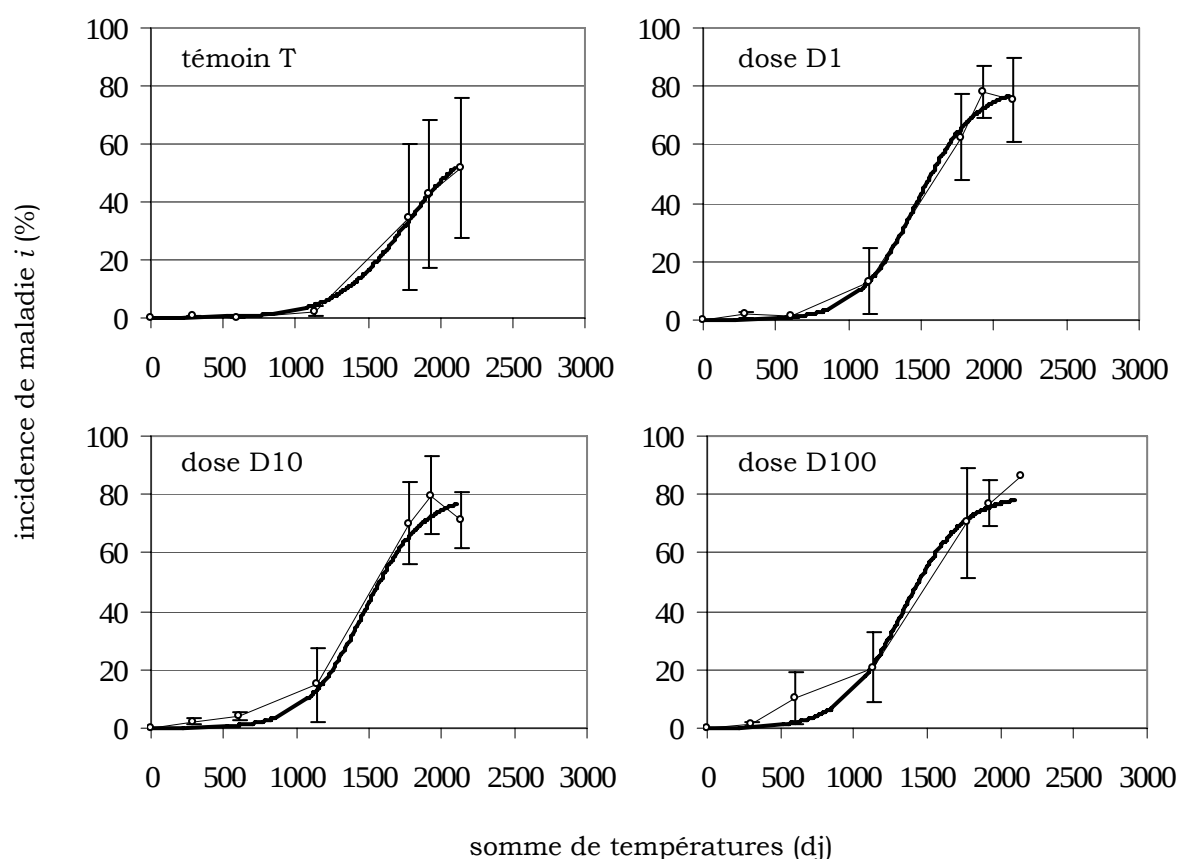


Figure III-8 Modèle de Brassett & Gilligan (1988). Cinétiques d'incidence de maladie pour l'essai densité d'inoculum 2002 (zone A), en fonction des doses d'infestation par *P. violae*.

Les points représentent les valeurs moyennes des données expérimentales, les barres verticales représentent les écart-types, les lignes représentent les courbes ajustées à ces moyennes. Les asymptotes $i_{\max}$ ont été fixées à 65 pour la modalité témoin T et à 80 pour l'ensemble des modalités inoculées (D1, D10 et D100). L'échelle de temps est exprimée en somme de degrés-jour depuis le dernier prélèvement sans symptômes, en base 3,5°C.

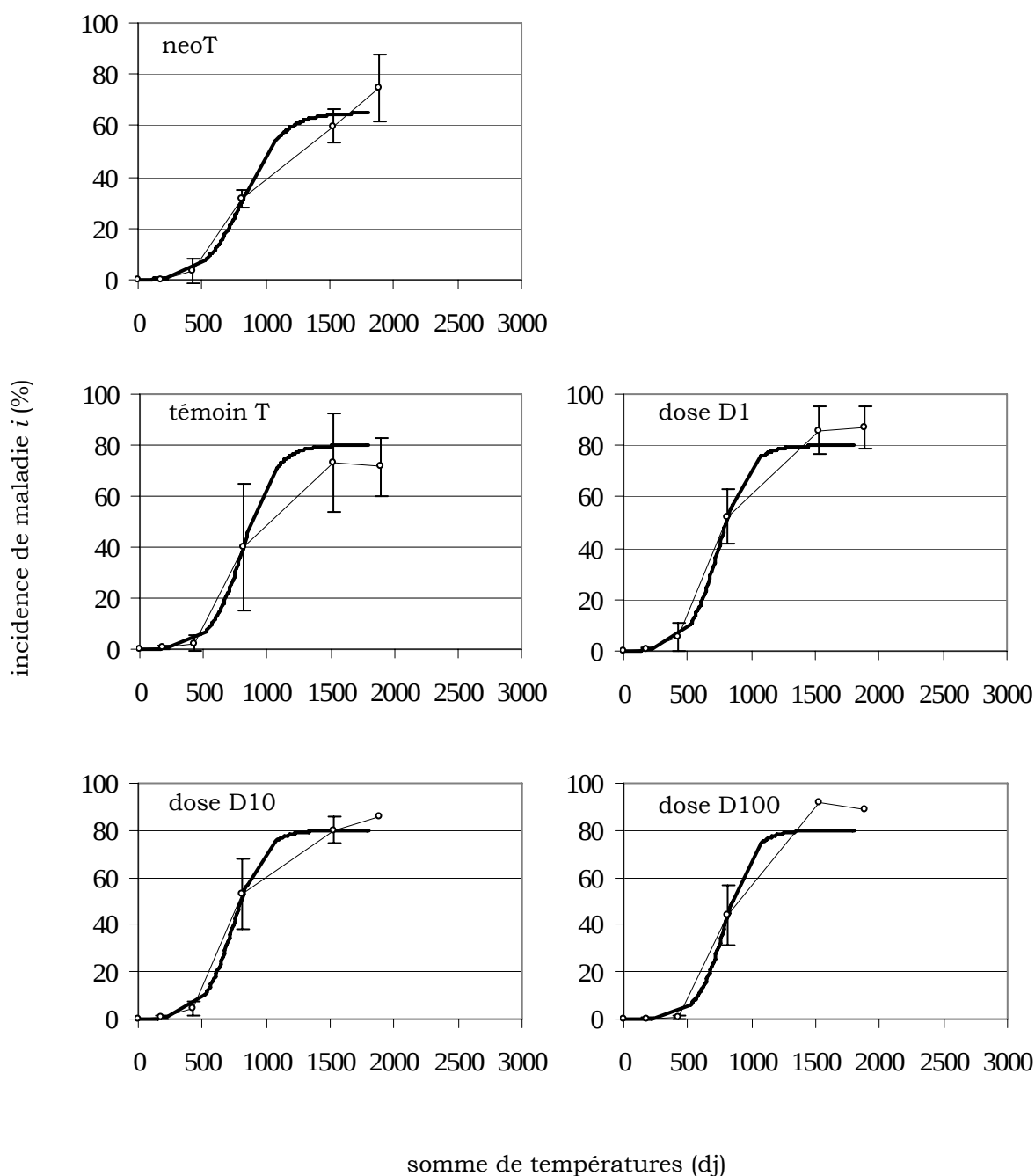
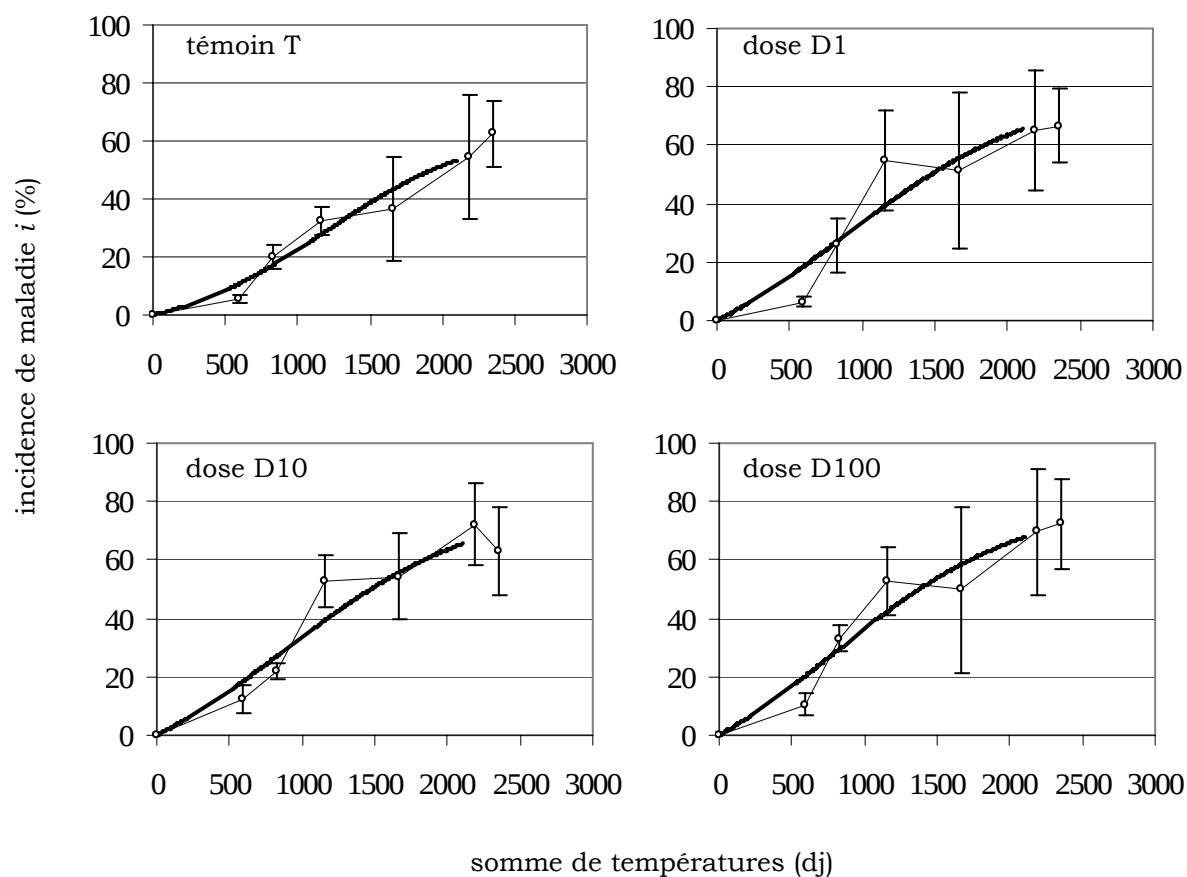


Figure III-9 Modèle de Brassett & Gilligan (1988). Cinétiques d'incidence de maladie pour l'essai densité d'inoculum 2003 (zone B), en fonction des doses d'infestation par *P. violae*.

Les points représentent les valeurs moyennes des données expérimentales, les barres verticales représentent les écart-types, les lignes représentent les courbes ajustées à ces moyennes. Les asymptotes $i_{\max}$ ont été fixées à 65 pour la modalité témoin T et à 80 pour l'ensemble des modalités inoculées (D1, D10 et D100). L'échelle de temps est exprimée en somme de degrés-jour depuis le dernier prélèvement sans symptômes, en base 3,5°C.



modalités confondues, témoins T inclus) à l'exception du prélèvement S4 (résultats non présentés ici).

2.3. Modélisation des cinétiques de développement de la maladie et validité

2.3.1. Modèle logistique

Les courbes ajustées pour les différentes modalités d'infestation dans chacun des trois essais 2001, 2002 et 2003 sont représentées aux Figures III-3, III-4 et III-5. On constate que l'équation (2) choisie pour décrire l'évolution de l'incidence de maladie i au cours du temps rend bien compte des cinétiques observées, à l'exception du début des épidémies (2001, zone A ; 2003, zone B) ou de la fin (2002, zone A). Les résultats des ajustements des paramètres a , b et $i_{\max}$ sont présentés en Annexe III-2a. Les résultats des ajustements de a et b , avec $i_{\max}$ fixé à 65 pour les modalités T et neoT, et 80 pour les modalités inoculées, sont présentés en Annexe III-2b. L'examen des valeurs de R^2 (ratios de la somme des carrés du modèle sur la somme des carrés totale) montre que dans ce cas le modèle explique plus de 99 % de la variabilité en 2001 et 2002, et entre 98 et 99 % en 2003. La comparaison des moyennes des paramètres a et b ne révèle pas de différence significative entre modalités d'infestation (Annexe III-2c).

2.3.2. Modèle de Hau & Amorim

Les résultats des trois étapes de l'ajustement séquentiel du modèle qui permet de fixer les conditions initiales pour s'assurer de la convergence de la procédure définitive d'ajustement global sont récapitulés en Annexe III-3a. L'examen des valeurs de R^2 montre que le modèle ajusté à partir des valeurs initiales adéquates de κ_1 , α_1 et α_2 explique plus de 99 % de la variabilité (Annexe III-3b).

Les courbes ajustées pour les différentes modalités d'infestation de l'essai 2001 sont représentées à la Figure III-6. On constate que l'équation (3) choisie pour décrire l'évolution de l'incidence de maladie i au cours du temps rend bien compte des cinétiques observées. Visuellement, l'ajustement est de bonne qualité au début de l'épidémie dans les modalités D10 et D100, à la différence du modèle logistique. Le modèle décrit un plateau entre 500 dj et 1000 dj (modalité D100), dont la valeur asymptotique s'accroît au fur et à mesure que la dose d'infestation augmente. La comparaison des valeurs moyennes des paramètres ajustés du modèle confirme cette impression visuelle : les valeurs prises par κ_1 augmentent avec la dose d'inoculum (6,40 pour κ_1 en D1, contre respectivement 10,29 et 16,07 pour κ_1 en D10 et D100) (Annexe III-3b), avec une différence significative entre D1 et D100 ($F = 3,61$; $\alpha = 0,1$). De la même manière, le test de comparaison des moyennes de α_1 ($\alpha_1 = 7,40 \times 10^{-3}$ en D1, $\alpha_1 = 4,81 \times 10^{-3}$ en D10 et $\alpha_1 = 2,78 \times 10^{-3}$ en D100) met en évidence des différences significatives entre D1 et D100 ($F = 5,63$; $\alpha = 0,1$), mais aucune pour α_2 entre D1, D10 et D100 ($F = 2,84$; $\alpha = 0,1$).

Tableau III-3 Comparaison de la qualité d'ajustement des trois modèles (modèle logistique, modèle de Hau & Amorim, modèle de Brassett & Gilligan) aux données de 2001.

Modèle	Logistique		Hau & Amorim		Brassett & Gilligan	
Traitement	$F_{2,5}^a$	RMSE ^d	$F_{3,4}^{b, c}$	RMSE ^d	$F_{2,5}^c$	RMSE ^d
D1	835,03	0,031	382,69	0,037	830,70	0,031
D10	496,11	0,041	221,42	0,050	493,69	0,041
D100	338,57	0,053	337,82	0,043	333,80	0,053

$p < 0,0001$ dans tous les cas.

^a Les paramètres estimés du modèle logistique sont au nombre de 2 (a et b).

^b Les paramètres estimés du modèle de Hau & Amorim sont au nombre de 3 (α_1 , α_2 et κ_1). Les paramètres tm_1 et tm_2 sont posés comme identiques quelque soit le traitement (D1, D10 et D100) et leurs valeurs fixées à partir des résultats de l'ajustement séquentiel initial. Le paramètre κ_2 se déduit de la relation $\kappa_1 + \kappa_2 = 80$.

^c Les paramètres estimés du modèle de Brassett & Gilligan sont au nombre de 2 (c_1 et c_2).

^d Racine carrée des carrés moyens des écarts résiduels (*Residual Mean Square Error*).

2.3.3. Modèle de Brassett & Gilligan

Aucune différence fondamentale n'est mise en évidence entre les résultats des ajustements du modèle avec $i_{\max}$ considéré comme un paramètre à ajuster (Annexe III-4a), puis $i_{\max}$ considéré comme une constante fixée à 65 pour les modalités T (2001, 2003) et néoT (2003) et à 80 pour l'ensemble des autres modalités (Annexe III-4b). Les résultats obtenus dans le second cas permettent de comparer les performances qualitatives des différents modèles, en particulier entre le modèle de Hau & Amorim et le modèle de Brassett & Gilligan pour lesquels il est possible de considérer les valeurs de $i_{\max}$ et de $\kappa_1 + \kappa_2$ comme homologues.

Les courbes ajustées pour les différentes modalités d'infestation dans les essais 2001, 2002 et 2003 sont représentées aux Figures III-7, III-8 et III-9. On constate que l'équation (5) choisie pour décrire l'évolution de l'incidence de maladie i au cours du temps rend bien compte des cinétiques observées les deux premières années (2001, zone A ; 2002, zone A), alors que la dernière année le modèle s'ajuste moins bien aux données (2003, zone B). Cette impression visuelle est confirmée par l'examen des valeurs de R^2 en 2001 et 2002 : le modèle explique plus de 99 % de la variabilité dans les essais hors parcelles témoins, contre 97 % à 99 % en 2003 (Annexe III-4b). Les paramètres c_1 et c_2 , respectivement associés aux cycles d'infections primaires et secondaires, ont pu être estimés de façon réaliste en 2001 et 2002. L'analyse des résultats de 2003 pose en revanche problème : le modèle rend compte de façon trop imprécise des cinétiques observées.

La comparaison des moyennes des paramètres c_1 pour les différentes modalités d'infestation révèle que les micro-parcelles ayant reçues les plus fortes doses de *P. violae* ont été les plus propices aux infections primaires en 2001, sous les conditions $i_{\max} = 65$ pour les modalités T (2001, 2003) et néoT (2003), et $i_{\max} = 80$ pour l'ensemble des autres modalités : la valeur moyenne de c_1 augmente avec la dose d'infestation ($3,43 \times 10^{-6}$ pour c_1 en D1 et $2,98 \times 10^{-6}$ pour c_1 en D10, contre $7,34 \times 10^{-6}$ pour c_1 en D100) (Annexe III-4b). Cet effet n'est cependant pas statistiquement significatif (Annexe III-4c). Aucun effet analogue n'est suggéré ni mis en évidence les années suivantes (2002 et 2003). Le paramètre c_2 ne ressort pas non plus comme étant significativement différent entre modalités d'infestation au cours d'une même année. Les valeurs estimées de c_2 sont en revanche du même ordre de grandeur entre 2001 et 2002 dans les modalités infestées (comprises entre $4,08 \times 10^{-3}$ et $5,33 \times 10^{-3}$ en 2001, et entre $6,45 \times 10^{-3}$ et $9,12 \times 10^{-3}$ en 2002), alors que celles estimées en 2003 sont plus faibles (entre $1,15 \times 10^{-3}$ et $1,65 \times 10^{-3}$).

2.3.4. Comparaison des trois modèles

La comparaison des valeurs de F du test pour les trois modèles montre que leur qualité d'ajustement aux données varie sensiblement en fonction de la dose d'inoculum initiale, et donc du niveau potentiel d'infections primaires. Les valeurs

de F du modèle logistique, du modèle de Hau & Amorin, et du modèle de Brassett & Gilligan ont tendance à diminuer lorsque la dose d'inoculum augmente : respectivement égales à 835,03, 382,69 et 830,70 pour D1, 496,11, 221,42 et 493,69 pour D10, 338,57, 337,82 et 333,80 pour D100 (Tableau III-3) ; dans tous les cas $p < 0,0001$. La qualité d'ajustement des trois modèles est comparable, ce que confirment les valeurs de RMSE comprises entre 0,30 et 0,55.

3. Discussion

3.1. Impact de la densité d'inoculum primaire sur les cinétiques de maladie et identification de deux phases épidémiologiques

Nous avons fait l'hypothèse de l'occurrence d'infections primaires, puis secondaires, au cours d'une épidémie de cavity spot. L'analyse statistique date par date des données acquises en 2001 ne réfute pas l'existence en S4 et S5 d'un changement phénoménologique dont l'importance varie en fonction de la dose d'inoculum. Ce changement est illustré sur les courbes d'incidence de maladie par l'apparition d'un plateau, dont la valeur asymptotique s'accroît quand la dose d'infestation augmente, illustrant ainsi un effet densité d'inoculum. Il est vraisemblable que ce changement soit une réalité et corresponde à un accroissement de la proportion de processus infectieux de type secondaire (infections à partir de lésions présentes sur une même racine ou sur des racines adjacentes) au détriment des processus infectieux de type primaire (infections à partir de l'inoculum du sol, ici sous forme de grain d'orge colonisé par *P. violae*).

La comparaison respective des moyennes des paramètres ajustés des modèles de Hau & Amorin en 2001 et de Brassett & Gilligan en 2001 et 2003 confirme cette tendance, avec des valeurs de paramètres relatifs aux infections primaires - κ_1 et α_1 en ce qui concerne le modèle de Hau & Amorin, et c_1 en ce qui concerne le modèle de Brassett & Gilligan - croissantes entre D1 et D100. Les différences sont significatives pour κ_1 et α_1 entre ces modalités, mais non significatives pour c_1 malgré des différences assez marquées entre D10 et D100. Cela suggère que le modèle de Hau & Amorin est intrinsèquement le mieux adapté pour rendre compte de l'impact des infections primaires sur le développement précoce d'une épidémie. La forte hétérogénéité des données peut également expliquer la difficulté à mettre en évidence un effet « dose d'inoculum » sur le paramètre c_1 . Aucune différence significative analogue n'a été identifiée pour les paramètres relatifs aux infections secondaires - α_2 dans le modèle de Hau & Amorin ou c_2 dans le modèle de Brassett & Gilligan - ce qui sous-tend que ces processus infectieux sont peu influencés par la densité initiale d'inoculum.

Pour peu que les trois modèles ajustés puissent être considérés comme valables car non réfutés par notre jeu de données, l'influence de la dose d'inoculum sur la première partie d'une épidémie est clairement démontrée en 2001 dans la zone A.

Cet effet n'est pas mis en évidence les deux dernières années ; deux explications sont possibles :

- En 2002 (zone A), l'absence de ré-infestation des micro-parcelles peut expliquer que les différences d'attaque aient été moindres entre D1, D10 et D100 : l'inoculum primaire à l'origine de l'épidémie de 2002 a probablement été majoritairement généré par l'inoculum issu des lésions apparues en 2001. Pour preuve, les différences d'incidence de maladie entre les modalités néoT et T ont été manifestes en 2002 et suggèrent qu'un inoculum initial issu de lésions de l'épidémie de 2001 était bien présent au début de 2002, bien que généré par des espèces locales endogènes (voir Chapitre IV).
- Les cinétiques de maladies obtenues en 2003, sensiblement différentes de celles observées en 2001, indiquent que l'infestation de la zone B en 2003 a posé problème, vraisemblablement pour des raisons climatiques. Il est probable que les températures élevées (Figure III-1) aient eu des conséquences létales sur la survie de *P. violae* ou sur ses capacités infectieuses.

3.2. Comparaison de la qualité d'ajustement des modèles aux données

Chacun des trois modèles s'ajuste globalement bien. Aucun ne peut être totalement ou partiellement réfuté, à l'exception peut-être du modèle de Hau & Amorim qui ne s'ajuste pas aux données obtenues en 2002 et 2003, bien que particulièrement adapté à 2001. Ce n'est pas forcément un problème si on considère que les données obtenues en 2002 et 2003 illustrent des faciès épidémiques différents pour les raisons évoquées précédemment. Choisir un modèle parmi d'autres nécessite de discuter leurs qualités d'ajustement respectives et d'évaluer les processus biologiques à privilégier, qu'ils demeurent à l'état d'hypothèses ou soient ensuite démontrés par l'expérience (infections primaires, auto-infections, allo-infections, décroissance de l'inoculum primaire, etc.).

Les valeurs des paramètres c_1 et c_2 du modèle de Brassett & Gilligan obtenues pour l'épidémie de 2001, pour laquelle le rapport moyen c_2/c_1 est estimé à 1300, peuvent être comparées à celles obtenues pour le piétin échaudage du blé dû à *Gaeumannomyces graminis* dans des conditions similaires (ajustement portant sur l'incidence de maladie exprimée en %, sans prise en compte de la décroissance de l'efficacité des infections primaires au cours du temps). Dans des parcelles naturelles, avec une échelle temporelle exprimées en degré-jours, Schoeny & Lucas (1999) obtiennent des valeurs de c_1 comprises entre $2,60 \times 10^{-5}$ et $5,92 \times 10^{-7}$ et de c_2 comprises entre $4,20 \times 10^{-3}$ et $7,90 \times 10^{-3}$, avec un rapport moyen c_2/c_1 estimé à 3800. Dans des conditions similaires, Colbach (1996) obtient des valeurs de c_1 comprises entre $2,97 \times 10^{-4}$ et $1,74 \times 10^{-5}$ et de c_2 comprises entre $1,05 \times 10^{-4}$ et $2,73 \times 10^{-3}$, avec un rapport moyen c_2/c_1 estimé à 14. Dans un ensemble de microcosmes infestés à des doses croissantes d'inoculum et avec une échelle temporelle exprimées en jours calendaires, Bailey & Gilligan (1999) obtiennent des

valeurs de c_1 comprises entre $1,5 \times 10^{-4}$ et $4,5 \times 10^{-4}$ et de c_2 comprises entre $1,5 \times 10^{-6}$ et $2,9 \times 10^{-2}$, illustrant ainsi une très forte hétérogénéité des c_2 , avec un rapport moyen c_2/c_1 estimé à 80. On constate que le rapport c_2/c_1 obtenu pour le cavity spot est du même ordre de grandeur que ceux obtenus pour le piétin échaudage, malgré une forte hétérogénéité entre auteurs, qui rend ce type de comparaison très hasardeux.

Le modèle de Hau & Amorim ayant été peu appliqué en épidémiologie végétale faute d'adeptes, aucun élément de comparaison avec d'autres modèles de développement de maladies racinaires n'est disponible (Amorim *et al.*, 1993 ; Hau *et al.*, 1993).

3.3. Choix d'un modèle sur des considérations à la fois statistiques et biologiques

En 2001, à la dose d'inoculum la plus élevée D100, le modèle de Hau & Amorim s'ajuste mieux que le modèle logistique et le modèle de Brassett & Gilligan, en particulier au cours de la première partie de l'épidémie. Le modèle de Hau & Amorim conduit à des différences significatives entre les paramètres relatifs aux infections primaires (κ_1 et α_1) en fonction de la dose d'inoculum.

Le modèle de Brassett & Gilligan a 2 paramètres. Le modèle de Hau & Amorim, qui en a théoriquement 5, en a seulement 3 en pratique (les paramètres tm_1 et tm_2 étant considérés comme identiques entre modalités d'infestation et fixés). Le principe de parcimonie veut que l'on retienne le modèle le moins complexe pour une qualité d'ajustement acceptable. On devrait donc donner préférence au modèle de Brassett & Gilligan, le plus simple. Pour progresser dans la qualité de ses ajustements, nous suggérons d'y adjoindre un module simulant la décroissance de l'inoculum primaire, le rapprochant ainsi du modèle de Hau & Amorim : sans proscrire totalement la concomitance des infections primaires et secondaire, la disjonction des deux processus serait accentuée et conduirait à distinguer clairement deux phases épidémiologiques.

A la différence du modèle de Brassett & Gilligan, que nous retiendrons par la suite, le modèle de Hau & Amorim n'intègre donc pas la concomitance des infections primaires et secondaires. Les deux phases y sont totalement disjointes. Cette séparation, purement théorique, correspond à ce que l'on observe à de fortes densités d'inoculum, comme en témoigne le bon ajustement du modèle à la dose D100. Lorsqu'en revanche la quantité d'inoculum est faible, la séparation des deux phases est moins nette et le modèle de Brassett & Gilligan semble mieux adapté. La non-concomitance peut être quasi-stricte si le taux d'infections primaires est brusquement limité par certains facteurs, intrinsèques (décroissance de la densité d'inoculum, diminution de l'accessibilité des tissus sains) ou extrinsèques (conditions de température et d'humidité limitantes ou létales pour l'inoculum du sol). Le modèle de Hau & Amorin a tendance à surestimer l'occurrence des infections secondaires, puisque dès que ces dernières se produisent, les infections

primaires sont considérées comme inopérantes. Il illustre que l'inoculum primaire n'est mobilisé que pendant la première phase épidémique, et que pendant la seconde phase, l'apparition de nouvelles lésions est entièrement due à des infections secondaires.

La cause d'une éventuelle non-concomitance des deux processus infectieux pourrait être double : (i) un décalage temporel entre les premières infections primaires et les premières infections secondaires, résultant d'un « temps de latence⁷ » différent ; (ii) une extinction brutale des infections primaire due à une chute de la capacité saprophytique de l'inoculum⁸, par exemple à cause de conditions pédoclimatiques défavorables.

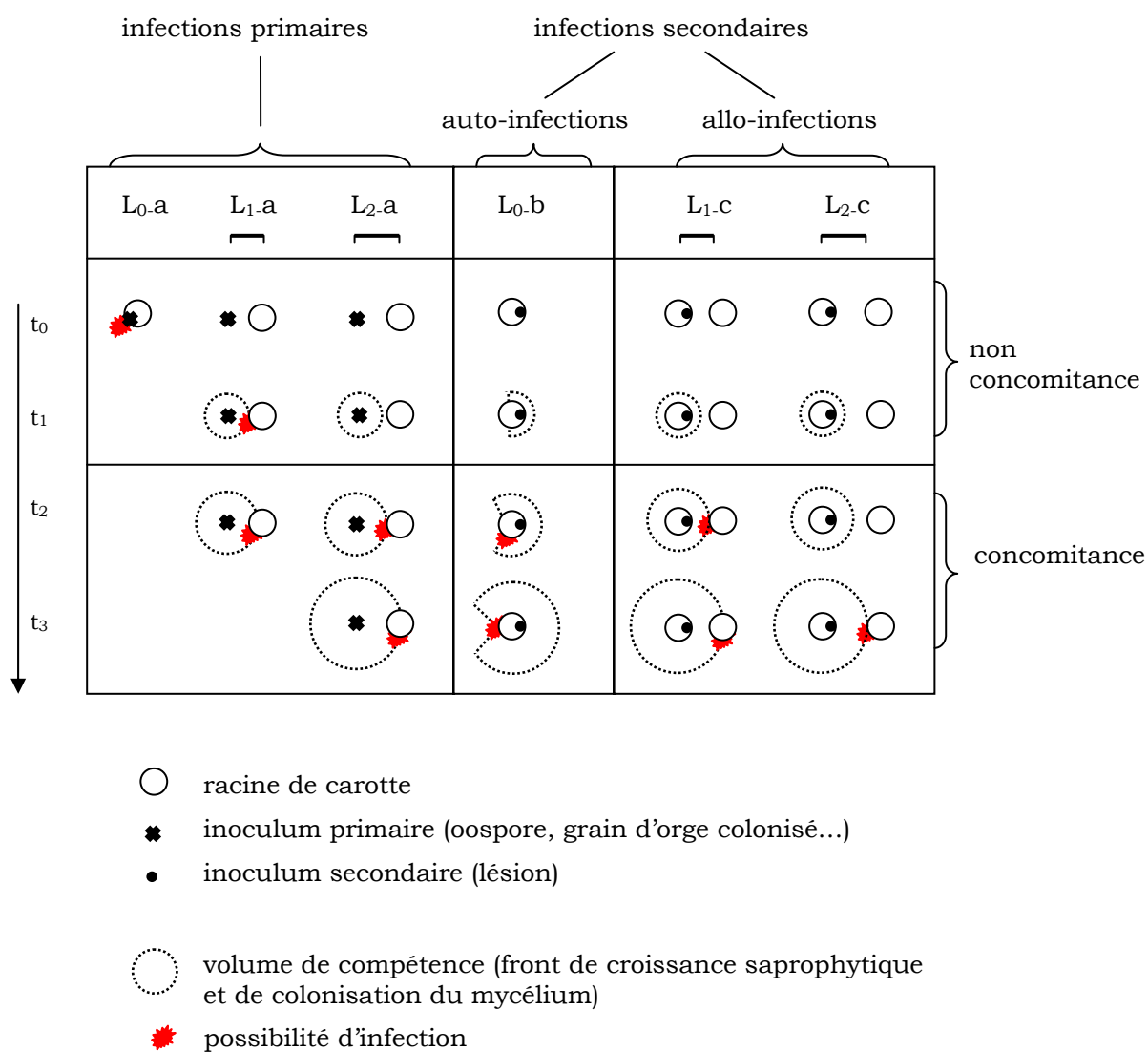
En ce qui concerne l'inoculum primaire, le temps de latence est théoriquement considéré comme nul lorsqu'il y a contact direct entre la surface d'une racine et une propagule infectieuse (Figure III-10, cas L₀-a). Dans les autres cas, il correspond au temps nécessaire pour que la « pathozone » soit explorée par le mycélium de l'agent pathogène. Gilligan & Simons (1987) ont proposé des modèles probabilistes intégrant cette notion, également dénommée « zone d'infection potentielle » (hôte-centrée), définie comme le volume de sol autour d'un organe hôte souterrain dans lequel doit se trouver une propagule pour que le processus infectieux se déclenche (Gilligan, 1980). Nous utiliserons ici le terme « volume de compétence » (analogue, mais propagule-centré) employé par Grogan *et al.* (1980) : « compétence » est définie comme la capacité d'une propagule à germer et à provoquer une infection lorsque celle-ci est localisée à proximité de tissus hôtes. Le volume de compétence peut être considéré comme la zone sphérique centrée sur une propagule, dans laquelle une infection peut avoir lieu, et dont le rayon est variable au cours du temps : égal à la taille de la propagule à l'état initial, il croît jusqu'à ce que la sphère virtuelle arrive au contact d'un site racinaire sain et puisse induire une infection. Cette distance de « prospection » a été estimée pour plusieurs pathosystèmes telluriques : entre 4 et 6,6 mm chez *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici* pathogène du blé (Gilligan & Brassett, 1990) et entre 0,06 et 5,2 mm chez *Phytophthora cinnamomi* pathogène de *Abies fraseri* (Reynolds *et al.*, 1985). Pour les infections primaires de cavity spot, le « temps de latence » dépend donc théoriquement de la distance qui sépare une propagule infectieuse de la surface d'une racine de carotte (III-10, cas L₁a et L₂a).

Pour les infections secondaires, dans le cas d'auto-infections le temps de latence correspond au temps nécessaire pour que le mycélium issu d'une lésion atteigne un site sain sur une même racine (Figure III-10, cas L₀b), et dans le cas d'allo-infections au temps nécessaire pour que ce même mycélium atteigne un site sain sur une racine voisine (Figure III-10, cas L₁c et L₂c). Ce temps dépend de la distance qui sépare la lésion des sites sains pouvant être infectés.

⁷ Employé ici dans un sens littéral : temps nécessaire à la réussite d'une infection.

⁸ Cette hypothèse est testée au Chapitre IV p. 176.

Figure III-10 Illustration de différentes configurations rendant concomitantes ou non les infections primaires et secondaires sur une même racine en fonction du stade de l'épidémie (t_0 à t_4) et de la distance entre différentes sources infectieuses et les tissus de l'hôte (L_0 à L_2).



L'hypothèse d'une concomitance plus ou moins stricte, à ce stade de la réflexion, ne peut être validée. La discussion a établi que cette concomitance pouvait vraisemblablement être modulée (i) par la distance moyenne entre une propagule infectieuse et une racine, c'est-à-dire par la densité d'inoculum et la densité de semis, et (ii) par les capacités de survie et de croissance saprophytique du mycélium, influencées à la fois par les caractéristiques de la souche pathogène et par les conditions pédo-climatiques.

Références bibliographiques

- Amorim L, Bergamin Filho B et Hau B (1993) Analysis progress curves of sugarcane smut on different cultivars using functions of double sigmoid pattern. *Phytopathology* 83(9): 933-936.
- Bailey DJ et Gilligan CA (1999) Dynamics of primary and secondary infection in take-all epidemics. *Phytopathology* 89(1): 84-91.
- Brassett PR et Gilligan CA (1988) A model for primary and secondary infection in botanical epidemics. *Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz* 95(4): 352-360.
- Colbach N, Lucas P et Meynard JM (1997) Influence of crop management on take-all development and disease cycles on winter wheat. *Phytopathology* 87(1): 26-32.
- Gilligan CA (1980) Zone of potential infection between host roots and inoculum units of *Gaeumannomyces graminis*. *Soil Biology and Biochemistry* 12(5): 513-514.
- Gilligan CA et Brassett PR (1990) Modelling and estimation of the relative potential for infection of winter wheat by inoculum of *Gaeumannomyces graminis* derived from propagules and infected roots. *Journal of Phytopathology* 129(1): 58-68.
- Gilligan CA et Simons SA (1987) Inoculum efficiency and pathozone width for two host-parasite systems. *New Phytologist* 107(3): 549-566.
- Grogan RG, Sall MA et Punja ZK (1980) Concepts for modelling root infection by soilborne fungi. *Phytopathology* 70(5): 361-363.
- Hau B, Amorim L et Bergamin Filho B (1993) Mathematical functions to describe disease progress curve of double sigmoid pattern. *Phytopathology* 83(9): 928-932.
- McDonald MR (1994) Cavity spot of carrot (*Pythium* spp.): etiology, epidemiology and control. Thèse de Doctorat. University of Guelph, 399 pp.
- Phelps K, White JG et Henn AJ (1991) Studies on the frequency distribution of *Pythium*-induced cavity spot of carrots. *Annals of Applied Biology* 119(1): 21-30.
- Reynolds KM, Benson DM et Bruck RI (1985) Epidemiology of Phytophthora root rot of Fraser fir: estimates of rhizosphere width and inoculum efficiency. *Phytopathology* 75(9): 1010-1014.
- SAS (1989) Statistical Analysis System, SAS Institute Inc.
- Scaife MA, Turner MK et Barnes A (1983) Cavity spot of carrots - observance on a commercial crop. *Annals of Applied Biology* 102: 567-575.
- Schoeny A et Lucas P (1999) Modelling of take-all epidemics to evaluate the efficacy of a new seed-treatment fungicide on wheat. *Phytopathology* 89(10): 954-961.
- Van der Plank JE (1963) Plant diseases: epidemics and control. New York & London, 349 pp.
- Villeneuve F et Leteinturier J (1992) La Carotte: guide pratique. Tome 1. CTIFL / SILEBAN, 229 pp.



CHAPITRE IV



Analyse de la diversité d'une communauté de *Pythium*
appliquée à l'épidémiologie du cavity spot : perspectives
d'approches écologiques

PROBLEMATIQUE

La plupart des recherches en Pathologie Végétale considèrent implicitement qu'il existe une relation claire entre une maladie et l'agent pathogène qui lui est associé. Même si l'application du postulat de Koch est depuis longtemps considérée comme incontournable, il existe des cas où établir une relation biunivoque entre un agent pathogène et un symptôme particulier, mais aussi entre un agent pathogène et une dynamique spécifique de maladie, ne suffit pas à expliquer le développement d'une épidémie (Davet, 1996).

Il arrive que plusieurs champignons soient associés et forment un « complexe parasitaire », ou « complexe d'espèces » lorsque les parasites appartiennent au même genre taxonomique. Ces complexes sont constitués d'agents pathogènes souvent bien identifiés, comme dans le cas des *Pythium* responsables du cavity spot. Les microorganismes cohabitent dans le sol et attaquent parfois des racines de façon indépendante. Les symptômes observés, et par construction les cinétiques épidémiques qui en découlent, résultent alors de la somme de ces attaques individuelles. Un parasite primaire peut également ouvrir la voie à un parasite secondaire qui, de lui-même, n'aurait pu surmonter les réactions de défense de la plante. Dans ce cas, « conceptualiser » une épidémie s'avère malaisé car la généralisation d'un processus induit par une seule espèce pathogène à un complexe peut être erronée : ce qui est qualifié, quantifié et modélisé de façon explicite dans un cas simple (action d'une seule espèce) l'est difficilement lorsque des interactions sont susceptibles d'affecter certains processus fondamentaux (infections primaires, auto- et allo-infections secondaires). Quantifier leur occurrence relève alors non seulement de l'Epidémiologie¹ d'une maladie *sensu stricto* mais aussi de l'Ecologie² d'une communauté parasitaire.

Une première difficulté se pose lorsque les caractéristiques des différents parasites - cycle biologique, traits d'histoire de vie (capacité de survie saprophytique et pouvoir pathogène) et conditions optimales de développement (exigences thermiques et hygrométriques) - diffèrent de façon significative. On a affaire à une sorte de système « tamponné », dans la mesure où la régression d'un des parasites, sous l'effet de conditions défavorables, est parfois compensée par le développement d'un autre (Davet, 1996). Ce pourrait être le cas de *P. violae* et de *P. sulcatum* qui cohabitent dans différentes parcelles dans le bassin de Créances (Manche, France) ou dans les micro-parcelles de l'essai analysé au Chapitre III. L'optimum thermique de ces deux espèces est en effet différent : 15°C pour *P. violae* (Rouxel & Montfort,

¹ Discipline qui étudie le développement des maladies des plantes à l'échelle de populations (Van der Plank, 1963).

² Discipline qui étudie les phénomènes populationnels et les interactions entre groupes d'individus (Zadoks & Schein, 1979).

1988) contre 25°C pour *P. sulcatum* (Van der Plaats-Niterink, 1981). Contrairement à la majorité des espèces responsables du cavity spot, chez *P. violae* sporanges et zoospores n'ont été que très rarement observés (Van der Plaats-Niterink, 1981), ce qui induit certainement un potentiel de dissémination spécifique.

Une seconde difficulté se pose lorsque, tant pendant la phase d'infection que pendant la phase saprophytique (davantage étudiée en écologie microbienne des sols), l'activité des différentes espèces au sein d'un complexe n'est pas indépendante. Leur réunion peut avoir un effet supérieur à la somme des effets attribuables à chacune d'elles : il y a synergie. C'est par exemple le cas d'attaques de *Fusarium solani* et *P. ultimum* sur pois ou haricot (Piecarka & Abawi, 1978). Les travaux d'Elarosi (1958) ont montré que les enzymes pectinolytiques de certains champignons avaient une action complémentaire et permettaient une macération des tissus plus poussée lorsqu'elles étaient associées. Aucune étude n'a jusqu'à présent soulevé cette question des interactions, synergies ou antagonismes, entre les différentes espèces de *Pythium* pathogènes de la carotte.

L'objectif de la thèse étant de comprendre et modéliser le développement d'épidémies de cavity spot, s'intéresser aux variations dans la composition du complexe et aux « interactions » paraît essentiel, même si l'étude de l'écologie d'une communauté de *Pythium* n'est pas une finalité en tant que telle :

(i) L'analyse doit permettre de préciser les dimensions et la structure du système (pathosystème « *Pythium* sp. - *Daucus carota* » vs. pathosystème « complexe d'espèces *Pythium* - *Daucus carota* ») auxquelles s'appliquent les hypothèses mécanistes formulées dans les chapitres précédents (occurrence d'infections primaires et secondaires). Peut-on passer de l'analyse d'une épidémie « mono-spécifique » à l'analyse d'une épidémie « pluri-spécifique », sans bouleversement méthodologique majeur ?

(ii) Ces hypothèses pourraient être erronées : les deux phases épidémiologiques pourrait en effet être causées - ou accentuées - par les attaques décalées de différentes espèces se succédant au cours d'un cycle de culture...

CHAPTER IV - DIVERSITY AND FLUCTUATIONS IN A *PYTHIUM* COMMUNITY APPLIED TO EPIDEMIOLOGY OF CAVITY SPOT: A NEED FOR ECOLOGICAL STUDIES

Summary¹

Cavity spot of carrot (CCS) is characterised by the appearance of small sunken elliptical lesions on the tap root. It is caused by a complex of pathogens belonging to the genus *Pythium*. The question of how to take into account diversity and interactions within the complex for modelling CCS development was raised. The diversity of a pathogenic *Pythium* community was assessed during three consecutive years of an epidemic in field experiments after an initial artificial soil infestation with *P. violae*. 1241 lesions were examined, yielding 728 *Pythium* isolates. Conventional microbiological methods and restriction polymorphism of the internal transcribed spacer regions of the rDNA of 209 representative *Pythium* isolates allowed to identify 655 isolates as belonging to six *Pythium* species, including *P. violae* and five indigenous species (*P. sulcatum*, *P. intermedium*, *P. sylvaticum-irregulare*, *P. coloratum*, and *P. ultimum*). Biological traits, such as pathogenicity, optimum temperature for mycelial growth and saprophytic survival of the inoculum, provided elements to understand the fluctuations in the composition of the complex over 17 successive samplings during the 3-year period, most notably the prevalence of first *P. violae* and then *P. sulcatum*. *P. violae* and *P. sulcatum* were occasionally isolated in mixture from single lesions (10.4 % and 9.6 %, respectively). Other species were more frequently isolated in mixture: 30.8 % for *P. intermedium*, 33.8 % for *P. sylvaticum-irregulare*, 42.9 % for *P. ultimum*, and 66.7% for *P. coloratum*. A contingency analysis allowed to define 'major' and 'minor' species on both pathological and ecological criteria (frequency of occurrence in the complex, pathogenicity and ability to induce lesions by themselves), and demonstrated that infection by one 'major' pathogen species (*P. violae* or *P. sulcatum*) is not positively correlated to the presence of a second *Pythium* species. The ratio between 'observed' and 'expected' mixed infection frequency under the assumption of independent infection (noted *mir*) was less than 1 for *P. violae*, *P. sulcatum*, *P. intermedium*, and *P. sylvaticum-irregulare* ($P < 0.05$). For all *Pythium* species, there was a negative linear relationship between *mir* and pathogenicity ($R^2 = 0.638$): the less a *Pythium* species was pathogenic on carrot, the more often it was isolated from a CCS lesion in mixture with at least one other species. The non-significance of interactions between species during the infection phase suggests that CCS epidemics can be analysed as if they were caused by a single *Pythium* species.

1. Introduction: *Pythium* genus responsible of carrot cavity spot

The genus Pythium spp. - The genus *Pythium* belongs to the Family Pythiaceae, Order Peronosporales, Class Oomycetes (Hendrix & Campbell, 1973), and includes approximately 120 recognized species (Van der Plaats-Niterink, 1981; Dick, 1990). Many of these species have been isolated from arable land, pastures, forests, swamps or water and are responsible for soil-borne diseases causing severe losses on crops. While diseases caused by *Pythium* spp. are often considered as seedling

¹ Ce chapitre, à l'exclusion de la partie 2. intitulée « Ecology and epidemiology of *Pythium* complexes », fait l'objet d'un projet de publication soumis à la revue Applied Soil Ecology : Suffert F and Guibert M, Ecology of a *Pythium* community applied to the epidemiology of carrot cavity spot.

diseases (damping-off), mature plants may be attacked, with infection of roots limiting plant vigour and yield, and sometimes causing plant death. In some circumstances, pathogenic species are isolated from healthy looking roots, where their colonisation causes a reduction in plant growth but not typical root rot symptoms (Martin & Loper, 1999). However, non-pathogenic species are sometimes isolated from typical symptoms initially caused by another species. Some overviews of the physiology, etiology of host infection, and life cycle were provided (Hendrix & Campbell, 1973; Ali-Shtayeh *et al.*, 1986) and consisted of specific monographs of given species, compiled for example by Domsch *et al.* (1980), but with few ecological considerations *sensu stricto*: they did not take into account interactions between species. There is a lack of knowledge concerning the effect of the diversity of a species community on epidemiology of root diseases, particularly during the infection phase.

Carrot cavity spot - Cavity spot (CCS), one of the most important soil-borne diseases of carrot worldwide, is characterised by the presence of sunken brown elliptical lesions on the surface of the carrot taproot, and is due to a *Pythium* complex (Hiltunen & White, 2002). The involvement of the slow-growing species *P. violae* in the development of the CCS was firmly established twenty years ago (Groom & Perry, 1985; White, 1986; Montfort & Rouxel, 1988). However, other *Pythium* species are able to cause the disease. In Europe, White (1986) and Guerin *et al.* (1994) demonstrated the role of the slow-growing *P. sulcatum* as well as of the fast-growing *P. ultimum*, *P. irregulare*, *P. intermedium*, and *P. sylvaticum*. Another fast-growing species, *P. coloratum*, has been isolated from CCS lesions in Western Australia (El-Tarabily *et al.*, 1996) and more recently in South-Western France (D. Breton, SILEBAN-INRA, France, unpubl.).

Identification of Pythium spp. - In artificial inoculations, symptoms caused by *P. violae* and *P. sulcatum* are well-delimited and oriented across the breadth of the root (Groom & Perry, 1985; Montfort & Rouxel, 1988), while *P. ultimum* and *P. coloratum* cause maceration of tissues and more progressive lesions (Campion *et al.*, 1997; El-Tarabily *et al.*, 1996). However, it is not possible to diagnose visually which *Pythium* species is responsible for a CCS lesion in naturally infected roots. The identification of *Pythium* spp. using keys based on spore and sporangial morphology is also difficult, because several species are asexual or heterothallic and do not readily produce the diagnostic organs in axenic cultures (Van der Plaats-Niterink, 1981; Dick, 1990). Within the last 10 years, molecular techniques have been developed for the identification of *Pythium* spp., especially techniques based on restriction fragment length polymorphism (RFLP) of the rDNA-ITS region (Martin & Kistler, 1990; Wang & White, 1997; Kageyama *et al.*, 1998; Vasseur *et al.*, 2001), which have improved the diagnosis of the *Pythium* complex associated with CCS.

2. Ecology and epidemiology of *Pythium* complexes

An overview of a 'species complex' in plant disease epidemiology is presented in Frame IV-1. Management practices and environmental conditions often have a significant impact on the species diversity in *Pythium* complexes (e.g. pathogen of wheat, alfalfa, and corn). For example, locality, properties of the soil, and land management influenced the composition of *Pythium* communities responsible for root rot of wheat examined in large-scale surveys, defined by order of frequency of species (e.g. *P. abapressorium*, *P. rostratum*, *P. debaryanum*, *P. heterothallicum*, and *P. oligandrum*) (Dick & Ali-Shtayeh, 1986; Paulitz & Adams, 2003). The composition of a *Pythium* complex is usually not homogeneous within a year: soil samplings revealed seasonal variations in the composition of *Pythium* communities pathogen of wheat (Ali-Shtayeh *et al.*, 1986; Hardman & Dick, 1987), of alfalfa (e.g. *P. sylvaticum*, *P. irregulare*, *P. ultimum*, and *P. torulosum*) (Hancock, 1981; Hancock & Grimes, 1990; Larkin *et al.*, 1995a; 1995b), of bean (e.g. *P. aphanidermatum*, *P. myriotylum*, and *P. ultimum*) (Lumsden *et al.*, 1976), and of various vegetables such as cucumber, pepper, tomato, and eggplant (11 *Pythium* species including *P. ultimum*, *P. spinosum*, and *P. aphanidermatum*) (Zhang *et al.*, 1990). However, seasonal fluctuations were rarely described precisely: few studies produced only a snap shot of the *Pythium* complex, and too few have dealt with infections due to pathogen communities considered in entirety, including potential interactions between species. This is problematic for a quantitative epidemiological approach because disease progress curves may be diversely influenced by these fluctuations. One or several of these species are commonly dominant within a complex and may fluctuate in frequency during a season: for example, the population of *P. aphanidermatum* decreased significantly over time and *P. myriotylum* was the most prevalent on infected bean (Lumsden *et al.*, 1976). The development of a soil-borne disease due to several *Pythium* can be impacted by the composition of the pathogen complex, because the biological characteristics such as pathogenicity of each species is different, but also because the factors usually affecting an epidemic may modify the behaviour of each species. Seasonal fluctuations of *Pythium* spp. in relation to root disease severity were established by Lee & Hoy (1992) and Zhang *et al.* (1990). Rao *et al.* (1978) measured the prevalence and pathogenicity of fungi, including *P. graminicola*, *P. torulosum*, *P. dissotocum*, and other genus such as *Fusarium*, associated with the root rot complex of corn. A reduction of *Pythium* population during mid-summer was observed and *P. graminicola* appeared to be the primary cause of root rot early in the season. Results were confirmed by pathogenicity tests: *P. graminicola* was more virulent than *P. dissotocum* or *P. torulosum*.

Little interactions between *Pythium* species (e.g. positive synergy) usually occurred during the infection phase and these complexes behave as independent entities rather than as synergistic communities. To compare the effects of infection by one or several *Pythium* species affecting root rot of sugarcane, pathogenicity tests were

Frame IV-1 Overview of a ‘species complex’ in plant disease epidemiology.

Crops are rarely, if ever, attacked by a single pest. Three organisational levels in a pathogenic community may be distinguished. (i) Firstly, a ‘multiple pest complex’ characterised by a given ‘injury profile’ (McRoberts *et al.*, 2003) is defined by the set of pests attacking a host plant in a defined geographical area, which is responsible of various symptoms because of the large nature of its components (diseases, insects, nematodes, and weeds), and which is related to a more or less wide range of growth stages (e.g. from seedling to harvesting). For example, the rice-pest complex causing damage on rice crops in Asia includes diseases such as narrow brown spot, bacterial leaf streak, leaf scald, leaf smut, in addition to insects such as rice bugs and rice hispa (Savary *et al.*, 2000). (ii) Secondly, a ‘multiple pathosystem’ is a pathosystem composed of a host plant and a ‘pathogen complex’ defined as the set of pathogens belonging to different taxonomic genus, but responsible of the same type of symptoms on a host plant in a defined geographical area, and concerning physiologically-close plant stages. For example, the soil-borne ‘pathogen complex’ causing damping-off and root diseases of pea includes *Rhizoctonia solani*, *Fusarium* spp., *Pythium* spp., *Phytophthora medicaginis*, and *Aphanomyces euteiches* (Tu, 1991). (iii) Thirdly, a ‘species complex’ is defined by the set of pathogens belonging to the same or to a close taxonomic genus, responsible for similar types of symptoms or damage on a host plant in a defined geographical area, and occurring at similar physiological plant stage. For example the main causal agents of Fusarium ear blight of wheat are *Fusarium culmorum*, *F. graminearum*, *Microdochium nivale*, *F. avenaceum*, and *F. poae* (Xu *et al.*, 2005). By analogy the soil-borne ‘species complex’ *Pythium* spp. responsible for CCS includes *P. violae*, *P. sulcatum*, *P. sylvaticum* and *P. intermedium* in some French basins (Montfort & Rouxel, 1988; Breton & Rouxel, 1993).

conducted by artificial soil infestation with *P. arrhenomanes*, *P. irregulare*, and *P. spinosum* (Lee & Hoy, 1992) and showed that disease severity due to several species in combination was never higher than severity caused by each individual species. Comparison of root infection by *P. arrhenomanes* alone and total *Pythium* species with root rot severity in natural field soils have been used for study these interactions; it was concluded that the prevalence of *P. arrhenomanes* is a determinant of disease severity. Mihail *et al.* (2002) characterized the diversity of root-colonizing *Pythium* spp. (including pathogenic species) on *Kummerowia stipulata* in one restored prairie site. In contrast to total species richness, a maximum of three *Pythium* species (*P. dissotocum*, *P. diclinum*, and *P. irregulare*) were recovered from any single root system. The occurrence of mixed infections by different species was tested. Glasshouse experiments supported the null hypothesis that when *P. dissotocum* and *P. irregulare* are present, infection by each of them is independent of the other.

3. Objectives of the study

The present study addressed the question of the relevant scale to analyse a CCS epidemic: a single species or a species complex? The global objective was to test if a CCS epidemic is specifically affected by the nature of each local complex and if epidemiological processes occurring (e.g. primary and secondary infection) may be considered identical whatever the nature of this complex. To this end, we investigated the fluctuations of a *Pythium* complex responsible for CCS (mixture of endogenous *Pythium* spp. and *P. violae* artificially applied) over a 3-year epidemic and related these to the biological characteristics of *Pythium* species (pathogenicity, optimum temperature, and saprophytic survival ability). We also analysed the occurrence of mixed infection (more than one *Pythium* species isolated from a single CCS lesion) and tested by a contingency analysis if the ecological classification into ‘major’ vs. ‘minor’ species, according their prevalence in the complex, matched pathogenicity.

4. Materials and methods

4.1. Assessment of the diversity of the pathogen complex from CCS lesions

Inoculum production - *P. violae* strain Pv490 (CBS 102.609), isolated in 1994 from CCS symptoms in a carrot field in Normandy (France), was used as inoculum for field infestation. To produce inoculum, bags containing 240 ml of dry barley grains² and 300 ml of distilled water were autoclaved twice at 120°C for one hour at 24 hour intervals, and inoculated with plugs of *P. violae*. They were incubated for three weeks at 20°C in a dark room.

² Le mode de production de l’inoculum « grain d’orge » est décrit au Chapitre III p. 127.

Field experimental design and inoculation procedure - A field experiment initially designed to describe CCS epidemics³ was conducted in the INRA Station of Le Rheu (Ille-et-Vilaine, France) to characterize the evolution of the diversity of a *Pythium* community responsible for CCS over three years after a single initial soil infestation by *P. violae*. This species had not been previously isolated from the soil within the experimental area. The experimental area was sown to carrots (cv. Nanco) on 22 May 2001, on 13 June 2002, and on 20 May 2003. The experiment was setup as a factorial randomised block design with 4 blocks and 4 inoculum levels (T: control, D1: 5 g.m⁻², D10: 50 g.m⁻², D100: 500 g.m⁻²). Experimental units were 2 x 6 m plots. The first year (2001), plots were inoculated with three doses of barley grain inoculum (D1, D10, D100). Each plot consisted of 5 rows on 50 cm apart with 80 plants per linear meter. The plots were irrigated in 2003 because of the exceptionally dry weather. Air temperature 1 m above soil level and soil temperature at 20 cm depth were measured with a Hobo™ H8 (Prosensor). Data were acquired at 15 minutes intervals. Daily precipitation was automatically recorded using a tipping bucket type rain gauge.

Isolation of Pythium from CCS symptoms - Six, five and six samples (S1 to S6, S7 to S11, and S12 to S17, respectively) were harvested in 2001, 2002, and 2003. On each sample date all the roots present along a 50 cm row section were collected. Each sample typically had 30-40 carrot roots⁴. Numbers and size of CCS lesions were measured for each root and the temporal dynamics of the epidemic was illustrated by the disease measurements *i* (disease incidence), *d* (lesion density), *si* (symptom intensity), and *tda* (total disease area)⁵.

At each sampling date, microbiological isolations were performed on 3/6 single CCS lesions (according to the disease severity) per plot. Symptoms were chosen at random from typical CCS lesions, except for samples S1 and S2 in 2001 and 2002 which showed only non-specific, brown-rust-coloured micro-lesions. The number of isolations for each sampling date ranged from 42 to 81 in 2001, 70 to 124 in 2002, and 28 to 81 in 2003 (including control plots in 2001 and 2002, but not in 2003). Corrected data set was defined with an extrapolation to 100 isolations to facilitate graphical illustrations.

Pieces of necrotic tissue (5 mm²) were cut from the edges of lesions on the taproot, sterilised in 0.5 % NaOCl for 15 seconds, rinsed three times in distilled water and cut into 7 small fragments (1-2 mm long each). These were placed on selective MS2 medium (1 L of water amended with 17.5 g of corn meal agar, 2 mL of pimarinic aqueous suspension 2.5 %, and 2 mL of rifampicin alcoholic suspension 0.75 %), incubated at 20°C and examined periodically for up to 7 days for fungal colony

³ Voir Chapitre III.

⁴ Les conditions d'échantillonnage sont également décrites au Chapitre III p.128.

⁵ Voir Chapitre II pour la définition de ces différentes variables et Chapitre III pour l'illustration des cinétiques de maladie.

development (Breton & Rouxel, 1993). In some cases, more than one isolate was obtained from a single CCS lesion. Subcultures of each *Pythium* isolate were established from the margins of colonies actively growing on MS2 medium on water agar (1 L of water amended with 20 g of agar) and carrot juice agar (800 mL of water amended with 20 g of agar and 200 mL of centrifuged carrot juice CORA®). A total of 1241 CCS lesions were examined, yielding 728 *Pythium* isolates (247 isolates from 509 isolations in 2001, 249 from 409 in 2002, and 232 from 323 in 2003).

Identification of Pythium isolates - After mycelial growth on water agar and carrot juice agar, *Pythium* isolates were sorted and pre-identified using the morphological criteria from the key of Van der Plaats-Niterink (1981). Two representative isolates per group of species were selected and characterised by PCR and RFLP. DNA was extracted from mycelium as described by Vasseur *et al.* (2001), a variation of the standard protocol of Rogers & Bendich (1985). The internal transcribed spacer (ITS) of the nuclear ribosomal DNA (rDNA) of 209 representative *Pythium* isolates (76 in 2001, 86 in 2002, and 47 in 2003) from most of the groups pre-identified was amplified by a polymerase chain reaction (PCR) using a standard protocol (Wang & White, 1997; D. Breton, SILEBAN-INRA, France, unpubl.). The primers used amplified ITS1 from 18S rDNA (TCCGTAGGTGAACCTGCGG) and ITS4 from 28S (TCCTCCGCTTATTGATATGC). Restriction banding patterns of PCR-amplified internal transcribed spacer of rDNA after digestion with *Hha* I, *Hae* III, *Hinf* I, *Taq* I, and *Mbo* I, and separation on a 2 % agarose gel, were compared with species-specific probes for known *Pythium* spp. using a variation of the standard protocol of Wang & White (1997) and Kageyama *et al.* (1998). Molecular analyses confirmed the identification of most of the 209 isolates.

Statistical analysis of diversity - Several measures of equitability or relative diversity were defined in theoretical ecology studies. The normalized Shannon's diversity index (H), was proposed by Sheldon (1969) and Groth & Roelfs (1987) and defined by:

$$H = -\sum_{i=1}^S p_i \ln(p_i) \quad (1)$$

where p_i is the frequency of the i^{th} species and S the observed number of species (Begon *et al.*, 1986).

The observed values of H can be normalized with $H_n = H / H_{max}$, where H_{max} is the maximum possible diversity for a sample of S species occurring with equal frequency (Sheldon, 1969; Mihail *et al.*, 2002). So, the diversity of pathogenic *Pythium* species associated with CCS was assessed by species richness estimated as

the number of different species per plot and the normalized Shannon's diversity index (H_n), which is calculated as:

$$H_n = \frac{1}{\ln(S)} \sum_{i=1}^S p_i \ln(p_i) \quad (2)$$

For analysis of the *Pythium* community diversity recovered in the field experiment, data were aggregated into two pools: data from infested plots D1, D10, and D100 (2001-2003), and data from control plots (2001-2002). Values of H_n were estimated at each sampling date.

4.2. Association of species on CCS lesions and statistical analysis of mixed infection

Statistical analyses were performed to test the null hypothesis that root infection by the *Pythium* species responsible of CCS occurred independently. The occurrence of association of each *Pythium* spp. with others species on a single CCS lesion (mixed infection or co-infection) was evaluated by a contingency table analysis and the chi-square statistic (χ^2) (Sokal & Rohlf, 1995). This analysis concerned associations of *Pythium* species able to induce CCS lesions, even if the combination is rarely represented. The mixed infection ratio (*mir*) was defined as the ratio between observed mixed infection and expected mixed infection frequency (i.e. the theoretical frequency of mixed infection if infections by a *Pythium* spp. and by another species were independent) to test if mixed infection by two given *Pythium* species was significantly over-represented. Data from the field experiment were firstly analysed year by year (2001, 2002, and 2003), and secondly pooled.

4.3. Biological characterisation of *Pythium* spp.

Among 728 *Pythium* strains isolated from CCS lesions between 2001 and 2003 in the field experiment, 33 representative isolates belonging to 7 groups of species were biologically characterised (FR244, FR89, FR214, FR296B, FR261B, FR10A, FR235A, FR97A, FR57A, FR84, FR292, FR39, FR236, FR6, FR82, PV490 (×2), FR24, FR45, FR100, FR80, FR266, FR60, FR32, FR262, FR297, FR295, FR62 (×2), FR71, FR40, FR232, FR25, FR86, and FR238).

Optimum temperature of mycelial growth of Pythium spp. - Among the 33 *Pythium* isolates, 13 isolates (PV490, FR24, FR233, FR266, FR297, FR71, FR62, FR262, FR57A, FR296B, FR235A, FR263, and FR39) belonging to four identical groups were selected (4 *P. violae*, 4 *P. sulcatum*, 3 *P. intermedium*, 2 *P. sylvaticum-irregulare*). Response to temperature was studied by determining the radial mycelial growth rates (mm/day) on corn meal agar medium (CMA) in Petri dishes incubated at 7 temperatures ranging from 5°C to 30°C. The growth of the mycelium was

measured on two perpendicular directions, once per day for the slow-growing species *P. violae* and *P. sulcatum* and twice per day for the fast-growing species. The radial mycelial growth rate of each isolate was calculated from the mean of three replicates and the optimum temperature was graphically established with a confidence interval $\pm 1^{\circ}\text{C}$.

Pathogenicity test - An artificial inoculation of mature roots was performed to measure the pathogenicity of the representative *Pythium* isolates. Freshly harvested carrot roots (cv. Nanda) were sterilised in water containing 0.3% NaOCl (1 minute), rinsed three times in clear water, and cut in 4 cm long root sections. The 33 selected isolates (9 *P. violae*, 10 *P. sulcatum*, 6 *P. intermedium*, 5 *P. sylvaticum-irregulare*, 2 *P. coloratum*, and 1 *P. ultimum*) were grown on CMA for 7 days. Mycelial plugs ($\varnothing = 0.5$ cm) were transferred from the margins of colonies to the surface of root sections (Breton & Rouxel, 1993; Benard & Punja, 1995), previously wounded with a pin forming a small 5 mm hole. For each *Pythium* isolate, 10 root sections were so inoculated and placed on moistened sponge towels in closed plastic containers. The experiment was replicated twice. Root fragments were sprayed with distilled water and incubated at 20°C .

Two components of pathogenicity, infection efficiency (noted e and estimated by the rate of successful infection) and lesion extension (estimated by the area of a lesion calculated using the ellipse area equation $\frac{1}{4} \cdot \pi \cdot (a+b)$, where a and b are the minor and major diameter) were assessed after 7 days. These two components were combined into an index ϕ defined by $\phi = e \times \frac{1}{4} \cdot \pi \cdot (a+b)$.

Saprophytic behaviour of P. violae and P. sulcatum in soil - An experiment was performed in controlled conditions to illustrate the decrease over time of the inoculum potential of *P. violae* and *P. sulcatum* in two soils. The strains used were *P. violae* Pv490 (CBS 102.609) and *P. sulcatum* FR349 (isolated from CCS lesions in the 2003 field experiment). Microcosms consisted of circular 4 L pots ($\varnothing = 18.7$ cm; H = 21.8 cm) containing either a steam sterilised reconstituted soil (1/2 sand, 1/4 compost, 1/4 organic soil), or a natural non-sterilised soil from the field experiment. Soils were inoculated with either *P. violae* or *P. sulcatum* using a concrete mixer. The method of inoculum production (barley grains) was similar to those described above⁶. After infestation, pots were placed in a climatic chamber under favourable conditions for carrot growth and development of *P. violae* and *P. sulcatum* (14 hours of daylight at 20°C and 8 hours of night at 12°C) (Van der Plaats-Niterink, 1981; Breton & Rouxel, 1993). Pots were watered as needed to adjust soil moisture to the pot water holding capacity. Seven carrot seeds (cv. Nanco) were sown in each pot on 0, 16, 42, 58, 78, 105, 120, and 140 days after soil infestation. Each treatment was replicated three times (3 pots). Carrot roots were

⁶ Le mode de production de l'inoculum « grain d'orge » est identique à celui des essais au champ et est décrit au Chapitre III p. 127.

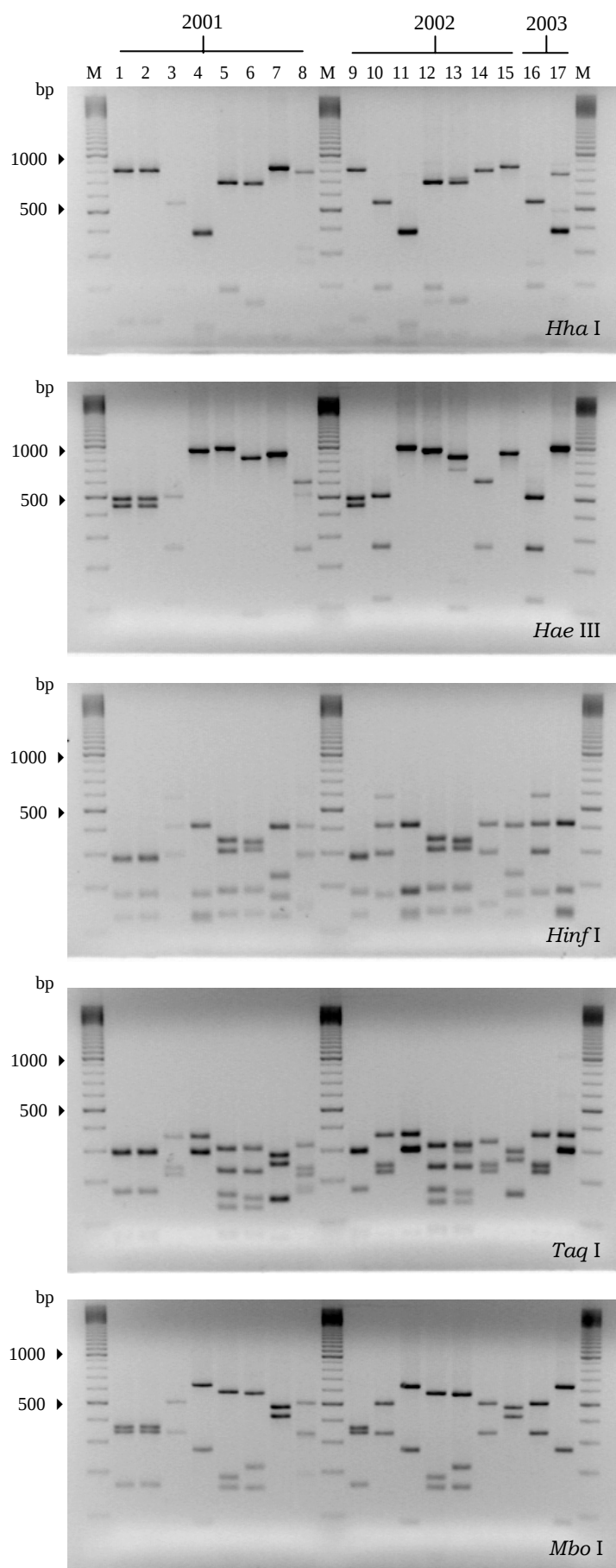


Figure IV-1 Polymerase chain reaction (PCR) and restriction fragment length polymorphism diagnosis of *Pythium* strains isolated from the 'field experiment' (2001-2003) (performed by M. Guibert).

Restriction banding patterns of PCR-amplified internal transcribed spacer of rDNA after digestion with *Hha* I, *Hae* III, *Hinf* I, *Taq* I and *Mbo* I, and separation on a 2 % agarose gel. Lanes: M, 100-bp ladder marker; 1: *P. violae* Pv490 (CBS 102.609); 2, 9: *P. violae*; 3, 10, 16: *P. sulcatum*; 4, 11, 17: *P. sylvaticum-irregulare*; 5, 12: *P. intermedium* A; 6, 13: *P. intermedium* B; 7, 15: *P. ultimum*; 8, 14: *P. coloratum*.

harvested and washed 12 weeks after each delayed sowing. Symptoms of CCS were assessed using the variable *tda* (total disease area) and mean root fresh weight was measured to estimate the effect of the inoculum dose on roots growth.

5. Results

5.1. Change in diversity of the species complex in CCS lesions

Identification of Pythium species - 1241 CCS lesions were examined from the field experiment, yielding 728 *Pythium* isolates. Of these, 655 isolates (90 %) were identified as belonging to 6 distinct *Pythium* species, including *P. violae* and 5 indigenous species: *P. sulcatum*, *P. intermedium*, *P. sylvaticum-irregulare*, *P. coloratum*, and *P. ultimum* on the basis of RFLP patterns of amplified ITS regions (Figure IV-1). The remaining 73 isolates (10 %) could not be unequivocally ascribed to one of these species and were pooled into the group '*Pythium* sp.' Of the 6 distinct species, 3 were not precisely identified. The group *P. intermedium* included two distinct sub-species named A and B, because of small differences in restriction profiles observed after restriction banding patterns and digestion. *P. sylvaticum-irregulare* corresponded to a single species, but we were not able to identify precisely *P. sylvaticum* or *P. irregulare*. *P. coloratum* also corresponded to a single restriction profile, but we were not able to identify precisely *P. coloratum*, *P. dissotocum* or *P. diclinum* because of the similarity of their profiles.

Fluctuations in the composition of the Pythium complex - The number of isolated strains belonging to different species groups, the total number of positive isolations from CCS lesions, and the number of cases in which no isolate was found, were estimated for each of the 17 sampling dates (Annexe IV-1). A distinction was made between data from infested plots in 2001 (pooled whatever the dose of inoculum) and data from non-infested plots. The pathogen complex was initially composed of 6 *Pythium* species. *P. violae* was increasingly represented during the first year and responsible for most of the CCS lesions (more than 65 % at the end of the epidemic) (Figure IV-2). During the second year, *P. violae* was isolated in lower proportions and *P. sulcatum* became the dominant species in the complex. The prevalence of *P. sylvaticum-irregulare*, *P. intermedium*, *P. coloratum*, and other weakly represented species, was low (ranged from 10 to 20 %). During the third year, *P. violae* entirely disappeared and *P. sulcatum* dominated the complex (more than 70 %). The inter-specific diversity, illustrated by the normalized Shannon's diversity index (H_n), decreased with time during the 3-year period (Figure IV-2). Despite the additional presence of *P. violae*, H_n was lower in infested plots than in the control in 2001 (difference ranged between 28 % and 70 %).

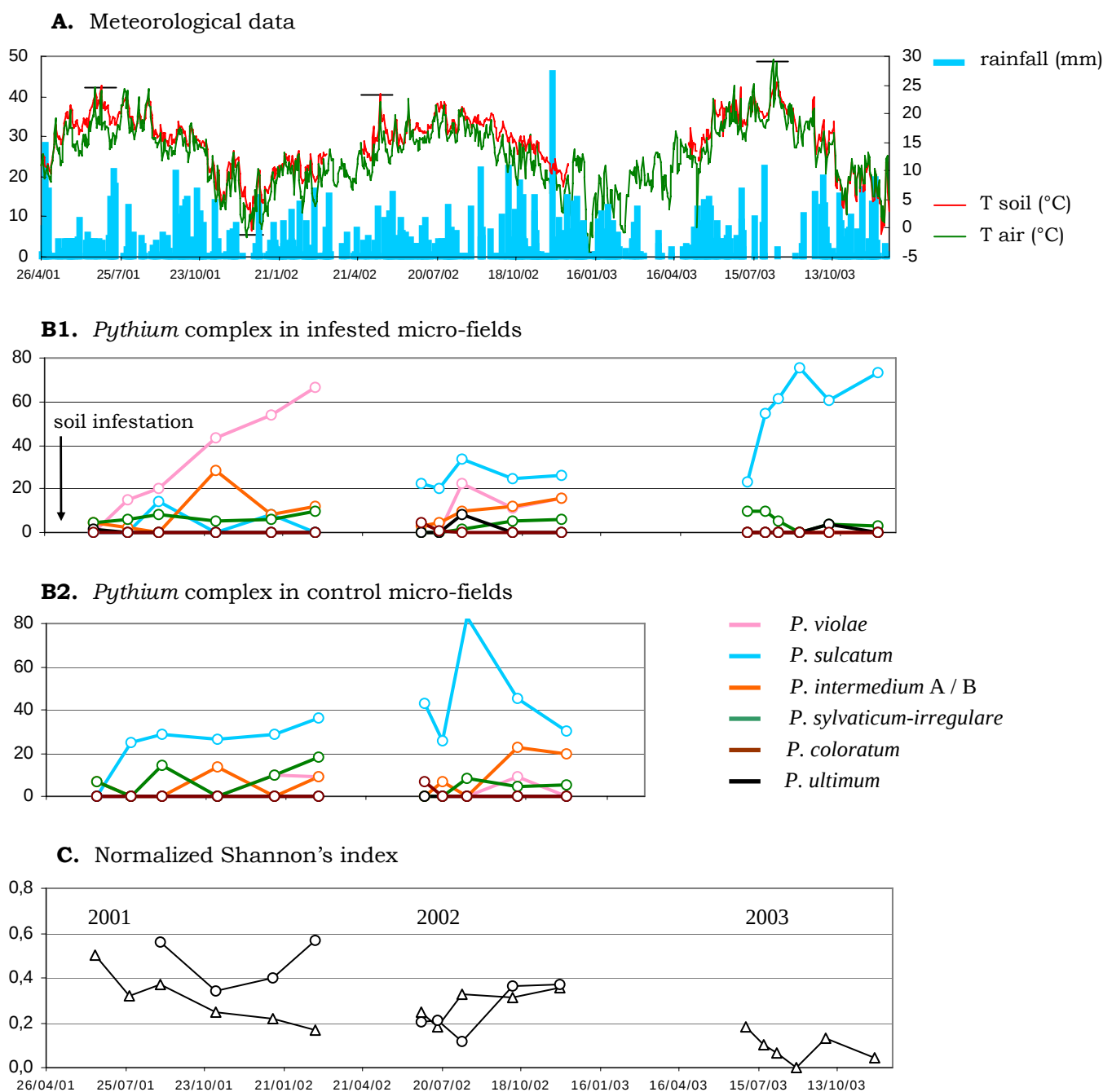
Meteorological and edaphic data - Air and soil temperatures and cumulative precipitations (rainfall and irrigation) are presented in Figure IV-2. The difference

Figure IV-2 Fluctuations in the composition of the *Pythium* complex responsible of CCS in the ‘field experiment’ (2001-2003, Le Rheu, Ile-et-Vilaine, France) after initial soil infestation by *P. violae* in 2001.

A. Meteorological data illustrated daily rainfall and irrigation (mm.day⁻¹), daily mean air temperature and mean soil temperature.

B. Prevalence of pathogenic *Pythium* species isolated from lesions. The total 100 % correspond to the number of isolates including non pathogenic *Pythium* sp. Distinction was done between (**B1**) infested plots (D1, D10 and D100) and (**B2**) non-infested control plots.

C. Variations in the diversity normalized Shannon’s index (H_n) in infested (Δ) and in control plots ($\circ$).



between maximal and minimal soil temperature was particularly wide in the 2003/2004 season (-4°C to +27°C). The climate was exceptionally hot and dry in the summer of 2003, with average of mean daily air temperatures of 21.5°C in August 2003, compared to 18.9°C in 2001 and 17.5°C in 2002. The average of maximum daily air temperature in August was 29.7°C in 2003, 24.5°C in 2001 and 23.7°C in 2002.

5.2. Occurrence of mixed infections and species interactions

The rate of efficacy of isolation of *Pythium* sp. from a CCS lesion was ranged between 45 and 70 % during the 3-year period (Table IV-1). The maximum number of *Pythium* spp. detected from any single CCS lesion was three. The frequency of cases in which a *Pythium* species was isolated alone, or in a mixture with other species, is less than 5-10% in average. *P. violae* and *P. sulcatum* were rarely isolated in mixture, 10.4 % and 9.6 %, respectively (Figure IV-3; Annexe IV-2). Other species were more frequently isolated in mixture with other *Pythium* spp.: 30.8 % for *P. intermedium*, 33.8 % for *P. sylvaticum-irregulare*, 42.9 % for *P. ultimum* and 66.7 % for *P. coloratum*. Ratios between 'observed' and 'expected' mixed infection frequency under the assumption of independent infection (*mir*) were < 1 for *P. violae*, *P. sulcatum*, *P. intermedium*, and *P. sylvaticum-irregulare* ($P < 0.05$), within the three years data set (Annexe IV-3). These four species were also less frequently associated than under the assumption of independent infection. Then, in the case of mixed infections, infection by different *Pythium* species was established to be no positively correlated, in particular for *P. violae* and *P. sulcatum* (refer to the values of χ^2 associated with $P < 0.05$ in Annexe IV-3). The number of *P. ultimum* and *P. coloratum* strains was too low for the chi-square test to be significant ($P > 0.05$).

5.3. Biological characteristics of *Pythium* spp.: optimum temperature, pathogenicity and saprophytic survival

Optimum temperature - The optimum temperature for saprophytic growth of *P. violae* (19°C) was less than *P. sulcatum* (25°C) (Figure IV-4). The optimum temperature for *P. intermedium* A/B was 24°C, and more than 30°C for *P. sylvaticum-irregulare*, where 30°C is a lethal temperature for *P. violae* and *P. intermedium*, but not for *P. sulcatum* and *P. sylvaticum-irregulare*.

Pathogenicity - The infection efficiency (rate of successful infection) of *P. violae* and *P. sulcatum* was 95 % and 100 %, respectively (Figure IV-5). Mean infection efficiency of other pathogenic species was lower and heterogeneous between strains belonging to the same species group: *P. sylvaticum-irregulare* ($e = 54$ %), *P. intermedium* A/B ($e = 44$ % and $e = 18$ %, respectively), *P. coloratum* ($e = 33$ %), and *P. ultimum* ($e = 15$ %). The extension of lesions (area of lesions) induced by *P. sylvaticum-irregulare*, *P. intermedium* B, *P. coloratum*, and *P. ultimum* was limited.

Table IV-1 Proportion of CCS lesions from which multiple *Pythium* species were isolated, combining infested and control plots in the ‘field experiment’ over three years (2001-2003).

Year	<i>L</i> ^a	<i>N</i> ^b	No. <i>Pythium</i> isolates per lesion ^c			
			0	1	2	3
2001	503	247	54.9 (276)	41.2 (207)	4.0 (20)	0.0 (0)
2002	409	249	47.4 (194)	44.7 (183)	7.3 (30)	0.5 (2)
2003	323	232	31.3 (101)	65.6 (212)	3.1 (10)	0.0 (0)
total	1235	728	46.2 (571)	48.7 (602)	4.9 (60)	0.2 (2)

^a total number of CCS lesions examined.

^b total number of isolates belonging to *Pythium* species, including multiple isolations of different species.

^c percentage of *L*; brackets indicate the total number of isolates; tabular values ignore species identity of *Pythium* isolates.

Figure IV-3 Proportion of *Pythium* strains isolated with at least one other species from a single CCS lesion in the ‘field experiment’ (2001-2003).

Data were pooled (infested and control plots); the fractions correspond to the ratios between the number of strains (of a given *Pythium* species) isolated in mixture from a single lesion and the total number of strains (of this *Pythium* species); * indicates that the number of strains isolated is too low to assure the significativity.

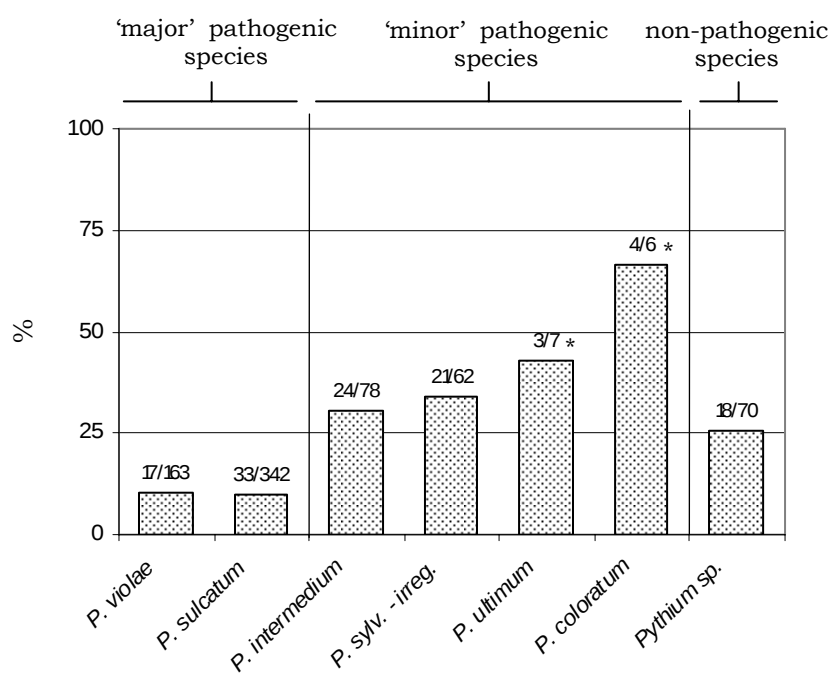
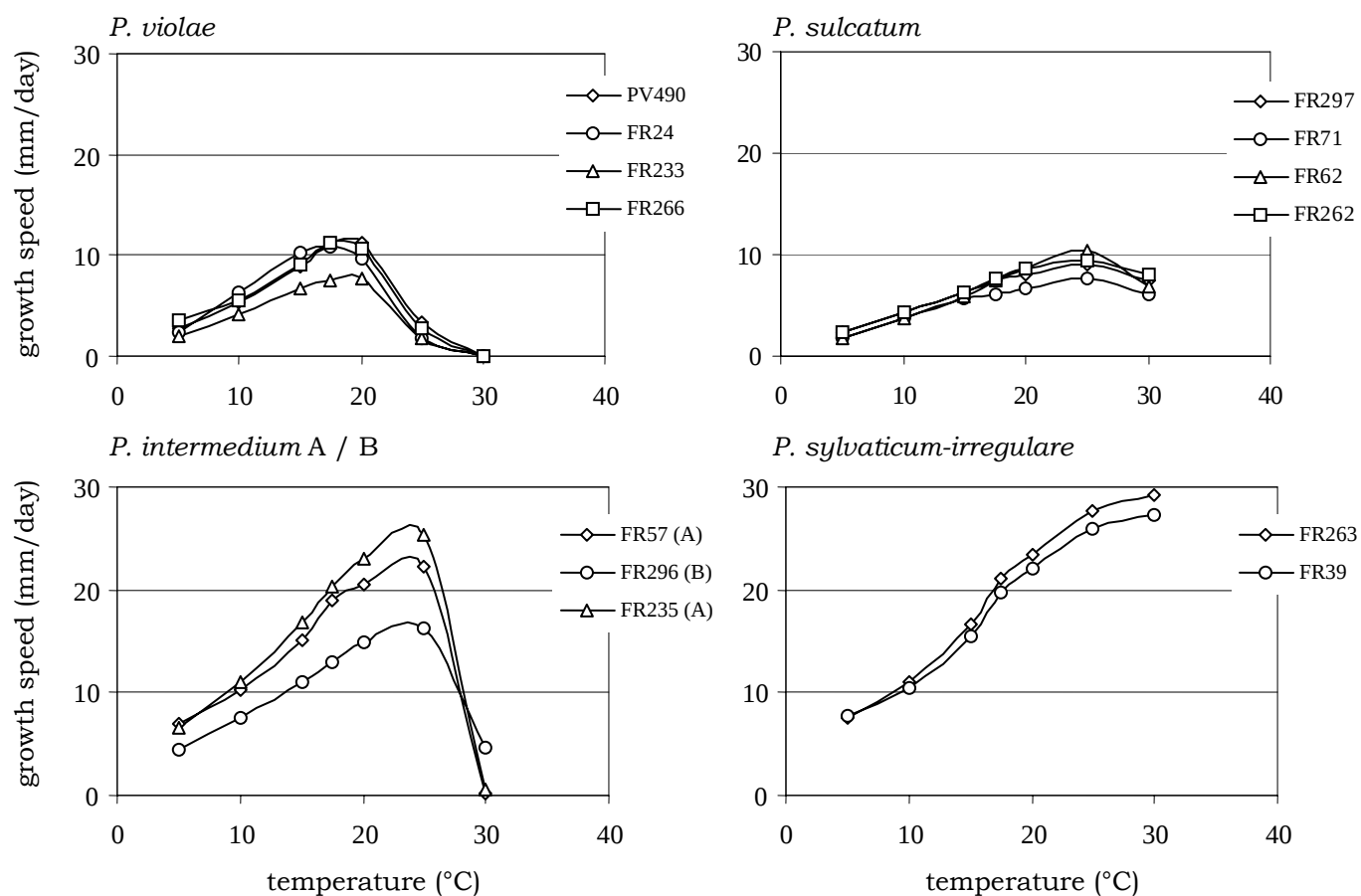


Figure IV-4 Radial mycelial growth rates of four pathogenic *Pythium* species (*P. violae*, *P. sulcatum*, *P. intermedium*, and *P. sylvaticum-irregulare*) after incubation on CMA (corn meal agar) for 96 hours.



PV490 is the reference strain (CBS 102.609); strains FR24, FR39, FR57, FR62, and FR71 were isolated in 2001 from CSC lesions in the 'field experiment'; strains FR233, FR266, FR262, FR296, FR235, and FR263 were isolated in 2002.

Figure IV-5 Pathogenicity of *Pythium* strains isolated from CCS lesions in the 'field experiment' in 2001 and 2002.

Infection efficiency e (rate of successful infection) and lesion extension (area of a lesion) were established for each isolate; pathogenicity (mean value of $\varphi = e \times \frac{1}{4} \cdot \pi \cdot (a+b)$) was calculated for each *Pythium* sp.

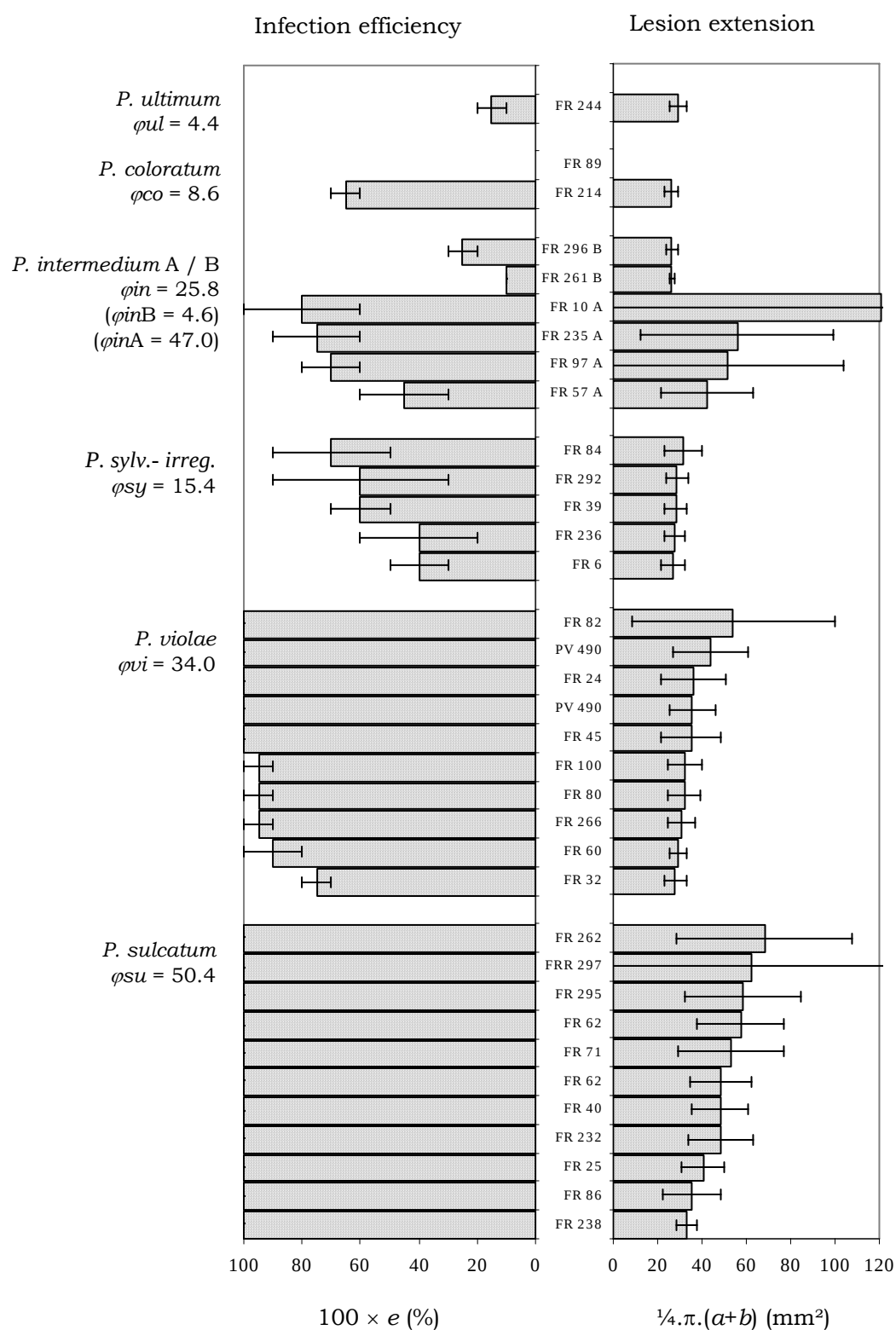


Figure IV-6 Relation between the mixed infection ratio (*mir*) estimated from the field experiment (2001-2003) and the pathogenicity ϕ of the *Pythium* spp. estimated *in vitro*.

Brackets indicate the number of isolates tested.

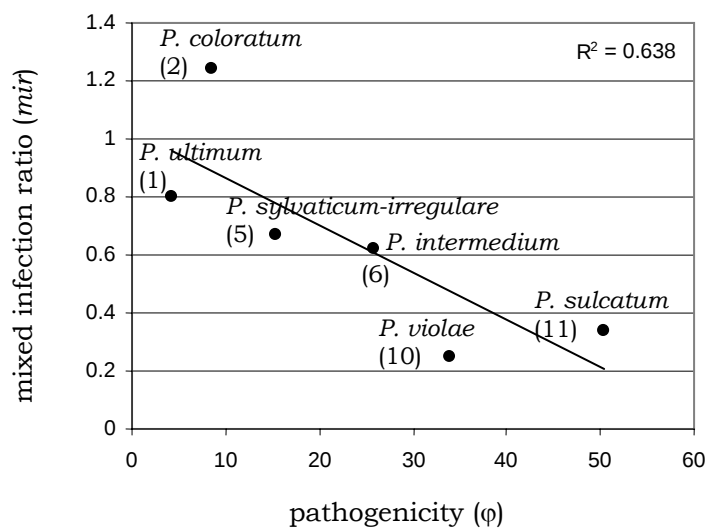
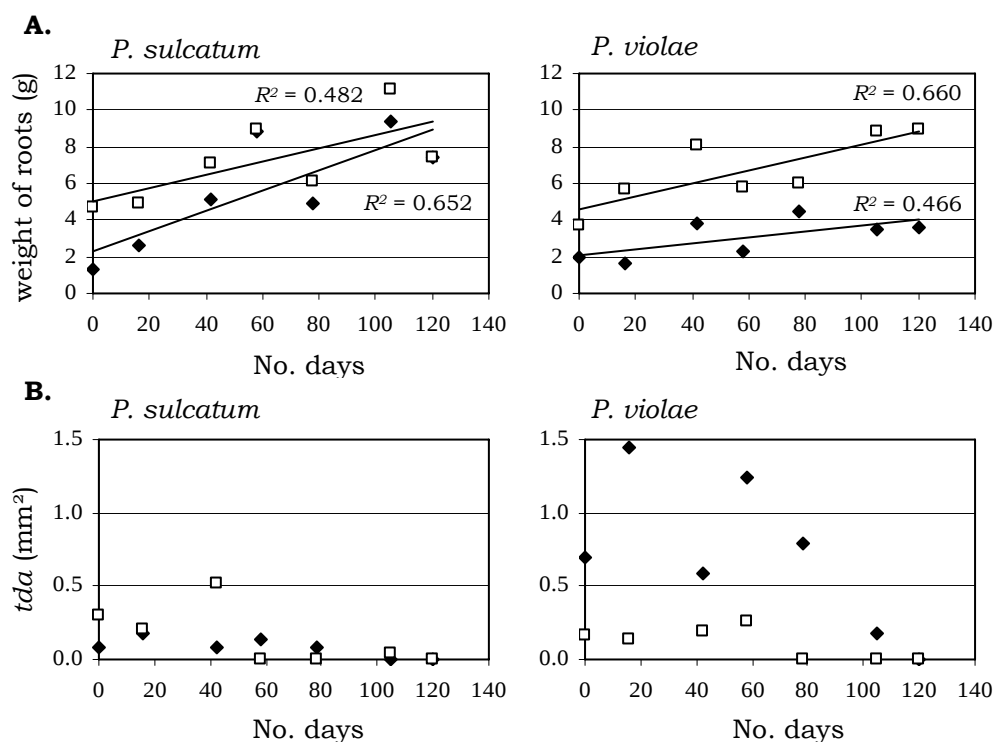


Figure IV-7 Illustration of the variations of the inoculum potential of *P. violae* and *P. sulcatum* in two soils after artificial inoculation with barley grains and different dates of sowing.

A. Effect on the mean weight of carrot roots. **B.** Effect on the total disease area (*tda*). Scale in abscise is the number of days between the soil infestation and the sowing of carrots; white squares ($\square$) correspond to the reconstituted sandy soil, and black diamonds ($\blacklozenge$) correspond to the natural non-sterilised silt soil from the 'field experiment'.



Larger lesions resulted from *P. sulcatum*, *P. intermedium* A, and *P. violae* infections. Combination of these measurements explained why upper values of ϕ were obtained for *P. sulcatum*, *P. violae*, *P. intermedium* A, and to a lesser extent *P. sylvaticum-irregulare*. According to their high pathogenicity *in vitro* and high prevalence in the pathogen complex on lesions, *P. violae* and *P. sulcatum* are considered here as 'major' species. It was confirmed by the decreasing relationship between *mir* and the pathogenicity ϕ ($R^2 = 0.638$) (Figure IV-6). The less a *Pythium* species was evaluated as pathogenic on carrot, the more it was isolated from a CCS lesion in mixture with at least one other species.

Saprophytic survival and decay of the inoculum potential - The temporal decline of inoculum potential was illustrated by increasing root weight and decreasing disease severity (*tda*) with the time span separating soil inoculation and carrot sowing (Figure IV-7). CCS level was relatively high when carrots were sown simultaneously or less than 40 days after soil infestation (*tda* ranged from 0.2 to 0.5 mm² for *P. sulcatum* and ranged from 0.2 to 1.5 mm² for *P. violae*), but was lower when carrots were sown more than 100 days after the soil infestation (*tda* less than 0.1 mm² for *P. sulcatum* and less than 0.2 mm² for *P. violae*). Although non-significant, the temporal decay of the inoculum potential was quite similar between *P. violae* and *P. sulcatum* and was observed in both soil types.

6. Discussion

6.1. Diversity and fluctuations in the *Pythium* complex

The diversity within the *Pythium* community decreased with time during the 3-year period. *P. violae* (2001) and secondly *P. sulcatum* (2002 and 2003) were selected. The prevalence of *P. violae* increased during the first year (2001). This effect may be due to the high artificial soil infestation due to the initial abundance of barley grain inoculum. The decline of inoculum potential was not fundamentally different for *P. violae* and *P. sulcatum* in controlled conditions. Similarly, Hancock (1981) showed the decline of *P. ultimum* in natural soils; the decrease of inoculum densities over the first few months was less evident and the subsequent decrease in densities was more prominent if soils were sterilized prior to infestation with *P. ultimum*. Similar reasons may explain the differences observed between the rapid inoculum decay of *P. violae* that occurred in the sandy soil, compared with the natural non-sterilised silt soil.

On the other hand, the high temperatures recorded in 2002 and 2003 (when soil temperatures exceed 20°C) may explain the decrease of the *P. violae* inoculum and the development of the endogenous *P. sulcatum*, since *P. violae* is less adapted to high temperatures than *P. sulcatum* (thermal optimum 19°C for *P. violae* vs. 25°C for *P. sulcatum*, with a lethal temperature 30°C for *P. violae*). Soil properties (composition, texture and moisture) may be another reason for the lack of *P. violae*

after 2002. Other endogenous species (*P. intermedium*, *P. sylvaticum* or *P. coloratum*) occurred equally but never increased in frequency on lesions, perhaps because they were less pathogenic than *P. violae* and *P. sulcatum*. No significant difference in the prevalence of *P. intermedium*, *P. sylvaticum* or *P. coloratum* between infested and control plots was observed.

In our study, the composition of the *Pythium* complex was not representative of communities described in the carrot production areas of Créances (Manche, France), in which *P. violae* is naturally predominant (Breton & Rouxel, 1993). Therefore, results can not be directly extrapolated to other regions. White (1986), Liddell *et al.* (1989), and El-Tarabily *et al.* (1996) described the composition of *Pythium* complexes by isolation from lesions and concluded that the effects of environmental conditions on CCS development differed between *Pythium* species. White (1988) found for example that *P. sulcatum* was less sensitive than *P. violae* to metalaxyl, a standard fungicide for CCS control; differences in sensitivity may induce local changes in the diversity of *Pythium* communities.

Serological studies showed that *P. sylvaticum* and *P. irregulare* may be included in a same 'group' of species (Hendrix & Campbell, 1983; White *et al.*, 1994), identified by quite similar PCR profiles (Wang & White, 1997; Vasseur *et al.*, 2001). Distinguishing *P. coloratum* from *P. dissotocum* or from *P. diclinum* (Wang & White, 1997; D. Breton, SILEBAN-INRA, France, pers. comm.) has also proved difficult. Additional molecular tools would be necessary to differentiate the strains belonging to these two groups. Nevertheless, *Pythium* groups defined here were precise enough for our ecological approach. Fast-growing *Pythium* species are more easily isolated from CCS lesions in Petri dishes than slow-growing species (White, 1988). Consequently, the occurrence of the slow-growing *P. violae* and *P. sulcatum* may be theoretically underestimated in case of mixed infections with the fast-growing species *P. intermedium*, *P. sylvaticum* or *P. coloratum*.

6.2. Absence of major synergistic interactions between *Pythium* species during mixed infections

We showed that the less a *Pythium* species was pathogenic on carrot, the more often it was isolated in mixture with other species from a single lesion. Considering pathological characteristics of each species, changes over time in the diversity of the *Pythium* community, and contingency analysis of mixed infections, the *Pythium* population may be divided into three 'ecological' groups:

- (i) 'major' pathogenic species such as *P. sulcatum* and *P. violae*, which cause 75-90 % of the CCS lesions during a large epidemic, are rarely isolated in mixture with other species; these 'major' species are highly pathogenic and are able to induce CCS lesions by themselves.
- (ii) 'minor' pathogenic species such as *P. intermedium*, *P. sylvaticum-irregulare*, and *P. coloratum*, which induce less than 10-25 % of the symptoms, are more frequently present on a lesion in association with a 'major' pathogenic species; these 'minor'

species are less pathogenic, are less able to induce CCS lesions by themselves, and may be considered as opportunistic pathogens.

(iii) non-pathogenic *Pythium* species, which are rarely able to induce typical CCS lesions by themselves *in vitro*.

This classification was suggested for other sympatric species belonging to diverse soil-borne pathogenic communities. The composition of some *Pythium* complex may fluctuate during (or between) cropping seasons (Mihail *et al.*, 2002; Rao *et al.*, 1978; Larkin *et al.*, 1995a, 1995b; Lumsden *et al.*, 1976) and pathogenic species occupy sometimes the same ecological niche. It is not really for the CCS because some species isolated in our study seems to be totally specific to carrots and others not. The fast-growing *Pythium* species, less pathogenic on carrots, are less specialised. Indeed, the slow-growing species, more pathogenic, are more specialised.

Infection by different pathogenic species was established to be no positively correlated in case of mixed infections, illustrating few interactions between the 'major' species (*P. violae* and *P. sulcatum*) and others. Then, changes in the *Pythium* complex seems to be due more to individual dynamics relating to specific biological characteristics (optimum temperature of mycelial growth and inoculum survival in soil), than to interactions between species during the infection processes. Synergistic or antagonistic effects between species in case of mixed infection have rarely been discussed, except for plant viruses (Zhang *et al.*, 2001) or some pathogens of potato tubers (Pett & Kleinhempel, 1976; Langerfeld, 1981). Our results illustrate a situation where several associated species interact to cause one single plant disease. The degree of mixed infection, found to be more than 10-15 %, is not negligible in the case of a CCS epidemic. Nevertheless, few studies on the diversity of *Pythium* communities have focused on the fine spatial scale among the individual lesions and the cohort of lesions on a root. The occurrence of mixed infection was rarely discussed, excepted by Mihail *et al.* (2002) who characterized the diversity of a *Pythium* community on *Kummerowia stipulata* at the lesion scale, and by Xu *et al.* (2005) who studied two- and three-pathogen synergic interactions between *Fusarium* species on wheat. In the case of the CCS, such as several soil-borne diseases due to a *Pythium* complex (Lumsden *et al.*, 1976, Larkin *et al.*, 1995a; Lee & Hoy, 1992; Rao *et al.*, 1978), the two hypothesis (i) prevalence of a single 'major' species in the complex without interaction with other 'minor' species, and (ii) prevalence of some 'major' species that interact with other 'minor' species, have been rejected. The *Pythium* complex responsible of CCS, spatially diverse and temporally fluctuant, is then characterised by the absence of competition between species during the infection phase. This is a common point with several other *Pythium* complex inducing root diseases.

Analyses of mixed infection from data of field experiment and comparisons of root infection by total *Pythium* species or one single species with disease severity may be used as an alternative approach to studying interactions of pathogenic *Pythium* species. This combined approach, partially done for CCS, may be generalised to other soil-borne pathogen complex to characterise the main type of interaction

(synergic or not) between species within the complex and potential epidemiological consequences. To this end, knowledge about the ecology of *P. violae* and *P. sulcatum* and other root-infecting species during the growing season and over the course of the crop cycle is needed to gain a better understanding of CCS epidemiology in carrot.

6.3. Consequences for quantitative CCS epidemiology

The results describing the absence of major interactions between *Pythium* species during infection has important consequences in quantitative epidemiology. The main stake of this discussion concerns the species diversity and the time scale relevant to analyse a CCS epidemic due to a *Pythium* complex. Fluctuations in the diversity of the *Pythium* community isolated from lesions showed that the composition of the pathogen complex must be analysed at both the annual and pluri-annual scales. Theoretically, it is possible to consider (i) a single, pluri-specific epidemic, including the effects due to interactions between species, or (ii) several mono-specific epidemics with a global outcome corresponding to the sum of the effects of each *Pythium* species considered independently. The second hypothesis was here preferred because of the absence of major interactions within the complex during the infection processes: the epidemic results from several major sub-epidemics each due to a single *Pythium* species. It is also necessary to measure some characteristics of the complex (pathogenicity, optimum temperature, and inoculum survival) for reliable CCS predictions and management, even if we do not need take into account the composition of the complex to model epidemiological processes.

In the absence of interaction between two species, the global disease progress curve, illustrated by the total disease area tda , may be due to the sum of different mono-specific disease progress curves specifically due to single *Pythium* species (tda_i) and the disease progress curves due to mixed infection ($tda_{i,j}$). The equation (3) is a mathematical transcription of this formalization and illustrates the case of a double infection (mixed infection by two species):

$$tda = \sum_{i=1}^S tda_i + \frac{1}{2} \sum_{i=1}^S \sum_{j=1}^S tda_{i,j}; i \neq j \quad (3)$$

where tda is the total disease area, tda_i the total disease area exclusively due to the species i (i is isolated alone from a lesion), $tda_{i,j}$ the total disease area due to the species i and j (i is isolated in mixture with j), and S the total number of species implicated in the epidemic.

Variations within a *Pythium* complex may affect the final disease severity of CCS, through the inoculum density of each species, but would not affect the fundamental form of the disease progress curves. Epidemiological processes (e.g. primary and secondary infections), tested in particular conditions, may be also valid in other conditions. Equation of the model describing disease progress curves do not need adaptation to take into account new hypothetical processes due to synergism or antagonism between species.

References

- Ali-Shtayeh MS, Len LHC and Dick MW (1986) An improved method and medium for quantitative estimates of populations of *Pythium* species from soil. Transactions of the British Mycological Society 86(1): 39-47.
- Begon M, Harper JL and Townsend CR (1986) Ecology: individuals, populations, and communities. 1068 pp.
- Benard D and Punja ZK (1995) Role of *Pythium* species in cavity spot development on carrots in British Columbia. Canadian Journal of Plant Pathology 17: 31-45.
- Breton D and Rouxel F (1993) Données récentes sur le cavity spot de la carotte en France. Acta Horticulturae: 159-170.
- Campion C, Massiot P and Rouxel F (1997) Aggressiveness and production of cell wall degrading enzymes by *Pythium violae*, *Pythium sulcatum* and *Pythium ultimum*, responsible for cavity spot of carrot. European Journal of Plant Pathology 103(8): 725-735.
- Dick MW (1990) Keys to *Pythium*. University of Reading Press, 64 pp.
- Dick MW and Ali-Shtayeh MS (1986) Distribution and frequency of *Pythium* species in parkland and farmland soils. Transactions of the British Mycological Society 86(1): 49-62.
- Domsch KH, Gams W and Anderson T (1980) Compendium of soil fungi. Vol I. Academic Press, London, 859 pp.
- El-Tarabily KA, Hardy GESJ and Sivasithamparam K (1996) Association of *Pythium coloratum* and *Pythium sulcatum* with cavity spot disease of carrots in Western Australia. Plant Pathology 45(4): 727-735.
- Groom MR and Perry DA (1985) Induction of 'cavity spot like' lesions in roots of *Daucus carota* by *Pythium violae*. Transactions of the British Mycological Society 84: 755-758.
- Groth JV and Roelfs AP (1987) The concept and measurement of phenotypic diversity in *Puccinia graminis* on wheat. Phytopathology 77(10): 1395-1399.
- Guerin L, Briard M and Rouxel F (1994) Biochemical characterisation of *Pythium* spp. involved in cavity spot of carrots in France. Annals of Applied Biology 125: 255-265.
- Hancock JG (1981) Longevity of *Pythium ultimum* in moist soils. Phytopathology 71(10): 1033-1037.
- Hancock JG and Grimes DW (1990) Colonization of rootlets of alfalfa by species of *Pythium* in relation to soil moisture. Phytopathology 80(12): 1317-1322.
- Hardman JM and Dick MW (1987) Short-term fluctuations in availability of *Pythium* propagules for isolation from soil. Transactions of the British Mycological Society 88(1): 29-39.
- Hendrix FF and Campbell WA (1973) *Pythium* as plant pathogens. Annual Review of Phytopathology 11: 77-98.
- Hiltunen LH and White JG (2002) Cavity spot of carrot (*Daucus carota*). Annals of applied Biology 141: 201-223.
- Kageyama K, Uchino H and Hyakumachi M (1998) Characterization of the hyphal swelling group of *Pythium*: DNA polymorphisms and cultural and morphological characteristics. Plant Disease 82(2): 218-222.

- Langerfeld E (1981) Single and mixed infection of potato tubers with fungal and bacterial rot pathogens at different relative humidities. *Nachrichtenblatt des Deutschen Pflanzenschutzdienstes* 33(1): 1-4.
- Larkin RP, English JT and Mihail JD (1995a) Effects of infection by *Pythium* spp. on root system morphology of alfalfa seedlings. *Phytopathology* 85(4): 430-435.
- Larkin RP, English JT and Mihail JD (1995b) Identification, distribution and comparative pathogenicity of *Pythium* spp. associated with alfalfa seedlings. *Soil Biology and Biochemistry* 27(3): 357-364.
- Lee YS and Hoy JW (1992) Interactions among *Pythium* species affecting root rot of sugarcane. *Plant Disease* 76(7): 735-739.
- Liddell CM, Davis RM, Nunez JJ and Guerand JP (1989) Association of *Pythium* spp. with carrot root diseases in the San Joaquin Valley of California. *Plant Disease* 73(3): 246-248.
- Lumsden RD, Ayers WA, Adams PB, Dow RL, Lewis JA, Papavizas GC and Kantzes JG (1976) Ecology and epidemiology of *Pythium* species in field soil. *Phytopathology* 66: 1203-1209.
- Martin FN and Kistler HC (1990) Species-specific banding patterns of restriction endonuclease digested mitochondrial DNA from the genus *Pythium*. *Experimental Mycology* 14: 32-46.
- Martin FN and Loper JE (1999) Soilborne plant diseases caused by *Pythium* spp.: ecology, epidemiology, and prospects for biological control. *Critical Reviews in Plant Sciences* 18: 111-181.
- McRoberts N, Hughes G and Savary S (2003) Integrated approaches to understanding and control of diseases and pests in field crops. *Australasian Plant Pathology* 32: 167-180.
- Mihail JD, Hung LF and Bruhn JN (2002) Diversity of a *Pythium* community infecting roots of the annual legume *Kummerowia stipulacea*. *Soil Biology and Biochemistry* 34: 585-592.
- Montfort F and Rouxel F (1988) La maladie de la tache de la carotte due à *Pythium violae*: données symptomatologiques et étiologiques. *Agronomie* 8(8): 701-706.
- Paulitz TC and Adams K (2003) Composition and distribution of *Pythium* communities in wheat fields in Eastern Washington State. *Phytopathology* 93(7): 867-873.
- Pett B and Kleinhempel D (1976) On the problem of mixed infection (*Pectobacterium carotovorum* var. *atrosepticum* (van Hall) Dowson and *Fusarium* spp.) on potato tubers. *Archiv für Phytopathologie und Pflanzenschutz* 12(5): 315-322.
- Rao B, Schmitthenner AF, Caldwell R and Ellet CW (1978) Prevalence and virulence of *Pythium* species associated with root rot of corn in poorly drained soil. *Phytopathology* 68: 1557-1563.
- Rogers SO and Bendich AJ (1985) Extraction of DNA from milligram amounts of fresh herbarium and mummified plant tissues. *Plant Molecular Biology* 5: 69-76.
- Savary S, Willocquet L, Elazegui FA, Teng PS, Van Du P, Zhu D, Tang Q, Huang S, Lin X, Singh HM and Srivastava RK (2000) Rice pest constraints in tropical Asia: characterization of injury profiles in relation to production situations. *Plant Disease* 84(3): 341-356.
- Sheldon AL (1969) Equitability indices: dependence on the species count. *Ecology* 50(3): 466-467.
- Sokal RR and Rohlf FJ (1995) *Biometry: the principles and practice of statistics in biological research*. New York, 887 pp.
- Tu CC (1991) Integrated control of the pea root rot disease complex in Ontario. *Plant Disease* 71(1).
- Van der Plaats-Niterink AJ (1981) Monograph of the genus *Pythium*. *Studies in Mycology*. Baarn. 21: 224.
- Vasseur V, Breton D, Verger S and Foucher S (2001) Identification de 13 espèces de *Pythium* par PCR et PCR-RFLP: reproductibilité de techniques moléculaires. *Phytoma* 535: 33-36.
- Wang PH and White JG (1997) Molecular characterization of *Pythium* species based on RFLP analysis of the internal transcribed spacer region of ribosomal DNA. *Physiological and Molecular Plant Pathology* 51(2): 129-143.

- White JG (1986) The association of *Pythium* spp. with cavity spot and root dieback of carrots. *Annals of Applied Biology* 108: 265-273.
- White JG (1988) Studies on the biology and control of cavity spot of carrots. *Annals of Applied Biology* 113: 259-268.
- White JG, Lyons NF, Wakeham AJ, Mead A and Green JR (1994) Serological profiling of the fungal genus *Pythium*. *Physiological and Molecular Plant Pathology* 44: 349-361.
- Xu XM, Parry DW, Nicholson P, Thomsett MA, Simpson D, Edwards SG, Cooke BM, Doohan FM, Brennan JM, Moretti A, Tocco G, Mule G, Hornok L, Giczey G and Tatnell J (2005) Predominance and association of pathogenic fungi causing Fusarium ear blight in wheat in four European countries. *European Journal of Plant Pathology* 112: 143-154.
- Zhang BX, Ge QX, Chen DH, Wang ZY and He SS (1990) Biological and chemical control of root diseases on vegetable seedlings in Zhejiang province, China. *In: Biological control of soil-borne plant pathogens*. D. Hornby. CAB International. p. 181-196.
- Zhang XS, Holt J and Colvin J (2001) Synergism between plant viruses: a mathematical analysis of the epidemiological implications. *Plant Pathology* 50: 732-746.

PERSPECTIVES

Les variations dans la composition d'un complexe de *Pythium* pathogènes ont été illustrées au cours de trois années d'épidémies de cavity spot. Des hypothèses permettant d'interpréter ces changements ont été suggérées : ils ont été expliqués, au moins partiellement, par les caractéristiques biologiques de chaque espèce (optimum thermique et pouvoir pathogène). Dans 10 à 15 % des cas environ, plusieurs espèces ont été isolées en mélange à partir d'une même lésion, justifiant la prise en compte des infections multiples dans l'analyse du développement d'une épidémie, qu'elles soient dues à des espèces « majeures » (les plus représentées au sein du complexe et les plus pathogènes, comme *P. violae* et *P. sulcatum*) ou à des espèces « mineures » (faiblement représentées au sein du complexe, moins pathogènes, comme *P. sylvaticum-irregulare*, *P. intermedium* ou *P. coloratum*). Une analyse de contingence a montré que les espèces perçues comme « mineures » ont été plus souvent isolées en mélange que les espèces « majeures », de façon inversement proportionnelle à leur pouvoir pathogène, confirmant que leur capacité à initier seules une lésion était moindre, en accord avec les résultats des tests de pathogénicité *in vitro*. Certaines pourraient même ici être considérées comme des espèces « opportunistes ».

Si l'étude a été menée dans des conditions assez éloignées de celles décrites dans les principaux bassins de production de carottes, les conclusions que nous tirons permettent d'élargir la portée des hypothèses génériques formulées au Chapitre III (infections primaires / infections secondaires) pour modéliser le développement d'une épidémie. La forme « bi-sigmoïde » des cinétiques ne semble par résulter de l'action décalée dans le temps de différentes espèces. Nous avons établi que, dans le cas d'infections multiples, les infections par une espèce « majeure » étaient indépendantes de la présence d'une autre. L'absence probable d'interaction entre espèces pendant la phase d'infection permet de préciser les dimensions initiales du système (pathosystème « *Pythium* sp. - *Daucus carota* »), qui peut finalement être élargi et intégrer dans son entièreté le complexe d'espèces (pathosystème « complexe *Pythium* spp. - *Daucus carota* »). Les processus intervenant au cours d'une épidémie « pluri-spécifique » peuvent raisonnablement être assimilés à ceux d'une épidémie « mono-spécifique ». Une épidémie de cavity spot peut ainsi être analysée de façon globale, sans que nous soyons obligés de dissocier l'action de chaque espèce, et surtout sans prendre en compte les processus particuliers qui auraient pu résulter d'interactions.

La diversité de termes avec lesquels il est possible de qualifier un ensemble d'espèces pathogènes taxonomiquement proches et responsables de symptômes similaires (complexe multiple de bioagresseurs pour *multiple pest complex*, pathosystème multiple pour *multiple pathosystem*, complexe pathogène pour

pathogen complex, et complexe d'espèces pour *species complex*) montre que le fonctionnement d'un complexe parasitaire est une question importante, régulièrement soulevée en Epidémiologie Végétale. Les analyses théoriques sur ce sujet, en particulier celles faisant appel à des notions d'écologie et de dynamique des populations, font malheureusement défaut.

La notion de « métapopulation », définie comme étant un ensemble de sous-populations occupant chacune des parties séparées d'un habitat fragmenté (Hanski, 1999), a été utilisée pour la première fois en Ecologie par Levins (1969). A ce titre, pourquoi ne pas envisager un complexe parasitaire comme un ensemble métapopulationnel et tirer profit des considérations écologiques qui en découlent ? Une autre approche, spécifique de la Mycologie, considère le développement de populations fongiques sur une ressource éphémère divisée en différentes unités appelées « unités de ressources » (par exemple des feuilles ou des fruits en décomposition) (Swift, 1976). Les deux approches (« métapopulation » / « unités de ressources ») ont été mises en relation par quelques auteurs, mais peu se sont intéressés de façon spécifique aux conséquences de la compétition entre espèces pour l'exploitation du milieu ou l'infection d'un hôte (Hastings 1990 ; Gourbière & Gourbière 2002 ; Newton et al., 1998 ; Dobson, 2003). Un modèle développé par Gourbière & Gourbière (2002) concerne des champignons saprophytes et traite des interactions entre espèces. Appliqué à des champignons colonisateurs d'aiguilles de pin, il offre un cadre théorique pour l'analyse de l'abondance, la distribution et la compétition entre espèces ; il établit en particulier que, lorsqu'une même unité de ressources est inoculée avec des spores de plusieurs espèces, la compétition qui s'instaure conduit à une utilisation différentielle des ressources :

(i) dans un premier temps, les espèces peuvent interagir durant la phase de croissance mycélienne qui suit l'inoculation, chaque portion de territoire étant occupée par une seule espèce et la fragmentation de l'habitat déterminée par la quantité initiale des spores de chacune. De manière analogue, dans le cas du cavity spot, la surface nécrosée due à une espèce peut être reliée à la quantité d'inoculum du sol capable d'initier des infections.

(ii) dans un second temps, le mycélium des différentes espèces peut envahir de façon concurrentielle d'autres parties du substrat par « enchevêtrement », en fonction de leur potentiel enzymatique respectif. Dans le cas du cavity spot, cela peut correspondre à l'extension diamétrale des lésions ou à des infections secondaires, processus dont les dynamiques auraient pu être influencées par la compétition interspécifique ; nous avons justement montré que cela n'était pas le cas.

Ces pistes de réflexion empruntées à un champ disciplinaire transversal pourraient permettre des échanges de concepts, de méthodes et d'hypothèses pertinents entre l'Ecologie des Communautés et l'Epidémiologie Végétale.



CHAPITRE V



Démonstration expérimentale des infections secondaires
par transplantation racinaire

PROBLEMATIQUE

Il existe de fortes présomptions que le cavity spot de la carotte soit une maladie polycyclique. Plusieurs éléments suggèrent en effet que les infections secondaires jouent un rôle important dans la dynamique d'une épidémie :

- L'analyse des principales variables de maladie a montré que la relation entre incidence (incidence de maladie i) et sévérité (surface totale nécrosée tda) évoluait au cours de l'épidémie (Chapitre II). Cette évolution va dans le sens de phases d'intensification et d'extensification des symptômes, succédant à une phase initiale de mobilisation de l'inoculum primaire.

- L'analyse des cinétiques de cavity spot constitue un argument supplémentaire. Les hypothèses formulées précédemment ont été testées au Chapitre III par l'ajustement aux données obtenues au champ de modèles non linéaires, intégrant chacun l'occurrence d'infections primaires et secondaires. Le modèle de Brassett et Gilligan (1988), qui simule la concomitance des deux processus, a été retenu.

Ces indices, s'ils sont des arguments importants, ne constituent pas pour autant la preuve irréfutable de l'existence des infections secondaires ; on pourrait raisonnablement s'en contenter, l'expérimentation sur les agents pathogènes telluriques étant peu aisée. Plusieurs auteurs ont été tentés de « démontrer » différents processus épidémiologiques en proposant des modèles qui simulent des courbes de progression de maladies (Amorim *et al.*, 1993 ; Bailey & Gilligan, 1999 ; Pfender, 1982 ; Stack, 1980 ; Webb *et al.*, 1999). Cet usage de la modélisation est intéressant, mais doit être étayé par des résultats expérimentaux solides pour être extrapolé à d'autres maladies racinaires ; il est en effet aisé de convaincre celui qui observe ou utilise un modèle que toutes les hypothèses qu'il intègre n'ont pas à être davantage démontrées puisque ce qui en « sort » ressemble à la réalité. Pfender (1982) rappelle à juste titre que la compréhension du cycle biologique spécifique d'une maladie est nécessaire, certainement autant que la description de ses cinétiques épidémiques dans lesquelles les effets du cycle sur les taux d'infection peuvent se confondre avec les effets de facteurs environnementaux (conditions pédoclimatiques, sensibilité de l'hôte). Obtenir des preuves par l'expérience est selon nous fondamental.

Ce chapitre répond donc au besoin de démontrer formellement, reproduire et quantifier les infections secondaires. Nous tirons profit des contraintes du pathosystème *Pythium* / carotte (cycle de croissance long, tubérisation irrégulière, caractère destructif des prélèvements, etc.) pour envisager une méthode d'expérimentation sur une racine déjà tubérisée : transplantée, elle est capable de se développer comme si elle rentrait dans la deuxième année de son cycle bisannuel. Inoculée artificiellement par *P. violae* juste avant transplantation, elle devient un des éléments constitutifs (une racine infectieuse « source ») du système composé d'un peuplement de racines saines (« cibles ») dans un sol non infesté. Les

conditions sont réunies pour que, le cas échéant, des contaminations racines à racines se produisent.

Ce chapitre a également pour objectif de formaliser la méthodologie expérimentale ensuite utilisée dans des essais conduits en microcosmes pour caractériser les attributs spatio-temporels des contaminations racines à racines (distance seuil, forme du gradient de dispersion, temps de latence, taux d'infections secondaires, conditions pédo-climatiques limitantes, etc.) et mesurer l'effet de facteurs cultureux sur ces processus.

CHAPITRE V - DEMONSTRATION OF SECONDARY INFECTION IN EPIDEMICS OF CARROT CAVITY SPOT USING ROOT TRANSPLANTATION AS A METHOD OF INFESTATION

Summary¹

Cavity spot of carrot (CCS) is one of the most important soil-borne diseases of this crop worldwide. It is characterised by small sunken elliptical lesions on the taproot caused by a complex of pathogens belonging to the genus *Pythium*, including *P. violae*. In most of soil-borne diseases, the soil is the source of inoculum for primary infections, with diseased plants then providing inoculum for secondary infections (both auto- and alloinfection). An original soil infestation method, in which an artificially infected carrot root (the donor plant) was placed close to healthy roots (receptor plants), was developed. This method induced the formation of typical CCS lesions more efficiently than the use of classical soil inoculum. This method was used to demonstrate the polycyclic nature of a CCS epidemic caused by *P. violae* in controlled conditions. Using fragments of CCS lesions to inoculate soil, we demonstrated firstly that CCS lesions on carrot residues may infect healthy roots, and secondly that CCS can spread from root to root by alloinfection from transplanted diseased roots. Secondary infections affected CCS disease assessments and root weight as soon as two weeks after transplantation of the diseased carrot. This reproducible method may be used for delayed inoculation and for studying the efficacy of treatments against primary and secondary infections.

1. Introduction

Cavity spot (CCS) is one of the most damaging fungal diseases of carrot worldwide, causing severe yield losses and quality deterioration (Guba *et al.*, 1961; Hiltunen & White, 2002). This soil-borne disease is characterised by small sunken elliptical lesions on the taproot caused by a complex of pathogens belonging to the genus *Pythium*, mostly of the species *P. violae* and *P. sulcatum* in France (Montfort & Rouxel, 1988).

Soil-borne plant pathogens are transmitted by various biological and physical mechanisms, including growth from organic residues in soil or from an infected host plant, spore dispersion in soil water, and the growth of root systems, bringing infected and healthy roots into contact. Several soil-borne diseases have two epidemiological phases - a monocyclic 'simple interest' phase and a polycyclic 'compound interest' phase - as shown by Zadoks & Schein (1979) and Pfender (1982). Polycyclic soil-borne diseases are caused by pathogens that complete more than one disease cycle within a growing season. Soil inoculum (spores, sclerotia, mycelium or diseased crop residues) is responsible for the primary infections;

¹ Ce chapitre, à l'exception de l'encadré V-1, fait l'objet d'un projet de publication soumis à la revue Plant Pathology : Suffert F and Montfort F, Demonstration of secondary infection by *Pythium violae* in epidemics of carrot cavity spot using root transplantation as a method of infestation.

Frame V-1 – Overview of some soil-borne pathosystems for which secondary infections were experimentally demonstrated.

Sclerotium cepivorum is responsible for white rot of onion and garlic. Scott (1956a; 1956b) reported that this pathogen spread from inoculated onion bulbs to adjacent healthy plants but did not spread when root systems were separated by nylon mesh, whereas mycelium from infected roots penetrated the mesh and encountered roots of neighbouring plants. He concluded that infection could only spread from plant to plant if the roots of neighbouring plants were in contact. Disease spread was greatest if the bulbs were touching, and less extensive if the bulbs were separated slightly. This is probably because plants were inoculated via the bulb but the mycelium had not grown down into the root zone. Crowe & Hall (1980) confirmed, by direct observation, that *Sclerotium cepivorum* spreads from plant to plant in stands of garlic. However, the roots of neighbouring plants did not need to be in contact: hyphae from germinating sclerotia and infected roots grew through soil, penetrated nylon mesh, and infected healthy garlic roots. These differences in results demonstrate the complexity of experimental studies in soil-borne plant disease epidemiology.

Rekah *et al.* (1999) studied crown and root rot in tomato due to *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* in naturally infested fields. Using a chlorate-resistant mutant of *F. oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* unable to use nitrate as a 'tagged' inoculum, they showed that the pathogen spread from plant to plant by infecting the roots. A decreasing gradient of root colonisation by the mutant strain was observed across the field, from the site of inoculation. Greenhouse experiments based on the nylon mesh method demonstrated that this soil-borne pathogen spread from root to root, and suggested the polycyclic nature of *F. oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici*, a deviation from the monocyclic nature of many non-zoosporic soil-borne pathogens (Rekah *et al.*, 1999; 2001). Rekah *et al.* concluded that secondary infection was primarily the result of plant-to-plant spread via root contact.

Pfender & Hagedorn (1983) showed that *Aphanomyces euteiches* f. sp. *Pisi*, which causes root rot in peas, spread from an infected plant to a limited number of neighbouring plants in the pea stand. In small field plots in which *Aphanomyces*-infected plants were transplanted into rows of young healthy peas in non-infested soil, the pathogen was recovered from the roots of adjacent plants at the end of the season. In all cases, *Aphanomyces* spread from the initially infected plant to several other plants in both directions within the row, and to plants in adjoining rows.

Soil-borne *Phytophthora* spp., including *Phytophthora parasitica* var. *nicotianae* (Kannwischer & Mitchell, 1978; Shew, 1987), reproduce profusely on and in infected roots, and pathogen dispersal and subsequent disease development have been documented. Mycelial growth from plant to plant is the primary mechanism of dispersal in these examples, but zoospores may be involved in species producing these structures, such as *Aphanomyces euteiches*, *Phytophthora parasitica*, or *Pythium* spp.

diseased plants then provide inoculum for secondary infections mediated by direct root-to-root contact or mycelial growth. A single infection from a soil-borne propagule become the focus for the infection of several plants due to pathogen spread.

Secondary infection cycles have been demonstrated and quantified in some cases of soil-borne fungal diseases (Frame V-1): white rot due to *Sclerotium cepivorum* in onion and garlic (Scott, 1956a; 1956b; Crowe & Hall, 1980), sunflower wilt due to *Sclerotinia sclerotiorum* (Huang & Hoes, 1980), Fusarium crown and root rot of tomato caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* (Rekah *et al.*, 1999; 2001), pea root rot due to *Aphanomyces euteiches* (Pfender & Hagedorn, 1983), wheat take-all due to *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici* (Colbach *et al.*, 1997; Bailey & Gilligan, 1999), and diseases caused by *Phytophthora parasitica* var. *nicotianae* (Shew, 1987) or by *Phymatotrichum omnivorum* responsible for Phymatotrichum root rot of cotton (Koch *et al.*, 1987).

Differentiation between primary and secondary infection cycles has been also modelled. The model produced for *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici* is based on epidemiological data for wheat take-all and depends on two parameters reflecting the importance of the primary and secondary infection cycles (Colbach *et al.*, 1997). Bailey & Gilligan (1999) suggested that the initial phase of primary *G. graminis* var. *tritici* infection in winter wheat occurs when the seminal roots grow through the soil and encounter inoculum. Mycelial growth may cause secondary autoinfection (secondary infection from lesions on the same root) or alloinfection (root-to-root contamination, i.e. cross-infection from lesions on neighbouring host plants). Gilligan & Kleczkowski (1997) and Bailey *et al.* (2005) used a combination of numerical methods to study the behaviour of a generic model incorporating inoculum decay and host growth. Other non-linear models of epidemics involving differentiation between primary and secondary infection cycles have been proposed, for the damping-off of cress caused by *Pythium ultimum* (Brassett & Gilligan, 1988), *Polymyxa betae* infection in sugar beet (Webb *et al.*, 1999) and *Rhizoctonia solani* infection causing damping-off in radish seedlings (Otten *et al.*, 2003).

Pfender (1982) argued that an understanding of the disease cycle is important and that useful information could be obtained by investigating the existence of secondary infection cycles, rather than observing disease progression over time, as the effects of the disease cycle and of other factors may be confounded in progression analyses. No previous epidemiological study based on disease curves analysis has demonstrated primary and secondary infection cycles for a carrot soil-borne disease. It was previously suggested² that CCS might resemble other soil-borne plant pathogens in displaying primary infection and secondary infection (autoinfection and alloinfection) (Figure V-1). Increases in CCS incidence i , density of lesions d , and total disease area $t da$ over time, and the nature of the clustering of

² Voir Chapitre II.

Figure V-1 Illustration of theoretical infection processes inducing lesions on a carrot root during a CCS epidemic.

- ① primary infection from soil inoculum
- ② autoinfection (secondary infection)
- ③ alloinfection (secondary infection)

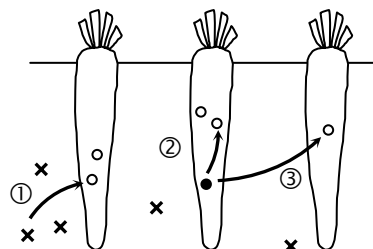
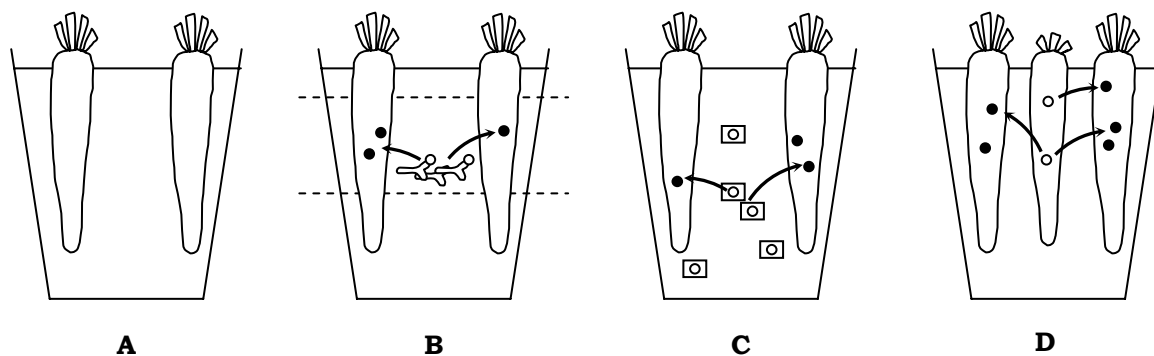


Figure V-2 Illustration of different conditions of artificial soil infestation to induce primary and secondary infections during a CCS epidemic.

A - Non-infested soil. **B** - Infestation by mycelium and oospores of *Pythium* cultured on carrot juice agar in Petri dishes (simulation of primary infections). **C** - Infestation by fragments of lesions (simulation of infections from non-living necrotic tissues). **D** - Infestation by transplantation of a diseased carrot root (simulation of secondary infections from living necrotic tissues).



lesions, suggest that CCS pathogens are involved in a 'reproductive process', possibly based on mycelial growth over root surfaces (Phelps *et al.*, 1991). Correlations have been found between disease measurements; the nature and form of these disease relationships may provide clues to epidemiological processes and dispersal mechanisms (Large, 1966; McRoberts *et al.*, 2003). For CCS, using the model $i = b.[\exp(a(t).tda)-1]$, we showed that $a(t)$ varied over time t , reflecting a balance between epidemiological phases³: soil inoculum mobilisation leading to primary infection, disease intensification on the root giving autoinfection, and disease extensification on neighbouring roots due to the plant-to-plant spread of the pathogen, giving alloinfection.

The objective of the present study is to demonstrate the occurrence of secondary infection, and alloinfection in particular, for CCS caused by *P. violae*. The first step is to show that CCS lesions on carrot residues are potentially infectious for healthy roots. The second step is to show that CCS can spread from root to root, by the transplantation of a diseased root within a healthy carrot population, to demonstrate formally that alloinfection occurs. This method may be then used for analyses of the effect of cropping factors on various epidemiological processes.

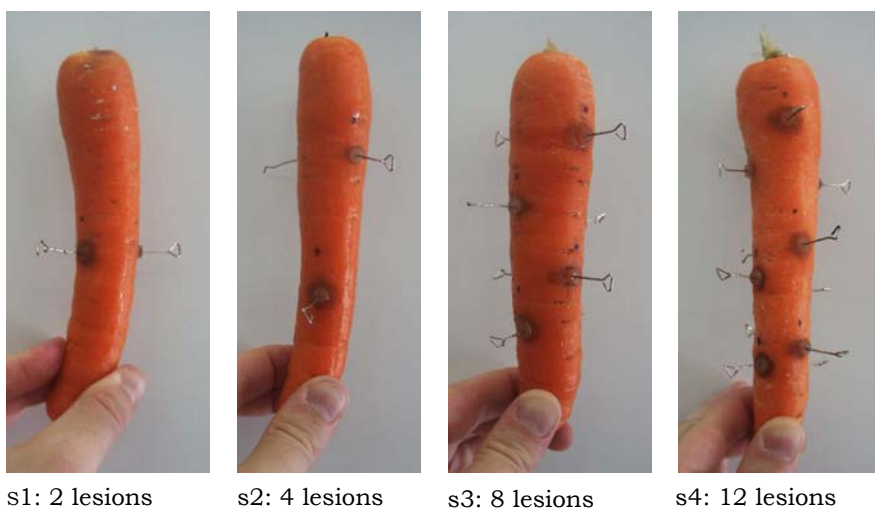
2. Materials and methods

A series of experiments conducted in controlled conditions was carried out to demonstrate and compare three infectious processes in soil: (i) primary infection 'soil inoculum to healthy root', using a classical mixed inoculum of mycelium and oospores of *P. violae* (Pv490, CBS 102.609), (ii) primary infection 'infected carrot residues to healthy root', using fragments of carrot roots with CCS lesions, and (iii) secondary infection 'diseased root to healthy root', achieved by the transplantation of a diseased donor root in soil (Figure V-2). Adapting the terminology of Huang & Hoes (1980), the infectious carrot root transplanted in the soil was considered to be the 'donor plant' (infected host) and carrot roots in the vicinity of this infectious root to be 'receptor plants' (healthy hosts). This donor root presented CCS lesions following artificial inoculation with *P. violae* and was still living and physiologically active.

Each microcosm for the three experiments consisted of a circular 4-liter pot ($\varnothing = 18.7$ cm; $H = 21.8$ cm) containing a steam sterilised reconstituted soil (1/2 sand, 1/4 compost, 1/4 organic soil). 7 carrot seeds (cv. Nanco) were sowed in each pot as illustrated in Annexe V-1. Pots were placed in controlled growth conditions favouring carrot growth and compatible with the temperature requirements of *P. violae* (14 hours of daylight at 20°C and 8 hours of darkness at 12°C). They were watered as needed to adjust soil moisture to the pot water holding capacity.

³ Voir Chapitre II.

Figure V-3 Infectious carrot roots (donor plants) used to infect healthy carrots (receptor plants) after transplantation.



CCS symptoms were assessed by measuring disease incidence i , lesion density d , symptom intensity si and total disease area tda^4 . Mean root weight was also noted to estimate the impact of the disease on root growth.

2.1. Demonstration of primary infection ‘soil inoculum to healthy root’ (method A)

The soil inoculum consisted of *P. violae* mycelium and oospores. *P. violae* was cultured in Petri dishes, on carrot juice agar prepared as follows: 20 g of agar and 200 mL of centrifuged carrot juice (Nature Bio, CORA©) were mixed, the volume was made up to 1 L with distilled water and the mixture was autoclaved for 30 min at 115°C. A mycelial plug was cut from the actively growing margin of a 7-day-old culture of *P. violae* at 20°C on carrot juice agar and transferred to the centre of the Petri dish on carrot juice agar ($\varnothing$ = 85 mm, 17 mL / dish). The plate was incubated for 7 days in the dark at 20°C. The experiment was setup as a factorial randomised block design with 3 blocks (3 pots) and 4 inoculum levels (M1, M2, M3, M4, and a non-infested control M0) (Annexe V-2). Just before sowing, the contents of each dish were fragmented into small pieces (each about 50 mm²) and homogenised with soil. In each pot, 13 cm of non-infested soil was covered with 5 cm of infested soil; 2 cm of non-infested soil were added to cover the surface. Carrot roots were harvested, washed and symptoms scored 16 weeks after sowing.

2.2. Demonstration of primary infection ‘infected carrot residues to healthy root’ (method B)

The soil was artificially infested with infected carrot residues from a natural CCS epidemic due to *P. violae*, verified by microbiological isolation. Typical lesions on 5-month-old carrots were cut to generate small fragments of necrotic tissues, with sides 2 to 3 mm long. These fragments were used to infest soil, by evenly distributing them throughout the volume of soil in the pot just before sowing. The experiment was setup as a factorial randomised block design with 3 blocks (3 pots) and 4 inoculum levels (C1, C2, C3, C4, and an non-infested control C0) (Annexe V-2). Carrot roots were harvested, washed and symptoms scored 12 weeks after sowing.

2.3. Demonstration of secondary infection ‘diseased root to healthy root’ (method C)

Using the same experimental design as above, a PVC tube ($\varnothing$ = 32 mm, L = 230 mm) was introduced in the centre of each pot, replacing the 7th carrot seed as illustrated in Annexe V-1. 12 weeks after sowing, the tube was replaced by a

⁴ Voir Chapitre II.

thickened carrot root with CCS lesion (the donor plant). To this end, fresh carrots (cv. Nanco) were inoculated for use as donor plants as follows. Carrots were first washed in 0.3% bleach for one minute and washed then three times with sterile water. The epidermis of the roots was scarified at a defined location (1-2 cm²) with abrasive tissue. 4 intensities of inoculation (S1, S2, S3, S4) were used (Annexe V-2), with infection locations chosen to give a distribution as even as possible over the main part of root (Figure V-3). A mycelial plug (Ø 5 mm) was cut from a 7-day-old culture of *P. violae* grown at 20°C on carrot juice agar. The colonised face was placed against the scarified epidermis of the carrot and held in place with a sterilised pin. The inoculated carrot roots were then placed in a box (4 carrots per box), which was hermetically sealed to create high humidity conditions. After 48 hours of incubation, the explants were removed and the carrots were transplanted into the pots. The diameter of the lesions on the donor roots was estimated just before transplantation, and on additional carrots kept in the boxes for a further 24 and 48 hours, to assess the extension of the lesions size and the progression of tda on the donor plants in soil.

The experiment was setup as a factorial randomised block design with 3 blocks (3 x 3 pots) and 4 inoculum levels (S1, S2, S3, S4). Infectious carrot roots (donor plants) were removed 3 weeks after transplantation and the resulting hole was filled with sterile reconstituted soil. One week later, the receptor plants were harvested and washed and symptoms scored. Disease assessment therefore took place 4 weeks after transplantation (about 390 degree-days) and 16 weeks after initial sowing (about 1550 degree-days).

3. Results

3.1. Extension of the lesions size on donor plants

The total disease area (*tda*) of the donor plants reflects their potential infectivity. Values of *tda* were measured just before transplantation. The assessment of the progression in size of the lesions in soil was based on observations *in vitro* (Annexe V-3). The diameter of lesions on donor roots increased little from 48 hours to 96 hours after inoculation (about + 15 %) in favourable conditions (20°C), and the maximum diameter attained was 140 mm². *tda* was therefore estimated on the donor plant (280, 560, 1120 and 1680 mm² for 2, 4, 8 and 12 lesions, respectively).

3.2. Effect of the three soil infestation methods on CCS

The transplantation of a donor plant is an original method that rapidly causes CCS on receptor plants. Disease incidence *i* was similar for infestation methods A and C, ranging from 80 % to 100 % for all doses, with no significant dose-dependent effect observed with method A and C (ANOVA, *P* = 0.05) (Figure V-4). The induced density of lesions *d* was highest for root-to-root infections: more than 10 lesions per carrot

root for method C, ranged from 4 to 10 lesions per carrot for method A and less than 3 lesions per carrot for method B. This higher density of lesions for method C resulted in the largest *tda*: more than 170 mm² of lesions per carrot root were observed with method C, ranged from 40 to 80 mm² for method A, and less than 30 mm² for method B. After 12 weeks of plant growth and host-pathogen contact, the dose 7 g/pot for method B (*tda* of the infected carrot residues $\approx 600 \pm 200$ mm²) resulted in less disease with $d = 3.1$ and $tda = 28.8$, than 4 lesions for method C (*tda* of the donor plant = 560 mm²) with $d = 12.3$ and $tda = 179.3$ mm² after only 4 weeks of host-pathogen contact. Symptom intensity *si* was similar for all three methods (mean lesion diameter 2 to 4 mm), regardless of the amount of inoculum or number of lesions on the donor plant.

Thus, donor plants (entire diseased carrot roots) induced higher levels of CCS disease than infected fragments of carrot residues. The total disease area *tda* following transplantation (case C) was not proportional to the *tda* of donor plant. It ranged from 165 to 185 mm², while the donor plants had 2 to 12 lesions. The distance between donor and receptor plants (24 mm), and the duration of exposure to the donor plant in soil (3 weeks) were probably sufficient for a high disease intensity to be achieved regardless of the amount of inoculum. Lesions were evenly distributed on receptor plants, and were not more frequent on the side closest to the donor plant. For secondary infections (method C), no dose-effect relationship was then established. The homogeneity of disease measurements was similar to that for the classical soil infestation method (method A), making it difficult to interpret the results. Although this soil infestation method is commonly used for many soil-borne pathogens, its reproducibility is low for CCS (D. Breton, SILEBAN-INRA, personal communication). It can, however, be used to simulate primary infection.

3.3. Effect of the three soil infestation methods on root weight

For method C, carrot root weight decreased with increasing amount of inoculum (33 g per root with 2 lesions on the donor root and 23 g per root with 12 lesions on the donor root). Increasing the number of lesions therefore led to a significant decrease in root weight, by about 30% (Figure V-5). For method B, root weight in infested soil was significantly lower than control (ANOVA, $P = 0.05$), but increasing the amount of inoculum (ranged from 0.35 to 7 g) had no effect on root weight. The soil infestation with mycelium and oospores of *P. violae* induced the most variable effects. The weight of the 12-week-old carrot roots was affected after 4 weeks. Secondary infection (method C) affected the tuberous phase, but later than methods A and B. Thus, attacks occurring late in the growing period may cause weight losses.

Figure V-4 Changes in four disease measurements describing CCS intensity as a function of the dose of three types of *P. violae* inoculum.

A - Primary infection, 'soil inoculum to healthy root' (volume of carrot juice agar / infected pot). **B** - Primary infection, 'infected carrot residues to healthy root' (weight of infected carrot root fragments / pot). **C** - Secondary infection induced by infestation with fresh lesions on a living donor root, 'diseased root to healthy root' (number of lesions / pot).

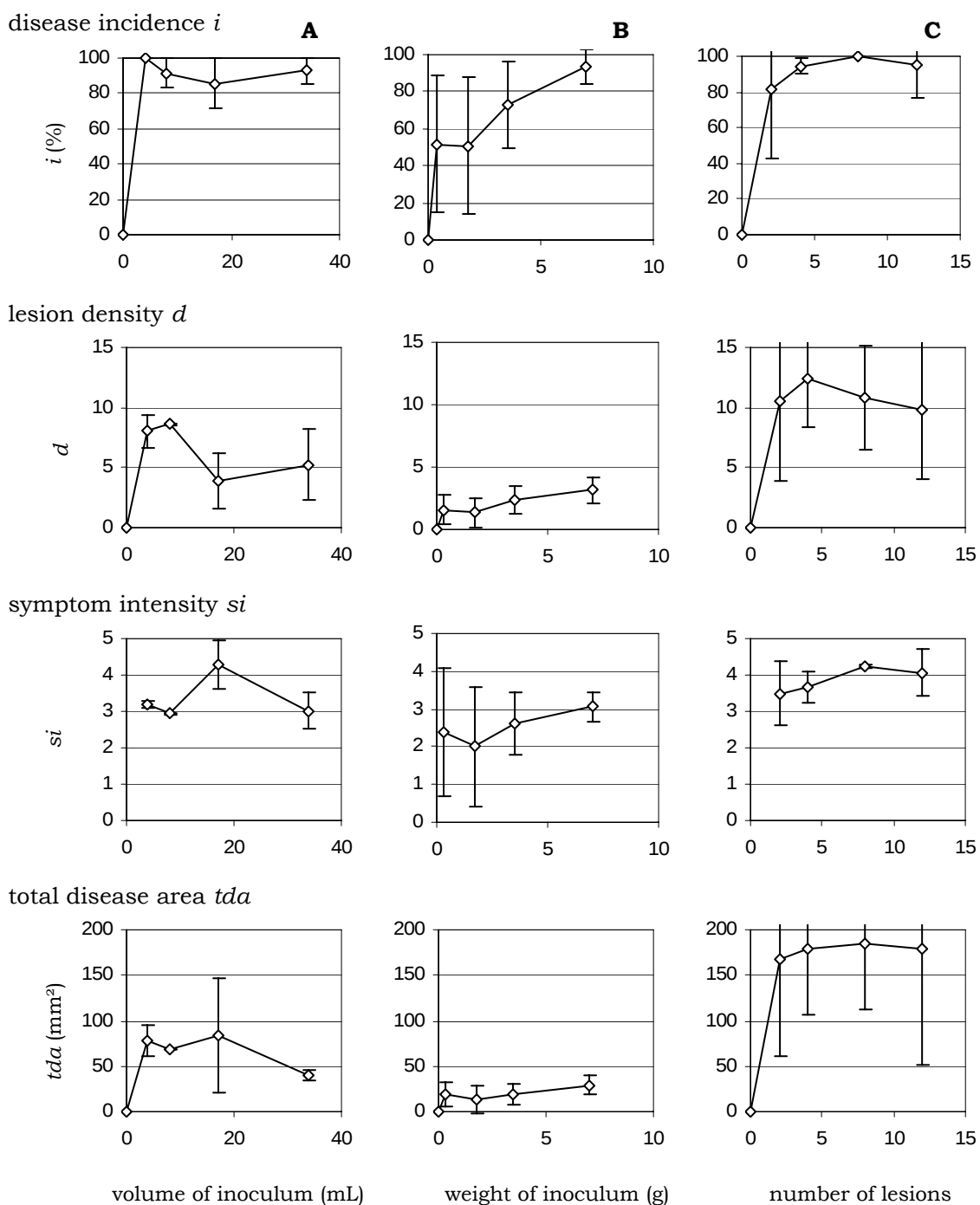
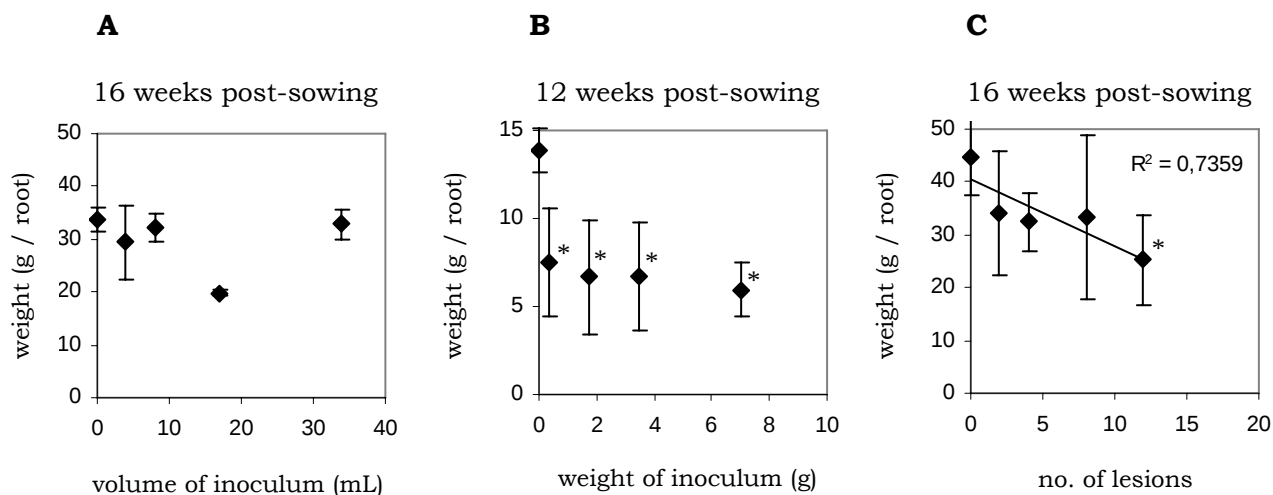


Figure V-5 Effect of three types of *P. violae* inoculum on the fresh carrot root weight.

A - Primary infection, 'soil inoculum to healthy root' (volume of carrot juice agar / infected pot). **B** - Primary infection, 'infected carrot residues to healthy root' (weight of infected carrot root fragments / pot). **C** - Secondary infection induced by infestation with fresh lesions on a living donor root, 'diseased root to healthy root' (number of lesions / pot).

* indicates that root weight at the dose considered was significantly different from control ($p < 0,05$).



4. Discussion

4.1. Efficacy of the method to prove the occurrence of alloinfections

Natural infections from CCS lesions were observed on living carrot roots (simulation of alloinfection *sensu stricto*). These results show that root-to-root contaminations occur in carrot populations and provide an experimental demonstration of the polycyclic nature of CCS epidemics. It was also demonstrated that infected carrot residues can infect healthy roots in a carrot population (simulations of infections from unharvested carrot root fragments) proving that the CCS epidemic may be polyetic (disease progression over at least two cropping seasons) by this process.

Fast-growing species, such as *P. ultimum*, cause more progressive damage, with lesions having a water-soaked appearance due to the maceration of superficial tissues (Campion *et al.*, 1997). Zamski & Peretz (1995) showed that the living cells adjacent to the infection site secrete lignin and other phenols, halting the spread of the pathogen. This was confirmed by Champion *et al.* (1998), who showed that *P. ultimum* induced extensive tissue disruption and degradation of pectins and cellulose, whereas *P. violae* and *P. sulcatum* caused limited root necrosis with the integrity of the diseased tissues conserved due to a lack of degradation away from the hyphae (Groom & Perry, 1985). These results suggested that *P. violae* lesions rapidly ceased to be infectious and conflict with the results presented here: it was showed that CCS lesions were infectious and that the mycelium in the outer root cells was able to grow out of the carrot root tissues; it was showed that root-to-root contamination from a CCS mature lesion is possible and that the latency period is clearly less than 4 weeks.

Some propagules are more efficient than others for initiating infection, but the choice of inoculum in experiments often depends on the *Pythium* species considered (Van der Plaats-Niterink, 1981). Some *Pythium* species do not form sporangia and zoospores in sufficient quantities for reproducible inoculation, thus limiting the choice of inoculum to mycelium. The main disadvantage of soil infestation with *Pythium*-colonised carrot juice agar is the low reproducibility of the method due to the fragility of the inoculum form. It is also difficult to estimate accurately the number of infectious units (oospores, zoospores and mycelial fragments). The transplantation of a donor plant root is a new reproducible method of localised soil infestation for delayed inoculation.

4.2. From the concept of secondary infection to the identification of epidemiological processes

Because the carrot is a biennial plant, donor plants produced large numbers of new radicles (adventitious roots) 2 weeks after transplantation and the leaves grew again. The transplanted carrot root was thus living. In contrast, infected carrot residues cannot be considered to be living and method B does not provide a formal

demonstration of secondary infection *sensu stricto*. However, fresh lesions were clearly infectious for other healthy carrot roots. Conceptually, the infected fragments are a survival form of *P. violae* on crop residues: this is a form of primary inoculum, not free, but conserved in the soil between two cropping seasons.

Theoretically, three types of secondary infection can be distinguished: infection of the taproot of the same plant, infection of a radicle of the same plant, and cross-infection between taproots or radicles from neighbouring plants. Crowe & Hall (1980) showed that *Sclerotinia cepivorum* infections more than 2 cm below the stem plate of onion bulbs led to extensive plant-to-plant spread because the pathogen spread to roots of the same and neighbouring plants as the mycelium grew along roots, radiating out from active sites of colonisation, and infected other roots up to 2 cm away. Distances between roots were smallest in the zone of highest root density (2-4 cm below stem plates), and roots frequently extended horizontally in this zone, providing a direct route for mycelial growth to other plants. Rekah *et al.* (1999) reported that roots seemed to be essential for movement of the pathogen in soil: they may be regarded as tubes filled with a highly selective and rich habitat protecting the colonising pathogen from the activity of antagonistic micro-organisms. In the CCS pathosystem, the carrot root system was modelled as a single cylinder⁵ and possible infections of radicles on the same plant via the taproot were initially ignored. Contact between a healthy taproot and radicles of a neighbouring diseased carrot may increase the spread of pathogens such as *P. violae*, but would require preliminary contamination of the adventitious root from CCS lesions on the diseased taproot. The current data challenges this hypothesis because infections induced by root transplantation occurred within a short time period (less than 4 weeks) and because runner hyphae, which grow along roots, have not been observed in *P. violae*. Previous studies have shown that CCS lesions occasionally coincide with lenticels, but are not consistently associated with anatomical features such as soil ducts or lateral root origins (Perry & Harrison, 1979). The importance of physical contact between taproots and adventitious roots from another plant may be determined in future studies, using a nylon mesh as a barrier (Crowe & Hall, 1980; Rekah *et al.*, 1999) to differentiate infections due to mycelium spread from infections due to root-to-root contact.

Active growth or dispersal of the fungus in the soil is the most probable explanation for the infections observed. Such growth may result theoretically from the growth of hyphae or the dispersion of zoospores. The dispersal of *P. violae* by zoospores is unlikely as zoospores have never been observed in this species (Van der Plaats-Niterink, 1981). However, zoospore dispersal may be involved in secondary infections by other *Pythium* species responsible for CCS.

⁵ Voir Chapitre I p. 31.

4.3. Perspectives for modelling a CCS epidemic

It is currently thought that soil-borne infections may arise from two sources: the initial soil inoculum or the active transmission of the pathogen between plant tissues. Several studies on soil-borne diseases have asserted that the classical equations describing primary and secondary infections are sufficient to define models. However, as Pfender (1982) pointed out, some investigators have failed to recognise that biological models should be constructed on the basis of knowledge about biological processes rather than biological processes being deduced from disease progression data generated by theoretical models. The fit of a model cannot prove that a particular mechanism operates, but may provide clues as to the underlying mechanism. Experiments designed specifically to investigate the existence of secondary infection cycle are sometimes more useful than observations of disease progress over time, in which effects of the biological cycle are confounded with those of environmental factors (Pfender, 1982; Stack, 1980). The present biological demonstration of the occurrence of secondary infection and the method for reproducing alloinfection are the basis of an epidemiological model for CCS, based, in particular, on equations developed by Brassett & Gilligan⁶ (1988).

Similar experiments in controlled and field conditions have indicated that the extent of plant-to-plant spread depends on the time and depth of infection, root density, and root distribution (Crowe & Hall, 1980). The first step towards such a simulation model involves the quantification and analysis of transmission rates for soil-borne epidemics, as recently proposed by Otten *et al.* (2003), according to inherent factors such as the latent period or the distance between roots.

The separation of the epidemic into monocyclic and polycyclic phases may be used to identify critical stages for integrated approaches to CCS management. Each infected taproot can cause disease in neighbouring carrot roots. Thus, even an initially low disease intensity may result, in due time, in a severe epidemic. Understanding the role of infection processes is crucial when developing holistic approaches including pre-planting control measures, such as crop rotation, sanitation, disinfestation and biocontrol with intercrops to limit primary infections, and post-planting cure measures such as applications of fungicide or manipulating harvest date to limit secondary infections.

References

- Bailey DJ and Gilligan CA (1999) Dynamics of primary and secondary infection in take-all epidemics. *Phytopathology* 89(1): 84-91.
- Bailey DJ, Paveley N, Pilinger C, Foulkes J, Spink J and Gilligan CA (2005) Epidemiology and chemical control of take-all on seminal and adventitious roots of wheat. *Phytopathology* 95(1): 62-68.

⁶ Voir Chapitre III p. 133.

- Brassett PR and Gilligan CA (1988) A model for primary and secondary infection in botanical epidemics. *Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz* 95(4): 352-360.
- Campion C, Massiot P and Rouxel F (1997) Aggressiveness and production of cell wall degrading enzymes by *Pythium violae*, *Pythium sulcatum* and *Pythium ultimum*, responsible for cavity spot of carrot. *European Journal of Plant Pathology* 103(8): 725-735.
- Campion C, Vian B, Nicole M and Rouxel F (1998) A comparative study of carrot root tissue colonization and cell wall degradation by *Pythium violae* and *Pythium ultimum*, two pathogens responsible for cavity spot. *Canadian Journal of Microbiology* 44: 221-230.
- Colbach N, Lucas P and Meynard JM (1997) Influence of crop management on take-all development and disease cycles on winter wheat. *Phytopathology* 87(1): 26-32.
- Crowe FJ and Hall DH (1980) Vertical distribution of sclerotia of *Sclerotium cepivorum* and host root systems relative to white rot of onion and garlic. *Phytopathology* 70(1): 70-73.
- Gilligan CA and Kleczkowski A (1997) Population dynamics of botanical epidemics involving primary and secondary infection. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London* 352: 591-608.
- Groom MR and Perry DA (1985) Induction of 'cavity spot like' lesions in roots of *Daucus carota* by *Pythium violae*. *Transactions of the British Mycological Society* 84: 755-758.
- Guba EF, Young RE and UI T (1961) Cavity spot disease of carrots and parsnip roots. *Plant Disease Reporter* 45: 102-105.
- Hiltunen LH and White JG (2002) Cavity spot of carrot (*Daucus carota*). *Annals of Applied Biology* 141: 201-223.
- Huang HC and Hoes JA (1980) Importance of plant spacing and sclerotial position to development of sclerotinia wilt of sunflower. *Plant Disease* 64(1): 81-84.
- Kannwischer ME and Mitchell DJ (1978) The influence of a fungicide on the epidemiology of black shank of tobacco. *Phytopathology* 68(12): 1760-1765.
- Koch DO, Jeger MJ, Gerik TJ and Kenerley CM (1987) Effects of plant density on progress of *Phymatotrichum* root rot in cotton. *Phytopathology* 77(12): 1657-1662.
- Large EC (1966) Measuring plant disease. *Annual Review of Phytopathology*(4): 9-28.
- McRobert N, Hughes G and Madden LV (2003) The theoretical basis and practical application of relationships between different disease intensity measurements in plants. *Annals of Applied Biology* 142: 191-211.
- Montfort F and Rouxel F (1988) La maladie de la tache de la carotte due à *Pythium violae*: données symptomatologiques et étiologiques. *Agronomie* 8(8): 701-706.
- Otten W, Filipe JAN, Bailey DJ and Gilligan CA (2003) Quantification and analysis of transmission rates for soilborne epidemics. *Phytopathology* 84(12): 3232-3239.
- Perry DA and Harrison JG (1979) Cavity spot of carrots. I. Symptomatology and calcium involvement. *Annals of Applied Biology* 93(1): 101-108.
- Pfender WF (1982) Monocyclic and polycyclic root diseases: distinguishing between the nature of the disease cycle and the shape of the disease progress curve. *Phytopathology* 72(1): 31-32.
- Pfender WF and Hagedorn DJ (1983) Disease progress and yield loss in *Aphanomyces* root rot of peas. *Phytopathology* 73(8): 110-113.
- Phelps K, White JG and Henn AJ (1991) Studies on the frequency distribution of *Pythium*-induced cavity spot of carrots. *Annals of Applied Biology* 119(1): 21-30.
- Rekah Y, Shtienberg D and Katan J (1999) Spatial distribution and temporal development of *Fusarium* crown and root rot of tomato and pathogen dissemination in field soil. *Phytopathology* 89(9): 831-839.
- Rekah Y, Shtienberg D and Katan J (2001) Population dynamics of *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* in relation to the onset of *Fusarium* crown and root rot of tomato. *European Journal of Plant Pathology* 107: 367-375.
- Scott MR (1956a) Studies of the biology of *Sclerotium cepivorum* Berk. I. Growth of the mycelium in soil. *Annals of Applied Biology* 44(4): 576-583.
- Scott MR (1956b) Studies of the biology of *Sclerotium cepivorum* Berk. II. The spread of white rot from plant to plant. *Annals of Applied Biology* 44(4): 584-589.

- Shew HD (1987) Effect of host resistance on spread of *Phytophthora parasitica* var. *nicotianae* and subsequent development of tobacco black shank under field conditions. *Phytopathology* 77(7): 1090-1093.
- Stack RW (1980) Disease progression in common root rot of spring wheat and barley. *Canadian Journal of Plant Pathology* 2: 187-193.
- Van der Plaats-Niterink AJ (1981) Monograph of the genus *Pythium*. Baarn, 242 pp.
- Webb CR, Gilligan CA and Asher MJC (1999) A model for the temporal buildup *Polymaxa betae*. *Phytopathology* 89: 30-38.
- Zadoks JC and Schein RD (1979) *Epidemiology and plant disease management*. New York, 427 pp.
- Zamski E and Peretz I (1995) Cavity spot of carrots: interactions between the host and pathogen, related to the cell wall. *Annals of Applied Biology* 127: 23-32.

PERSPECTIVES

Nous avons démontré expérimentalement l'existence d'infections secondaires et élaboré une méthode reproductible permettant de les simuler en microcosmes. Initialement à l'état d'hypothèse, formulée après l'analyse des courbes de cinétiques de maladie (Chapitre III), la nature polycyclique d'une épidémie de cavity spot ne fait désormais plus de doute. L'occurrence des allo-infections a été spécifiquement démontrée et quantifiée ; celle des auto-infections a simplement été suggérée par des observations *in situ* (Figure VI-1), mais constitue une hypothèse forte. Les infections secondaires jouent un rôle important dans l'intensification (accroissement du nombre de lésions et de leur surface sur une racine déjà attaquée) et l'extensification (contaminations racine à racine) du cavity spot, en particulier au cours de phases épidémiologiques tardives.

La technique employée, transplantation d'une racine source préalablement inoculée, est efficace. Des problèmes méthodologiques ont été soulevés et méritent d'être rappelés :

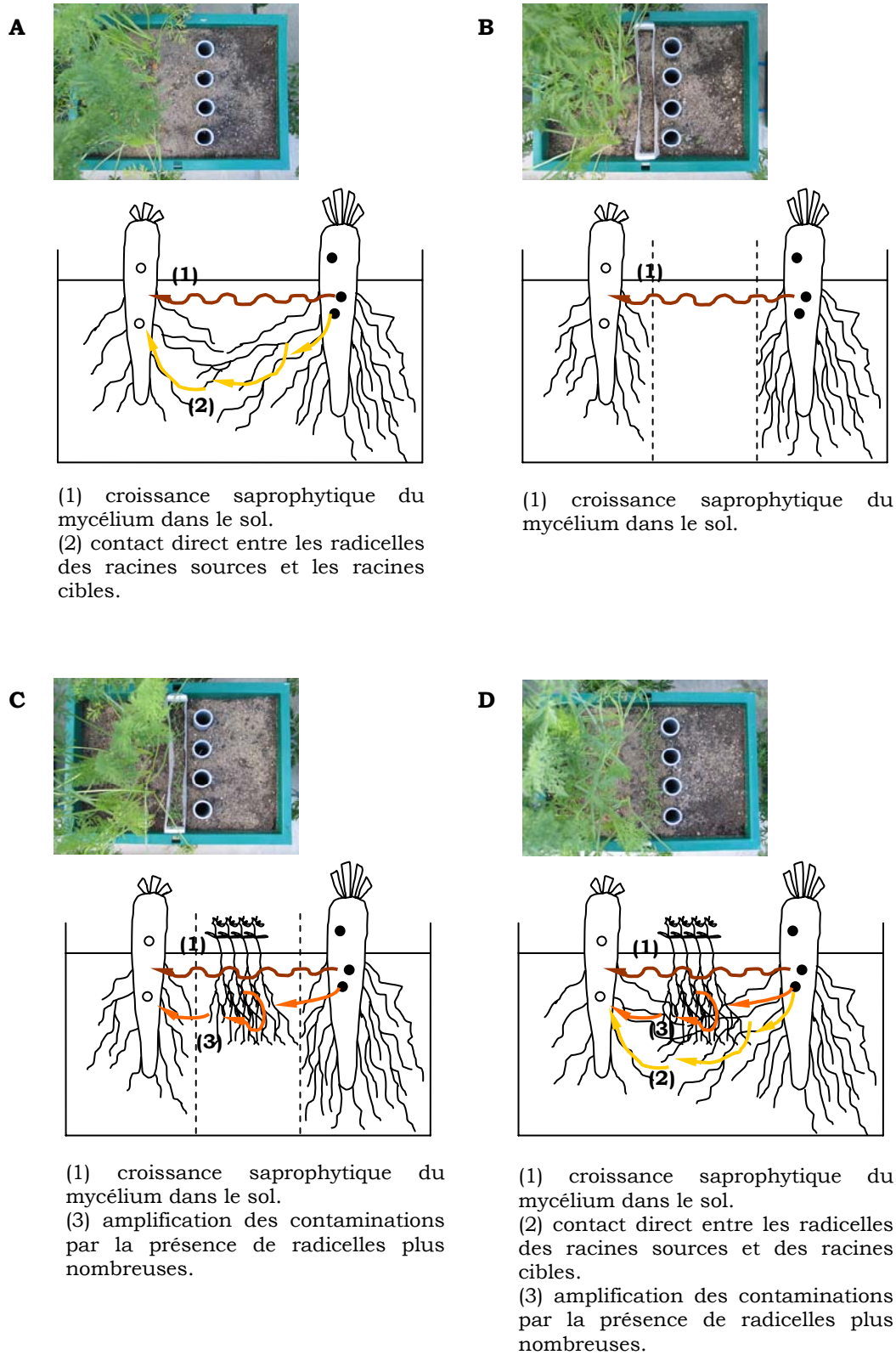
- l'intensité des contaminations constatées dans les essais en conditions contrôlées est souvent hétérogène, d'où la nécessité d'une grande rigueur dans la mise en place des expérimentations ;
- la réussite des infections secondaires est tributaire de la température : des périodes prolongées au-delà de 25°C ou des pics supérieurs à 30°C limitent fortement les allo-infections ;
- la durée de confrontation entre les sources et les cibles ne peut excéder 5 semaines dans nos conditions expérimentales, du fait de la décomposition d'une majorité des racines transplantées ;
- le stade physiologique des racines cibles et sources est différent, ce qui n'est pas le cas dans un peuplement naturel homogène ; cette différence pourrait influencer de façon artificielle les processus décrits.

La question des mécanismes¹ biologiques intervenant dans les allo-infections se pose. Les principales hypothèses sont issues de la littérature et basées sur la biologie des *Pythium*, mais aussi sur des réflexions génériques propres à l'ensemble des parasites d'origine tellurique.

La première interrogation concerne la possibilité de contaminations par contact direct entre radicules insérées sur le pivot central tubérisé, considéré jusqu'à présent comme étant l'unique partie impliquée dans une épidémie de cavity spot. Le prochain objectif serait de clarifier le rôle du système racinaire dans les contaminations racine à racine. Plusieurs éléments laissent penser que ces contaminations sont une conséquence directe de la croissance saprophytique du

¹ Voir la distinction entre « mécanisme » et « processus » proposée aux Chapitres I p. 64 et VII p. 254.

Figure V-6 Dispositif expérimental conçu pour étudier le rôle du système racinaire dans les contaminations racine à racine au cours d'une épidémie de cavity spot.



mycélium dans le sol à partir de lésions, sous forme libre, depuis une racine infectée. Mais il est possible que les racines adventives puissent amplifier l'extensification de la maladie en :

- servant de points d'appuis aux infections secondaires en faisant l'objet de micro-infections à la suite de contacts directs entre radicelles saines et infectées ;
- amplifiant la croissance saprophytique de l'agent pathogène dans le sol, stimulé par une augmentation de la sécrétion d'exsudats racinaires.

Le test de ces deux hypothèses passe par la mise en place d'un dispositif expérimental permettant de découpler les mécanismes envisagés pour reproduire différents scénarios (Figure V-6). La technique de transplantation d'une racine infectée « source » à proximité d'une racine saine « cible » est utilisée au sein d'un dispositif faisant intervenir certaines des éléments suivants :

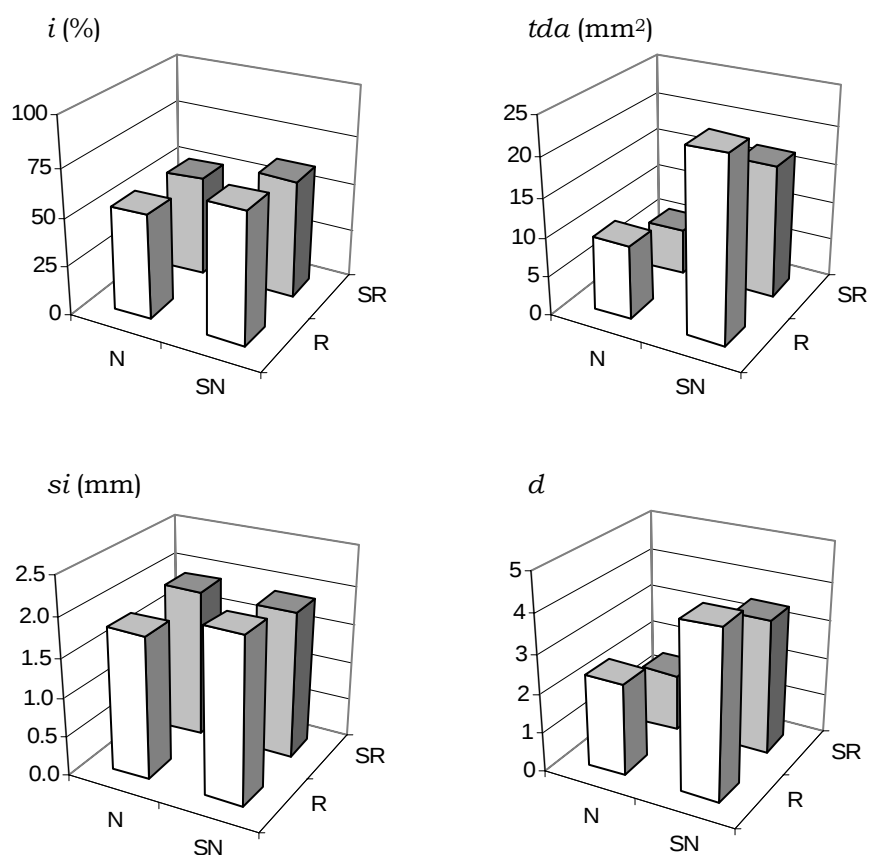
- une barrière de nylon (modalités B et C) autorisant le passage du mycélium mais réduisant les contacts entre les radicelles des racines cibles et des racines sources (Annexe V-4) ;
- un semis de carottes décalé dans le temps (modalités C et D) permettant d'accroître artificiellement le système racinaire et, le cas échéant, la sécrétion d'exsudats.

Les résultats d'une première expérimentation montrent l'absence de différences significatives entre les modalités testées (avec ou sans barrière de nylon, avec ou sans semis décalé) (Figure V-7). Ils suggèrent que les radicelles, par les contacts physiques qu'elles induisent ou par la libération d'exsudats racinaires, jouent un rôle qualifié ici de « secondaire » ; cette conclusion préliminaire mériterait évidemment d'être affinée.

La seconde question en suspens porte sur les formes de dissémination à l'origine des infections secondaires. Les contaminations racine à racine semblent résulter de la croissance saprophytique du mycélium dans le sol à partir de lésions de cavity spot, mais rien ne permet d'affirmer que des zoospores ne soient pas impliquées à ce stade, bien qu'elles n'aient jamais été mises en évidence chez *P. violae*.

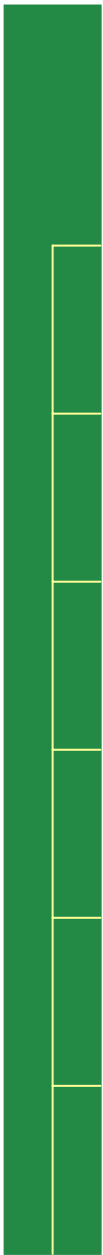
Figure V-7 Effet du système racinaire sur l'intensité des contaminations racine à racine au cours d'une épidémie de cavity spot.

i est l'incidence de maladie, tda la surface totale nécrosée, d la densité de lésions et si l'intensité des symptômes. SN = sans barrière de nylon, N = avec barrière de nylon, SR = sans racelles supplémentaires, R = en présence de racelles supplémentaires. Aucune des moyennes calculées n'ont été significativement différentes en fonction du traitement (procédure ANOVA, test de Scheffe, $p < 0,05$).





CHAPITRE VI



Effet de trois facteurs cultureux sur le développement d'épidémies de cavity spot

- VI.A. Période d'application d'un fongicide anti-oomycètes
- VI.B. Humidité du sol
- VI.C. Distance entre racines et densité de peuplement

PROBLEMATIQUE

Plusieurs facteurs environnementaux et culturels sont connus pour avoir un effet sur le développement du cavity spot : l'humidité du sol, son aération, sa teneur en calcium, la température, la fertilisation azotée, les précédents culturels, les traitements fongicides et les désinfections de sol (voir Chapitre I). Leur impact sur l'intensité des attaques en fin de cycle de culture a été analysé dans la littérature, mais leurs effets sur la dynamique de l'épidémie, en particulier sur ses différentes phases, n'ont jamais été étudiés. Ces facteurs sont susceptibles d'influencer différents processus épidémiologiques, laissant entrevoir une possible complémentarité de méthodes de lutte employées. Sélectionner les facteurs à tester en fonction de leur niveau d'efficacité attendu et de leur mode d'action supposé, afin d'accroître les connaissances sur le développement d'une épidémie, est une démarche opportune.

Les différentes étapes d'une épidémie de cavity spot, déterminées par l'occurrence de processus précoces (infections primaires) et plus tardifs (infections secondaires), conditionnent son développement et peuvent être influencés par différents facteurs ; modifier la période d'application d'un traitement fongicide anti-oomycètes est un des moyens expérimentaux les plus simples pour agir à ces différentes étapes, et donc estimer le poids relatif des différents processus dans une cinétique épidémique.

Evaluer l'influence de facteurs environnementaux sur certaines variables de maladie est pertinent ; l'humidité du sol est par exemple connue pour conditionner l'expression des maladies d'origine telluriques (Griffin, 1969 ; Cook & Papendick, 1972).

Enfin, tester un facteur qui a – intrinsèquement – un effet sur un des processus décrits par le modèle est également justifié : l'intensité des contaminations racines à racines (allo-infections) devrait ainsi être influencée par la densité de peuplement (Burdon & Chilvers, 1982).

Nous avons donc choisi de nous intéresser à l'impact des trois variables ainsi identifiées sur des cinétiques de cavity spot obtenues au champ après infestation artificielle du sol par *P. violae*. Les facteurs « traitement fongicide » et « humidité du sol » ont été testés ; un essai « densité de semis » conduit dans des conditions analogues a échoué pour des raisons techniques. Simultanément, des expérimentations ont été conduites en microcosmes afin de tester l'influence de la « densité de semis » et d'un « traitement fongicide » spécifiquement sur les infections secondaires. La méthode employée a consisté à transplanter des carottes inoculées (racines sources) au sein d'un peuplement sain (racines cibles) (voir Chapitre V), puis à suivre l'intensité des attaques résultant de contaminations racines à racines, en fonction de différentes modalités (Figure VI-1). Le facteur « humidité du sol » n'a

pas été testé en microcosmes, ces derniers n'ayant pas été perçus comme un cadre d'expérimentation offrant des conditions à la fois adaptées à la maîtrise d'une gamme complète d'humidités et à un développement satisfaisant des carottes.

Le chapitre est divisé en trois parties faisant appel à des résultats d'essais menés dans des conditions analogues ; pour en faciliter la lecture, les éléments communs à ces expérimentations (protocoles, variables, type d'analyses) ne sont détaillés que dans le Matériel et Méthodes de la première partie (« Période d'application d'un fongicide anti-oomycètes »).

CHAPITRE VI - EFFET DE TROIS FACTEURS CULTURAUX SUR LE DEVELOPPEMENT D'EPIDEMIES DE CAVITY SPOT

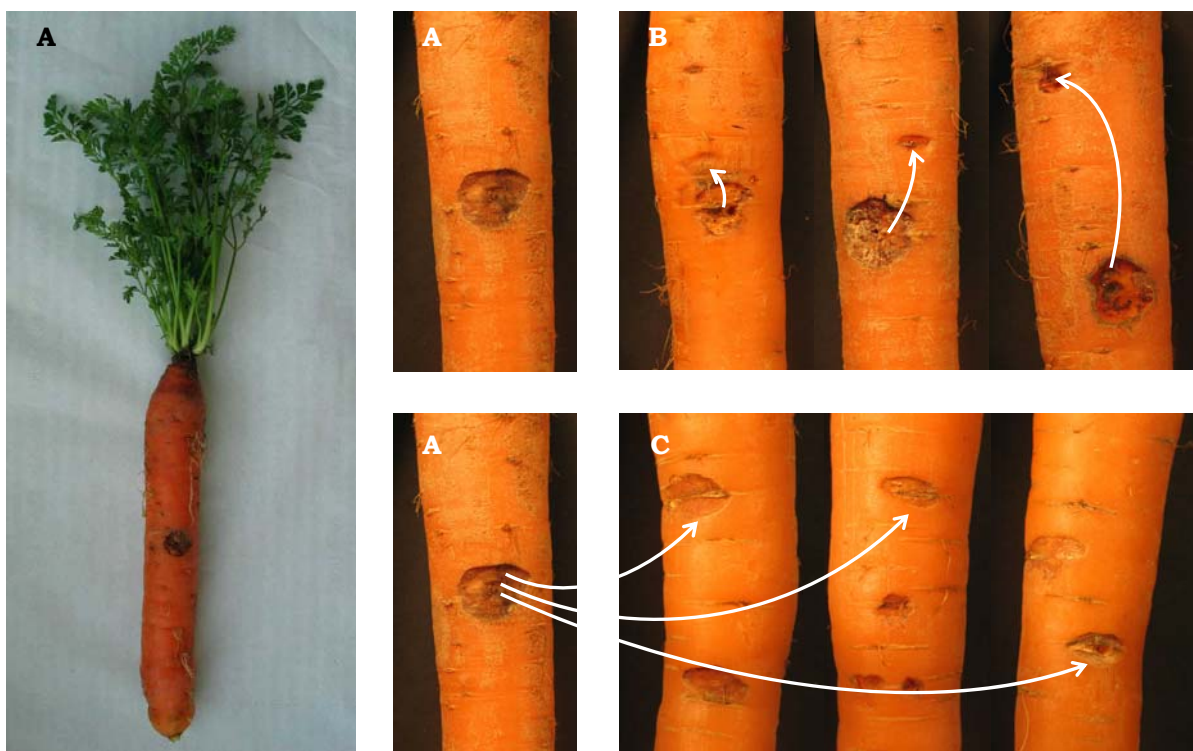
Summary¹

Cavity spot of carrot (CCS), one of the most important soil-borne diseases on this crop in the world, is characterized by the appearance of small sunken lesions on the taproot due to a *Pythium* pathogenic complex, in part composed of *P. violae* and *P. sulcatum*. Soil inoculum of several soil-borne diseases is the source of 'primary infection', and new diseased plants can serve as the inoculum source and support 'secondary infections', i.e. autoinfection on the same root and alloinfection by the spread from root to root. Our objectives are to develop epidemiological studies on CCS based on these classical mechanistic hypotheses (occurrence of primary and secondary infections) and to test the effects of cropping factors according to the CCS epidemic stage. An infestation method was specifically developed to demonstrate and generate cycles of secondary infection of CCS in controlled conditions, and establish the polycyclic nature of a CCS epidemic. To this purpose, an original methodology consisting of artificial inoculation of a thickened carrot root (the 'donor plant') before transplantation in a microcosm was described. This reproducible method generated methodological advances to delay inoculation and distinguish the effect of different cropping factors or treatments on primary and secondary infections: soil moisture (irrigation), seed density and fungicide treatment. We first demonstrated that CCS lesions on carrot residues are potentially infectious for healthy roots, using fragment of lesions due to *P. violae* as soil inoculum, and secondly proved the ability of CCS to spread from root to root by alloinfection, using a live transplanted root after artificial inoculation. We tested in micro-fields the effect of soil moisture on an entire epidemic (primary and secondary infections) using a sprinkler irrigation system; in moderately and intensively irrigated soils, disease levels were significantly higher than in non-irrigated soils. We showed in microcosms an effect of the distance between the source of inoculum (the donor plant) and the target healthy roots (the receptor plants) on secondary infection. We also established an effect of the seed density: a lower density is responsible of a smaller total diseased area on the target roots. This study produced other information about the propagation of *P. violae*: the maximal distance for successful secondary infection is at least 90 mm and the latency period is between 1 and 2 weeks. Finally, a fungicide (mefenoxam), which is currently used before seed emergence by growers, was able to reduce the secondary infections in microcosms when sprayed during the cropping season, thus slowing the progression of the disease in time and space. Understanding the role of infection processes is now crucial for designing a holistic approach to manage CCS which includes both pre-planting control measures, such as crop rotation, disinfection and introduction of break-crops to limit primary infections, and post-planting measures such as fungicide, control of irrigation or date of harvest to limit the secondary infections. Research is now needed to organize the knowledge about the effects of various methods on *Pythium* communities and determine their impact on each process, primary or secondary infection, with a distinction between autoinfection (to reduce symptoms intensification on the root) and alloinfection (to reduce spatial extensification between adjacent roots).

¹ Le résumé de ce chapitre est publié dans la revue Phytoprotection : Suffert F, Delalande D et Montfort F (2005) Effect of three cropping factors on secondary infection during a carrot cavity spot epidemic. Paper session abstracts of the 31st International Carrot Conference, September 11-14, 2005, Longueuil, Canada. Phytoprotection 86: 145-146.

Figure VI-1 Illustration des processus d'auto- et d'allo-infections intervenant au cours d'une épidémie de cavity spot dans des expérimentations en microcosmes faisant intervenir des racines sources et des racines cibles.

A - Racine source inoculée artificiellement par *P. violae* (évolution après transplantation). **B** - Lésions sur des racines sources résultant d'auto-infections. **C** - Lésions sur des racines cibles résultant d'allo-infections.



VI-A. PERIODE D'APPLICATION D'UN FONGICIDE ANTI-OOMYCETES

1. Objectifs

Evaluer si une action sur les processus épidémiologiques précoces (infections primaires) ou ultérieurs (infections secondaires) est capable de réduire significativement l'intensité du cavity spot est fondamental : l'estimation de l'importance de chaque phase de l'épidémie en dépend. Modifier la période d'application d'un traitement fongicide anti-oomycètes est un moyen expérimental d'agir à différentes étapes, et donc d'estimer le poids relatif des différents processus. Nous avons choisi d'utiliser le mefenoxam, actuellement homologué sur carottes en pré-levée, pour tester si des traitements décalés dans le temps ont pour effet de retarder le développement d'une épidémie au champ. L'essai a été complété par une expérimentation en microcosmes, répétée, pour tester l'efficacité d'une application en cours de végétation spécifiquement sur les infections secondaires.

2. Matériel et méthodes

2.1. Variables de maladie

Deux types de variables de maladie ont été retenus pour quantifier le développement des épidémies :

- Des variables instantanées (Y) : incidence de maladie i (*disease incidence*), surface totale nécrosée tda (*total disease area*), densité de lésions d (*lesion density*) et intensité des symptômes si (*symptom intensity*)².
- Des variables intégratives (AUDPC) : aires sous les courbes de progression de la maladie (*area under the disease progress curve*), calculées selon la formule de Shaner & Finney (1977). Les AUDPC correspondent aux mesures de maladie précédentes (i , tda , d , si) représentées graphiquement en fonction du temps et intégrées pour déterminer numériquement les aires sous les courbes (Nutter *et al.*, 1991 ; Jeger & Viljanen-Rollinson, 2001 ; Maanen & Xu, 2003). Selon les cas, l'intégration a été fractionnée et réalisée sur deux ou trois phases distinctes :

$$AUDPC = \sum_{j=j_a}^{j_b} \frac{1}{2} (Y_{j+1} + Y_j) \times (t_{j+1} - t_j) \quad (1)$$

où Y_j est la valeur prise par la variable de maladie à l'instant j , t_j le nombre de degrés-jour (dj) accumulés entre le point zéro de l'épidémie (semis) et l'instant j , j variant de j_a (début de la phase d'intégration) à j_b (fin de la phase d'intégration).

² Voir Chapitre II p. 97.

2.2. Analyses des données

L'objectif des analyses statistiques est de tester l'effet du facteur étudié sur les variables de maladie instantanées (i , tda , d , si), les variables intégratives (AUDPC) et, le cas échéant, le paramètre $a(t)$ de la relation pathométrique³ décrite par l'équation $i = 100.(1 - \exp(-a(t).tda))$. Les analyses de la variance et la comparaison de moyennes ont porté sur ces trois types de variables, calculées pour chaque modalité de traitement.

Deux séries d'analyses ont donc été pratiquées :

- Une analyse de variance date par date portant sur chaque variable instantanée, réalisée à l'aide de la procédure ANOVA du logiciel SAS (Statistical Analysis System, SAS Institute Inc., 1989), a été complétée par un test de comparaison des moyennes (pour tester l'effet des différentes modalités de traitement), réalisé par un test de Scheffe ($p < 0,05$).
- L'hypothèse de normalité ne peut être faite sur les distributions des observations de deux échantillons d'AUDPC ou des valeurs de $a(t)$. La comparaison des moyennes de ces deux variables a donc été réalisée par un test non paramétrique de Wilcoxon-Mann-Whitney, avec la procédure NPAR1WAY option WILCOXON de SAS. Dans les cas où plus de deux modalités de traitements ont été prises en compte, l'ensemble des combinaisons de comparaisons deux à deux a été testé (avec une correction des probabilités p des valeurs du test de chi-2 : $p_{cor} = p/3$ lorsque 3 modalités interviennent (3 comparaisons possibles) ou $p_{cor} = p/6$ lorsque 4 modalités interviennent (6 comparaisons possibles)).

2.3. Dispositif expérimental au champ et itinéraire technique⁴

Les effets de la période d'application du traitement ont été mesurés sur la cinétique d'une épidémie de cavity spot au cours d'une expérimentation au champ, après infestation artificielle de micro-parcelles par *P. violae*.

Le sol a été infesté avec l'isolat Pv490 (CBS 102.609). Des sachets plastiques contenant chacun 300 ml de grains d'orge secs et 240 ml d'eau ont été autoclavés à raison de 3 passages de 1 heure à 120°C. Les sachets ont été laissés au repos pendant 48 heures puis inoculés par la souche Pv490 à l'aide de 5 explantats mycéliens cultivés sur milieu gélosé carotte. Les sachets ont ensuite été mis à incuber à l'obscurité à 20°C pendant 3 semaines. Les grains d'orge ont été dispersés manuellement sur chaque micro-parcelle à la dose d'infestation D10, soit 50 g.m⁻² en poids sec.

³ Voir Chapitre II p. 106.

⁴ Pour davantage de précisions on pourra se référer au protocole expérimental décrit au Chapitre III p. 127.

Les semis ont été précédés d'un traitement CURATER⁵ (Carbofuran, 1000 g.ha⁻¹) contre la mouche de la carotte et les taupins. Des bandes de papier celluloses pré-ensemencées⁶ (cv. Nanco⁷) ont été utilisées de façon à obtenir une levée homogène (densité théorique de 80 graines par mètre linéaire). Un traitement curatif herbicide DOSANEX⁸ (Métoxuton, 4000 g.ha⁻¹), complété par un désherbage manuel en cours de culture, a été positionné 3 semaines après la levée. Un traitement fongicide foliaire SCORE⁸ (Diphénoconazole, 200 g.ha⁻¹), sans effet sur les *Pythium*, a été réalisé dans chaque essai au mois d'août. Les apports d'ammonitrate ont été fractionnés (20 kg.ha⁻¹ une semaine avant semis et 30 kg.ha⁻¹ un mois après la levée). Les apports de phosphate et potassium ont été réalisés un mois avant semis (100 kg.ha⁻¹ de P et 130 kg.ha⁻¹ de K).

Un abri météorologique a été installé durant toute la durée des essais. Il contenait un capteur HOBO™ H8 (PROSENSOR) équipé de deux sondes thermiques, l'une interne sensible à la température atmosphérique (à 1 m au dessus du sol), l'autre externe sensible à la température du sol (à 20 cm de profondeur). Des relevés pluviométriques ont été réalisés quotidiennement à l'aide d'un pluviomètre à augets.

Le dispositif expérimental comportait 12 micro-parcelles rectangulaires (2 × 4 m), disposées régulièrement au sein d'une parcelle du domaine de l'INRA (Le Rheu, Ille-et-Vilaine, France) (Figure VI-2) et semées le 29/05/2002. Trois modalités d'application du mefenoxam ont été retenues : positionnement précoce P₁ le 29/05/2002 (immédiatement après semis), positionnement intermédiaire P₂ le 04/07/2002 (5 semaines après semis), et positionnement tardif P₃ le 21/08/2002 (9 semaines après semis). Une modalité témoin non traitée a été ajoutée (NT). Chaque modalité a été répétée trois fois au sein d'un dispositif en blocs randomisés. Les applications de mefenoxam (SANTHAL TC⁸) ont toutes été pratiquées à la dose de 0,75 L.ha⁻¹ (3,6 mL dilués dans 3 L d'eau appliqués sur 48 m²), correspondant à 1,5 fois la dose homologuée en traitement de sol au semis (choix motivé par la nécessité de compenser les pertes⁹ dues à la fraction de produit non appliqué directement sur le sol aux stades de végétation les plus tardifs).

Cinq prélèvements successifs ont été réalisés (S1 le 08/07/2002 à 591,4 dj, S2 le 29/07/2002 à 903,3 dj, S3 le 19/08/2002 à 1197,3 dj, S4 le 30/09/2002 à 1714,9 dj, et S5 le 18/11/2002 à 2102,5 dj). Pour la comparaison des AUDPC, trois sous-variables ont été distinguées : AUDPC₁ allant de j₁ = 0 dj (S0) à j₂ = 1197,3 dj (S3), AUDPC₂ allant de j₂ = 1197,3 dj (S3) à j₃ = 1714,9 dj (S4), et AUDPC₃ allant de j₃ = 1714,9 dj (S4) à j₄ = 2102,5 dj (S5).

⁵ Produit phytosanitaire commercialisé par la société BAYER CROPSCIENCE.

⁶ La fabrication des bandes a été réalisée par la société ISITECH (Nantes, Loire-Atlantique, France), filiale de ISITOP (Saint-Gilles, Ille-et-Vilaine, France).

⁷ Variété hybride F1 produite et commercialisée par la société VILMORIN.

⁸ Produit phytosanitaire commercialisé par la société SYNGENTA AGRO.

⁹ Estimées arbitrairement à 50 % de la quantité appliquée en P₃.

Figure VI-2 Dispositif de l'expérimentation « traitement fongicide » conduite au champ.



Essai non répété (2002).

Figure VI-3 Dispositif de l'expérimentation « traitement fongicide » conduite en microcosmes sous serre.



Essai répété (2004 et 2005).

2.4. Dispositif expérimental en microcosmes

Un essai « traitement fongicide » a été conduit dans des microcosmes (bacs rectangulaires de 25 × 50 cm) placés en serre, contenant un sol reconstitué (50 % de sable, 25 % de terreau et 25 % de terre du bassin de Rennes) stérilisé à la vapeur 72 h avant le semis. Les graines (cv. Nanco) ont été semées à l'aide de patrons spécifiques de façon à obtenir un peuplement de carottes « cibles » homogène. L'arrosage a été ajusté manuellement selon les besoins (toutes les 24 à 72 h). Le suivi des températures de l'air et du sol a été réalisé à l'aide d'un capteur équipé de deux sondes thermiques. La photopériode a été initialement rallongée par un éclairage artificiel (4 h le matin), et la température « régulée » entre 15°C et 25°C. Deux traitements insecticides MAVRIK FLO¹⁰ visant les pucerons et les aleurodes ont été pratiqués en cours de végétation à trois semaines d'intervalle.

Les « sources » d'infections secondaires étaient constituées de carottes matures fraîchement récoltées, d'une taille standardisée (180-200 mm de long et 26-32 mm de diamètre), inoculées selon la technique décrite au Chapitre V. La souche de *P. violae* utilisée (Pv490) a été cultivée sur milieu carotte pendant 5 jours à 20°C. Les carottes ont été désinfectées manuellement dans une solution javellisée (< 0,3 %) pendant une minute, puis rincées trois fois à l'eau claire. Les racines ont ensuite été scarifiées à la surface de l'épiderme en 4 points opposés à l'aide d'un tissu abrasif. Sur chaque zone scarifiée, un explantat mycélien provenant d'une boîte de Petri colonisée par *P. violae* a été découpé à l'emporte-pièce et maintenu au moyen d'une épingle, face colonisée contre l'épiderme. Les carottes ainsi inoculées ont été placées sur une éponge imbibée d'eau dans des boîtes hermétiques. L'ensemble a été mis à incuber pendant 48 h à 20°C en conditions humides à l'obscurité.

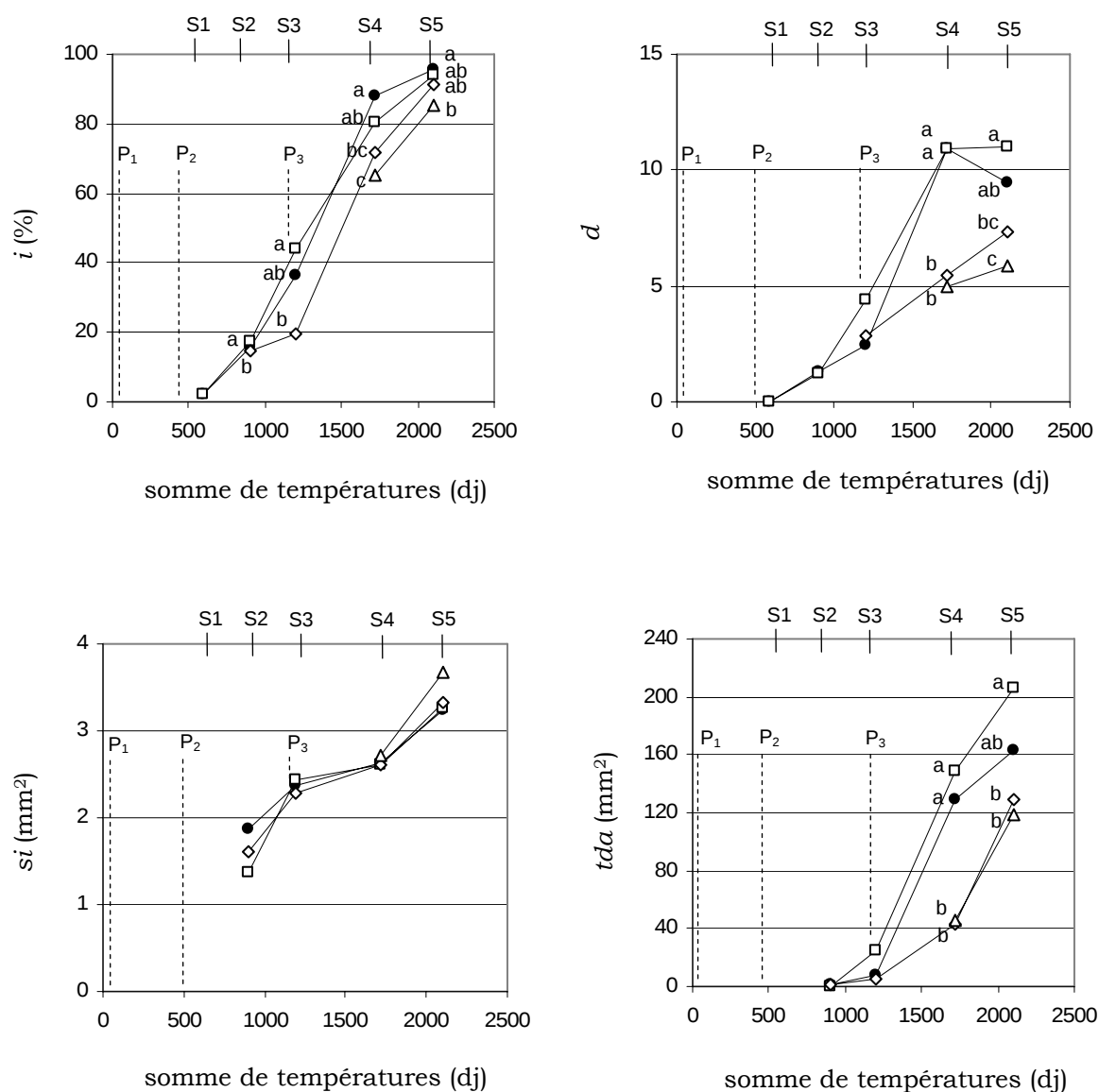
Dans le sol de chaque microcosme, deux tubes PVC ($\varnothing$ = 32 mm, L = 230 mm) ont été introduits avant le semis ; ils ont été retirés 12 semaines après et remplacés par les racines sources inoculées.

L'essai a été répété (Rép1 et Rép2). Constitué de 24 unités expérimentales au total, il comportait deux modalités (traitée T et non traitée NT), trois dates de prélèvement et quatre blocs (Figure VI-3). Le peuplement de chaque microcosme a consisté en 21 racines cibles disposées selon 5 lignes de semis. Les racines sources ont été transplantées 1325 dj après le semis en Rép1 et 1250 dj après en Rép2 ; le traitement au mfenoxam et les trois prélèvements (P₁, P₂ et P₃) ont été pratiqués respectivement 7, 21, 33 et 46 jours après. La dose de mfenoxam utilisée

¹⁰ Produit phytosanitaire commercialisé par la société MAKHTESHIM AGAN.

Figure VI-4 Effet du positionnement d'un fongicide anti-oomycètes (mefenoxam) sur les cinétiques de quatre variables de maladie mesurées au cours d'une épidémie de cavity spot au champ.

i est l'incidence de maladie, tda la surface totale nécrosée, d la densité de lésions et si l'intensité des symptômes. Quatre modalités de traitements sont distinguées : (NT = non traité (●), P_1 = positionnement précoce (□), P_2 = positionnement intermédiaire (◇), P_3 = positionnement tardif (△)). Les lettres précisent si les moyennes calculées sont significativement différentes en fonction du traitement (procédure ANOVA, test de Scheffe, $p < 0,05$).



correspond à un traitement à 4 L.ha⁻¹ (35 µL de SANTHAL TC dilués dans 150 mL d'eau, soit 8 fois la dose homologuée au semis¹¹).

Des variables instantanées (*i*, *tda*, *d*, et *si*) et des variables intégratives (AUDPC) ont été retenues pour suivre le développement de l'épidémie. Une seule phase a été retenue pour la comparaison des AUDPC : de $j_1 = 1325,0$ dj (S0) à $j_2 = 2106,1$ dj (S3) en Rép1, et de $j_1 = 1250,0$ dj (S0) à $j_2 = 2024,2$ dj (S3) en Rép2.

3. Résultats

3.1. Expérimentation au champ

3.1.1. Cinétiques épidémiques

Les traitements au mefenoxam ont modifié les cinétiques de cavity spot de façon significative, que l'on s'intéresse à *i* (incidence de maladie), *d* (densité de lésions) ou *tda* (surface nécrosée totale) (Figure VI-4). L'intensité des symptômes *si* (diamètre moyen des lésions) n'a en revanche pas été affectée.

Traitement précoce (P₁)

Le traitement précoce P₁ n'a réduit de façon significative aucune variable instantanée (Figure VI-4), ni aucune variable intégratives AUDPC (Figure VI-5).

Traitements intermédiaire (P₂) et tardif (P₃)

- *i* - On note un effet significatif de P₂ sur la variable instantanée *i* à partir de S3 (7 semaines après traitement) et de P₃ sur *i* à partir de S4 (6 semaines après traitement) par rapport à la modalité NT (Figure VI-4). Les différences d'efficacité entre P₂ et P₃ n'ont en revanche été significatives ni en S4 (*i* a atteint 71,6 % pour P₂ et 65,4 % pour P₃, contre 88,1 % pour NT ; test de Scheffe, $p < 0,05$) ni en S5.

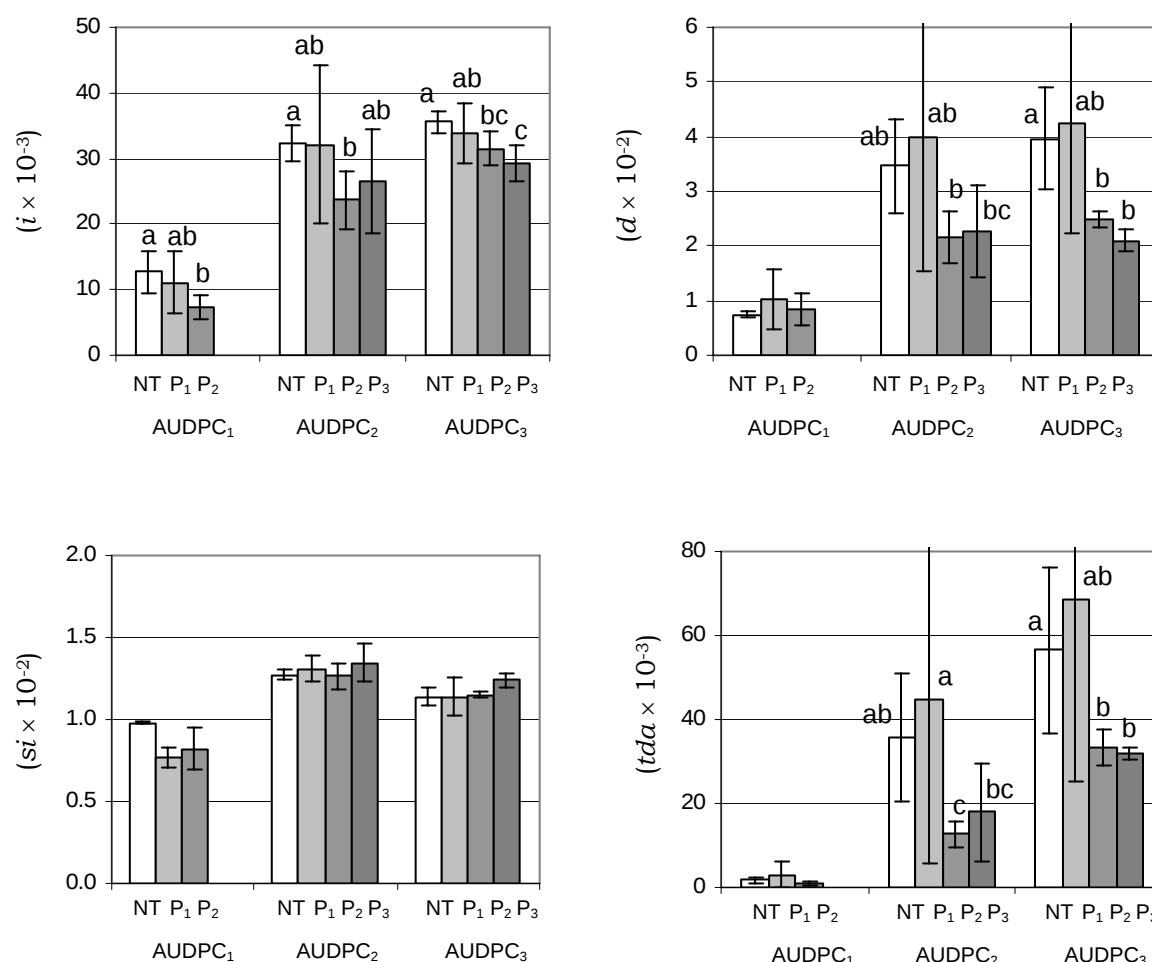
L'effet de P₂ a également été significatif sur les variables intégratives AUDPC de *i* (Figure VI-5) par rapport à NT ; l'effet de P₃, appréciable seulement à la fin de l'épidémie, n'a été significatif que sur AUDPC₃.

L'incidence *i* est finalement apparue comme significativement réduite par les traitements intermédiaire (P2) et tardif (P3).

¹¹ Cette dose peut paraître très élevée. L'objectif n'était pas de tester l'efficacité du traitement dans une perspective d'application au champ, mais de se placer dans des conditions garantissant l'action du produit. L'extrapolation des volumes appliqués sur une parcelle de 1 hectare (10⁸ cm²) avec un pulvérisateur à rampe sur un sol nu, à ceux appliqués dans un microcosme (10³ cm²) avec un pulvérisateur à main en cours de végétation, est assez périlleuse compte tenu des différences entre les deux modalités de traitement. Une dilution plus importante de la matière active n'aurait pas été une solution satisfaisante.

Figure VI-5 Effet du positionnement d'un fongicide anti-oomycètes (mefenoxam) sur les aires sous la courbe de progression de la maladie (AUDPC) calculées pour quatre variables de maladie au cours d'une épidémie de cavity spot au champ.

i est l'incidence de maladie, tda la surface totale nécrosée, d la densité de lésions et si l'intensité des symptômes. Quatre modalités de traitements sont distinguées : NT = non traité, P_1 = positionnement précoce, P_2 = positionnement intermédiaire, P_3 = positionnement tardif. Les AUDPC sont calculées après la distinction de trois phases, de S0 à S3 pour AUDPC₁, de S3 à S4 pour AUDPC₂ et de S4 à S5 pour AUDPC₃. Les lettres précisent si les moyennes calculées sont significativement différentes en fonction du traitement (procédure NPAR1WAY option WILCOXON, test de Wilcoxon-Mann-Whitney, $p_{cor} < 0,1$).



- ***d*** - Les effets de P_2 et P_3 ont été observés sur la densité de lésions d à partir du prélèvement S4, soit respectivement 6 et 13 semaines après traitement. Les effets de ces traitements intermédiaire et tardif ont été très prononcés entre S4 et S5 (fin de l'épidémie), tant sur la variable instantanée d que sur les variables intégratives AUDPC₂ et AUDPC₃, qui ont été en P_2 et P_3 très inférieures à celles de NT et P_1 .

- ***si*** - Aucun traitement n'a eu d'effet significatif sur l'intensité des symptômes si . Le diamètre moyen des lésions a augmenté de façon similaire dans toutes les modalités, passant de 1,5 mm en moyenne en S2 à 3,5 mm en S5.

- ***tda*** - On note un effet très significatif de P_2 et P_3 sur la surface totale nécrosée tda en S4 par rapport à NT et P_1 (limitée à 40 mm², contre environ 140 mm²), qui s'est prolongé dans le temps jusqu'en S5, mais de façon non significative ; les efficacités comparées de P_2 et P_3 sur la cinétique de tda sont apparues comme étant identiques.

Les effets de P_2 et de P_3 ont également été très marqués sur les variables intégratives AUDPC₂ et AUDPC₃ (significativement inférieures de moitié en P_2 et P_3 par rapport à NT et P_1) en fin d'épidémie.

Globalement, les traitements P_2 et P_3 ont été très efficaces sur les variables de maladie d et tda pendant la dernière phase de l'épidémie, et un peu moins sur i . Ils se détachent nettement du traitement au semis P_1 , dont l'efficacité est ici remise en cause.

3.1.2. Relation pathométrique entre i et tda

Les valeurs prises par le paramètre $a(t)$ dans la relation $i = 100.(1 - \exp(-a(t).tda))$ sont stables entre S3 et S5 (Annexe VI-1). Dans les modalités NT, $a(t)$ reste compris entre 0,05 et 0,06, et compris entre 0,02 et 0,04 en P_2 et P_3 . Un test non paramétrique (NPAR1WAY option WILCOXON, test de Wilcoxon-Mann-Whitney, $p_{cor} < 0,1$) montre l'absence de différence significative entre les périodes d'application ; seules les différences entre NT d'une part ($a = 0,054$), et P_2 ($a = 0,031$) et P_3 ($a = 0,033$) d'autre part, sont significatives. Il semble qu'une relation négative entre la valeur moyenne de $a(t)$ calculée sur la durée totale d'une épidémie et le positionnement du traitement (P_1 , P_2 , P_3) puisse être dégagée.

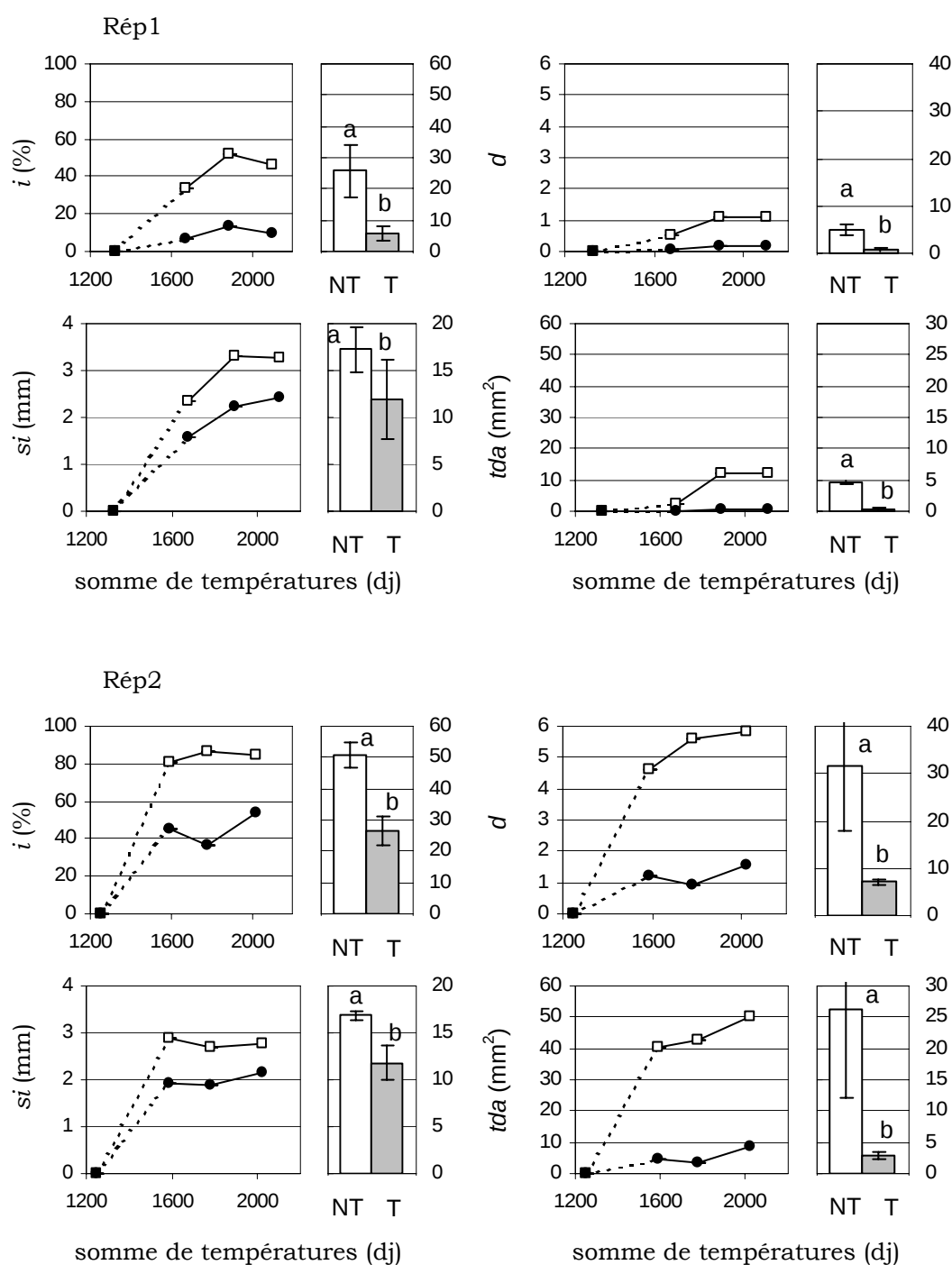
3.2. Expérimentation en microcosmes

3.2.1. Cinétiques épidémiques

En microcosmes (Rép1 et Rép2), le traitement au mefenoxam a profondément modifié les cinétiques d'attaques par allo-infections, en particulier pour les variables de maladie instantanées (i , d , si , tda) (Figure VI-6). Les différences

Figure VI-6 Effet d'un traitement fongicide anti-oomycètes (mefenoxam) sur la dynamique des infections secondaires de cavity spot estimée en microcosmes par quatre variables de maladie.

i est l'incidence de maladie, tda la surface totale nécrosée, d la densité de lésions et si l'intensité des symptômes. Trois prélèvements ont été pratiqués 21, 33 et 46 jours après le positionnement de la source infectieuse (à 1325 dj en Rép1 et 1250 dj en Rép2). NT = modalités non traitées ($\square$); T = modalités traitées ($\bullet$). Les lettres précisent si les moyennes des AUDPC calculées pour chaque variable de maladie sont significativement différentes en fonction du traitement (procédure NPAR1WAY option WILCOXON, test de Wilcoxon-Mann-Whitney, $p_{cor} < 0,1$).



d'AUDPC ont toutes été statistiquement significatives (test de Wilcoxon-Mann-Whitney, $p < 0,1$). A la dose que nous avons utilisée, le mfenoxam est donc capable de réduire significativement l'occurrence des contaminations racines à racines.

3.2.2. Relation pathométrique entre i et tda

Les valeurs prises par le paramètre $a(t)$ dans la relation entre l'incidence i et la surface totale nécrosée tda sont décroissantes (Rép1) ou stables (Rép2) au cours du temps (Annexe VI-2). Dans les modalités NT, $a(t)$ est inférieur à 0,1 (à l'exception du premier prélèvement de Rép1), alors qu'il est nettement supérieur dans les modalités traitées T : $a(t) = 0,100$ en Rép1 et $a(t) = 0,063$ en Rép2 pour NT, contre respectivement $a(t) = 0,229$ et $a(t) = 0,140$ pour T. Une analyse de la variance des valeurs de moyennes de $a(t)$ calculées sur la durée totale d'une épidémie met en évidence des différences significatives entre les modalités T et NT en Rép2 (test de Wilcoxon-Mann-Whitney, $p < 0,1$).

4. Discussion et perspectives

Les résultats obtenus au champ montrent que les traitements en cours de végétation (P_2 et P_3) ont eu des effets plus importants qu'un traitement au semis, et une période d'efficacité plus large. Ils ont réduit l'incidence de maladie i ; la progression de l'épidémie a été d'autant plus retardée que le traitement a été pratiqué lorsque l'incidence moyenne était déjà proche de 20 %. Ces traitements ont eu un impact encore plus prononcé sur la densité de lésions d et sur la surface totale nécrosée tda ; les traitements tardifs ont vraisemblablement eu un effet sur les infections secondaires, processus qui apparaissent comme étant déterminants sur l'intensité finale des attaques. Cette analyse a été confirmée par les résultats obtenus en microcosmes : le mfenoxam y a explicitement réduit l'occurrence des allo-infections ; dans l'essai au champ, la variable d a été fortement réduite, i étant un peu moins affectée, ce qui suggère que le mfenoxam a également été efficace contre les auto-infections.

Compte tenu de la dose utilisée (8 fois celle homologuée), les données quantitatives obtenues en microcosmes sont à interpréter avec précaution.

L'utilisation du mfenoxam constitue la méthode de lutte la plus efficace actuellement disponible (Lyshol et al., 1984 ; White, 1988). Il inhibe la synthèse d'ARN du champignon et agit comme un fongistatique (Cohen & Coffey, 1986). Sur des cultures à cycle court (carottes de primeur), une application d'ACYLON TC (métalaxyl + manèbe) - remplacé en 2001 par du SANTHAL (mfenoxam) - au moment de la découverte, assure une protection correcte (Montfort & Rouxel, 1985). Selon les informations fournies par la société SYNGENTA AGRO, le produit serait surtout actif aux phases les plus précoces de l'épidémie, et donc vraisemblablement contre les infections primaires, ce qui ne nous n'avons pas pu

clairement démontrer ici. Sur les cultures à cycle long (carottes de saison et de garde), il est préconisé de traiter jusqu'au stade 2 à 4 feuilles. Des applications ultérieures semblent pourtant avoir une efficacité significative sur les attaques tardives, et sur les infections secondaires en particulier, comme l'illustrent nos résultats. Les études antérieures ont souvent été contradictoires à ce propos (Hiltunen & White, 2002) : certaines ont confirmé que les traitements précoces étaient les plus efficaces (McDonald, 1994 ; Gladders & McPhersons, 1986), alors que d'autres ont au contraire établi que des traitements à 6-9 semaines étaient plus actifs (Davis *et al.*, 1991).

VI-B - HUMIDITE DU SOL

1. Objectifs

Evaluer l'influence de facteurs pédoclimatiques sur certaines variables de maladie est une démarche pertinente. Des conclusions intéressantes peuvent en être tirées sur la connaissance de leur mode d'action et des processus épidémiologiques sur lesquels ils agissent.

L'expérimentation au champ « humidité du sol » a pour objectif de mesurer les effets du taux réel d'humidité du sol, modulé par différents régimes d'irrigation, sur la cinétique d'une épidémie de cavity spot en conditions naturelles, après infestation du sol par *P. violae*.

2. Matériel et méthodes

Le dispositif expérimental comportait 12 micro-parcelles rectangulaires (2 × 4 m) disposées régulièrement au sein d'une parcelle du domaine expérimental de l'INRA et semées le 01/06/2003 (Figure VI-7). Trois modalités correspondant à trois niveaux d'irrigation ont été répétées quatre fois au sein d'un dispositif en blocs randomisés : des micro-parcelles non irriguées (NI), irriguées selon un régime hydrique intermédiaire (I₁) (environ 200 mm en 5 mois) et irriguées selon un régime hydrique élevé (I₂) (environ 600 mm en 5 mois) (Annexe VI-3). L'expérimentation n'a pas été répétée.

L'irrigation a été réalisée par un système asperseur installé au centre de chaque micro-parcelle irriguée, avec des sprinklers positionnés à 80 cm du sol. Les périodes d'arrosage nocturnes ont été déclenchées par l'ouverture et la fermeture d'électrovannes (programmeur TORO GREENKEEPER 212¹²), à raison de 2 à 4 h toutes les 48 ou 72 heures en juillet et août. Le débit d'irrigation a été estimé à 4 mm.h⁻¹ par une mesure directe. Des estimations hebdomadaires du taux réel d'humidité (TRH) ont été réalisées entre le 24/06/2003 (497,2 dj) et le 18/11/2003 (2287,3 dj) (Annexe VI-3). Pour cela, des carottages de sol ont été pratiqués dans les rangs sur une profondeur d'environ 15 cm à raison de trois prélèvements par modalité de traitement ; les échantillons de sol ont été pesés avant (poids frais PF_{sol}) puis après dessiccation à 120°C pendant 48 h (poids sec PS_{sol}). Le TRH (%) a été calculé à partir de la formule suivante :

$$\text{TRH} = \frac{\text{PF}_{\text{sol}} - \text{PS}_{\text{sol}}}{\text{PF}_{\text{sol}}} \times 100 \quad (3)$$

¹² Fournisseur de l'ensemble du matériel d'irrigation : ANJOU IRRIGATION SARL (Andard, 49, France).

Figure VI-7 Dispositif de l'expérimentation « humidité du sol » conduite au champ.



Essai non répété (2003).

Six prélèvements de racines ont été pratiqués (01/07/2003 à 600,5 dj, 21/07/2003 à 923,6 dj, 05/08/2003 à 1180,5 dj, 28/08/2003 à 1605,1 dj, 30/09/2003 à 2026,6 dj, 24/11/2003 à 2328,5 dj). Des variables de maladie instantanées (i , tda , d , et si) et des variables intégratives (AUDPC) ont été retenues pour suivre le développement de l'épidémie. Pour la comparaison des AUDPC, deux sous-variables ont été distinguées : AUDPC₁ de $j_1 = 0$ dj (S0) à $j_2 = 1180,54$ dj (S3), et AUDPC₂ de $j_2 = 1180,54$ dj (S3) à $j_3 = 2328,45$ dj (S6).

3. Résultats

Les trois niveaux d'irrigation ont permis d'obtenir des conditions d'humidité du sol bien distinctes (Annexe VI-3). Avant irrigation, les TRH étaient identiques entre les modalités NI, I₁ et I₂ (environ 15 %). Le sol est resté dans un état proche de la saturation en eau entre mi-juillet et fin septembre dans les modalités I₂ (TRH = 20,2 % en moyenne), et à un niveau inférieur dans les modalités I₁ (TRH = 17,7 % en moyenne). Le choix de l'année 2003 pour la mise en place de cet essai s'est avéré judicieux, puisqu'en l'absence de précipitations le sol des micro-parcelles NI est resté très sec durant l'été (TRH = 11,5 % en moyenne) ; un point bas a été atteint à 1500 dj (TRH = 6 %), avant que la teneur en eau n'augmente à la faveur de quelques épisodes pluvieux.

L'analyse des cinétiques de cavity spot a montré des différences importantes entre les variables instantanées mesurées dans les modalités NI et en I₁ et I₂. Ces différences sont significatives à toutes les dates de prélèvement à partir de S2 (test de Scheffe, $p < 0,05$), et particulièrement marquées pour la densité de lésions d qui atteint en moyenne entre 5 et 7 lésions par racine en I₁ et I₂ entre S4 et S6, contre à peine 2 lésions par racine en NI (Figure VI-8). En fin d'épidémie, l'incidence i atteint 90 % dans les modalités I₁ et I₂, alors qu'elle dépasse à peine 60 % dans les modalités NI. De même, la surface totale nécrosée tda est comprise entre 55 mm² et 85 mm² dans les modalités I₁ et I₂, contre moins de 15 mm² dans les modalités NI. L'intensité des symptômes si est stable au cours du temps (voire légèrement décroissante), avec en S4 et S5 des différences significatives entre NI ($si = 2$ mm²), I₁ ($si = 2,5$ mm²) et I₂ ($si = 3$ mm²). Un effet discontinu est constaté entre les régimes I₁ et I₂ : à plusieurs dates de prélèvement l'intensité des attaques est significativement plus importante en I₂ qu'en I₁ (i en S2 et S6, si en S4 et S6, et tda en S4 et S6).

L'effet de l'humidité est également marqué sur les AUDPC₁ et AUDPC₂ (Figure VI-9). Pour les cinétiques d'incidence i , les différences d'AUDPC₁ ne sont significatives qu'entre NI ($17,0 \times 10^2$) et I₂ ($27,90 \times 10^2$) (test de Wilcoxon-Mann-Whitney, $p_{cor} < 0,1$). Les AUDPC₂ de I₁ ($97,70 \times 10^2$) et I₂ ($96,20 \times 10^2$) sont significativement supérieures à celles de NI ($65,00 \times 10^2$).

Figure VI-8 Effet de l'humidité du sol sur les cinétiques de quatre variables de maladie mesurées au cours d'une épidémie de cavity spot au champ modulée par trois régimes d'irrigation.

i est l'incidence de maladie, tda la surface totale nécrosée, d la densité de lésions et si l'intensité des symptômes. NI = non irrigué (●), I_1 = niveau intermédiaire (□), I_2 = niveau élevé (◇). Les lettres précisent si les moyennes calculées sont significativement différentes en fonction du traitement (procédure ANOVA, test de Scheffe, $p < 0,05$).

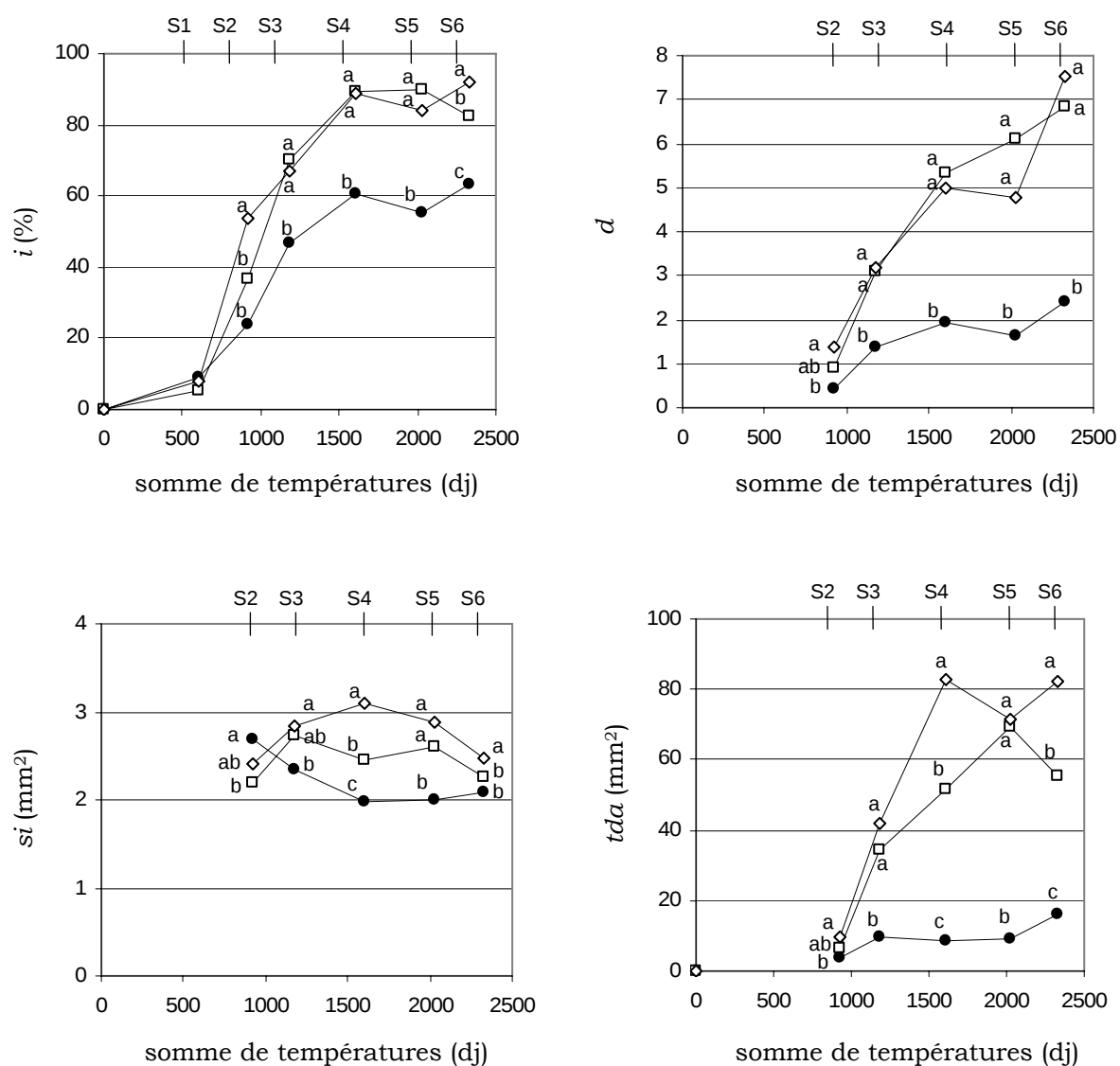
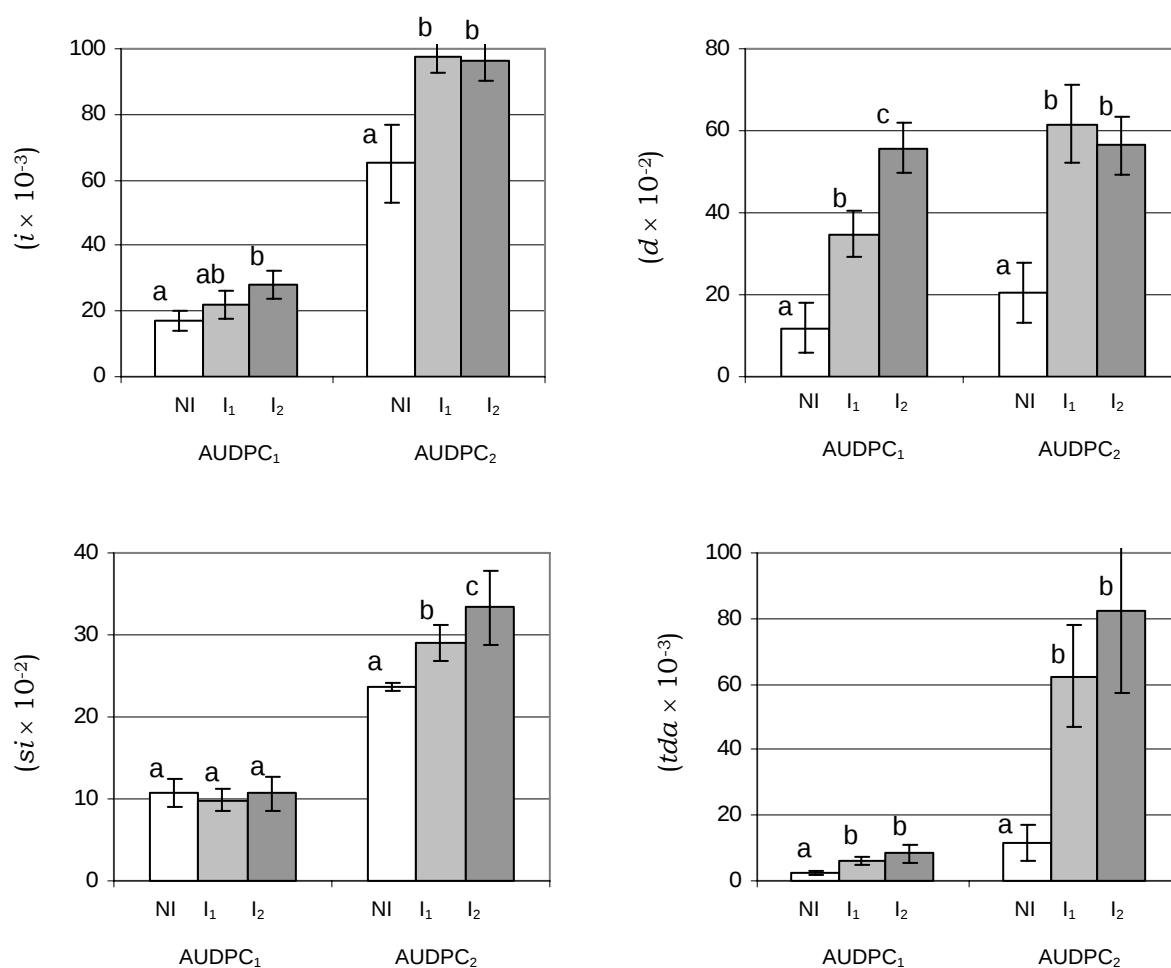


Figure VI-9 Effet de l'humidité du sol sur les aires sous la courbe de progression de la maladie (AUDPC) calculées pour quatre variables au cours d'une épidémie de cavity spot au champ modulée par trois régimes d'irrigation.

i est l'incidence de maladie, tda la surface totale nécrosée, d la densité de lésions et si l'intensité des symptômes. NI = non irrigué, I_1 = niveau intermédiaire, I_2 = niveau élevé. Les AUDPC sont calculées après la distinction de deux phases épidémiologiques, de S0 à S3 pour AUDPC₁, et de S3 à S6 pour AUDPC₂. Les lettres précisent si les moyennes calculées sont significativement différentes en fonction du traitement (procédure NPAR1WAY option WILCOXON, test de Wilcoxon-Mann-Whitney, $p_{cor} < 0,1$).



Pour les cinétiques de densité de lésions d , l'effet de l'irrigation sur les AUDPC₁ est très prononcé et les différences entre NI ($11,90 \times 10^2$), I₁ ($34,90 \times 10^2$) et I₂ ($55,7 \times 10^2$) sont toutes significatives. Les AUDPC₂ de I₁ et I₂ sont significativement supérieures à celles de NI (respectivement $61,60 \times 10^2$, $56,40 \times 10^2$ et $20,60 \times 10^2$).

Pour les cinétiques d'intensité des symptômes si aucune différence d'AUDPC₁ n'est mise en évidence entre NI ($10,80 \times 10^2$), I₁ ($9,90 \times 10^2$) et I₂ ($10,60 \times 10^2$). L'effet de l'irrigation n'est significatif que pour les AUDPC₂ ($si = 23,70 \times 10^2$ en NI, $si = 29,00 \times 10^2$ en I₁ et $si = 33,30 \times 10^2$ en I₂).

Pour les cinétiques de surface totale nécrosée tda , les différences d'AUDPC₁ ne sont significatives qu'entre NI ($2,4. 0 \times 10^3$) et I₂ ($8,20 \times 10^3$). L'effet de l'irrigation est en revanche très marqué sur les AUDPC₂ : les différences entre NI ($11,50 \times 10^3$) d'une part, et I₁ ($62,50 \times 10^3$) et I₂ ($82,20 \times 10^3$) d'autre part, sont significatives.

Les valeurs prises par $a(t)$ dans la relation entre i et tda restent stables entre S2 et S6 (Annexe VI-4). En S2, elles sont comprises entre 0,07 et 0,08 pour l'ensemble des modalités. En revanche, à partir de S3, ces valeurs diminuent en I₁ et I₂, se stabilisant entre 0,04 et 0,06, alors qu'elles dépassent 0,11 dans en NI. Une relation décroissante est mise en évidence ($R^2 = 0,56$) entre les valeurs moyennes de $a(t)$ et du TRH ($a(t) = 0,099$ pour TRH = 11,5 %, $a(t) = 0,048$ pour TRH = 17,7 % et $a(t) = 0,038$ pour TRH = 20,2 %) calculées sur la durée totale d'une épidémie.

4. Discussion et perspectives

Les micro-parcelles non irriguées (NI) sont restées sèches durant l'été et l'intensité des attaques de cavity spot y a été beaucoup plus faible que dans celles irriguées (I₁ et I₂) ; ce résultat démontre que l'humidité du sol est favorable au développement de la maladie, corroborant ainsi les conclusions d'autres auteurs (Guba *et al.*, 1961 ; Goh & Ali, 1983 ; Liddell *et al.* ; 1989 ; Montfort & Rouxel, 1988). Perry & Harrison (1977, 1979) ont constaté que la maladie s'exprimait préférentiellement dans des sols mal drainés ou tassés, en particulier après des périodes de fortes pluies. McDonald (1994) a établi que l'AUDPC de l'incidence de maladie était plus élevée à la suite d'épisodes (quelques jours) ou d'une saison (quelques mois) très pluvieuse. Soroker *et al.* (1984) et Vivoda *et al.* (1991) ont démontré l'influence de la période d'irrigation : des arrosages précoces, débutant fin juillet ou fin août, ont conduit à des incidences proches de 14 %, contre seulement 4,4 % dans le cas d'arrosages à partir de mi-octobre.

En conditions sèches (NI), une grande partie des racines est restée exempte de lésions (Figure VI-8) : l'accessibilité de l'hôte à l'agent pathogène a été réduite. L'absence de différences significative entre les incidences i constatées entre I₁ et I₂ montre qu'il existe certainement un TRH limite (ou potentiel matriciel seuil) en dessous duquel l'effet du manque d'eau se manifeste sur la maladie.

Comme nous l'avons constaté, l'humidité du sol agit sur toutes les variables de maladie ; ce facteur influence donc vraisemblablement la plupart des processus épidémiologiques décrits dans les chapitres précédents (infections primaires, infections secondaires et extension des lésions) :

- le TRH a un effet sur la densité de lésion d , en particulier dans la première partie de l'épidémie (AUDPC₁). Benard & Punja (1995) ont aussi démontré les effets de l'humidité sur la sévérité des attaques : après 6 semaines, dans un sol à 60 % de la saturation en eau, la densité moyenne de lésions sur une racine s'élevait à 5,2 contre seulement 2,3 à 48 %.
- Le TRH a un effet important sur la taille des lésions (intensité de symptômes s_i), principalement dans la seconde partie de l'épidémie (AUDPC₂) : plus le sol est humide, plus le diamètre moyen des lésions est élevé.
- L'effet de l'humidité étant plus prononcé sur d pendant la première partie de l'épidémie (AUDPC₁) et sur s_i pendant la seconde (AUDPC₂), il n'est pas surprenant qu'un effet soit constaté sur tda pendant les deux phases.

Il existe en outre une relation négative entre la valeur de $a(t)$ et le TRH calculés sur la durée totale d'une épidémie. Les analyses réalisées au Chapitre II ont mises en évidence la décroissance de $a(t)$ au cours d'une épidémie, illustrant ainsi le passage d'une phase de mobilisation de l'inoculum primaire du sol, à des phases d'extensification et d'intensification des attaques. L'occurrence de certains processus épidémiologiques impliqués semble ici influencée par l'humidité du sol : à des régimes hydriques élevés, il est probable que les infections secondaires, qu'il s'agisse d'auto- ou d'allo-infections, soient favorisées.

Chez la plupart des « champignons » à zoospores flagellées et à affinités aquatiques (*Pythium*, *Phytophthora*, *Aphanomyces*), de fortes teneurs en eau favorisent à la fois la dispersion et l'infection (Davet, 1996) ; une humidité du sol élevée constitue un avantage écologique pour la plupart des *Pythium* (Hendrix et Campbell, 1973 ; Stanghellini, 1974). En pratique, il faut reconnaître que la maîtrise du régime hydrique d'un sol est difficile à obtenir car elle supposerait une maîtrise du climat. Avec le drainage et le buttage (ou façonnage en planches), l'irrigation est un des seuls moyens pour les producteurs de carottes d'agir directement sur l'humidité du sol et de limiter les risques d'intensification de la maladie. L'impact de ce facteur sur le cavity spot a généralement été quantifié à la récolte, mais jamais sur une cinétique de maladie dans sa globalité. Nous proposons les hypothèses fonctionnelles suivantes :

- l'humidité a un effet sur les infections primaires à des stades culturels précoces : un sol très sec limite l'accessibilité de l'inoculum primaire aux tissus hôtes, mais une teneur en eau minimale y remédie ;
- l'humidité a un effet positif sur les infections secondaires (processus d'intensification et d'extensification de la maladie) ; nous pensons qu'elle favorise la croissance du mycélium dans le sol, et, le cas échéant, la mobilité des zoospores ; en ce qui concerne *P. violae*, dont la phase de reproduction asexuée est

insignifiante, l'humidité du sol serait théoriquement moins déterminante dans les phases de dissémination ;

- l'humidité limite les processus de « cicatrisation » à l'origine de symptômes bien délimités et de taille réduite ; le potentiel d'infections secondaires augmente alors d'autant plus que la taille des lésions (s_i) est élevée et que la surface totale nécrosée (tda) est importante.

VI-C - DISTANCE ENTRE RACINES ET DENSITE DE PEUPLEMENT

1. Objectifs

Cette partie vise à mesurer l'effet d'un facteur qui, d'après le modèle que nous envisageons, pourrait avoir une influence sur un des mécanismes impliqués dans les infections secondaires : l'intensité des contaminations racines à racines devrait, en toute logique, être affectée par la distance entre les plantes hôtes.

Une première expérimentation en chambre climatique a donc pour objectif de mesurer l'effet de la distance entre racines sur la dynamique des allo-infections. L'objectif d'une autre expérimentation en microcosmes conduite en serre est de mesurer les effets de la densité de semis, une variable légèrement différente de la précédente.

2. Matériel et méthodes

2.1. Mise en évidence d'un effet de la distance entre source et cible

Trois modalités correspondant à trois distances entre une racine source et des racines cibles (L5 = 50 mm, L7 = 70 mm et L9 = 90 mm) ont été mises en place. Le semis a été réalisé en six points équidistants dans des pots circulaires ($\varnothing$ = 28 cm, contenance 10 L) placés en chambre climatique (photopériode de 16 h de jour à 20°C et 8 h de nuit à 12°C). Au centre, une carotte source a été introduite 14 semaines après le semis. Pour chaque modalité, quatre séries de prélèvements ont été pratiquées (S1, S2, S3 et S4), respectivement 1, 2, 3 et 4 semaines après la transplantation de la racine source. Cet essai, répété (Rép1 et Rép2), comportait 36 pots (3 pots par modalité).

2.2. Estimation du gradient de dispersion d'allo-infections dans un peuplement homogène

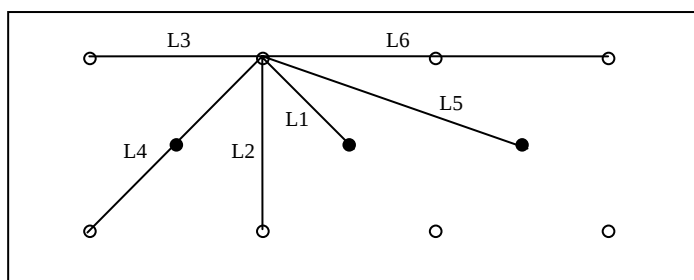
L'essai en serre « traitement fongicide » (Rép1) a généré des données permettant d'estimer le gradient de dispersion d'allo-infections en conditions contrôlées ; on se reportera donc au protocole expérimental y afférent¹³. Une cinétique spatio-temporelle de maladie au sein d'un peuplement homogène a été établie. Le gradient de dispersion a été mesuré expérimentalement à trois dates de prélèvement. Le modèle en puissance (Minogue, 1989 ; Madden & Campbell, 1990) défini par l'équation (2) a été testé ; il suppose que le nombre de propagules infectieuses atteignant une cible, et donc le nombre d'infections induites par une source, est inversement proportionnel à une puissance de la distance les séparant.

¹³ Voir p. 219.

Figure VI-10 Dispositif de l'expérimentation « densité de semis » conduite en microcosmes.

Les distances entre racines sont précisées pour chacune des trois modalités (D1, D2 et D3).

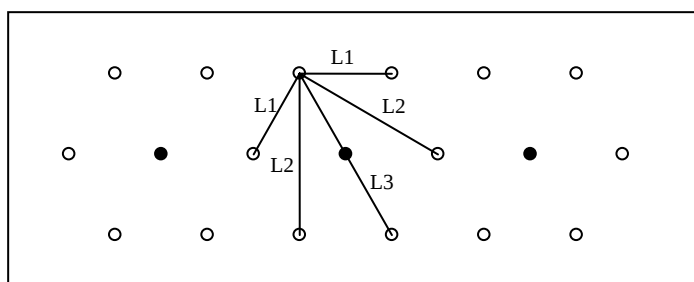
D1



L1 = 105 mm L4 = 208,6 mm
L2 = 145 mm L5 = 236,4 mm
L3 = 150 mm L6 = 300 mm



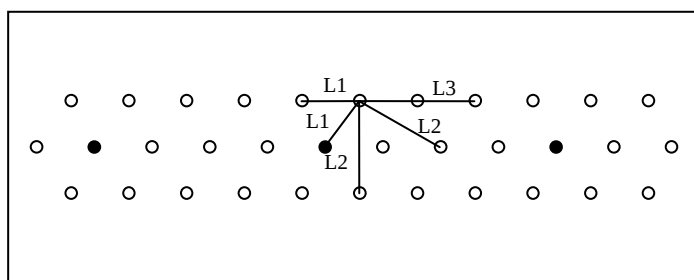
D2



L1 = 75 mm
L2 = 130 mm
L3 = 150 mm



D3



L1 = 45 mm
L2 = 77,9 mm
L3 = 90 mm

- racine source
- racine cible



$$Y = \alpha . L^{-\gamma} \quad (2)$$

où Y est la variable instantanée de maladie, L la distance entre la cible et la source, γ le paramètre appelé « pente du gradient », et α un paramètre d'ajustement.

Nous avons choisi $Y = tda$. La pente du gradient γ a été estimée par la moyenne des γ ajustés par la méthode des moindres carrés pour chacun des trois prélèvements réalisés dans les modalités non traitées (NT).

2.3. Effet de la densité de semis sur les infections secondaires

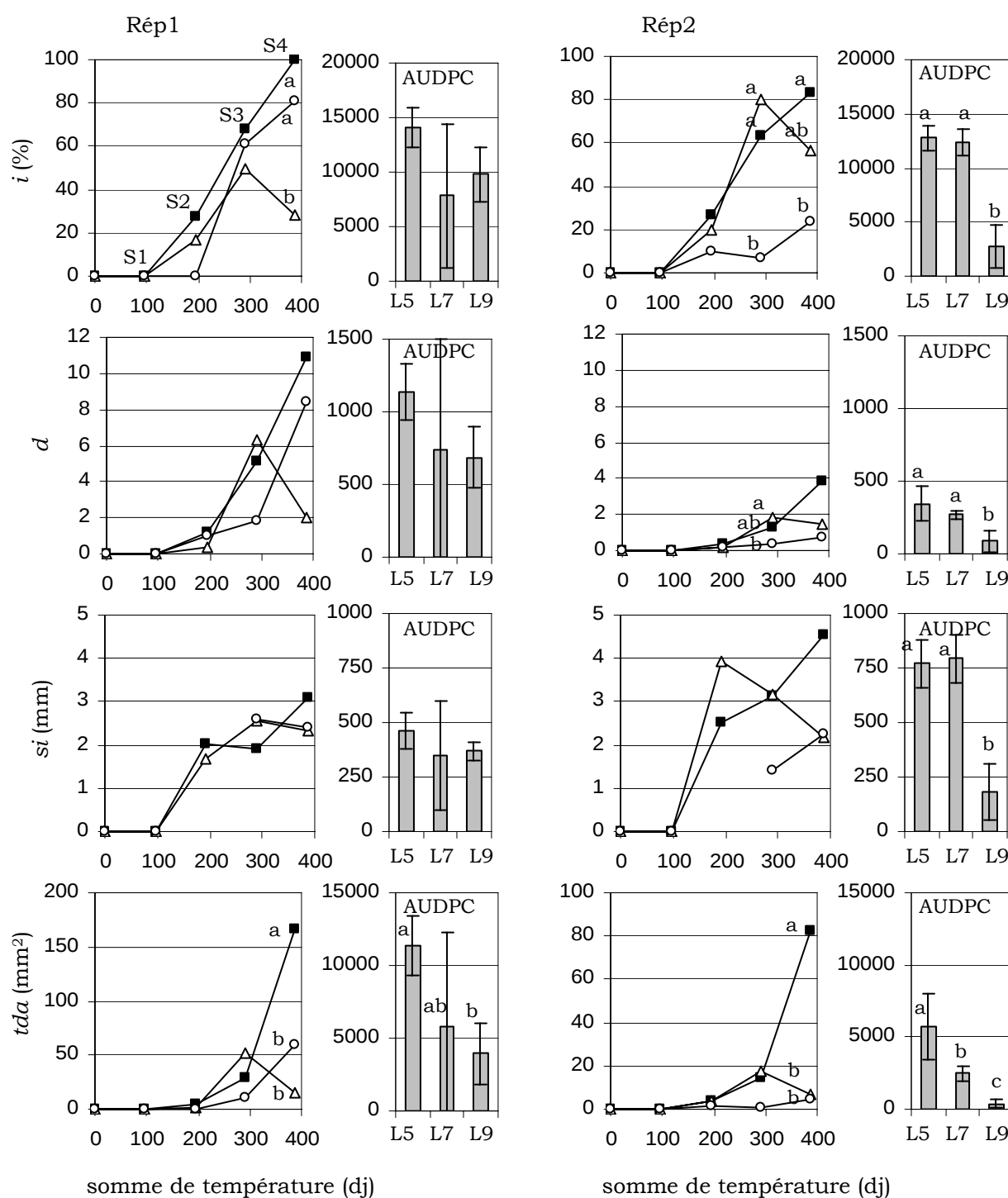
Une dernière expérimentation en microcosmes (bacs rectangulaires de 25 cm × 50 cm), répétée trois fois (Rép1, Rép2 et Rép3), comportait trois modalités correspondant à trois densités de semis (D1, D2 et D3) répétées selon 4 blocs. Chacun des 12 microcosmes contenait 3 racines sources transplantées 14 semaines après le semis (Figure VI-10). Les racines cibles ont été prélevées et notées 5 semaines après la transplantation.

Pour pouvoir comparer les densités de semis entre elles, il est possible d'estimer une densité linéaire moyenne (mesure standard) ou une distance moyenne entre racines au sein du peuplement. Les densités D1 (8 racines cibles/bac), D2 (16 racines cibles/bac), D3 (31 racines cibles/bac) correspondent ainsi respectivement à 20, 34,5 et 61,8 racines/m linéaire. Ce critère ne permet pas d'estimer la distance réelle entre racines, qui dépend de la largeur du rang et de l'architecture du semis ; il semble donc opportun de raisonner aussi sur une « distance moyenne entre racines ». Afin d'apprécier ce second critère, la distance moyenne séparant une racine des six racines adjacentes les plus proches a été calculée, en faisant l'hypothèse que l'influence de la septième racine (et les allo-infections qu'elle pourrait engendrer) devient négligeable (au-delà de 90 mm en D3) (Figure VI-10). Pour l'ensemble du peuplement, chacune de ces distances moyennes a été pondérée par le nombre de racines se trouvant dans une position identique. Cela a permis d'estimer la distance moyenne entre racines pour chaque modalité : 143 mm pour D1, 86 mm pour D2 et 51 mm pour D3.

Dans cette expérimentation, l'effet de la distance effective entre racines sources et racines cibles a été également testé (analyse spatiale explicite). La quantité limitée de données n'a en revanche pas permis de comparer les effets de la densité de semis sur la relation pathométrique $i = 100.(1-\exp(-a(t).tda))$.

Figure VI-11 Effet de la distance entre racines cibles et racines sources sur la dynamique des infections secondaires de cavity spot estimées par quatre variables de maladie et leurs AUDPC.

i est l'incidence de maladie, tda la surface totale nécrosée, d la densité de lésions et si l'intensité des symptômes. (■) L5 = 50 mm, (△) L7 = 70 mm, (○) L9 = 90 mm. Quatre prélèvements ont été pratiqués (S1, S2, S3 et S4). Deux répétitions (Rép1 et Rép2) ont été réalisées. Les lettres précisent si les moyennes calculées sont significativement différentes pour les variables de maladie (procédure ANOVA, test de Scheffe, $p < 0,1$) et pour les AUDPC (procédure NPAR1WAY option WILCOXON, test de Wilcoxon-Mann-Whitney, $p_{cor} < 0,1$).



3. Résultats

3.1. Effet de la distance entre source et cible

Dans des conditions de température et d'humidité favorables au développement du cavity spot, nous avons mis en évidence une relation négative entre l'intensité des infections secondaires (allo-infections) et la distance entre les racines sources et les racines cibles (50, 70 et 90 mm). L'analyse des cinétiques des différentes variables de maladie (*i*, *d*, *si* et *tda*) fait toutefois état d'une hétérogénéité importante et de niveaux de variance élevés (Figure VI-11).

Des différences significatives apparaissent dans les deux répétitions au prélèvement S4 entre L5 et L9 sur l'incidence de maladie *i* (80 à 100 % en L5 contre moins de 30 % en L9) et sur la surface totale nécrosée *tda* (80 à 170 mm² en L5, contre 10 à 60 mm² en L9) (test de Scheffe, $p < 0,05$). Avant 400 dj, peu de différences sont significatives. L'incidence de maladie *i* est la première des variables affectées (Rép2, prélèvement S3), ce qui indique que l'espacement des racines réduit l'accessibilité des cibles à l'agent pathogène. L'occurrence des infections secondaires est très hétérogène dans les modalités L7 (cinétiques de maladie parfois erratiques, avec décroissance de certaines variables entre S3 et S4 qui peut s'expliquer par le caractère destructif des prélèvements).

L'effet de la distance entre racines sources et cibles sur l'AUDPC est plus homogène pour la plupart des variables ; il s'est avéré statistiquement significatif dans la seconde répétition (Rép2), et particulièrement prononcé sur la densité de lésions *d* (344 pour L5, 269 pour L7 et 89 pour L9) et la surface totale nécrosée *tda* (5735 pour L5, 2463 pour L7 et 385 pour L9).

3.2. Estimation du gradient d'allo-infections dans un peuplement homogène

L'effet de la distance entre sources et cibles sur les infections secondaires a été mis en évidence dans des peuplements homogènes en microcosmes. Les attaques de cavity spot (*tda*) y ont été quantifiées en fonction de la position effective de chaque racine cible par rapport à la source la plus proche. Il ressort que le paramètre γ décrivant la pente du gradient d'allo-infection dans les modalités non traitées (NT) peut être raisonnablement estimé entre 1,5 et 2 (dans les conditions de notre essai considérées comme optimales) : il est respectivement égal à 1,33 en S1, 2,23 en S2 et 1,61 en S3 (données non présentées). La moyenne $\gamma = 1,72$ a donc été retenue pour réaliser les ajustements du modèle en puissance (2) à la fois dans les modalités non-traitées (NT) et traitées (T). Leur représentation graphique, ainsi que les valeurs estimées de α_T et α_{NT} , sont proposées pour exemple à la Figure VI-12. Ces valeurs augmentent au cours du temps et semblent atteindre un maximum en S2 et S3 (respectivement $\alpha_T = 16,6 \times 10^{-3}$ et $15,7 \times 10^{-3}$, et $\alpha_{NT} = 9,8 \times 10^{-2}$ et $8,5 \times 10^{-2}$).

Figure VI-12 Exemples de gradients de dispersion du cavity spot par des infections secondaires, estimés à partir du modèle en puissance $tda = \alpha.L^{-\gamma}$.

Le modèle en puissance a été ajusté avec $\gamma = 1,72$; tda est la surface totale nécrosée et L la distance entre la racine cible et la racine source la plus proche. La courbe T (●) reflète l'intensité des infections secondaires consécutives à un traitement fongicide (voir p. 221) ; la cinétique NT (◇) est obtenue dans des conditions analogues mais sans traitement. Trois prélèvements (S1, S2 et S3) ont été pratiqués, respectivement 21, 33 et 46 jours après le positionnement de la source infectieuse.

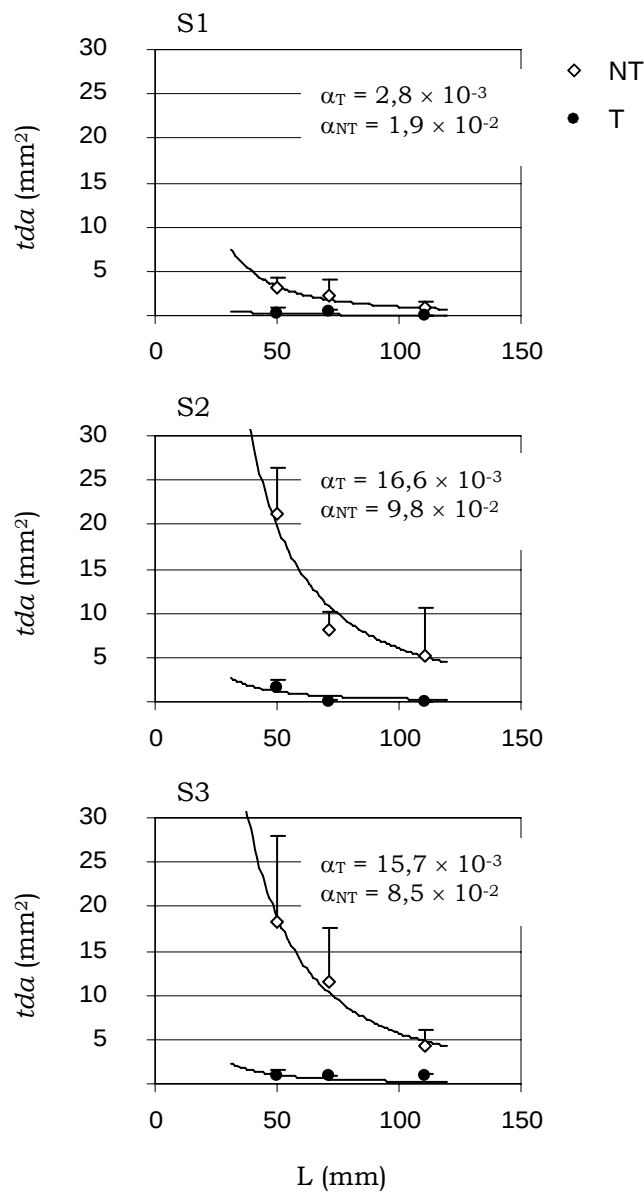
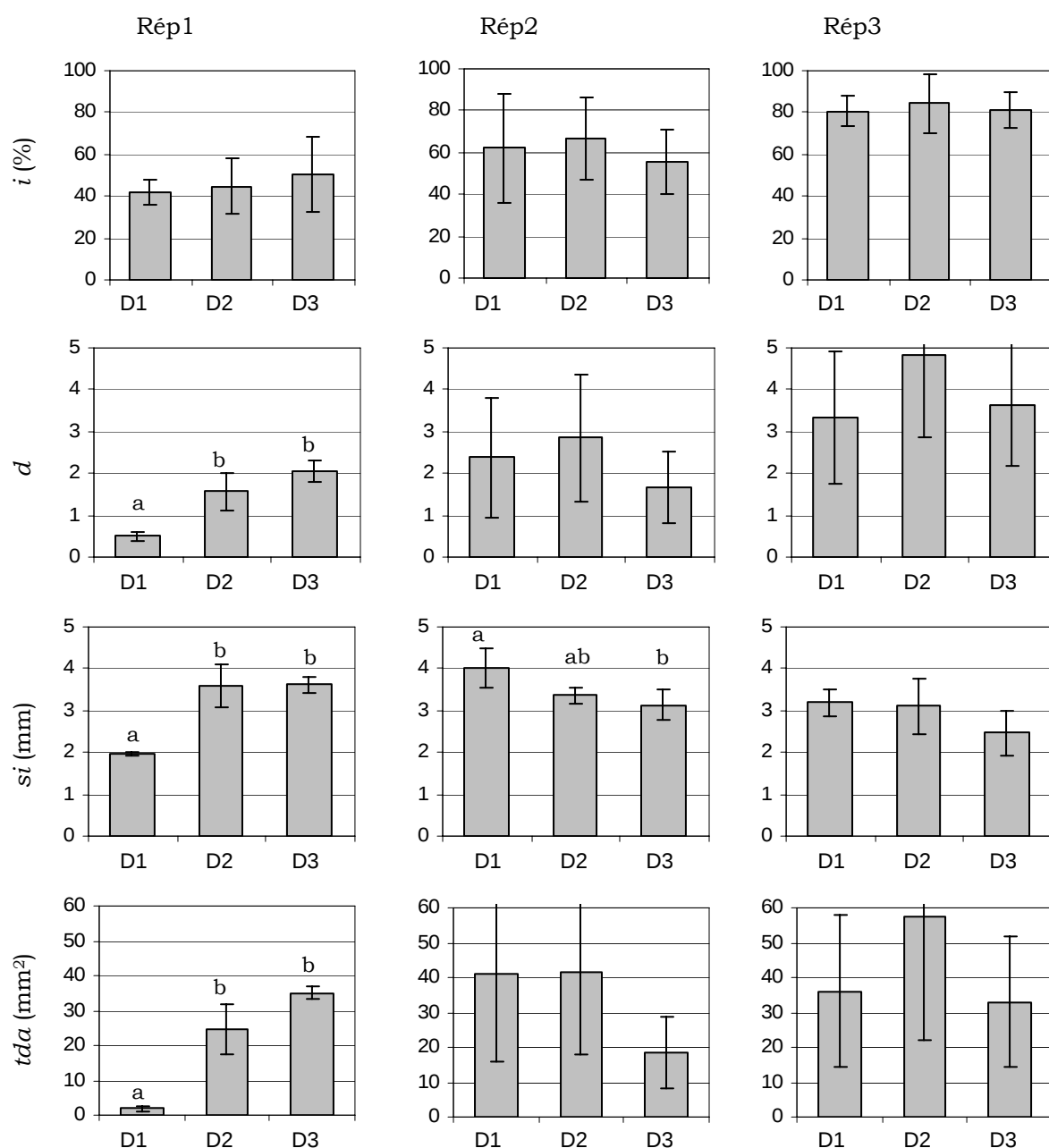


Figure VI-13 Effet de la densité moyenne de semis sur la dynamique des infections secondaires de cavity spot estimée par quatre variables de maladie.

i est l'incidence de maladie, tda la surface totale nécrosée, d la densité de lésions et si l'intensité des symptômes. D1 = 8 racines cibles, D2 = 16 racines cibles et D3 = 31 racines cibles (voir Figure VI-10). Trois répétitions (Rép1, Rép2 et Rép3) ont été réalisées. Les lettres précisent si les moyennes calculées sont significativement différentes en fonction du traitement (procédure ANOVA, test de Scheffe, $p < 0,05$).



3.3. Effet de la densité de semis sur l'occurrence des infections secondaires

La densité de semis a eu un impact sur l'intensité des infections secondaires seulement dans la première répétition (Rép1) (Figure VI-13) : la densité de peuplement la plus élevée (D3) a conduit à des densités de lésions d (2,04 pour D3, contre 1,56 pour D2 et 0,50 pour D1) et surfaces nécrosées tda (34,95 mm² pour D3, contre 24,58 mm² pour D2 et 1,87 mm² pour D1) significativement plus importantes. En revanche, dans les deux autres répétitions (Rép2 et Rép3), aucune différence significative n'a été mise en évidence.

En Rép1, une relation linéaire négative a été établie entre l'intensité des attaques de cavity spot et la distance effective entre racines sources et racines cibles ($R^2 = 0,799$ pour d et $R^2 = 0,811$ pour tda), alors qu'aucune différence significative n'a été mise en évidence en Rép2 et Rép3 (Annexe VI-5). De manière similaire, la forme générale de la relation pathométrique liant i à tda a varié entre D1, D2 et D3 en Rép1 (Annexe VI-6) et semble avoir été affectée par la densité de semis.

En plus de la démonstration de l'effet de la distance entre racines sur l'extensification d'une épidémie de cavity spot, ces résultats apportent des informations fondamentales pour estimer la capacité de propagation de *P.violae* dans nos conditions expérimentales :

- le « temps de latence¹⁴ » des allo-infections est compris entre 1 et 2 semaines ;
- la distance « limite » entre deux racines pour qu'il y ait allo-infection après 5 semaines est supérieure à 90 mm ;
- la densité de semis a des effets hétérogènes, difficiles à quantifier, qui semblent fortement dépendre des conditions pédoclimatiques.

4. Discussion et perspectives

4.1. Influence des conditions climatiques

Une analyse succincte des données météorologiques présentées en Annexe VI-7 (températures journalières moyenne et maximale) fait état de différences importantes entre d'une part Rép1, et d'autre part Rép2 et Rép3 : pendant les 10 premiers jours suivant la transplantation des racines sources, la température journalière maximale a été proche de 25°C en Rép1 (entre 21,5°C et 27,5°C), alors qu'elle est restée stable aux environs de 20°C, sans jamais dépasser 22°C, en Rép2 et Rép3.

Nous avons estimé l'optimum thermique de *P. violae*¹⁵ à 19°C, alors que d'autres auteurs l'évaluent à 15°C (Montfort & Rouxel, 1988) ou compris entre 20°C et 25°C (Schrandt *et al.*, 1994 ; Van der Plaats-Niterink, 1981). Les conditions de

¹⁴ Employé ici dans un sens littéral : temps nécessaire à la réussite des infections.

¹⁵ Voir Chapitre IV p. 171.

développement de *P. violae* peuvent donc être considérées comme « limitantes » en Rép1, et comme « optimales » en Rép2 et Rép3. Ces différences peuvent expliquer l'impact prononcé de la densité de semis en Rép1 (à la fois sur l'intensité des allo-infections et sur la relation pathométrique liant i à tda) et l'absence d'effet en Rép2 et Rép3 ; la distance entre racines devient un facteur déterminant pour peu que les conditions de croissance du mycélium soient limitantes (température élevée, faible taux d'humidité du sol). En revanche, lorsque ces conditions sont optimales, le mycélium atteint sans difficulté les racines adjacentes quelque soit la densité de peuplement (dans la limite de distances entre plantes égales à une dizaine de centimètres).

4.2. Comparaison avec d'autres pathosystèmes

Exploiter les effets de la densité de peuplement dans une perspective d'application agricole a parfois été négligé en Epidémiologie Végétale, car cette variable est généralement considérée comme « fixée » pour des raisons agronomiques, et donc non négociable dans un objectif de contrôle des maladies. Plusieurs études ont pourtant établi l'influence de la densité d'une population d'hôtes sur l'intensité d'attaques, avec ou sans distinction des infections primaires et secondaires (Burdon & Chilvers, 1982).

Burdon & Chilvers (1975a) ont montré que la variation de densité d'un peuplement de cresson (*Lepidium sativum*) a eu spécifiquement un effet sur des infections primaires de *Pythium irregulare*. L'occurrence des infections secondaires (respectivement auto- et allo-infections) augmente également avec la densité de plantes hôtes : Smith *et al.* (1988) ont établi que l'intensité d'attaques de carottes par *Sclerotium rolfsii* était positivement corrélée à la densité de peuplement, et la croissance mycélienne entre racines facilitée par une courte distance entre plantes hôtes. Des résultats similaires ont été démontrés sur des fontes de semis de cresson provoquées par *Pythium irregulare* (Burdon & Chilvers, 1975b), sur des attaques de *Sclerotium cepivorum* sur oignon (Scott, 1956 ; Crowe & Hall, 1980 ; Littlely & Rahe, 1987), de *Sclerotinia* sur tournesol (Huang & Hoes, 1980), de *Phymatotrichum omnivorum* sur coton (Koch *et al.*, 1987) et de *Helminthosporium solani* et *Rhizoctonia solani* sur pomme de terre (Firman & Allen, 1995). A l'inverse, une diminution de la densité de plants d'arachide a conduit à une augmentation de l'incidence d'attaques de *Sclerotium rolfsii* et n'a donc pu être considérée comme un moyen de contrôle cultural efficace (Cilliers *et al.*, 2003).

Pour compléter ces résultats analytiques, les premiers modèles proposés furent relativement simples. Certaines auteurs ont affirmé, de façon approximative, que la relation entre l'incidence d'attaques et la densité de semis était linéaire (Gibson, 1956), ou encore que l'incidence était inversement proportionnelle à l'espacement des racines (Scott, 1956). Koch *et al.* (1987) ont réfuté, par l'ajustement d'un modèle logistique, la linéarité de la relation entre la densité de peuplement de coton et le taux d'accroissement des infections par *Phymatotrichum omnivorum*. Une

Encadré VI-1 Exemple de modèle spatialisé illustrant les effets de la densité d'hôtes sur des infections primaires et secondaires : *Armillaria astoyae* - *Pinus pinaster* (d'après Lung-Escarmant & Guyon, 2004)

Un modèle spatialisé décrivant la dynamique spatio-temporelle d'attaques de *Armillaria astoyae* dans un peuplement forestier de pins maritimes (*Pinus pinaster*) a été proposé par Lung-Escarmant & Guyon (2004) ; il illustre l'effet de la densité d'hôtes sur des infections primaires et secondaires.

La contribution à l'épidémie d'infections primaires (à partir de souches de pins initialement infectées par *Armillaria astoyae*) et secondaires (à partir de pins tués l'année précédente par *Armillaria astoyae*) est évaluée par la mise en relation de la répartition spatiale des souches et des pins, de leur mortalité, et du statut de la source d'inoculum la plus proche (primaire ou secondaire), comme illustré par l'équation suivante :

$$\log\left(\frac{P}{1-P}\right) = \beta_0 + \beta_1 \cdot L_1 + \beta_2 \cdot L_2 + \beta_3 \cdot L_3$$

où P est la probabilité qu'un pin soit tué au cours de l'année écoulée, L_1 la distance le séparant de la souche infectée la plus proche (principale source d'infections primaires), L_2 la distance le séparant de la souche saine la plus proche, L_3 la distance le séparant du pin tué l'année précédente par *Armillaria astoyae* (principale source d'infections secondaires) le plus proche.

A l'échelle d'une quinzaine d'années, deux phases épidémiologiques sont distinguées. Au cours de la première phase, la mortalité concerne essentiellement des arbres proches de sources d'infections primaires, et dépend donc de la distance les séparant. La seconde phase est marquée par un accroissement de la mortalité due à des infections secondaires, liées à une augmentation du nombre de sources d'infections secondaires (arbres morts) : les distances séparant un arbre sain d'une source d'infections primaires et d'une source d'infections secondaires deviennent comparables, et la répartition spatiale des nouvelles infections devient aléatoire. Dans le cas d'une densité initiale de souches infectées faible, la première phase est plus longue ; il existe alors une relation claire entre la probabilité de mortalité d'un arbre et la distance le séparant de la source d'infections primaires la plus proche.

relation positive a été établie, dans le cas d'épidémies de Piétin échaudage dues à *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici*, entre la densité de plantes et le paramètre c_1 (infections primaires) du modèle¹⁶ proposé par Brassett & Gilligan (1988), alors que les effets constatés sur c_2 (infections secondaires) ont été plus hétérogènes (Lucas, 2006) ; à des stades précoces, lorsque la quantité de racines et radicelles de blé est encore limitée, une densité de semis élevée augmente en effet la probabilité de rencontre entre l'agent pathogène et la plante hôte, et donc la probabilité d'infection. Un modèle spatialisé décrivant la dynamique spatio-temporelle des attaques de *Armillaria ostoyae* dans un peuplement forestier de pins maritimes (*Pinus pinaster*) a été proposé par Lung-Escarmant & Guyon (2004) ; il illustre de manière pertinente l'effet de la densité d'hôtes sur des infections primaires et secondaires (Encadré VI-1).

4.3. Architecture d'un peuplement hôte et noyau de dispersion de l'agent pathogène : perspectives d'application

En plus de la densité moyenne de peuplement, nous avons pris en compte la distance entre carottes et déterminé une distance moyenne entre racines. Clark & Ewans (1954) ont établi qu'il existe une relation théorique entre la densité de peuplement (D) et cette distance moyenne entre racines (L) lorsque ces dernières sont réparties aléatoirement sur une surface : $L = 0,5.D^{-0,5}$. Deux peuplements ayant la même densité (D) peuvent néanmoins avoir des distances moyennes entre racines (L) très différentes, la relation entre les deux dépendant de la largeur du rang (pour les cultures implantées comme tel, à l'exemple de la carotte) et surtout de la structure géométrique du semis (caractérisant le système d'architecture hôte). De telles différences ont été indirectement suggérées par Crowe & Hall (1980) et Firman & Allen (1995) qui estiment que les contaminations racines à racines sont fondamentalement influencées par la distance qui séparent deux plantes hôtes, c'est-à-dire à la fois par la densité de racines et par leur disposition dans l'espace. La plupart des études ne font pourtant pas la distinction entre ces deux attributs, alors qu'ils n'ont pas forcément la même influence sur la dynamique des allo-infections.

Il est possible de concevoir des structures de peuplement, qui, à densité équivalente, permettent de maximiser la distance moyenne entre racines, et donc diminuer l'occurrence théorique des allo-infections. Les Annexes VI-8 et VI-9 présentent, pour un ensemble de 6 structures de semis (A à F) ayant la même densité linéaire, l'évolution des distances moyennes entre racines en fonction du nombre de racines (1 à 8) prises en compte dans la détermination de ces mêmes distances. L'idée générale est d'estimer la distance seuil qui limiterait la progression d'une maladie, en partant du principe qu'à partir d'une certaine distance entre les plantes hôtes, les contaminations racines à racines pourraient être réduites, et

¹⁶ Voir Chapitre I p. 72.

donc l'extensification de la maladie ralentie à l'échelle du peuplement. La théorie de la percolation, appliquée à la colonisation d'un habitat nutritif fragmenté par le champignon saprotrophe *Rhizoctonia solani*, s'appuie sur ce concept de distance seuil : en dessous d'une certaine densité de sites colonisables, l'invasion par le mycélium n'est plus possible (Otten *et al.*, 2004). Une approche morphomathématique basée sur des considérations analogues a permis de caractériser la structure d'une distribution de points dans un plan et a été appliquée à l'étude de peuplements forestiers (Bachacou *et al.*, 1979 ; Rimour, 2000).

La question de l'optimum de déploiement d'un système d'architecture hôte ne peut être résolue uniquement par l'analyse empirique de quelques structures de semis, comme nous l'avons proposé ici, bien modestement. La forme du noyau de dispersion de l'agent pathogène doit être modélisée ; elle dépend des propriétés biologiques de l'agent et de ses formes de dissémination (mycélium et zoospores), mais aussi des conditions environnementales (humidité et température du sol) qui peuvent affecter le gradient.

Références bibliographiques

- Bachacou J, Bouchon J et Tomimura S (1979) Etude structurales en forêt par les techniques de morphologie mathématique. *Oecologia Plantarum* 14(3): 205-217.
- Benard D et Punja ZK (1995) Role of *Pythium* species in cavity spot development on carrots in British Columbia. *Canadian Journal of Plant Pathology* 17: 31-45.
- Brassett PR et Gilligan CA (1988) A model for primary and secondary infection in botanical epidemics. *Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz* 95(4): 352-360.
- Burdon JJ et Chilvers GA (1975a) A comparison between host density and inoculum density effects on the frequency of primary infection foci in *Pythium*-induced damping-off disease. *Australian Journal of Botany* 23(6): 899-904.
- Burdon JJ et Chilvers GA (1975b) Epidemiology of damping-off disease (*Pythium irregulare*) in relation to density of *Lepidum sativum* seedlings. *Annals of Applied Biology* 81: 135-143.
- Burdon JJ et Chilvers GA (1982) Host density as a factor in plant disease ecology. *Annual Review of Phytopathology* 20: 143-166.
- Cilliers AJ, Pretorius ZA et van Wyk PS (2003) Integrated control of *Sclerotium rolfsii* on groundnut in South Africa. *Journal of Phytopathology* 151(5): 249-258.
- Clark PJ et Ewans FC (1954) Distance to nearest neighbour as a measure of spatial relationships in populations. *Ecology* 35: 445-453.
- Cohen Y et Coffey MD (1986) Systemic fungicides and the control of oomycetes. *Annual Review of Phytopathology* 24: 311-338.
- Cook RJ et Papendick RI (1972) Influence of water potential of soils and plants on root disease. *Annual Review of Phytopathology* 10: 349-374.
- Crowe FJ et Hall DH (1980) Vertical distribution of sclerotia of *Sclerotium cepivorum* and host root systems relative to white rot of onion and garlic. *Phytopathology* 70(1): 70-73.
- Davet P (1996) Vie microbienne du sol et production végétale. INRA Edition. 383 pp.
- Davis RM, Nunez JJ et Guerard JP (1991) If registered, fungicide could reduce cavity spot of carrots. *California Agriculture* 45(2): 29-30.
- Firman DM et Allen EJ (1995) Effects of seed size, planting density and planting pattern on the severity of silver scurf (*Helminthosporium solani*) and black scurf (*Rhizoctonia solani*) diseases of potatoes. *Annals of Applied Biology* 127(1): 73-85.
- Gibson IAS (1956) Sowing density and damping-off in pine seedlings. *East African Agriculture Journal* 21: 183-188.
- Gladders P et MacPherson GM (1986) Control of cavity spot in carrots with fungicides. *Aspect of Applied Biology* 12: 223-233.
- Goh KM et Ali NS (1983) Effects of nitrogen fertilisers, calcium and water regime on the incidence of cavity spot in carrot. *Fertilizer Research* 4(3): 223-230.
- Griffin DM (1969) Soil water in the ecology of fungi. *Annual Review of Phytopathology* 7: 289-310.
- Guba EF, Young RE et UI T (1961) Cavity spot disease of carrots and parsnip roots. *Plant Disease Reporter* 45: 102-105.
- Hendrix FF et Campbell WA (1973) *Pythium* as plant pathogens. *Annual Review of Phytopathology* 11: 77-98.
- Hiltunen LH et White JG (2002) Cavity spot of carrot (*Daucus carota*). *Annals of Applied Biology* 141: 201-223.
- Huang HC et Hoes JA (1980) Importance of plant spacing and Sclerotial position to development of Sclerotinia wilt of sunflower. *Plant Disease* 64(1): 81-84.
- Jeger MJ et Viljanen-Rollinson SLH (2001) The use of the area under the disease-progress curve (AUDPC) to assess quantitative disease resistance in crop cultivars. *Theoretical and Applied Genetics* 102(1): 32-36.
- Koch DO, Jeger MJ, Gerik TJ et Kenerley CM (1987) Effects of plant density on progress of *Phymatotrichum* root rot in cotton. *Phytopathology* 77(12): 1657-1662.
- Liddell CM, Davis RM, Nunez JJ et Guerard JP (1989) Association of *Pythium* spp. with carrot root diseases in the San Joaquin Valley of California. *Plant Disease* 73(3): 246-248.

- Littley ER et Rahe HJ (1987) Effect of host plant density on white rot of onion caused by *Sclerotium cepivorum*. Canadian Journal of Plant Pathology 9(2): 146-151.
- Lucas P (2006) Diseases caused by soil-borne pathogens. In: The epidemiology of plant diseases, Second Edition, 555 p. B. M. Cooke, D. G. Jones and B. Kaye, University College Dublin, Ireland, p. 376-386.
- Lung-Escarmant B et Guyon D (2004) Temporal and spatial dynamics of primary and secondary infection by *Armillaria ostoyae* in a *Pinus pinaster* plantation. Phytopathology 94(2): 125-131.
- Lyshol AJ, Semb L et Taksdal G (1984) Reduction of cavity spot and root dieback in carrots by fungicide applications. Plant Pathology 33: 193-198.
- Maanen A et Xu XM (2003) Modelling plant disease epidemics. European Journal of Plant Pathology 109(7): 669-682.
- Madden LV et Campbell CL (1990) Spatial aspects of plant disease epidemics. I: dispersal gradients and long-range transport. In: Introduction to plant disease epidemiology. L. V. Madden and C. L. Campbell, John Wiley & Sons, New York, p. 253-287.
- McDonald MR (1994) Cavity spot of carrot (*Pythium* spp.): etiology, epidemiology and control. Thèse de Doctorat. University of Guelph, 399 pp.
- Minogue KP (1989) Diffusion and spatial probability models for disease spread. In: Spatial components of plant disease epidemics. M. J. Jeger, Prentice-Hall, Englewood Cliffs, New Jersey, p. 127-143.
- Montfort F et Rouxel F (1985) La maladie de la tache de la carotte primeur due au *Pythium* sp. Premières Journées d'Etudes sur les Maladies des Plantes, ANPP, 26-27 février 1985.
- Montfort F et Rouxel F (1988) La maladie de la tache de la carotte due à *Pythium violae*: données symptomatologiques et étiologiques. Agronomie 8(8): 701-706.
- Nutter FW, Teng PS et Shokes FM (1991) Disease assessment terms and concepts. Plant Disease 75(11): 1187-1188.
- Otten W, Bailey JD et Gilligan CA (2004) Empirical evidence of spatial thresholds to control invasion of fungal parasites and saprotrophs. New Phytologist 163: 125-132.
- Perry DA et Harrison JG (1977) Pectolytic anaerobic bacteria cause symptoms of cavity spot in carrots. Nature 269(5628): 509-510.
- Perry DA et Harrison JG (1979) Cavity spot of carrots. II. The effect of soil conditions and the role of pectolytic anaerobic bacteria. Annals of Applied Biology 93(1): 109-115.
- Rimour S (2000) Utilisation des morphomathématiques pour caractériser la structure d'une distribution de points dans un plan. Rapport de stage. Université Blaise Pascal / Cemagref, Clermont-Ferrand. 73 pp.
- SAS (1989) Statistical Analysis System, SAS Institute Inc.
- Schrandt JK, Davis RM et Nunez JJ (1994) Host range and influence of nutrition, temperature and pH on growth of *Pythium violae* from carrot. Plant Disease 78(4): 335-338.
- Scott MR (1956) Studies of the biology of *Sclerotium cepivorum* Berk. II. The spread of white rot from plant to plant. Annals of Applied Biology 44(4): 584-589.
- Shaner G et Finney RE (1977) The effect of nitrogen fertilization on the expression of slow-mildewing resistance in Knox wheat. Phytopathology 67: 1051-1056.
- Smith VL, Campbell CL, Jenkins SF et Benson DM (1988) Effects of host density and number of disease foci on epidemics of southern blight of processing carrot. Phytopathology 78(5): 595-600.
- Soroker E, Bashan Y et Okon Y (1984) Reproducible induction of cavity spot in carrots and physiological and microbial changes occurring during cavity formation. Soil Biology and Biochemistry 16: 541-548.
- Stanghellini ME (1974) Spore germination, growth and survival of *Pythium* in soil. Proceedings of the American Phytopathology Society 1: 211-214.
- Van der Plaats-Niterink AJ (1981) Monograph of the genus *Pythium*. Studies in Mycology. Baarn. 21: 224.
- Vivoda E, Davis RM, Nunez JJ et Guerard JP (1991) Factors affecting the development of cavity spot of carrot. Plant Disease 75(5): 519-522.
- White JG (1988) Studies on the biology and control of cavity spot on carrots. Annals of Applied Biology 113(2): 259-268.



CHAPITRE VII

Perspectives d'application et de modélisation

VII.A. Cadre théorique de la notion de complémentation
caractérisant des stratégies de protection des cultures

VIII.B. Perspectives d'application à la protection intégrée
de carottes

VII.C. Modélisation d'une épidémie de cavity spot



PROBLEMATIQUE

Ce Chapitre prospectif est le cadre d'une réflexion théorique sur la notion de « complémentation » utilisable dans l'évaluation de stratégies de protection intégrée. Ce terme recouvre plusieurs fonctionnalités, pour lesquelles nous suggérons quelques définitions, applicables au cas de la protection de cultures de carottes. Nous proposons ensuite d'examiner quelques pistes de recherches pour maîtriser une épidémie de cavity spot, à la lumière des connaissances disponibles dans la littérature et des résultats obtenus dans les chapitres précédents. L'intégration verticale des moyens de lutte, c'est-à-dire l'association de méthodes ayant pour cible le cavity spot, est analysée explicitement. Les hypothèses formulées au début de ce mémoire, ensuite validées, permettent de concevoir un modèle épidémiologique basé sur l'occurrence d'infections primaires et d'infections secondaires. Ce modèle à compartiments, déterministe, fait la synthèse des connaissances acquises ; c'est un outil méthodologique qui vise à mieux comprendre le fonctionnement d'une épidémie de cavity spot à l'échelle de la racine. La finalité n'est ni de le paramétrer, ni d'en faire une analyse de sensibilité, mais d'initier une réflexion autour de sa structure en ayant pour perspectives l'intégration des effets des principaux facteurs influençant le développement de la maladie.

CHAPITRE VII – PERSPECTIVES D'APPLICATION ET DE MODELISATION

VII-A - CADRE THEORIQUE DE LA NOTION DE COMPLEMENTATION CARACTERISANT DES STRATEGIES DE PROTECTION DES CULTURES

Résumé¹

Est posée dans ce texte la question de ce que revêt la notion d'« intégration de méthodes de lutte » en protection des cultures, et le vocabulaire avec lequel il est possible de décrire et d'estimer ce caractère intégratif. Le terme « complémentarité », auquel nous préférons le terme générique « complémententation », est largement employé dans la littérature et recouvre plusieurs fonctionnalités. Il peut tour à tour signifier « complémentarité » au sens strict, « additivité », « compatibilité » ou « supplétivité », termes pour chacun desquels nous proposons une définition fonctionnelle ainsi que quelques exemples pratiques, essentiellement empruntés au domaine de l'épidémiologie végétale. Des méthodes de lutte se « complémentent » lorsque leur application combinée est basée sur - ou aboutit à - un « complément » bénéfique, c'est-à-dire une conséquence positive en termes de moyens ou de résultats. Les éléments qui poussent à distinguer et définir différents types de « complémententation » sont liés aux conséquences, à la nature, voire à l'origine de la combinaison de méthodes.

Summary

In this text, the question is raised about the meaning of 'integrated methods of control' in crop protection, and the wording one may use to describe and to evaluate the rationale of this integration. The term 'complementarity', instead of which we propose 'complemententation' as a more general term, is more often used in the literature and covers many facets. That term may here and there be used to signify 'complement', in the narrow sense of the word, or 'additivity', 'compatibility', or 'suppletivity'. For each of these terms we are proposing a functional definition including a few examples of application, for the most part taken from the field of plant disease epidemiology. Methods of control 'complement' each other when their combined application is based on, or results in, 'complementary' benefits, i.e., having a positive output in terms of means or results. The reasoning for distinguishing and defining different types of 'complemententation' are related to consequences, nature, and even to the basis for combining the methods.

Introduction

La protection intégrée des cultures (*integrated pest management*) est un système de lutte contre les organismes nuisibles qui utilise un ensemble de méthodes satisfaisant les exigences à la fois économiques, écologiques et toxicologiques, en

¹ Cette partie a été publiée dans la revue Phytoprotection : Suffert F (2005) Cadre théorique de la notion de complémententation caractérisant des stratégies de protection des cultures. Phytoprotection 86: 89-92.

réservant la priorité à la mise en œuvre délibérée des éléments naturels de limitation et en respectant les seuils de tolérance (OILB/SROP, 1973 ; Bajwa & Kogan, 1996 ; Ferron, 1999). Son principe original tient pour Ferron (1999) en une « association harmonieuse » des méthodes biologiques de lutte aux méthodes chimiques traditionnelles et à une prise de décision de traitement en fonction du niveau des populations. Mais de nombreuses applications de la protection intégrée ont parfois eu des effets contraires à ceux attendus : privilégiant l'évaluation du risque, l'aide à la décision et la juxtaposition souvent confuse de moyens de lutte, au détriment d'une réelle « intégration » de moyens alternatifs, elles n'ont favorisé que l'utilisation raisonnée des pesticides (Way & Emden, 2000). Depuis que le concept de protection intégrée a été défini, utilisé sous diverses acceptions, et parfois galvaudé, la notion d'intégration de différents moyens de lutte a été employée sans que n'en soit réellement donnée de définition fonctionnelle (Jacobsen, 1997 ; Ferron, 1999 ; Ehler & Bottrell, 2000 ; Deguine & Ferron, 2004). McRoberts *et al.*, (2003) ont récemment proposé une réflexion et des outils de modélisation consacrés à la prise en compte des pathosystèmes multiples et cortèges parasitaires, en particulier les relations de coexistence et de compétition entre maladies, pouvant également faire l'objet d'intégration.

Qu'est-ce donc qu'« intégrer des méthodes de protection », et comment estimer ce caractère intégratif ? Sous un même terme, se cache en réalité une grande diversité de sens. Cette diversité ne résulte pas d'une pluralité purement sémantique, mais d'une réelle diversité dans la conception, la nature et les objectifs assignés au concept. La diversité d'intégration réside en grande partie dans la diversité de « complémentarité » des méthodes de lutte, ou « complémentation » au sens strict, le terme générique recouvrant plusieurs fonctionnalités que nous choisissons d'utiliser par la suite dans ce texte.

1. Complémentarité

Des méthodes de lutte sont dites « complémentaires » lorsque leurs mécanismes d'action respectifs se complètent de façon avantageuse ou ont un effet sur des processus écologiques, biologiques ou épidémiologiques élémentaires différents. Des méthodes de lutte se « complètent » lorsque, appliquées à un même stade épidémiologique, en agissant sur des processus épidémiologiques différents ou via des mécanismes différents, elles limitent le développement d'une maladie ou d'un ravageur. Un processus peut être défini comme un ensemble de phénomènes, conçu comme actif et organisé dans le temps; un mécanisme comme une combinaison, un agencement de pièces, d'organes montés en vue d'un fonctionnement d'ensemble (Le Petit Robert, 2001). En dynamique des populations, des processus identiques peuvent ainsi résulter de mécanismes différents, à l'exemple des processus infectieux de type secondaires qui sont la conséquence de mécanismes généraux d'allo-infections (contaminations entre plantes) et d'auto-

infections (intensification des infections sur une même plante) (Zadoks & Schein, 1979).

Au début d'une épidémie d'origine tellurique, une désinfection de sol réduit par exemple la densité de propagules infectieuses en diminuant notamment leur capacité de germination (mécanisme), ce qui limite la mobilisation de l'inoculum primaire (processus). Conjointement, une bonne gestion de l'irrigation peut empêcher la croissance saprophytique du mycélium dans le sol (mécanisme), généralement favorisée par une humidité excessive du sol, ce qui limite alors les possibilités d'infections secondaires (processus) (Davet, 1996; Campbell & Benson, 1994).

2. Additivité

Des méthodes de lutte sont dites « additives » lorsque leurs effets respectifs se complémentent quantitativement de façon avantageuse. Les conséquences d'une combinaison de moyens de lutte, en termes de limitation d'une maladie ou de la population d'un ravageur, doivent être significativement supérieures à celles constatées après la mise en œuvre de chacune d'entre elles de façon individuelle. Un bon indicateur du degré d'« additivité » est par exemple la différence entre, d'une part l'intensité de maladie (ou de dégâts) obtenu après combinaison, et d'autre part la moyenne des effets obtenus après l'application séparée de chaque moyen de lutte.

Le caractère « additif » concerne les conséquences des méthodes de protections employées : il qualifie des effets qui se cumulent plus ou moins bien, voire conduisent à une synergie (cas particulier important, mais non développé ici). Précisons que dans le langage emprunté au domaine de la comptabilité, l'« additivité » est une propriété qui s'attache à un ensemble d'indices interdépendants, liés entre eux par définition ou par des contraintes comptables, selon laquelle un agrégat se définit comme la somme de ses composants; l'« additivité » exige donc que cette identité persiste quand les valeurs de l'agrégat et de ses composants sont extrapolées dans le temps au moyen d'un ensemble d'indices de volumes. Cette définition, bien que spécifique car empruntée à un autre champ d'étude que celui de l'épidémiologie, a l'avantage d'être simple et complète.

L'« additivité » peut qualifier des moyens de lutte qui se complémentent lorsque appliqués à un même stade épidémiologique : leurs effets peuvent être cumulatifs, même lorsque les différents moyens agissent sur des processus épidémiologiques identiques, c'est-à-dire ne sont pas « complémentaires » au sens strict. Par exemple, à un stade assez avancé d'une épidémie foliaire, une limitation de l'irrigation par aspersion au profit d'un arrosage entre les rangs et l'emploi d'un traitement fongicide adapté, mis en œuvre de façon combinée, peuvent réduire les contaminations entre plantes et donc limiter l'efficacité des infections secondaires de façon nettement plus marquée que si l'une ou l'autre des actions était pratiquée seule.

3. Compatibilité

Des méthodes de lutte sont dites « compatibles » lorsque leurs propriétés respectives se complètent qualitativement : de part leur nature intrinsèque, ou du point de vue de l'utilisateur, elles peuvent être mises en œuvre de façon combinée, à des échelles de temps, d'espace et dans des conditions socio-économiques équivalentes. La « compatibilité » n'est donc appréciable que lorsqu'un système a été défini avec précision. Des moyens peuvent être « compatibles » sans forcément que leur utilisation combinée apporte un bénéfice significatif en termes d'efficacité sur l'intensité d'une maladie ou la dynamique d'un ravageur.

Dans le domaine de l'informatique, pour des ordinateurs, la compatibilité consiste en la possibilité d'utiliser les mêmes logiciels et les mêmes périphériques, ou d'être connectés. Il s'agit en pratique de la possibilité d'utiliser les mêmes outils dans un contexte donné. Deux outils peuvent s'avérer utiles et utilisables, mais non conjointement. Dans un contexte agricole, l'utilisation d'une rampe de pulvérisateur couplée à un tracteur peut par exemple être incompatible avec le fait que le contexte de production soit non mécanisé, dans un pays en voie de développement par exemple, où le coût d'un traitement serait prohibitif. L'incompatibilité caractérise alors des objectifs socio-économiques et des techniques de protection des cultures différents. Un système, au sens de « situation de production » (de Wit & van Keulen, 1987), n'est pas forcément propice à l'application de toutes les méthodes.

L'intégration de moyens de lutte a longtemps été synonyme de « compatibilité » : la lutte intégrée, bien souvent limitée à une approche « raisonnée », consistait à trouver la meilleure combinaison de moyens chimiques et biologiques compatibles contre un ravageur (Ehler & Bottrell, 2000). L'objectif était d'employer des insecticides de façon à provoquer le moins de dégâts possibles aux agents de lutte biologique. L'utilisation de pesticides dans une serre est pourtant souvent incompatible avec l'utilisation d'auxiliaires : un insecticide peut éliminer les entomophages d'un ravageur tout comme un fongicide peut détruire les antagonistes microbiens des agents pathogènes. L'incompatibilité caractérise finalement des stratégies de protection des cultures considérées dans leur ensemble.

La compatibilité de deux méthodes de lutte signifie qu'elles peuvent être utilisées en même temps, en un même lieu (y compris pour des raisons réglementaires); si elles ne sont pas incompatibles, cela signifie que leurs effets ne vont pas s'annuler à cause de leur nature. Lutte chimique et lutte biologique sont par exemple très souvent incompatibles pour cette raison.

4. Supplétivité

Des méthodes de lutte sont dites « supplétives » lorsque les échelles temporelles ou spatiales auxquelles elles agissent se complètent quantitativement de façon

avantageuse. Suppléer signifie remédier à une insuffisance ou compenser un manque. Le terme supplétif, emprunté au registre militaire et juridique, contient la notion « temporaire » de complémentation : des forces militaires supplétives sont par exemple recrutées temporairement pour renforcer des forces régulières (Le Petit Robert, 2001). Par extension sémantique, nous considérerons qu'une compensation de méthode par une autre peut à la fois être basée sur des considérations temporelle et spatiale. Les conséquences d'une combinaison de méthodes de lutte (en termes de limitation de la maladie) sont de ce fait particulièrement prononcées grâce à des échelles d'intervention différentes : le facteur « temps » ou « espace » est pris en compte dans la mise en œuvre combinée des pratiques.

Pour schématiser, en ce qui concerne le facteur « temps », sont disponibles d'un côté des méthodes tactiques et de l'autre des méthodes stratégiques : la supplétivité correspond notamment à la capacité à compléter, de façon temporaire (caractère tactique), et via des échelles de temps plus longues (caractère stratégique). Des méthodes de lutte peuvent ainsi à la fois être efficaces sur les phases polycyclique (plusieurs cycles par an) et polyétique d'une épidémie (à récurrence pluri-annuelle) : par exemple, effet à court terme d'une limitation des infections secondaires, combiné à un effet à plus long terme d'une limitation de la densité d'inoculum initiale par l'implantation de plantes d'interculture efficaces pour réduire les infections primaires à l'échelle pluriannuelle. La « supplétivité » d'une pratique se manifeste notamment au cours de trois principales phases d'une épidémie d'origine tellurique (Campbell & Benson, 1994; Bailey & Gilligan, 1999) : mobilisation de l'inoculum du sol, intensification des attaques, extensification des attaques (contaminations racines à racines). De la même manière, d'un point de vue spatial, des moyens de lutte peuvent aussi être « supplétifs » car ayant un impact à l'échelle de l'exploitation, de la parcelle, du rang, ou de la plante.

Conclusion

Certains moyens de lutte mis en œuvre dans le cadre d'une stratégie de protection des cultures se « complémentent » donc lorsque leur application combinée est basée sur - ou aboutit à - un « complément » bénéfique, c'est-à-dire une conséquence positive en termes de moyens ou de résultats. Comme nous l'avons suggéré, le terme générique « complémentation » associé à ces pratiques recouvre plusieurs fonctionnalités. Nous avons vu qu'il pouvait tour à tour signifier « complémentarité » sensu stricto, « additivité », « compatibilité » ou « supplétivité », chacun de ces termes mettant l'accent sur des « objets de complémentation » de différentes nature (processus et mécanismes d'action, effets et conséquences, nature et propriétés des moyens, échelles temporelles et spatiales d'expression).

Comme l'ont constaté Ehler & Bottrell (2000), juxtaposer différentes méthodes de lutte n'est pas pratiquer la lutte intégrée et certaines incompatibilités peuvent avoir de graves conséquences sur la stabilité d'un agro-écosystème, au-delà d'une simple inefficacité ou gaspillage de moyens. Associer des méthodes de lutte en vue d'un

succès durable nécessite de comprendre les raisons pour lesquelles elles se complémentent bien d'un point de vue fonctionnel, ou au contraire mal. Les définitions que nous avons proposées permettraient de réaliser une typologie de différentes stratégies de protection, en tenant compte de la façon dont se complémentent les moyens employés, ou pour caractériser la façon de les agencer au mieux pour davantage d'efficacité et de durabilité.

Références

- Bailey DJ et Gilligan CA (1999) Dynamics of primary and secondary infection in take-all epidemics. *Phytopathology* 89(1): 84-91.
- Bajwa WL et Kogan M (1996) Compendium of IPM definitions (CID). What is IPM and how is it defined in the worldwide literature? IPPC Publication n°998 Integrated Plant Protection Center, Oregon State University, Corvallis.
<http://ippc.orst.edu/IPMdefinitions/index.pdf> [consulté le 29 août 2005].
- Campbell CL et Benson DM (1994) *Epidemiology and management of root diseases*. Springer-Verlag, 344 pp.
- Davet P (1996) *Vie microbienne du sol et production végétale*. 383 pp.
- De Wit de CT et Keulen van H (1987) Modelling production of field crops and its requirements. *Geoderma* 40: 253-265.
- Deguine PJP et Ferron P (2004) Protection des cultures et développement durable: bilan et perspectives. Pages 33-41 in *Colloque Développement durable: leçons et perspectives*, Ouagadougou 2004.
<http://www.francophonie-durable.org/documents/colloque-ouaga-a3-contribution-deguine.pdf> [consulté le 29 août 2005].
- Ehler LE et Bottrell DG (2000) The illusion of integrated pest management. *Issues in Science and Technology* online. <http://www.issues.org/issues/16.3/ehler.htm> [consulté le 29 août 2005]. 61-64.
- Ferron P (1999) Protection intégrée des cultures: évolution du concept et de son application. <http://www.inra.fr/dpenv/ferpid19.htm> [consulté le 29 août 2005]. *Cahiers Agricultures* 8: 389-396.
- Jacobsen BJ (1997) Role of plant pathology in integrated pest management. *Annual Review of Phytopathology* 35: 373-391.
- McRoberts N, Hughes G et Savary S (2003) Integrated approaches to understanding and control of diseases and pests in field crops. *Australasian Plant Pathology* 32(2): 167-180.
- OILB-SROP (1973) Statuts. *Bulletin SROP*. 25 pp.
- Robert (2001) *Le Petit Robert. Dictionnaire de la langue française*. 2841 pp.
- Way MJ et Emden HF (2000) Integrated pest management in practice - pathways towards successful application. *Crop Protection* 19: 81-103.
- Zadoks JC et Schein RD (1979) *Epidemiology and plant disease management*. New York, 427 pp.

VII-B – PERSPECTIVES D'APPLICATION A LA PROTECTION INTEGREE DE CAROTTES

Introduction

En nous basant sur les connaissances récapitulées au Chapitre I, puis sur les résultats acquis dans les chapitres suivants, nous proposons d'analyser à présent quelques pistes pour maîtriser une épidémie de cavity spot. Nous nous plaçons dans une perspective de protection intégrée¹, système de lutte caractérisé par un assemblage de méthodes à effets partiels, qui offre notamment la possibilité d'agir par des modes d'action variés sur des processus épidémiologiques différents, et donc d'accroître l'efficacité et la durabilité des stratégies. La notion de complémentarité et ses quatre acceptions définies précédemment y sont exploitées. Nous ne ferons qu'aborder cette problématique ambitieuse en nous focalisant sur l'intégration verticale des moyens de lutte, c'est-à-dire les combinaisons de pratiques ayant pour cible le cavity spot.

1. Réflexion autour d'effets de facteurs environnementaux et de pratiques culturales

1.1. Piloter l'humidité du sol ou adapter la durée de conservation au champ ?

Comme nous l'avons rappelé au Chapitre VI, l'irrigation est, avec le drainage et le buttage, un des seuls moyens pour les producteurs de carottes d'agir directement sur l'humidité du sol et de limiter les risques parasitaires. Il est pour autant illusoire d'imaginer piloter la teneur en eau d'une parcelle ; seule une estimation du potentiel hydrique, basée sur un modèle intégrant les principales propriétés physiques d'un sol (réserve utile, déficit hydrique estival, hydromorphie, capacité de ressuyage, etc.) et les niveaux de précipitations, est envisageable.

La conservation des carottes au champ pendant une longue période (jusqu'en février ou mars) favorise l'intensification des attaques de cavity spot. Lorsque les conditions pédoclimatiques sont favorables au développement des *Pythium* (sol humide et radoucissement des températures), il est préférable de ne pas trop attendre pour récolter. Durant la période hivernale, en plus des risques parasitaires, des écueils supplémentaires sont susceptibles de dégrader la qualité de la récolte :

- des températures basses qui entraînent le gel puis le pourrissement du collet ;
- une asphyxie par excès d'eau provoquant des taches à l'extrémité des racines ;

¹ Voir encadré I-1 p. 32.

- une reprise de végétation conduisant à une augmentation de la fibrosité, à des repousses foliaires et racinaires, qu'une conservation par retournement permet de limiter.

Une solution consisterait donc à définir des dates de récolte pour chaque parcelle en essayant de prévoir l'évolution de son niveau d'humidité et la nature des risques parasitaires qui lui sont associés.

1.2. Optimiser la densité de semis en dépassant les contraintes agronomiques ?

La synthèse de Burdon & Chilvers (1982) précise que, sur 36 maladies fongiques, des corrélations positives ont été établies entre la densité de plantes hôtes et l'incidence des attaques pour 24 des pathosystèmes étudiés (67 %). De façon analogue, nous avons montré au Chapitre VI que la densité de semis pouvait avoir un impact sur les allo-infections au cours d'une épidémie de cavity spot. Si ce facteur peut théoriquement être raisonné pour limiter la progression de la maladie, une objection fréquente est que la densité de plantes hôtes est fixée pour des raisons agronomiques. En pratique, deux questions simples se posent à un producteur : (i) quelle quantité de graines faut-il semer à l'hectare ? (ii) comment faut-il les disposer ? La première question amène à proposer une réponse en terme de « densité linéaire », et la seconde une réponse en terme d'« agencement ». Ces deux éléments doivent être raisonnés conjointement en fonction de l'objectif principal : maximiser le nombre de racines dans la gamme de calibres recherchés.

Une proposition réaliste consisterait à modifier la structure du peuplement pour tirer profit d'éventuels effets de seuil, estimés en caractérisant la forme du gradient de la maladie. Nous avons vu en effet qu'à densité linéaire égale, il était possible de faire varier la distance moyenne entre racines en modifiant la structure spatiale du peuplement (Annexe VI-9). Selon le type de production, la densité de semis tend actuellement à être réduite (1,2 à 1,8 millions de graines/ha en carottes de garde, contre 1,0 à 1,2 millions de graines/ha en carottes de primeur) ; la baisse de rendement est alors compensée par un gain en précocité et en homogénéité des racines. A l'inverse, les producteurs ont l'habitude d'augmenter la densité avec l'accroissement de la durée prévue du cycle de végétation. Diminuer la densité de peuplement pour limiter les infections secondaires paraît donc peu compatible avec une récolte tardive (carottes de garde). Il serait opportun de préconiser une diminution effective de la densité linéaire seulement en culture de primeur, et de modifier l'agencement du peuplement pour diminuer la distance moyenne entre racines en culture de saison ou de garde. La priorité est d'éviter une compétition excessive entre racines qui engendrerait des déformations racinaires ; le problème des hétérogénéités de position se pose également : elles peuvent être à l'origine d'une augmentation de la variabilité des calibres à la récolte en cas d'espacement trop important.

1.3. Optimiser la période d'application de fongicides anti-oomycètes ?

Le SANTHAL (mefenoxam), seul fongicide utilisé en France pour lutter contre le cavity spot, est préconisé à la levée. Sur les cultures à cycle court, une application au moment de la découverture assure une protection correcte. Sur les cultures à cycle long, il est recommandé d'intervenir en traitement de sol jusqu'au stade 2 à 4 feuilles. Aucun bénéfice clair résultant d'applications fractionnées en cours de culture n'a clairement été démontré.

Le SANTHAL est également efficace contre *Phytophthora* spp., raison pour laquelle ce produit est homologué contre la maladie de la bague due à *Phytophthora megasperma*, avec des applications préconisées à l'automne, dont l'objectif est de prévenir l'intensification des attaques à la fin de l'hiver. De tels positionnements semblent avoir une certaine efficacité sur les attaques tardives de cavity spot, en particulier sur les infections secondaires, si on se fie à l'avis de plusieurs producteurs de carottes qui appliquent le produit en fin de cycle.

D'après la société SYNGENTA AGRO, le mefenoxam est efficace précocement, donc vraisemblablement actif contre les infections primaires ; les traitements tardifs seraient en revanche peu efficaces. Nos résultats (expérimentations au champ et en microcosmes) indiquent pourtant que des applications tardives sont efficaces contre les infections secondaires et potentiellement capables de limiter significativement l'intensification et l'extensification du cavity spot. Maîtriser ces infections tardives, parfois à l'origine de niveaux de maladie très élevés, devrait être un objectif majeur. Les effets du mefenoxam mériteraient d'être précisés. La préconisation conjointe de traitements avec d'autres matières actives, les uns efficaces précocement sur les cultures à cycle court, les autres plus tardivement sur les cultures à cycle long, est une piste à explorer.

2. Perspective d'intégration verticale des moyens de protection et potentiel de complémentarité

Exploiter la « complémentarité » de méthodes de protection est une perspective intéressante. Sur les trois facteurs que nous venons d'étudier, aucun ne peut être raisonné seul, soit parce qu'il n'est finalement que d'une efficacité partielle (toujours pas de « solution innovante clé en main » à laquelle aspirent beaucoup de producteurs !), soit parce que son raisonnement hors de tout contexte agronomique serait un non-sens (producteurs constatant avec impuissance leur « absence de marge de manœuvre technique » !). La réflexion autour de ces éléments doit être globale ; nous proposons de l'initier en nous basant sur les résultats synthétisés dans le Tableau VII-1.

Tableau VII-1 Effets des facteurs environnementaux et culturels les plus significatifs sur le développement d'une épidémie de cavity spot.

Cette synthèse semi-quantitative a été réalisée à partir d'éléments bibliographiques du Chapitre I et de résultats acquis dans les Chapitres II à VI ; +++ effet positif très marqué (défavorable à la maladie), ++ effet positif marqué, + effet positif assez peu marqué, 0 effet très peu marqué ou nul, - effet négatif.

<i>Processus affecté</i> <i>Facteurs</i>	Infections primaires (inoculum du sol et résidus de culture)	Infections secondaires (auto- et allo-infections)	Extension des lésions
Faible humidité du sol	++	+++	+++
Application d'un fongicide anti-oomycètes	++	+++	0
Désinfection du sol			
- effet à court terme	+++	+	0
- effet à long terme	-	0	0
Structure du semis (densité réduite ou disposition optimisée)	0	+ / ++ ^a	0
Précédents non hôtes Pas de double culture	+ / +++ ^b	0	0
Plantes de coupure aux propriétés allélopathiques	++	+	0
Variété moins sensible ou résistante	+ / ++	+	+++
Aération du sol	+	+	0
Résistance naturelle du sol (antagonismes microbiens)	+ / ++	+ / ++	0
Récolte précoce avant la fin de l'hiver	0	+++	++

^a effet d'autant plus significatif que les conditions de température et d'humidité sont limitantes pour le développement des *Pythium*.

^b intensité fonction de la nature des précédents et de la fréquence de retour des carottes dans l'assolement.

Une pratique culturale limitant les infections primaires pourrait être considérée comme complémentaire d'une pratique limitant les infections secondaires (auto- et allo-infections) ou l'extension des lésions :

- Pour réduire les infections primaires, il est possible de limiter la densité initiale d'inoculum, principalement par des désinfections de sol ou l'application précoce d'un fongicide (interventions tactiques), et par une meilleure gestion de l'assolement et l'introduction dans la rotation de précédents non hôtes ou de cultures intermédiaires à vocation assainissante (interventions stratégiques, raisonnées sur le long terme).
- Pour réduire les infections secondaires, il est souhaitable de tenir compte de l'humidité du sol, optimiser la structure du semis, et réaliser des traitements fongicides ciblés en se basant sur la compréhension de la dynamique temporelle d'une épidémie.
- Les facteurs permettant de réduire l'extension des lésions sont moins nombreux ; nous suggérons d'utiliser des variétés de carottes moins sensibles, particulièrement efficaces pour limiter la surface occupée par les lésions (qui prennent alors un aspect cicatrisé) et d'adapter la date de récolte en fonction de l'humidité du sol effective ou la hauteur de précipitations.

Ces préconisations pourraient être affinées si la complémentarité des mécanismes d'infection était prise en compte. L'optimisation de la structure du semis a par exemple des effets sur les infections secondaires, mais exclusivement sur les allo-infections, ce qui rendrait cette méthode complémentaire de pratiques limitant les auto-infections.

L'introduction dans la rotation de précédents non hôtes et de cultures intermédiaires à vocation assainissante peuvent se compléter. L'association de ces deux pratiques, une fois leur efficacité individuelle démontrée, est justifiée si on s'intéresse à leur potentiel d'additivité : elles permettraient de limiter la densité d'inoculum par des effets à la fois fongicides et fongistatiques, qui, en se cumulant, engendreraient des effets analogues à ceux d'une désinfection de sol.

Comme nous l'avons vu, il arrive que les échelles de temps et d'espace auxquelles agissent différentes méthodes de lutte se complémentent. Dans le cas du cavity spot, l'action essentielle doit porter sur le caractère polyétique d'une épidémie, par exemple au travers d'une réduction progressive et durable de la densité d'inoculum. Les mesures préconisées peuvent être stratégiques et cibler la dynamique polyétique des épidémies (gestion des rotations et implantations de plantes de coupure). Les mesures peuvent aussi être stratégiques à l'échelle d'une année et cibler le caractère polycyclique de la dynamique (récolte assez précoce de carottes de conservation, si possible avant la fin de l'hiver). Enfin, les actions peuvent être tactiques, décidées en fonction des aléas climatiques ou des exigences de qualité du marché.

Figure VII-1 Production traditionnelle de carottes certifiées « carottes des sables, récoltées à la main » (Label Rouge) dans la zone de Créances (Manche, France).



(Photo AGRIAL)

Figure VII-2 Production de carottes sur de grandes surfaces dans la zone de Ychoux (Landes, France).



VII-C - MODELLING CAVITY SPOT EPIDEMICS

1. Introduction

A simulation model is an efficient way to conceptualise the structure of a pathosystem, and a useful step both for the synthesis of information and the identification of knowledge gaps (Zadoks, 1971; Teng, 1985; Savary *et al.*, 1997). In this section, we use epidemiological modelling to integrate new understanding of carrot cavity spot (CCS) acquired in previous chapters. This is achieved through a compartmental, state-variable model illustrating a deterministic approach. The model will be used to guide further research concerning the epidemiology of CCS and, following further development, be applied as an aid for integrated crop management.

The model of the CCS epidemic focuses on the taproot as a basic unit of observation, and integrates processes at this level toward the epidemic level. Two infection pathways are considered in order to account for the role of both the primary and secondary inoculum¹ (*sensu* Butt & Royle, 1980), including a distinction between inoculum inducing autoinfection and alloinfection (*sensu* Robinson, 1976). Secondary inoculum consists of CCS lesions that induce new lesions on the same carrot taproot (autoinfection) or on adjacent taproots (alloinfection). The precise mechanisms of disease transmission may involve mycelial growth through soil, zoosporic dissemination, or physical root-to-root contact via adventitious roots².

It is recognised that not all healthy plant tissues available for infection are, in fact, accessible to the pathogen; this results from the distinctive mechanism by which the disease spreads in the host population (Wilocquet & Savary, 2004). The concept of 'accessibility' was also introduced in models to account for the aggregation of the disease (Zadoks & Schein, 1979; Savary *et al.*, 1997). Similarly, for epidemics of CCS, we can consider that not all available healthy root tissues are accessible to the pathogen. This is because (i) disease is aggregated at the root scale during the initial stages of epidemic development (Phelps *et al.*, 1991) as a consequence of the clustering of primary inoculum in soil (mycelium, oospores, infected crop residues) and because (ii) empirical results from field observations show that in the latest stages of a CCS epidemic, disease severity *sensu stricto* above than 5 % was rarely observed. We postulate, therefore, that only a portion of plant tissue on the root surface is potentially accessible for infection during a one-year cropping season (4 to 8 months). This limitation may be considered as the consequence of a necessary restriction of the domain of validity of the model: if carrots roots could stay in soil during several years such as a permanent crop, the disease severity may, in theory, lead to 100 %.

¹ Démonstré expérimentalement au Chapitre V.

² Voir Chapitre V p. 205.

Table VII-2 - List of state variables, rates, parameters and functions used in the model.

Symbol	Meaning of symbol	Dimension ^a	Unit
State variables (or similar)			
R	total number of roots	[Nroot]	root
S	total number of healthy roots	[Nroot]	root
I	total number of diseased roots	[Nroot]	root
DIAM	diameter of a carrot root (maximum, at its largest section)	[L]	mm
TA	total area of a carrot root	[L ²]	mm ²
TSA	total healthy area of a carrot root	[L ²]	mm ²
TDA	total disease area of a carrot root	[L ²]	mm ²
TDAP	disease area due to primary infection at the surface of a carrot root	[L ²]	mm ²
TDAsauto	disease area due to secondary auto-infection at the surface of a carrot root	[L ²]	mm ²
TDAsallo	disease area due to secondary allo-infection at the surface of a carrot root	[L ²]	mm ²
P	amount of primary soil-borne inoculum (per root pathozone)	[Npropagule]	propagule
Rates			
Rpi	rate of primary infection (inoculum mobilisation rate)	[L ² .T ⁻¹]	mm ² .degree-day ⁻¹
Rsiauto	rate of secondary auto-infection (disease intensification rate)	[L ² .T ⁻¹]	mm ² .degree-day ⁻¹
Rsiallo	rate of secondary allo-infection (disease extensification rate)	[L ² .T ⁻¹]	mm ² .degree-day ⁻¹
Pdecay	rate of decay of the primary inoculum	[Npropagule.T ⁻¹]	propagule.degree-day ⁻¹
Rgrowth	rate of growth of a carrot root area	[L ² .T ⁻¹]	mm ² .degree-day ⁻¹
Rdiam	rate of growth of a carrot root diameter	[L.T ⁻¹]	mm.degree-day ⁻¹
Rle	rate of lesion extension	[-]	-
Parameters and functions			
rp	intrinsic rate of primary infection	[L ² .Npropagule ⁻¹ .T ⁻¹]	mm ² .propagule ⁻¹ .degree-day ⁻¹
rsauto	intrinsic rate of secondary auto-infection	[T ⁻¹]	degree-day ⁻¹
rsallo	intrinsic rate of secondary allo-infection	[T ⁻¹]	degree-day ⁻¹
TAMax	maximum total area attainable by a carrot root	[L ²]	mm ²
DIAMmax	maximum diameter attainable by a carrot root	[L]	mm
Rgr	relative growth rate of a carrot root	[T ⁻¹]	degree-day ⁻¹
RRdecay	relative rate of primary inoculum	[T ⁻¹]	degree-day ⁻¹
COFR	correction factor	[-]	-
ACC	parameter of accessibility	[-]	-
Lm	mean inter-root distance of a carrot population	[L]	mm
γ	steepness of the dispersal gradient	[-]	-
EXTD	function of 'root density' effect for disease extensification	[-]	-
MOIS	function of 'soil moisture' effect	[-]	-
TEMP	function of 'soil lethal temperature' effect	[-]	-
FUNG	function of 'fungicide treatment' effect	[-]	-
Calculated variables (model outputs)			
SEV	disease severity	[-]	-
INC	disease incidence	[-]	-

^a Dimensions: [N]: numbers; [T]: time; [L]: length;

2. Model structure: infection cycles and polycyclic processes

2.1. Overall structure of the model

The system under consideration consists of a carrot root situated within a single row represented by a population of growing carrots (the thickness of the carrot depending on the density of sowing). The fasciculate root system is well developed, but only the carrot taproot (abbreviated by 'carrot root') is considered here as accessible to soil-borne infection that may result in the development of CCS lesions. In principle, positive effects of adventitious roots on alloinfection are plausible³, but this impact is considered as negligible or constant during the cropping season (i.e. not correlated to the growth of the root) and is not specifically taken into account in the present model. Carrot roots (R), for which the total area of a carrot root is TA , theoretically belong to two categories: healthy (S) or diseased (I). If diseased, i.e. with a minimum of one CCS lesion, a root is characterised further by its total diseased area⁴ (TDA).

A new lesion may appear through primary, secondary auto- or alloinfections, which are considered as three independent processes. Primary infection results from the mobilisation of soil-borne inoculum and occurs during the early stages of the epidemic, whilst the spread of disease during the mid and later stages of the epidemic is progressively dominated by secondary infections resulting from transmission of *Pythium* from a diseased site (a CCS lesion) to an accessible healthy site. This transmission may concern the same root (secondary autoinfections) or adjacent roots (secondary alloinfections). Following Gilligan (1990), the rate of change of infected carrot roots can be represented by the sum of the rates of primary, secondary auto- and secondary alloinfections⁵:

$$\frac{dI}{dt} = \frac{dI_p}{dt} + \frac{dI_{sauto}}{dt} + \frac{dI_{sallo}}{dt} \quad (1)$$

where the disease incidence at the field scale I is viewed as the number of diseased roots.

For simulating epidemics of CCS, it is preferable to represent CCS as the amount of infected (and also infectious) tissue, e.g. the total area occupied by the lesions, because this is what contributes to the progress of the disease by secondary infections. Then, for equation (1), the number of infected carrot roots (I) is replaced by the total disease area on a root (TDA):

³ Voir Chapitre V p. 207.

⁴ Voir Chapitre III p. 99.

⁵ Voir Chapitre I p. 71.

$$\frac{dTDA_r}{dt} = \frac{dTDA_{p_r}}{dt} + \frac{dTDA_{sauto_r}}{dt} + \frac{dTDA_{sallo_r}}{dt} \quad (2)$$

$$TA_r = TSA_r + TDA_r \quad (3)$$

where TA_r is the total area of the root r , TSA_r the total healthy area of the root r , and TDA_r the total diseased area of the root r .

The population of carrot roots, R , is considered to be completely homogenous, with only two possibilities of disease status: healthy or diseased. All carrot roots are healthy if $R=S$, or all are diseased if $R=I$, and each root in the population is characterised by the same total disease area (TDA).

Equation (2) becomes:

$$\frac{dTDA}{dt} = \frac{dTDA_p}{dt} + \frac{dTDA_{sauto}}{dt} + \frac{dTDA_{sallo}}{dt} \quad (4)$$

where TDA_p , TDA_{sauto} , and TDA_{sallo} are, at the root scale, the total disease area due to primary infection and secondary auto- and alloinfection, respectively.

The rates of primary and secondary auto- and alloinfections are described by a monomolecular model and a logistic model, respectively (Gilligan, 1990). Equation (4) represents the core of the model, which was complemented by additional details such as external parameters and functions, encoded and integrated numerically using a degree-day time step and the STELLA 6.0 software (Peterson & Richmond, 1997). Equation 5 and Figure VII-3 illustrate the structure of the following preliminary model:

(5)

$$\frac{dTDA}{dt} = rp.P.\left(\frac{TSA}{TSA + TDA}\right) + rsauto.\left(\frac{TSA}{TSA + TDA}\right).TDA + rsallo.EXTD.\left(\frac{TSA}{TSA + TDA}\right).TDA$$

where rp , $rsauto$, $rsallo$ are intrinsic rates of primary, secondary allo- and secondary autoinfections, respectively, P is the amount of primary soil-borne inoculum, and $EXTD$ the function of root-density effect (or mean inter-root distance) for potential spatial extensification.

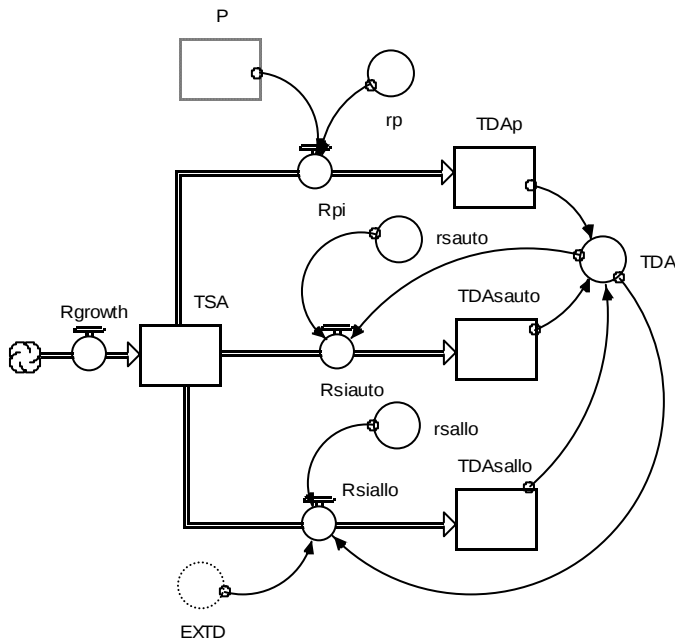


Figure VII-3 – Structure of the preliminary simulation model for CCS epidemics.

The three infection ways (*Rpi*, *Rsiauto*, and *Rsiallo*) are represented. Carrot growth (*Rgrowth*) and function of the effect of root-density for potential extensification (*EXTD*) have been succinctly incorporated.

Squares represent state variables; valves represent rates; continuous circles represent factors or intermediate variables (fixed or variable); circles represent calculated variables, parameters, or functions; double arrows represent flows of sites; single arrows represent flows of quantitative information from parameters, factors or functions. See Table VII-2 for meaning of abbreviations and dimensions.

The total disease area (*TDA*) may increase because of new infections or extension of existing lesions. *TDA* stabilises when new infections do not occur and existing lesions do not extend because they are in a stage of healing; soil factors (soil moisture and temperature) seem to be important determinants of the evolution of the lesion size during a season⁶. The rate of lesion extension *Rle* is then included in equation (4) and applied to all terms. This implies that lesion extension is the same whatever the origin of infection. Simple models for disease increase, incorporating cases with and without lesion expansion have been proposed and analysed (Jeger, 1987; Gilligan, 1990).

$$\frac{d\text{TDA}}{dt} = \text{Rle.} \left(\frac{d\text{TDA}_p}{dt} + \frac{d\text{TDA}_{\text{sauto}}}{dt} + \frac{d\text{TDA}_{\text{sallo}}}{dt} \right) \quad (6)$$

(7)

$$\frac{d\text{TDA}}{dt} = \text{Rle.} \left(\text{rp.P.} \left(\frac{\text{TSA}}{\text{TSA} + \text{TDA}} \right) + \text{rsauto.} \left(\frac{\text{TSA}}{\text{TSA} + \text{TDA}} \right) . \text{TDA} + \text{rsallo.EXTD.} \left(\frac{\text{TSA}}{\text{TSA} + \text{TDA}} \right) . \text{TDA} \right)$$

⁶ Voir Chapitre VI p. 227.

The Figure VII-4 illustrates the structure of the sub-model of lesion extension.

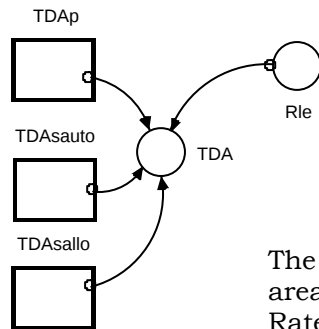


Figure VII-4 – Sub-model of lesion extension.

The three origins of infection ways inducing disease area (*TDAp*, *TDAsauto*, and *TDAsallo*) are represented. Rate of lesion extension (*Rle*) has been incorporated. See Table VII-2 for meaning of abbreviations and dimensions; see Figure VII-3 for meaning of symbols.

In reality, the rate *Rle* is probably not the same for lesions resulting of primary or secondary infection and it may be more accurate to incorporate separate terms for the rate of lesion extension for different sources of inoculum (*TDAp*, *TDAsauto*, *TDAsallo*). However, this distinction would almost certainly lead to experimental intractability in the assessment of the three values of *Rle*.

Lesion extension may also be viewed as autoinfection; this means that it would be possible to incorporate lesion extension as a component of autoinfection with *Rle* = 1.

Although not spatially-explicit, the model takes into account the average structure of the root population. The function *EXTD* is described by the commonly used power law model (Gregory, 1968), also called the inverse power law (Minogue, 1989). The model assumes that the influence of a diseased root on a neighbouring root (i.e. the intensity of disease spread) is inversely proportional to some power of the distance between the two roots⁷:

$$EXTD = \frac{1}{R} \cdot \sum_{r=1}^R \left(\sum_{n=1}^N \rho \cdot (L_i - DIAM)^{-\gamma} \right) \quad (8)$$

L_i is the distance between a carrot root, noted r , and another carrot root, noted n , (centre taproot to centre taproot) with $n \in [0;N]$ and N the maximum number of roots considered to influence the disease spread to the root r ; *DIAM* is the mean diameter of the roots at their largest section; the parameter γ represents the rate of decrease of neighbouring diseased roots with distance, that is the steepness of the dispersal gradient (*sensu* Gregory, 1968; Campbell & Madden, 1990); ρ is a parameter.

⁷ Voir Chapitre VI p. 237.

Contrary to the situation described by the equation (8), the carrot population is supposed to be homogeneous in the present model: the mean root-to-root distance⁷ is supposed to be identical for each carrot root.

Then,

$$EXTD = \rho.(Lm - DIAM)^{-\gamma} \quad (9)$$

where Lm is the mean inter-root distance.

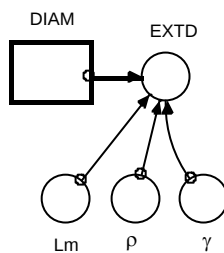


Figure VII-5 – Sub-model of the function ‘root density’ effect for disease extensification.

The evolution of the function ‘root density’ effect ($EXTD$) (or mean inter-root distance) and the evolution of growth of the diameter of root ($DIAM$) are represented. Steepness of the dispersal gradient of the disease (γ) and mean inter-root distance (Lm) have been incorporated. See Table VII-2 for meaning of abbreviations and dimensions; see Figure VII-3 for meaning of symbols.

2.2. Primary inoculum

As described for many soil-borne diseases, the amount of primary inoculum P is assumed to decay exponentially (Dimond & Horsfall, 1965; Gilligan, 1990; Savary *et al.*, 1997), as a result of extinction of natural (e.g. mycelium, oospores, zoospores or colonised crop residues) or artificial soil-borne propagules (e.g. colonised barley grains) in the soil in which the crop is grown⁸:

$$\frac{dP}{dt} = P_{decay} = -RR_{decay}.P \quad (10)$$

where P_{decay} is the rate of decay of the primary inoculum and RR_{decay} the relative rate of primary inoculum.

⁸ Voir Chapitre IV p. 176.

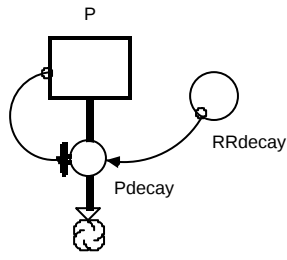


Figure VII-6 – Sub-model of primary inoculum decay.

The decrease of the amount of primary inoculum (P) is represented. The rate of decay of the primary inoculum (P_{decay}) has been incorporated. See Table VII-2 for meaning of abbreviations and dimensions; see Figure VII-3 for meaning of symbols.

2.3. Accessibility of healthy tissues

Equation (7) does not take into account the aggregation of lesions on a diseased carrot root and the non-accessibility of all healthy tissues for infection. Empirical analysis of several CCS epidemics has showed that the disease severity *sensu stricto* defined by the ratio TDA/TA does not exceed a maximum severity of about 5 %; this maximum quantity of disease is also called the ‘carrying capacity’. The corollary of this is that 95 % of the total carrot root area is not accessible for infection. This consideration was included in building of models (Jeger, 1987; Segarra *et al.*, 2001).

The restricted accessibility of healthy sites for infection was incorporated also by a theoretical approach in epidemiological models by Zadoks (1971) and Savary *et al.* (1997) using an aggregation coefficient (Waggoner & Rich, 1981). In the simulation model of CCS, this parameter is named ‘accessibility coefficient’ (ACC):

$$\frac{dTDA}{dt} = (Rlc.(rp.P. + rsauto.TDA + rsallo.EXTD.TDA).COFR)^{ACC} \quad (11)$$

with:

$$COFR = \left(1 - \frac{TDA}{TSA + TDA}\right) = \frac{TSA}{TSA + TDA} \quad (12)$$

$COFR$ takes into account the availability of healthy tissues for infection (Van der Plank, 1963; Zadoks, 1971); ACC is a dimensionless parameter; non-accessibility of a portion of the healthy tissues is characterised in the equation (11) by $ACC > 1$.

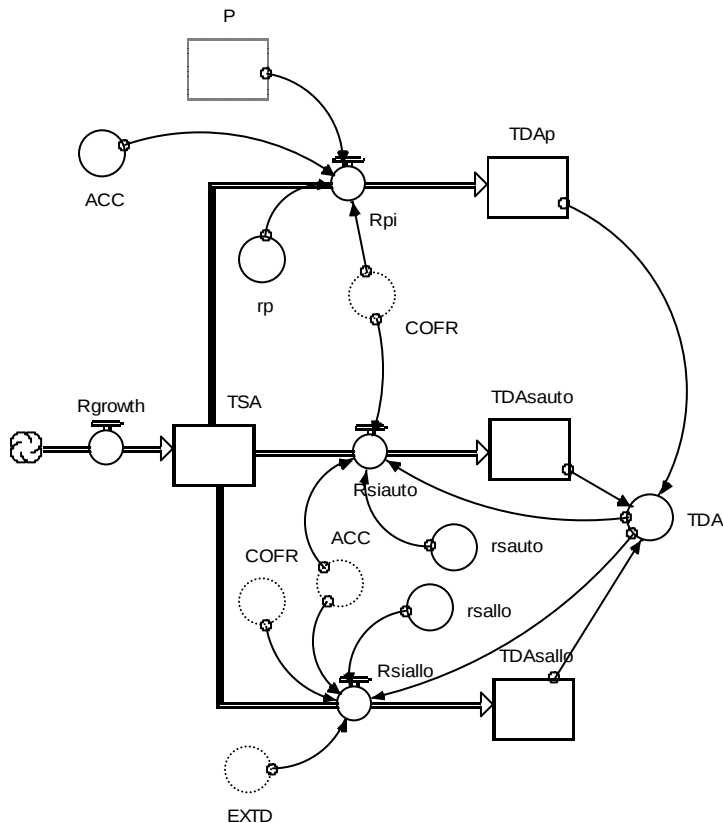


Figure VII-7 – Structure of the preliminary simulation model for CCS epidemics including accessibility of healthy tissues to infection.

The accessibility of healthy tissues to infection (*ACC*, *COFR*) has been incorporated in the structure of the model presented in Figure VII-1. See Table VII-2 for meaning of abbreviations and dimensions; see Figure VII-3 for meaning of symbols.

2.4. Additional components of the model

A few additional components are added to the model to account for the basic characteristics of CCS epidemics. These components concern host properties (growth of carrot root), soil conditions (soil moisture, lethal or sub-lethal temperature threshold) and cultural practices that may affect disease development (fungicide treatment).

2.4.1. Carrot root growth

The number of carrot roots is fixed over time, reflecting that the root density is determined at sowing. The size of a carrot root is considered as variable over time, reflecting plant growth and especially taproot thickening. A logistic increase of root weight is assumed to represent adequately root growth, reflecting also a proportional relationship with the power $\frac{1}{2}$ the increase of the diameter *DIAM* measured at the larger section of the taproot and the increase of the total root area (*TA*)⁹.

⁹ Voir Chapitre I p. 31.

$$R_{growth} = \frac{dT_A}{dt} = R_{gr} \cdot T_A \cdot \left(1 - \frac{T_A}{T_{Amax}}\right) \quad (13)$$

where R_{growth} is the growth rate of the total area of root (T_A) and T_{Amax} represents the maximum total area attainable by the root (Figure VII-8).

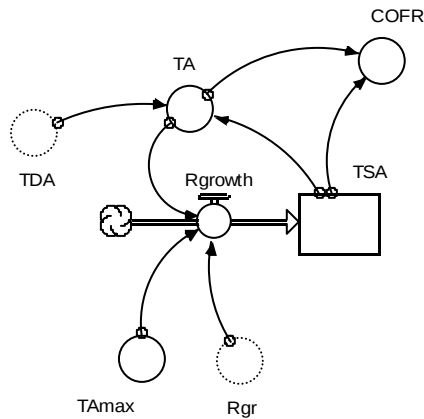


Figure VII-8 – Sub-model of carrot growth and estimation of the correction factor $COFR$.

The growth of a carrot is represented by the growth of the total taproot area (T_A). Estimation of the correction factor ($COFR$) used in the Figure VII-3 has been incorporated. See Table VII-1 for meaning of abbreviations and dimensions; see Figure VII-3 for meaning of symbols.

$$R_{diam} = \frac{dDIAM}{dt} = R_{gr} \cdot DIAM \cdot \left(1 - \frac{DIAM}{DIAM_{max}}\right) \quad (14)$$

where R_{diam} is the growth rate of the mean diameter ($DIAM$) and $DIAM_{max}$ represents the mean maximum diameter attainable by a mature carrot root (Figure VII-9).

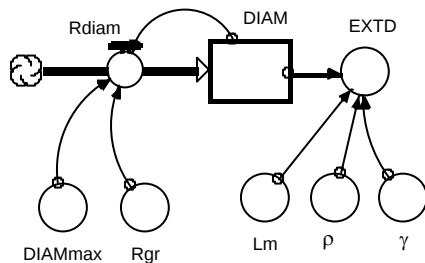


Figure VII-9 – Sub-model of carrot growth and estimation of the function 'root density' effect.

The growth of a carrot is represented by the growth of the diameter of a root ($DIAM$). The function 'root density' effect ($EXTD$) estimated in the Figure VII-5 has been incorporated. See Table VII-2 for meaning of abbreviations and dimensions; see Figure VII-3 for meaning of symbols.

2.4.2. Cultural and environmental factors

Effect of seedling density¹⁰ was taken into account previously with the function *EXTD*, included in the structure of the preliminary simulation model (Figure VII-3). Other external functions such as the effect of soil moisture¹¹ (*MOIS*), the effect of lethal or very limiting temperature¹² (*TEMP*), and the effect of fungicide treatment¹³ (*FUNG*) are considered to have an impact on different pathways of disease transmission. Rates of infection (*R_{pi}*, *R_{siauto}*, and *R_{siallo}*) may then be defined as functions of intrinsic rates of infection and combination of the previous external functions.

2.4.3. Model output and pathometrical relationships

To complete disease incidence *i* (*INC* in the model) and total disease area *tda* (*TDA* in the model), other operational disease measurements¹⁴ were defined in previous chapters, such as lesion density *d* and symptom intensity *si*. Disease severity *sensu stricto* is a measure of diseased plant surface expressed as a proportion of the total area defined by *TDA/TA*. The severity (*SEV*) is not incorporated as an operational state variable in the model but as an output variable, such as incidence (*INC*) (Figure VII-10).

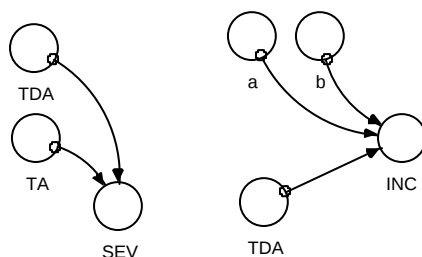


Figure VII-10 – Model output and pathometrical relationship.

The disease severity (*SEV*) and the disease incidence (*INC*) have been incorporated as output variables and estimated using empirical pathometrical relationships fitted in Chapter I; *a* and *b* are parameters. See Table VII-1 for meaning of abbreviations and dimensions; see Figure VII-3 for meaning of symbols.

The complete exploratory compartmental state-variable model is presented in Figure VII-11.

¹⁰ Voir Chapitre VI p. 235.

¹¹ Voir Chapitre VI p. 227.

¹² Voir Chapitre IV p. 171.

¹³ Voir Chapitre VI p. 215.

¹⁴ Voir Chapitre II p. 97.

References

- Butt DJ and Royle DJ (1980) The importance of terms and definitions for a conceptually unified epidemiology. *In: Comparative epidemiology. A tools for better disease management.* J. Palti and J. Kranz. Pudoc, Wageningen. p. 29-45.
- Campbell CL and Madden LV (1990) Introduction to plant disease epidemiology. John Wiley & Soon, New York, 532 pp.
- Dimond AE and Horsfall JG (1965) The theory of inoculum. *In: Ecology of soil-borne plant pathogens.* K. F. Baker and W. C. Snyder. University of California Press. p. 404-415.
- Gilligan CA (1990) Mathematical modelling and analysis of soilborne pathogens. *In: Epidemics of plant diseases, Second Edition.* J. Kranz. p. 96-142.
- Gregory PH (1968) Interpreting plant disease dispersal gradients. *Annual Review of Phytopathology* 6: 189-212.
- Jeger MJ (1987) The influence of root growth and inoculum density on the dynamics of root disease epidemics: theoretical analysis. *New Phytologist* 107(2): 459-478.
- Minogue KP (1989) Diffusion and spatial probability models for disease spread. *In: Spatial components of plant disease epidemics.* M. J. Jeger. Prentice-Hall, Englewood Cliffs, New Jersey. p. 127-143.
- Peterson S and Richmond B (1997) STELLA 6.0, Technical Documentation. High Performance Systems, Inc.
- Phelps K, White JG and Henn AJ (1991) Studies on the frequency distribution of *Pythium*-induced cavity spot of carrots. *Annals of Applied Biology* 119(1): 21-30.
- Robinson RA (1976) Plant pathosystem. Springer-Verlag, Berlin, 184 pp.
- Savary S, Willocquet L and Teng PS (1997) Modelling sheath blight epidemics on rice tillers. *Agricultural Systems* 55(3): 359-384.
- Segarra J, Jeger MJ and van den Bosch F (2001) Epidemics dynamics and patterns of plant diseases. *Phytopathology* 91(10): 1001-1010.
- Teng PS (1985) A comparison of simulation approaches to epidemic modelling. *Annual Review of Phytopathology* 23: 351-379.
- Van der Plank JE (1963) Plant diseases: epidemics and control. New York & London, 349 pp.
- Waggoner PE and Rich S (1981) Lesion distribution, multiple infection, and the logistic increase of plant disease. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 78(6): 3292-3295.
- Willocquet L and Savary S (2004) An epidemiological simulation model with three scales of spatial hierarchy. *Phytopathology* 94: 883-891.
- Zadoks JC (1971) Systems analysis and the dynamics of epidemics. *Phytopathology* 61: 600-610.
- Zadoks JC and Schein RD (1979) Epidemiology and plant disease management. New York, 427 pp.



CONCLUSION GENERALE



CONCLUSION GENERALE

Ce travail s'inscrit à l'interface de plusieurs disciplines : Phytopathologie, Epidémiologie Végétale, Ecologie, Protection des Cultures et Agronomie. Il contribue à améliorer la compréhension du développement d'une épidémie de cavity spot de la carotte, exemple intéressant de maladie d'origine tellurique provoquée par un complexe d'espèces. L'objectif principal de nos recherches était d'identifier, comprendre et hiérarchiser les processus déterminant la dynamique spatio-temporelle de cette maladie. Les connaissances acquises et présentées dans ce mémoire sont multiples ; les différentes étapes de notre réflexion s'y enchaînent, dans le but d'expliquer la démarche scientifique que nous avons suivie, mais aussi dans une volonté d'application et de transfert didactique des résultats.

1. L'occurrence d'infections secondaires : fondement mécaniste de notre représentation du développement d'une épidémie de cavity spot

Les symptômes de cavity spot sont assez homogènes dans leur faciès (taches en creux, elliptiques, aux contours délimités) (Hiltunen & White, 2002). Pourtant, la taille, le nombre et la répartition de ces taches peuvent varier à l'échelle d'un peuplement (Chapitre I). Certaines lésions sont très petites, d'autres beaucoup plus larges ; elles sont plus ou moins nombreuses sur une même racine, agrégées, voire coalescentes (Phelps, 1991). La plupart des notations utilisées dans la littérature font appel à des méthodes de quantification des symptômes qui leur sont propres, et sont parfois peu adéquates (utilisation irraisonnée de classes, parfois trop peu nombreuses ou mal choisies). Nous avons défini des variables de maladies (incidence i , densité de lésions d , intensité des symptômes s_i , surface totale nécrosée tda) dont l'analyse a apporté des informations sur le développement d'une épidémie (Chapitre II). Les premiers résultats sont issus de l'interprétation de relations pathométriques, c'est-à-dire entre les différentes variables de maladie. La relation entre i et tda évolue dans le temps et illustre les différentes étapes de l'épidémie : passage d'une phase de mobilisation de l'inoculum primaire à des phases d'intensification et d'extensification des attaques. L'évolution temporelle d'un cortège de lésions a également suggéré que leur diamètre moyen augmentait au cours du temps ; ce processus contribue à l'accroissement de la surface totale nécrosée tda , laquelle ne résulte donc pas uniquement d'une augmentation du nombre de nouvelles infections. Ces résultats sont des arguments importants en faveur de l'hypothèse de l'occurrence d'infections primaires et secondaires. Ils ont été étayés par l'analyse descriptive de cinétiques de cavity spot obtenues au champ au cours d'un essai triennal, qui a montré que la densité d'inoculum avait une influence en début d'épidémie, mais pouvait ensuite raisonnablement être négligée (Chapitre III). La forme des courbes de maladie, assimilables à des cinétiques « bi-

sigmoïdes », est venue conforter l'existence des infections secondaires. Trois modèles, intégrant chacun l'occurrence des deux types de processus, ont été ajustés de façon correcte (modèle logistique, modèle de Hau & Amorim, modèle de Brassett & Gilligan) (Bailey & Gilligan, 1999; Brassett & Giligan, 1988; Hau et al., 1993). La question de la concomitance des infections primaires et secondaires a été soulevée ; nous avons sélectionné le modèle de Brassett & Gilligan, le mieux adapté à l'articulation temporelle des processus décrits.

2. La question du complexe pathogène : un éclaircissement méthodologique nécessaire

Il n'est pas rare qu'une maladie soit provoquée par plusieurs espèces fongiques associées, lesquelles constituent alors un « complexe d'espèces » lorsque les parasites appartiennent au même genre taxonomique (Davet, 1996; Mihail *et al.*, 2002). Le cavity spot est considéré comme tel : la maladie est provoquée par plusieurs espèces de *Pythium*, distinctes et identifiables, avec prédominance locale de certaines d'entre-elles, comme *P. violae* ou *P. sulcatum* dans les bassins de production normands. Cette particularité a, de fait, été intégrée dans les études biologiques menées au cours des vingt dernières années en conditions contrôlées (traits d'histoire de vie de chaque espèce et tests différentiels : vitesse de croissance mycélienne, optimum thermique, pouvoir pathogène et sensibilité à des fongicides) (Breton & Rouxel, 1993). Malgré cela, le complexe parasitaire n'a jamais été pris en compte dans son entièreté (diversité, variation de composition, éventuelles interactions) au cours de l'analyse d'une épidémie.

L'existence d'interactions entre espèces pendant la phase infectieuse aurait pu remettre en cause la formalisation que nous proposons ; dans une perspective de modélisation, ne pas soulever cette question aurait donc été une erreur. Les fluctuations dans la composition du complexe pathogène *Pythium* spp. ont été illustrées au cours de trois années d'épidémies au champ (Chapitre IV). Les changements ont été expliqués, au moins partiellement, par des propriétés biologiques différentes entre espèces, telles que le pouvoir pathogène et l'optimum thermique de croissance du mycélium mesurés *in vitro*. L'optimum thermique des deux principales espèces pathogènes s'est révélé différent (19°C pour *P. violae* contre 25°C pour *P. sulcatum*). Au champ, plusieurs espèces ont été isolées en mélange à partir d'une même lésion, confirmant la nécessité de prendre en compte les infections multiples dans l'analyse du développement d'une épidémie, qu'elle soit due à des espèces « majeures » (définies comme étant fortement représentées au sein du complexe et relativement pathogènes, comme *P. violae* et *P. sulcatum*) ou due à des espèces « mineures » (définies comme étant moins représentées et moins pathogènes, comme *P. sylvaticum-irregulare*, *P. intermedium* ou *P. coloratum*). Une analyse de contingence a montré que les espèces considérées ici comme « mineures » étaient plus souvent isolées en mélange, et ce, de façon inversement

proportionnelle à leur pouvoir pathogène, confirmant que leur capacité à initier une lésion était effectivement moindre.

Ces conclusions élargissent la portée des hypothèses de modélisation d'une épidémie. Elles permettent de préciser les dimensions initiales du système (pathosystème « *Pythium* sp. - *Daucus carota* ») qui peut désormais être élargi et intégrer le complexe d'espèces dans son entièreté (pathosystème « complexe *Pythium* spp. - *Daucus carota* »). Les processus intervenant au cours d'une épidémie « pluri-spécifique » sont assimilés à ceux d'une épidémie « mono-spécifique ». Une épidémie de cavity spot peut raisonnablement être analysée de façon globale, sans que nous soyons obligés de dissocier l'action de chaque espèce.

3. Démonstration et quantification de processus infectieux : nouvelles connaissances biologiques et carences

Les indices précédents, s'ils sont des arguments importants, ne constituent pas pour autant la preuve de l'occurrence des infections secondaires. La compréhension du cycle biologique d'une maladie est nécessaire, certainement autant que la description de ses cinétiques épidémiques, dans lesquelles les effets du cycle sur les taux d'infection peuvent se confondre avec les effets de facteurs environnementaux (Pfender, 1982) ; une démonstration par l'expérience est indispensable. Nous avons donc élaboré un protocole d'expérimentation adaptée aux contraintes du pathosystème *Pythium* sp. - *Daucus carota*. Il a été démontré, par une méthodologie originale de transplantation de racines sources inoculées par *P. violae*, que les lésions étaient à l'origine de contaminations racines à racines (allo-infections) (Chapitre V). La possibilité d'auto-infections a été suggérée par des observations ponctuelles *in situ*. Le caractère polycyclique d'une épidémie de cavity spot a pour la première fois été explicitement démontré.

Cette méthodologie a ensuite été utilisée dans des essais conduits en microcosmes pour caractériser la dynamique spatio-temporelle des allo-infections (distance seuil, forme du gradient de dispersion, temps de latence, taux d'infections secondaires) et mesurer les effets de facteurs environnementaux. Une telle technique pourrait servir à l'étude d'autres pathosystèmes faisant intervenir des plantes dont le système racinaire tubérise, telles que la betterave et le radis (avec *Rhizoctonia solani*), ou la pomme de terre (avec *Streptomyces scabies*, *Spongospora subterranea*, et *Rhizoctonia solani*).

Des problèmes méthodologiques ont été soulevés ; ils méritent d'être ici rappelés :

- l'intensité des contaminations constatées dans les essais en conditions contrôlées est souvent hétérogène, d'où la nécessité d'une grande rigueur dans la mise en place des expérimentations ;
- la réussite des infections secondaires est tributaire de la température : des périodes prolongées au-delà de 25°C ou des pics supérieurs à 30°C limitent fortement les contaminations racine à racine ;

- la durée de confrontation entre les sources et les cibles ne peut excéder 5 semaines dans nos conditions expérimentales, du fait de la décomposition assez rapide d'une grande partie des racines transplantées ;
- le stade physiologique des racines cibles et sources est différent, ce qui n'est pas le cas dans un peuplement naturel homogène ; cette différence pourrait influencer de façon artificielle les processus décrits.

La question des mécanismes biologiques responsables des infections secondaires reste entière. Les principales hypothèses issues de la littérature sont basées sur la biologie des *Pythium*, mais aussi sur des réflexions communes à l'ensemble des parasites d'origine tellurique.

La première interrogation concerne la possibilité de contaminations par contact direct entre radicelles : le rôle du système racinaire dans les contaminations racines à racines est à clarifier. Plusieurs éléments laissent penser que les allo-infections sont une conséquence directe de la croissance saprophytique du mycélium dans le sol. Mais il est possible que les racines adventives amplifient l'extensification de la maladie en servant de points d'appuis aux infections secondaires à la suite de contacts entre radicelles saines et infectées, et en stimulant la croissance saprophytique des *Pythium* par la sécrétion d'exsudats racinaires. Des résultats préliminaires montrent que ces mécanismes, s'ils doivent être envisagés, peuvent dans un premier temps être négligés ; les allo-infections semblent résulter essentiellement de la croissance saprophytique du mycélium dans le sol à partir des lésions d'une racine infectée.

La seconde question qui reste en suspens porte sur les formes de dissémination à l'origine des infections secondaires. On ne peut exclure que les zoospores puissent être impliquées à ce stade chez la plupart des *Pythium*, à l'exclusion de *P. violae*. L'implication des différentes structures (mycélium, zoospores, oospores) devrait être prise en compte pour estimer le gradient de dispersion de la maladie.

Enfin, la question de la répartition de l'inoculum primaire au sein d'une parcelle reste sans réponse. Sa distribution dans le sol, plus ou moins agrégée, pourrait expliquer que l'incidence maximale de maladie dépasse assez rarement 80 %. Le niveau d'agrégation pourrait être estimé par des techniques de quantification directe de l'ADN de *Pythium* dans les sols.

Les *Pythium* peuvent survivre dans un sol pendant plusieurs années. Nos résultats suggèrent que le potentiel d'inoculum diminue au cours d'une année en l'absence de cultures hôtes. Ce constat est essentiel dans la gestion du cavity spot, en particulier au regard du caractère polyétique d'une épidémie : la décroissance de l'inoculum, si elle est effective, doit être prise en compte dans une modélisation à l'échelle pluriannuelle.

4. Effet de différents facteurs et intégration verticale de méthodes de lutte : une perspective d'application pertinente

Plusieurs facteurs environnementaux et culturels sont connus pour avoir un effet sur le développement du cavity spot : l'humidité du sol, son aération, sa teneur en calcium, la température, la fertilisation azotée, les précédents culturels, les traitements fongicides et les désinfections de sol (Hiltunen & White, 2002). Les trois variables que nous avons sélectionnées (période d'application d'un fongicide anti-oomycètes, humidité du sol et densité de peuplement) ont eu un effet sur les cinétiques de maladie et en particulier sur les infections secondaires (Chapitre VI) :

- Des applications de mefenoxam ont retardé le développement des épidémies au champ. Des traitements en cours de végétation ont eu des effets plus prononcés qu'un traitement au semis, avec une période d'efficacité plus large. Ils ont réduit l'incidence du cavity spot de façon significative, et ont eu un impact encore plus net sur la densité de lésions et sur la surface totale nécrosée. Des expérimentations en microcosmes ont confirmé que le mefenoxam limitait les infections secondaires.
- L'effet positif de l'humidité du sol sur le développement d'une épidémie a été démontré en conditions naturelles. Ce facteur semble avoir une influence sur l'ensemble des processus épidémiologiques décrits (infections primaires, infections secondaires et extension des lésions). Des hypothèses fonctionnelles ont été suggérées. Un sol trop sec limiterait l'accessibilité des tissus hôtes à l'inoculum primaire. L'humidité favoriserait les infections secondaires et la dissémination des *Pythium* ; elle serait déterminante dans les phases d'extensification de l'épidémie. Elle limiterait également les processus de « cicatrisation » à l'origine de symptômes bien délimités, favorisant ainsi l'augmentation du potentiel d'infections secondaires avec l'accroissement de la taille des lésions.
- L'effet de la distance entre racines sur la dynamique des infections secondaires a été explicitement démontré ; celui de la densité de semis a été plus hétérogène. La distance entre racines est un facteur déterminant lorsque les conditions de croissance du mycélium sont assez limitantes (températures élevées, faible taux d'humidité du sol) ; en revanche, lorsque ces conditions sont optimales, le mycélium semble atteindre sans difficulté les racines adjacentes quelle que soit la densité de peuplement (dans la limite de distances entre plantes égales à une dizaine de centimètres).

Nous avons mené une réflexion sur la notion de « complémentarité » utilisable dans l'évaluation de stratégies de protection intégrée des cultures (Chapitre VII). Ce terme recouvre plusieurs fonctionnalités, pour lesquelles nous avons proposé quelques définitions (complémentarité *sensu stricto*, additivité, compatibilité et suppléativité). Quelques pistes pour maîtriser une épidémie de cavity spot ont été examinées, à la lumière des connaissances disponibles dans la littérature et des résultats acquis dans la thèse. L'intégration verticale des moyens de lutte, c'est-à-dire l'association de méthodes ayant pour cible le cavity spot, a été analysée. Compte tenu de l'état

actuel des connaissances, l'objectif était ambitieux et nous n'y avons répondu que partiellement. Des études pluridisciplinaires sont nécessaires pour quantifier la part de chaque intervention culturelle dans le risque épidémique. A l'échelle des différents bassins de production français, la prévalence réelle du cavity spot de la carotte reste méconnue. Les problèmes parasitaires semblent cycliques, et il est difficile de savoir si une maladie pose de gros problèmes une année donnée.

Quelle est l'aptitude technique et psychologique des agriculteurs à mettre en pratique certaines combinaisons de méthodes de lutte innovantes, parfois déstabilisantes ? De quelles marges de manœuvre disposent-ils réellement ? Comment prendre en compte de manière pertinente l'ensemble des contraintes agronomiques et commerciales liées au système de production ? Ces questions demeurent.

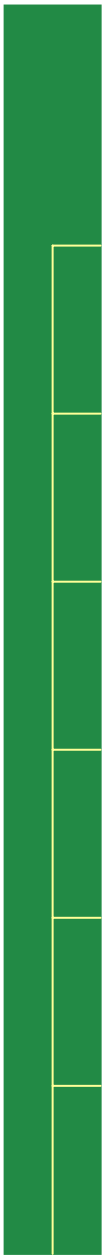
5. Un modèle épidémiologique : dans quel objectif ?

Les hypothèses que nous avons formulées au début de ce mémoire, validées par la suite, permettent de concevoir un modèle à compartiments basé sur l'occurrence d'infections primaires et d'infections secondaires. Ce modèle déterministe fait la synthèse des connaissances acquises sur le cavity spot. Conçu comme un outil permettant de comprendre le fonctionnement d'une épidémie à l'échelle de la racine (Chapitre VII), il offre des perspectives de recherches pour évaluer l'efficacité de différentes méthodes de lutte, et leur possibilité de complémentarité.

Après avoir fait l'objet d'un effort de conceptualisation important, les études sur l'épidémiologie du cavity spot doivent, pour rester pleinement opérationnelles, intégrer durablement deux champs de connaissance. Le premier relève de la phytopathométrie et des méthodes d'évaluation de critères de qualité : la quantification d'une maladie doit se faire non seulement en termes « pathologiques » utilisables pour comprendre son développement, mais aussi en termes d'évaluation des « pertes » effectives dans un système de production donné. Le second champ concerne la modélisation : elle ne doit être ni stérilement cloisonnée (le tout « potentiel infectieux »), ni gratuitement complexe (modèle de simulation difficilement utilisable à des fins de protection intégrée).



REFERENCES



REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES GENERALES (355)

- Agreste (2002) Répartition de la production française de carottes en 2002. 7 pp.
- Agrios G (2005) Plant pathology. 5th edition. Elsevier, 922 pp.
- Ali-Shtayeh MS, Len LHC et Dick MW (1986) An improved method and medium for quantitative estimates of populations of *Pythium* species from soil. Transactions of the British Mycological Society 86(1): 39-47.
- Allain-Boulé N, Lévesque CA, Martinez C, Belanger RR et Tweddell RJ (2004) Identification of *Pythium* species associated with cavity-spot lesions on carrots in eastern Quebec. Canadian Journal of Plant Pathology 26(3): 365-370.
- Allain-Boulé N, Tweddell RJ, Mazzola M, Belanger RR et Lévesque CA (2004) *Pythium attrantheridium* sp. nov.: taxonomy and comparison with related species. Mycological Research 108(7): 795-805.
- Allen RN et Newhook FJ (1973) Chemiotaxis of zoospores of *Phytophthora cinnamomi* to ethanol in capillaries of soil pore dimensions. Transactions of the British Mycological Society 61(2): 287-302.
- Amorim L, Filho AB et Hau B (1993) Analysis of progress curves of sugarcane smut on different cultivars using functions of double sigmoid pattern. Phytopathology 83(9): 933-936.
- Aubertot JN, Barbier JM, Carpentier A, Gril JJ, Guichard L, Lucas P, Savary S, Savini I et Voltz M (2005) Pesticides, agriculture et environnement. Réduire l'utilisation des pesticides et limiter leurs impacts environnementaux. Expertise scientifique collective, synthèse du rapport, INRA et Cemagref (France). 64 pp.
- Ayers WA et Lumsden RD (1975) Factors affecting production and germination of oospores of three *Pythium* species. Phytopathology 65(10): 1094-1100.
- Bachacou J, Bouchon J et Tomimura S (1979) Etude structurales en forêt par les techniques de morphologie mathématique. Oecologia Plantarum 14(3): 205-217.
- Bailey DJ et Gilligan CA (1999) Dynamics of primary and secondary infection in take-all epidemics. Phytopathology 89(1): 84-91.
- Bailey DJ, Paveley N, Pilinger C, Foulkes J, Spink J et Gilligan CA (2005) Epidemiology and chemical control of take-all on seminal and adventitious roots of wheat. Phytopathology 95(1): 62-68.
- Bajwa WL et Kogan M (1996) Compendium of IPM definitions (CID). What is IPM and how is it defined in the worldwide literature? IPPC Publication n°998 Integrated Plant Protection Center, Oregon State University, Corvallis. <http://ippc.orst.edu/IPMdefinitions/index.pdf> [consulté le 29 août 2005].
- Baker KF (1965) The dynamics of inoculum. In: Ecology of soil-borne plant pathogens. K. F. Baker and W. C. Snyder, University of California Press, p. 395-403.
- Bald JG (1969) Estimation of leaf area and lesion sizes for studies on soil-borne pathogens. Phytopathology 59: 1606-1612.
- Baldauf SL, Roger AJ, Wenk-Siefert I et Doolittle WF (2000) A kingdom-level phylogeny of eukaryotes based on combined protein data. Science 290: 972-977.
- Banks RB (1994) Growth and diffusion phenomena: mathematical frameworks and applications. Springer-Verlag, Berlin, Germany, 455 pp.
- Barnes WC (1936) Effects of some environmental factors on growth and color of carrots. 36 pp.
- Begon M, Harper JL et Townsend CR (1986) Ecology: individuals, populations, and communities. 1068 pp.
- Benard D et Punja ZK (1995) Role of *Pythium* species in cavity spot development on carrots in British Columbia. Canadian Journal of Plant Pathology 17: 31-45.
- Benjamin LR (1982) Some effects of differing times of seedling emergence, population density and seed size on root-size variation in carrot population. Journal of Agricultural Sciences of Cambridge 98: 537-545.
- Benjamin LR (1984) The relative importance of some sources of root weight variation in a carrot crop. Journal of Agricultural Science 102: 69-77.
- Benjamin LR (1987) Variation in plant size and the timing of carrot production. Acta Horticulturae 198: 297-304.

- Benjamin LR (1988) A single equation to quantify the hierarchy in plant size induced by competition within monocultures. *Annals of Botany* 62(2): 199-214.
- Benjamin LR (1990) Simulating competition between plants using mathematical models and the prospect of predicting marketable yield. *Acta Horticulturae* 267: 395-400.
- Benjamin LR et Aikman DP (1995) Predicting growth in stands of mixed species from that in individual species. *Annals of Botany* 76: 31-42.
- Benjamin LR, Hembry JK, Bowtell J, Phelps K et Gray D (1999) Predicting frequency distributions in crops of carrot (*Daucus carota* L.) and red beet (*Beta vulgaris* L.). *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology* 74(2): 259-264.
- Benjamin LR et Sutherland RA (1989) Storage-root weight, diameter and length relationships in carrot (*Daucus carota*) and red beet (*Beta vulgaris*). *Journal of Agricultural Science* 113(1): 73-80.
- Benson CL (1994) Inoculum. *In*: Epidemiology and management of root diseases. C. L. Campbell and D. M. Benson. Berlin, Springer-Verlag, p. 1-33.
- Bleasdale JKA et Thompson R (1963) An objective method of recording and comparing the shapes of carrot roots. *Journal of Horticultural Science* 38: 232-241.
- Blok I (1970) Pathogenicity of *Pythium sylvaticum*. *Netherlands Journal of Plant Pathology* 76: 296-298.
- Bouhot D (1980) Le potentiel infectieux des sols. Thèse de Doctorat. Université de Nancy, 142 pp.
- Bouhot D (1981) Induction of biological suppression of *Pythium* in soil by addition of organic matter. *Soil Biology and Biochemistry* 13(4): 269-274.
- Bouhot D et Joannes H (1983) Potentiel infectieux des sols - concepts et modèles. *Bulletin de l'OEPP* 13(2): 291-295.
- Bouillenne R, Kronacher PG et De Roubaix J (1940) Etapes morphologiques et chimiques dans le cycle végétatif de la betterave sucrière. Publication de l'Institut Belge pour l'Amélioration de la Betterave 3: 87-166.
- Bowers JH, Sonoda RM et Mitchell DJ (1990) Path coefficient analysis of the effect of rainfall variables on the epidemiology of *Phytophthora* blight of pepper caused by *Phytophthora capsici*. *Phytopathology* 80: 1439-1446.
- Box GEP, Hunter WG et Hunter JS (1978) Statistics for experimenters: an introduction to design, data analysis and model building. New York, 672 pp.
- Brassett PR et Gilligan CA (1988) A model for primary and secondary infection in botanical epidemics. *Zeitschrift für Pflanzenkrankheit und Pflanzenschutz* 95(4): 352-360.
- Breton D, Béasse C, Montfort F et Villeneuve F (2003) Focus on the recent evolution of soil-borne diseases of carrot in France. *Proceeding of the 30th International Carrot Conference*, 7-10 September 2003, Muskegon, USA.
- Breton D, Bosc JP, Levivier S, Villeneuve F, Letouzé P et Rouxel F (1997) La tavelure de la carotte: une maladie racinaire complexe due à des *Pythium* spp. en sols de polders. 5ème Conférence Internationale sur les Maladies des Plantes, 3-5 décembre 1997, 3-4-5 décembre 1997, Tours.
- Breton D, Gomez C et Montfort F (2003) Evaluation of soil infectivity with baiting technique and detection of *P.violae* and *P.ultimum* in bait plants by nested-PCR. *Proceeding of the 30th International Carrot Conference*, 7-10 September 2003, Muskegon, USA.
- Breton D et Rouxel F (1993) Données récentes sur le cavity spot de la carotte en France. *Acta Horticulturae* 354: 159-170.
- Briard IM (1990) Etude comparée de *Phytophthora megasperma* (Dresch.) et *Pythium violae* (Chest. et Hick.) et de leurs relations avec la plante dans l'expression des symptômes de bague et de cavity-spot sur carotte (*Daucus carota*). Thèse de Doctorat. Université de Rennes 1, Rennes, 119 pp.
- Bruehl GW (1975) Biology and control of soil-borne plant pathogens. The American Phytopathological Society, St Paul, Minnesota, 216 pp.
- Burdon JJ et Chilvers GA (1975a) A comparison between host density and inoculum density effects on the frequency of primary infection foci in *Pythium*-induced damping-off disease. *Australian Journal of Botany* 23(6): 899-904.
- Burdon JJ et Chilvers GA (1975b) Epidemiology of damping-off disease (*Pythium irregulare*) in relation to density of *Lepidum sativum* seedlings. *Annals of Applied Biology* 81: 135-143.

- Burdon JJ et Chilvers GA (1982) Host density as a factor in plant disease ecology. *Annual Review of Phytopathology* 20: 143-166.
- Butt DJ et Royle DJ (1980) The importance of terms and definitions for a conceptually unified epidemiology. *In: Comparative epidemiology. A tools for better disease management.* J. Palti and J. Kranz, Pudoc, Wageningen, p. 29-45.
- Campbell CL et Benson DM (1994) *Epidemiology and management of root diseases.* Springer-Verlag, Berlin, 344 pp.
- Campbell CL et Madden LV (1990) *Introduction to plant disease epidemiology.* John Wiley & Sons, New York, 532 pp.
- Campbell CL et Noe JP (1985) The spatial analysis of soilborne pathogens and root diseases. *Annual Review of Phytopathology* 23: 129-148.
- Campion C (1996) Etude comparée des processus infectieux de *Pythium violae*, *P. sulcatum* et *P. ultimum* chez *Daucus carota* L. Rôles des enzymes fongiques et de la paroi végétale dans l'expression du cavity-spot. Thèse de Doctorat. Université de Rennes 1, Rennes, 142 pp.
- Campion C, Massiot P et Rouxel F (1997) Aggressiveness and production of cell wall degrading enzymes by *Pythium violae*, *Pythium sulcatum* and *Pythium ultimum*, responsible for cavity spot of carrot. *European Journal of Plant Pathology* 103(8): 725-735.
- Campion C, Vian B, Nicole M et Rouxel F (1998) A comparative study of carrot root tissue colonization and cell wall degradation by *Pythium violae* and *Pythium ultimum*, two pathogens responsible for cavity spot. *Canadian Journal of Microbiology* 44: 221-230.
- Canaday CH, Wyatt JE et Mullins JA (1991) Resistance in broccoli to bacterial soft rot caused by *Pseudomonas marginalis* and fluorescent *Pseudomonas* species. *Plant Disease* 75(7): 715-720.
- Caneill J, Fleury A et Ferre F (1994) L'élaboration du rendement de la betterave sucrière. *In: Elaboration du rendement des principales cultures annuelles.* L. Combe and D. Picard, INRA Editions, p. 143-153.
- Charron CS et Sams CE (1999) Inhibition of *Pythium ultimum* and *Rhizoctonia solani* by shredded leaves of Brassica species. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 124(5): 462-467.
- Chesters CGC et Hickman CJ (1944) On *Pythium violae* n. sp. and *P. oligandrum* Drechler from cultivated Viola. *Transactions of the British Mycological Society* 27: 55-62.
- Chun D et Lockwood JL (1985) Improvements in assays for soil populations of *Pythium ultimum* and *Macrophomina phaseolina*. *Phytopathologische Zeitschrift* 114(4): 289-294.
- Cilliers AJ, Pretorius ZA et Wyk PSv (2003) Integrated control of *Sclerotium rolfsii* on groundnut in South Africa. *Journal of Phytopathology* 151(5): 249-258.
- Clark PJ et Ewans FC (1954) Distance to nearest neighbour as a measure of spatial relationships in populations. *Ecology* 35: 445-453.
- Cohen JE (1995) Population growth and earth's human carrying capacity. *Science* 269: 341-346.
- Cohen Y et Coffey MD (1986) Systemic fungicides and the control of oomycetes. *Annual Review of Phytopathology* 24: 311-338.
- Colbach N (1995) Modélisation de l'influence des systèmes de culture sur les maladies du pied et des racines du blé tendre d'hiver. Thèse de Doctorat. INA P-G, Paris-Grignon, 258 pp.
- Colbach N, Lucas P et Meynard JM (1997) Influence of crop management on take-all development and disease cycles on winter wheat. *Phytopathology* 87(1): 26-32.
- Colbach N, Maurin N et Huet P (1996) Influence of cropping system on foot rot of winter wheat in France. *Crop Protection* 15(3): 295-305.
- Coleman BD (1979) Nonautonomous logistic equations as models of the adjustment of populations to environmental change. *Mathematical Bioscience* 45: 159-173.
- Cook RJ et Papendick RI (1972) Influence of water potential of soils and plants on root disease. *Annual Review of Phytopathology* 10: 349-374.

- Corbineau F, Picard MA et Come D (1994) Effects of temperature, oxygen and osmotic pressure on germination of carrot seeds: evaluation of seed quality. *Acta Horticulturae* 354: 9-15.
- Courchet M (1884) Etude anatomique sur les Ombellifères et sur les principales anomalies de structure que présentent leurs organes végétatifs. *Annales des Sciences Naturelles* 17(6): 107-129.
- Crowe FJ et Hall DH (1980) Vertical distribution of sclerotia of *Sclerotium cepivorum* and host root systems relative to white rot of onion and garlic. *Phytopathology* 70(1): 70-73.
- Dahal P et Bradford KJ (1994) Hydrothermal time analysis of tomato seed germination at suboptimal temperature and reduced water potential. *Seed Science Research* 4(2): 71-80.
- Dajoz (1974) *Dynamique des populations*. Masson, 301 pp.
- Davet P (1996) *Vie microbienne du sol et production végétale*. INRA Editions, 383 pp.
- Davis RM et Nunez JJ (1999) Influence of crop rotation on the incidence of *Pythium* and *Rhizoctonia* induced carrot root dieback. *Plant Disease* 83(2): 146-148.
- Davis RM, Nunez JJ et Guerard JP (1991) If registered, fungicide could reduce cavity spot of carrots. *California Agriculture* 45(2): 29-30.
- Davison EM et McKay AG (1998) *Pythium* spp. associated with cavity spot of carrots in Western Australia. *Australasian Plant Pathology* 27: 163-168.
- Davison EM et McKay AG (2000) Cavity spot in Australia. Carrot Conference Australia, 25-27 October 2000, Perth, Western Australia.
- Davison EM et McKay AG (2003) Host range of *Pythium sulcatum* and the effects of rotation on *Pythium* diseases of carrots. *Australasian Plant Pathology* 32: 339-346.
- De Wit de CT et Keulen van H (1987) Modelling production of field crops and its requirements. *Geoderma* 40: 253-265.
- Deacon JW et Mitchell RT (1985) Toxicity of oat roots, oat root extracts, and saponins to zoospores of *Pythium* spp. and other fungi. *Transactions of the British Mycological Society* 84(3): 479-487.
- Deevey ES (1960) The human population. *Scientific American* 203: 195-204.
- Deguine PJP et Ferron P (2004) Protection des cultures et développement durable: bilan et perspectives. Pages 33-41 in *Colloque Développement durable: leçons et perspectives*, Ouagadougou 2004.
<http://www.francophonie-durable.org/documents/colloque-ouaga-a3-contribution-deguine.pdf> [consulté le 29 août 2005].
- Dekock PC, Hall A et Inkson RHE (1981) Cavity spot of carrots. *Anales de Edafologia y Agrobiologia* 40(1/2): 307-316.
- Dick MW (1990) *Keys to Pythium*. University of Reading Press, Reading, UK, 64 pp.
- Dick MW et Ali-Shtayeh MS (1986) Distribution and frequency of *Pythium* species in parkland and farmland soils. *Transactions of the British Mycological Society* 86(1): 49-62.
- Dillard HR et Seen RC (1990) Incidence-severity relationships for common maize rust on sweet corn. *Phytopathology* 80(9): 842-846.
- Dimond AE (1941) Measuring inoculum potential and coverage index of sprays. *Phytopathology* 31: 7.
- Dimond AE et Horsfall JG (1960) Prologue - Inoculum and the diseased plant. In: *Plant pathology, an advanced treatise*. A. E. Dimond and J. G. Horsfall, Academic Press, New York & London, p. 1-22.
- Dimond AE et Horsfall JG (1965) The theory of inoculum. In: *Ecology of soil-borne plant pathogens*. K. F. Baker and W. C. Snyder, University of California Press, p. 404-415.
- Dobson A (2003) Metalife! *Science* 301: 1488-1490.
- Domsch KH, Gams W et Anderson T (1980) *Compendium of soil fungi*. Vol I. Academic Press, London, 859 pp.
- Ehler LE et Bottrell DG (2000) The illusion of integrated pest management. *Issues in Science and Technology* online. <http://www.issues.org/issues/16.3/ehler.htm> [consulté le 29 août 2005]. 61-64.

- El-Tarabily KA, Hardy GESJ et Sivasithamparam K (1996) Association of *Pythium coloratum* and *Pythium sulcatum* with cavity spot disease of carrots in Western Australia. *Plant Pathology* 45(4): 727-735.
- Elarosi H (1958) Fungal associations. III. The role of pectic enzymes on the synergistic relation between *Rhizoctonia solani* Kühn and *Fusarium solani* Snyder and Hansen, in the rotting of potato tubers. *Annals of Botany* 87: 399-416.
- Esau K (1940) Developmental anatomy of the fleshy storage organ of *Daucus carota*. *Hilgardia* 13(5): 175-226.
- Estrada-Garcia T, Ray TC et Green JR (1990) Encystment of *Pythium aphanidermatum* zoospores is induced by root mucilage polysaccharides, pectin and a monoclonal antibody to a surface antigen. *Journal of Experimental Botany* 41: 693-699.
- FAO (2002) FAO Yearbook Production Statistics.
- Ferron P (1999) Protection intégrée des cultures: évolution du concept et de son application. <http://www.inra.fr/dpenv/ferpid19.htm> [consulté le 29 août 2005]. *Cahiers Agricultures* 8: 389-396.
- Ferron P (2000) Bases écologiques de la protection des cultures: gestion des populations et aménagement de leurs habitats. *Courrier de l'Environnement de l'INRA* 41: 33-41.
- Firman DM et Allen EJ (1995) Effects of seed size, planting density and planting pattern on the severity of silver scurf (*Helminthosporium solani*) and black scurf (*Rhizoctonia solani*) diseases of potatoes. *Annals of Applied Biology* 127(1): 73-85.
- Fisher JC et Pry RH (1971) A simple substitution model of technological change. *Technological Forecasting and Social Change* 3: 75-88.
- Garrett SD (1956) *Biology of root-infecting fungi*. Cambridge University Press, London, 292 pp.
- Garrett SD (1960) Inoculum potential. *In: Plant pathology, an advanced treatise*. J. G. Horsfall and A. E. Dimond, Academic Press, London, p. 23-57.
- Garrett SD (1970) *Pathogenic root-infecting fungi*. Cambridge University Press, London, 294 pp.
- Gaunt RE (1995) The relationship between plant disease severity and yield. *Annual Review of Phytopathology* 33: 119-144.
- Geypens M (1974) Inoculum potential of soil-borne plant pathogenic fungi: problems encountered in analysis and significance in epidemiology. *Agro-Ecosystems* 1(2): 177-192.
- Gibson IAS (1956) Sowing density and damping-off in pine seedlings. *East African Agriculture Journal* 21: 183-188.
- Gilligan CA (1980) Zone of potential infection between host roots and inoculum units of *Gaeumannomyces graminis*. *Soil Biology and Biochemistry* 12(5): 513-514.
- Gilligan CA (1983) Modeling of soilborne pathogens. *Annual Review of Phytopathology* 21: 45-64.
- Gilligan CA (1985) Probability models for host infection by soilborne fungi. *Phytopathology* 75(1): 61-67.
- Gilligan CA (1990) Mathematical modelling and analysis of soilborne pathogens. *In: Epidemics of plant diseases, Second Edition*. J. Kranz, p. 96-142.
- Gilligan CA et Brassett PR (1990) Modelling and estimation of the relative potential for infection of winter wheat by inoculum of *Gaeumannomyces graminis* derived from propagules and infected roots. *Journal of Phytopathology* 129(1): 58-68.
- Gilligan CA et Kleczkowski A (1997) Population dynamics of botanical epidemics involving primary and secondary infection. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London* 352: 591-608.
- Gilligan CA et Simons SA (1987) Inoculum efficiency and pathozone width for two host-parasite systems. *New Phytologist* 107(3): 549-566.
- Gladders P et MacPherson GM (1986) Control of cavity spot in carrots with fungicides. *Aspect of Applied Biology* 12: 223-233.
- Goh KM et Ali NS (1983) Effects of nitrogen fertilisers, calcium and water regime on the incidence of cavity spot in carrot. *Fertilizer Research* 4(3): 223-230.
- Gold SE et Stanghellini GM (1985) Effects of temperature on *Pythium* root rot of spinach grown under hydroponic conditions. *Phytopathology* 75: 333-337.

- Gomez C (2001) Validation d'une méthode de détection directe dans la plante, par nested-PCR, de *Pythium violae* et *Pythium ultimum*, agents du cavity spot de la carotte. Rapport de stage du DAA Protection des Plantes et Environnement, ENSA de Rennes. 25 pp.
- Gourbière S et Gourbière F (2002) Competition between unit-restricted fungi: a metapopulation model. *Journal of Theoretical Biology* 217: 351-368.
- Grainger J (1956) Host nutrition and attack by fungal parasites. *Phytopathology* 46: 445-456.
- Green CD et Makin T (1985) Soil-borne transmission of cavity spot of carrots, grown in north Lincolnshire for processing. *Crop Protection* 4(3): 351-358.
- Green H et Jensen DF (2000) Disease progression by active mycelial growth and biocontrol of *Pythium ultimum* var. *ultimum* studied using a rhizobox system. *Phytopathology* 90(9): 1049-1055.
- Gregory PH (1968) Interpreting plant disease dispersal gradients. *Annual Review of Phytopathology* 6: 189-212.
- Griffin DM (1969) Soil water in the ecology of fungi. *Annual Review of Phytopathology* 7: 289-310.
- Grogan RG, Sall MA et Punja ZK (1980) Concepts for modelling root infection by soilborne fungi. *Phytopathology* 70(5): 361-363.
- Groom MR et Perry DA (1985a) The epidemiology and control of cavity spot of carrots. Annual report, Scottish Crop Research Institute. 132 pp.
- Groom MR et Perry DA (1985b) Induction of 'cavity spot like' lesions in roots of *Daucus carota* by *Pythium violae*. *Transactions of the British Mycological Society* 84: 755-758.
- Groth JV, Ozmon EA et Busch RH (1999) Repeatability and relationship of incidence and severity measures of scab of wheat caused by *Fusarium graminearum* in inoculated nurseries. *Plant Disease* 83: 1033-1038.
- Groth JV et Roelfs AP (1987) The concept and measurement of phenotypic diversity in *Puccinia graminis* on wheat. *Phytopathology* 77(10): 1395-1399.
- Guba EF, Young RE et UI T (1961) Cavity spot disease of carrots and parsnip roots. *Plant Disease Reporter* 45: 102-105.
- Guerin L (1993) Analyse de la diversité des *Pythium* spp. impliqués dans le cavity spot de la carotte et étude des relations hôte-parasite en vue de la sélection variétale pour la résistance. Thèse de Doctorat. Université de Rennes 1, Rennes, 101 pp.
- Guerin L, Briard M et Rouxel F (1994) Biochemical characterisation of *Pythium* spp. involved in cavity spot of carrots in France. *Annals of Applied Biology* 125: 255-265.
- Hack H, Bleiholder H, Buhr L, Meier U, Schnock-Fricke U, Weber E et Witzemberger A (1992) A uniform code for phenological growth stages of mono- and dicotyledonous plants. Extended BBCH scale, general. *Nachrichtenblatt des Deutschen Pflanzenschutzdienste* 44(12): 265-270.
- Hancock JG (1981) Longevity of *Pythium ultimum* in moist soils. *Phytopathology* 71(10): 1033-1037.
- Hancock JG et Grimes DW (1990) Colonization of rootlets of alfalfa by species of *Pythium* in relation to soil moisture. *Phytopathology* 80(12): 1317-1322.
- Hanski I (1999) Habitat connectivity, habitat continuity, and metapopulations in dynamic landscapes. *Oikos* 87(2): 209-219.
- Hardman JM et Dick MW (1987) Short-term fluctuations in availability of *Pythium* propagules for isolation from soil. *Transactions of the British Mycological Society* 88(1): 29-39.
- Hastings A (1990) Spatial heterogeneity and ecological models. *Ecology* 71: 426-428.
- Hau B, Amorim L et Bergamin Filho B (1993) Mathematical functions to describe disease progress curve of double sigmoid pattern. *Phytopathology* 83(9): 928-932.
- Hau B et Kranz J (1990) Mathematics and statistics for analysis in epidemiology. In: *Epidemics of plant diseases. Mathematical analysis and modelling*. J. Kranz, Springer-Verlag, Berlin, p. 12-52.
- Havis L (1939) Anatomy of the hypocotyl and roots of *Daucus carota*. *Journal of Agricultural Research* 58(8): 557-566.

- Hendrix FF et Campbell WA (1973) *Pythium* as plant pathogens. Annual Review of Phytopathology 11: 77-98.
- Hendrix FF et Papa KE (1974) Taxonomy and genetics of *Pythium*. Symposium on the genus *Pythium*. Annual Meeting of the American Phytopathological Society 1: 200-207.
- Heywood VH (1983) Relationships and evolution in the *Daucus carota* complex. Israelian Journal of Botany 32: 51-65.
- Hiltunen LH et White JG (2002) Cavity spot of carrot (*Daucus carota*). Annals of Applied Biology 141: 201-223.
- Hoper H et Alabouvette C (1996) Importance of physical and chemical soil properties in the suppressiveness of soils to plant diseases. European Journal of Soil Biology 32(1): 41-58.
- Hopfenberg R (2003) Human carrying capacity is determined by food availability. Population and Environment 25(2): 109-117.
- Hoppe PE (1966) *Pythium* species still viable after 12 years in air-dried muck soil. Phytopathology 65: 1411.
- Hornby D (1990) Biological control of soil-borne plant pathogens. CAB International, 479 pp.
- Hornby D, Bateman GL, Gutteridge RJ, Lucas P, Osbourne AE, Ward E et Yarham DJ (1998) Take-all disease of cereals, a regional perspective. CAB International, 384 pp.
- Horsfall (1932) Dusting tomato seed with copper sulfate monohydrate for combining damping-off. New York State Agricultural Experiment Station Technical Bulletin 198: 1-34.
- Howard RJ, Pratt RG et Williams PH (1978) Pathogenicity to carrots of *Pythium* species from organic soils of North America. Phytopathology 68(9): 1293-1296.
- Huang HC et Hoes JA (1980) Importance of plant spacing and sclerotial position to development of Sclerotinia wilt of sunflower. Plant Disease 64(1): 81-84.
- Huang HC et Kozub GC (1990) Cyclic occurrence of Sclerotinia wilt of sunflower in western Canada. Plant Disease 74: 766-770.
- Huber DM et Watson RD (1970) Effect of organic amendment on soil-borne plant pathogens. Phytopathology 60: 22-26.
- Hughes G et Madden LV (1993) Using the beta-binomial distribution to describe aggregated patterns of disease incidence. Phytopathology 83(7): 759-763.
- Hughes G, McRoberts N, Madden LV et Gottwald TR (1997) Relationships between disease incidence at two levels in a spatial hierarchy. Phytopathology 87(5): 542-550.
- Jacobsen BJ (1997) Role of plant pathology in integrated pest management. Annual Review of Phytopathology 35: 373-391.
- Jacobsohn R, Zutra D, Dan H et Kelman Y (1984) Studies of carrot cavity spot. Journal of Horticultural Science 59: 529-535.
- James WC (1974) Assessment of plant disease and losses. Annual Review of Phytopathology 12: 27-48.
- James WC et Shih CS (1973) Relationship between incidence and severity of powdery mildew and leaf rust on winter wheat. Phytopathology 63: 183-187.
- Jeger MJ (1987) The influence of root growth and inoculum density on the dynamics of root disease epidemics: theoretical analysis. New Phytologist 107(2): 459-478.
- Jeger MJ (2000) Theory and plant epidemiology. Plant Pathology 49(6): 651-658.
- Jeger MJ et Viljanen-Rollinson SLH (2001) The use of the area under the disease-progress curve (AUDPC) to assess quantitative disease resistance in crop cultivars. Theoretical and Applied Genetics 102(1): 32-36.
- Kageyama K, Ohyama A et Hyakumachi M (1997) Detection of *Pythium ultimum* using polymerase chain reaction with species-specific primers. Plant Disease 81(10): 1155-1160.
- Kageyama K, Uchino H et Hyakumachi M (1998) Characterization of the hyphal swelling group of *Pythium*: DNA polymorphisms and cultural and morphological characteristics. Plant Disease 82(2): 218-222.
- Kalu NN, Sutton JC et Vaartaja O (1976) *Pythium* spp. associated with root dieback of carrot in Ontario. Canadian Journal of Plant Science 56: 555-561.
- Kannwischer ME et Mitchell DJ (1978) The influence of a fungicide on the epidemiology of black shank of tobacco. Phytopathology 68(12): 1760-1765.

- Kao CW et Ko WH (1986) The role of calcium and microorganisms in suppression of cucumber damping-off caused by *Pythium splendens* in a Hawaiian soil. *Phytopathology* 76(2): 221-225.
- Kermack WO et McKendrick AG (1927) A contribution to the mathematical theory of epidemics. *Proceedings of the Royal Society of London* 115: 700-721.
- Ko WH et Kobayashi N (1985) *Pythium splendens*-suppressive soils from different islands of Hawaii. 17: 889-891.
- Koch DO, Jeger MJ, Gerik TJ et Kenerley CM (1987) Effects of plant density on progress of *Phymatotrichum* root rot in cotton. *Phytopathology* 77(12): 1657-1662.
- Kocks CG, Ruissen MA, Zadoks JC et Duijkers MG (1998) Survival and extinction of *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* in soil. *European Journal of Plant Pathology* 104(9): 911-923.
- Kranz J et Rotem J (1987) Experimental techniques in plant disease epidemiology.
- Krzesinski W et Knaflowski M (2004) Preliminary model of carrot growth. *Acta Horticulturae* 654: 235-241.
- Lackner AL et Alexander SA (1984) Incidence and development of *Verticillium dahliae* in Virginia Christmas tree plantations. *Plant Disease* 68: 210-212.
- Langerfeld E (1981) Single and mixed infection of potato tubers with fungal and bacterial rot pathogens at different relative humidities. *Nachrichtenblatt des Deutschen Pflanzenschutzdienstes* 33(1): 1-4.
- Large EC (1966) Measuring plant disease. *Annual Review of Phytopathology* 4: 9-28.
- Larkin RP, English JT et Mihail JD (1995a) Effects of infection by *Pythium* spp. on root system morphology of alfalfa seedlings. *Phytopathology* 85(4): 430-435.
- Larkin RP, English JT et Mihail JD (1995b) Identification, distribution and comparative pathogenicity of *Pythium* spp. associated with alfalfa seedlings. *Soil Biology and Biochemistry* 27(3): 357-364.
- Lee YS et Hoy JW (1992) Interactions among *Pythium* species affecting root rot of sugarcane. *Plant Disease* 76(7): 735-739.
- Legay JM (1997) L'expérience et le modèle. INRA Editions, 112 pp.
- Leipe DD, Wainright PO, Gunderson JH, Porter D, Patterson DJ, Valois F, Himmerich S et Sogin ML (1994) The stramenopiles from a molecular perspective: 16S-like rRNA sequences from *Labyrinthuloides minuta* and *Cafeteria roenbergensis*. *Phycologia* 33: 369-377.
- Lévesque CA et De Cock AWAM (2004) Molecular phylogeny and taxonomy of the genus *Pythium*. *Mycological Research* 108(12): 1363-1383.
- Levins R (1969) Some demographic and genetic consequences of environmental heterogeneity for biological control. *Bulletin of the Entomology Society of America* 15: 237-240.
- Lewis JA et Lumsden RD (1984) Reduction of preemergence damping-off of peas caused by *Pythium ultimum* with calcium oxide. *Canadian Journal of Plant Pathology* 6: 227-232.
- Lewis JA et Papavizas GC (1971) Effect of sulfur containing volatile compounds and vapors from cabbage decomposition on *Aphanomyces euteiches*. *Phytopathology* 61: 208-214.
- Li B, Watkinson AR et Hara T (1996) Dynamics of competition in populations of carrot (*Daucus carota*). *Annals of Botany* 78: 203-214.
- Liddell CM, Davis RM, Nunez JJ et Guerand JP (1989) Association of *Pythium* spp. with carrot root diseases in the San Joaquin Valley of California. *Plant Disease* 73(3): 246-248.
- Lievens B, Brouwer M, Vanachter ACRC, Lévesque CA, Cammue BPA et Thomma BPHJ (2005) Quantitative assessment of phytopathogenic fungi in various substrates using a DNA microarray. *Environmental Microbiology* 7(11): 1698-1710.
- Lifshitz R et Hancock JG (1983) Saprophytic development of *Pythium ultimum* in soil as a function of water matrix potential and temperature. *Phytopathology* 73: 257-261.
- Lin YS et Lo CT (1988) Control of *Pythium* damping off and root rot of cucumber with S-H mixture as soil amendment. *Plant Protection Bulletin, Taiwan* 30(3): 223-234.
- Littley ER et Rahe HJ (1987) Effect of host plant density on white rot of onion caused by *Sclerotium cepivorum*. *Canadian Journal of Plant Pathology* 9(2): 146-151.

- Lockwood JL (1988) Evolution of concepts associated with soilborne plant pathogens. *Annual Review of Phytopathology* 26: 93-121.
- Lovell DJ, Powers SJ, Welham SJ et Parker SR (2004) A perspective on the measurement of time in plant disease epidemiology. *Plant Pathology* 53(6): 705-712.
- Lucas P (2006) Diseases caused by soil-borne pathogens. *In: The epidemiology of plant diseases*, Second Edition. BM Cooke, DG Jones and B Kaye, University College Dublin, Ireland, p. 376-386.
- Lumsden RD, Ayers WA, Adams PB, Dow RL, Lewis JA, Papavizas GC et Kantzes JG (1976) Ecology and epidemiology of *Pythium* species in field soil. *Phytopathology* 66: 1203-1209.
- Lung-Escarmant B et Guyon D (2004) Temporal and spatial dynamics of primary and secondary infection by *Armillaria ostoyae* in a *Pinus pinaster* plantation. *Phytopathology* 94(2): 125-131.
- Lyons NF et White JG (1992) Detection of *Pythium violae* and *Pythium sulcatum* in carrots with cavity spot using competition ELISA. *Annals of Applied Biology* 120(2): 235-244.
- Lyshol AJ, Semb L et Taksdal G (1984) Reduction of cavity spot and root dieback in carrots by fungicide applications. *Plant Pathology* 33: 193-198.
- Maanen A et Xu XM (2003) Modelling plant disease epidemics. *European Journal of Plant Pathology* 109(7): 669-682.
- Madden LV et Campbell CL (1990) Spatial aspects of plant disease epidemics. I. dispersal gradients and long-range transport. *In: Introduction to plant disease epidemiology*. LV Madden and CL Campbell, John Wiley & Sons, New York, p. 253-287.
- Madden LV et Hughes G (1995) Plant disease incidence: distributions, heterogeneity, and temporal analysis. *Annual Review of Phytopathology* 33: 529-564.
- Manichon H (1982) Influence des systèmes de culture sur le profil cultural: élaboration d'une méthode de diagnostic basée sur l'observation morphologique. Thèse de Doctorat. INA P-G, 241 pp.
- Martin FN et Hancock JG (1986) Association of chemical and biological factors in soils suppressive to *Pythium ultimum*. *Phytopathology* 76(11): 1221-1231.
- Martin FN et Hancock JG (1987) The use of *Pythium oligandrum* for biological control of preemergence damping-off caused by *P. ultimum*. *Phytopathology* 77(7): 1013-1020.
- Martin FN et Kistler HC (1990) Species-specific banding patterns of restriction endonuclease digested mitochondrial DNA from the genus *Pythium*. *Experimental Mycology* 14: 32-46.
- Martin FN et Loper JE (1999) Soilborne plant diseases caused by *Pythium* spp.: ecology, epidemiology, and prospects for biological control. *Critical Reviews in Plant Sciences* 18: 111-181.
- Matthews VD (1931) *Studies on the genus Pythium*. University of North Carolina Press, Chapel Hill, 134 pp.
- Maynard DN, Gaston B, Young RE et Vernell HF (1963) The influence of plant maturity and calcium level on the occurrence of carrot cavity spot. *American Society for Horticultural Science* 78: 339-342.
- Maynard DN, Gersten B, Vlack EF et Vernell HF (1961) The effects of nutrient concentration and calcium levels on the occurrence of carrot cavity spot. *American Society for Horticultural Science* 78: 339-342.
- McDonald MR (1994) Cavity spot of carrot (*Pythium* spp.): etiology, epidemiology and control. Thèse de Doctorat. University of Guelph, 399 pp.
- McErloy FD, Pepin HS et Ormod DJ (1971) Dieback of carrot root caused by *Pythium debaryanum*. *Phytopathology* 61: 586-587.
- McKay A et Davison E (1998) Carrot variety screening for cavity spot tolerance. Carrot Export Development Project.
- McRoberts N, Hughes G et Madden LV (2003a) The theoretical basis and practical application of relationships between different disease intensity measurements in plants. *Annals of Applied Biology* 142: 191-211.
- McRoberts N, Hughes G et Savary S (2003b) Integrated approaches to understanding and control of diseases and pests in field crops. *Australasian Plant Pathology* 32(2): 167-180.

- Messiaen CM, Blancard D, Rouxel F et Lafon R (1991) Les maladies des plantes maraîchères. INRA Editions, 552 pp.
- Meyer P (1994) Bi-logistic growth. *Technological Forecasting and Social Change* 47: 89-102.
- Meyer PS et Ausubel JH (1999) Carrying capacity: a model with logistically varying limits. *Technological Forecasting and Social Change* 61(3): 209-214.
- Meynard JM, Doré T et Lucas P (2003) Agronomic approach: cropping systems and plant diseases. *Comptes Rendus de l'Académie des Sciences - Series III - Sciences de la Vie* 326(1): 37-46.
- Middleton JT (1943) The taxonomy, host range, and geographic distribution of the genus *Pythium*. *Memoirs of the Torrey Botanical Club* 20: 1-171.
- Mihail JD, Hung LF et Bruhn JN (2002) Diversity of a *Pythium* community infecting roots of the annual legume *Kummerowia stipulacea*. *Soil Biology and Biochemistry* 34: 585-592.
- Mildenhall JP, Pratt RG, Williams PH et Mitchell JE (1971) *Pythium* brown root and forking of muckgrown carrots. *Plant Disease* 55: 536-540.
- Milford GFJ, Pocock TO et Riley J (1985) An analysis of leaf growth in sugar beet. I. Leaf appearance and expansion in relation to temperature under controlled conditions. *Annals of Applied Biology* 106(1): 163-172.
- Minogue KP (1989) Diffusion and spatial probability models for disease spread. In: *Spatial components of plant disease epidemics*. MJ Jeger, Prentice-Hall, Englewood Cliffs, New Jersey, p. 127-143.
- Mitchell DJ (1978) Relationships of inoculum levels of several soilborne species of *Phytophthora* and *Pythium* to infection of several host. *Phytopathology* 68: 1754-1759.
- Montfort F et Rouxel F (1985) La maladie de la tache de la carotte primeur due au *Pythium* sp. *Premières Journées d'Etudes sur les Maladies des Plantes, ANPP*, 26-27 février 1985.
- Montfort F et Rouxel F (1988) La maladie de la tache de la carotte due à *Pythium violae*: données symptomatologiques et étiologiques. *Agronomie* 8(8): 701-706.
- Morris GEL et Currah IE (1983) Weight, size and shape relationships and their uses in the study of graded yield data. *Journal of Agricultural Science* 100(1): 211-220.
- Nagai Y, Fukami M, Murata A et Watanabe T (1986) Brown-blotted root rot of carrots in Japan. (1) Occurrence, symptoms and isolation. *Annals of the Phytopathological Society of Japan* 52: 278-286.
- Nelson EB, Harman GE et Nash GT (1988) Enhancement of *Trichoderma*-induced biological control of *Pythium* seed rot and pre-emergence damping-off of peas. *Soil Biology and Biochemistry* 20(2): 145-150.
- Newton MR, Kinkel LL et Leonard KJ (1998) Determinants of density- and frequency-dependant fitness in competing plant pathogens. *Phytopathology* 88(1): 45-51.
- Nutter FW, Teng PS et Shokes FM (1991) Disease assessment terms and concepts. *Plant Disease* 75(11): 1187-1188.
- OILB-SROP (1973) Statuts. *Bulletin SROP*. 25 pp.
- Okubara PA, Schroeder KL et Paulitz TC (2005) Real-time polymerase chain reaction: applications to studies on soilborne pathogens. *Canadian Journal of Plant Pathology* 27: 300-313.
- Otten W, Bailey DJ et Gilligan CA (2004) Empirical evidence of spatial thresholds to control invasion of fungal parasites and saprotrophs. *New Phytologist* 163(1): 125-132.
- Otten W, Filipe JAN, Bailey DJ et Gilligan CA (2003) Quantification and analysis of transmission rates for soilborne epidemics. *Phytopathology* 84(12): 3232-3239.
- Patefield WM et Austin RB (1971) A model for the simulation of the growth of *Beta vulgaris*. *Annals of Botany* 35: 1227-1250.
- Paulitz TC et Adams K (2003) Composition and distribution of *Pythium* communities in wheat fields in Eastern Washington State. *Phytopathology* 93(7): 867-873.
- Pearl R et Reed LJ (1925) Skew growth curves. *Proceeding of the National Academy of Natural Sciences of the USA* 11: 16-22.
- Perry DA (1983) Effect of soil cultivation and anaerobiosis on cavity spot of carrots. *Annals of Applied Biology* 103: 541-547.

- Perry DA et Harrison JG (1977) Pectolytic anaerobic bacteria cause symptoms of cavity spot in carrots. *Nature* 269(5628): 509-510.
- Perry DA et Harrison JG (1979a) Cavity spot of carrots. I. Symptomatology and calcium involvement. *Annals of Applied Biology* 93(1): 101-108.
- Perry DA et Harrison JG (1979b) Cavity spot of carrots. II. The effect of soil conditions and the role of pectolytic anaerobic bacteria. *Annals of Applied Biology* 93(1): 109-115.
- Petch G et White G (1995) Coping with cavity spot. *Grower* 16: 18-20.
- Peterson S et Richmond B (1997) STELLA 6.0, Technical Documentation. High Performance Systems, Inc.
- Pett B et Kleinhempel D (1976) On the problem of mixed infection (*Pectobacterium carotovorum* var. *atrosepticum* (van Hall) Dowson and *Fusarium* spp.) on potato tubers. *Archiv für Phytopathologie und Pflanzenschutz* 12(5): 315-322.
- Pfender WF (1982) Monocyclic and polycyclic root diseases: distinguishing between the nature of the disease cycle and the shape of the disease progress curve. *Phytopathology* 72(1): 31-32.
- Pfender WF et Hagedorn DJ (1983) Disease progress and yield loss in *Aphanomyces* root rot of peas. *Phytopathology* 73(8): 110-113.
- Phan CT et Hsu H (1973) Physical and chemical changes occurring in the carrot root during growth. *Canadian Journal of Plant Science* 53: 629-634.
- Phelps K, White JG et Henn AJ (1991) Studies on the frequency distribution of *Pythium*-induced cavity spot of carrots. *Annals of Applied Biology* 119(1): 21-30.
- Pieczarka DJ et Abawi GS (1978) Populations and biology of *Pythium* species associated with snap bean roots and soils in New York. *Phytopathology* 68: 409-416.
- Pratt RG et Mitchell JE (1973) A new specie of *Pythium* from Wisconsin and Florida isolated from carrots. *Canadian Journal of Botany* 51: 333-339.
- Quetelet A (1835) Sur l'homme et le développement de ses facultés ou essai de physique sociale. Bachelier, Paris, 329 pp.
- Rao B, Schmitthenner AF, Caldwell R et Ellet CW (1978) Prevalence and virulence of *Pythium* species associated with root rot of corn in poorly drained soil. *Phytopathology* 68: 1557-1563.
- Reader RJ et Phelps K (1991) Modelling the development of temperature-dependent processes. *Genstat Newsletter* 28: 27-32.
- Reid JB et English JM (2000) Potential yield in carrots (*Daucus carota* L.): theory, test, and an application. *Annals of Botany* 85: 593-605.
- Rekah Y, Shtienberg D et Katan J (1999) Spatial distribution and temporal development of fusarium crown and root rot of tomato and pathogen dissemination in field soil. *Phytopathology* 89(9): 831-839.
- Rekah Y, Shtienberg D et Katan J (2001) Population dynamics of *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* in relation to the onset of fusarium crown and root rot of tomato. *European Journal of Plant Pathology* 107: 367-375.
- Reynolds KM, Benson DM et Bruck RI (1985) Epidemiology of Phytophthora root rot of Fraser fir: estimates of rhizosphere width and inoculum efficiency. *Phytopathology* 75(9): 1010-1014.
- Rimour S (2000) Utilisation des morphomathématiques pour caractériser la structure d'une distribution de points dans un plan. Rapport de stage. Université Blaise Pascal / Cemagref, Clermont-Ferrand. 73 pp.
- Robert (2003) Le Petit Robert. Dictionnaire alphabétique et analogique de la langue française. 2949 pp.
- Robinson RA (1976) Plant pathosystem. Springer-Verlag, Berlin, 184 pp.
- Roche R, Fleury A et Villeneuve F (1991) Relation entre la morphologie du pivot de la carotte et l'état structural du profil. Rapport interne INA P-G / CTIFL. 76 pp.
- Roche R, Fleury A, Villeneuve F et Roger Estrade J (1994) Qualité morphologique de la racine et état du profil cultural. *Acta Horticulturae* 354: 67-82.
- Rogers SO et Bendich AJ (1985) Extraction of DNA from milligram amounts of fresh herbarium and mummified plant tissues. *Plant Molecular Biology* 5: 69-76.
- Rouse DI, MacKenzie DR, Nelson RR et Elliott VJ (1981) Distribution of wheat powdery mildew incidence in field plots and relationship to disease severity. *Phytopathology* 71: 1015-1020.

- Rouxel F et Alabouvette C (1991) Le sol, source et régulateur de parasites. 3ème Conférence Internationale sur les Maladies des Plantes, 3-5 décembre 1991, Bordeaux.
- Rouxel F et Breton D (1998) Variation in the pathogenicity of *Pythium* species on carrots. 7th International Congress of Plant Pathology, 9-16 juillet 1998, Edinburgh.
- Salter PJ, Currah IH et Fellows JR (1980) Further studies on the effects of plant density, spatial arrangement and time of harvest on yield and root size in carrots. *Journal of Agricultural Sciences of Cambridge* 94: 365-378.
- Sanssené J, Chauplannaz S, Navarro M, Abjean C et Richard G (2005) Effet de l'humidité et de la compacité du sol sur la pourriture du pois causée par *Aphanomyces euteiches* et sur le déplacement de ses zoospores. 6ème Congrès de la Société Française de Phytopathologie, 23-25 février 2005, Toulouse.
- SAS (1989) Statistical Analysis System, SAS Institute Inc.
- Savary S, Willocquet L, Elazegui FA, Teng PS, Van Du P, Zhu D, Tang Q, Huang S, Lin X, Singh HM et Srivastava RK (2000) Rice pest constraints in tropical Asia: characterization of injury profiles in relation to production situations. *Plant Disease* 84(3): 341-356.
- Savary S, Willocquet L et Teng PS (1997) Modelling sheath blight epidemics on rice tillers. *Agricultural Systems* 55(3): 359-384.
- Scaife MA, Burton AK et Turner MK (1980) Cavity spot of carrots - an association with soil ammonium. *Communications in Soil Science and Plant Analysis* 11(6): 621-628.
- Scaife MA, Turner MK et Barnes A (1983) Cavity spot of carrots - observance on a commercial crop. *Annals of Applied Biology* 102: 567-575.
- Scaife MA, Turner MK, Hunt MK et Barnes A (1981) Cavity spot of carrots - a pot experiment on cation effects. *Communications in Soil Science and Plant Analysis* 12(9): 897-908.
- Schoeny A et Lucas P (1999) Modelling of take-all epidemics to evaluate the efficacy of a new seed-treatment fungicide on wheat. *Phytopathology* 89(10): 954-961.
- Schrandt JK, Davis RM et Nunez JJ (1994) Host range and influence of nutrition, temperature and pH on growth of *Pythium violae* from carrot. *Plant Disease* 78(4): 335-338.
- Scott MR (1956a) Studies of the biology of *Sclerotium cepivorum* Berk. I. Growth of the mycelium in soil. *Annals of Applied Biology* 44(4): 576-583.
- Scott MR (1956b) Studies of the biology of *Sclerotium cepivorum* Berk. II. The spread of white rot from plant to plant. *Annals of Applied Biology* 44(4): 584-589.
- Scott RK, Harper F, Wood DW et Jaggard KW (1974) Effects of seed size on growth, development and yield of monogerm sugar beet. *Journal of Agricultural Science* 82(3): 517-530.
- Seem RC (1984) Disease incidence and severity relationships. *Annual Review of Phytopathology* 22: 137-150.
- Segarra J, Jeger MJ et van den Bosch F (2001) Epidemics dynamics and patterns of plant diseases. *Phytopathology* 91(10): 1001-1010.
- Shaner G et Finney RE (1977) The effect of nitrogen fertilization on the expression of slow-mildewing resistance in Knox wheat. *Phytopathology* 67: 1051-1056.
- Sheldon AL (1969) Equitability indices: dependence on the species count. *Ecology* 50(3): 466-467.
- Shew HD (1987) Effect of host resistance on spread of *Phytophthora parasitica* var. *nicotianae* and subsequent development of tobacco black shank under field conditions. *Phytopathology* 77(7): 1090-1093.
- Shlevin E, Ben-Nun R, Tzror L, Nachmias A et Ohali I (1987) Reduction of cavity spots in carrots by Ridomil applications. *Hassadeh* 97(11): 2272-2274.
- Sideris GP (1932) Taxonomic studies in the family Pythiaceae. II. *Pythium*. *Mycologia* 24: 14-61.
- Small E (1978) A numeral taxonomic analysis of the *Daucus carota* complex. *Canadian Journal of Botany* 56: 248-276.
- Smith BM, Crowther TC, White JG et Martyn L (1997) Screening carrot germplasm for resistance to cavity spot caused by *Pythium violae*. *Journal of Applied Genetics* 38A: 60-70.

- Smith VL, Campbell CL, Jenkins SF et Benson DM (1988) Effects of host density and number of disease foci on epidemics of southern blight of processing carrot. *Phytopathology* 78(5): 595-600.
- Sokal RR et Rohlf FJ (1995) *Biometry: the principles and practice of statistics in biological research*. New York, 887 pp.
- Soroker E, Bashan Y et Okon Y (1984) Reproducible induction of cavity spot in carrots and physiological and microbial changes occurring during cavity formation. *Soil Biology and Biochemistry* 16: 541-548.
- Stacey AJ, Truscott JE et Gilligan CA (2001) Soil-borne fungal pathogens: scaling-up from hyphal to colony behaviour and the probability of disease transmission. *New Phytologist* 150: 169-177.
- Stack RW (1980) Disease progression in common root rot of spring wheat and barley. *Canadian Journal of Plant Pathology* 2: 187-193.
- Stanghellini ME (1974) Spore germination, growth and survival of *Pythium* in soil. *Proceedings of the American Phytopathology Society* 1: 211-214.
- Stanhill G (1977a) Allometric Growth Studies of the carrot crop. I. Effects of plant development and cultivar. *Annals of Botany* 41: 533-540.
- Stanhill G (1977b) Allometric Growth Studies of the carrot crop. II. Effects of cultural practices and climatic environment. *Annals of Botany* 41: 541-552.
- Steinhorst JW (1973) The relation between nematode distribution in a field and loss in yield at different average nematode densities. *Nematologica* 9: 421-427.
- Strandberg J (1973) Spatial distribution of cabbage black rot and the estimation of diseased plant populations. *Phytopathology* 63: 998-1003.
- Sutherland RA et Benjamin LR (1987) A new model relating crop yield and plant arrangement. *Annals of Botany* 59: 399-411.
- Sweet JB, Lake SE, Wright IR et Priestley RH (1986) Resistance of carrot varieties to cavity spot disease. *Aspects of Applied Biology* 12: 235-245.
- Swift MJ (1976) Species diversity and the structure of microbial communities in terrestrial habitats. *In: The role of aquatic and terrestrial organisms in decomposition processes*. JM Anderson and A McFadyen. Oxford, Blackwell Scientific Publications, p. 185-222.
- Tamet V, Durr C et Boiffin J (1993) Croissance des plantules de carotte de la germination jusqu'à l'apparition des premières feuilles. First International Workshop on Carrot, 15 et 16 septembre 1992, Caen, France, *Acta Horticulturae / CTIFL*.
- Teng PS (1983) Estimating and interpreting disease intensity and loss in commercial fields. *Phytopathology* 73: 1587-1590.
- Teng PS (1985) A comparison of simulation approaches to epidemic modelling. *Annual Review of Phytopathology* 23: 351-379.
- Toussoun TA, Bega RV et Nelson PE (1970) *Root diseases and soil-borne pathogens*. University of California Press, 252 pp.
- Trudgill DL, Honek A, Li D et Straalen van NM (2005) Thermal time - concepts and utility. *Annals of Applied Biology* 146(1): 1-14.
- Tu CC (1991) Integrated control of the pea root rot disease complex in Ontario. *Plant Disease* 71(1).
- Turechek WW et Madden LV (2001) Effect of scale on plant disease incidence and heterogeneity in a spatial hierarchy. *Ecological Modelling* 144: 77-95.
- Ulrich A (1952) The influence of temperature and light factors on the growth and development of sugar beets in controlled climatic conditions. *Agronomy Journal* 44: 66-73.
- Van der Plaats-Niterink AJ (1981) Monograph of the genus *Pythium*. *Studies in Mycology* 21: 224.
- Van der Plank JE (1963) *Plant diseases: epidemics and control*. New York & London, 349 pp.
- Van der Plank JE (1975) *Principles of plant infection*. Academic Press, New York, 216 pp.
- Vasseur V, Breton D, Verger S et Foucher S (2001) Identification de 13 espèces de *Pythium* par PCR et PCR-RFLP: reproductibilité de techniques moléculaires. *Phytoma* 535: 33-36.

- Verhulst PF (1838) Notice sur la loi que la population suit dans son accroissement. Correspondance Mathématique et Physique 10: 113-121.
- Villeneuve F, Bosc JP, Rouxel F et Breton D (1997) Intra and inter specific variability of *Pythium* and possibility of varietal resistance improvement in carrot. Journal of Applied Genetic 38A: 71-80.
- Villeneuve F, Bossis M, Breton D, Brunel E, Diare N et Rouxel F (2001) La carotte en France: principaux ennemis de la culture et programmes de recherches en cours. Phytoma 536: 37-39.
- Villeneuve F et Leteinturier J (1992a) La Carotte: état des connaissances. Tome 2. CTIFL / SILEBAN, 227 pp.
- Villeneuve F et Leteinturier J (1992b) La Carotte: guide pratique. Tome 1. CTIFL / SILEBAN, 229 pp.
- Villeneuve F et Letouzé P (1994) Variétés de carotte: faire le bon choix. Info-CTIFL 105: 28-33.
- Vivoda E, Davis RM, Nunez JJ et Guerard JP (1991) Factors affecting the development of cavity spot of carrot. Plant Disease 75(5): 519-522.
- Wagenvoort WA, Blok I, Monbarg HFM et Velhuizen T (1989) Cavity spot of carrot in relation to a *Pythium* sp. Gartenbauwissenschaft 54: 70-73.
- Waggoner PE et Rich S (1981) Lesion distribution, multiple infection, and the logistic increase of plant disease. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 78(6): 3292-3295.
- Wang PH et White JG (1997) Molecular characterization of *Pythium* species based on RFLP analysis of the internal transcribed spacer region of ribosomal DNA. Physiological and Molecular Plant Pathology 51(2): 129-143.
- Watanabe T, Nagai Y et Fukami M (1986) Brown-blotted root rot of carrots in Japan. (2) Culture and identification. Annals of the Phytopathological Society of Japan 52(2): 287-291.
- Waterhouse GM (1968) The genus *Pythium*, diagnosis (or descriptions) and figures from the original papers. Mycological paper No. 110. Commonwealth Mycological Institute, Kew, Surrey, England, 1-71 pp.
- Watson AG (1966) Seasonal variation in inoculum potentials of spermosphere fungi. New Zealand Journal of Agriculture Research 9: 956-963.
- Way MJ et Emden HF (2000) Integrated pest management in practice - pathways towards successful application. Crop Protection 19: 81-103.
- Webb CR, Gilligan CA et Asher MJC (1999) A model for the temporal buildup *Polymyxa betae*. Phytopathology 89: 30-38.
- Werker AR et Gilligan CA (1990) Analysis of the effects of selected agronomic factors on the dynamics of the take-all disease of wheat in field plots. Plant Pathology 39: 161-177.
- White G (1991) Curing spotty carrots. Grower 115: 9-10.
- White JG (1984) Association of *Pythium* and *Phytophthora* spp. with cavity spot. Report of the National Vegetable Research Station for 1983. 80-81 pp.
- White JG (1986) The association of *Pythium* spp. with cavity spot and root dieback of carrots. Annals of Applied Biology 108: 265-273.
- White JG (1988) Studies on the biology and control of cavity spot of carrots. Annals of Applied Biology 113: 259-268.
- White JG (1992) The effects of previous cropping and fungicides on field populations of *Pythium oligandrum*. Phytoparasitica 20: 117S-120S.
- White JG, Lyons NF, Wakeham AJ, Mead A et Green JR (1994) Serological profiling of the fungal genus *Pythium*. Physiological and Molecular Plant Pathology 44: 349-361.
- White JG, Petch GM et Hiltunen LH (1997) Development of a commercial diagnostic test for cavity spot. Carrot Country 5(3): 7-11.
- White JG, Stanghellini ME et Ayoubi LM (1988) Variation in the sensitivity to metalaxyl of *Pythium* spp. isolated from carrot and other sources. Annals of Applied Biology 113: 269-277.
- White JG et Wakeham AJ (1987) Responses of *Pythium* spp. associated with cavity spot of carrots to metalaxyl and related fungicides. Annals of Applied Biology 102: 117-121.
- White JG, Wakeham AJ et Shlevin E (1993) *Pythium violae* isolated from cavity spot lesions on carrots in Israel. Phytoparasitica 21: 239-243.

- White JM et Strandberg JO (1973) Early root growth of carrots in organic soil. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 103(3): 344-347.
- Wilkinson HT, Cook RJ et Alldredge JR (1985) Relation of inoculum size and concentration to infection of wheat roots by *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici*. *Phytopathology* 75(1): 98-103.
- Willoquet L et Savary S (2004) An epidemiological simulation model with three scales of spatial hierarchy. *Phytopathology* 94(8): 883-891.
- Wurr DCE, Fellows JR et Phelps K (2002) Crop scheduling and prediction: principles and opportunities with field vegetables. *Advances in Agronomy* 76: 201-234.
- Xu XM, Parry DW, Nicholson P, Thomsett MA, Simpson D, Edwards SG, Cooke BM, Doohan FM, Brennan JM, Moretti A, Tocco G, Mule G, Hornok L, Giczey G et Tatnell J (2005) Predominance and association of pathogenic fungi causing Fusarium ear blight in wheat in four European countries. *European Journal of Plant Pathology* 112: 143-154.
- Xu XM et Ridout MS (1998) Effects of initial epidemic conditions, sporulation rate, and spore dispersal gradient on the spatio-temporal dynamics of plant disease epidemics. *Phytopathology* 88: 1000-1012.
- Zadoks JC (1971) Systems analysis and the dynamics of epidemics. *Phytopathology* 61: 600-610.
- Zadoks JC et Schein RD (1979) *Epidemiology and plant disease management*. Oxford University Press, New York, 427 pp.
- Zamski E et Peretz I (1995) Cavity spot of carrots: interactions between the host and pathogen, related to the cell wall. *Annals of Applied Biology* 127: 23-32.
- Zhang BX, Ge QX, Chen DH, Wang ZY et He SS (1990) Biological and chemical control of root diseases on vegetable seedlings in Zhejiang province, China. *In: Biological control of soil-borne plant pathogens*. D Hornby, CAB International, p. 181-196.
- Zhang XS, Holt J et Colvin J (2001) Synergism between plant viruses: a mathematical analysis of the epidemiological implications. *Plant Pathology* 50: 732-746.

VALORISATION DE LA THESE AU 01-07-2006**Publications soumises dans un journal (avec ou sans comité de lecture)**

- Suffert F (2005) Cadre théorique de la notion de complémentarité caractérisant des stratégies de protection des cultures. *Phytoprotection* 86: 89-92.
- Suffert F et Montfort F (200-) Phytopathometry of the cavity spot of carrot. Soumis à *European Journal of Plant Pathology*.
- Suffert F et Montfort F (200-) Demonstration of secondary infection by *Pythium violae* in epidemics of carrot cavity spot using root transplantation as a method of soil infestation. Soumis à *Plant Pathology*.
- Suffert F et Guibert M (200-) Ecology of a *Pythium* community applied to epidemiology of carrot cavity spot. Soumis à *Applied Soil Ecology*.
- Suffert F (200-) Epidémiologie du cavity spot de la carotte. Comprendre et modéliser les mécanismes d'une maladie d'origine tellurique dans une perspective de protection intégrée. Soumis à *Phytoma - La Défense des Végétaux*.

Projets de publication

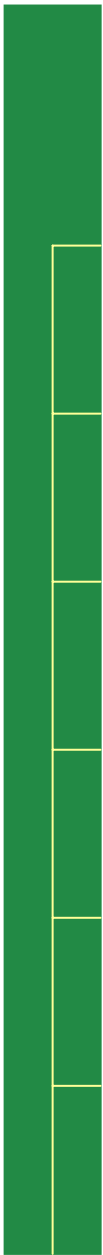
- Suffert F et Delalande D (200-) Effect of cropping factors on secondary infection during a carrot cavity spot epidemic – I. Sowing density and distance between roots.
- Suffert F (200-) Effect of cropping factors on secondary infection during a carrot cavity spot epidemic – II. Fungicide treatment and soil moisture.

Présentations en congrès (communications orales et posters)

- Suffert F, Guibert M, Prunier M et Montfort F (2002) Influence de la densité d'inoculum sur le développement d'une épidémie de cavity spot sur carottes causées par *Pythium violae* en conditions naturelles. IVe Rencontres de Phytopathologie et Mycologie, 13-17 mars 2002, Aussois.
- Suffert F et Guibert M (2003) Evolution d'un complexe *Pythium* responsable du cavity spot de la carotte après infestation de parcelles par *P. violae* : conséquences sur l'interprétation d'essais en plein champ. VIIe Conférence Internationale sur les Maladies des Plantes, AFPP, 3-5 décembre 2003, Tours.
- Suffert F, Guibert M, Beuzelin J et Montfort F (2005) Ecologie d'un complexe de *Pythium* associés à la carotte: évolution de la diversité inter-spécifique après infestation d'un sol par *P. violae* - Conséquences sur l'épidémiologie du cavity spot. VIe Congrès de la Société Française de Phytopathologie, 23-25 février 2005, Toulouse.
- Suffert F, Delalande D et Montfort F (2005) Effect of cropping factors on secondary infection during a carrot cavity spot epidemic. 9th International Workshop on Plant Disease Epidemiology, 10-15 avril 2005, Landerneau.
- Suffert F, Delalande D et Montfort F (2005) Effect of three cropping factors on secondary infection during a carrot cavity spot epidemic. Paper session abstracts of the 31st International Carrot Conference, September 11-14, 2005, Longueuil, Canada. *Phytoprotection* 86: 145-146.



ANNEXES



Annexe II-1 Coefficient of correlation (R) between CCS measurements and five truncated disease incidences i_{Δ} for the ‘survey’ 2003 (Créances, Manche, France).

i is the disease incidence, d the lesion density, cd the conditional lesion density, si the symptom intensity, and tda the total disease area ; truncated level are $\Delta = 1$ (when $D_n \geq 1$ mm), $\Delta = 3$ (when $D_n \geq 3$ mm), $\Delta = 5$ (when $D_n \geq 5$ mm) and $\Delta = 10$ (when $D_n \geq 10$ mm); correlation coefficients are underlined for the truncation level Δ that maximises R for each disease measurement; ns means $P > 0.05$).

Δ	i ($\Delta = 0$)	P	d	P	cd	P	si	P	tda	P
0	1	-	0.943	ns	0.720	ns	0.341	ns	0.840	ns
1	<u>0.994</u>	ns	<u>0.948</u>	ns	<u>0.726</u>	ns	0.387	ns	0.863	ns
3	<u>0.930</u>	ns	<u>0.895</u>	ns	<u>0.640</u>	ns	0.616	ns	0.940	ns
5	0.870	ns	0.862	ns	0.614	ns	<u>0.692</u>	ns	<u>0.971</u>	ns
10	0.800	ns	0.821	ns	0.608	ns	0.677	ns	0.959	ns

Annexe II-2 Coefficient of correlation (R) between five CCS measurements.

i is the disease incidence, d the lesion density, cd the conditional lesion density, si the symptom intensity, and tda the total disease area; ** means $P < 0.01$, * means $P < 0.05$.

	i / tda	i / d	i / cd	i / si	d / cd	d / si	d / tda	cd / si	cd / tda	si / tda
‘field experiment’										
2001										
s4	0.870**	0.954**	0.683**	0.593**	0.648**	0.464**	0.903**	0.826**	0.372**	0.704**
s5	0.778**	0.938**	0.564**	0.373**	0.720**	0.314*	0.871**	0.459**	0.646**	0.239
s6	0.831**	0.868**	0.748**	-0.113	0.963**	-0.139	0.982**	-0.104	0.962**	-0.009
s7	0.769**	0.784**	0.709**	-0.052	0.980**	-0.272*	0.898**	-0.305*	0.862**	0.128
s8	0.810**	0.812**	0.642**	0.263*	0.952**	0.152	0.880**	-0.146	0.792**	0.393**
pooled data	0.832**	0.886**	0.850**	0.674**	0.963**	0.479**	0.916**	0.546**	0.893**	0.511**
2002										
s3	0.748**	0.901**	0.685**	-0.067	0.886**	-0.137	0.778**	-0.103	0.680**	0.431**
s4	0.646**	0.740**	0.563**	0.334**	0.960**	0.448**	0.917**	0.445**	0.877**	0.715**
s5	0.674**	0.792**	0.604**	0.196	0.954**	0.364**	0.880**	0.423**	0.858**	0.736**
pooled data	0.714**	0.848**	0.764**	0.496**	0.972**	0.593**	0.902**	0.613**	0.880**	0.828**
2003										
s2	0.697**	0.836**	0.434**	0.074	0.815**	0.015	0.696**	0.145	0.594**	0.595**
s3	0.620**	0.864**	0.694**	-0.221	0.929**	-0.315*	0.679**	-0.159	0.767**	0.333*
s4	0.662**	0.874**	0.834**	-0.264*	0.974**	-0.234	0.708**	-0.201	0.699**	0.288*
s5	0.730**	0.882**	0.798**	-0.099	0.976**	-0.219	0.810**	-0.232	0.800**	0.278*
s6	0.653**	0.838**	0.655**	-0.289*	0.942**	-0.308*	0.833**	-0.282*	0.813**	0.197
pooled data	0.665**	0.887**	0.818**	-0.250**	0.963**	-0.312**	0.681**	-0.270**	0.687**	0.306**
‘survey’										
2003	0.840**	0.944**	0.721**	0.341**	0.875**	0.326*	0.889**	0.128	0.681**	0.637**
‘controlled conditions experiment’										
2001	0.915**	0.951**	0.709**	0.936**	0.939**	0.857**	0.926**	0.445*	0.789**	0.915**

Annexe III-1a Effet des facteurs sur l'incidence^a de maladie en 2001.

Source	DDL	Somme des carrés des écarts	Carré moyen	F	p
Dose	3	4,04	1,35	50,07	<0,0001
Bloc	3	0,42	0,14	5,21	0,0017
Date	5	46,95	9,39	349,46	<0,0001
Dose × bloc	9	2,85	0,32	11,78	<0,0001
Dose × date	15	1,11	0,07	2,76	0,0006
Bloc × date	15	0,94	0,06	2,32	0,0042

^a transformée avec la fonction $\arcsin\sqrt{i}$.

Annexe III-1b Test de comparaison des moyennes d'incidence^b pour le facteur « dose d'inoculum ».

Dose	Moyenne ^b	N	Groupe SNK
T	0,37	70	A
D1	0,60	71	B
D10	0,63	70	B
D100	0,69	69	C

^b moyenne des incidences de maladie transformées avec la fonction $\arcsin\sqrt{i}$; les moyennes ayant la même lettre ne sont pas significativement différentes.

Annexe III-1c Analyse date par date du facteur « dose d'inoculum ».

Date ^c	F	p	Moyenne ^d T	D1	D10	D100
S3	1,46	0,2432	0,03	0,11	0,11	0,07
			A	A	A	A
S4	25,77	<0,0001	0,01	0,07	0,19	0,29
			A	A	B	C
S5	10,63	<0,0001	0,11	0,33	0,34	0,44
			A	B	B	B
S6	17,38	<0,0001	0,62	0,94	1,01	1,04
			A	B	B	B
S7	18,42	<0,0001	0,67	1,10	1,15	1,10
			A	B	B	B
S8	8,77	0,0002	0,81	1,07	1,04	1,21
			A	B	B	B

^c chaque série d'analyse de variance est réalisée à date fixée ; seules les interactions dose × bloc sont prises en compte.

^d moyenne des incidences de maladie transformées avec la fonction $\arcsin\sqrt{i}$; les moyennes ayant la même lettre ne sont pas significativement différentes entre doses d'inoculum.

Annexe III-2 Ajustement du modèle logistique. Valeurs moyennes des paramètres a et b associés aux cinétiques d'incidence de maladie en fonction de la dose d'inoculum de *P. violae*.

2a Ajustement du modèle logistique aux incidences moyennes de maladie avec estimation des paramètres a, b et des asymptotes $i_{\max}$ pour chaque modalité.

Essai	Traitement	Paramètres estimés			R^2 ^b
		$i_{\max}$ ^a	a ^a	b ^a	
2001 (zone A)	T	55,89	- 9,025	$5,33 \times 10^{-3}$	0,99
	D1	81,16	- 7,125	$4,81 \times 10^{-3}$	0,99
	D10	75,53	- 9,052	$6,73 \times 10^{-3}$	0,99
	D100	100,00	- 4,696	$3,08 \times 10^{-3}$	0,99
2002 (zone A)	néoT	68,59	- 4,719	$5,47 \times 10^{-3}$	0,99
	T	72,48	- 7,501	$9,45 \times 10^{-3}$	0,99
	D1	86,60	- 6,206	$8,12 \times 10^{-3}$	0,99
	D10	83,23	- 6,618	$8,78 \times 10^{-3}$	0,99
	D100	90,36	- 6,820	$8,30 \times 10^{-3}$	0,99
2003 (zone B)	T	70,49	- 2,754	$1,89 \times 10^{-3}$	0,99
	D1	61,27	- 6,367	$7,29 \times 10^{-3}$	0,99
	D10	64,44	- 4,558	$4,94 \times 10^{-3}$	0,98
	D100	65,51	- 3,798	$4,36 \times 10^{-3}$	0,98

^a Les paramètres a et b et les valeurs de l'asymptote $i_{\max}$ ont été estimés par un ajustement du modèle aux valeurs moyennes des incidences i obtenues pour chaque traitement et pour chacun des blocs a, b, c et d.

^b Les valeurs de R^2 correspondent aux ratios de la somme des carrés expliquée par le modèle sur la somme des carrés totale.

2b Ajustement du modèle logistique aux incidences moyennes de maladie avec estimation des paramètres a et b, les asymptotes $i_{\max}$ étant constantes et fixées arbitrairement pour l'ensemble des modalités inoculées.

Essai	Traitement	Paramètres estimés			R^2
		$i_{\max}$ ^c	a	b	
2001 (zone A)	T	65	- 7,238	$4,09 \times 10^{-3}$	0,99
	D1	80	- 7,280	$4,95 \times 10^{-3}$	0,99
	D10	80	- 7,841	$5,33 \times 10^{-3}$	0,99
	D100	80	- 6,460	$4,84 \times 10^{-3}$	0,99
2002 (zone A)	neoT	65	- 5,636	$6,81 \times 10^{-3}$	0,99
	T	80	- 6,631	$8,11 \times 10^{-3}$	0,99
	D1	80	- 6,376	$8,60 \times 10^{-3}$	0,99
	D10	80	- 6,715	$9,04 \times 10^{-3}$	0,99
	D100	80	- 7,250	$9,15 \times 10^{-3}$	0,99
2003 (zone B)	T	65	- 2,833	$2,12 \times 10^{-3}$	0,98
	D1	80	- 2,419	$1,98 \times 10^{-3}$	0,96
	D10	80	- 2,509	$2,10 \times 10^{-3}$	0,97
	D100	80	- 2,327	$2,03 \times 10^{-3}$	0,98

^c L'asymptote $i_{\max}$ a été fixée à 65 pour les modalités T en 2001 et 2003, et neoT en 2002 (moyenne des $i_{\max}$ ajustées précédemment pour ces modalités témoins) ; $i_{\max}$ a été fixée à 80 pour l'ensemble des autres modalités (moyenne des $i_{\max}$ ajustées précédemment pour la totalité des modalités inoculées).

2c Comparaison des valeurs moyennes des paramètres a et b estimés par l'ajustement du modèle logistique aux cinétiques d'incidence de maladie bloc par bloc (a, b, c et d) en fonction des modalités d'infestation pour l'essai densité d'inoculum 2001.

Essai	Traitement	Moyenne des paramètres estimés			
		$i_{\max}$	a ^d	b ^d	
2001 (zone A)	D1	80	-11,29 A	$8,31 \times 10^{-3}$ A	
	D10	80	-10,50 A	$7,78 \times 10^{-3}$ A	
	D100	80	-12,07 A	$8,17 \times 10^{-3}$ A	
	F		0,06	0,01	
	p		0,945	0,987	
2002 (zone A)	D1	80	-17,42 A	$2,22 \times 10^{-2}$ A	
	D10	80	-10,38 A	$1,38 \times 10^{-2}$ A	
	D100	80	-13,20 A	$1,65 \times 10^{-2}$ A	
	F		0,38	0,36	
	p		0,691	0,709	
2003 (zone B)	D1	80	-5,03 A	$4,97 \times 10^{-3}$ A	
	D10	80	-3,31 A	$2,90 \times 10^{-3}$ A	
	D100	80	-3,24 A	$3,06 \times 10^{-3}$ A	
	F		0,58	0,46	
	p		0,581	0,647	

^d Des lettres capitales similaires indiquent pour chaque essai que les paramètres a ou b ne sont pas significativement différents d'un traitement à l'autre (ANOVA, test de Scheffe, $\alpha = 0,1$, portant sur les incidences de maladie de chacun des rangs r2, r3 et r4, au sein de chaque bloc a, b, c, et d).

Annexe III-3 Ajustement du modèle bi-logistique de Hau & Amorim (1993) aux données de l'essai densité d'inoculum 2001.

3a Estimation préalable séquentielle (en trois étapes) des paramètres α_1 , α_2 , κ_1 , κ_2 , tm_1 et tm_2 associés aux incidence moyennes de maladie en fonction des modalités d'infestation.

Etape 1 - conditions initiales et ajustement de α_1 et α_2

Essai	Dose	Paramètres estimés ^a				α_1 ^b	α_2 ^b	R ² ^c
		κ_1	κ_2	tm_1	tm_2			
2001	T	0,3	64,7	500	1600	$< 10^{-7}$	0,00315	0,97
	D1	2,3	77,7	500	1600	0,00710	0,00675	0,99
	D10	7,0	73,0	500	1600	0,00715	0,00960	0,99
	D100	18,0	62,0	500	1600	0,00819	0,00959	0,99

^a Les paramètres κ_1 , κ_2 , tm_1 et tm_2 sont fixés de façon provisoire et empirique pour chacune des modalités d'infestation à partir des cinétiques de maladies observées ; on impose en outre de façon définitive les conditions $\kappa_1 + \kappa_2 = 65$ pour la modalité T et $\kappa_1 + \kappa_2 = 80$ pour les modalités inoculées (D1, D10 et D100).

^b Les paramètres α_1 et α_2 ont été estimés, κ_1 , κ_2 , tm_1 et tm_2 étant fixés, par un ajustement du modèle aux valeurs moyennes des incidences i obtenues pour chaque traitement et pour chacun des blocs a, b, c et d.

^c Les valeurs de R² correspondent aux ratios de la somme des carrés expliquée par le modèle sur la somme des carrés totale.

Etape 2 - ajustement de tm_1 et tm_2

Essai	Traitement	Paramètres estimés				α_1	α_2	R ² ^e
		κ_1	κ_2	tm_1 ^d	tm_2 ^d			
2001	T	0,3	64,7	ns	1748,5	$< 10^{-7}$	0,00315	0,99
	D1	2,3	77,7	213,6	1549,5	0,00710	0,00675	0,99
	D10	7,0	73,0	480,6	1570,5	0,00715	0,00960	0,99
	D100	18,0	62,0	563,5	1598,5	0,00819	0,00959	0,99
Moyenne (D1-D10-D100)				419,2	1571,8			

^d La condition $\alpha_1 < 10^{-7}$ pour T a été remplacée par $\alpha_1 = 0$.

^e Les paramètres tm_1 et tm_2 ont été estimés, κ_1 , κ_2 , α_1 et α_2 étant fixés, par un ajustement du modèle aux valeurs moyennes des incidences i obtenues pour chaque traitement et pour chacun des blocs a, b, c et d.

Etape 3 - ajustement de κ_1 et κ_2

Essai	Traitement	Paramètres estimés				α_1	α_2	R ²
		κ_1 ^f	κ_2 ^f	tm_1	tm_2			
2001	T	$< 10^{-9}$	65	ns	1748,5	$< 10^{-7}$	0,00315	0,99
	D1	4,53	75,47	213,6	1549,5	0,00710	0,00675	0,99
	D10	11,00	69,00	480,6	1570,5	0,00715	0,00960	0,98
	D100	19,56	60,44	563,5	1598,5	0,00819	0,00959	0,99

^f Les paramètres κ_1 ont été estimés, tm_1 , tm_2 , α_1 et α_2 étant fixés, par un ajustement du modèle aux valeurs moyennes des incidences i obtenues pour chaque traitement et pour chacun des blocs a, b, c et d ; κ_2 se déduit des conditions $\kappa_1 + \kappa_2 = 65$ pour la modalité T et $\kappa_1 + \kappa_2 = 80$ pour les modalités D1, D10 et D100.

3b Estimation des paramètres α_1 , α_2 , κ_1 et κ_2 , tm_1 et tm_2 associés aux cinétiques d'incidence moyenne de maladie en fonction des modalités d'infestation.

Essai	Traitement	Paramètres						R^2
		κ_1^g	κ_2^g	tm_1^h	tm_2^h	α_1	α_2	
2001	T	< 10 ⁻⁹	65	ns	1768,8	0	0,00409	0,99
	D1	6,40	73,60	419,2	1571,8	0,00450	0,00630	0,99
	D10	10,29	69,71	419,2	1571,8	0,00515	0,00827	0,99
	D100	16,07	63,93	419,2	1571,8	0,00835	0,00838	0,99

^g On impose la condition $\kappa_1 + \kappa_2 = 65$ pour la modalité T et $\kappa_1 + \kappa_2 = 80$ pour les modalités inoculées (D1, D10 et D100).

^h On impose les conditions $tm_{1-D1} = tm_{1-D10} = tm_{1-D100}$ et $tm_{2-D1} = tm_{2-D10} = tm_{2-D100}$; les valeurs choisies de tm_1 et tm_2 sont les moyennes de ces paramètres estimés à l'étape 2 pour chaque modalité inoculée.

3c Comparaison des valeurs moyennes des paramètres α_1 , α_2 et κ_1 estimées par l'ajustement du modèle aux cinétiques d'incidence de maladie bloc par bloc (a, b, c et d) en fonction des modalités d'infestation.

Essai	Traitement	Moyennes des paramètres estimés ⁱ							
		κ_1^j	κ_2	tm_1	tm_2	α_1^j	α_2^j		
2001	D1	2,60	A	77,40	419,2	1571,8	0,00278	A	0,00525 A
	D10	7,59	AB	72,41	419,2	1571,8	0,00481	AB	0,00725 A
	D100	16,00	B	64,00	419,2	1571,8	0,00740	B	0,01300 A
	F	3,61					5,63		2,84
	p	0,0708					0,0259		0,1108

ⁱ Les conditions d'ajustement concernant les paramètres κ_2 , tm_1 et tm_2 sont identiques à celles posées en **3b**.

^j Des lettres capitales similaires indiquent que les paramètres κ_1 , α_1 ou α_2 ne sont pas significativement différents d'un traitement à l'autre (ANOVA, test de Scheffe, $\alpha = 0,1$, portant sur les incidences de maladie de chacun des rangs r2, r3 et r4, au sein de chaque bloc a, b, c, et d).

Annexe III-4 Ajustement du modèle de Brassett & Gilligan (1988). Valeurs moyennes des paramètres c_1 et c_2 associés aux cinétiques d'incidence de maladie en fonction de la dose d'inoculum de *P. violae*.

4a Ajustement du modèle de Brassett & Gilligan aux incidences moyennes de maladie avec estimation des paramètres c_1 , c_2 et des asymptotes $i_{\max}$ pour chaque modalité.

Essai	Traitement	Paramètres estimés			R ² b
		$i_{\max}$ a	c_1 a	c_2 a	
2001 (zone A)	T	55,89	$6,44 \times 10^{-7}$	$5,33 \times 10^{-3}$	0,99
	D1	81,14	$3,88 \times 10^{-5}$	$4,81 \times 10^{-3}$	0,99
	D10	75,51	$7,75 \times 10^{-5}$	$6,75 \times 10^{-3}$	0,99
	D100	100	$3,10 \times 10^{-5}$	$3,00 \times 10^{-3}$	0,99
2002 (zone A)	néoT	77,25	$1,51 \times 10^{-4}$	$2,83 \times 10^{-3}$	0,99
	T	72,49	$5,37 \times 10^{-6}$	$9,40 \times 10^{-3}$	0,99
	D1	86,60	$1,80 \times 10^{-5}$	$8,01 \times 10^{-3}$	0,99
	D10	83,23	$1,20 \times 10^{-5}$	$8,69 \times 10^{-3}$	0,99
	D100	90,36	$9,63 \times 10^{-6}$	$8,21 \times 10^{-3}$	0,99
2003 (zone B)	T	100	$1,69 \times 10^{-4}$	$7,95 \times 10^{-4}$	0,99
	D1	61,28	$1,30 \times 10^{-5}$	$7,25 \times 10^{-4}$	0,99
	D10	64,55	$5,80 \times 10^{-5}$	$4,74 \times 10^{-4}$	0,99
	D100	69,81	$2,45 \times 10^{-4}$	$2,40 \times 10^{-4}$	0,98

a Les paramètres c_1 et c_2 et les valeurs de l'asymptote $i_{\max}$ ont été estimés par un ajustement du modèle aux valeurs moyennes des incidences i obtenues pour chaque traitement et pour chacun des blocs a, b, c et d.

b Les valeurs de R² correspondent aux ratios de la somme des carrés expliquée par le modèle sur la somme des carrés totale.

4b Ajustement du modèle de Brassett & Gilligan aux incidences moyennes de maladie avec estimation des paramètres c_1 et c_2 , les asymptotes $i_{\max}$ étant constantes et fixées arbitrairement pour l'ensemble des modalités inoculées.

Essai	Traitement	Paramètres estimés			R ²
		$i_{\max}$ c	c_1	c_2	
2001 (zone A)	T	65	$3,01 \times 10^{-6}$	$4,08 \times 10^{-3}$	0,99
	D1	80	$3,43 \times 10^{-6}$	$4,95 \times 10^{-3}$	0,99
	D10	80	$2,98 \times 10^{-6}$	$5,33 \times 10^{-3}$	0,99
	D100	80	$7,34 \times 10^{-6}$	$4,86 \times 10^{-3}$	0,99
2002 (zone A)	néoT	65	$3,00 \times 10^{-5}$	$6,45 \times 10^{-3}$	0,99
	T	80	$1,30 \times 10^{-5}$	$7,85 \times 10^{-3}$	0,99
	D1	80	$1,50 \times 10^{-5}$	$8,52 \times 10^{-3}$	0,99
	D10	80	$1,10 \times 10^{-5}$	$8,96 \times 10^{-3}$	0,99
	D100	80	$6,63 \times 10^{-6}$	$9,12 \times 10^{-3}$	0,99
2003 (zone B)	T	65	$1,84 \times 10^{-4}$	$1,65 \times 10^{-3}$	0,99
	D1	80	$3,18 \times 10^{-4}$	$1,15 \times 10^{-3}$	0,97
	D10	80	$2,96 \times 10^{-4}$	$1,32 \times 10^{-3}$	0,98
	D100	80	$3,52 \times 10^{-4}$	$1,18 \times 10^{-3}$	0,98

c L'asymptote $i_{\max}$ a été fixée à 65 pour les modalités T en 2001 et 2003, et néoT en 2002 (valeur proche de la moyenne des $i_{\max}$ ajustées précédemment pour ces modalités témoins) ; $i_{\max}$ a été fixée 80 pour l'ensemble des autres modalités (valeur proche de la moyenne des $i_{\max}$ ajustées précédemment pour la totalité des modalités inoculées).

4c Comparaison des valeurs moyennes des paramètres c_1 et c_2 estimées par l'ajustement du modèle de Brassett & Gilligan aux cinétiques d'incidence de maladie bloc par bloc (a, b, c et d) en fonction des modalités d'infestation pour l'essai densité d'inoculum 2001,

Moyenne des paramètres estimés						
Essai	Traitement	$i_{\max}$	c_1^d		c_2^d	
2001 (zone A)	D1	80	$3,95 \times 10^{-6}$	A	$7,23 \times 10^{-3}$	A
	D10	80	$3,43 \times 10^{-6}$	A	$7,15 \times 10^{-3}$	A
	D100	80	$4,85 \times 10^{-6}$	A	$7,01 \times 10^{-3}$	A
	F		0,04		0,01	
	p		0,964		0,995	
2002 (zone A)	D1	80	$3,27 \times 10^{-5}$	A	$1,25 \times 10^{-2}$	A
	D10	80	$6,61 \times 10^{-6}$	A	$1,20 \times 10^{-2}$	A
	D100	80	$8,65 \times 10^{-6}$	A	$1,21 \times 10^{-2}$	A
	F		1,59		0,01	
	p		0,256		0,994	
2003 (zone B)	D1	80	$1,44 \times 10^{-4}$	A	$4,48 \times 10^{-3}$	A
	D10	80	$2,29 \times 10^{-4}$	A	$2,42 \times 10^{-4}$	A
	D100	80	$2,51 \times 10^{-4}$	A	$2,47 \times 10^{-3}$	A
	F		0,36		0,38	
	p		0,711		0,691	

^d Des lettres capitales similaires indiquent pour chaque essai que les paramètres c_1 ou c_2 ne sont pas significativement différents d'un traitement à l'autre (ANOVA, test de Scheffe, $\alpha = 0,1$, portant sur les incidences de maladie de chacun des rangs r2, r3 et r4, au sein de chaque bloc a, b, c, et d),

Annexe IV-1 Variations in the composition of the *Pythium* complex during a 3-year CCS epidemic (2001-2003) after a single initial soil infestation by *P. violae* in 2001.

Sampling date	12/06 2001	21/06	30/07	03/09	05/11	08/01 2002	25/02	26/06	16/07	12/08	08/10	02/12	01/07 2003	21/07	05/08	28/08	30/09	24/11
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18
<i>Pythium</i> species (no. isolates)																		
Infested plots (D1, D10 and D100 pooled) (2001-2003)																		
<i>P. violae</i>	0	0	8	7	17	44	49	0	0	14	10	8	0	0	0	0	0	0
<i>P. sulcatum</i>	0	0	0	5	0	7	0	14	19	21	23	13	17	44	37	40	17	27
<i>P. intermedium</i> ^a	0	3	1	0	11	7	9	2	4	6	11	8	0	0	0	0	0	0
<i>P. sylv.-irreg.</i> ^b	1	3	3	3	2	5	7	0	0	1	5	3	7	8	3	0	1	1
<i>P. ultimum</i>	0	1	0	0	0	0	0	0	0	5	0	0	0	0	0	0	1	0
<i>P. coloratum</i> ^c	0	0	0	0	0	0	0	3	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Pythium</i> sp.	1	5	1	2	0	7	3	5	6	1	3	0	14	10	3	1	1	0
Absence of <i>Pythium</i>	48	55	40	18	9	12	6	39	63	15	40	18	36	19	17	12	8	9
Shanon's normalised index (H_n)	ns	0,501	0,320	0,375	0,247	0,218	0,167	0,246	0,185	0,326	0,311	0,358	0,184	0,104	0,067	-0,01	0,129	0,041
Control plots (2001-2002)																		
<i>P. violae</i>	0	0	0	0	0	2	1	0	0	0	2	0						
<i>P. sulcatum</i>	0	0	2	2	4	6	4	6	8	10	10	6						
<i>P. intermedium</i> ^a	0	1	0	0	2	0	1	0	2	0	5	4						
<i>P. sylv.-irreg.</i> ^b	0	1	0	1	0	2	2	0	0	1	1	1						
<i>P. ultimum</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0						
<i>P. coloratum</i> ^c	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0						
<i>Pythium</i> sp.	1	0	0	0	0	2	0	2	4	0	0	0						
Absence of <i>Pythium</i>	11	12	6	4	9	9	3	5	17	1	4	9						
Shanon's normalised index (H_n)	ns	ns	ns	0,561	0,344	0,400	0,565	0,201	0,209	0,119	0,363	0,370						
Total no. <i>Pythium</i> spp.	3	14	15	20	36	82	76	33	44	59	70	43	38	62	43	41	20	28
Total no. isolations	62	81	61	42	54	103	85	77	124	75	114	70	74	81	60	53	28	37

^a a distinction between *P. intermedium* type A and type B was not here done.

^b isolates belonging to the group *P. sylvaticum-irregularare* (single species).

^c isolates belonging to the group *P. coloratum-dissotocum-diclinum* (single species).

Annexe IV-2 Proportion of *Pythium* isolated with an other *Pythium* species from a single CCS lesion in the ‘field experiment’ (infested and control micro-fields, 2001-2003).

	<i>P. violae</i>	<i>P. sulcatum</i>	<i>P. intermedium</i>	<i>P. sylv.- irreg.</i>	<i>P. ultimum</i>	<i>P. coloratum</i>	<i>Pythium</i> sp.
2001	14 / 129 (10.9)	4 / 30 (13.3)	8 / 36 (22.2)	6 / 30 (20)	0 / 1 (0)	1 / 1 (100)	7 / 20 (35)
2002	3 / 34 (8.8)	19 / 130 (14.6)	16 / 42 (38.1)	9 / 12 (75)	2 / 5 (40)	3 / 5 (60)	8 / 21 (38.1)
2003	0 / 0 (-)	10 / 182 (5.5)	0 / 0 (-)	6 / 20 (30)	1 / 1 (100)	0 / 0 (-)	3 / 29 (10.3)

Percentage appeared in brackets.

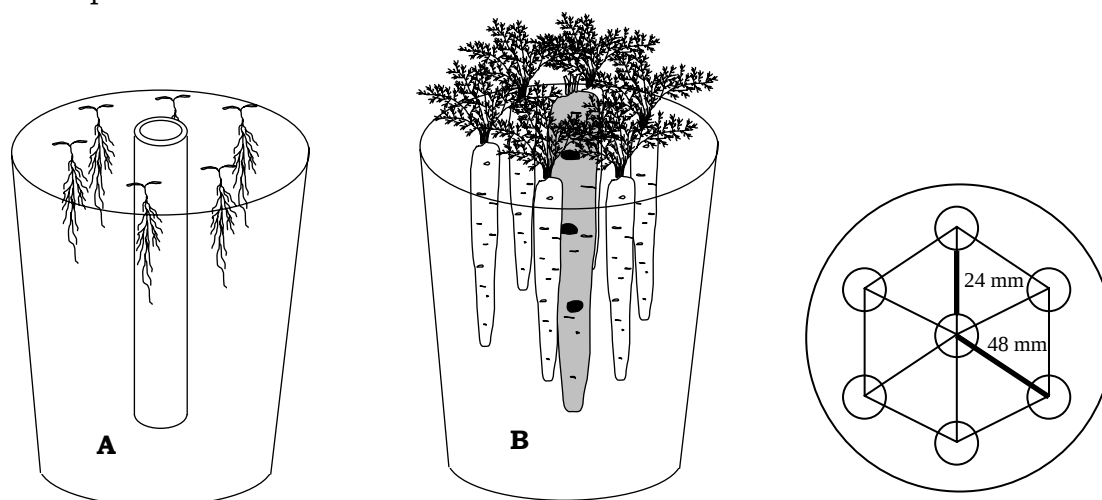
Annexe IV-3 Contingency analysis of the associations of *Pythium* isolated with an other *Pythium* species from a single CCS lesion in the ‘field experiment’ (infested and control micro-fields, 2001-2003).

	2001			2002			2003			pooled		
Stastistic test ^a	χ^2	P	<i>mir</i> ^b	χ^2	P	<i>mir</i> ^b	χ^2	P	<i>mir</i> ^b	χ^2	P	<i>mir</i> ^b
<i>P. violae</i>	13.06	0.003	0.49	19.60	< 0.001	0.20	-	-	-	76.59	< 0.001	0.25
<i>P. sulcatum</i>	9.43	0.002	0.33	11.75	< 0.001	0.57	31.77	< 0.001	0.36	84.21	< 0.001	0.34
<i>P. intermedium</i>	4.88	0.027	0.56	1.24	0.266	0.82	-	-	-	11.55	0.007	0.62
<i>P. sylv.-irreg.</i>	5.49	0.019	0.50	2.66	0.103	1.45	11.00	< 0.001	0.46	7.17	0.007	0.67
<i>P. ultimum</i>	0.82	0.370	-	0.28	0.594	0.77	0.46	0.500	1.46	0.32	0.573	0.80
<i>P. coloratum</i>	1.22	0.270	2.22	0.13	0.721	1.15	-	-	-	0.41	0.520	1.24
<i>Pythium</i> sp.	0.49	0.486	0.82	1.13	0.288	0.77	33.83	< 0.001	0.17	16.87	< 0.001	0.52

^a Distribution of *Pythium* isolates among mixed infection using contingency table analysis and the chi-square statistic; degrees of freedom = 1.

^b *mir* (mixed infection ratio) is the ratio between ‘observed’ and ‘expected’ mixed infection frequency; ‘expected’ is the frequency of mixed infection expected if infection by a given *Pythium* species and by another is independent; ‘observed’ is the frequency of mixed infection observed after *Pythium* isolations; *mir* < 1 and P < 0.05 mean that mixed infections were significantly over-represented.

Annexe V-1 Microcosm design consisting of 6 receptor plants, **(A)** before and **(B)** after transplantation of the donor root.



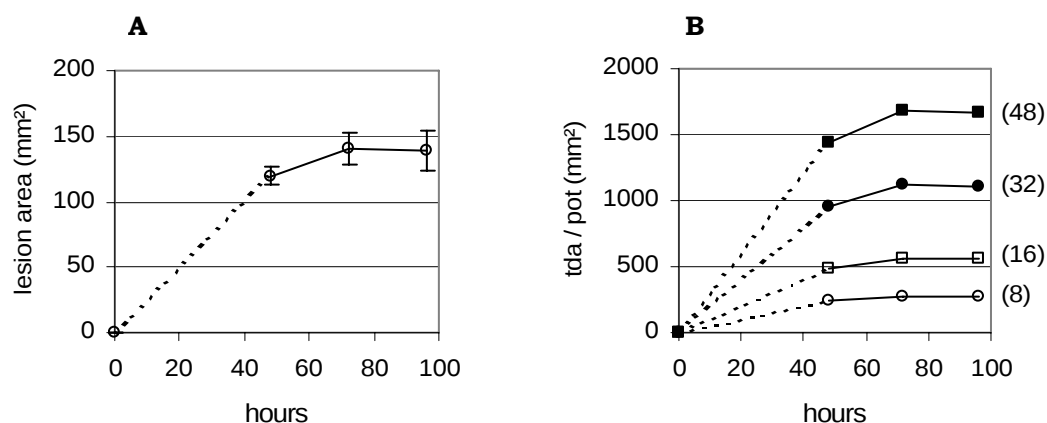
Annexe V-2 Inoculum forms and doses used to test the effect of three methods of soil infestation by *P. violae*.

A - Primary infection 'soil inoculum to healthy root', simulating infestation from mycelium and oospores on carrot juice agar. B - Primary infection 'infected carrot residues to healthy root' simulating infestation from fresh fragments of necrotic tissues. C - Secondary infection 'diseased root to healthy root' simulating infestation from lesions on a carrot root.

Inoculum forms	Inoculum doses	
A - Mycelium and oospores of <i>P. violae</i> ('soil inoculum to healthy root')	Volume of carrot juice agar colonised by <i>P. violae</i> (mL per pot)	Number of Petri dishes per pot
M0 (control)	0	0
M1	4.25	1/4
M2	8.5	1/2
M3	17	1
M4	34	2
B - Fragments of carrot roots with CCS lesions ('infected carrot residues to healthy root')	Weight of fragments with lesions (g per pot)	Estimation of the total disease area (<i>tda</i>) (mm ² per pot)
c0 (control)	0	0
c1	0.35	30 ± 10
c2	1.75	150 ± 50
c3	3.5	300 ± 100
c4	7	600 ± 200
C - Transplanted diseased root ('diseased root to healthy root')	Estimation of the total disease area (<i>tda</i>) on the donor plant (mm ² per pot)	Number of lesions on the donor plant
s0 (control)	0	0
s1	280	2
s2	560	4
s3	1120	8
s4	1680	12

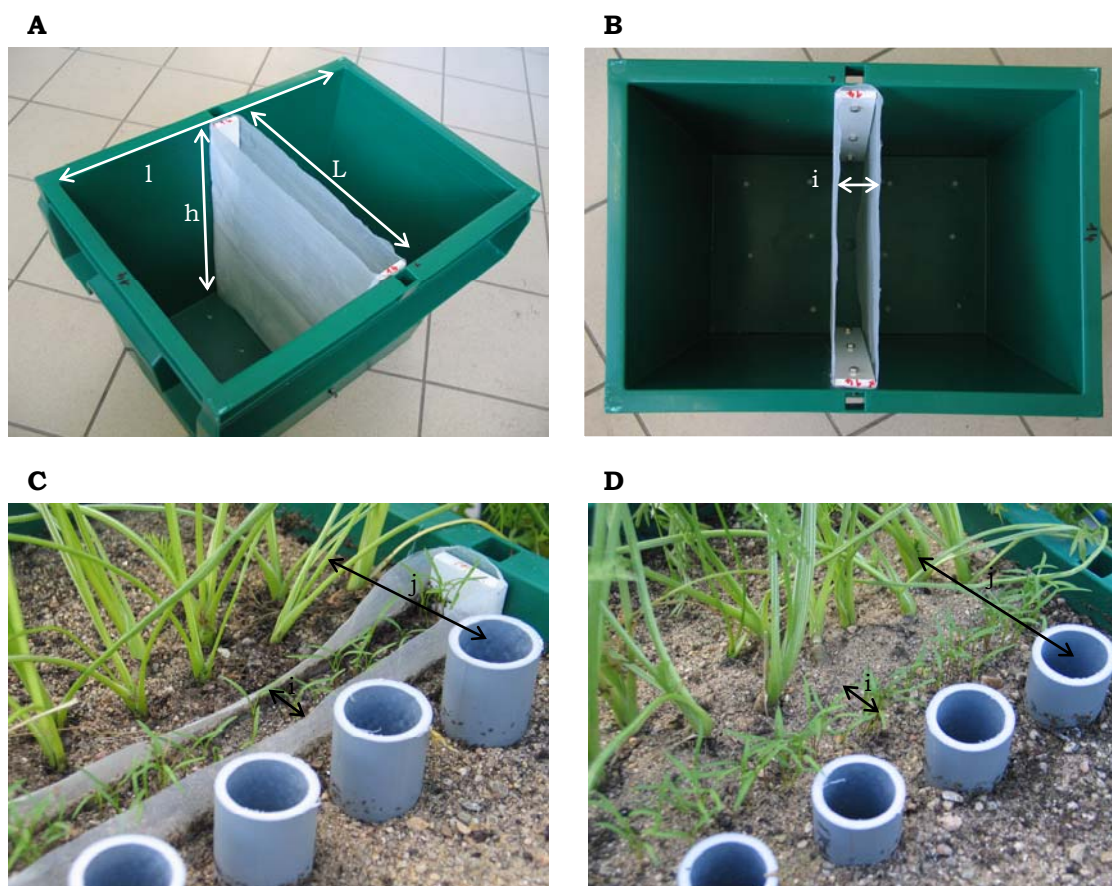
Annexe V-3 Variations in the total disease area (*tda*) on the donor roots (experiment 'diseased root to healthy root') between 48 and 96 hours after carrot root inoculation in controlled conditions.

A - Mean lesion area on a donor root. **B** - Mean total disease area (*tda*) on each donor as a function of dose: ○ 2 lesions per carrot root, □ 4 lesions per carrot root, ● 8 lesions per carrot root, ■ 12 lesions per carrot root; numbers in brackets correspond to the number of lesions measured to estimate the mean *tda*.



Annexe V-4 Prototype de microcosme à double compartimentation utilisé pour étudier le rôle du système racinaire dans les allo-infections au cours d'une épidémie de cavity spot (conception F. Suffert & J-M. Lucas).

A, B - Conception : largeur $L = 250$ mm, hauteur $H = 320$ mm, longueur $l = 360$ mm. **C, D** - Procédure d'expérimentation standard : largeur du faux semis $i = 32$ mm ; distance entre racines sources et racines cibles $j = 90$ mm.



Matériel utilisé

1. Bac polypropylène 26 L (Société BELLION TEMPLEU CAPPE, Rennes, Ile-et-Vilaine).
2. Tissu nylon maillé $300 \times 300 \mu\text{m}$, type « filet anti-insecte » (Société HUCK OCCITANIA, Maurens-Scopont, Tarn-et-Garonne), découpé et thermocollé.
3. Tubes PVC $\varnothing 32$ mm (Société CEDEO, Rennes, Ile-et-Vilaine).
4. Lamelle blanche de fixation, plaque PVC 6 mm (Société CGIA, Rennes, Ile-et-Vilaine, France).
5. Visserie inox, boulons 20 mm $\varnothing 5$ mm, oreilles papillons $\varnothing 5$ mm (Société MICHEL RUBION, Vezin le Coquet, Ile-et-Vilaine).

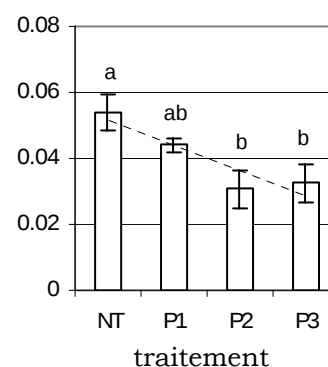
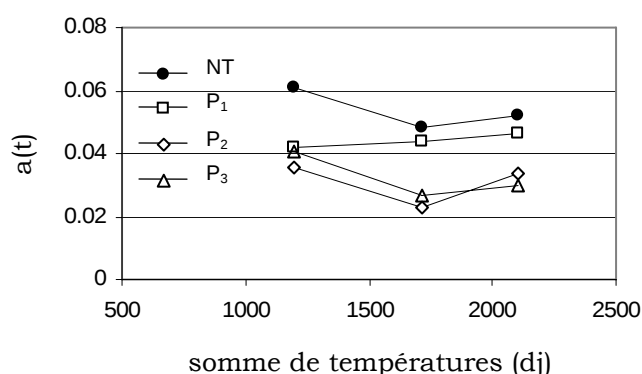
Annexe VI-1 Influence de la période de traitement au champ avec un fongicide anti-oomycete (mefenoxam) sur la valeur du paramètre $a(t)$ de la relation entre i et tda décrite par l'équation $i = 100.(1-\exp(-a(t).tda))$.

i est l'incidence de cavity spot, tda la surface totale nécrosée, et t le temps thermique (en base 3,5°C) ; NT = non traité, P_1 = positionnement précoce, P_2 = positionnement intermédiaire, P_3 = positionnement tardif ; R est le coefficient de corrélation entre les données expérimentales et les données simulées.

traitement	prélèvement	date	t après semis (dj)	a^b	R
NT	S3	19/08/02	1197,3	0,061	0,735
	S4	30/09/02	1714,9	0,048	0,833
	S5	18/11/02	2102,5	0,052	-0,268
	moyenne			0,054	
P_1 (29/05/2001) ^a	S3	19/08/02	1197,3	0,042	-0,526
	S4	30/09/02	1714,9	0,044	-0,343
	S5	18/11/02	2102,5	0,046	0,164
	moyenne			0,044	
P_2 (04/07/2001) ^a	S3	19/08/02	1197,3	0,036	-0,173
	S4	30/09/02	1714,9	0,023	0,082
	S5	18/11/02	2102,5	0,034	0,156
	moyenne			0,031	
P_3 (21/08/2001) ^a	S3	19/08/02	1197,3	0,041	0,754
	S4	30/09/02	1714,9	0,027	0,723
	S5	18/11/02	2102,5	0,030	0,245
	moyenne			0,033	

^a Date du traitement au mefenoxam.

^b Les valeurs de a sont optimisées par la méthode des moindres carrées.



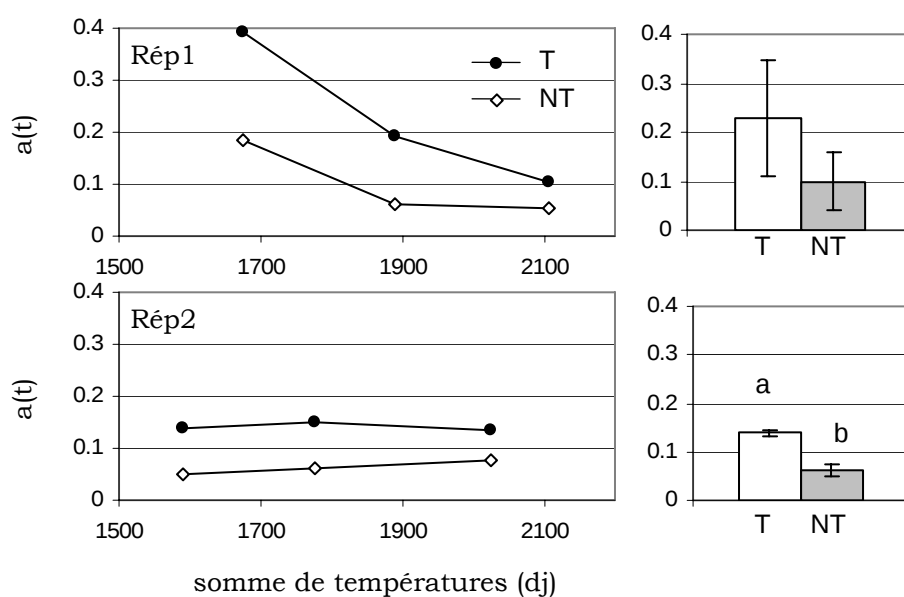
Les lettres précisent si les moyennes du paramètre a au cours de l'épidémie sont significativement différentes en fonction du positionnement du mefenoxam (procédure NPAR1WAY option WILCOXON, test de Wilcoxon-Mann-Whitney, $p_{cor} < 0,1$).

Annexe VI-2 Influence du positionnement d'un fongicide anti-oomycete (mefenoxam) en microcosmes sur la valeur du paramètre $a(t)$ de la relation entre i et tda décrite par l'équation $i = 100.(1-\exp(-a(t).tda))$.

i est l'incidence de cavity spot, tda la surface totale nécrosée, et t le temps thermique (en base 3,5°C) ; NT = non traité, T = traité ; R est le coefficient de corrélation entre les données expérimentales et les données simulées.

année	traitement	prélèvement	date	t après semis (dj)	a ^a	R
Rép1	NT	S1	23/06/2004	1676,0	0,186	0,556
		S2	06/07/2004	1890,2	0,061	0,699
		S3	19/06/2004	2106,1	0,053	0,602
		moyenne			0,100	
	T	S1	23/06/2004	1676,0	0,391	0,898
		S2	06/07/2004	1890,2	0,191	0,420
		S3	19/06/2004	2106,1	0,106	0,817
		moyenne			0,229	
Rép2	NT	S1	02/06/2005	1588,5	0,049	0,961
		S2	14/06/2005	1777,0	0,063	0,812
		S3	27/06/2005	2024,2	0,077	0,993
		moyenne			0,063	
	T	S1	02/06/2005	1588,5	0,137	0,883
		S2	14/06/2005	1777,0	0,148	0,941
		S3	27/06/2005	2024,2	0,133	0,884
		moyenne			0,140	

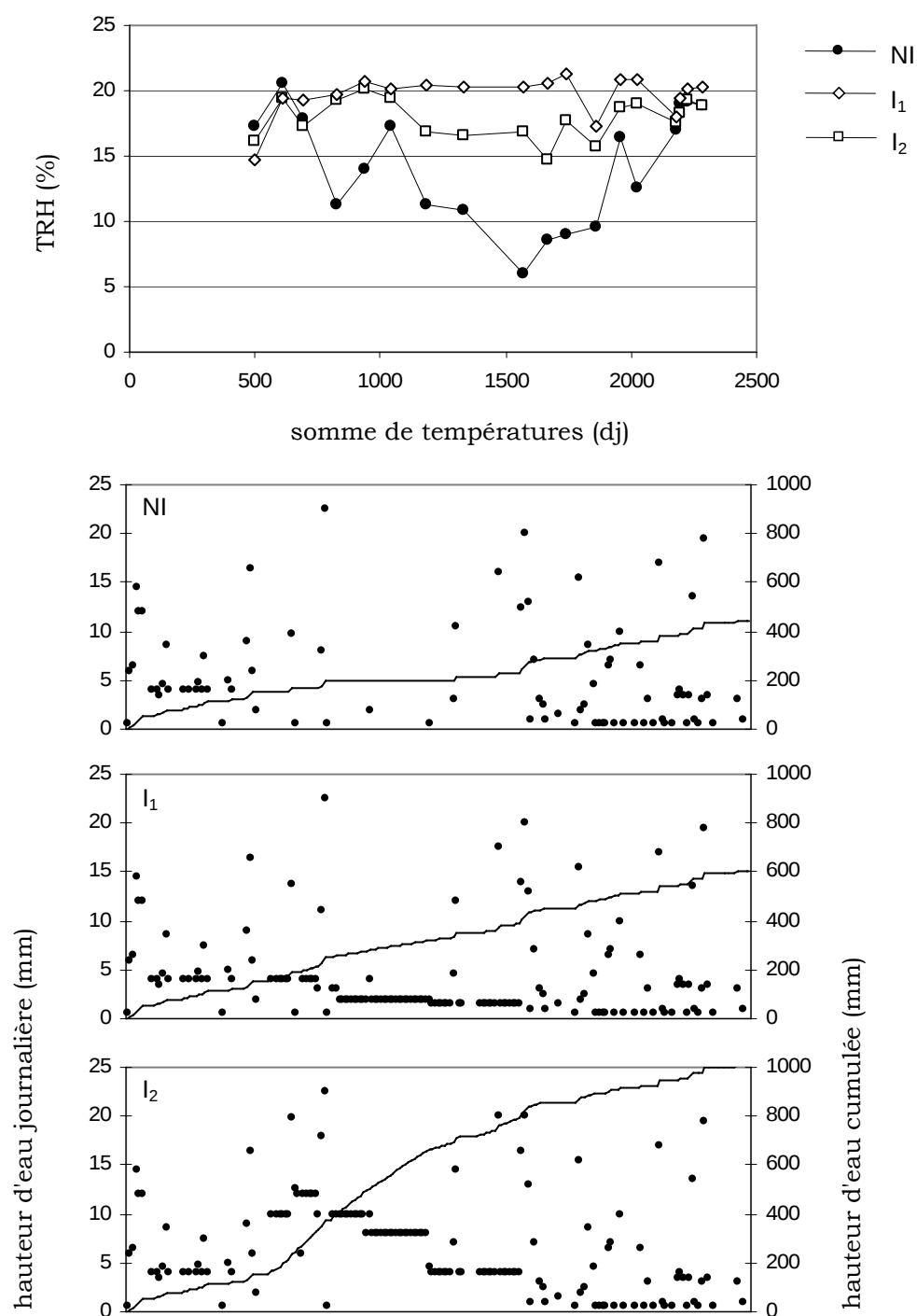
^a Les valeurs de a sont optimisées par la méthode des moindres carrées.



Les lettres précisent si les moyennes de a au cours de l'épidémie sont significativement différentes en fonction du traitement (procédure NPAR1WAY option WILCOXON, test de Wilcoxon-Mann-Whitney, $p < 0,1$).

Annexe VI-3 Evolution du taux réel d'humidité du sol (TRH) en fonction du régime hydrique (hauteur d'eau journalière et hauteur cumulée depuis le semis correspondant à la somme des précipitations et des apports par irrigation) dans l'expérimentation au champ « humidité du sol ».

NI = non irrigué, I_1 = niveau d'irrigation intermédiaire, I_2 = niveau d'irrigation élevé.



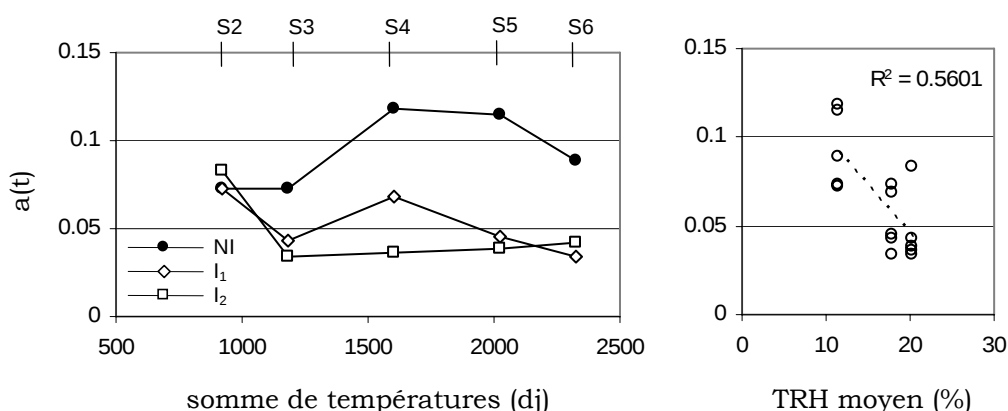
Annexe VI-4 Influence de l'humidité du sol au champ sur la valeur du paramètre $a(t)$ de la relation entre i et tda décrite par l'équation $i = 100.(1-\exp(-a(t).tda))$.

i est l'incidence de cavity spot, tda la surface totale nécrosée, et t le temps thermique (en base 3,5°C) ; NI = non irrigué, I_1 = niveau intermédiaire, I_2 = niveau élevé ; R est le coefficient de corrélation entre les données expérimentales et les données simulées.

traitement	prélèvement	date	t après semis (dj)	a ^b	R
NI (11,5) ^a	s2	21/07/03	923,6	0,073	0,852
	s3	05/08/03	1180,5	0,073	0,931
	s4	28/08/03	1605,1	0,118	0,706
	s5	30/09/03	2026,6	0,115	0,913
	s6	24/11/03	2328,5	0,089	0,901
	moyenne			0.099	
I_1 (17,7) ^a	s2	21/07/03	923,6	0,073	0,665
	s3	05/08/03	1180,5	0,043	0,519
	s4	28/08/03	1605,1	0,068	0,022
	s5	30/09/03	2026,6	0,045	0,365
	s6	24/11/03	2328,5	0,034	0,703
	moyenne			0.048	
I_2 (20,2) ^a	s2	21/07/03	923,6	0,083	0,548
	s3	05/08/03	1180,5	0,034	0,627
	s4	28/08/03	1605,1	0,036	0,746
	s5	30/09/03	2026,6	0,038	0,742
	s6	24/11/03	2328,5	0,042	0,268
	moyenne			0.038	

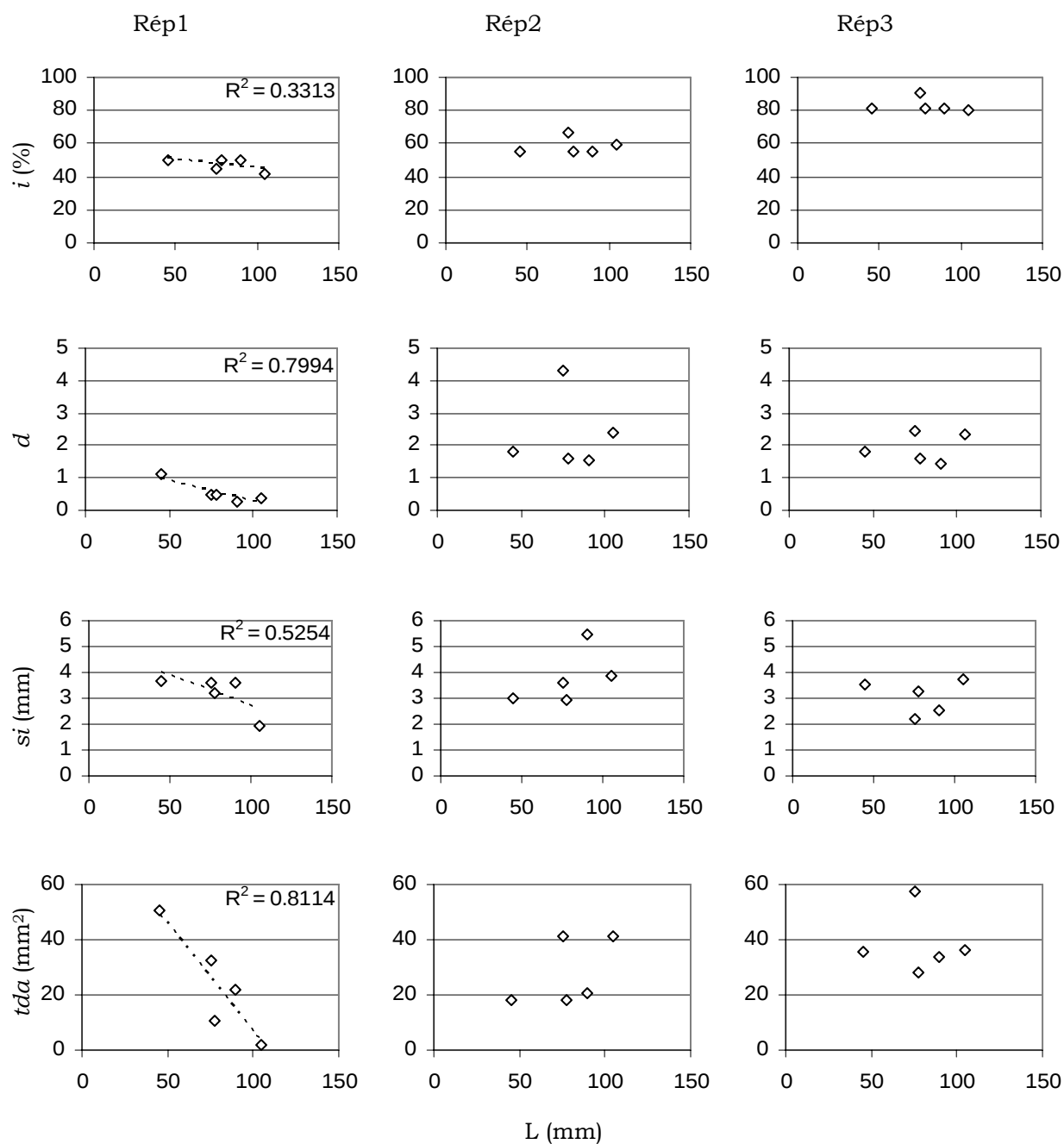
^a Moyenne de TRH (taux réel d'humidité du sol) calculée entre le 15/07/03 et le 30/09/03 (en %).

^b Les valeurs de $a(t)$ sont optimisées par la méthode des moindres carrés.



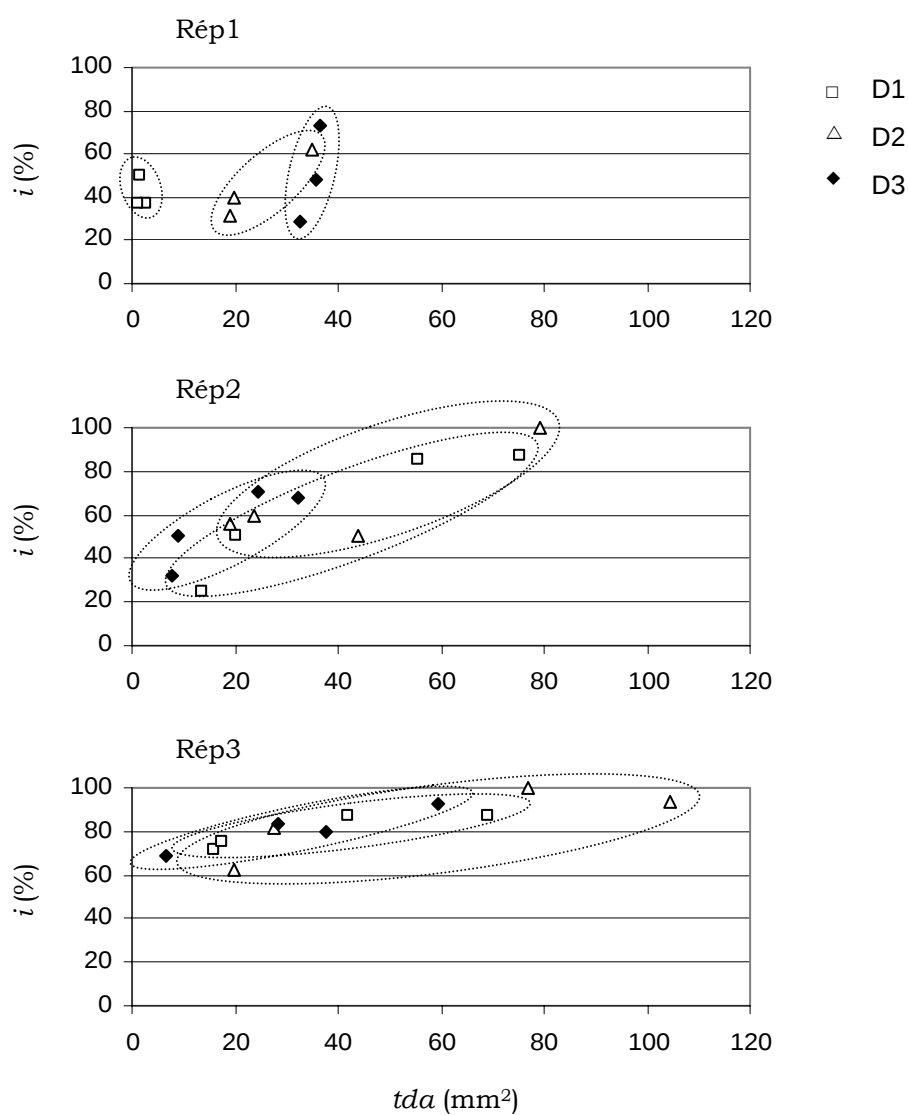
Annexe VI-5 Effet de la distance effective entre racines sources et racines cibles sur la dynamique des infections secondaires estimée par quatre variables de maladie.

i est l'incidence de maladie, tda la surface totale nécrosée, d la densité de lésions et si l'intensité des symptômes. Les données provenant des différentes densités de semis ont été agrégées ; D1 = 8 racines cibles, D2 = 16 racines cibles et D3 = 31 racines cibles (voir figure VI-3 p. 238) ; L est la distance entre une racine source et une racine cible ; l'expérimentation a été répétée trois fois (Rép1, Rép2 et Rép3).



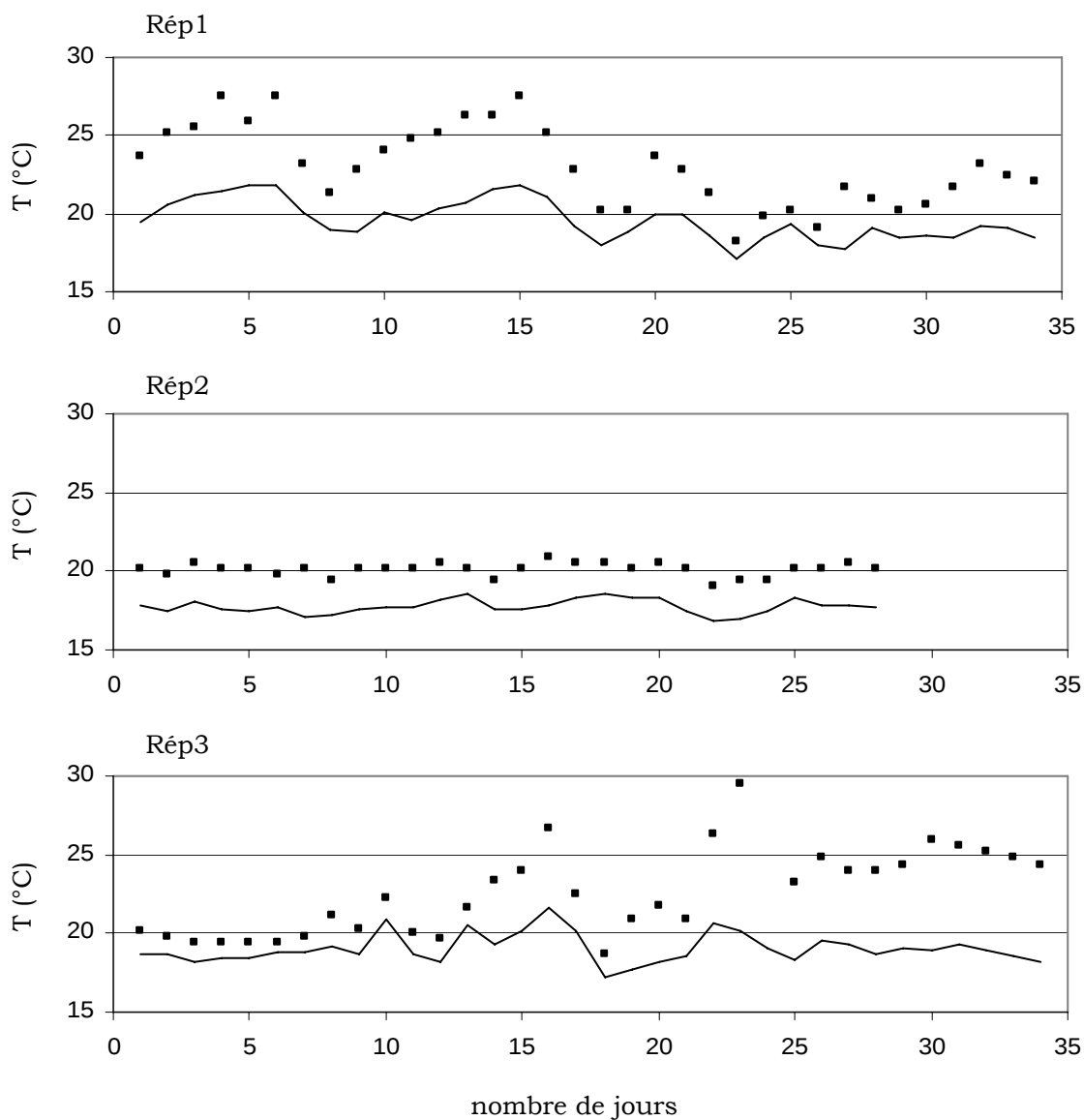
Annexe VI-6 Relation empirique entre l'incidence de maladie i et la surface totale nécrosée tda en fonction de trois densités de semis.

D1 = 8 racines cibles, D2 = 16 racines cibles et D3 = 31 racines cibles. L'expérimentation a été répétée trois fois (Rép1, Rép2 et Rép3).



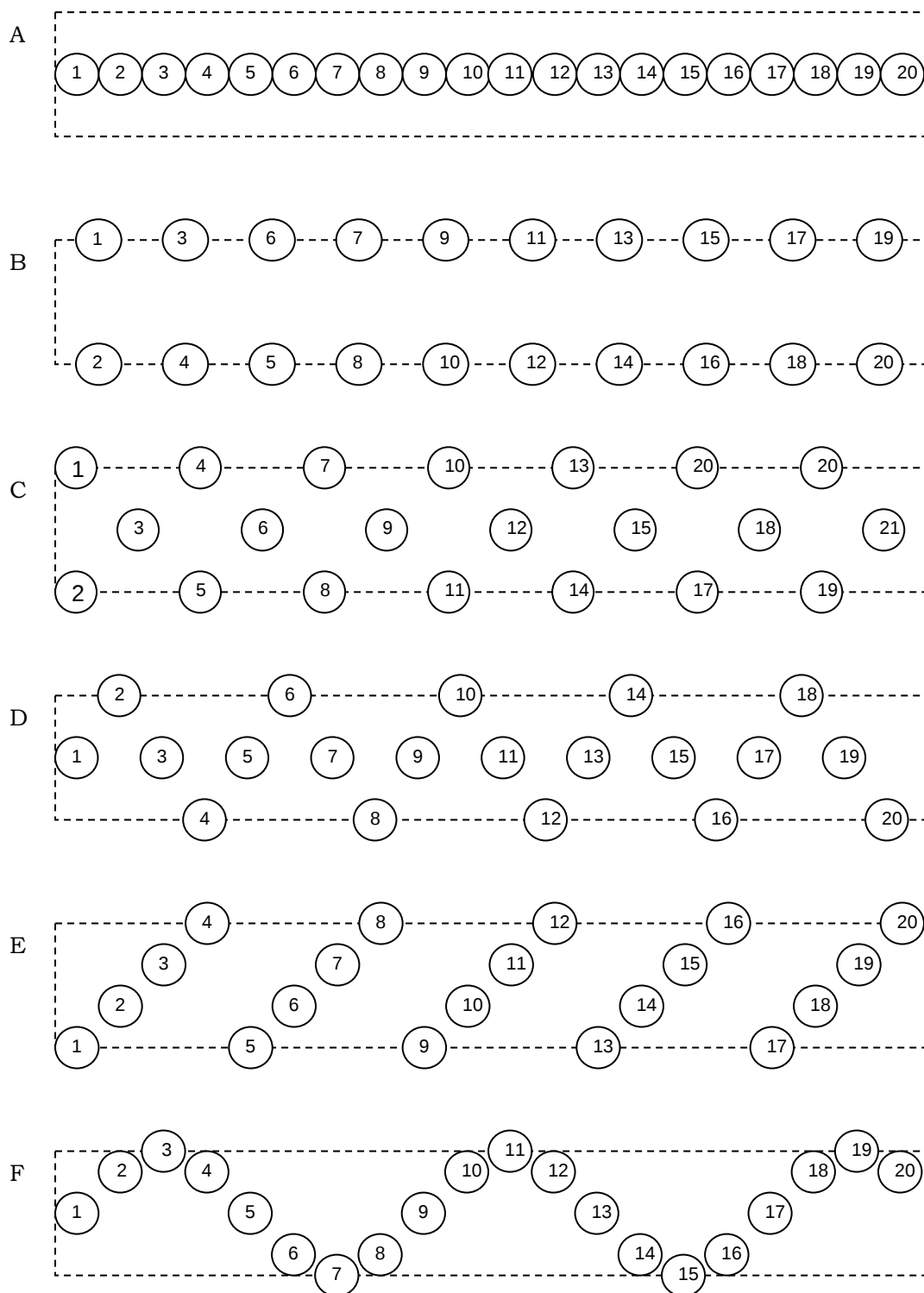
Annexe VI-7 Données météorologiques de l'expérimentation en microcosmes « densité de semis » relevées entre la transplantation des racines sources et le prélèvement des racines cibles.

Les courbes correspondent aux températures journalières moyennes de l'air et les points aux températures journalières maximales.



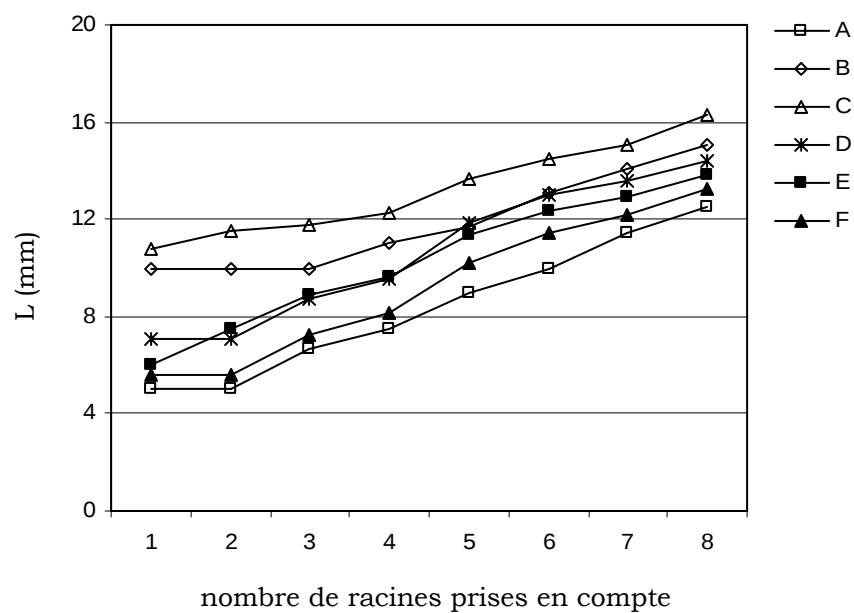
Annexe VI-8 Exemple de six structures de semis ayant la même densité linéaire dans le cas d'un peuplement en rang (longueur 100 cm × largeur 10 cm).

A : semis « linéaire » ; B : semis « bi-linéaire régulier » ; C : semis « tri-linéaire régulier » ;
D : semis « tri-linéaire centré » ; E : semis « transversal » ; F : semis « ondulatoire ».



Annexe VI-9 Distances moyennes théoriques entre racines pour six structures de semis en fonction du nombre de plantes prises en compte dans le calcul (1 à 8).

Cas de six structures géométriques de semis ayant la même densité linéaire moyenne (largeur de rang constante) ; les structures A à F sont décrites en Annexe VI-8 ; L est la distance moyenne entre racines.





Year	2010	2011	2012	2013	2014	2015
1	10	10	10	10	10	10
2	10	10	10	10	10	10
3	10	10	10	10	10	10
4	10	10	10	10	10	10
5	10	10	10	10	10	10
6	10	10	10	10	10	10
7	10	10	10	10	10	10
8	10	10	10	10	10	10
9	10	10	10	10	10	10
10	10	10	10	10	10	10
11	10	10	10	10	10	10
12	10	10	10	10	10	10
13	10	10	10	10	10	10
14	10	10	10	10	10	10
15	10	10	10	10	10	10
16	10	10	10	10	10	10
17	10	10	10	10	10	10
18	10	10	10	10	10	10
19	10	10	10	10	10	10
20	10	10	10	10	10	10
21	10	10	10	10	10	10
22	10	10	10	10	10	10
23	10	10	10	10	10	10
24	10	10	10	10	10	10
25	10	10	10	10	10	10
26	10	10	10	10	10	10
27	10	10	10	10	10	10
28	10	10	10	10	10	10
29	10	10	10	10	10	10
30	10	10	10	10	10	10
31	10	10	10	10	10	10
32	10	10	10	10	10	10
33	10	10	10	10	10	10
34	10	10	10	10	10	10
35	10	10	10	10	10	10
36	10	10	10	10	10	10
37	10	10	10	10	10	10
38	10	10	10	10	10	10
39	10	10	10	10	10	10
40	10	10	10	10	10	10
41	10	10	10	10	10	10
42	10	10	10	10	10	10
43	10	10	10	10	10	10
44	10	10	10	10	10	10
45	10	10	10	10	10	10
46	10	10	10	10	10	10
47	10	10	10	10	10	10
48	10	10	10	10	10	10
49	10	10	10	10	10	10
50	10	10	10	10	10	10
51	10	10	10	10	10	10
52	10	10	10	10	10	10
53	10	10	10	10	10	10
54	10	10	10	10	10	10
55	10	10	10	10	10	10
56	10	10	10	10	10	10
57	10	10	10	10	10	10
58	10	10	10	10	10	10
59	10	10	10	10	10	10
60	10	10	10	10	10	10
61	10	10	10	10	10	10
62	10	10	10	10	10	10
63	10	10	10	10	10	10
64	10	10	10	10	10	10

TABLE DES MATIERES

Avant propos	7
Epigraphe	9
Sommaire	11
INTRODUCTION	15
CHAPITRE I - LE CAVITY SPOT DE LA CAROTTE : UNE MALADIE RACINAIRE AUX IMPLICATIONS EPIDEMIOLOGIQUES COMPLEXES	23
1. La carotte	23
1.1. La culture de la carotte	23
1.2. Importance économique en France et en Europe	24
1.3. Croissance et développement de la carotte	25
1.3.1. Modèles empiriques	25
1.3.1.1. Cycle cultural de la carotte et définition de stades-états	25
1.3.1.1.1. Croissance continue et absence de stades repères définis	25
1.3.1.1.2. Stades racinaires	27
1.3.1.1.3. Stades foliaires	28
1.3.1.2. Suivi de la croissance calée sur une échelle de degrés-jour	28
1.3.1.2.1. Formule générale	29
1.3.1.2.2. Echelle degrés-jour adaptée à la carotte	29
1.3.2. Dynamique de croissance d'une racine de carotte	30
1.3.2.1. Relations allométriques, croissance et compétition entre racines de carotte	30
1.3.2.2. Evolution de la surface d'une racine de carotte	31
1.4. Les enjeux de la protection des cultures de carottes	31
2. Le cavity spot de la carotte	34
2.1. Origine de la maladie et perspectives historiques	34
2.2. Symptomatologie et nuisibilité des <i>Pythium</i> pathogènes de la carotte	35
2.3. Populations de <i>Pythium</i> associées au cavity spot de la carotte en France	41
2.4. Caractéristiques biologiques des <i>Pythium</i> , traits d'histoire de vie et mécanismes d'infection	42
2.4.1. Cycle biologique théorique	42
2.4.2. Processus infectieux	45
2.5. Influence des facteurs pédo-climatiques sur le développement du cavity spot et méthodes de lutte culturales	48
2.5.1. Influence de l'humidité du sol	48
2.5.2. Influence de la structure et de l'aération du sol	48
2.5.3. Influence de la température du sol	49
2.5.4. Influence du pH et de la teneur du sol en calcium	50
2.5.5. Influence de la fertilisation	51
2.5.6. Influence des amendements organiques	52
2.5.7. Influence des rotations et de quelques précédents culturaux	53
2.6. Méthodes de lutte actuelles	54
2.7. Méthodes de détection et d'identification des <i>Pythium</i> pathogènes de la carotte	55

3. Epidémiologie des maladies d'origine tellurique : approches théoriques et contraintes méthodologiques	58
3.1. Caractéristiques générales des maladies d'origine tellurique	58
3.2. La notion de potentiel infectieux d'un sol, ou les limites de méthodes expérimentales face aux concepts épidémiologiques les plus récents	58
3.3. L'épidémiologie théorique appliquée à l'étude des maladies d'origine tellurique : de Van der Plank à Gilligan	63
3.4. Dynamiques épidémiques et modèles déterministes	65
3.4.1. Approches phénoménologiques simples : modélisation de courbes « doubles sigmoïdes »	65
3.4.1.1. Le modèle logistique de Verhuslt-Ricatti	65
3.4.1.2. Le modèle bi-logistique emboîté de Meyer & Ausubel : un modèle mécaniste simple utilisé par les démographes énoncé sous la théorie du changement technologique	66
3.4.1.3. Les modèles généralisés de Hau & Amorim : cas particuliers de modèles empiriques multi-fonctions	70
3.4.2. Confrontation de l'expérience à des concepts d'épidémiologie théorique : le modèle de Brassett & Gilligan	71
3.4.2.1. Concomitance d'infections primaires et d'infections secondaires	71
3.4.2.2. Décroissance de l'efficacité de l'inoculum au cours du cycle de culture	73
Références bibliographiques	74
 CHAPITRE II - PHYTOPATHOMETRIE DU CAVITY SPOT	 85
Problématique	85
 II.A. Définition de variables de maladie	 87
Summary	87
1. Introduction	87
2. Cavity spot assessment and disease development	89
3. Cavity spot assessment and disease measurements	93
4. Standardised definitions for disease measurement	96
5. Illustration of disease assessment	101
6. Discussion	101
References	102
 II.B. Progression d'une épidémie et relations pathométriques	 105
Summary	105
1. Introduction	105
2. Materials and methods	106
2.1. Selection of the models	106
2.2. Data acquisition	107
2.3. Statistical analyses and models	108
3. Results	109
3.1. Dynamic of CCS epidemics	109
3.2. Correlation and relationships among disease measurements	113
4. Discussion	117
4.1. Robustness of the pathometric relationships	117
4.2. CCS infectious processes and disease intensification	119
4.3. Prospect of application for CCS management	120
References	121

CHAPITRE III - MODELISATION DE CINETIQUES DE CAVITY SPOT ET FORMULATION D'HYPOTHESES MECANISTES **125**

Problématique 125

1. Matériel et méthodes **127**

1.1. Dispositif expérimental 127

1.1.1. Dispositif d'essais pluriannuels 127

1.1.2. Préparation de l'inoculum et infestation du sol des micro-parcelles 127

1.1.3. Itinéraire technique 129

1.2. Notations de maladie 130

1.3. Analyse descriptive et modélisation des cinétiques épidémiques 130

1.3.1. Analyse de la variance sur les variables de maladie brutes 130

1.3.2. Analyse de la variance sur les paramètres de modélisation 130

1.3.2.1. Influence de la densité d'inoculum sur les paramètres du modèle 130

1.3.2.2. Modèle logistique 131

1.3.2.3. Modèle bi-logistique de Hau & Amorim 132

1.3.2.4. Modèle de Brassett & Gilligan 133

1.3.2.5. Comparaison des trois modèles 135

2. Résultats **135**

2.1. Description générale des épidémies de cavity spot 135

2.2. Effet de la densité d'inoculum sur les variables brutes de l'épidémie de 2001 135

2.3. Modélisation des cinétiques de développement de la maladie et validité 143

2.3.1. Modèle logistique 143

2.3.2. Modèle de Hau & Amorim 143

2.3.3. Modèle de Brassett & Gilligan 145

2.3.4. Comparaison des trois modèles 145

3. Discussion **146**

3.1. Impact de la densité d'inoculum primaire sur les cinétiques de maladie et identification de deux phases épidémiologiques 146

3.2. Comparaison de la qualité d'ajustement des modèles aux données 147

3.3. Choix d'un modèle sur des considérations à la fois statistiques et biologiques 148

Références bibliographiques 151

CHAPITRE IV - ANALYSE DE LA DIVERSITE D'UNE COMMUNAUTE DE PYTHIUM APPLIQUEE A L'EPIDEMIOLOGIE DU CAVITY SPOT : PERSPECTIVES D'APPROCHES ECOLOGIQUES **155**

Problématique 155

Summary 157

1. Introduction: *Pythium* genus responsible of carrot cavity spot **157**

2. Ecology and epidemiology of *Pythium* complexes **159**

3. Objectives of the study **161**

4. Materials and methods **161**

4.1. Assessment of the diversity of the pathogen complex from CCS lesions 161

4.2. Association of species on CCS lesions and statistical analysis of mixed infection 164

4.3. Biological characterisation of *Pythium* spp. 164

5. Results **167**

5.1. Change in diversity of the species complex in CCS lesions 167

5.2. Occurrence of mixed infections and species interactions	169
5.3. Biological characteristics of <i>Pythium</i> spp.: optimum temperature, pathogenicity and saprophytic survival	169
6. Discussion	175
6.1. Diversity and fluctuations in the <i>Pythium</i> complex	175
6.2. Absence of major synergistic interactions between <i>Pythium</i> species during mixed infections	176
6.3. Consequences for quantitative CCS epidemiology	178
References	179
Perspectives	183
 CHAPITRE V - DEMONSTRATION EXPERIMENTALE DES INFECTIONS SECONDAIRES PAR TRANSPLANTATION RACINAIRE	 187
Problématique	187
Summary	189
1. Introduction	189
2. Materials and methods	193
2.1. Demonstration of primary infection 'soil inoculum to healthy root' (method A)	195
2.2. Demonstration of primary infection 'infected carrot residues to healthy root' (method B)	195
2.3. Demonstration of secondary infection 'diseased root to healthy root' (method C)	195
3. Results	196
3.1. Extension of the lesions size on donor plants	196
3.2. Effect of the three soil infestation methods on CCS	196
3.3. Effect of the three soil infestation on root weight	197
4. Discussion	200
4.1. Efficacy of the method to prove the occurrence of alloinfections	200
4.2. From the concept of secondary infection to the identification of epidemiological processes	200
4.3. Perspectives for modelling a CCS epidemic	202
References	202
Perspectives	205
 CHAPITRE VI - EFFET DE TROIS FACTEURS CULTURAUX SUR LE DEVELOPPEMENT D'EPIDEMIES DE CAVITY SPOT	 211
Problématique	211
Summary	213
VI.A. Période d'application d'un fongicide anti-oomycètes	215
1. Objectifs	215
2. Matériel et méthodes	215
2.1. Variables de maladie	215
2.2. Analyses de données	216
2.3. Dispositif expérimental au champ et itinéraire technique	216

2.4. Dispositif expérimental en microcosmes	219
3. Résultats	221
3.1. Expérimentation au champ	221
3.1.1. Cinétiques épidémiques	221
3.1.2. Relation pathométrique entre i et tda	223
3.2. Expérimentation en microcosmes	223
3.2.1. Cinétiques épidémiques	223
3.2.2. Relation pathométrique entre i et tda	225
4. Discussion et perspectives	225

VI.B. Humidité du sol	227
1. Objectifs	227
2. Matériel et méthodes	227
3. Résultats	229
4. Discussion et perspectives	232

VI.C. Distance entre racines et densité de peuplement	235
1. Objectifs	235
2. Matériel et méthodes	235
2.1. Mise en évidence d'un effet de la distance entre source et cible	235
2.2. Estimation du gradient de dispersion d'allo-infections dans un peuplement homogène	235
2.3. Effet de la densité de semis sur les infections secondaires	237
3. Résultats	239
3.1. Effet de la distance entre source et cible	239
3.2. Estimation du gradient d'allo-infections dans un peuplement homogène	239
3.3. Effet de la densité de semis sur l'occurrence des infections secondaires	242
4. Discussion et perspectives	242
4.1. Influence des conditions climatiques	242
4.2. Comparaison avec d'autres pathosystèmes	243
4.3. Architecture d'un peuplement hôte et noyau de dispersion de l'agent pathogène : perspectives d'application	245
Références bibliographiques	247

CHAPITRE VII - PERSPECTIVES D'APPLICATION ET DE MODELISATION **251**

Problématique	251
---------------	-----

VII.A. Cadre théorique de la notion de complémentarité caractérisant des stratégies de protection des cultures	253
Résumé	253
Summary	253
Introduction	253
1. Complémentarité	254
2. Additivité	255
3. Compatibilité	256
4. Supplétivité	257
Conclusion	257
Références	258

VII.B. Perspectives d'application à la protection intégrée de carottes	259
Introduction	259
1. Réflexion autour d'effets de facteurs environnementaux et de pratiques culturales	259
1.1. Piloter l'humidité du sol ou adapter la durée de conservation au champ ?	259
1.2. Optimiser la densité de semis en dépassant les contraintes agronomiques ?	260
1.3. Optimiser la période d'application de fongicides anti-oomycètes ?	261
2. Perspective d'intégration verticale des moyens de protection et potentiel de complémentarité	261
VII.C. Modelling cavity spot epidemics	265
1. Introduction	265
2. Model structure: infection cycles and polycyclic processes	267
2.1. Overall structure of the model	267
2.2. Primary inoculum	271
2.3. Accessibility of healthy tissues	272
2.4. Additional components of the model	273
2.4.1. Carrot root growth	273
2.4.2. Cultural and environmental factors	275
2.4.3. Model output and pathometrical relationships	275
References	277
CONCLUSION GENERALE	281
1. L'occurrence d'infections secondaires : fondement mécaniste de notre représentation du développement d'une épidémie de cavity spot	281
2. La question du complexe pathogène : un éclaircissement méthodologique nécessaire	282
3. Démonstration et quantification de processus infectieux : nouvelles connaissances biologiques et carences	283
4. Effet de différents facteurs et intégration verticale de méthodes de lutte : une perspective d'application pertinente	285
5. Un modèle épidémiologique : dans quel objectif ?	286
REFERENCES	289
Références bibliographiques générales	289
Valorisation de la thèse	304
ANNEXES	307

Résumé - Le développement de maladies d'origine tellurique relève de mécanismes épidémiologiques particuliers, propres au cycle biologique et aux traits d'histoire de vie des agents pathogènes incriminés. La caractérisation des processus qui déterminent le développement des épidémies est une étape clé dans la conception et l'optimisation de méthodes de protection contre ces maladies. Les cultures légumières de plein champ constituent des agrosystèmes particulièrement sensibles aux attaques parasitaires. Les *Pythium* sont responsables du cavity spot de la carotte, une maladie racinaire qui affecte la qualité des récoltes dans plusieurs bassins de production en France et dans le monde. L'objectif des recherches présentées ici est d'identifier, comprendre et hiérarchiser les processus déterminant la dynamique spatio-temporelle de cette maladie, essentiellement due à *Pythium violae*, en association avec d'autres espèces du complexe parasitaire. L'analyse de la composition d'un de ces complexes, complétée par la caractérisation biologique des principales espèces pathogènes, suggère que par souci de simplification, il est raisonnable de négliger les interactions entre espèces au cours de la phase infectieuse. L'existence d'infections secondaires (auto- et allo-infections) chez *P. violae*, et donc la nature polycyclique d'une épidémie de cavity spot, sont démontrées expérimentalement. Cette hypothèse est initialement étayée par deux étapes de l'analyse, l'une portant sur l'examen de relations pathométriques, et l'autre sur les ajustements de modèles aux données illustrant des cinétiques de la maladie. L'ensemble des résultats obtenus permet de concevoir un modèle épidémiologique exploratoire, basé sur l'occurrence des infections primaires et secondaires. Les effets de différents facteurs sur ces processus, comme l'application d'un fongicide, l'humidité du sol et la densité de semis, sont testés expérimentalement et discutés. Ils permettent d'envisager l'association de moyens de lutte complémentaires dans le cadre de stratégies de protection intégrée.

Mot-clés - carotte, cavity spot, *Pythium violae*, complexe d'espèces, co-infection, épidémiologie, infection primaire, infection secondaire, auto-infection, allo-infection, humidité du sol, densité de semis, mefenoxam.

Epidemiology of carrot cavity spot - Potential consequences for integrated pest management

Summary - The identification of pathways that induce the development of epidemics is a crucial step in the conception and the optimisation of control methods against plant diseases. The development of soil-borne plant diseases is due to epidemiological mechanisms closely dependent on the pathogen life history traits. Such mechanisms can be best investigated in vulnerable agrosystems, such as vegetable field crops, where short rotations and high inputs favour the emergence of severe disease problems. In carrots, one of the major sanitary problems is cavity spot, a root disease caused by a complex of *Pythium* spp. which affects root quality in several production basins in France and worldwide. The objectives of the present research were to identify, understand and hierarchise the processes that induce the spatio-temporal kinetics of carrot cavity spot epidemics. Interactions between species during the infectious stage can be neglected and disease progress curves were supposed to be not affected by changes in the diversity of the complex of *Pythium* species. The occurrence of primary and secondary infections was demonstrated and quantified experimentally for the first time in this pathosystem. The analysis of pathometric relationships between disease assessment variables (disease incidence, lesion density, symptom intensity, and total disease area) and the fitting of simulation models to observed epidemiological data confirmed the occurrence of both types of infections. An epidemiological model was elaborated, based on the processes quantified experimentally. The effect of different factors, such as soil moisture, seed density and timing of fungicide applications, on these epidemiological processes was tested. Finally, several scenarios combining control methods for integrated pest management of carrot cavity spot were designed and their optimisation discussed.

Key-words - carrot, cavity spot, *Pythium violae*, species complex, mixed infection, epidemiology, primary infection, secondary infection, autoinfection, alloinfection, soil moisture, seed density, mefenoxam.

Epidémiologie du cavity spot de la carotte



Le développement de maladies d'origine tellurique relève de mécanismes épidémiologiques particuliers, propres au cycle biologique et aux traits d'histoire de vie des agents pathogènes incriminés. La caractérisation des processus qui déterminent le développement des épidémies est une étape clé dans la conception et l'optimisation de méthodes de protection contre ces maladies. Les cultures légumières de plein champ constituent des agrosystèmes particulièrement sensibles aux attaques parasitaires. Les *Pythium* sont responsables du cavity spot de la carotte, une maladie racinaire qui affecte la qualité des récoltes dans plusieurs bassins de production en France et dans le monde. L'objectif des recherches présentées ici est d'identifier, comprendre et hiérarchiser les processus déterminant la dynamique spatio-temporelle de cette maladie, essentiellement due à *Pythium violae*, en association avec d'autres espèces du complexe parasitaire. L'analyse de la composition d'un de ces complexes, complétée par la caractérisation biologique des principales espèces pathogènes, suggère que par souci de simplification, il est raisonnable de négliger les interactions entre espèces au cours de la phase infectieuse. L'existence d'infections secondaires (auto- et allo-infections) chez *P. violae*, et donc la nature polycyclique d'une épidémie de cavity spot, sont démontrées expérimentalement. Cette hypothèse est initialement étayée par deux étapes de l'analyse, l'une portant sur l'examen de relations pathométriques, et l'autre sur les ajustements de modèles aux données illustrant des cinétiques de la maladie. L'ensemble des résultats obtenus permet de concevoir un modèle épidémiologique exploratoire, basé sur l'occurrence des infections primaires et secondaires. Les effets de différents facteurs sur ces processus, comme l'application d'un fongicide, l'humidité du sol et la densité de semis, sont testés expérimentalement et discutés. Ils permettent d'envisager l'association de moyens de lutte complémentaires dans le cadre de stratégies de protection intégrée.

Frédéric Suffert est ingénieur agronome diplômé de l'ENSA de Rennes. Après une année de spécialisation en Protection des Plantes et Environnement, il a rejoint l'équipe *Epidémiologie Sol et Systèmes* de l'UMR BiO3P à l'INRA du Rheu. Il y est chargé d'un programme de recherches sur l'épidémiologie du cavity spot depuis 2001.