

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-00119268v2

HAL Id: tel-00119268

https://theses.hal.science/tel-00119268v2

Submitted on 18 Feb 2009

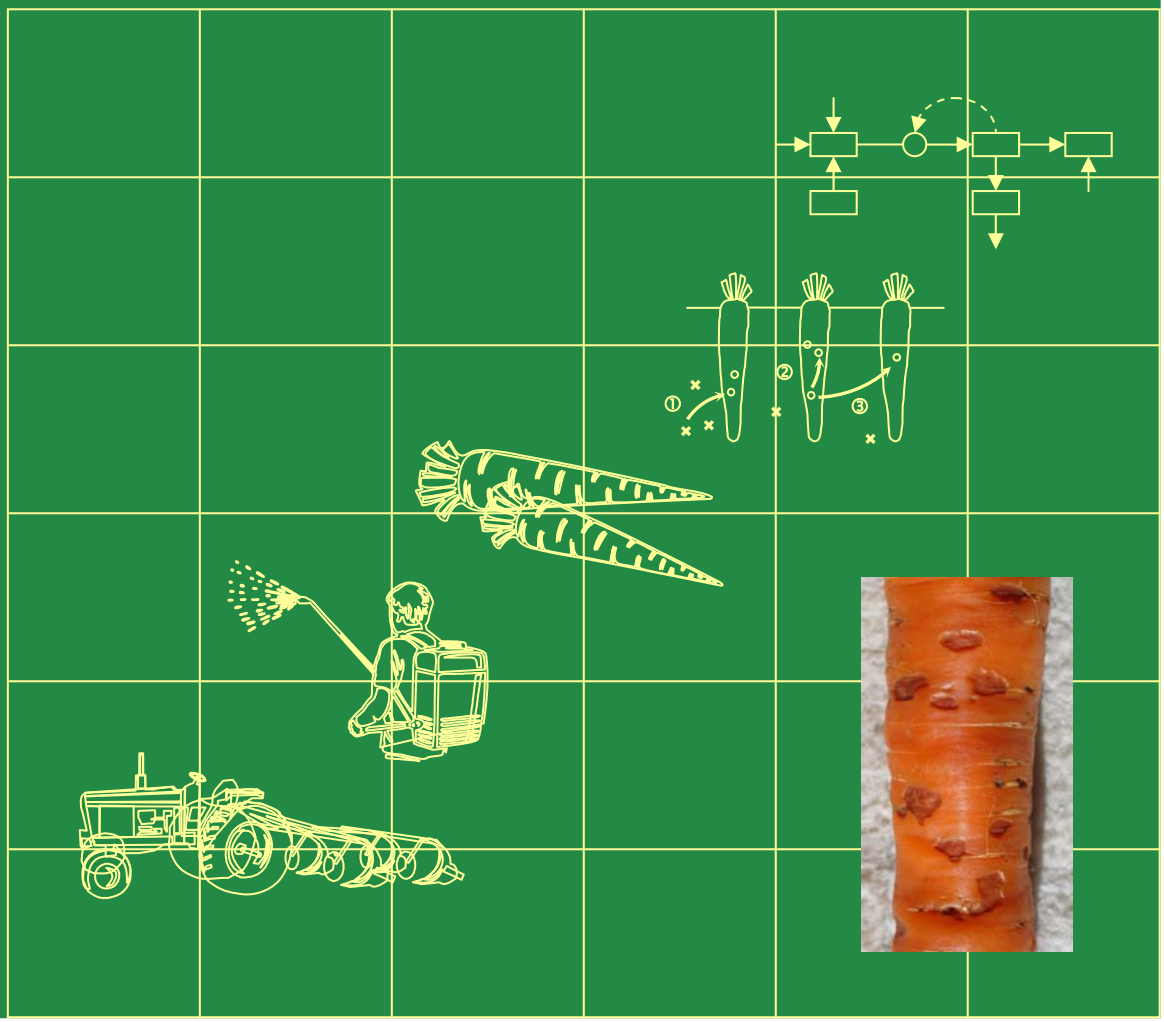
HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

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 04
© Frédéric Suffert, février 2009

INRA, Agrocampus Rennes, UMR BiO3P
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	Président
M-L. Desprez-Loustau, Directrice de Recherches, INRA Bordeaux	Rapporteur
I. Sache, Chargé de Recherches, INRA Versailles-Grignon	Rapporteur
B. Marçais, Chargé de Recherches, INRA Nancy	Examinateur
P. Reignault, Maître de Conférences, Université de Calais	Examinateur
P. Lucas, Directeur de Recherches, INRA Rennes	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 révèlerait 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
Chapitre II	**Phytopathométrie du cavity spot** Suffert F et Montfort F (2008) Pathometric relationships reveal epidemiological processes involved in carrot cavity spot epidemics. *European Journal of Plant Pathology*, 122: 425-436.	85
Chapitre III	**Modélisation de cinétiques de cavity spot et formulation d'hypothèses mécanistes** Suffert F (2007) Modélisation de cinétiques de la maladie de la tache de la carotte provoquée par un complexe de *Pythium* dominé par du *P. violae*. *Canadian Journal of Plant Pathology*, 29(1): 41-55.	101
Chapitre IV	**Analyse de la diversité d'une communauté de *Pythium* appliquée à l'épidémiologie du cavity spot : perspectives d'approches écologiques** Suffert F et Guibert M (2007) The ecology of a *Pythium* community in relation to the epidemiology of carrot cavity spot. *Applied Soil Ecology*, 35: 488-501.	123
Chapitre V	**Démonstration expérimentale des infections secondaires par transplantation racinaire** V.A. Suffert F et Montfort F (2007) Demonstration of secondary infection by *Pythium violae* in epidemics of carrot cavity spot using root transplantation as method of soil infestation. *Plant Pathology*, 56(4): 588-594. V.B. Suffert F et Lucas JM (2008) Lateral roots of carrot have a low impact on alloinfections involved in a cavity spot epidemic caused by *Pythium violae*. *Journal of General Plant Pathology*, 74: 296-301.	143

Chapitre VI **Effet de trois facteurs culturaux sur le développement d'épidémies de cavity spot** 161

Suffert F, Delalande D, Prunier M et Andrivon D (2008) Modulation of primary and secondary infections in epidemics of carrot cavity spot through agronomic management practices. *Plant Pathology*, 57(1): 109-121.

Chapitre VII **Perspectives d'application et de modélisation** 179

VII.A. Suffert F (2005) Cadre théorique de la notion de complémentation caractérisant des stratégies de protection des cultures. *Phytoprotection*, 86(2): 89-92.

VII.B. Perspectives d'application à la protection intégrée de carottes (non publ.)

VII.C. Modelling cavity spot epidemics (non publ.)

Conclusion générale 207

Références 215

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.

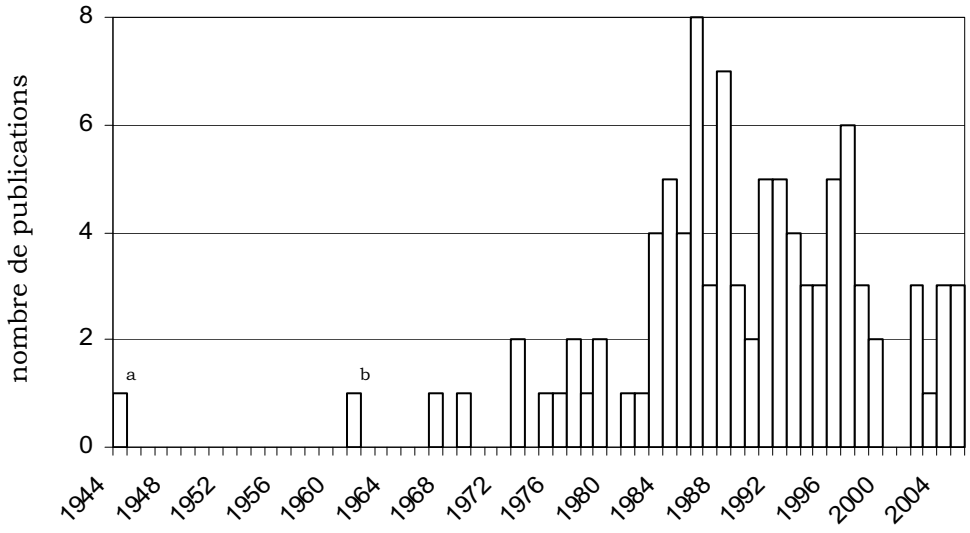
Les *Pythium* sont des parasites majeurs des racines de carotte. Ils forment un complexe pathogène, constitué de plusieurs espèces, dont la composition est variable d'une région à l'autre en France et dans le monde. Ils provoquent différents types de symptômes et de dégâts, parmi lesquels le cavity spot 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 Végétale[1] : 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 Végétale[2] (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 maintient 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 culturaux).

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 et présentés sous forme d'articles, reliés entre eux par des transitions 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 culturales 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.

Le Chapitre II concerne des éléments de pathométrie du cavity spot. Une synthèse 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 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 « complémentation » 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 culturales. 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 dominé[1] 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

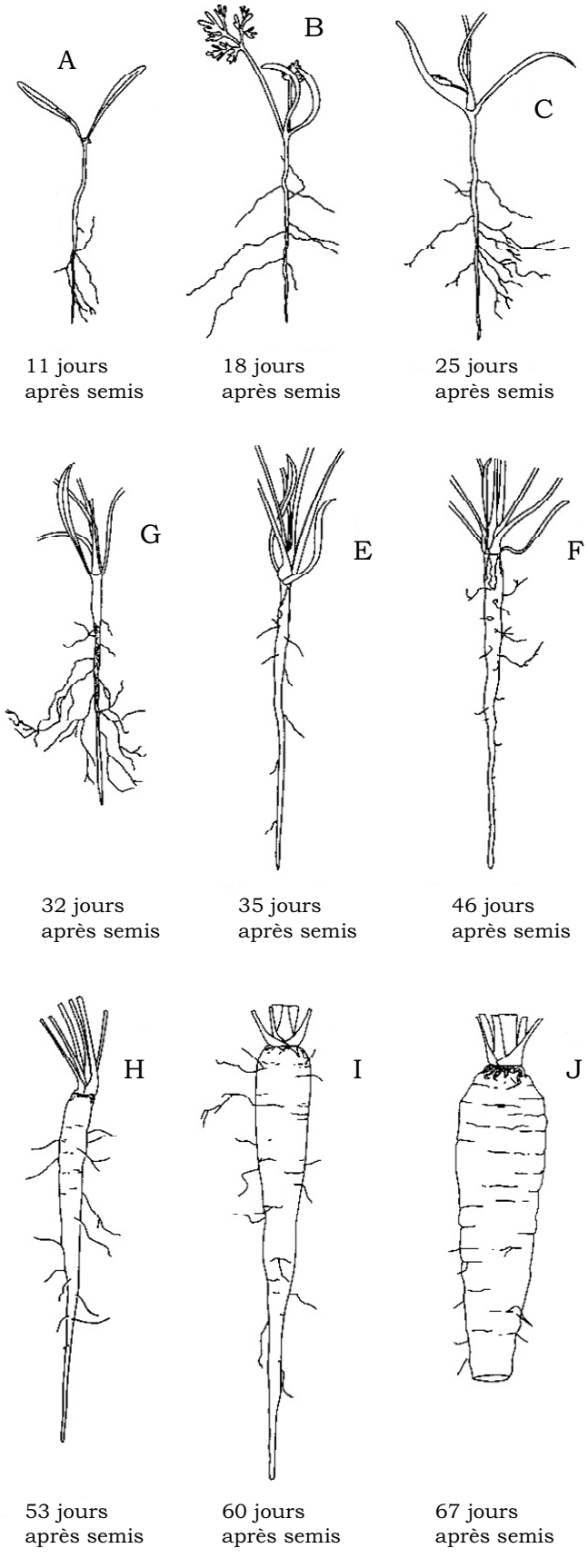
1.3.1.1. Cycle cultural de la carotte et définition de stades-états

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 (Caneill *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 :

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

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 base[2].

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 :

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

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) :

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

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°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

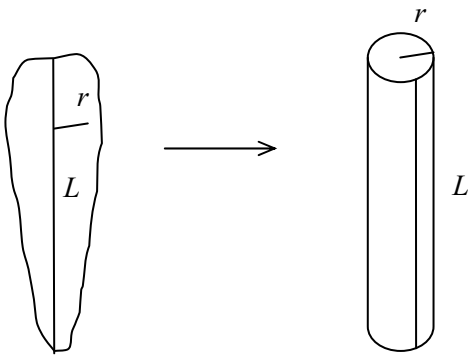
Différents critères morphologiques décrivant la forme d'une racine tubérisée ont été définis, tels que la « cylindricalité » (Bleasdale & Thompson, 1963) ou le rapport longueur / diamètre (Benjamin & Sutherland, 1989). Le modèle de Benjamin (1990), tout comme celui proposé par Morris & Currah (1983), 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 théorique[4], peuvent être complexes. Il est nécessaire d'éviter les problèmes de compétition entres 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 & Knaflewski (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.

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).

$$V = \pi . r^2 . L \qquad (4)$$

$$S = \frac{2w}{r.d_{vol}} \qquad (5)$$

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 culturaux 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. 182). 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 échelle[5] ; 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 champignons[7] 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 & Hickman[8] 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 spot[9] 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 cœnocytique, 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 abrégerons 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 lente[10], 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-Niternink (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).

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

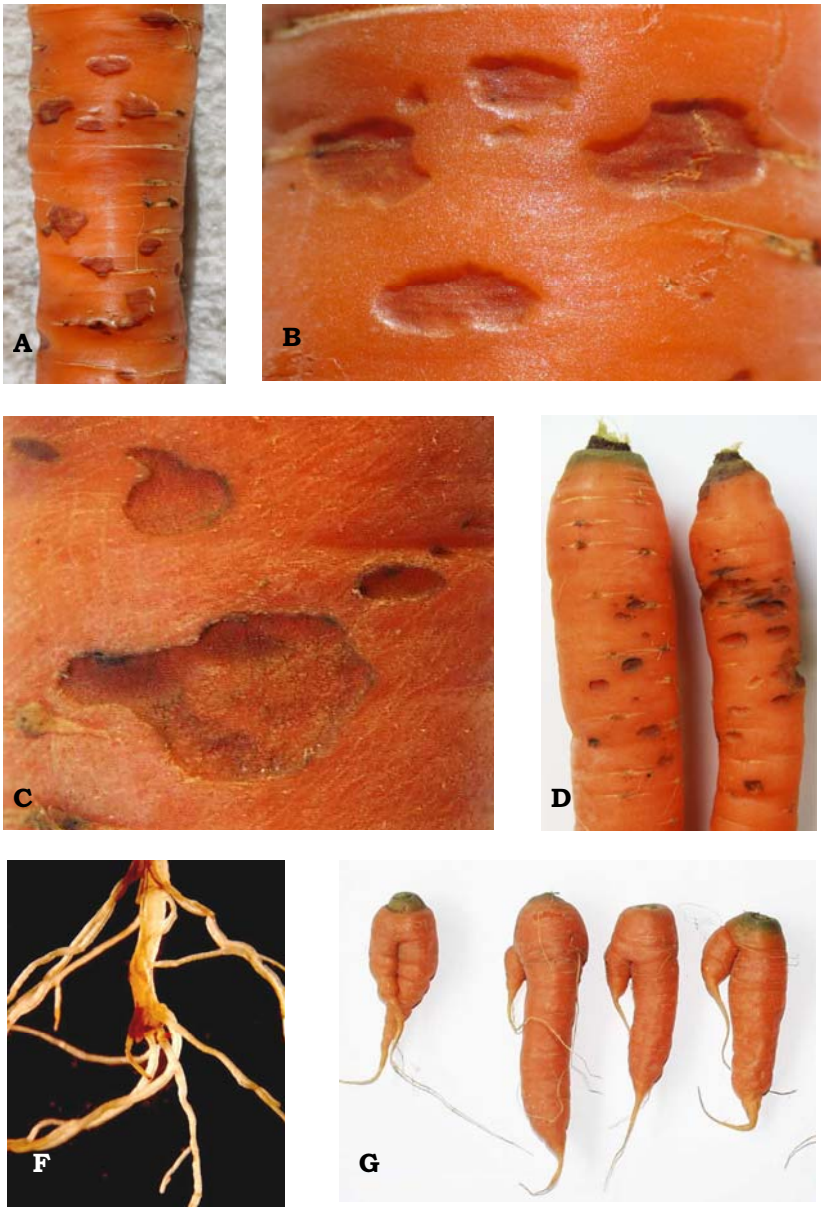
[d] Les espèces *P. acanthicum* Drechsler et *P. paroecandrum* Drechsler ont été isolées sporadiquement à partir de symptômes de cavity spot sur culture de carottes au Canada (Benard & Punja, 1995 ; Allain-Boulé *et al.*, 2004b). Le pouvoir pathogène de ces espèces n'a pas été établi.

[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 radiculaire 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.

	Espèces de *Pythium* impliquées						
Région, bassin ou site	*Pvi*	*Psu*	*Pco*	*Psy* [a]	*Pin*	*Pul*	Source
Nord-Picardie	+			+	+	+	Guerin *et al.* (1993)
Val-de-Saire	+	+		+			Breton & Rouxel (1993)
Créances	+	+		+	+		Breton & Rouxel (1993)
							Suffert (2004, non pub.)
Mont Saint-Michel		+			+		Breton & Rouxel (1993)
Santec	+	+			+		Guerin *et al.* (1993)
Le Rheu [b]	+	+	+	+	+	+	Suffert (2003, non pub.)
Ille-et-Vilaine	+	+		+			Guerin *et al.* (1993)
							Suffert (2004, non pub.)
Val de Loire	+	+		+			Montfort & Rouxel (1988)
							Guerin *et al.* (1993)
Landes		+	+	+			Breton *et al.* (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 indispensable[11].

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 lésion[12]. 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 métalaxyl (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 (Mattews, 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-Niternink (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-Niternink, 1981). Alors que la monographie de Van der Plaats-Niternink (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 cœnocytique, 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-Niternink (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-Niternink, 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 (sphérosporangiés) ou filamenteuse (nématosporangiés) 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

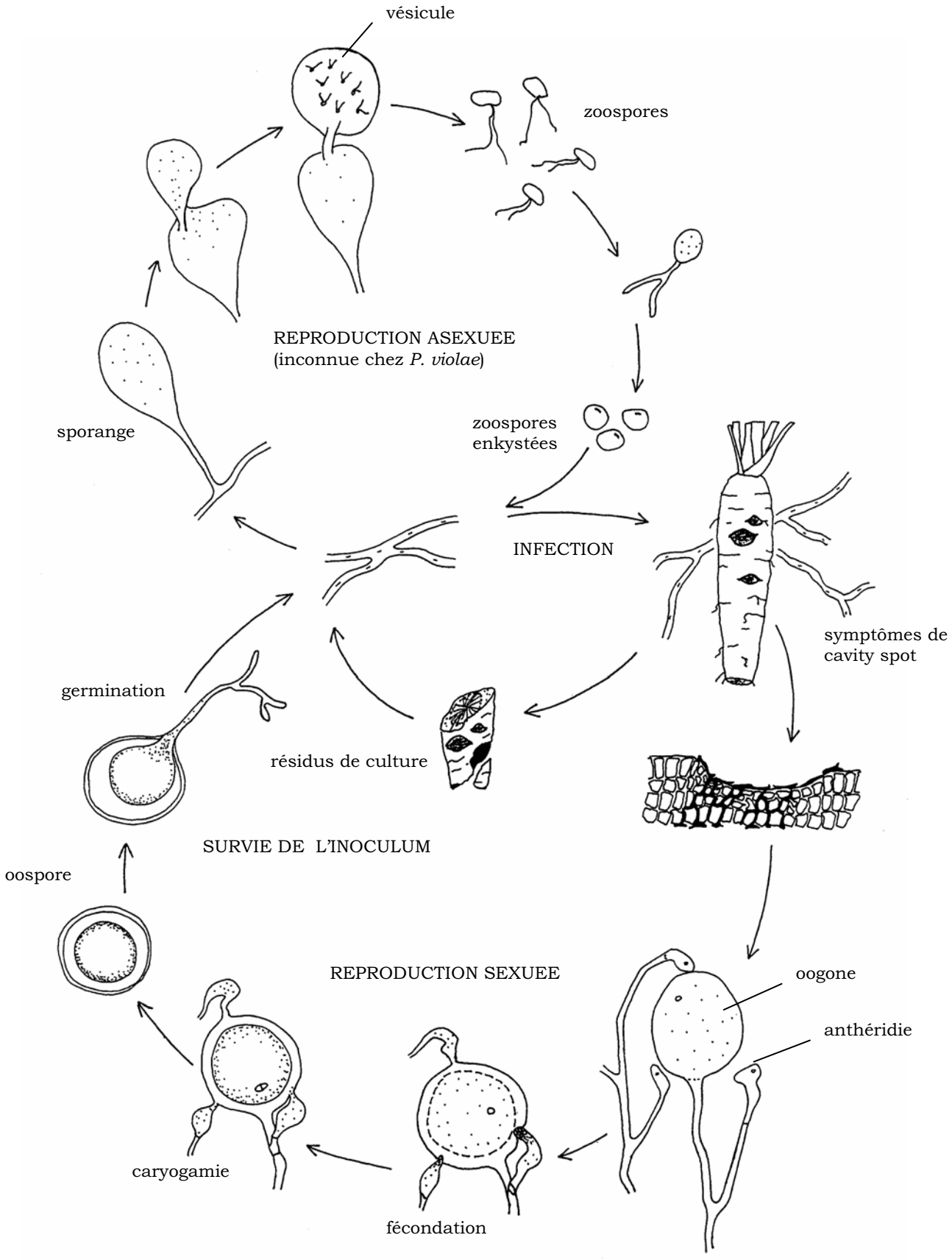


Figure I-3 Cycle biologique des *Pythium* responsables du cavity spot de la carotte (d'après Agrios, 2005).

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-Niternink, 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 génériques[13]. 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 AUDPC[14] (*area uder 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.

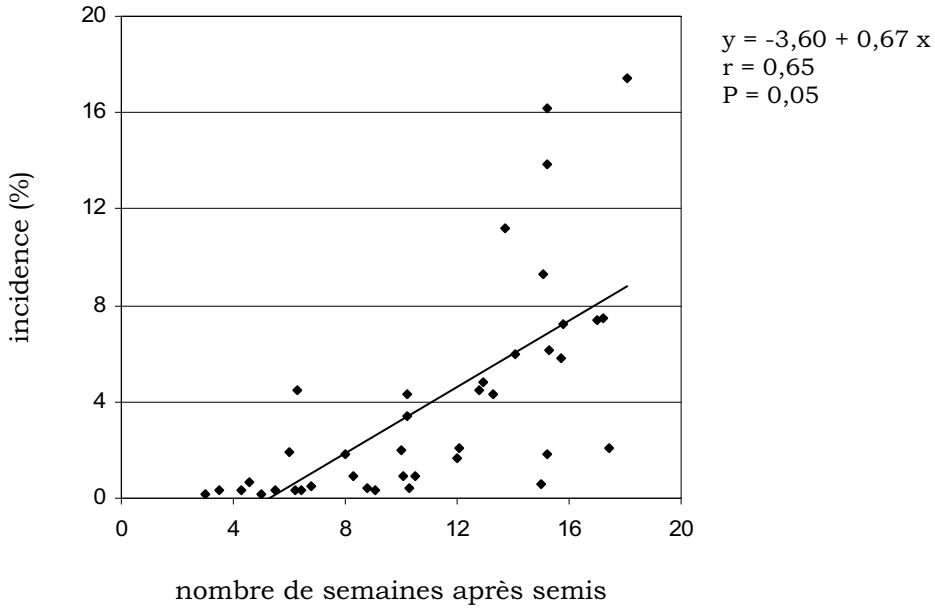
---

[13] Voir Chapitre II p. 64.

[14] Voir définition au Chapitre VI p. 166.

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 polyétique[15]). L'occurrence d'infections secondaires[16] (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-porosité[17] : 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 ($CaSO^4$) ou d'acide sulfurique (H_2SO_4). 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 résistants[18] 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 élevés 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 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.

NO_3-, 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 culturaux

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'incidence[19] (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-Niternink, 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 mefexoxam 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 SANTHAL[20] (mefenoxam) au moment de la découverture, 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 feuilles[21]. Les traitements de semence sont quasi-systématiques[22].

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 appréciées 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 MS2[23]) 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 kit[24], 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 Lenght 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'électrophorèse[25] (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. 128.

Aucune technique de détection ou de quantification directe dans le sol n'est actuellement applicable aux espèces de *Pythium* pathogènes de la carotte[26]. 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 concept[27], 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

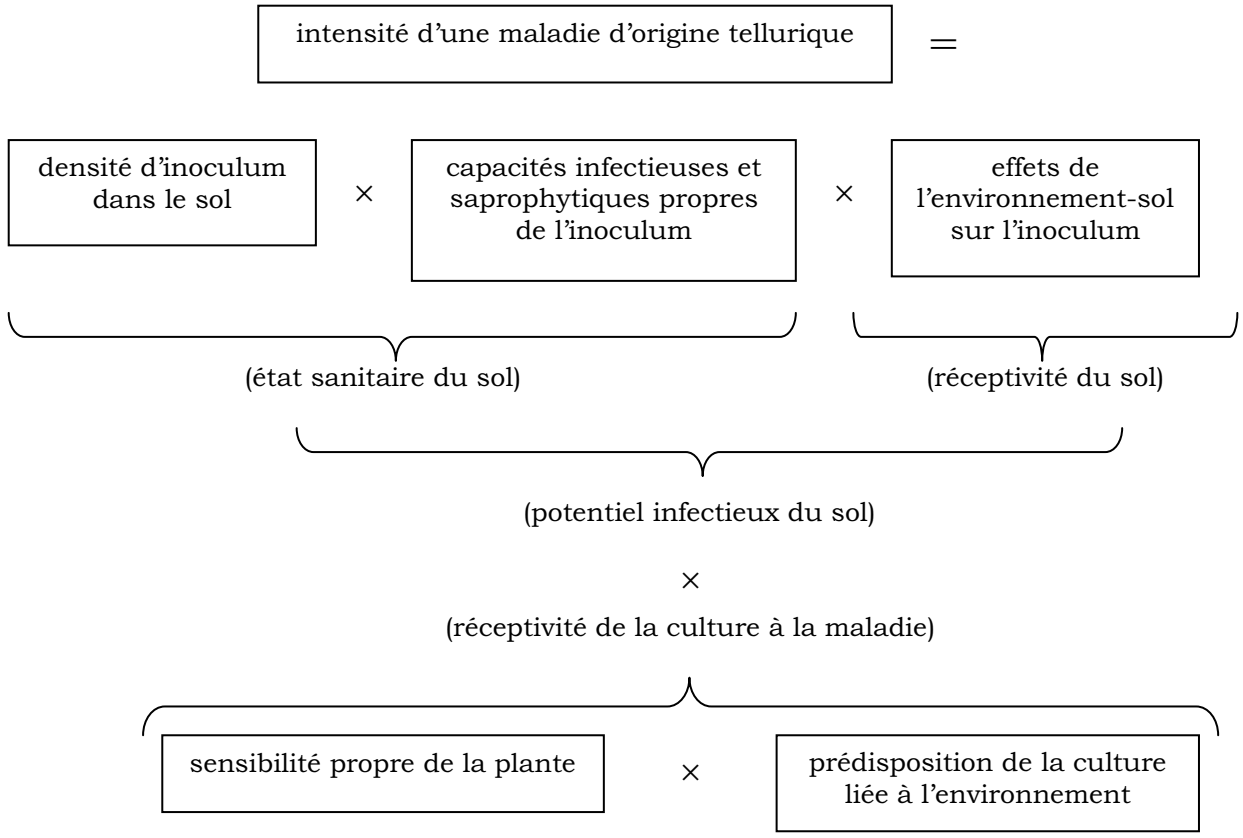
[27] '*It is pretentious wordy jargon to use the term inoculum potential where plain inoculum is meant. The way of the inoculum potential is a blind alley* (…) *What is inoculum potential ? To many – perhaps most – of those who use the term, inoculum potential is just inoculum. To few, if any, is it 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 × 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, sclérotes, 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 a 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 identiques[28]. 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 », tiraillés 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'expliciter 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 (Willocquet & Savary, 2004) (voir compléments au Chapitre VII p. 182).

« 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 Verhuslt-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 :

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

En intégrant cette équation, on obtient :

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

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 :

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

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

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

Ce modèle correspond au modèle déterministe SIR[29] 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) << κ, 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 défini 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 :

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

Le modèle logistique introduit par Vehulst-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 :

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

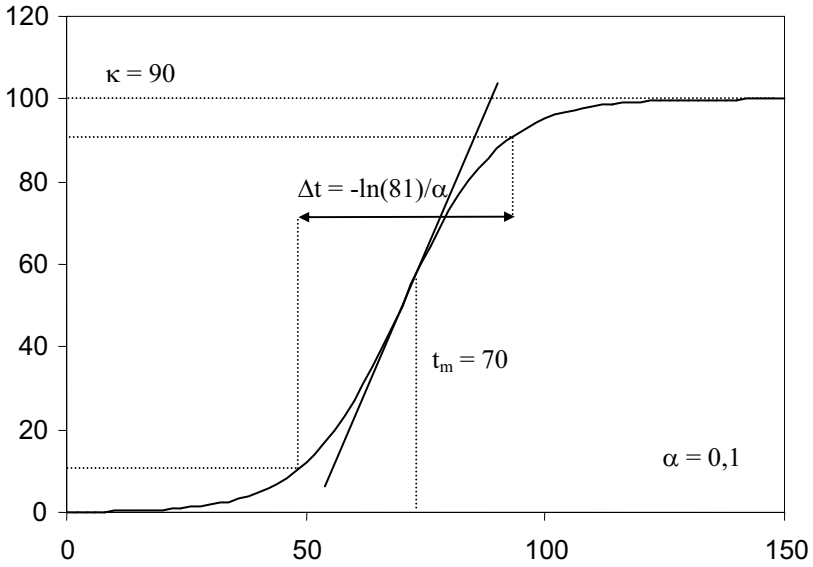
où N(t) est l'effectif de la population au temps t, α le paramètre correspondant au taux de croissance.

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 :

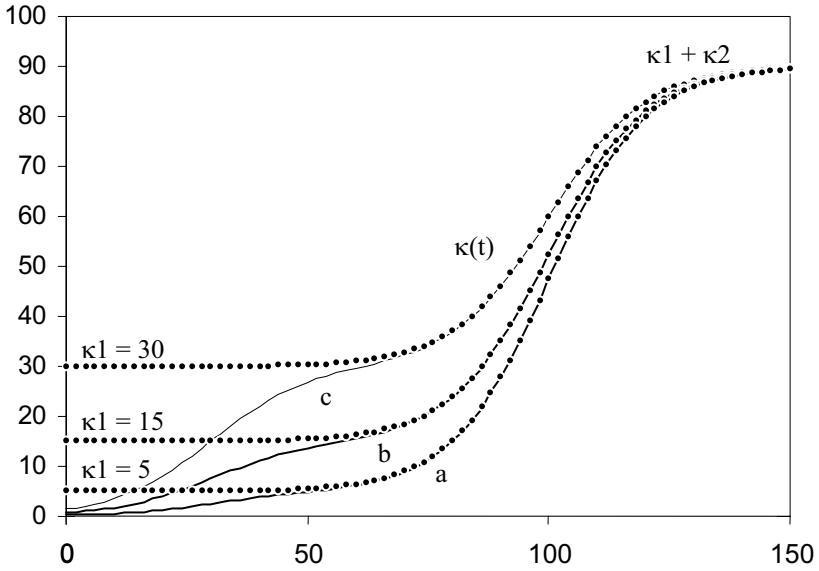
Figure I-6 Modèles logistique et bi-logistique.

A - Courbe logistique. **B** - Courbe bi-logistique (modèle de Hau & Amorim) obtenue à partir d'un accroissement logistique de la capacité limite κ(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



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

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 :

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

Cette équation différentielle a pour solution analytique :

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

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 tellurique[30] : *Verticicladiella procera* 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 Gompertz[31] + 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 Gomperz, 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) :

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

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 :

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

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. 143.

[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 :

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

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 :

$$\frac{dy}{dt} = (r_1 p + r_2 n y)(1 - y) \qquad (18)$$

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 $c_1 = r_1 p$ et $c_2 = r_2 n$, en faisant l'hypothèse que n est constant :

$$\frac{dy}{dt} = (c_1 + c_2 y)(1 - y) \qquad (19)$$

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

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

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 maladie[33].

$$p(t) = p_0.e^{-r_d t} \qquad (21)$$

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.

$$r_d = \frac{\ln 2}{D_2 V} \qquad (22)$$

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

$$\frac{dy}{dt} = (r_1 p_0.e^{-r_d t} + r_2 ny)(1-y) \qquad (23)$$

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. 133.

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. Elsiever, 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 Planzenkrankenheit 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 adjustement 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.
Davsion EM et McKay AG (2003) Host range of *Pythium sulcatum* and the effects of rotation on Pythium diseases of carrots. Autralasian 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 Agrobiolgia 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 avanced 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 ecologiques de la protection des cultures: gestion des populations et amenagement 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 Witzenberger 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.
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 pp.
Horsfall (1932) Dusting tomato seed with copper sulfate monohydrate for combinating 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, Ohyama 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 Knaflewski M (2004) Preliminary model of carrot growth. Acta Horticulturae 654: 235-241.
Lackner AL et Alexander SA (1984) Incidence and development of *Verticicladiella procera* 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, Pattterson 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 *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.

Willocquet 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

Suffert F et Montfort F (2008) Pathometric relationships reveal epidemiological processes involved in carrot cavity spot epidemics. *European Journal of Plant Pathology*, 122: 425-436

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.

Pathometric relationships reveal epidemiological processes involved in carrot cavity spot epidemics

Frédéric Suffert · Françoise Montfort

Received: 8 October 2007 / Accepted: 20 March 2008
© KNPV 2008

Abstract Carrot cavity spot (CCS) is one of the most important soilborne diseases affecting the carrot crop. The few epidemiological studies that have investigated the temporal and spatial dynamics of the disease have been based solely on diagrammatic scales or semi-quantitative indices. To reveal epidemiological processes involved in the development of CCS epidemics, we investigated pathometric relationships. To this end, standardised measurements were defined (disease incidence *i*, lesion density *d*, conditional lesion density *cd*, lesion size *ls*, and total diseased area *tda*). The evolution of a cohort of CCS lesions according to their size suggested that lesions can expand over time. Two pathometric relationships were tested: a first one, between *i* and *tda*, is given by the equation $i=100(1-\exp(-a(t)tda))$, where *t* is thermal time, and a second one, between *tda*, *d*, and *ls*, is given by the equation $tda=c(t)\pi d(ls/2)^2$. These relationships were validated for CCS epidemics in the case of field experiments, a survey in commercial fields, and a controlled-conditions experiment. The temporal linear decrease of the time-dependent parameter $a(t)$ in the first relationship suggested that CCS epidemics followed classical epidemiological phases driven by successive processes: (1) the mobilisation of soil inoculum leading to primary infection, (2) the spread of disease to neighbouring taproots (alloinfection), and (3) the intensification of disease on the taproot (autoinfection). This is consistent with complementary experimental results which demonstrated that auto- and alloinfections occur in CCS epidemics.

Keywords Incidence–severity relationship · Phytopathometry · Primary infection · *Pythium* spp. · Secondary infection · Soilborne disease

F. Suffert · F. Montfort
INRA, UMR1099 BiO3P (Biologie des Organismes et des Populations appliquée à la Protection des Plantes),
35653 Le Rheu, France

F. Suffert · F. Montfort
Agrocampus Rennes, UMR1099 BiO3P,
35653 Le Rheu, France

F. Suffert (✉)
INRA, UMR1290 BIOGER-CPP (Biologie et Gestion des Risques en Agriculture – Champignons Pathogènes des Plantes),
78850 Thiverval-Grignon, France
e-mail: fsuffert@grignon.inra.fr

F. Suffert
AgroParisTech, UMR1290 BIOGER-CPP,
78850 Thiverval-Grignon, France

Introduction

Carrot cavity spot (CCS) is one of the most important soilborne diseases affecting the carrot (*Daucus carota*) crop in Europe and other temperate countries. The

disease was first described in the 1960s (Guba et al. 1961; White 1986; Montfort and Rouxel 1988) and is characterized by small sunken elliptical lesions on the carrot taproots caused by a complex of *Pythium* spp. dominated by *P. violae* and *P. sulcatum* in France (Montfort and Rouxel 1988; Breton and Rouxel 1993; Guerin et al. 1994; Suffert and Guibert 2007). The lesions have a mean diameter of 2–15 mm, that may darken over time, and depending on edaphic conditions, may increase in size (Hiltunen and White 2002; Suffert 2006). One or more lesions occur anywhere on the surface of taproots and depreciate their quality. The identification of the epidemiological processes that favour the development of CCS is a crucial step in the optimisation of control methods. To this end, thorough assessments of the disease are required in order to quantify the epidemic progress in the field and to better understand CCS dynamics.

Much work has already been carried out on the aetiology of CCS; several measurements have illustrated an increase in overall symptom intensity over time. Perry (1983) found that the percentage of roots with lesions was higher in carrots harvested in November than in October. Maynard et al. (1963) found that the number of lesions per root increased as plants aged. Montfort and Rouxel (1988) reported the presence of small lesions on young carrots and a gradual increase in the frequency of root symptoms during the 4-month growing season. Perry and Harrison (1979) reported increases in the size of lesions over time. Some authors used a diagrammatic scale, as proposed by Sweet et al. (1986), and formalised aggregated disease indices. The ways to assess disease intensity are indeed prolific (see Suffert 2006 for a complete review); however, this makes comparisons very difficult. Moreover, the terminology used to assess CCS has not yet integrated the new concepts in phytopathometry introduced by Large (1966) and developed in following studies (e.g., Bald 1969; Kranz 1988; Nutter et al. 1991).

Some scientists have suggested a way to characterise the disease in order to have a better understanding of epidemiological processes. Guba et al. (1961) reported that at a given location some carrot roots had abundant lesions whilst others had few, if any, and that lesions tended to occur in clusters on individual roots. This aggregation at the root scale suggests that *Pythium* is involved in a pathogenic process, with new infections caused by infectious propagules distributed in local micro-aggregates (oosporic or mycelial form; Phelps et al. 1991). This may also suggest that CCS pathogens are involved in a reproductive process, possibly based on mycelial growth over root surfaces, with primary lesions producing secondary lesions. For other well-studied diseases, some mathematical equations have been proposed to describe the relationships between disease measurements at different scales (e.g., Seem 1984; McRoberts et al. 2003). Because the monitoring of symptoms on underground organs can only be done by destructive sampling, the understanding of cryptic processes involved in soilborne epidemics is generally based on hypotheses indirectly validated by experimental data. Some of these hypotheses can be investigated on the basis of the analyses of pathometric relationships. Unfortunately, due to insufficient normalized measurements in the case of CCS, such relationships have not yet been established.

Within this context, we set out to standardise measurements of CCS and to describe the evolution in number and size of lesions in field experiments after artificial soil infestation, in order to investigate and use pathometric relationships to reveal epidemiological processes involved in CCS epidemics, such as primary and secondary infections.

Materials and methods

Definitions of measurement for CCS assessment

R is the total number of roots in a sampling unit and I is the number of diseased roots (Table 1). N_r is the number of CCS lesions on the root $r \in [1; R]$. Roots with at least one CCS lesion were classified as diseased, whatever the size of the lesion. Lesions were graded according to their mean diameter $D_n = (a_1 + a_2)/2$, where a_1 and a_2 are major and minor axes of an ellipse corresponding to a lesion. Each lesion $n \in [1; N_r]$ was assigned to a diameter class Δ: Δ_0 when $D_n \leq 1$ 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], and Δ_{10} when $D_n > 10$ mm. Δ_0 and Δ_{10} were chosen as lower and upper limits because the detection threshold of a CCS lesion is $D_n = 1$ mm and D_n was rarely >10 mm (Suffert 2006); Δ_5 was chosen because 5 is the median value of the interval]0; 10 mm] (i.e., (10–0)/2=5); Δ_3 was chosen because 3 is the median

Table 1 Glossary of symbols and formulae used to define CCS measurements

Disease measurement	Symbol	Formula	Definition	Unit
	R		Number of roots in the sampling unit	–
	I		Number of diseased roots in the sampling unit	–
	D_n		Mean diameter of the lesion $n \in [1; N_r]$ on the root $r \in [1; R]$	mm
	N_r		Number of lesions on the root r	–
	$N_{\Delta,r}$		Number of lesions assigned to the diameter class Δ on the root r	–
	D_{M}		Diameter value considered as 'median' for each diameter class Δ (D_{M}=1 for Δ_0, D_{M}=2 for Δ_1, D_{M}=4 for Δ_3, D_{M}=7.5 for Δ_5, D_{M}=10 for Δ_{10})	mm
Disease incidence	i	(1) $i = \frac{I}{R} \times 100$	Percentage of diseased roots in the sampling unit	–
Lesion density	d	(2) $d = \frac{1}{R}\sum_{r=1}^{R} N_r$	Mean number of lesions per root in the sampling unit	lesion per root
Lesion conditional density	cd	(3) $cd = \frac{1}{I}\sum_{r=1}^{R} N_r$	Mean number of lesions per diseased root in the sampling unit	lesion per root
Lesion size	ls	(4) $ls = \frac{1}{R \times N_r}\sum_{r=1}^{R}\sum_{\Delta_0}^{\Delta_{10}}\left(N_{\Delta,r} \times D_{\mathrm{M}}\right)$	Mean diameter of lesions on the root	mm
Total diseased area	tda	(5) $tda = \frac{1}{R}\sum_{r=1}^{R}\sum_{\Delta_0}^{\Delta_{10}}\left(N_{\Delta,r} \times \pi\left(\frac{D_{\mathrm{M}}}{2}\right)^2\right)$	Cumulative necrotic area at the surface of the root	mm^2

value of the interval]1; 5 mm] (i.e., 1+(5−1)/2=3). $N_{\Delta,r}$ is the number of lesions assigned to class Δ on the carrot root r.

Disease incidence (i) Disease incidence is defined as the percentage of diseased carrot roots (Eq. 1 in Table 1). Additionally, four truncated disease incidences i_Δ are defined as the disease incidence after a truncation at level Δ: i_1 (lesions are >1 mm, i.e., D_n> 1 mm), i_3 (D_n>3 mm), i_5 (D_n>5 mm) and i_{10} (D_n> 10 mm). Truncated measurement is justified, for example, to avoid overestimating disease incidence usually caused by diagnostic mistakes due to very small lesions.

Lesion density (d) Lesion density is the mean number of lesions per root in a sampling unit (Eq. 2 in Table 1).

Conditional lesion density (cd) Conditional disease is a measurement of disease that depends on the plants being infected (McRoberts et al. 2003). Conditional lesion density *cd* is defined as the mean number of lesions per diseased root (Eq. 3 in Table 1).

Lesion size (ls) Lesion size (or symptom intensity *si*) is an estimation of the size of the lesions on a diseased root in a sampling unit. The five diameter classes defined above (Δ_0, Δ_1, Δ_3, Δ_5, and Δ_{10}) are used for scoring purposes. The lesion size in a sampling unit was calculated using the median value D_M of each diameter class Δ, except for Δ_0 and Δ_{10} for the detection reasons stated above (Eq. 4 in Table 1).

Total diseased area (tda) Total diseased area is the cumulative necrotic area at the surface of a diseased root (Eq. 5 in Table 1). The ratio between the total diseased area *tda* and the total area *ta* of the taproot would be a definition of severity *sensu stricto* (Nutter et al. 1991) as it is a proportion of necrotic surface. However, the value of *tda*/*ta* remains very low even in high CCS intensities: usually <0.1 according to our

own field observations and the diagrammatic scale proposed by Sweet et al. (1986).

Data acquisition

Field experiment A field experiment was carried out in plots located at the INRA Station of Le Rheu (Ille-et-Vilaine, France; 48°01′ N, 1°43′ W) in 2001 and 2002 in the same area (Z1), and in 2003 in another area (Z2; Suffert 2007). The silt loam soil (16.3% clay, 62.5% silt, 21.2% sand, and 2.4% organic matter) was naturally contaminated with *P. sulcatum*, *P. intermedium*, *P. sylvaticum*, *P. coloratum*, and *P. ultimum* (Suffert and Guibert 2007) and was artificially infested with *P. violae* (strain Pv490, CBS 102.609) 3 weeks before sowing carrots. To produce inoculum, bags containing 240 ml of dry barley grains and 300 ml of distilled water were autoclaved twice at 120°C for 1 h at 24-h intervals, and inoculated with plugs of *P. violae* grown on carrot juice agar; these were incubated for 3 weeks at 20°C in a dark room. The experimental areas were sown with carrots (cv. Nanco) on 22 May 2001, on 13 June 2002, and on 20 June 2003. Infected barley grains were distributed manually in 2001 (Z1) and 2003 (Z2). The experiment was set up as a randomised block design (four blocks), with inoculum dose as one factor with four treatments (control, 5 g m^{-2}, 50 g m^{-2}, and 500 g m^{-2} of barley grain colonised by *P. violae*) to generate different CCS intensities. Experimental units were 2 × 6 m plots and involved five rows 50 cm apart with about 80 plants per linear meter. All plots received the same treatments as described by Suffert (2007). Disease was assessed about every month on samples (8, 5, and 6 sampling dates in 2001, 2002, and 2003, respectively) consisting of all carrot roots present along a 50 cm segment of any of the three central rows of each plot; each sample typically included 30–40 roots. The number and size of CCS lesions were assessed on each root. Disease measurements *i*, *d*, cd, *ls*, and *tda* were then calculated.

Field survey An epidemiological survey was carried out in the Créances region (Manche, France), where edaphic, cultural, and socioeconomic conditions are homogeneous. It is a traditional production area in which carrots are grown on small (on average 45 ha total cultivated area) and highly specialised farms. Soils are sandy and the organic matter rate is low (from 1% to 1.5%). CCS can be severe in the fields with repeated cultivation of carrots. *Pythium violae* and *P. sulcatum* are the species most frequently isolated from CCS lesions in this area (Breton and Rouxel 1993). The survey concerned commercial carrot crops mainly sown between 1 June and 20 June 2002 and harvested between 20 January and 10 February 2003. After harvest, carrots were loaded into trailers and sent to the cooperative factory to be washed, graded and packaged. Each trailer contained between 3 and 4 tons of carrots coming from a single homogeneous field. Ten samples of 30 carrots were randomly taken from each trailer. Overall, there were 55 trailers corresponding to 33 different fields. Symptoms of CCS were scored as described above.

Controlled-conditions experiment A steam-sterilised reconstituted soil (one half sand, one fourth compost, and one fourth organic soil) was artificially infested with infected carrot residues from a CCS epidemic mainly due to *P. violae* (Suffert and Guibert 2007). Typical lesions on 5 month-old carrots were cut to generate small fragments of necrotic tissues with sides 2–3 mm long, that were used to infest soil by evenly distributing them throughout the volume of 4 l pots just before sowing. The experiment was set up as a randomised block design (three blocks), with inoculum dose as one factor with four treatments as described by Suffert and Montfort (2007; 0.35 g, 1.75 g, 3.5 g, and 7 g of CCS-affected carrot root fragments per pot) to generate different CCS intensities. Seven carrot seeds (cv. Nanco) were sown in each pot immediately after infestation. Pots were placed in controlled-conditions (16 h of daylight at 20°C and 8 h 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 and washed 12 weeks after sowing and symptoms of CCS scored as described above.

Pathometric relationships and statistical analyses

James and Shih (1973), and then Rouse et al. (1981), modelled the relationship between disease incidence *i* and disease severity *s* (defined as the percentage of a plant surface affected by a disease) with a restricted exponential equation (Eq. 6) that describes the increase in disease incidence from a low value

(usually zero) towards an upper value b (usually 100 on a percentage scale) according to the increase in disease severity:

$$i = b.(1 - e^{-a \times s}) \quad (6)$$

Because Rouse et al. (1981) showed that the severity–incidence relationship can fluctuate over time, a modified version of the classical equation in which b=100 and t = thermal time (accumulated degree days from sowing, base 3.5°C; Eq. 7) was selected and fitted to data sets acquired in the three experimental conditions using the SAS statistical package, version 8.1 (SAS Institute Inc 2000):

$$i = 100.\left(1 - e^{-a(t)\,tda}\right) \quad (7)$$

The growth of both carrot and *Pythium* spp. responds strongly to the temperature of their environment. The 3.5°C threshold is the minimum temperature for carrot root growth (Tamet et al. 1993) and is close to the minimum growth temperature of the *Pythium* spp. involved in CCS (Van der Plaats-Niterink 1981; Suffert and Guibert 2007). Assessments of CCS were made in different locations and over long periods, including the winter period during which temperature was low (e.g., the minimal daily air temperature was <3.5°C for 57 days in the field experiment between 1 November 2001 and 28 February 2002); therefore, to cope with the effects temperature can have, thermal time was used (Lovell et al. 2004). It also best suits the overall investigation that included both field experiments and the controlled-conditions experiment. Because the development of CCS also responds to soil moisture (Hiltunen and White 2002), a hydrothermal time based on soil temperature and water potential (Dahal and Bradford 1994) would have been useful, but it was not practicable.

The second relationship (Eq. 8), in which *tda* is expressed as a function of *d*, *ls*, and thermal time *t*, was then fitted to data sets as follows:

$$tda = c(t)\pi d(ls/2)^2 \quad (8)$$

Parameters $a(t)$ in Eq. 7 and $c(t)$ in Eq. 8 were set constant for data from the survey and the controlled-conditions experiment, but varied with t for data from the field experiment because of the multiplicity of sampling dates. The linearity of the relationship between the parameter a and the thermal time t was tested fitting the model $a(t) = \alpha t + \beta$ to the field experiment data in 2001, 2002, and 2003.

Results

Illustration of the diversity of CCS intensities

Characteristics of CCS symptoms were gleaned from the field experiment data (2001–2003). Various distributions of lesions on roots were ranked according to disease density *d*, total diseased area *tda*, and lesion size *ls* (Fig. 1). Quantitative grades were used for *d* and *tda*, and mean diameter of lesions *ls* was expressed by qualitative grades (low, medium or high). Cases (a) and (d) showed isolated large lesions. Cases (e), (g), and (h) showed large lesions with an aggregated spatial distribution at the root scale. Cases (c), (f), and (i) showed an aggregated spatial distribution of some coalescent lesions with indistinct contours. Cases (a), (d) and (h) gave very different measurements of *d* and estimations of *ls*, while *tda* were similar.

Assessment of CCS progress and lesion expansion

CCS epidemics obtained after a soil infestation with two densities of *P. violae* (dose 5 g m^{-2} and dose 500 g m^{-2}) in field experiment 2001 are illustrated with four disease measurements (*i*, *d*, *ls*, and *tda*) plotted against time (Fig. 2). During the first part of the epidemics (June to September, i.e., 0 to 1,500 degree days) the four disease variables increased slowly. The CCS intensity, illustrated by the mean lesion density *d* (0 to 0.5 lesions per root) and the mean incidence *i* (0% to 20%), was stable over the summer before increasing quickly in autumn. The incidence *i* and the total diseased area *tda* soared between 1,500 degree days (September) and 2,200 degree days (November).

The conditional lesion density was recorded according to lesion diameter at different sampling dates in the field experiment (S3 to S8 in 2001, S3 to S5 in 2002, S2 to S6 in 2003; Fig. 3). The data were expressed as the number of lesions arranged by diameter class (≤1 mm,]1; 3 mm],]3; 5 mm],]5; 10 mm], >10 mm), and as the percentage of lesions in each diameter class. At the beginning of the epidemic in 2001, roots were small and thin, and the diameter of

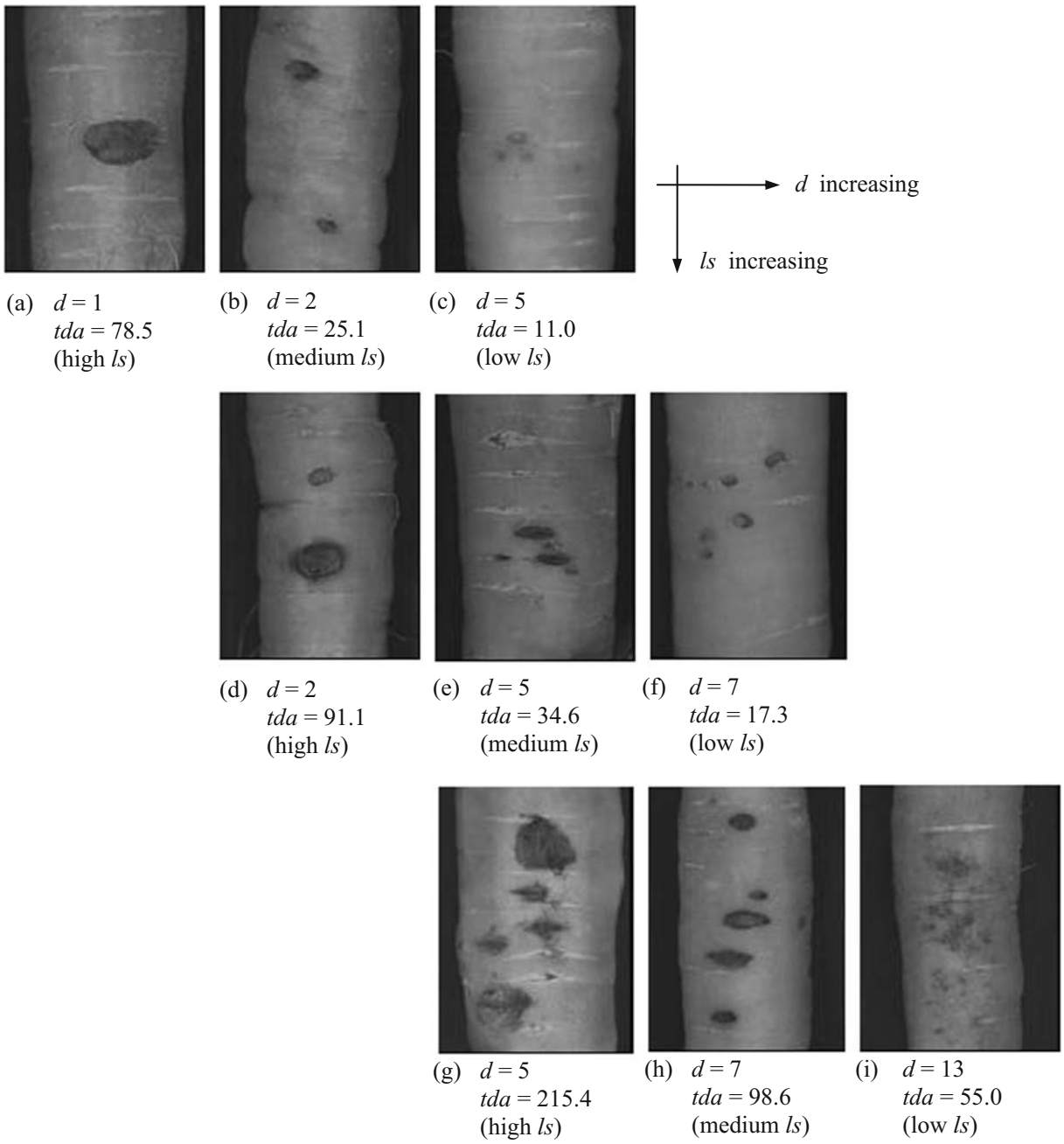


Fig. 1 CCS intensities on carrot taproots according to lesions density *d* (lesions per root), total diseased area *tda* (mm^2), and lesion size *ls* (low, medium, or high)

most lesions was <3 mm (Fig. 3a). Larger lesions (]5; 10 mm]) appeared after S6, while the proportion of small lesions (≤3 mm) decreased. At the end of winter (S6 to S8), the number and the percentage of small lesions again increased. Approximately the same pattern was observed during the 2002 epidemic (Fig. 3b): largest lesions (>5 mm) appeared in autumn (S4 and S5), while the proportion of small lesions (≤3 mm) decreased. In 2003 (Fig. 3c), the evolution of the cohort of CCS lesions according to their size

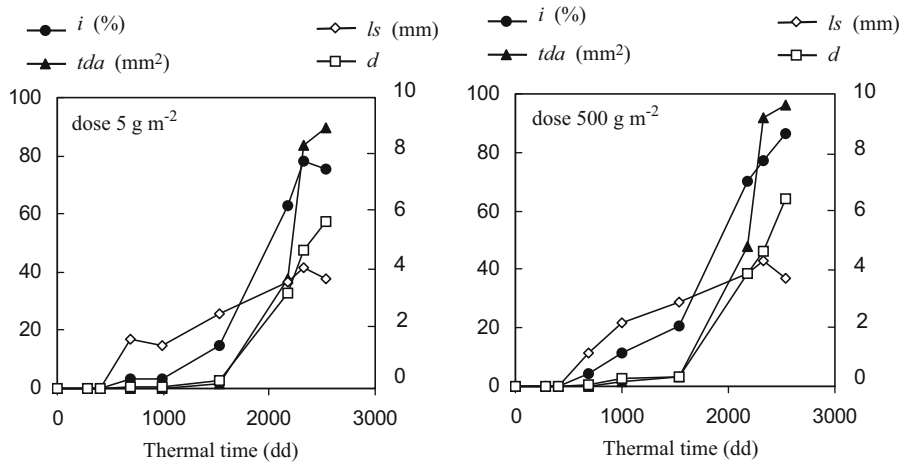


Fig. 2 CCS progression curves for four disease measurements (disease incidence *i*, lesion density *d*, lesion size *ls*, and total diseased area *tda*) plotted against thermal time (accumulated degree days from sowing, base 3.5°C) in the field experiment 2001. Curves correspond to two inoculum doses (5 g m^{-2} and 500 g m^{-2} of barley grain colonized by *P. violae*); 0–10 right scale corresponds to *ls* and *d* (*white symbols*), and 0–100 left scale to *i* and *tda* (*black symbols*)

was quite different: the number of smallest lesions increased over the whole epidemic, while the proportion of largest lesions was low and decreased in autumn (S4 to S6).

In 2001 and 2002 the proportion of small lesions (≤3 mm) decreased throughout the growth cycle, unlike the proportion of larger lesions (>5 mm), which increased (Fig. 3a and b). It was not possible to firmly establish that a given small lesion (e.g. ≤3 mm) enlarged (e.g. >5 mm) because new fresh CCS lesions could not be distinguished from older ones; however, the decrease in the number of lesions assigned to Δ_5 (]5; 10 mm]) between S6 and S7 was compensated by the increase in the number of lesions assigned to Δ_{10} (>10 mm; Fig. 3a). This suggests that lesions assigned to Δ_{10} in S7 could be those initially assigned to Δ_5 in S6, and that existing lesions may increase in size over time.

Pathometric relationships

Relationship between disease incidence i and total diseased area tda Fitting Eq. 7 to the field experiment data gave values of parameter $a(t)$ ranging from 0.012 to 0.067 (correlation coefficient R ranged from 0.659 to 0.940; $P<0.01$; Table 2). Figure 4 illustrates the relationship between *i* and *tda* at each sampling date in 2001, 2002 and 2003. For the survey and the controlled-conditions experimental data, $a=0.024$ ($R=0.893$; $P<0.01$) and $a=0.140$ ($R=0.929$; $P<0.01$), respectively. The correlation between *i* and *tda* was largely independent of the CCS intensity. A decreasing linear relationship between the parameter *a* and thermal time *t* was established for the field experiment in 2001 and 2002, with $\alpha = 3.3 \times 10^{-5}$ ($R=-0.974$; $P=0.045$) and $\alpha = 4.7 \times 10^{-5}$ ($R=-0.999$; $P=0.001$), respectively (Fig. 5). No similar decreasing linear relationship between *a* and *t* was found in 2003.

Relationship between total diseased area tda, lesion density d and lesion size ls Fitting Eq. 8 to the field experiment data gave values of parameter $c(t)$ ranging from 0.896 to 2.297 (correlation coefficient R ranged from 0.929 to 0.998 for the 3 years; $P<0.01$; Table 2); $c=1.238$ ($R=0.994$; $P<0.01$) for the survey data and $c=0.166$ ($R=0.954$; $P<0.01$) for the controlled-conditions experiment data. Contrary to $a(t)$, no significant linear relationship between *c* and *t* was established from the field experimental data.

Discussion

The four disease measurements (*i*, *d*, *ls*, and *tda*) allowed us to describe in full CCS symptoms and reveal epidemiological processes involved in CCS epidemics. From an empirical standpoint, an increase in disease incidence *i* concomitantly to a stabilisation of lesion density *d* suggests that CCS is spreading by alloinfection (root-to-root contamination). Conversely,

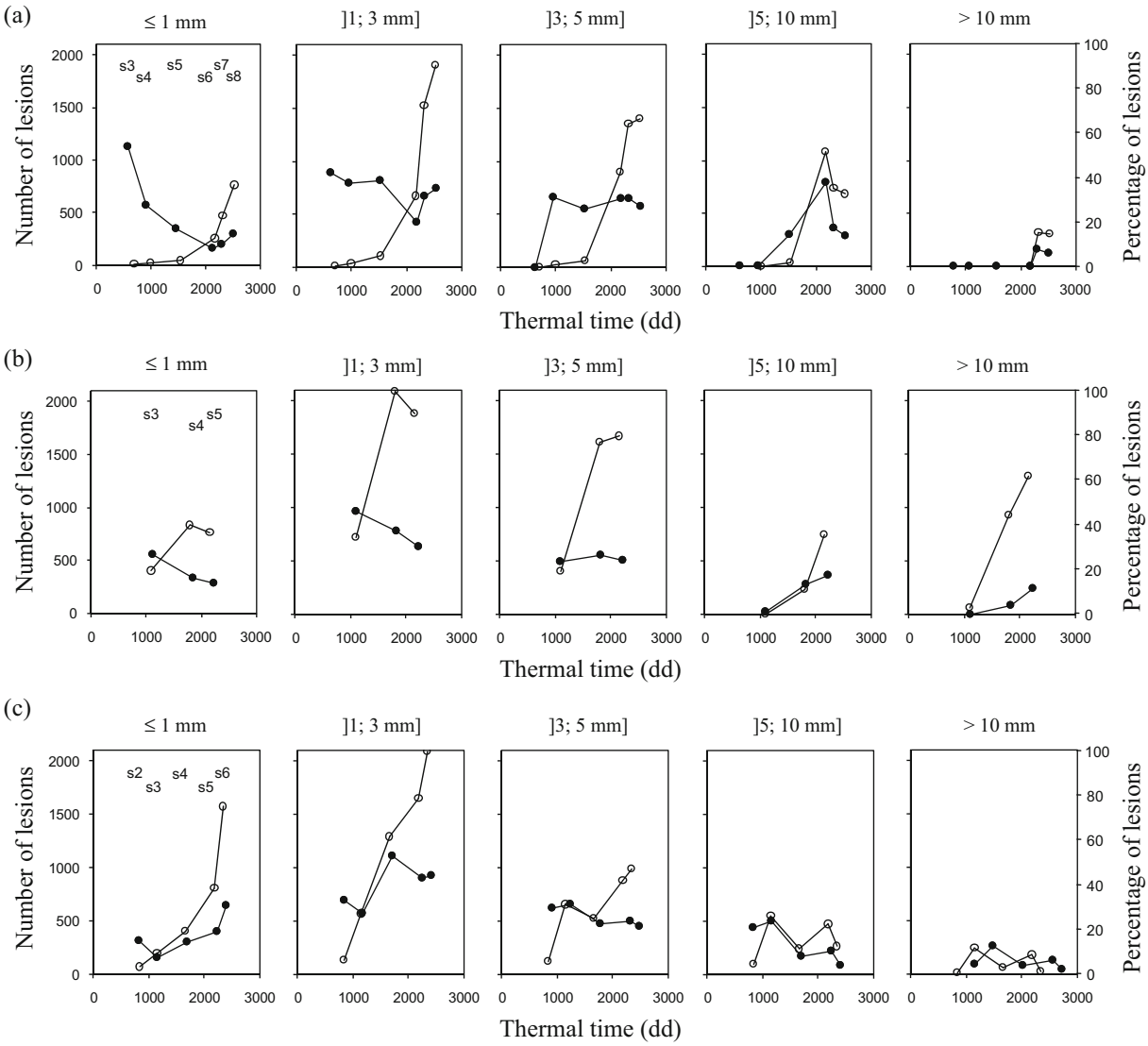


Fig. 3 Evolution in number and proportion of CCS lesions according to their mean diameter during three years of epidemic in the field experiment; **a** 2001, **b** 2002, **c** 2003. Horizontal scale is thermal time (accumulated degree days from sowing, base 3.5°C). *White circles* represent the number of lesions (extrapolated to 1,000 carrot roots) pertaining to the same cohort size, (left vertical scale); *black circles* represent the percentage of lesions pertaining to the same cohort size (right vertical scale). Curves were plotted with three inoculum doses pooled (5, 50, and 500 g m^{-2} of barley grain colonized by *P. violae*)

an increase in lesion density *d* concomitantly to a stabilisation of disease incidence *i* suggests that the disease becomes more intense at the root scale by autoinfection (contamination from a lesion on the same root). An invariability of lesion density *d* concomitantly to an increase in total diseased area *tda* suggests that the size of existing lesions was increasing, as expressed by Eq. 8. This is consistent with our analysis of a cohort of CCS lesions according to their size, which showed that a lesion may increase in size over time. As in the case of aerial plant diseases (Kranz 1988), we need to assume that each CCS lesion corresponds to a single initial infection, disregarding the occurrence of large lesions generated by the coalescence of the smallest (Suffert 2006). Changes in the cohort of CCS lesions according to their size were similar in 2001 and 2002, but differed in 2003: this suggests an impact of edaphic

Table 2 Relationship between disease incidence i and total diseased area tda, given by the equation $i=100(1-\exp(-a(t)tda))$ fitted to CCS measurements (from field experiment, survey, and controlled-conditions experiment), and relationship between total diseased area tda, lesion density d and lesion size ls, given by the equation $tda = c(t)\pi d(ls/2)^2$, where t is the thermal time (accumulated degree days from sowing, base 3.5°C)

Equation			$i=100(1-\exp(-a(t)tda))$		$tda = c(t)\pi d(ls/2)^2$		Size of sample
	Date	Accumulated degree days	a	R	c	R	
Field experiment							
2001							
S4	30/07/01	997	0.067	0.940*	0.957	0.991*	28/48
S5	03/09/01	1,535	0.058	0.798*	0.896	0.929*	40/48
S6	05/11/01	2,175	0.036	0.934*	1.047	0.995*	48/48
S7	08/01/02	2,325	0.021	0.930*	1.405	0.992*	48/48
S8	25/02/02	2,534	0.021	0.927*	1.440	0.985*	47/48
Pooled data			0.027	0.957*	1.257	0.979*	211
2002							
S3	12/08/02	1,087	0.067	0.808*	1.953	0.988*	56/57
S4	08/10/02	1,795	0.034	0.782*	2.204	0.998*	57/57
S5	02/12/02	2,162	0.017	0.738*	1.886	0.992*	57/57
Pooled data			0.046	0.863*	2.211	0.995*	170
2003							
S2	15/07/03	827	0.035	0.722*	2.297	0.992*	48/48
S3	04/08/03	1,154	0.012	0.659 *	1.968	0.991*	48/48
S4	02/09/03	1,663	0.038	0.819*	1.755	0.980*	48/48
S5	15/10/03	2,183	0.029	0.858*	2.197	0.996*	48/48
S6	09/12/03	2,351	0.039	0.747*	2.096	0.986*	48/48
Pooled data			0.028	0.775*	1.947	0.988*	240
Survey							
2003	15/01/03 to 30/01/03	2,000 to 2,200	0.024	0.893*	1.238	0.994*	55
Controlled-conditions experiment							
2001	–	1,160	0.140	0.929*	0.166	0.954*	10

Values of the parameters a and c were optimized by the method of minimisation of sums of squares; R is the correlation coefficient between experimental data and simulated data; size of sample is the number of rows with $i\neq0$ in the field experiment (maximum 48 in 2001 and 2003, and 57 in 2002), the number of trailers in the survey, and the number of pots in the controlled-conditions experiment.

*$P<0.01$

conditions on the processes involved in a CCS epidemic. It was recently confirmed that a deficit of soil moisture reduced primary infections in the field and promoted the healing of lesions, thereby limiting lesion expansion and the potential for alloinfections (Suffert et al. 2008).

The time-dependent parameter $a(t)$ in the pathometric relationship $i=100\cdot(1-\exp(-a(t)\cdot tda)$ decreased linearly over time in 2001 and 2002, but was constant in 2003. This difference can most likely be explained by the exceptionally hot and dry climatic conditions in summer 2003 (mean of mean daily temperatures in August of 21.5°C in 2003, in comparison to 18.9°C in 2001 and 17.5°C in 2002, and mean of maximal daily temperatures in August of 29.7°C in 2003, in comparison to 24.5°C in 2001 and 23.7°C in 2002). The decrease in $a(t)$ illustrated temporal changes in epidemiological processes involved in CCS epidemics (Fig. 6): parameter $a(t)$ decreased traditionally with increasing disease aggregation at the root population scale. In 2001 and 2002, the decrease of $a(t)$ over time illustrated the intensification of symptoms at the root scale ($a<0.04$; increase of d and tda), after the first phases of mobilisation of soil inoculum ($a>0.06$) and spread of disease ($0.04<a<0.06$; increase of i; Fig. 5). This hypothesis implies a random distribution of inoculum in the soil.

Hughes et al. (1997) formulated some theoretical relationships between disease measurements made at two levels in a spatial hierarchy. Willocquet and

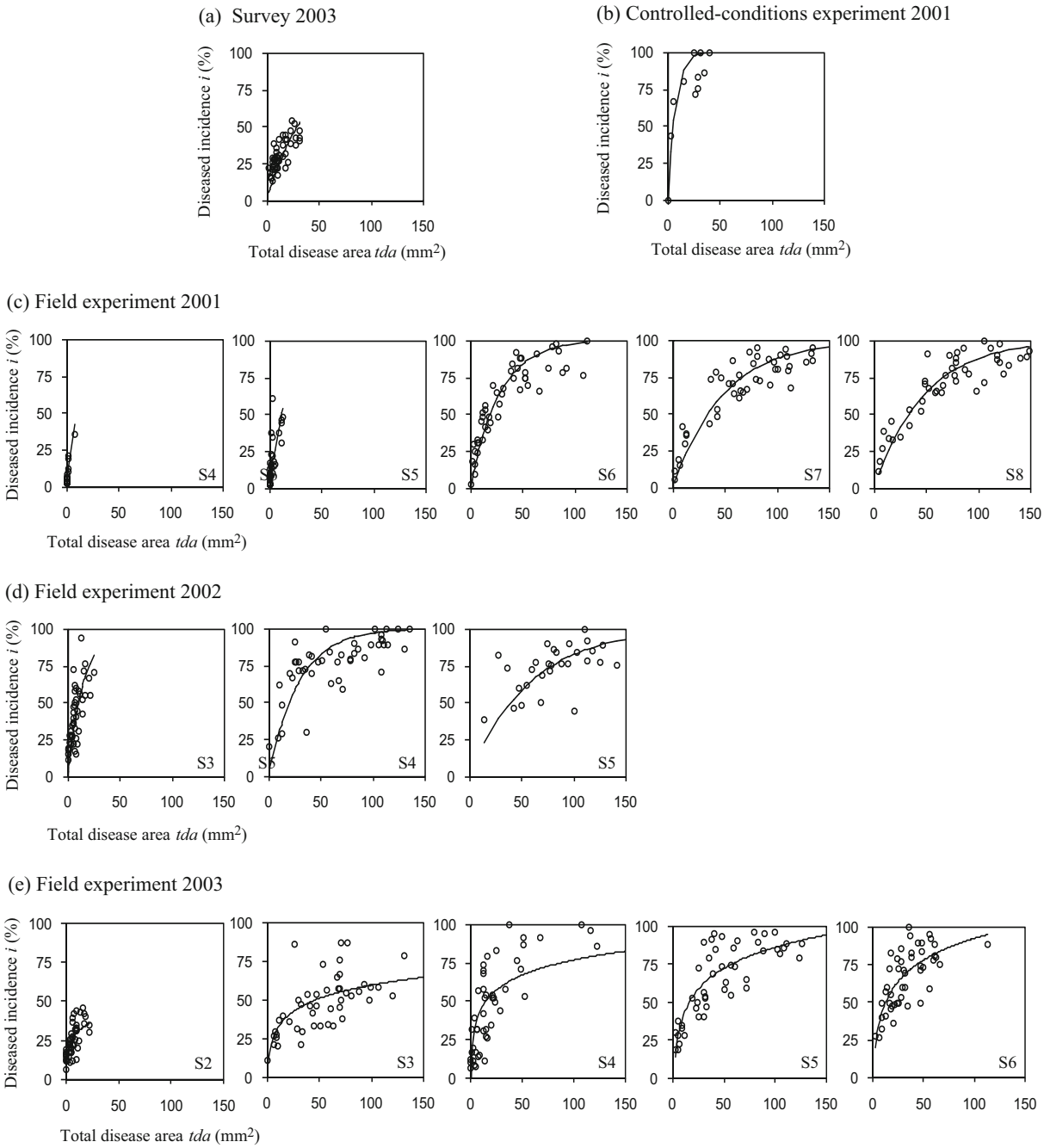


Fig. 4 Experimental relationship between disease incidence i and total diseased area tda given by the equation $i=100(1-\exp(-a(t)tda))$, where t is thermal time, fitted to CCS measurements from survey, controlled-conditions experiment, and field experiment (at each sampling date from S4 to S8 in 2001, from S3 to S5 in 2002, and from S2 to S6 in 2003; see Table 2)

Savary (2004) illustrated similar effects of the deposition pattern on the rate of aerial epidemics at different scales in a theoretical 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. The slope of the incidence-severity curve increased with alloinfection processes, as well as when disease aggregation decreased: greater aggregation of disease was charac-

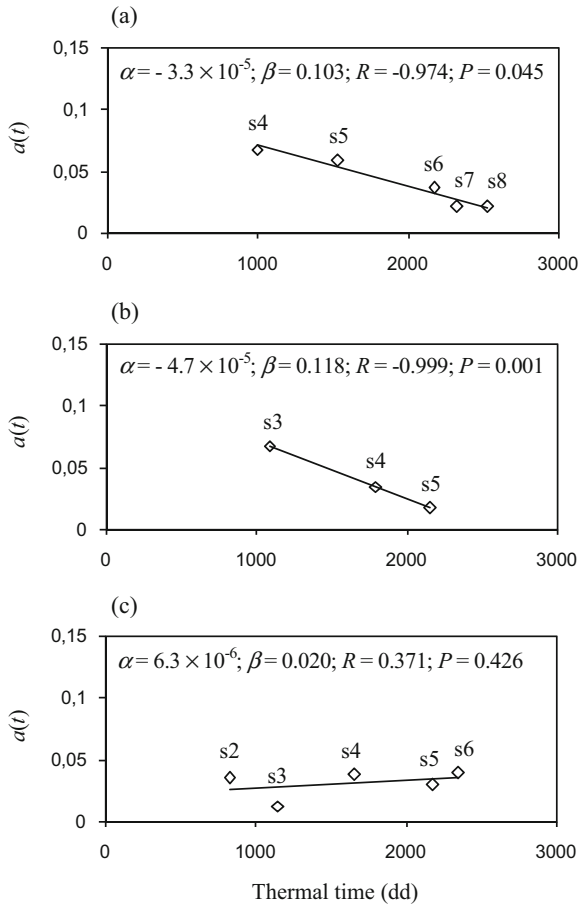


Fig. 5 Linear relationship between the parameter *a* and thermal time *t* given by the equation $a(t) = \alpha t + \beta$ fitted to data from three CCS epidemics from field experiment; **a** 2001, **b** 2002, **c** 2003

terised by a lower disease incidence at a given level of disease density (Hughes et al. 1997; McRoberts et al. 2003). Current and prior experimental results (Guba et al. 1961; Phelps et al. 1991) are consistent with theoretical data based on Eq. 7: the decrease in $a(t)$ over time and the increase in the aggregation of lesions on a root was probably caused first by the increase in the ratio secondary infection/primary infection, and secondly by the increase in the ratio autoinfection/alloinfection. The bilogistic model of Hau and Amorim (Hau et al. 1993) and the model of Brassett and Gilligan (1988), which back the existence of primary and secondary infections, were correctly fitted to CCS incidence progress curves (Suffert 2007). The occurrence of alloinfection by *P. violae* in CCS epidemics was verified by a soil infestation method, in which an artificially infected carrot taproot (donor) was transplanted close to healthy roots (receptors; Suffert and Montfort 2007; Suffert and Lucas 2008).

The commercially acceptable level of CCS is variable, can change during the harvesting season, and depends on market demand; consequently, producers need disease standards and quality indicators to adapt the quality of carrots to their harvesting date (and vice-versa) and to the market demand. The CCS measurements defined in this article also have a high epidemiological significance: roots with numerous and large lesions can generate a higher inoculum potential for secondary infections than roots with fewer and smaller lesions. These disease measurements have been used to establish the effects of different cropping practices on primary infection, on alloinfection (as assessed indirectly by *i*), on autoinfection (as assessed indirectly by *d*), and on lesion expansion (as measured by *ls*). Pathometric relationships could help to assess CCS field management options, especially by analysing the effect of some cropping factors on time-dependent parameters. Effects of timing of fungicide application and soil moisture content on $a(t)$ in Eq. 7 have been established with the prospect of an integrated disease management system based on a combination of different cropping practices (Suffert et al. 2008).

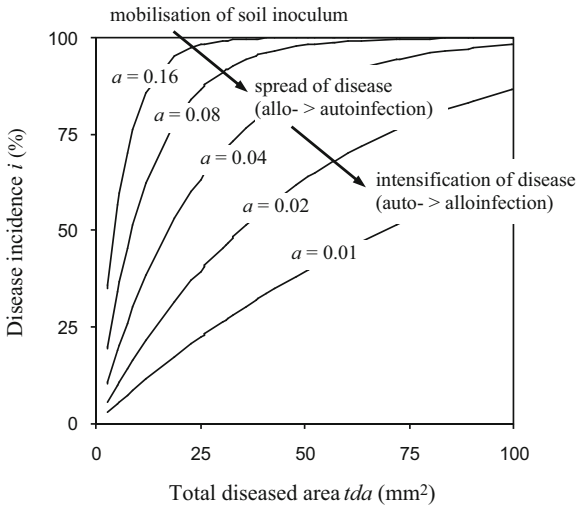


Fig. 6 Theoretical relationships between disease incidence *i* and total diseased area *tda* given by the equation $i=100(1-\exp(-a(t)tda))$, where *t* is thermal time. The temporal decrease of *a* (*t*) suggests traditionally a change of epidemiological phases (McRoberts et al. 2003; Willocquet and Savary 2004). *Arrow* on the graph indicates increasing aggregation of CCS lesions at the root population scale

Acknowledgements This work was supported by the INRA Plant Health and Environment Department, in part by grants from the ICP project 2001–2003 (Integrated Crop Protection). We thank M. Prunier, M. Leray (INRA, Le Rheu, France) and C. Seuret (AGRIAL, Créances, France) for technical assistance, and anonymous referees for constructive criticism of the manuscript. We would also like to thank S. Tanis-Plant for all her input in English.

References

Bald, J. G. (1969). Estimation of leaf area and lesion sizes for studies on soil-borne pathogens. *Phytopathology*, *59*, 1606–1612.

Brassett, P. R., & Gilligan, C. A. (1988). A model for primary and secondary infection in botanical epidemics. *Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz*, *95*, 352–360.

Breton, D., & Rouxel, F. (1993). Données récentes sur le cavity spot de la carotte en France. *Acta Horticulturae*, *354*, 159–170.

Dahal, P., & Bradford, K. J. (1994). Hydrothermal time analysis of tomato seed germination at suboptimal temperature and reduced water potential. *Seed Science Research*, *4*, 71–80.

Guba, E. F., Young, R. E., & Ui, T. (1961). Cavity spot disease of carrots and parsnip roots. *Plant Disease Reporter*, *45*, 102–105.

Guerin, L., Briard, M., & Rouxel, F. (1994). Biochemical characterisation of *Pythium* spp. involved in cavity spot of carrots in France. *Annals of Applied Biology*, *125*, 255–265.

Hau, B., Amorim, L., & Filho, B. (1993). Mathematical functions to describe disease progress curve of double sigmoid pattern. *Phytopathology*, *83*, 928–932.

Hiltunen, L. H., & White, J. G. (2002). Cavity spot of carrot (*Daucus carota*). *Annals of Applied Biology*, *141*, 201–223.

Hughes, G., McRoberts, N., Madden, L. V., & Gottwald, T. R. (1997). Relationships between disease incidence at two levels in a spatial hierarchy. *Phytopathology*, *87*, 542–550.

James, W. C., & Shih, C. S. (1973). Relationship between incidence and severity of powdery mildew and leaf rust on winter wheat. *Phytopathology*, *63*, 183–187.

Kranz, J. (1988). Measuring plant disease. In J. Kranz, & J. Rotem (Eds.) *Experimental techniques in plant disease epidemiology* (pp. 35–50). New York: Springer.

Large, E. C. (1966). Measuring plant disease. *Annual Review of Phytopathology*, *4*, 9–28.

Lovell, D. J., Powers, S. J., Welham, S. J., & Parker, S. R. (2004). A perspective on the measurement of time in plant disease epidemiology. *Plant Pathology*, *53*, 705–712.

Maynard, D. N., Gaston, B., Young, R. E., & Vernell, H. F. (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., & Madden, L. V. (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., & Rouxel, F. (1988). La maladie de la tache de la carotte due à *Pythium violae*: données symptomatologiques et étiologiques. *Agronomie*, *8*, 701–706.

Nutter, F. W., Teng, P. S., & Shokes, F. M. (1991). Disease assessment terms and concepts. *Plant Disease*, *75*, 1187–1187.

Perry, D. A. (1983). Effect of soil cultivation and anaerobiosis on cavity spot of carrots. *Annals of Applied Biology*, *103*, 541–547.

Perry, D. A., & Harrison, J. G. (1979). Cavity spot of carrots. I. Symptomatology and calcium involvement. *Annals of Applied Biology*, *93*, 101–108.

Phelps, K., White, J. G., & Henn, A. J. (1991). Studies on the frequency distribution of *Pythium*-induced cavity spot of carrots. *Annals of Applied Biology*, *119*, 21–30.

Rouse, D. I., MacKenzie, D. R., Nelson, R. R., & Elliott, V. J. (1981). Distribution of wheat powdery mildew incidence in field plots and relationship to disease severity. *Phytopathology*, *71*, 1015–1020.

SAS Institute Inc (2000). *SAS/STAT user's guide. Version 8.1*. Cary, NC, USA: SAS Institute.

Seem, R. C. (1984). Disease incidence and severity relationships. *Annual Review of Phytopathology*, *22*, 137–150.

Suffert, F. (2006). Epidémiologie du Cavity Spot de la Carotte. Perspectives d'Application en Protection Intégrée. PhD thesis, Agrocampus Rennes, France. Retrieved April 23, 2008, from http://tel.archives-ouvertes.fr/docs/00/11/92/68/PDF/suffert-these.pdf.

Suffert, F. (2007). Modélisation de cinétiques de la maladie de la tache de la carotte provoquée par un complexe du genre *Pythium* dominé par le *Pythium violae*. *Canadian Journal of Plant Pathology*, *29*, 41–55.

Suffert, F., Delalande, D., Prunier, M., & Andrivon, D. (2008). Modulation of primary and secondary infections in epidemics of carrot cavity spot through agronomic management practices. *Plant Pathology*, *57*, 109–121.

Suffert, F., & Guibert, M. (2007). The ecology of a *Pythium* community in relation to the epidemiology of carrot cavity spot. *Applied Soil Ecology*, *35*, 488–501.

Suffert, F., & Lucas J. M. (2008) Carrot lateral roots have a low impact on alloinfections involved in a cavity spot epidemic caused by *Pythium violae*. *Journal of General Plant Pathology* (in press).

Suffert, F., & Montfort, F. (2007). Demonstration of secondary infection by *Pythium violae* in epidemics of carrot cavity spot using root transplantation as a method of soil infestation. *Plant Pathology*, *56*, 588–594.

Sweet, J. B., Lake, S. E., Wright, I. R., & Priestley, R. H. (1986). Resistance of carrot varieties to cavity spot disease. *Aspects of Applied Biology*, *12*, 235–245.

Tamet, V., Boiffin, J., Durr, C., & Souty, N. (1993). Influence de la profondeur de semis, de l'état de surface du sol et de la taille des semences sur la levée des plantules de carotte. *Acta Horticulturae*, *354*, 39–45.

Van der Plaats-Niterink, A. J. (1981). Monograph of the genus *Pythium*. In W. Gams, & R. P. W. M. Jacobs (Eds.) *Studies in mycology* (Vol 21, pp. 1–224). Baarn: Centraalbureau voor Schimmelcultures.

White, J. G. (1986). The association of *Pythium* spp. with cavity spot and root dieback of carrots. *Annals of Applied Biology*, *108*, 265–273.

Willocquet, L., & 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

Suffert F (2007) Modélisation de cinétiques de la maladie de la tache de la carotte provoquée par un complexe de *Pythium* dominé par du *P. violae*. *Canadian Journal of Plant Pathology*, 29(1): 41-55.

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-t-il ? 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.

Modélisation de cinétiques de la maladie de la tache de la carotte provoquée par un complexe d'agents pathogènes du genre *Pythium* dominé par le *Pythium violae*

F. Suffert

Résumé : Un complexe d'agents pathogènes du genre *Pythium*, incluant le *Pythium violae*, est responsable de la maladie de la tache de la carotte. Cette maladie est caractérisée par l'apparition de lésions en creux elliptiques sur le pivot racinaire. L'objectif de la présente étude est d'identifier, comprendre et hiérarchiser les processus épidémiologiques déterminant la dynamique spatio-temporelle de cette maladie. L'hypothèse de travail repose sur l'occurrence d'infections primaires (à partir de l'inoculum du sol) et secondaires (contaminations de racine à racine à partir de lésions existantes, c.-à-d. auto- et allo-infections). Des épidémies ont été reproduites au champ, au cours de trois années d'expérimentation, par l'infestation de microparcelles avec du *P. violae* à des doses croissantes. Les différentes cinétiques de la maladie ont été décrites avec des variables standardisées. L'analyse des courbes d'incidence a révélé l'apparition assez précoce d'un plateau, pour lequel des différences dans l'intensité des attaques ont été positivement corrélées à la dose d'inoculum; ces différences se sont atténuées en fin de cycle cultural. Pour vérifier si l'hypothèse de l'occurrence d'infections primaires et secondaires était compatible avec la forme de ces courbes, trois modèles ont été ajustés aux incidences de maladie, chacun d'eux intégrant ou non la concomitance des deux processus : le modèle logistique, le modèle bilogistique de Hau et Amorim, et le modèle de Brassett et Gilligan sans décroissance temporelle du potentiel d'inoculum primaire. La qualité d'ajustement des trois modèles a été correcte et n'a pas conduit à réfuter l'hypothèse de l'occurrence d'infections secondaires. Ce résultat constitue un argument important en faveur de la démonstration de la nature polycyclique de la maladie.

Mots-clés : modèle bilogistique, infection secondaire, allo-infection, auto-infection, maladie de la tache de la carotte, *Pythium violae*.

Abstract: Carrot cavity spot is caused by a complex of pathogens belonging to the genus *Pythium*, including *Pythium violae*. The disease is characterized by the appearance of sunken elliptical lesions on the taproot. The objective of the present study is to identify, understand, and prioritize the processes that induce the spatio-temporal kinetics of epidemics of cavity spot. We favoured the hypothesis that considers primary infection (from soilborne inoculum) and secondary infection (root-to-root contaminations from existing lesions, i.e., auto- and allo-infections). Epidemics were obtained during a 3-year field experiment after artificial soil infestation of plots with *P. violae* at increasing inoculum doses. Different kinetics of cavity spot were described using standardized disease measurements. The analysis of the incidence curves showed the early appearance of a plateau, with differences in the disease level that are positively correlated with the inoculum doses. These differences disappeared at the end of the cropping season. Three simulation models, integrating or not the concomitance of the primary and secondary infections, were fitted to the disease incidence to test if progress curves were compatible with the hypothesis of the occurrence of both infection processes: the logistic model, the bilogistic model of Hau and Amorim, and the model of Brassett and Gilligan without temporal decline of the soil inoculum potential. The quality of the fitting was correct in the three cases, and the hypothesis of the occurrence of secondary infections was not refuted. This result is an important argument to demonstrate the polycyclic nature of the disease.

Key words: bilogistic model, secondary infection, alloinfection, autoinfection, carrot cavity spot, *Pythium violae*.

Introduction

Les cultures légumières de plein champ, entre autres la carotte (*Daucus carota* L.), sont des agrosystèmes particulièrement sensibles aux attaques parasitaires d'origine tellurique. Le contexte actuel est favorable à la mise en œuvre de stratégies de protection intégrée. Pour optimiser ces stratégies, il est nécessaire d'identifier, comprendre et hiérarchiser les processus qui conditionnent la dynamique d'une maladie pour ensuite agir sur les facteurs (pédoclimatiques et culturaux) qui les régissent.

Les agents pathogènes du genre *Pythium*, parasites majeurs des racines de carotte, forment un complexe (incluant le *Pythium violae* Chester & Hickman et le *Pythium sulcatum* Pratt & Mitchell) dont la composition varie d'une région à l'autre, notamment en France (Breton et Rouxel 1993; Suffert et Guibert 2007) et au Canada (Allain-Boulé et al. 2004; Benard et Punja 1995). Ce complexe est responsable de la maladie de la tache (cavity spot), caractérisée par l'apparition de lésions en creux, translucides, elliptiques et aux contours bien délimités (fig. 1), qui déprécient la qualité des récoltes (Guba et al. 1961; Hiltunen et White 2002; Montfort et Rouxel 1988). La taille, le nombre et la répartition de ces lésions varient à l'échelle d'un peuplement. Certaines sont petites, d'autres plus larges; elles sont plus ou moins nombreuses sur une racine, agrégées, voire coalescentes (Phelps et al. 1991). Afin d'estimer l'intensité des attaques, des variables de maladie standardisées ont récemment été définies : *i*, incidence de maladie (%); *d*, densité de lésions (nombre de lésions par racine); si, « symptom intensity » (intensité des symptômes, ou diamètre moyen des lésions en millimètres); tda, « total diseased area » (surface totale nécrosée, ou surface cumulée de l'ensemble des lésions par racine en millimètres carrés) (Suffert 2006).

Peu de travaux ont eu pour objectif la description exhaustive des dynamiques de cette maladie (McDonald 1994; Phelps et al. 1991; Vivoda et al. 1991) et la compréhension du fonctionnement d'une épidémie basée sur des hypothèses mécanistes classiquement développées en épidémiologie végétale (Campbell et Benson 1994; Van der Plank 1963; Zadoks et Schein 1979). Le cycle infectieux des espèces du genre *Pythium* fait théoriquement intervenir plusieurs types de propagules dont l'importance est difficile à quantifier : mycélium saprophyte, oospores et zoospores (inconnues chez le *P. violae*) (Martin et Loper 1999; Van der Plaats-Niterink 1981). L'estimation du potentiel infectieux d'un sol est longtemps restée l'unique base de gestion du risque parasitaire : seules les infections à partir de l'inoculum du sol étaient jusqu'alors prises en compte, alors que le caractère monocyclique (un seul cycle annuel) ou polycyclique (plusieurs cycles annuels emboîtés) de la maladie de la tache de la carotte n'a jamais été discuté, contrairement à celui d'autres maladies des cultures (Pfender 1982).

L'objectif de la présente étude est de décrire plusieurs scénarios de maladie à partir d'essais au champ, en faisant varier la densité initiale d'inoculum du *P. violae* dans le sol, puis d'analyser les cinétiques de maladie qui en résultent. Une première analyse a concerné des relations pathométriques (c.-à-d., entre les différentes variables de maladie) (Large 1966; Seem 1984). La relation entre l'incidence de la maladie et la surface totale nécrosée a évolué au cours du temps et illustré différentes étapes de l'épidémie : passage d'une phase de mobilisation de l'inoculum primaire à des phases d'intensification et d'extensification (propagation spatiale des attaques) (Suffert 2006). Ce résultat a étayé l'hypothèse de l'occurrence d'infections primaires (à partir de l'inoculum du sol), puis d'infections secondaires (auto- ou allo-infections, à partir de lésions existantes). L'objectif est désormais de vérifier si cette hypothèse est compatible avec la forme des courbes de maladie, en étudiant les effets de la densité d'inoculum sur l'intensité des attaques à différents stades de l'épidémie. Pour cela, nous nous proposons d'ajuster trois modèles aux données, chacun intégrant ou non la concomitance des deux processus : le modèle logistique (Van der Plank 1963), impliquant des infections secondaires, le modèle bilogistique de Hau et Amorim (Amorim et al. 1993; Hau et al. 1993), impliquant la non-concomitance des infections primaires et secondaires, et le modèle de Brassett et Gilligan (1988), impliquant la concomitance des infections primaires et secondaires, sans décroissance temporelle du potentiel d'inoculum primaire.

Matériel et méthodes

Dispositif expérimental

Dispositif d'essais pluriannuels

Un dispositif expérimental triennal composé de 16 microparcelles rectangulaires (2 m × 6 m) a été mis en place dans deux zones adjacentes (Z1 et Z2) d'une parcelle de l'Institut national de la recherche agronomique (INRA; Le Rheu, Ille-et-Vilaine, France). Le sol était riche en limons (62,5%) et argiles (16,3%), pauvre en sable (21,2%), avec un indice de battance élevé (2,1). La température de l'air a été mesurée sous abris à 1 m au dessus du sol et la température du sol a été mesurée à 20 cm de profondeur à l'aide de deux capteurs Hobo^{MD} H8 (Prosensor, Amanvillers, France). Des relevés pluviométriques ont été réalisés quotidiennement à l'aide d'un pluviomètre à augets. Ces données météorologiques sont récapitulées dans un autre article (Suffert et Guibert 2007).

La souche de *P. violae* utilisée pour l'infestation est PV490 (CBS 102.609; Centraalbureau voor Schimmelcultures, Baarn, Pays-Bas); elle provient d'une parcelle du bassin de Créances (Manche, France). L'inoculum a été apporté dans les microparcelles sous forme de grains d'orge colonisés selon trois doses d'infestation (D1, D10 et D100) (tableau 1). Des microparcelles témoins (T) non infestées ont été mises en place. Pour produire l'inoculum, des sachets thermo-résistants contenant 200 g de grains secs 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 a été inoculé avec cinq explants de PV490 cultivés sur milieu agar – jus de carotte (20 g d'agar et 200 mL de jus de carotte Nature Bio (Cora, Rennes, France), complété à 1 L avec de l'eau distillée) et âgés de 1 semaine (Suffert 2006). 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 microparcelle. Un hersage a ensuite été pratiqué sur une profondeur comprise entre 15 et 18 cm. L'ensemble des modalités de traitement a

Fig. 1. Symptômes de la maladie de la tache de la carotte sur racines matures de *Daucus carota* subsp. *sativus* 'Nanco', provoqués par des espèces appartenant au complexe du genre *Pythium*, incluant le *Pythium violae*. (A–B) Attaques intenses, lésions en creux de forme elliptique. (C–D) Lésions plus âgées, à l'aspect cicatrisé.



Tableau 1. Doses d'infestation du sol avec du grain d'orge colonisé par le *Pythium violae* (souche PV490*) dans deux zones adjacentes (Z1 et Z2) au Rheu, Ille-et-Vilaine, France, en 2001 et 2003, respectivement.

	Dose			
	Témoin	D1	D10	D100
Masse sèche de grains non colonisés (g/m^2)	0	5	50	500
Masse fraîche de grains colonisés (g/microparcelle)	0	125	1250	12 500

*Source de la souche : CBS 102.609 (Centraalbureau voor Schimmelcultures, Baarn, Pays-Bas).

été répété 4 fois au sein d'un dispositif en blocs randomisés. Le dispositif a été mis en place en 2001, reconduit en 2002 dans la même zone (Z1) sans infestation supplémentaire mais avec adjonction de microparcelles témoins non infestées (néoT), puis répété à l'identique en 2003 dans une zone vierge de carottes (Z2) au cours des deux années précédant l'infestation et le semis en 2003.

Conduite de culture

Les parcelles ont été semées les 22 mai 2001, 13 juin 2002 et 20 mai 2003 (tableau 2). Le semis a été précédé d'un traitement contre la mouche de la carotte (*Psila rosae* F.) et le taupin (*Agriotes lineatus* L.) au Curater (carbofuran, 1000 g ha^{-1}; Bayer CropScience, Lyon, France). Des bandes de papier cellulosique préensemencées (Isitop, Saint-Gilles, France) avec *Daucus carota* L. subsp. *sativus* (Hoffm.) Arcang. 'Nanco' (Vilmorin & Cie, Paris, France) ont été utilisées de façon à obtenir une levée homogène (80 graines/m); cinq bandes de 9 cm de large ont été disposées à 50 cm d'intervalle dans chaque microparcelle. Un traitement curatif herbicide au Dosanex (métoxuton, 4 kg ha^{-1}; Syngenta Agro, Saint-Cyr-l'École, France), complété par un désherbage mécanique, a été réalisé 3 semaines après la levée. Un traitement fongicide curatif au Score (diphénoconazole, 200 g ha^{-1}; Syngenta Agro) contre des attaques d'alternariose [*Alternaria dauci* (Kühn) Groves & Skolko] a été réalisé chaque année au mois d'août. Les apports annuels en ammonitrate ont été fractionnés (20 kg ha^{-1} de N, 1 mois avant le semis, et 30 kg ha^{-1} de N, 1 mois après la levée) et les apports en phosphate et potassium ont été réalisés 1 mois avant le semis (100 kg ha^{-1} de P sous forme de superphosphate et 130 kg ha^{-1} de K sous forme de patenkali). Un arrosage

Tableau 2. Conditions d'un essai triennal d'infestation de microparcelles de carottes avec le *Pythium violae* (souche PV490), mené au champ dans deux zones adjacentes (Z1 et Z2) au Rheu, Ille-et-Vilaine, France, en 2001, 2002 et 2003.

Zone d'essai	Date d'infestation du sol (jour civil)*	Date de semis (date de calendrier)	Date de semis (jour civil)	Date de notation des symptômes (jour civil)	Date de notation des symptômes t (degrés-jours)†
Z1	116	22 mai 2001	143	164	281,9
				173	397,5
				191	692,1
				212	996,9
				247	1535,1
				310	2175,2
				373	2325,3
				421	2534,0
Z1	—	13 juin 2002	165	178	181,8
				198	431,6
				225	816,1
				282	1523,9
				337	1891,4
Z2	126	20 mai 2003	141	151	587,7
				197	827,3
				217	1154,5
				246	1663,4
				289	2182,6
				344	2350,9

*Le tiret indique que Z1 n'a pas été réinfestée en 2002.
†L'échelle de temps (t) est exprimée en somme de degrés-jours depuis les semis jusqu'à la date de notation des symptômes, en base 3,5 °C.

quotidien a été pratiqué les 10 jours suivant le semis. Les microparcelles ont été irriguées durant l'été 2003 pour compenser l'absence de précipitations.

Notations de maladie

Des prélèvements de carottes ont été régulièrement pratiqués sur 50 cm de chacun des trois rangs centraux des microparcelles (8 en 2001, 5 en 2002 et 6 en 2003) (tableau 2). Les notations de maladie ont fait intervenir les variables définies par Suffert (2006). L'échelle de temps pour le suivi a reposé sur t (degrés-jours), la somme des écarts entre les températures journalières moyennes et un seuil de 3,5 °C, température minimale autorisant la croissance de la carotte (Tamet et al. 1994) et limitant le développement de la plupart des espèces du genre *Pythium* impliquées dans la maladie de la tache (Suffert et Guibert 2007; Van der Plaats-Niterink 1981).

Analyse descriptive et modélisation des cinétiques épidémiques

Analyse de la variance sur les variables de maladie brutes

Quatre analyses spécifiques ont été réalisées sur le jeu de données de 2001 et ont porté sur l'incidence moyenne de maladie : un test d'homogénéité des variances, une analyse de variance globale (toutes dates de prélèvement confondues), suivie d'une analyse de variance date par date complétée par un test de comparaison des moyennes, à l'aide du logiciel SAS[MD] (SAS Institute Inc. 2000).

Analyse de la variance sur les paramètres du modèle

Influence de la densité d'inoculum. Le modèle logistique (Van der Plank 1963), le modèle bilogistique de Hau et Amorim (Amorim et al. 1993; Hau et al. 1993) et le modèle de Brassett et Gilligan (1988) ont été ajustés aux incidences moyennes calculées pour chacune des quatre répétitions de chaque traitement (T, D1, D10, D100), à chaque date de prélèvement, à l'aide de la procédure de régression non linéaire (NLIN) de SAS (analyse intramicroparcelle). L'objectif était de tester l'influence de la densité d'inoculum sur les paramètres élaborés de chacun d'eux. Pour pouvoir comparer entre elles les trois années, le point initial de l'épidémie (point zéro) a été décalé, par rapport à la date du semis, d'une durée correspondant à la somme de températures atteinte lors du dernier prélèvement pour lequel a été constatée l'absence de symptômes, quel que soit le traitement. La littérature indique que les incidences maximales de la maladie (i_{max}) 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 ont été similaires. Cela peut s'expliquer par la faible densité ou l'éventuelle agrégation de l'inoculum. Pour chaque modèle, nous avons donc fixé i_{max} potentiellement atteignable à 80% pour les modalités infestées, et à 65% pour les témoins (T et néoT). Pour chaque modèle, l'effet de la densité d'inoculum a été testé par une analyse de la variance (procédure ANOVA de SAS) pratiquée sur les paramètres estimés précédemment par les ajustements non linéaires. Un test de comparaison des moyennes a ensuite été réalisé (test de Scheffe, $\alpha = 0,1$).

Modèle logistique. Le modèle logistique a été proposé par Van der Plank (1963) pour décrire des dynamiques épidémiques polycycliques et a depuis été communément utilisé en épidémiologie végétale (Campbell et Madden 1990). Il a été

ajusté, comme suit, aux incidences de maladie de 2001, 2002 et 2003 :

$$[1] \qquad i(t) = i_{\max} \frac{e^{(a+bt)}}{1 + e^{(a+bt)}}$$

où a et b sont des paramètres.

Modèle bilogistique de Hau et Amorim. Le modèle bilogistique (ou bisigmoïde), intégrant des cycles d'infection primaires puis des cycles d'infections secondaires, a été utilisé en épidémiologie végétale par Hau et Amorim (Amorim et al. 1993; Hau et al. 1993). Les processus primaires et secondaires, spécifiés dans l'équation, sont non concomitants. Ce modèle a été ajusté, comme suit, aux incidences de maladie de 2001 :

$$[2] \qquad i(t) = \frac{\kappa_1}{1 + e^{[-\alpha_1 (t - t_{m1})]}} + \frac{\kappa_2}{1 + e^{[-\alpha_2 (t - t_{m2})]}}$$

où κ_1, α_1 et t_{m1} sont les paramètres associés aux infections primaires, et κ_2, α_2, et t_{m2}, les paramètres homologues associés aux infections secondaires. La non-convergence de la procédure n'a pas permis l'ajustement du modèle aux incidences de maladie de 2002 et 2003. 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 à partir de l'observation des courbes de maladie. Des conditions ont été imposées :

(1) En ce qui a trait à κ_1 et κ_2, nous avons imposé le niveau de la première asymptote κ_1, soit une valeur intermédiaire maximale, spécifique à chaque traitement (car dépendant de la densité d'inoculum), potentiellement atteignable entre les troisième et quatrième prélèvements de 2001. En outre, $i_{\max}$ ($\kappa_1 + \kappa_2$) a été limité à 80% pour les modalités infestées et à 65% pour les témoins.

(2) En ce qui a trait à t_{m1} et t_{m2}, les valeurs ont été fixées pour l'ensemble des traitements. Ce choix est justifié à 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 assurent la convergence de la procédure d'ajustement global NLIN de SAS, un ajustement séquentiel préalable en trois étapes a été réalisé : (1) α_1 et α_2, (2) t_{m1} et t_{m2}, puis (3) κ_1 (et κ_2, donné par la relation $\kappa_1 + \kappa_2 = i_{\max}$). Un premier ajustement a été réalisé avec les valeurs des paramètres $\kappa_1 = 0{,}30$ pour T, $\kappa_1 = 2{,}30$ pour D1, $\kappa_1 = 7{,}00$ pour D10, $\kappa_1 = 18{,}00$ pour D100, ainsi que $t_{m1} = 500$ degrés-jours et $t_{m2} = 1600$ degrés-jours pour l'ensemble des traitements. Cela a conduit à estimer α_1 et α_2 pour chaque traitement. Un second ajustement a ensuite été réalisé en utilisant ces mêmes valeurs de α_1 et α_2 pour estimer t_{m1} et t_{m2}. Enfin, un troisième et dernier ajustement a permis d'estimer κ_1 puis κ_2 en utilisant les valeurs précédemment estimées de α_1 et α_2 et de t_{m1} et t_{m2}. L'ajustement définitif du modèle a finalement été réalisé sous les conditions (1) et (2) en utilisant, comme valeurs initiales de κ_1, α_1 et α_2, les estimations issues de la dernière étape de l'ajustement séquentiel préalable.

Modèle de Brassett et Gilligan. Le modèle de Brassett et Gilligan (1988), intégrant des cycles d'infection primaires et secondaires concomitants, a été utilisé par Colbach et al. (1997) et par Schoeny et Lucas (1999), avec ou sans décroissance d'efficacité de l'inoculum. Ce modèle a été ajusté, comme suit, aux incidences de maladie de 2001, 2002 et 2003 :

$$[3] \qquad i(t) = i_{\max} \frac{1 - e^{-(c_1 + c_2)t}}{1 + \left(\frac{c_2}{c_1}\right) e^{-(c_1 + c_2)t}}$$

où c_1 est le paramètre associé aux infections primaires, et c_2, le paramètre associé aux infections secondaires.

Comparaison des trois modèles. Pour comparer la qualité d'ajustement des trois modèles, les probabilités de dépasser les valeurs observées des statistiques de Fisher d'ajustement global $F_{x,y}$ ont été retenues, où $p_{x,y}$ 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 $F_{x1,y1} < F_{x2,y2}$. Les valeurs des racines carrées des carrés moyens des écarts résiduels (root-mean-square error; procédure NLIN de SAS), ou erreurs type, sont données à titre indicatif.

Résultats

Description générale des épidémies

Les niveaux d'attaque finaux ont été plus élevés en 2001 et 2002 qu'en 2003 (fig. 2) : de 2000 à 2500 degrés-jours, i = 80%–90% en 2001 et 2002 contre 70% en 2003, d = 6–7 en 2001 et 2002 contre 5 en 2003, si = 3–4 mm en 2001 et 2002 contre moins de 3 mm en 2003, tda = 90–100 mm^2 en 2001 et supérieure à 150 mm^2 en 2002, contre seulement 50 mm^2 en 2003. Les cinétiques de si et tda ont été clairement croissantes en 2001 et 2002, alors que leur évolution a été plus irrégulière en 2003. Les témoins ont présenté des niveaux d'attaque importants, ce qui s'explique par la présence d'espèces de *Pythium* pathogènes endogènes (*P. sulcatum*, *P. intermedium* de Bary et *P. sylvaticum* W.A. Campbell & J.W. Hendrix ou *P. irregulare* Buisman) (Suffert et Guibert 2007).

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

L'analyse de variance portant sur les incidences de 2001 a établi un effet de la dose d'inoculum sur les niveaux de maladie. Un effet bloc et une interaction dose × bloc ont été mis en évidence. Le test de Student–Newman–Keuls a néanmoins été appliqué et a révélé des différences significatives ($\alpha = 0{,}05$) entre T et D1, et entre D10 et D100 (tableau 3). L'homogénéité des variances a été respectée (test de Levene, $\alpha = 0{,}05$) pour chaque prélèvement à l'exception du quatrième.

Modélisation des cinétiques de la maladie

Modèle logistique

Le modèle logistique a correctement décrit les cinétiques observées en 2001, 2002 et 2003 (fig. 3), à l'exception du début des épidémies (en 2001 et 2003) ou de la fin (en

Fig. 2. Évolution des variables illustrant les niveaux de la maladie de la tache de la carotte, observés au cours d'un essai triennal au champ (en 2001, 2002 et 2003), en fonction des doses d'infestation (D1, D10 et D100, définies au tableau 1) avec du *Pythium violae* en 2001 en Z1 et en 2003 en Z2, au Rheu, Ille-et-Vilaine, France. Les variables, tel que définies dans Suffert (2006), sont : *i*, l'incidence de maladie (%); *d*, la densité de lésions (nombre de lésions par racine); si, « symptom intensity » (l'intensité des symptômes, ou diamètre moyen des lésions en millimètres); tda, « total diseased area » (la surface totale nécrosée, ou surface cumulée de l'ensemble des lésions par racine en millimètres carrés). T, microparcelles témoins non infestées en 2001 et 2003; néoT, microparcelles témoins non infestées en 2002; *t*, échelle de temps exprimée en somme de degrés-jours depuis le semis jusqu'à la date de notation des symptômes, en base 3,5 °C.

2002). Les résultats de l'ajustement réalisé en fixant i_{max} à 65% pour T et néoT, et à 80% pour les modalités infestées, ne sont pas présentés ici. Les valeurs de R^2 (ratios de la somme des carrés du modèle sur la somme des carrés totale) ont indiqué que le modèle logistique expliquait plus de 99% de la variabilité en 2001 et 2002, et entre 98% et 99% en 2003 (Suffert 2006). La comparaison des moyennes de *a* et *b* n'a pas révélé de différence significative entre traitements (tableau 4).

Modèle de Hau et Amorim

Le détail des trois étapes de l'ajustement séquentiel du modèle qui ont permis de fixer les conditions initiales pour s'assurer de la convergence de la procédure d'ajustement global est disponible dans le manuscrit de thèse de Suffert (2006). Les valeurs de R^2 ont indiqué que le modèle ajusté à partir des valeurs initiales adéquates de κ_1, α_1 et α_2 expliquait plus de 99% de la variabilité. Le modèle de Hau et Amorim a correctement décrit les cinétiques observées en 2001 (fig. 4). L'ajustement a été de bonne qualité au début de l'épidémie dans les traitements D10 et D100, à la différence du modèle logistique. Le modèle a décrit un plateau entre 500 et 1000 degrés-jours (traitement D100), dont la valeur asymptotique a augmenté avec la dose d'infestation. La comparaison des valeurs moyennes des paramètres du modèle ajusté confirme que les valeurs de κ_1 ont augmenté avec la dose d'inoculum (6,40 en D1, 10,29 en D10, et 16,07 en D100; résultats non présentés ici). La différence est significative entre D1 et D100 (F = 3,61; test de Scheffe, α = 0,1) (tableau 5). De la même manière, le test de comparaison des moyennes de α_1 ($\alpha_1 = 2{,}78 \times 10^{-3}$ en D1, $\alpha_1 = 4{,}81 \times 10^{-3}$ en D10 et $\alpha_1 = 7{,}40 \times 10^{-3}$ en D100) a mis en évidence des différences significatives entre D1 et D100 (F = 5,63; test de Scheffe, α = 0,1), mais aucune pour α_2 entre D1, D10 et D100 (F = 2,84; test de Scheffe, α = 0,1).

Modèle de Brassett et Gilligan

Aucune différence fondamentale n'a été mise en évidence entre les résultats des ajustements du modèle de Brassett et Gilligan (1988) avec i_{max} considéré comme un paramètre à ajuster, puis i_{max} fixé à 65% pour les témoins et à 80% pour l'ensemble des modalités infestées (résultats non présentés ici). Le modèle de Brassett et Gilligan a correctement décrit les cinétiques observées en 2001 et 2002, alors qu'il s'est moins bien ajusté en 2003 (fig. 5). Le modèle a expliqué plus de 99% de la variabilité dans les essais en 2001 et 2002 (hors parcelles témoins), contre 97%–99% en 2003. Les paramètres c_1 et c_2 ont pu être raisonnablement estimés en 2001 et 2002. Le modèle a en revanche décrit les cinétiques de 2003 de manière erronée.

La comparaison des moyennes de c_1 pour les différents traitements a révélé que les microparcelles ayant reçues les plus fortes doses de *P. violae* ont été les plus propices aux infections primaires en 2001 : la valeur moyenne de c_1 a augmenté avec la dose d'infestation ($3{,}43 \times 10^{-6}$ en D1 et $2{,}98 \times 10^{-6}$ en D10, contre $7{,}34 \times 10^{-6}$ en D100; résultats non présentés ici). Cet effet n'a cependant pas été statistiquement significatif (tableau 6). Aucun effet analogue n'a été mis en évidence en 2002 et 2003. Les valeurs de c_2 n'ont pas non plus été significativement différentes entre les traitements. Elles ont été du même ordre de grandeur entre 2001 et 2002 dans les modalités infestées (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), mais plus faibles en 2003 (entre $1{,}15 \times 10^{-3}$ et $1{,}65 \times 10^{-3}$; résultats non présentés ici).

Comparaison des trois modèles

Les performances des trois modèles ont été comparées, en particulier celles du modèle de Hau et Amorim et du modèle de Brassett et Gilligan pour lesquels les valeurs de i_{max} et de $\kappa_1 + \kappa_2$ peuvent être considérées comme homologues. La comparaison des valeurs de F du test pour les trois modèles a montré que leur qualité d'ajustement variait sensiblement en fonction de la dose d'inoculum initiale, et donc en fonction du potentiel d'infections primaires. Les valeurs de F du modèle logistique, du modèle de Hau et Amorin et du modèle de Brassett et Gilligan ont eu tendance à diminuer lorsque la dose d'inoculum a augmenté; elles étaient respectivement égales à 835,03, 382,69 et 830,70 en D1, 496,11, 221,42 et 493,69 en D10 et 338,57, 337,82 et 333,80 en D100 (tableau 7), avec $p < 0{,}0001$. Les valeurs des erreurs type comprises entre 0,31 et 0,53 ont confirmé que la qualité d'ajustement des trois modèles était comparable.

Discussion

L'analyse statistique date par date des données de 2001 suggère l'existence d'un changement phénoménologique entre les quatrième et cinquième prélèvements (1000–1500 degrés-jours). Cela a été illustré par l'apparition d'un plateau, dont la valeur asymptotique s'est accrue avec la densité d'inoculum initiale. Ce changement correspond vraisemblablement à une augmentation de la proportion de processus infectieux secondaires (infections à partir de lésions présentes sur une même racine ou sur des racines adjacentes) au détriment des processus infectieux primaires (infections à partir de l'inoculum du sol, ici des grains d'orge colonisés par du *P. violae*).

La comparaison des moyennes des paramètres ajustés des modèles de Hau et Amorim (en 2001) et de Brassett et

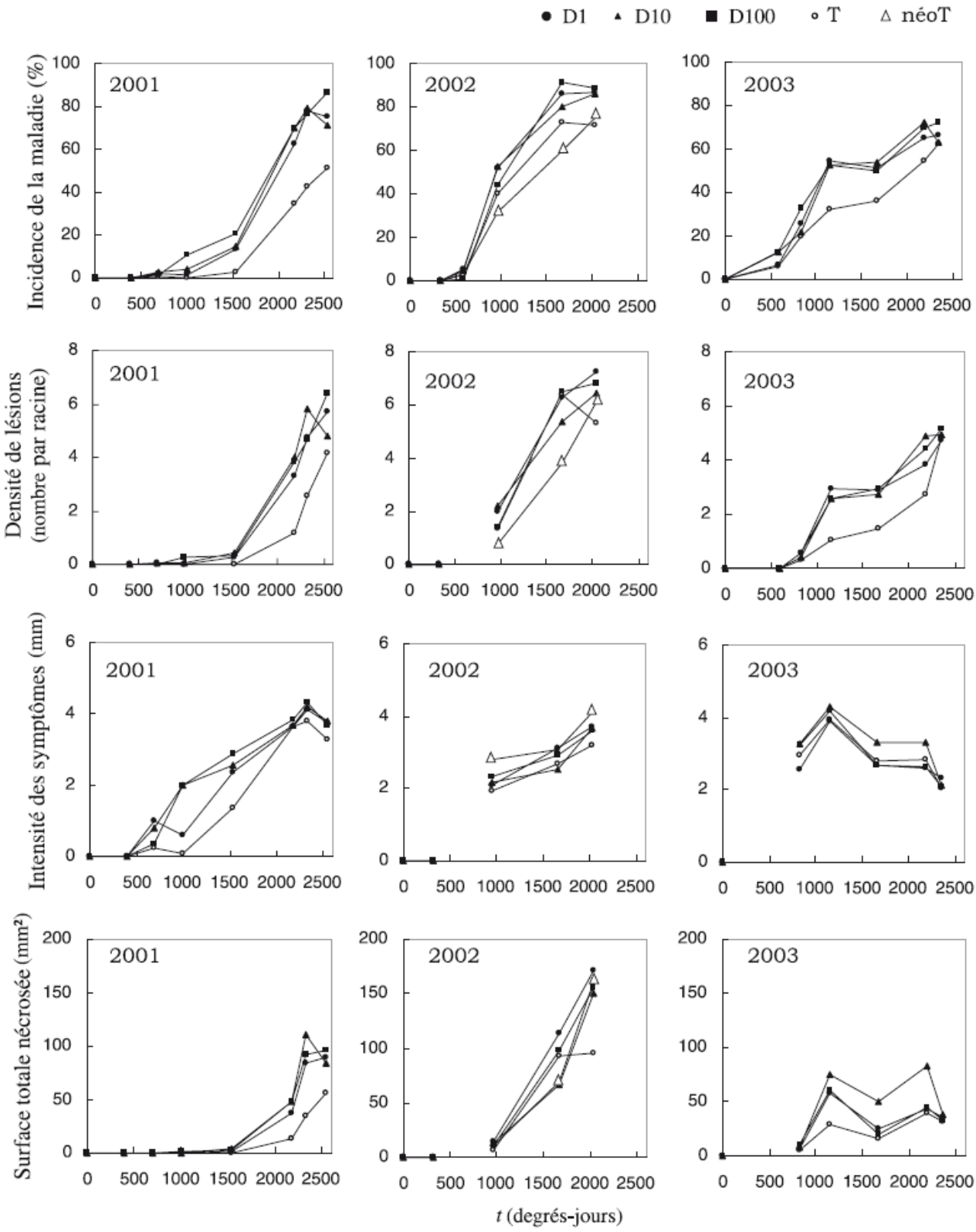

D1
D10
D100
T
néoT
Incidence de la maladie (%)
Densité de lésions (nombre par racine)
Intensité des symptômes (mm)
Surface totale nécrosée (mm²)
2001
2002
2003
t (degrés-jours)

Tableau 3. Analyse de variance de l'effet du facteur dose d'inoculum de *Pythium violae* (souche PV490) sur la dynamique épidémique de la maladie de la tache de la carotte au Rheu, Ille-et-Vilaine, France, en 2001.

			arcsin $\sqrt{i}$†			
t (degrés-jours)*	*F*	*p*	Témoin	D1	D10	D100
692,1	1,46	0,2432	0,03 a	0,11 a	0,11 a	0,07 a
996,9	25,77	<0,0001	0,01 a	0,07 a	0,19 b	0,29 c
1535,1	10,63	<0,0001	0,11 a	0,33 b	0,34 b	0,44 b
2175,2	17,38	<0,0001	0,62 a	0,94 b	1,01 b	1,04 b
2325,3	18,42	<0,0001	0,67 a	1,10 b	1,15 b	1,10 b
2534,0	8,77	0,0002	0,81 a	1,07 b	1,04 b	1,21 b

*Chaque série d'analyse de variance a été réalisée date par date. L'échelle de temps (*t*) est exprimée en somme de degrés-jours depuis les semis jusqu'à la date de notation des symptômes, en base 3,5 °C. Seules les interactions dose × bloc ont été prises en compte.

†*i*, moyenne des incidences de maladie. Les doses de traitements (témoin, D1, D10 et D100) sont définies au tableau 1. Les nombres suivis d'une même lettre indiquent que les moyennes ne sont pas significativement différentes entre les traitements, pour une même date (test de Student–Newman–Keuls, $\alpha = 0,05$).

Gilligan (en 2001 et 2003) a confirmé cette tendance, avec des valeurs de paramètres relatifs aux infections primaires (respectivement κ_1 et α_1, et c_1) croissantes entre D1 et D100. Les différences ont été significatives pour κ_1 et α_1 entre ces traitements, mais non significatives pour c_1 malgré des différences assez marquées entre D10 et D100. Cela suggère que le modèle de Hau et Amorin est intrinsèquement le mieux adapté pour rendre compte de l'impact des infections primaires sur le développement précoce d'une épidémie. Aucune différence significative analogue n'a été identifiée pour les paramètres relatifs aux infections secondaires (respectivement α_2 et c_2), ce qui sous-tend que ces processus ont été finalement assez peu influencés par la densité initiale d'inoculum.

Quoique l'influence de la dose d'inoculum sur la première partie d'une épidémie ait clairement été démontrée en 2001, cet effet n'a pas été mis en évidence les deux dernières années; deux explications sont possibles :

(1) En 2002, l'absence de réinfestation des microparcelles en Z1 peut expliquer que les différences d'attaque aient été moindres entre D1, D10 et D100. Les différences d'incidence entre néoT et T (2002) ont été importantes (fig. 2) et suggèrent qu'un inoculum résiduel ayant pour origine les lésions de l'épidémie de 2001 était présent au début de 2002, bien que partiellement généré par des espèces endogènes (Suffert et Guibert 2007).

(2) Les cinétiques de 2003, sensiblement différentes de celles observées en 2001 en Z1, indiquent que l'infestation en Z2 a posé problème. Il est probable que les températures de l'été 2003, exceptionnellement élevées, aient affecté la survie du *P. violae* ou ses capacités infectieuses (Suffert et Guibert 2007).

Les trois modèles se sont globalement bien ajustés. Aucun ne peut être totalement ou partiellement réfuté, à l'exception peut-être du modèle de Hau et Amorin : bien qu'adapté aux données de 2001, il n'a pas pu être ajusté à celles de 2002 et 2003.

Les valeurs des paramètres c_1 et c_2 du modèle de Brassett et Gilligan ajusté en 2001, pour lesquelles le rapport moyen c_2/c_1 a été estimé à 1300, peuvent être comparées à celles obtenues pour le piétin échaudage du blé [*Gaeumannomyces graminis* (Sacc.) Arx & Olivier. var. *tritici* Walker] dans des conditions analogues (ajustement à des incidences, sans prise en compte de la décroissance temporelle du potentiel d'inoculum primaire). Dans des parcelles naturelles, avec une échelle en degrés-jours, Schoeny et Lucas (1999) ont obtenu 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 et al. (1997) ont obtenu 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 des microcosmes infestés artificiellement et avec une échelle en jours calendaires, Bailey et Gilligan (1999) ont obtenu 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. Le rapport c_2/c_1 obtenu pour la maladie de la tache de la carotte a donc été du même ordre de grandeur que ceux obtenus pour le piétin échaudage, malgré une forte hétérogénéité entre auteurs, qui rend ce type de comparaison hasardeux.

Le modèle de Hau et Amorin ayant été peu appliqué en épidémiologie végétale, aucun élément de comparaison avec d'autres maladies racinaires n'est disponible.

En 2001, avec D100, le modèle de Hau et Amorin s'est mieux ajusté que le modèle logistique et le modèle de Brassett et Gilligan, en particulier au cours de la première partie de l'épidémie. Le modèle de Brassett et Gilligan a deux paramètres. Le modèle de Hau et Amorin, qui en a théoriquement cinq, s'en limite en pratique à trois, les valeurs de t_{m1} et t_{m2} étant ici fixées pour l'ensemble des traitements. 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 et Gilligan, le plus simple. Pour l'améliorer, il est possible d'y adjoindre un module simulant la décroissance de l'inoculum primaire, le rapprochant ainsi du modèle de Hau et Amorin : sans proscrire totalement la concomitance des

Fig. 3. Ajustement du modèle logistique de Van der Plank (1963) (voir équation 1) aux cinétiques d'incidence de la maladie de la tache de la carotte de 2001 et 2002 en Z1 et de 2003 en Z2 en fonction des doses d'infestation (D1, D10 et D100, définies au tableau 1) avec du *Pythium violae*, au Rheu, Ille-et-Vilaine, France. Les points (lignes fines) représentent les valeurs moyennes des données expérimentales, et les courbes (lignes épaisses), le modèle ajusté à ces moyennes. Les asymptotes d'incidence maximale de la maladie (i_{max}) ont été fixées à 65% pour les témoins T (microparcelles non infestées en 2001 et 2003) et néoT (microparcelles non infestées en 2002), et à 80% pour les modalités infestées D1, D10 et D100. L'échelle de temps (t) est exprimée en somme de degrés-jours depuis le semis jusqu'à la date de notation des symptômes, en base 3,5 °C.

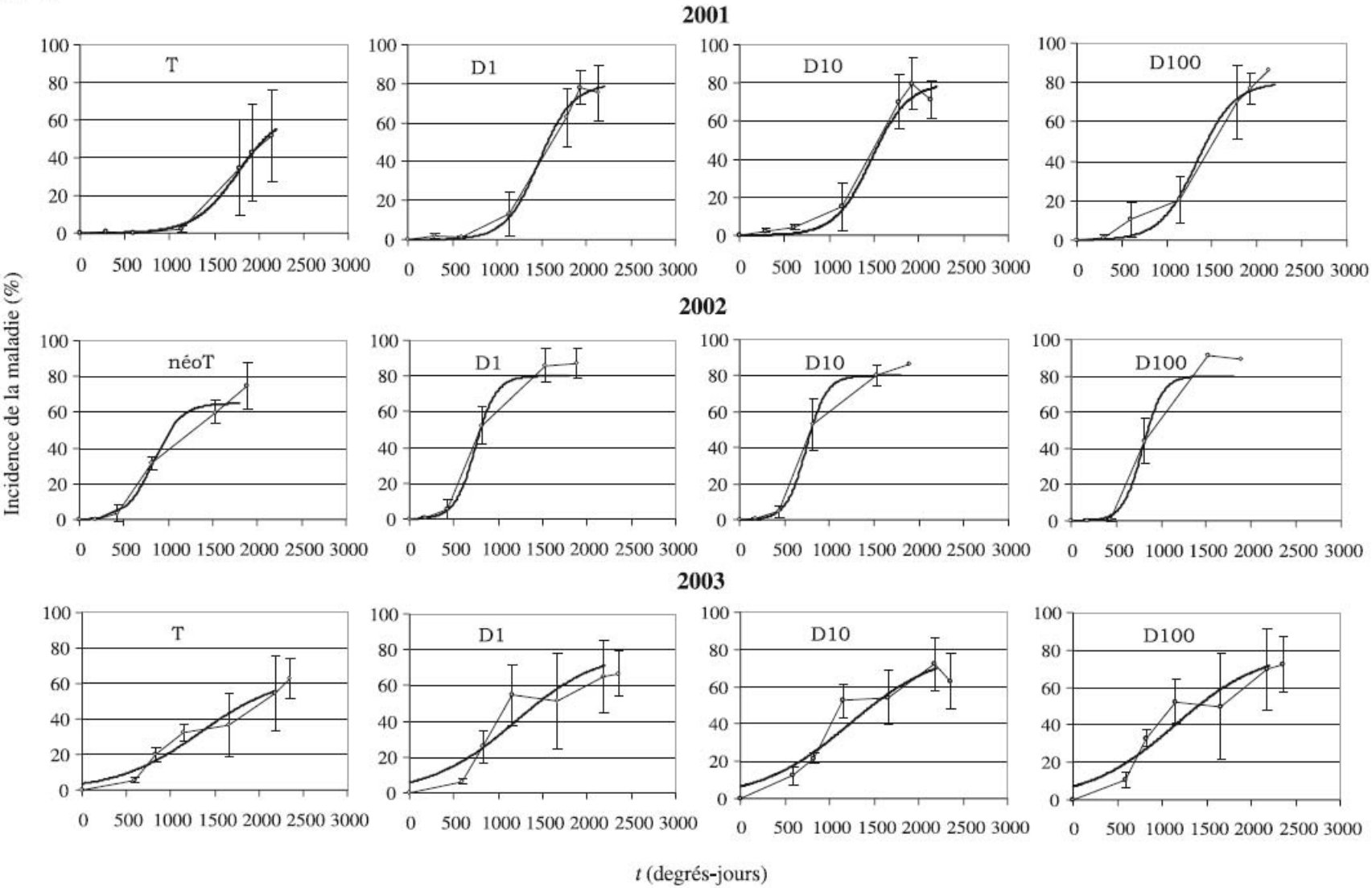


Tableau 4. Comparaison des valeurs moyennes des paramètres *a* et *b* estimés par l'ajustement du modèle logistique aux cinétiques d'incidence de la maladie de la tache de la carotte en fonction de la dose d'inoculum (D1, D10 et D100) de *Pythium violae* (souche PV490), au Rheu, Ille-et-Vilaine, France, en 2001, 2002 et 2003.

			Moyennes des paramètres estimés‡	
Zone d'essai	Traitement*	i_{max} (%)†	*a*	*b*
2001				
Z1	D1	80	−11,29 a	$8{,}31\times10^{-3}$ a
	D10	80	−10,50 a	$7{,}78\times10^{-3}$ a
	D100	80	−12,07 a	$8{,}17\times10^{-3}$ a
F			0,06	0,01
p			0,945	0,987
2002				
Z1	D1	80	−17,42 a	$2{,}22\times10^{-2}$ a
	D10	80	−10,38 a	$1{,}38\times10^{-2}$ a
	D100	80	−13,20 a	$1{,}65\times10^{-2}$ a
F			0,38	0,36
p			0,691	0,709
2003				
Z2	D1	80	−5,03 a	$4{,}97\times10^{-3}$ a
	D10	80	−3,31 a	$2{,}90\times10^{-3}$ a
	D100	80	−3,24 a	$3{,}06\times10^{-3}$ a
F			0,58	0,46
p			0,581	0,647

Nota : Le modèle logistique de Van der Plank (1963) ajusté aux incidences de la maladie est défini en équation 1. Outre le *P. violae* en majorité, plusieurs espèces du genre *Pythium* sont ici impliquées dans l'incidence de la maladie (Suffert et Guibert 2007).

*Les doses de traitements (D1, D10 et D100) sont définies au tableau 1.

†L'asymptote de l'incidence maximale de la maladie (i_{max}) a été fixée à 80% pour l'ensemble des modalités infestées (valeur proche de la moyenne des i_{max} ajustés dans un premier temps pour D1, D10 et D100).

‡Les nombres suivis d'une même lettre indiquent que les paramètres *a* ou *b* ne sont pas significativement différents entre les traitements pour une même année (analyse de variance (test de Scheffe, $\alpha = 0{,}1$) portant sur les incidences de maladie de chaque rang prélevé au sein de chaque bloc).

infections primaires et secondaire, la disjonction des deux processus serait accentuée et conduirait à distinguer plus clairement deux phases épidémiologiques.

À la différence du modèle de Brassett et Gilligan, que nous retenons comme base pour la suite de nos travaux, le modèle de Hau et Amorin n'intègre pas la concomitance des infections primaires et secondaires. Les deux phases y sont disjointes. Cette séparation, purement théorique, correspond à ce qui a été observé à de fortes densités d'inoculum, comme l'a montré le bon ajustement du modèle à D100. Lorsqu'en revanche la quantité d'inoculum est faible, la séparation des deux phases est moins nette et le modèle de Brassett et 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 pédoclimatiques limitantes). La cause d'une éventuelle non-concomitance des deux processus pourrait donc être double :

(1) un décalage temporel entre les premières infections primaires et les premières infections secondaires, résultant

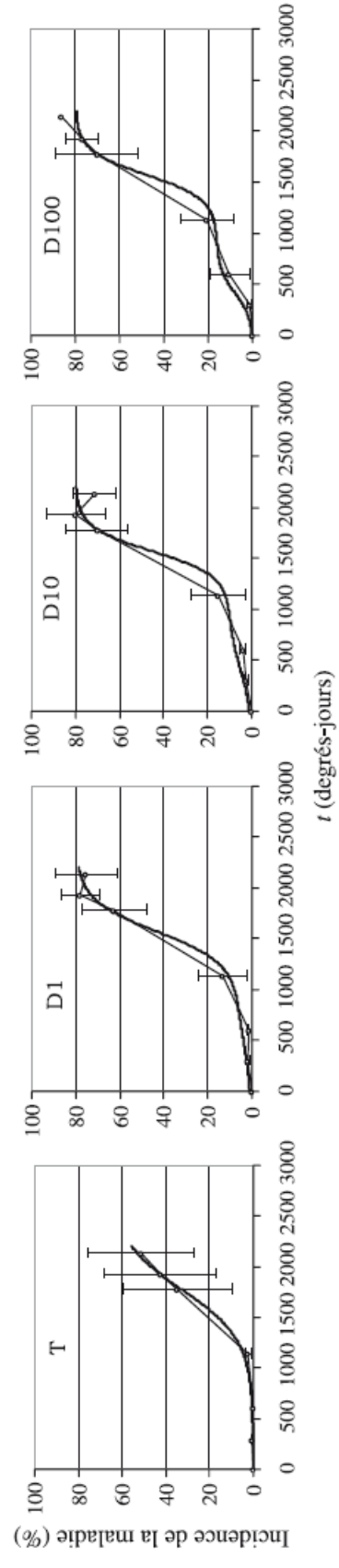


Fig. 4. Ajustement du modèle bilogistique de Hau et Amorin (Amorim et al. 1993; Hau et al. 1993) (voir équation 2) aux cinétiques d'incidence de la maladie de la tache de la carotte de 2001 en Z1 en fonction des doses d'infestation (D1, D10 et D100, définies au tableau 1) avec du *Pythium violae*, au Rheu, Ille-et-Vilaine, France. Les points (lignes fines) représentent les valeurs moyennes des données expérimentales, et les courbes (lignes épaisses), le modèle ajusté à ces moyennes. Les valeurs des paramètres t_{m1} et t_{m2} ont été fixées pour l'ensemble des traitements (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 traitement, en respectant les conditions $\kappa_1 + \kappa_2$ = incidence maximale de la maladie (i_{max}) = 65% pour T (microparcelles témoins non infestées), et κ_1 et $\kappa_2 = i_{max} = 80\%$ pour les modalités infestées D1, D10 et D100. L'échelle de temps (*t*) est exprimée en somme de degrés-jours depuis le semis jusqu'à la date de notation des symptômes, en base 3,5 °C.

Tableau 5. Comparaison des valeurs moyennes des paramètres α_1, α_2 et κ_1 estimés par l'ajustement du modèle bilogistique de Hau et Amorin aux cinétiques d'incidence de la maladie de la tache de la carotte en fonction de la dose d'inoculum (D1, D10 et D100) de *Pythium violae* (souche PV490), au Rheu, Ille-et-Vilaine, France, en 2001.

	Moyennes des paramètres estimés[†]					
Traitement*	κ_1[‡]	κ_2	t_{m1}	t_{m2}	α_1[‡]	α_2[‡]
D1	2,60 a	77,40	419,2	1571,8	0,002 78 a	0,005 25 a
D10	7,59 ab	72,41	419,2	1571,8	0,004 81 ab	0,007 25 a
D100	16,00 b	64,00	419,2	1571,8	0,007 40 b	0,013 00 a
F	3,61				5,63	2,84
p	0,0708				0,0259	0,1108

Nota : Le modèle bilogistique de Hau et Amorin (Amorim et al. 1993; Hau et al. 1993) ajusté aux incidences de la maladie pour 2001 est défini en équation 2. Outre le *P. violae* en majorité, plusieurs espèces du genre *Pythium* sont ici impliquées dans l'incidence de la maladie (Suffert et Guibert 2007).

*Les doses de traitements (D1, D10 et D100) sont définies au tableau 1.

[†]L'ajustement des paramètres κ_2, t_{m1} et t_{m2} répond aux conditions (1) et (2) et a été réalisé de façon séquentielle en trois étapes (voir la section Matériel et méthodes, ainsi que Suffert (2006) pour plus de détails sur les ajustements qui ont permis de fixer les conditions initiales pour s'assurer de la convergence de la procédure d'ajustement global).

[‡]Les nombres suivis d'une même lettre indiquent que les paramètres κ_1, α_1 ou α_2 ne sont pas significativement différents entre les traitements (analyse de variance (test de Scheffe, $\alpha = 0,1$) portant sur les incidences de maladie de chaque rang prélevé au sein de chaque bloc).

d'un « temps de latence » différent (employé ici dans un sens littéral : temps nécessaire à la réussite d'une infection);

(2) une extinction brutale des infections primaires due à une diminution de la capacité saprophytique de l'inoculum (Suffert et Guibert 2007).

En ce qui concerne l'inoculum primaire, ce temps de latence est très faible lorsqu'il y a contact direct entre la surface d'une racine et une propagule infectieuse. Dans les autres cas, il inclut le temps nécessaire pour que la « pathozone » soit explorée par le mycélium de l'agent pathogène. Gilligan et Simons (1987) ont proposé des modèles probabilistes intégrant cette notion, également dénommée « zone d'infection potentielle » (centrée sur l'hôte), 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 utilisons ici le terme « volume de compétence » (analogue, mais centré sur une propagule) employé par Grogan et al. (1980) et défini comme la zone sphérique centrée sur une propagule, dans laquelle une infection peut avoir lieu, et dont le rayon varie au cours du temps. La distance de « prospection » associée à ce volume a été estimée, pour quelques pathosystèmes telluriques, entre 4,0 et 6,6 mm chez le *G. graminis* var. *tritici* (Gilligan et Brassett 1990) et entre 0,06 et 5,2 mm chez le *Phytophthora cinnamomi* Rands pathogène de l'*Abies fraseri* (Pursh) Poir. (Reynolds et al. 1985). Pour la maladie de la tache de la carotte, le temps de latence des infections primaires dépend donc théoriquement de la distance qui sépare une propagule infectieuse de la surface d'une racine. Le temps de latence d'auto-infections correspond au temps nécessaire pour que le mycélium issu d'une lésion atteigne un site sain sur une même racine, et le temps de latence d'allo-infections correspond au temps nécessaire pour que le mycélium atteigne un site sain sur une racine voisine. Ce dernier temps dépend donc en partie de la distance entre racines.

L'hypothèse d'une concomitance, à ce stade de la réflexion, ne peut être validée. Cette concomitance pourrait être plus ou moins stricte, modulée (1) 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 (2) par la capacité de croissance saprophytique du mycélium, influencée tant par les caractéristiques de la souche pathogène que par les conditions pédoclimatiques.

Les résultats de nos travaux de modélisation constituent finalement un argument important en faveur de l'occurrence d'infections secondaires. Cependant, 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). Quoique la modélisation des cinétiques, représente un argument important, elle ne constitue pas pour autant une preuve formelle. Un protocole d'expérimentation adapté a donc été élaboré : la transplantation de pivots racinaires artificiellement inoculés avec du *P. violae* a prouvé que les lésions étaient à l'origine de contaminations racines à racines (allo-infections) (Suffert et Montfort 2007), démontrant ainsi formellement la nature polycyclique d'une épidémie. Les expérimentations ayant conduit à des conclusions analogues pour d'autres pathosystèmes ont été assez peu nombreuses (Scott 1956; Crowe et Hall 1980; Huang et Hoes 1980; Rekah et al. 2001; Pfender et Hagedorn 1983).

La question des mécanismes biologiques à l'origine des infections secondaires se pose désormais. La première interrogation concerne la possibilité de contaminations par contact direct entre radicelles. Des 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 favorisent la propagation de la maladie en servant de points d'appuis aux allo-infections par des contacts entre les radicelles de deux plantes et en stimulant la croissance saprophytique des espèces du genre *Pythium* par la sécrétion d'exsudats racinaires (Estrada-Garcia et al. 1990; Longman et Callow 1987). La seconde interrogation porte sur les formes de dissémination : il est possible

Fig. 5. Ajustement du modèle de Brassett et Gilligan (1988) (voir équation 3) aux cinétiques d'incidence de la maladie de la tache de la carotte de 2001 et 2002 en Z1 et de 2003 en Z2 en fonction des doses d'infestation (D1, D10 et D100, définies au tableau 1) avec du *Pythium violae*, au Rheu, Ille-et-Vilaine, France. Les points (lignes fines) représentent les valeurs moyennes des données expérimentales, et les courbes (lignes épaisses), le modèle ajusté à ces moyennes. Les asymptotes d'incidence maximale de la maladie (i_{max}) ont été fixées à 65% pour les témoins T (microparcelles non infestées en 2001 et 2003) et néoT (microparcelles non infestées en 2002), et à 80% pour les modalités infestées D1, D10 et D100. L'échelle de temps (t) est exprimée en somme de degrés-jours depuis le semis jusqu'à la date de notation des symptômes, en base 3,5 °C.

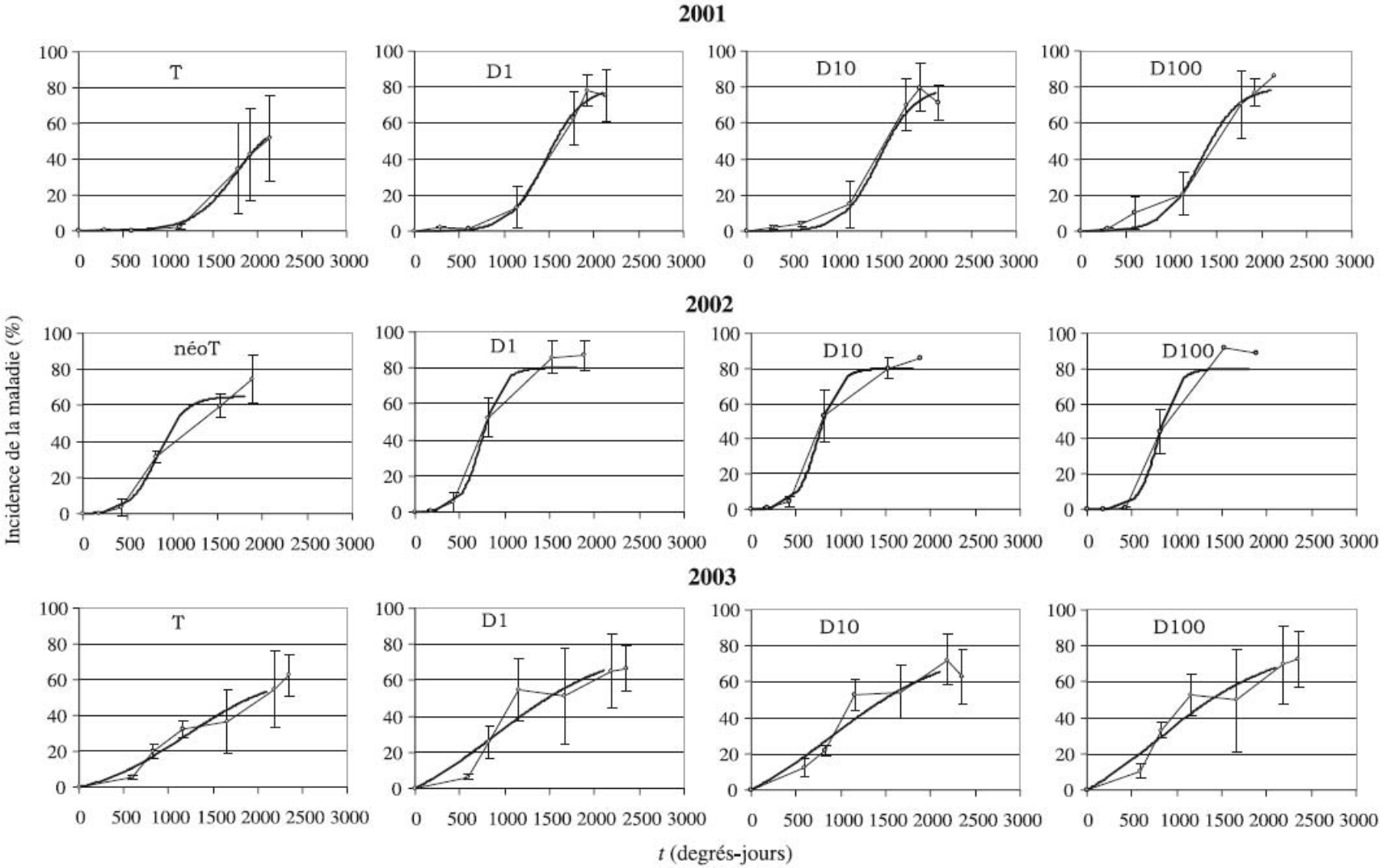


Tableau 6. Comparaison des valeurs moyennes des paramètres c_1 et c_2 estimés par l'ajustement du modèle de Brassett et Gilligan aux cinétiques d'incidence de la maladie de la tache de la carotte en fonction de la dose d'inoculum (D1, D10 et D100) de *Pythium violae* (souche PV490), au Rheu, Ille-et-Vilaine, France, en 2001, 2002 et 2003.

			Moyennes des paramètres estimés‡	
Zone d'essai	Traitement*	i_{max} (%)†	c_1	c_2
2001				
Z1	D1	80	$3{,}95\times10^{-6}$ a	$7{,}23\times10^{-3}$ a
	D10	80	$3{,}43\times10^{-6}$ a	$7{,}15\times10^{-3}$ a
	D100	80	$4{,}85\times10^{-6}$ a	$7{,}01\times10^{-3}$ a
F			0,04	0,01
p			0,964	0,995
2002				
Z1	D1	80	$3{,}27\times10^{-5}$ a	$1{,}25\times10^{-2}$ a
	D10	80	$6{,}61\times10^{-6}$ a	$1{,}20\times10^{-2}$ a
	D100	80	$8{,}65\times10^{-6}$ a	$1{,}21\times10^{-2}$ a
F			1,59	0,01
p			0,256	0,994
2003				
Z2	D1	80	$1{,}44\times10^{-4}$ a	$4{,}48\times10^{-3}$ a
	D10	80	$2{,}29\times10^{-4}$ a	$2{,}42\times10^{-4}$ a
	D100	80	$2{,}51\times10^{-4}$ a	$2{,}47\times10^{-3}$ a
F			0,36	0,38
p			0,711	0,691

Nota : Le modèle de Brassett et Gilligan (1988) ajusté aux incidences de la maladie est défini en équation 3. Outre le *P. violae* en majorité, plusieurs espèces du genre *Pythium* sont ici impliquées dans l'incidence de la maladie (Suffert et Guibert 2007).

*Les doses de traitements (D1, D10 et D100) sont définies au tableau 1.

†L'asymptote de l'incidence maximale de la maladie (i_{max}) a été fixée à 80% pour l'ensemble des modalités infestées (valeur proche de la moyenne des i_{max} ajustés dans un premier temps pour D1, D10 et D100).

‡Les nombres suivis d'une même lettre indiquent que les paramètres c_1 ou c_2 ne sont pas significativement différents entre les traitements (analyse de variance (test de Scheffe, $\alpha = 0{,}1$) portant sur les incidences de maladie de chaque rang prélevé au sein de chaque bloc).

Tableau 7. Comparaison de la qualité d'ajustement des trois modèles (modèle logistique, modèle bilogistique de Hau et Amorin, modèle de Brassett et Gilligan) aux cinétiques de la maladie de la tache de la carotte en fonction de la dose d'inoculum (D1, D10 et D100) de *Pythium violae* (souche PV490), au Rheu, Ille-et-Vilaine, France, en 2001.

	Modèle logistique		Modèle bilogistique de Hau et Amorim		Modèle de Brassett et Gilligan	
Traitement*	$F_{2,5}$†	Erreur type‡	$F_{3,4}$§,‖	Erreur type‡	$F_{2,5}$‖	Erreur type‡
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

Nota : $p < 0{,}0001$ dans tous les cas.

*Les doses de traitements (D1, D10 et D100) sont définies au tableau 1.

†Les paramètres estimés du modèle logistique de Van der Plank (1963) (voir équation 1) sont au nombre de deux (*a* et *b*) (degrés de liberté (dl) = 5).

‡Racine carrée des carrés moyens des écarts résiduels (residual mean square error).

§Les paramètres estimés du modèle bilogistique de Hau et Amorin (Amorim et al. 1993; Hau et al. 1993) (voir équation 2) sont au nombre de trois (α_1, α_2 et κ_1) (dl = 4). Le paramètre κ_2 se déduit de la relation incidence maximale de la maladie (i_{max}) = $\kappa_1 + \kappa_2 = 80\%$. Les valeurs des paramètres t_{m1} et t_{m2} ont été fixées pour l'ensemble des traitements (D1, D10 et D100) à partir des résultats de l'ajustement séquentiel initial.

‖Les paramètres estimés du modèle de Brassett et Gilligan (1988) (voir équation 3) sont au nombre de deux (c_1 et c_2) (dl = 5).

que les zoospores soient impliquées à ce stade chez la plupart des espèces du genre *Pythium* (à l'exclusion éventuelle du *P. violae*) (Martin et Loper 1999; Van der Plaats-Niterink 1981).

À partir des connaissances acquises et de ces dernières hypothèses, il est possible de concevoir un modèle déterministe simple basé sur l'occurrence d'infections primaires et secondaires, qui intègre également la décroissance temporelle du potentiel d'inoculum primaire. Celui que nous proposons de développer est basé sur la décomposition de la variation de la surface totale nécrosée au cours du temps, en fonction des différents processus à l'origine des lésions : infections primaires, auto-infections secondaires, allo-infections secondaires. Conçu comme un outil pour comprendre le fonctionnement d'une épidémie à l'échelle d'une racine, il permettrait d'évaluer l'efficacité de différentes méthodes de

lutte sur chacun de ces processus, et donc leur possibilité de complémentation (Suffert 2005).

Remerciements

Je remercie J.P. Masson, M. Gosme, P. Lucas, F. Montfort, D. Breton et I. Sache pour leurs conseils ayant contribué à améliorer l'analyse des résultats présentés dans cet article, ainsi que M. Prunier et M. Leray (INRA, Le Rheu, France) pour leur assistance technique. Ce travail a été soutenu financièrement par l'INRA dans le cadre du projet PIC (Protection intégrée des cultures).

Bibliographie

Allain-Boulé, N., Lévesque, C.A., Martinez, C., Bélanger, R.R., et Tweddell, R.J. 2004. Identification of *Pythium* species associated with cavity spot lesions on carrots in eastern Quebec. Rev. can. phytopathol. 26 : 365–370.

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 : 933–936.

Bailey, D.J., et Gilligan, C.A. 1999. Dynamics of primary and secondary infection in take-all epidemics. Phytopathology, 89 : 84–91.

Benard, D., et Punja, Z.K. 1995. Role of *Pythium* species in cavity spot development on carrots in British Columbia. Rev. can. phytopathol. 17 : 31–45.

Brassett, P.R., et Gilligan, C.A. 1988. A model for primary and secondary infection in botanical epidemics. Z. Pflanzenkr. Pflanzenschutz. 95 : 352–360.

Breton, D., et Rouxel, F. 1993. Données récentes sur le cavity spot de la carotte en France. Acta Hortic. 354 : 159–170.

Campbell, C.L., et Benson, D.M. 1994. Epidemiology and management of root diseases. Springer–Verlag, Berlin.

Campbell, C.L., et Madden, L.V. 1990. An introduction to plant disease epidemiology. John Wiley & Sons, New York.

Colbach, N., Lucas, P., et Meynard, J.M. 1997. Influence of crop management on take-all development and disease cycles on winter wheat. Phytopathology, 87 : 26–32.

Crowe, F.J., et Hall, D.H. 1980. Vertical distribution of sclerotia of *Sclerotium cepivorum* and host root systems relative to white rot of onion and garlic. Phytopathology, 70 : 70–73.

Estrada-Garcia, T., Ray, T.C., Green, J.R., Callow, J.A., et Kennedy, J.F. 1990. Encystment of *Pythium aphanidermatum* zoospores is induced by root mucilage polysaccharides, pectin and a monoclonal antibody to a surface antigen. J. Exp. Bot. 41 : 693–699.

Gilligan, C.A. 1980. Zone of potential infection between host roots and inoculum units of *Gaeumannomyces graminis*. Soil Biol. Biochem. 12 : 513–514.

Gilligan, C.A., et Brassett, P.R. 1990. Modelling and estimation of the relative potential for infection of winter wheat by inoculum of *Gaeumannomyces graminis* derived from propagules and infected roots. J. Phytopathol. (Berlin), 129 : 58–68.

Gilligan, C.A., et Simons, S.A. 1987. Inoculum efficiency and pathozone width for two host–parasite systems. New Phytol. 107 : 549–566.

Grogan, R.G., Sall, M.A., et Punja, Z.K. 1980. Concepts for modelling root infection by soilborne fungi. Phytopathology, 70 : 361–363.

Guba, E.F., Young, R.E., et Ui, T. 1961. Cavity spot disease of carrots and parsnip roots. Plant Dis. Rep. 45 : 102–105.

Hau, B., Amorim, L., et Bergamin Filho, B. 1993. Mathematical functions to describe disease progress curve of double sigmoid pattern. Phytopathology, 83 : 928–932.

Hiltunen, L.H., et White, J.G. 2002. Cavity spot of carrot (*Daucus carota*). Ann. Appl. Biol. 141 : 201–223.

Huang, H.C., et Hoes, J.A. 1980. Importance of plant spacing and sclerotial position to development of Sclerotinia wilt of sunflower. Plant Dis. 64 : 81–84.

Large, E.C. 1966. Measuring plant disease. Annu. Rev. Phytopathol. 4 : 9–28.

Longman, D., et Callow, J.A. 1987. Specific saccharide residues are involved in the recognition of plant root surfaces by zoospores of *Pythium aphanidermatum*. Physiol. Mol. Plant Pathol. 30 : 139–150.

Martin, F.N., et Loper, J.E. 1999. Soilborne plant diseases caused by *Pythium* spp.: ecology, epidemiology, and prospects for biological control. Crit. Rev. Plant Sci. 18 : 111–181.

McDonald, M.R. 1994. Cavity spot of carrot (*Pythium* spp.): etiology, epidemiology and control. Thèse de Ph.D., University of Guelph, Guelph, Ont.

Montfort, F., et Rouxel, F. 1988. La maladie de la tache de la carotte due à *Pythium violae* : données symptomatologiques et étiologiques. Agronomie (Paris), 8 : 701–706.

Pfender, W.F. 1982. Monocyclic and polycyclic root diseases: distinguishing between the nature of the disease cycle and the shape of the disease progress curve. Phytopathology, 72 : 31–32.

Pfender, W.F., et Hagedorn, D.J. 1983. Disease progress and yield loss in Aphanomyces root rot of peas. Phytopathology, 73 : 110–113.

Phelps, K., White, J.G., et Henn, A.J. 1991. Studies on the frequency distribution of Pythium-induced cavity spot of carrots. Ann. Appl. Biol. 119 : 21–30.

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. Eur. J. Plant Pathol. 107 : 367–375.

Reynolds, K.M., Benson, D.M., et Bruck, R.I. 1985. Epidemiology of Phytophthora root rot of Fraser fir: estimates of rhizosphere width and inoculum efficiency. Phytopathology, 75 : 1010–1014.

SAS Institute Inc. 2000. SAS®/STAT user's guide. Version 8,1 [programme informatique]. SAS Institute Inc., Cary, C.N.

Scaife, M.A., Turner, M.K., et Barnes, A. 1983. Cavity spot of carrots — observance on a commercial crop. Ann. Appl. Biol. 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 : 954–961.

Scott, M.R. 1956. Studies of the biology of *Sclerotium cepivorum* Berk. II. The spread of white rot from plant to plant. Ann. Appl. Biol. 44 : 584–589.

Seem, R.C. 1984. Disease incidence and severity relationships. Annu. Rev. Phytopathol. 22 : 133–150.

Suffert, F. 2005. Cadre théorique de la notion de complémentation caractérisant des stratégies de protection des cultures. Phytoprotection, 86 : 89–92.

Suffert, F. 2006. Epidémiologie du cavity spot de la carotte. Perspectives d'application en protection intégrée [en ligne]. Thèse de doctorat, Agrocampus Rennes, Rennes. Disponible à

http://tel.archives-ouvertes.fr/tel-00119268 [cité le 10 janvier 2007].

Suffert, F., et Guibert, M. 2007. The ecology of a *Pythium* community in relation to the epidemiology of carrot cavity spot. Appl. Soil Ecol. 35 : 488–501.

Suffert, F., et Montfort, F. 2007. Demonstration of secondary infection by *Pythium violae* in epidemics of carrot cavity spot using root transplantation as a method of soil infestation. Plant Pathol. (London). Sous presse.

Tamet, V., Durr, C., et Boiffin, J. 1994. Croissance des plantules de carotte de la germination jusqu'à l'apparition des premières feuilles. Acta Hortic. 354 : 17–25.

Van der Plaats-Niterink, A.J. 1981. Monograph of the genus *Pythium*. Stud. Mycol. 21.

Van der Plank, J.E. 1963. Plant diseases: epidemics and control. Academic Press, New York.

Vivoda, E., Davis, R.M., Nunez, J.J., et Guerard, J.P. 1991. Factors affecting the development of cavity spot of carrot. Plant Dis. 75 : 519–522.

Zadoks, J.C., et Schein, R.D. 1979. Epidemiology and plant disease management. Oxford University Press, London et New York.

CHAPITRE IV

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

Suffert F et Guibert M (2007) The ecology of a *Pythium* community in relation to the epidemiology of carrot cavity spot. *Applied Soil Ecology*, 35: 488-501.

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'Epidémiologie[1] d'une maladie *sensu stricto* mais aussi de l'Ecologie[2] 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-Niternink, 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 (Pieczarka & 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 » parait 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…

The ecology of a *Pythium* community in relation to the epidemiology of carrot cavity spot

F. Suffert *, M. Guibert

UMR1099, Biologie des Organismes et des Populations appliquée à la Protection des Plantes (BiO3P), INRA-Agrocampus Rennes, Equipe Epidémiologie Sols et Systèmes, Domaine de la Motte, BP 35327, F-35653 Le Rheu, France

Received 26 January 2006; received in revised form 13 October 2006; accepted 16 October 2006

Abstract

Carrot cavity spot (CCS) is characterised by the appearance of small sunken elliptical lesions on the tap root. It is caused by a complex of *Pythium* species, but the species diversity and interactions within the complex have never been studied for modelling CCS epidemics. The diversity of a pathogenic *Pythium* community was assessed during 3 consecutive years in a field experiment 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 us 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, explained 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 us 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 with the presence of a second *Pythium* species. The ratio between 'observed' and 'expected' mixed infection frequency under the assumption of independent infection (*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.
© 2006 Elsevier B.V. All rights reserved.

Keywords: Epidemiology; Carrot cavity spot; Mixed infection; Pathogen complex; *Pythium sulcatum*; *Pythium violae*

1. Introduction

1.1. The genus Pythium spp.

The genus *Pythium* includes approximately 120 species (Hendrix and Campbell, 1973; Van der Plaats-Niterink, 1981; Dick, 1990). While diseases caused by

* Corresponding author. Tel.: +33 2 23 48 51 95; fax: +33 2 23 48 51 80.
E-mail address: Frederic.Suffert@rennes.inra.fr (F. Suffert).

Pythium spp. are often considered as seedling diseases (damping-off), mature plants may also be attacked. 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 and 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 have been published (Hendrix and Campbell, 1973; Ali-Shtayeh et al., 1986). These consisted of specific monographs of given species, compiled for example by Domsch et al. (1980), but with little ecological content as 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 the epidemiology of root diseases, particularly during the infection phase.

1.2. 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 taproot, and is due to a *Pythium* complex (Hiltunen and White, 2002). The involvement of the slow-growing species *P. violae* in the development of CCS was firmly established 20 years ago (Groom and Perry, 1985; White, 1986; Montfort and 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 (Breton, unpubl.).

1.3. 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 and Perry, 1985; Montfort and 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 and Kistler, 1990; Wang and White, 1997; Kageyama et al., 1998; Vasseur et al., 2001), which have improved the diagnosis of the *Pythium* complex associated with CCS.

1.4. Ecology and epidemiology of Pythium complexes

Management practices and environmental conditions often have a significant impact on the species diversity in *Pythium* complexes (e.g. pathogens 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. abappressorium*, *P. rostratum*, *P. debaryanum*, *P. heterothallicum*, and *P. oligandrum*) (Dick and Ali-Shtayeh, 1986; Paulitz and Adams, 2003). The composition of a *Pythium* complex is usually not homogeneous within an year. Seasonal variations have been reported in the composition of the *Pythium* communities of wheat (Ali-Shtayeh et al., 1986; Hardman and Dick, 1987), of alfalfa (e.g. *P. sylvaticum*, *P. irregulare*, *P. ultimum*, and *P. torulosum*) (Hancock, 1981; Hancock and Grimes, 1990; Larkin et al., 1995a, 1995b), of bean (e.g. R *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 have rarely been described precisely as few studies have investigated entire pathogen communities, including potential interactions between species. This is problematic for a quantitative epidemiological approach because disease progress curves may be influenced by these fluctuations. One or several *Pythium* 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* species can be affected by the composition of the pathogen complex, because the biological characteristics such as pathogenicity of each species are different, but also because the factors

usually affecting an epidemic may modify the behaviour of each species. Seasonal fluctuations in *Pythium* spp. in relation to root disease severity were established by Lee and 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 genera such as *Fusarium*, associated with the root rot complex of corn. A reduction in *Pythium* population during mid-summer was observed and *P. graminicola* appeared to be the primary cause of root rot early in the season. Pathogenicity tests confirmed that *P. graminicola* was more virulent than *P. dissotocum* or *P. torulosum*.

Little interaction between *Pythium* species (e.g. positive synergy) usually occurs 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 conducted by artificial soil infestation with *P. arrhenomanes*, *P. irregulare*, and *P. spinosum* (Lee and Hoy, 1992) and showed that disease severity due to several species in combination was never higher than severity caused by individual species. Comparison of root infection by *P. arrhenomanes* alone and total *Pythium* species with root rot severity in natural field soils have shown that the prevalence of *P. arrhenomanes* is a determinant of disease severity (Lee and Hoy, 1992). 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 (15 *Pythium* species identified), 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 in glasshouse experiments which showed that when *P. dissotocum* and *P. irregulare* were present, infection by each of them was independent of the other.

1.5. 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 overall objective was to test if a CCS epidemic is specifically affected by the nature of each local pathogen 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 (a mixture of endogenous *Pythium* spp. and *P. violae* artificially applied) over a 3-year outbreak 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' versus 'minor' species, according to their prevalence in the complex, matched pathogenicity.

2. Materials and methods

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

2.1.1. 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 grains and 300 ml of distilled water were autoclaved twice at 120 °C for one hour at 24 h intervals, and inoculated with plugs of *P. violae*. They were incubated for 3 weeks at 20 °C in a dark room.

2.1.2. The field experiment

A field experiment was conducted in the INRA Station of Le Rheu (Ille-et-Vilaine, France) to characterize the changes in the diversity of a *Pythium* community responsible for CCS over 3 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 set up as a factorial randomised block design with four blocks and four inoculum levels (T: control, D1: 5 g m^{-2}, D10: 50 g m^{-2}, D100: 500 g m^{-2}). Experimental units were 2 m × 6 m plots. The soil was silt loam (with 16.3% clay, 62.5% silt, 21.2% sand, and 2.4% organic matter). In the first year (2001), plots were infested with three levels of barley grain inoculum (D1, D10, D100). Each plot consisted of five rows 50 cm apart with 80 plants per linear meter. Pre-seeded cellulosic paper ribbons (made by ISITOP, Saint-Gilles, Ille-et-Vilaine, France) were used to homogenise carrot emergence.

Cultural practices applied uniformly to all plots were as follow. The fields were ploughed and harrowed 1 week before sowing and the insecticide CURATER (Carbofuran, 1000 g ha^{-1}, BAYER CROPSCIENCE) was applied to control carrot fly (*Psila rosae*) and

wireworm *(Agriotes lineatus)*. The herbicide DOSANEX (Metoxuton, 4000 g ha^{-1}, SYNGENTA AGRO) was sprayed 3 weeks after carrot emergence and weed control was completed by mechanical means. The fungicide SCORE (Diphenoconazole, 200 g ha^{-1}, SYNGENTA AGRO) was applied in August to prevent foliar attacks by *Alternaria dauci* that usually occurr in the area. The application of ammonium nitrogen fertilizer was split (20 kg ha^{-1} N 1 month before sowing and 30 kg ha^{-1} N 1 month after carrot emergence). Phosphate and potassium fertilizers were applied 1 month before sowing (100 kg ha^{-1} P as Superphosphate and 130 kg ha^{-1} K as Patenkali).

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^{TM} H8 (Prosensor). Data were acquired at 15 min intervals. Daily precipitation was automatically recorded using a tipping bucket type rain gauge. Air and soil temperatures and cumulative precipitations (rainfall and irrigation) are presented in Fig. 1. The difference between maximal and minimal soil temperature was particularly wide in the 2003/2004 season (-4 ± 27 °C). The climate was exceptionally hot and dry in the summer of 2003, with an average mean daily air temperature of 21.5 °C in August 2003, compared with 18.9 °C in 2001 and 17.5 °C in 2002. The average maximum daily air temperature in August was 29.7 °C in 2003, 24.5 °C in 2001 and 23.7 °C in 2002.

2.1.3. Isolation of Pythium from CCS symptoms

Six, five and six samples were harvested in 2001, 2002, and 2003 (S1 to S6 on 21/06/2001, 30/07/2001, 03/09/2001, 05/11/2001, 08/01/2002, and 25/02/2002; S7 to S11 on 26/06/2002, 16/07/2002, 12/08/2002, 08/10/2002, and 02/12/2002; S12 to S17 on 01/07/2003, 21/07/2003, 05/08/2003, 28/08/2003, 30/09/2003, and 24/11/2003). On each sampling date all the roots present along a 50 cm row section were collected. Each sample typically had 30–40 carrot roots. Numbers and size of CCS lesions were measured for each root and the temporal dynamics of the epidemic was monitored by the disease measurements *i* (disease incidence), *d* (lesion density), *si* (symptom intensity), and *tda* (total disease area) (Suffert, 2006).

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

Pieces of necrotic tissue (5 mm^2) were cut from the edges of lesions on the taproot, sterilised in 0.5% NaOCl for 15 s, rinsed three times in distilled water and cut into seven small fragments (1–2 mm). These were placed on selective MS2 medium (1 L of water amended with 17.5 g of corn meal agar, 2 mL of pimaricin 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 development (Breton and 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).

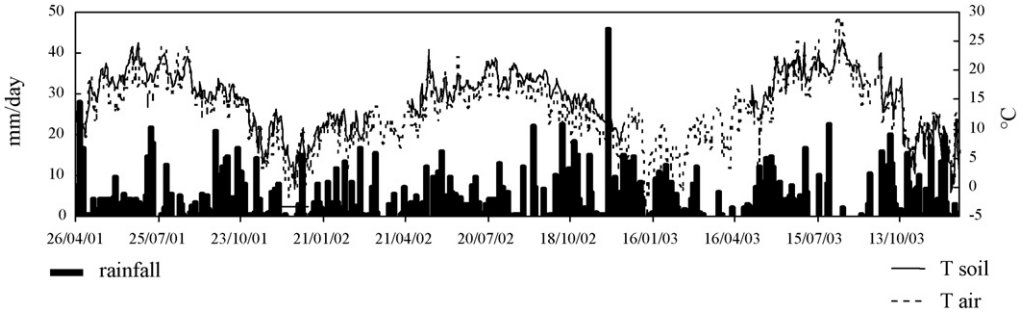


Fig. 1. Meteorological data in the field experiment including cumulative precipitation (rainfall and irrigation), daily mean air and soil temperature.

2.1.4. 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 and 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 and White, 1997; Breton, 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, *Hin*fI, *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 and White (1997) and Kageyama et al. (1998). Molecular analyses confirmed the identification of most of the 209 isolates.

2.1.5. Analysis of diversity

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 diversity index (H_n), which is calculated as:

$$H_n = \frac{1}{\ln(S)} \sum^{S} P_i \ln(P_i) \quad (1)$$

where P_i is the frequency of the ith species and S the observed number of species (Sheldon, 1969; Begon et al., 1986; Mihail et al., 2002).

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.

2.2. 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 and 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.

2.3. 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 seven 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).

2.4. 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 seven 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 ±1 °C.

2.5. Pathogenicity test

An artificial inoculation of mature roots was performed to measure the pathogenicity of the

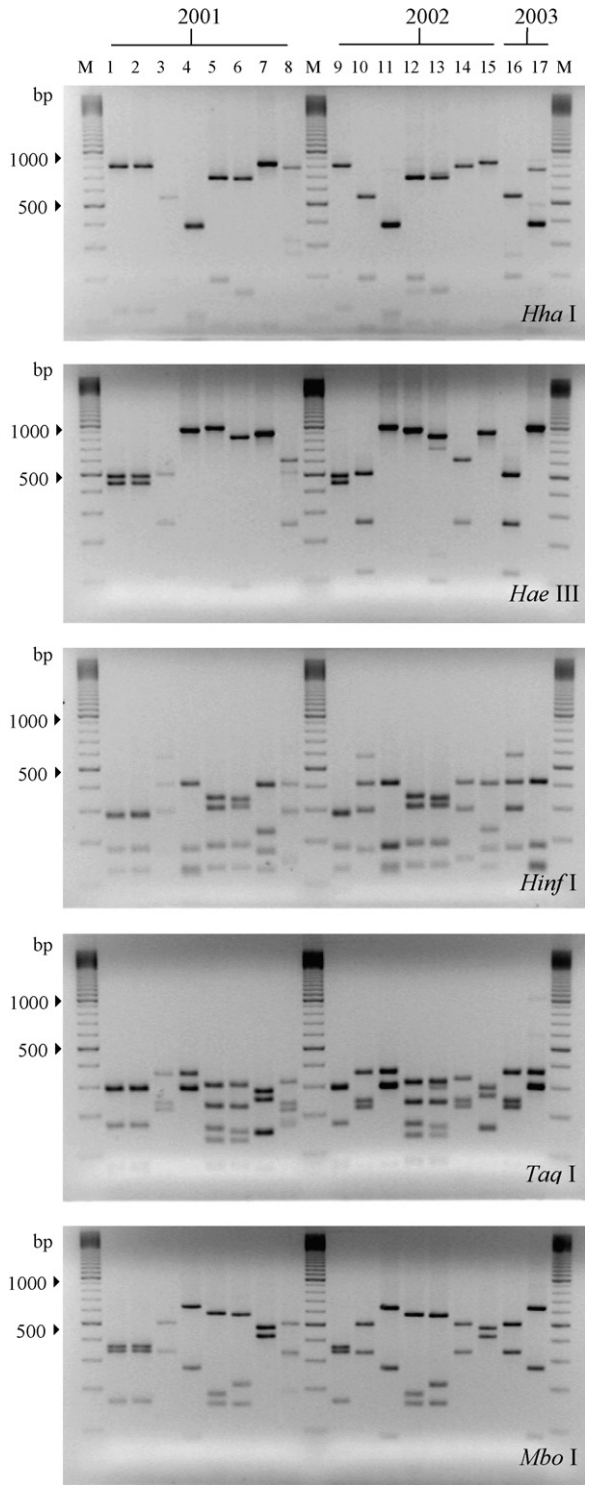


Fig. 2. Polymerase chain reaction (PCR) and restriction fragment length polymorphism (RFLP) diagnosis of *Pythium* strains isolated from the field experiment (2001–2003). Restriction banding patterns of PCR-amplified internal transcribed spacer of rDNA after digestion with *Hha*I, *Hae*III, *Hin*fI, *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*.

representative *Pythium* isolates. Freshly harvested carrot roots (cv. Nanda) were sterilised in water containing 0.3% NaOCl (1 min), rinsed three times in clear water, and cut into 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 and Rouxel, 1993; Benard and 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 (e, estimated by the rate of successful infection) and lesion extension (estimated by the area of a lesion calculated using the ellipse area equation $1/4\pi(a + b)$, 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 $\varphi = e \times 1/4\pi(a + b)$.

2.6. Saprophytic behaviour of *P. violae* and *P. sulcatum* in soil

An experiment was performed under 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 infested with either *P. violae* or *P. sulcatum* using a concrete mixer. The method of inoculum production (barley grains) was similar to that described above. After infestation, pots were placed in a climatic chamber under favourable conditions for carrot growth and development of *P. violae* and *P. sulcatum* (14 h of daylight at 20 °C and 8 h of night at 12 °C) (Van der Plaats-Niterink, 1981; Breton and 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 (three pots). Carrot roots were 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.

3. Results

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

3.1.1. 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 six distinct *Pythium* species, including *P. violae* and five indigenous species: *P. sulcatum*, *P. intermedium*, *P. sylvaticum/irregulare*, *P. coloratum*, and *P. ultimum* on the basis of RFLP patterns of amplified ITS regions (Fig. 2). 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 six distinct species, three 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 separate them. *P. coloratum* also corresponded to a single restriction profile, but we were not able to separate *P. coloratum*, *P. dissotocum* and *P. diclinum* because of the similarity of their profiles.

3.1.2. 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. A distinction was made between data from infested plots in 2001 (pooled whatever the dose of inoculum) and data from

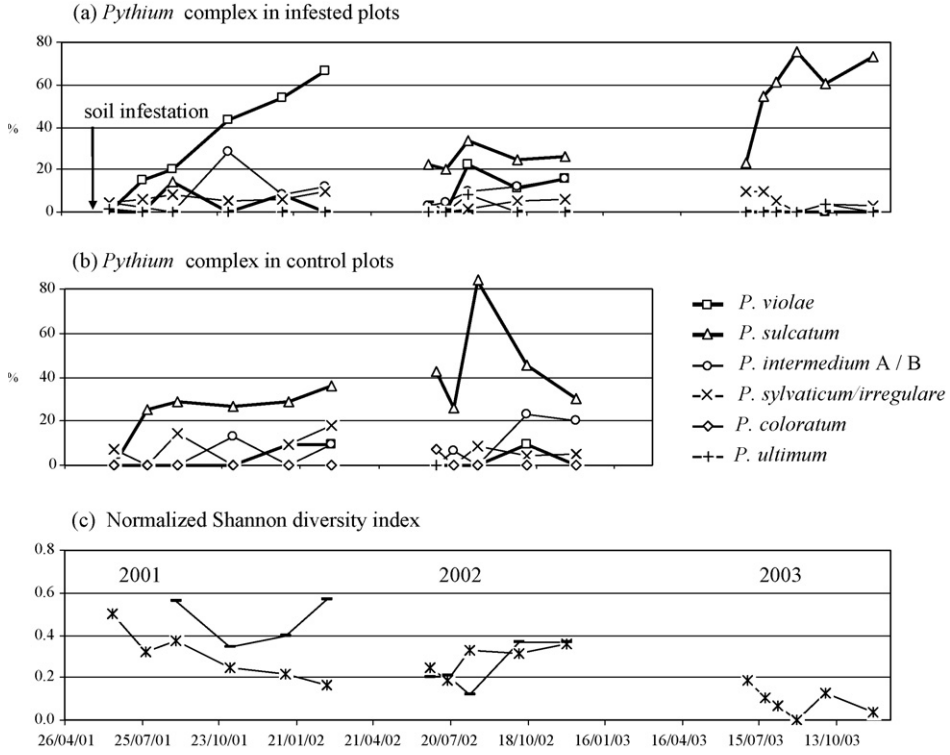


Fig. 3. Fluctuations in the composition of the *Pythium* complex responsible for CCS in the field experiment (2001–2003) after initial soil infestation with *P. violae* in 2001. (a–b) Prevalence of *Pythium* species isolated from lesions. The total 100% corresponds with the number of isolates including non pathogenic *Pythium* sp. Distinction was made between (a) infested plots (D1, D10 and D100) and (b) non-infested control plots. (c) Variations in the normalized Shannon diversity index (H_n) in infested (*) and in control plots (−).

non-infested plots. The pathogen complex was initially composed of 6 *Pythium* species. *P. violae* was increasingly dominant during the first year and responsible for most of the CCS lesions (more than 65% at the end of the epidemic) (Fig. 3a,b). 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 diversity index (H_n), decreased with time during the 3-year period (Fig. 3c). Despite the additional presence of *P. violae*, H_n was lower by 28–70% in infested plots than in the control in 2001.

3.2. Occurrence of mixed infections and species interactions

The rate of efficacy of isolation of *Pythium* sp. from a CCS lesion ranged between 45% and 70% during the 3-year period (Table 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 in a mixture with other species is less than 5–10% on average. *P. violae* and *P. sulcatum* were rarely isolated in mixture, 10.4% and 9.6%, respectively (Fig. 4). 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 3-year data set (Table 2). These four species were also less frequently associated than under the assumption of independent infection. In the case of mixed infections, infections by different *Pythium* species were not positively correlated, in particular for *P. violae* and *P. sulcatum* (see values of χ^2 associated with $P < 0.05$ in Table 2). The number of *P. ultimum* and *P. coloratum* strains was too low for the chi-square test to be significant ($P > 0.05$).

Table 1
Proportion of CCS lesions from which multiple *Pythium* species were isolated, combining infested and control plots in the field experiment over 3 years (2001–2003)

Year	L[a]	N[b]	No. *Pythium* 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.

3.3. Biological characteristics of Pythium spp.

3.3.1. Optimum temperature

The optimum temperature for saprophytic growth of *P. violae* (19 °C) was less than *P. sulcatum* (25 °C) (Fig. 5). 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*.

3.3.2. Pathogenicity

The infection efficiency (rate of successful infection) of *P. violae* and *P. sulcatum* was 95% and 100%,

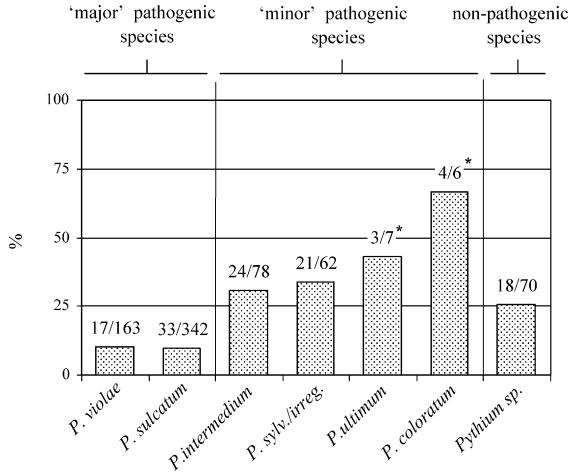


Fig. 4. Proportion of *Pythium* strains isolated with at least one other species from a single CCS lesion in the field experiment (2001–2003). Data were pooled (infested and control plots); the fractions correspond with the ratios between the number of strains (of a given *Pythium* species) isolated in mixture from a single lesion and the total number of strains (of this *Pythium* species); * indicates that the proportion was calculated from a small number of strains.

Table 2
Proportion of CCS lesions from which multiple *Pythium* species were isolated, combining infested and control plots in the field experiment (2001–2003)

Stastistical test[a]	2001			2002			2003			Pooled (2001–2003)		
	χ^2	*P*	*mir*[b]	χ^2	*P*	*mir*[b]	χ^2	*P*	*mir*[b]	χ^2	*P*	*mir*[b]
P. violae	13.06	0.003	0.49	19.60	<0.001	0.20	–	–	–	76.59	<0.001	0.25
P. sulcatum	9.43	0.002	0.33	11.75	<0.001	0.57	31.77	<0.001	0.36	84.21	<0.001	0.34
P. intermedium	4.88	0.027	0.56	1.24	0.266	0.82	–	–	–	11.55	0.007	0.62
P. sylvaticum/irregulare	5.49	0.019	0.50	2.66	0.103	1.45	11.00	<0.001	0.46	7.17	0.007	0.67
P. ultimum	0.82	0.370	–	0.28	0.594	0.77	0.46	0.500	1.46	0.32	0.573	0.80
P. coloratum.	1.22	0.270	2.22	0.13	0.721	1.15	–	–	–	0.41	0.520	1.24
Pythium 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.
[b] *mir* is the mixed infection ratio (ratio between 'observed' and 'expected' mixed infection frequency); $mir < 1$ and $P < 0.05$ mean that co-infection was significantly over-represented; '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.

respectively (Fig. 6). Mean infection efficiency of other pathogenic species was lower and variable 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. 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. This was confirmed by the decreasing relationship between *mir* and the pathogenicity φ ($R^2 = 0.638$) (Fig. 7). The less a *Pythium* species was evaluated as pathogenic on carrot,

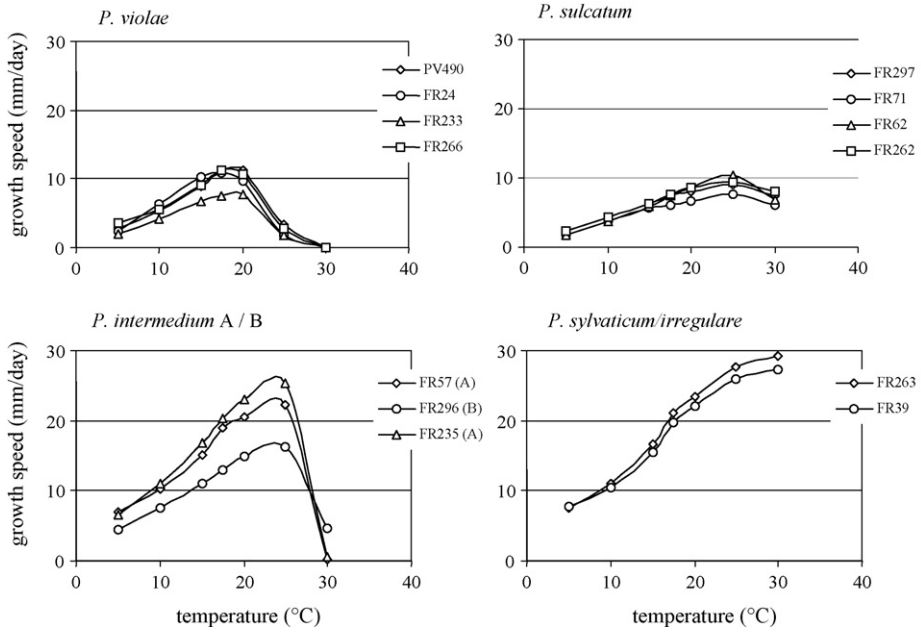


Fig. 5. Radial mycelial growth rates of four pathogenic *Pythium* species after incubation on corn meal agar (CMA) for 96 h. PV490 is the reference strain (CBS 102.609); strains FR24, FR39, FR57, FR62, and FR71 were isolated in 2001 from CSC lesions in the field experiment; strains FR233, FR266, FR262, FR296, FR235, and FR263 were isolated in 2002.

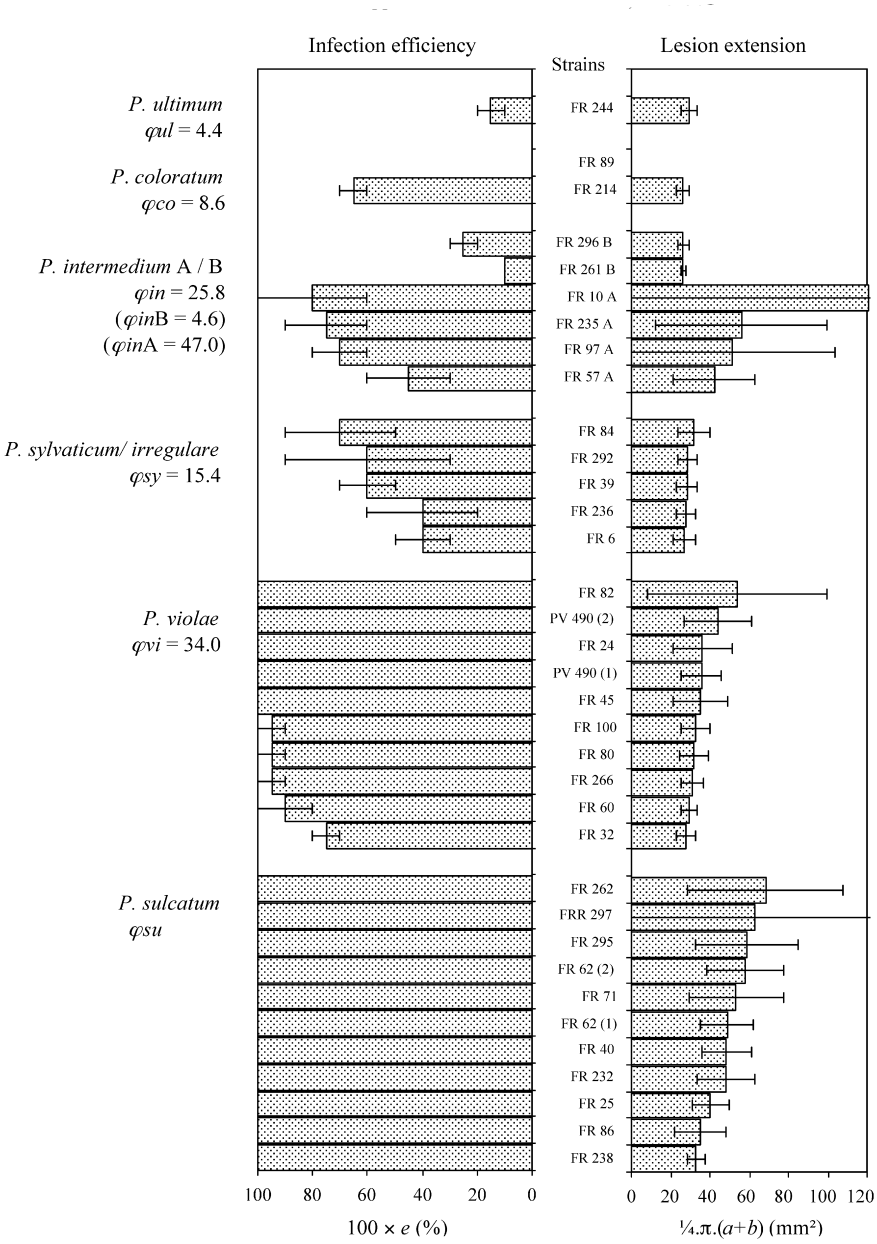


Fig. 6. Pathogenicity of *Pythium* strains isolated from CCS lesions in the field experiment. Infection efficiency e (rate of successful infection) and lesion extension (area of a lesion) were established for each isolate; pathogenicity (mean value of $\varphi = e \times 1/4\pi(a + b)$) was calculated for each *Pythium* sp.

the more it was isolated from a CCS lesion in mixture with at least one other species.

3.3.3. 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 (Fig. 8). 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 mm^2 for *P. sulcatum* and ranged from 0.2 to 1.5 mm^2 for *P. violae*), but was lower when carrots were sown more than 100 days after soil infestation (*tda* less than 0.1 mm^2 for *P. sulcatum* and less than 0.2 mm^2 for *P. violae*). Although nonsignificant, the temporal decay of the inoculum potential was quite similar between *P. violae* and *P. sulcatum* and was observed in both soil types.

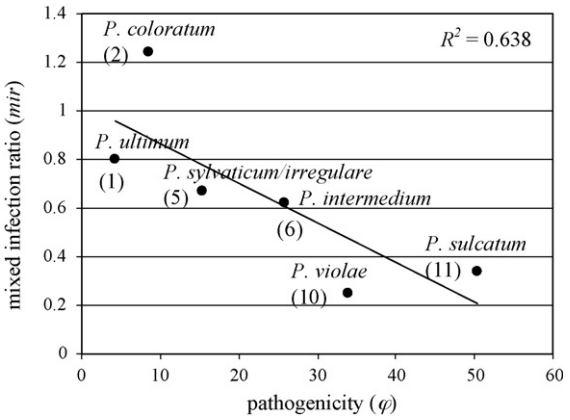


Fig. 7. Relationships between the mixed infection ratio (*mir*) estimated from the field experiment (2001–2003, infested and control plots) and the pathogenicity φ of the *Pythium* spp. estimated *in vitro*. Brackets indicate the number of isolates tested.

4. Discussion

4.1. Diversity and fluctuations in the Pythium complex

The increase in prevalence of *P. violae* during the first year (2001) may have been 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* under controlled conditions. Similarly, Hancock (1981) showed a decline in *P. ultimum* in natural soils; the decrease in inoculum densities over the first few months was less evident and the subsequent decrease in densities was more pronounced 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 in 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* versus 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

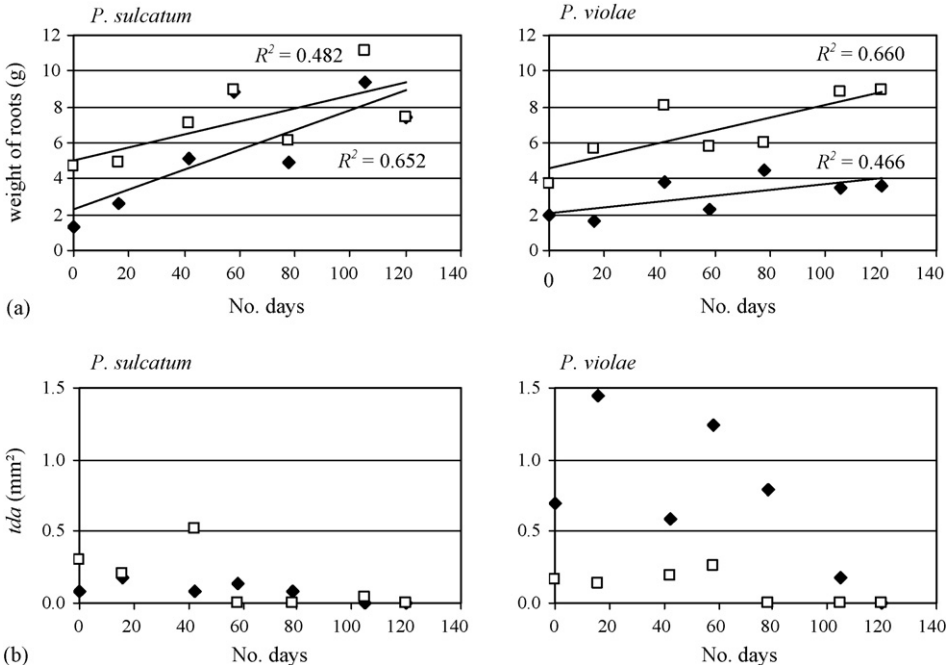


Fig. 8. Variation in the inoculum potential of *P. violae* and *P. sulcatum* in two soils after artificial inoculation with barley grains and different dates of sowing. (a) Effect on the mean weight of carrot roots. (b) Effect on the total disease area (*tda*). The scale on the horizontal axis is the number of days between the soil infestation and the sowing of carrots; white squares (□) correspond with the reconstituted sandy soil, and black diamonds (◆) correspond with the natural non-sterilised silt soil from the field experiment.

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 from the carrot production areas of Créances (Manche, France), in which *P. violae* is naturally predominant (Breton and Rouxel, 1993). Therefore, results cannot 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. Such 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 the same 'group' of species (Hendrix and Campbell, 1973; White et al., 1994), identified by quite similar PCR profiles (Wang and White, 1997; Vasseur et al., 2001). Distinguishing *P. coloratum* from *P. dissotocum* or from *P. diclinum* (Wang and White, 1997; Breton, 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*.

4.2. Interactions between Pythium species

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. Based on 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 and 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* complexes 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 sometimes occupy the same ecological niche. This is not really the case for the CCS because some species isolated in our study seem to be totally specific to carrots and others not. The fast-growing *Pythium* species, which are less pathogenic on carrots, are less specialised, while the more pathogenic slow-growing species are more specialised.

Infection levels by different pathogenic species were not positively correlated in cases of mixed infections, indicating few interactions between the 'major' species (*P. violae* and *P. sulcatum*) and others. Changes in the *Pythium* complex seemed 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 cases of mixed infection have rarely been discussed, except for plant viruses (Zhang et al., 2001) or some pathogens of potato tubers (Pett and 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 has rarely been 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 synergistic

interactions between *Fusarium* species on wheat. In the case of CCS, as for several soil-borne diseases due to a *Pythium* complex (Lumsden et al., 1976; Larkin et al., 1995a; Lee and 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 for CCS, spatially diverse and temporally fluctuant, is then characterised by the absence of competition between species during the infection phase. This is a common feature of several other *Pythium* complex-inducing root diseases.

Analyses of mixed infection from field experimental data 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 complexes 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.

4.3. Consequences for quantitative CCS epidemiology

The absence of major interactions between *Pythium* species during infection has important consequences for quantitative epidemiology. The main issue 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 multi-annual scales. Theoretically, it is possible to consider (i) a single, multi-specific epidemic, including the effects due to interactions between species, or (ii) several mono-specific epidemics with a total 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 to take into account the composition of the complex to model epidemiological processes.

In the absence of interaction between two species, the overall 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 Eq. (2) is a mathematical transcription of this formalization and illustrates the case of a double infection (mixed infection by two species):

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

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 also be valid in other conditions. The equation of the model describing disease progress curves does not need adaptation to take into account new hypothetical processes due to synergism or antagonism between species.

Acknowledgements

We thank M. Prunier, M. Leray, S. Carrillo and J. Beuzelin for their technical assistance in field and controlled experiments, D. Andrivon, D. Breton, P. Lucas, F. Montfort, L. Lebreton and C. Le May for help and useful discussion. Financial support was provided by grants from INRA, in part by the ICP project 2001–2003 (Integrated Crop Protection).

References

Ali-Shtayeh, M.S., Len, L.H.C., Dick, M.W., 1986. An improved method and medium for quantitative estimates of populations of *Pythium* species from soil. Trans. Br. Mycol. Soc. 86, 39–47.

Begon, M., Harper, J.L., Townsend, C.R., 1986. Ecology: Individuals, Populations, and Communities. Blackwell Scientific Publications, p. 876.

Benard, D., Punja, Z.K., 1995. Role of *Pythium* species in cavity spot development on carrots in British Columbia. Can. J. Plant. Pathol. 17, 31–45.

Breton, D., Rouxel, F., 1993. Données récentes sur le cavity spot de la carotte en France. Acta Hort. 159–170.

Campion, C., Massiot, P., 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. Eur. J. Plant. Pathol. 103, 725–735.

Dick, M.W., 1990. Keys to *Pythium*. University of Reading Press, p. 64.

Dick, M.W., Ali-Shtayeh, M.S., 1986. Distribution and frequency of *Pythium* species in parkland and farmland soils. Trans. Br. Mycol. Soc. 86, 49–62.

Domsch, K.H., Gams, W., Anderson, T., 1980. Compendium of Soil Fungi, vol. I. Academic Press, London, p. 859.

El-Tarabily, K.A., Hardy, G.E.St.J., Sivasithamparam, K., 1996. Association of *Pythium coloratum* and *Pythium sulcatum* with cavity spot disease of carrots in Western Australia. Plant Pathol. 45, 727–735.

Groom, M.R., Perry, D.A., 1985. Induction of "cavity spot like" lesions in roots of *Daucus carota* by *Pythium violae*. Trans. Br. Mycol. Soc. 84, 755–758.

Guerin, L., Briard, M., Rouxel, F., 1994. Biochemical characterisation of *Pythium* spp. involved in cavity spot of carrots in France. Ann. Appl. Biol. 125, 255–265.

Hancock, J.G., 1981. Longevity of *Pythium ultimum* in moist soils. Phytopathology 71, 1033–1037.

Hancock, J.G., Grimes, D.W., 1990. Colonization of rootlets of alfalfa by species of *Pythium* in relation to soil moisture. Phytopathology 80, 1317–1322.

Hardman, J.M., Dick, M.W., 1987. Short-term fluctuations in availability of *Pythium* propagules for isolation from soil. Trans. Br. Mycol. Soc. 88, 29–39.

Hendrix, F.F., Campbell, W.A., 1973. *Pythium* as plant pathogens. Annu. Rev. Phytopathol. 11, 77–98.

Hiltunen, L.H., White, J.G., 2002. Cavity spot of carrot *(Daucus carota*). Ann. Appl. Biol. 141, 201–223.

Kageyama, K., Uchino, H., Hyakumachi, M., 1998. Characterization of the hyphal swelling group of *Pythium*: DNA polymorphisms and cultural and morphological characteristics. Plant Dis. 82, 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, 1–4.

Larkin, R.P., English, J.T., Mihail, J.D., 1995a. Identification, distribution and comparative pathogenicity of *Pythium* spp. associated with alfalfa seedlings. Soil Biol. Biochem. 27, 357–364.

Larkin, R.P., English, J.T., Mihail, J.D., 1995b. Effects of infection by *Pythium* spp. on root system morphology of alfalfa seedlings. Phytopathology 85, 430–435.

Lee, Y.S., Hoy, J.W., 1992. Interactions among *Pythium* species affecting root rot of sugarcane. Plant Dis. 76, 735–739.

Liddell, C.M., Davis, R.M., Nunez, J.J., Guerand, J.P., 1989. Association of *Pythium* spp. with carrot root diseases in the San Joaquin Valley of California. Plant Dis. 73, 246–248.

Lumsden, R.D., Ayers, W.A., Adams, P.B., Dow, R.L., Lewis, J.A., Papavizas, G.C., Kantzes, J.G., 1976. Ecology and epidemiology of *Pythium* species in field soil. Phytopathology 66, 1203–1209.

Martin, F.N., Kistler, H.C., 1990. Species-specific banding patterns of restriction endonuclease digested mitochondrial DNA from the genus Pythium. Exp. Mycol. 14, 32–46.

Martin, F.N., Loper, J.E., 1999. Soilborne plant diseases caused by *Pythium* spp.: ecology, epidemiology, and prospects for biological control. Crit. Rev. Plant Sci. 18, 111–181.

Mihail, J.D., Hung, L.F., Bruhn, J.N., 2002. Diversity of a Pythium community infecting roots of the annual legume *Kummerowia stipulacea*. Soil Biol. Biochem. 34, 585–592.

Montfort, F., Rouxel, F., 1988. La maladie de la tache de la carotte due à *Pythium* violae: données symptomatologiques et étiologiques. Agronomie 8, 701–706.

Paulitz, T.C., Adams, K., 2003. Composition and distribution of *Pythium* communities in wheat fields in Eastern Washignton State. Phytopathology 93, 867–873.

Pett, B., Kleinhempel, D., 1976. On the problem of mixed infection (*Pectobacterium carotovorum* var. *atrosepticum* (van Hall) Dowson and *Fusarium* spp.) on potato tubers. Arch. Phytopathol. Pflanzensch. 12, 315–322.

Rao, B., Schmitthenner, A.F., Caldwell, R., Ellet, C.W., 1978. Prevalence and virulence of *Pythium* species associated with root rot of corn in poorly drained soil. Phytopathology 68, 1557–1563.

Rogers, S.O., Bendich, A.J., 1985. Extraction of DNA from milligram amounts of fresh herbarium and mummified plant tissues. Plant Mol. Biol. 5, 69–76.

Sheldon, A.L., 1969. Equitability indices: dependence on the species count. Ecology 50, 466–467.

Sokal, R.R., Rohlf, F.J., 1995. In: Freeman, W.H. (Ed.), Biometry. The Principles and Practice of Statistics in Biological Research, third ed., New York, p. 887.

Suffert, F., 2006. Epidémiologie du cavity spot de la carotte. Perspectives d'application en protection intégrée. Rennes, France: Agrocampus Rennes, PhD thesis, 336 pp.

Van der Plaats-Niterink, A.J., 1981. Monograph of the genus *Pythium*. Stud. Mycol. 21, 224.

Vasseur, V., Breton, D., Verger, S., Foucher, S., 2001. Identification de 13 espèces de *Pythium* par PCR et PCR-RFLP: reproductibilité de techniques moléculaires. Phytoma 535, 33–36.

Wang, P.H., White, J.G., 1997. Molecular characterization of *Pythium* species based on RFLP analysis of the internal transcribed spacer region of ribosomal DNA. Physiol. Molec. Plant. Pathol. 51, 129–143.

White, J.G., 1986. The association of *Pythium* spp. with cavity spot and root dieback of carrots. Ann. Appl. Biol. 108, 265–273.

White, J.G., 1988. Studies on the biology and control of cavity spot of carrots. Ann. Appl. Biol. 113, 259–268.

White, J.G., Lyons, N.F., Wakeham, A.J., Mead, A., Green, J.R., 1994. Serological profiling of the fungal genus *Pythium*. Physiol. Molec. Plant. Pathol. 44, 349–361.

Xu, X.M., Parry, D.W., Nicholson, P., Thomsett, M.A., Simpson, D., Edwards, S.G., Cooke, B.M., Doohan, F.M., Brennan, J.M., Moretti, A., Tocco, G., Mule, G., Hornok, L., Giczey, G., Tatnell, J., 2005. Predominance and association of pathogenic fungi causing Fusarium ear blight in wheat in four European countries. Eur. J. Plant Pathol. 112, 143–154.

Zhang, B.X., Ge, Q.X., Chen, D.H., Wang, Z.Y., He, S.S., 1990. Biological and chemical control of root diseases on vegetable seedlings in Zhejiang province. In: Hornby, D. (Ed.), Biological Control of Soil-Borne Plant Pathogens. CAB International, China.

Zhang, X.S., Holt, J., Colvin, J., 2001. Synergisn between plant viruses: a mathematical analysis of the epidemiological implications. Plant Pathol. 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 établi 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 influencée 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

Suffert F et Montfort F (2007) Demonstration of secondary infection by *Pythium violae* in epidemics of carrot cavity spot using root transplantation as method of soil infestation. *Plant Pathology*, 56(4): 588-594.

Suffert F et Lucas JM (2008) Lateral roots of carrot have a low impact on alloinfections involved in a cavity spot epidemic caused by *Pythium violae*. *Journal of General Plant Pathology*, 74: 296-301.

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 culturaux sur ces processus.

Demonstration of secondary infection by *Pythium violae* in epidemics of carrot cavity spot using root transplantation as a method of soil infestation

F. Suffert*† and F. Montfort

INRA, Agrocampus Rennes, UMR1099 BiO3P (Biologie des Organismes et des Populations appliquée à la Protection des Plantes), Domaine de la Motte, BP 35327, F-35653 Le Rheu, France

Cavity spot of carrot (CCS), one of the most important soilborne diseases of this crop worldwide, is characterized by small sunken elliptical lesions on the taproot caused by a complex of pathogens belonging to the genus *Pythium*, notably *P. violae*. In most soilborne diseases the soil is the source of inoculum for primary infections, with diseased plants then providing inoculum for secondary infections (both auto- and alloinfection). Using fragments of CCS lesions to infest soil, it was demonstrated that CCS lesions on carrot residues can cause primary infection of healthy roots. Using a novel soil infestation method, in which an artificially infected carrot root (the donor plant) was placed close to healthy roots (receptor plants) the formation of typical CCS lesions were induced more efficiently than the use of classical soil inoculum and showed that CCS can spread from root to root by alloinfection from transplanted diseased roots. The method also demonstrated the polycyclic nature of a CCS epidemic caused by *P. violae* in controlled conditions. Secondary infections caused symptoms and reduced root weight as early as two weeks after transplantation of the diseased carrot. This reproducible method may be used for delayed inoculation and for studying the effect of cropping factors and the efficacy of treatments against primary and secondary cavity spot infections.

Keywords: alloinfection, carrot cavity spot, *Daucus carota*, epidemiology, *Pythium* spp, soilborne pathogen

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 soilborne disease is characterized by small sunken elliptical lesions on the taproot caused by a complex of pathogens belonging to the genus *Pythium*. In France, cavity spot is mostly caused by *P. violae* (Montfort & Rouxel, 1988).

Soilborne plant pathogens are transmitted by various biological and physical mechanisms, including mycelial 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 soilborne diseases have two epidemiological phases – a monocyclic 'simple interest' phase (single infection cycle) and a polycyclic 'compound interest' phase (sequence of at least two infection cycles within a growing season) (Zadoks & Schein, 1979). For these diseases, soil inoculum (spores, sclerotia, mycelium) is responsible for the primary infections (the monocyclic phase). Diseased plants then provide inoculum for secondary infections mediated by direct root-to-root contact or mycelial growth in soil (the polycyclic phase).

Secondary infection cycles have been demonstrated and quantified for some soilborne fungal diseases: white rot due to *Sclerotium cepivorum* in onion and garlic (Scott, 1956a,b; 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* attacking roots of cotton (Koch *et al*., 1987).

Differentiation between primary and secondary infection cycles has also been modelled. The model produced for take-all of wheat was based on epidemiological data and depended on two parameters reflecting the importance of the primary and secondary infection cycles (Colbach *et al*., 1997). Bailey & Gilligan (1999) suggested

*E-mail: fsuffert@grignon.inra.fr

†Present address: INRA/INA P-G, UMR 1290 BIOGER, Epidémiologie Végétale, BPOI-78850 Thiverval-Grignon, France.

Accepted 30 October 2006

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 causes secondary autoinfection (infection from lesions on the same root) or alloinfection (root-to-root contamination). 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).

A theoretical distinction should be made between auto- and alloinfection in the development of epidemiological models (Zadoks & Schein, 1979), but few experiments have provided formal proof of the existence of these two phases and empirical evidence for the plant-to-plant spread of the diseases. 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.

Suffert (2006) recently suggested that CCS might resemble other soilborne plant pathogens in displaying primary infection and secondary infection (autoinfection and alloinfection). Some carrot roots have many lesions whereas others have few or none (Guba *et al*., 1961). Increases in CCS incidence *i*, density of lesions *d*, and total disease area *tda* over time, and the nature of the clustering of 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 $i = b \cdot (1 - \exp(a(t) \cdot tda))$, it was shown that a(t) varied over time t, reflecting a balance between epidemiological phases: soil inoculum mobilization 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, resulting in alloinfection (Suffert, 2006).

The objective of the present study was to demonstrate the occurrence of secondary infection in CCS caused by *P. violae*. The first step was to show that CCS lesions on carrot residues were potentially infectious for healthy roots. The second step was to show that CCS can spread from root to root, by the transplantation of a diseased root within a healthy carrot population.

Materials and methods

Infection experiments

A series of experiments conducted in controlled conditions was carried out to demonstrate and compare three infectious processes in soil: i) method A – primary infection via soil inoculum to healthy root, using a classical mixed inoculum of mycelium and oospores of *P. violae* cultured *in vitro* in dishes, ii) method B – primary infection via infected carrot residues to healthy root, using fragments of carrot roots with CCS lesions induced by *P. violae* in a natural field epidemic, and iii) method C – secondary infection via diseased root to healthy root, achieved by the transplantation of a diseased root artificially inoculated with *P. violae* into the soil. Adapting the terminology of Huang & Hoes (1980), the infectious carrot root transplanted into 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). The donor root exhibited CCS lesions following artificial inoculation with *P. violae* and was still living and physiologically active.

Inoculum, plants and disease assessment

An isolate of *P. violae* Pv490 (CBS 102·609), obtained in 1994 from CCS-affected carrots symptoms in a carrot field in Normandy, France, was used as inoculum for each infestation method. The specific protocols of infestation are explained below. Statistical analyses were carried out using the SAS statistical package, version 8·1 (SAS, 2000). Treatment effects (inoculum doses) were compared using the ANOVA procedure.

Each microcosm for the three experiments consisted of a circular 4 L pot (17·5 cm diameter, 21·8 cm high) containing a steam sterilized reconstituted soil (50% sand, 25% compost, 25% organic soil). Seven carrot seeds (cv. Nanco) were sown in each pot. Pots were placed in controlled environment conditions favouring carrot growth and compatible with the temperature requirements of *P. violae* (14 h daylight at 20°C and 8 h darkness at 12°C). They were watered as needed to adjust soil moisture to the water holding capacity of the pot.

CCS symptoms were assessed by measuring disease incidence *i* (proportion of diseased roots per pot), lesion density *d* (mean number of lesions per root), symptom intensity *si* (mean diameter of lesions per root) and total disease area *tda* (total necrotic area on the root surface), as described by Suffert (2006). Mean root weight was also noted to estimate the impact of the disease on root growth.

Method A – primary infection via soil inoculum to healthy root

The soil inoculum consisted of *P. violae* mycelium and oospores produced on carrot juice agar (CJA) (20 g agar, 200 mL centrifuged carrot juice (Nature Bio, CORA©), made up to 1 L with distilled water) autoclaved for 30 min at 115°C. A mycelial plug was cut from the margin of a 7-day-old culture of *P. violae* growing at 20°C on carrot juice agar and was transferred to the centre of freshly prepared medium in a standard Petri dish (17 mL medium per dish), and was incubated for 7 days in the dark at 20°C. The experiment was set up as a factorial randomized block design with three blocks (three pots)

and four inoculum levels (4·25, 8·5, 17, 34 mL of *P. violae*-colonized CJA per pot, and a non-incubated control). Just before sowing, the contents of each dish were fragmented into small pieces (each about 50 mm^2) and homogenised with soil. In each pot, 13 cm of non-infested soil was covered with 5 cm of infested soil; 2 cm of noninfested soil was added to cover the surface. Carrot roots were harvested, washed and symptoms assessed 16 weeks after sowing.

Method B – primary infection via infected carrot residues to healthy root

The soil was artificially infested with infected carrot residues from a natural CCS epidemic, due mainly to *P. violae*. Typical lesions on 5-month-old carrots were cut to generate small fragments of necrotic tissue, 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 set up as a factorial randomized block design with three blocks (three pots) and four inoculum levels (0·35, 1·75, 3·5, 7 g of CCS-affected carrot root fragments per pot). Each of these inocula were estimated to provide 30 ± 10, 150 ± 50, 300 ± 100 and 600 ± 200 mm^2 *tda* per pot. Healthy carrot root tissue was added at 3·15 g per pot as a control treatment. Carrot roots were harvested, washed and symptoms scored 12 weeks after sowing.

Method C – secondary infection via diseased whole root to healthy root

Using the same experimental design as above, a PVC tube (32 mm diameter, 230 mm long) was introduced into the centre of each pot at the start of the experiment in place of the seventh carrot seed, as illustrated in Fig. 1. Twelve weeks after sowing, the tube was replaced by a thickened carrot root (cv. Nanco) with CCS lesions (the donor plant). These CCS-affected donor plants were produced by first washing fresh carrots in 0·3% bleach for one minute and then rinsed three times with sterile water. The epidermis of the roots was scarified at a defined location (1–2 cm^2) with abrasive tissue. Four intensities of inoculation were used with infection locations chosen to give a distribution as evenly as possible over the main part of the root. A 5 mm diameter mycelial plug was cut from a 7-day-old culture of *P. violae* grown at 20°C on CJA, and placed with mycelium against the scarified epidermis of the carrot and held in place with a sterilized pin. Inoculated carrot roots were then placed in a box (four carrots per box), which was hermetically sealed to create high humidity conditions. After 48 h incubation, the agar plugs 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 and the progression of *tda* on the donor plants in soil.

The experiment was set up as a factorial randomized block design with three blocks (three pots) and four inoculum levels with either 2, 4, 6 or 8 CCS lesions per donor root.

The total disease area of the donor carrots inoculated to deliver secondary infection via diseased root to healthy carrot root was assessed prior to transplantation (Fig. 2). The diameter of lesions on donor roots increased little from 48 hours to 96 hours after inoculation (*c.* + 15%) with the maximum *tda* recorded of 140 mm^2. Therefore the *tda* value was estimated on donor roots as 280, 560, 1120 and 1680 mm^2 for 2, 4, 8 and 12 lesions, respectively.

Infectious carrot roots (donor plants) were removed three weeks after transplantation and the resulting hole was filled with sterile reconstituted soil. One week later, the receptor plants were harvested and washed and

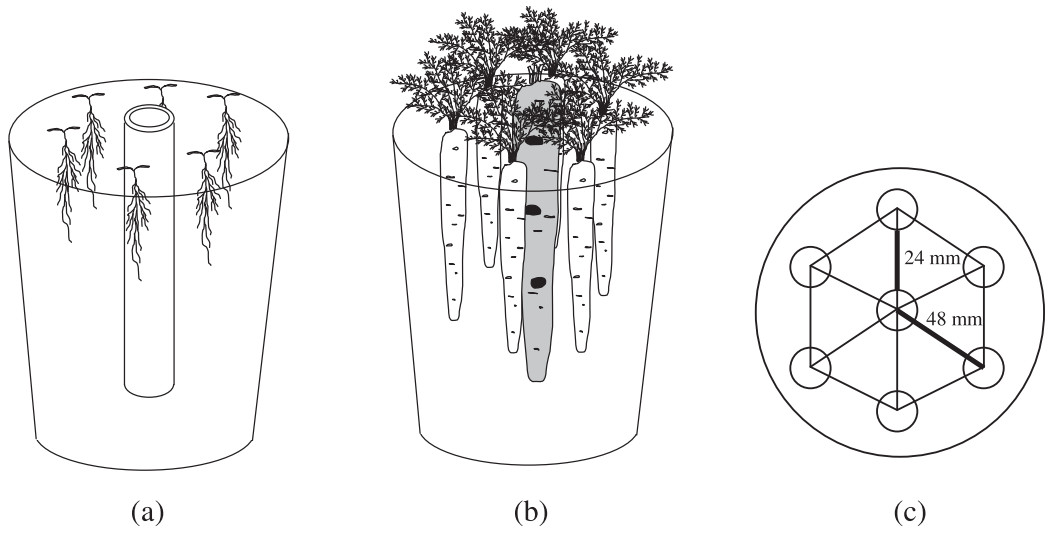


Figure 1 Microcosm design consisting of six receptor carrot plants, (a) before and (b, c) after transplantation of the donor root (method C).

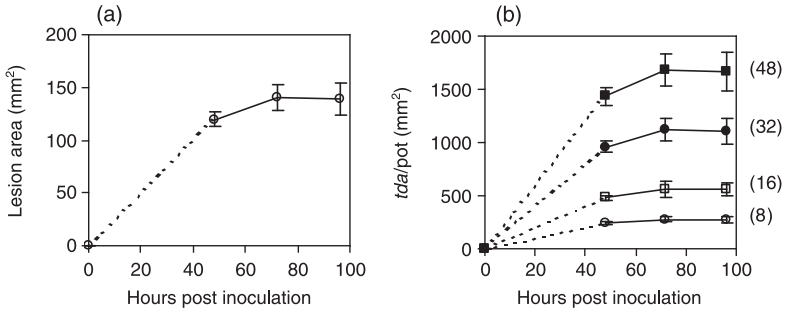


Figure 2 Total disease area *tda* of cavity spot of carrot on the donor roots after inoculation in controlled conditions to provide secondary infection from diseased to healthy carrot roots: a) Mean lesion area on a donor root, b) *tda* on each donor root as a function of dose: ○ two lesions per root, □ four lesions per root, ● eight lesions per root, ■ 12 lesions per root. Numbers in parenthesis indicate number of lesions measured to estimate the mean *tda*.

symptoms scored. Disease assessment therefore took place four weeks after transplantation and 16 weeks after initial sowing.

Results

Effect of different soil infestation methods on CCS

Disease incidence *i* on receptor plants was similar for infestation methods A and C, ranging from 80% to 100% for all doses of both treatments, with no significant dose-dependent effect ($P < 0{\cdot}05$) (Fig. 3). The density of lesions *d* was highest for root-to-root infections: more than 10 lesions per root for method C, from 4 to 8 lesions per root for method A whereas only three or less lesions per root were observed for method B. The highest density of lesions was produced by root to root transfer of inoculum irrespective of inoculum potential with more than 170 mm^2 *tda* per root observed with method C. By comparison 40–80 mm^2 *tda* were recorded for method A, and less than 30 mm^2 for method B. Symptom intensity (*si*) was similar for the three methods (mean lesion diameter ranged from 2 to 4 mm), regardless of the amount of inoculum or number of lesions on the donor plant.

In general, donor plants (method C) induced higher levels of CCS in receptor plants compared to inoculum from infected root fragments (method B). This might have been due to differences in the age and nature of the inoculum used in methods B and C. The total disease area on donor plants following transplantation (method C) did not influence the *tda* (165 to 185 mm^2) recorded on receptor plants ($P < 0{\cdot}05$). Lesions were evenly distributed on receptor plants, and were no more frequent on the side closest to the donor plant and the homogeneity of disease measurements was similar to that for the classical soil infestation method (method A).

Effect of the three soil infestation methods on root weight

Carrot root weight decreased significantly for receptor plants with an increasing amount of inoculum provided by the donor CCS-affected carrot (method C) (Fig. 4). Increasing the inoculum potential to 12 lesions on the donor root led to a significant decrease in root weight of receptor carrots of *c*. 30%. Root weight of receptor carrots in infested soil (method B) was significantly lower than the control in all treatments ($P < 0{\cdot}05$) and increasing the amount of inoculum had no effect on root weight. Soil infestation with mycelium and oospores of *P. violae* (method A) induced the most variable effects. Secondary infection by method C affected receptor-root growth, but later than in the other two treatments.

Discussion

Natural infections from CCS lesions were observed on living carrot roots (simulation of alloinfection *sensu stricto*). Root-to-root infection by *P. violae* provided experimental evidence of the polycyclic nature of cavity spot development in carrots. In addition, diseased carrot residues could also infect healthy carrot tap roots indicating that CCS epidemics also may be polyetic (disease progression over at least two cropping seasons).

Differences in inoculum potential of the donor plants did not affect the total disease area following transplantation probably because the distance between donor and receptor plants (24 mm), and the duration of exposure to the donor plant in soil (3 weeks), were generated for a high disease pressure. Cavity spot of carrot can be caused by more than one species of *Pythium*. Fast-growing species, such as *P. ultimum*, cause water soaked lesions due to the maceration of superficial tissues (Campion *et al*., 1997, 1998) whereas *P. violae* and *P. sulcatum* caused limited root necrosis with the integrity of the diseased tissues conserved due to a lack of host degradation at a distance from hyphae (Groom & Perry, 1985). These previous results suggested that *P. violae* lesions rapidly ceased to be infectious, thus conflicting with the results presented here which showed that CCS lesions caused by *P. violae* were indeed infectious and that the mycelium in the outer root cells was able to grow out of the carrot root tissues. It was also evident that root-to-root infection 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. Although soil infestation with

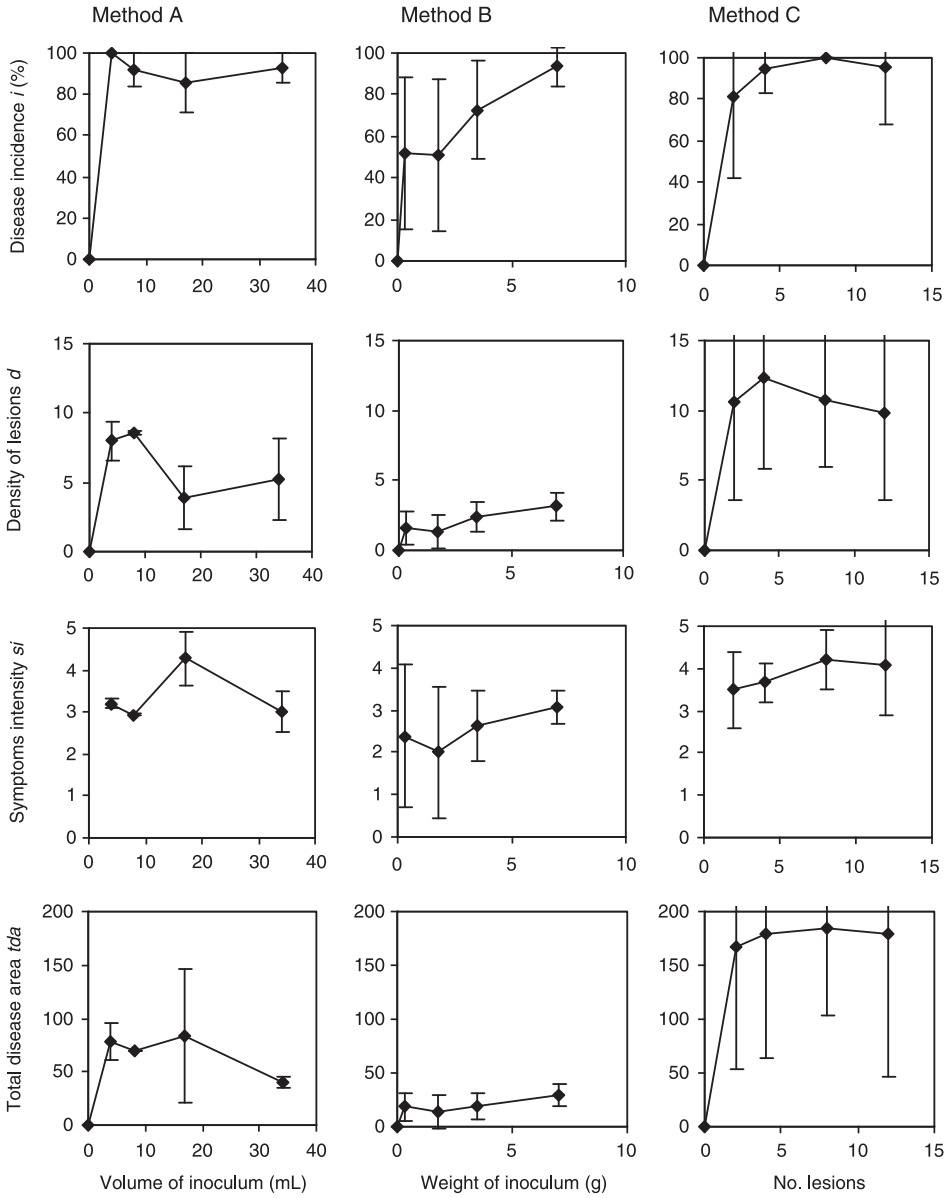


Figure 3 Carrot cavity spot assessment on receptor plants (disease incidence *i*, lesion density *d*, symptom intensity *si*, total disease area *tda*) as a function of the dose of three methods of inoculation. Method A: primary infection via *in vitro* produced inoculum of *Pythium violae* added to soil. Method B: primary infection via infected carrot residues added to soil (weight of infected carrot root fragments per pot). Method C: secondary infection via diseased whole root to healthy carrot root induced by lesions on a living donor root.

colonized carrot juice agar is commonly used for many soilborne pathogens, its reproducibility for direct infection of carrot is low due to the fragility of the inocula (D. Breton, SILEBAN-INRA, personal communication). It can, however, be used to simulate primary infection, although it is difficult to estimate accurately the number of infectious units (oospores, zoospores and mycelial fragments). In contrast the transplantation of a donor plant root is a novel and reproducible method of localized soil infestation for delayed inoculation.

Because the carrot is a biennial plant, donor plants produced large numbers of new radicles (adventitious roots) 2 weeks after transplantation and the leaves re-grew. The transplanted carrot root (method C) was thus living whereas infected carrot residues may be considered to be non-living. Nonetheless, fresh lesions were clearly infectious for adjacent healthy carrot roots indicating that CCS-infected fragments permit survival of *P. violae* among crop residues and therefore a source of inoculum in short rotation carrot cropping.

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.

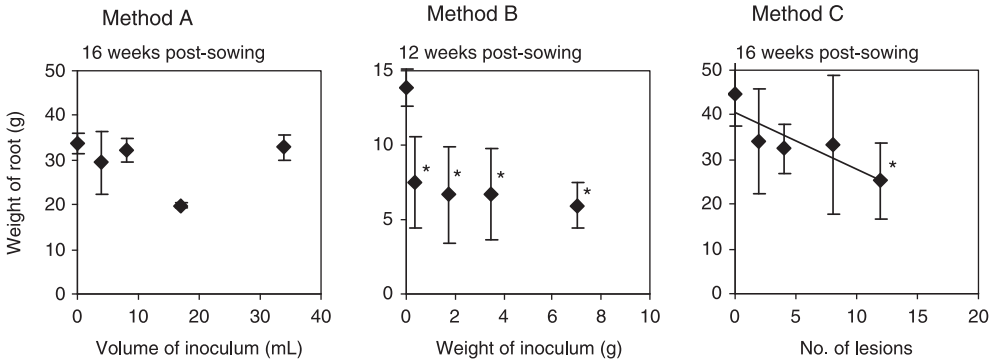


Figure 4 Dose-effect of three forms of *Pythium violae* inoculum on the fresh weight of carrot roots. Method A: primary infection via *in vitro* produced inoculum added to soil. Method B: primary infection via infected carrot residues added to soil (weight of infected carrot root fragments per pot). Method C: secondary infection via diseased whole root to healthy carrot root induced by lesions on a living donor root (*indicates root weight at the dose indicated is significantly different ($P < 0{\cdot}05$) from the control).

Crowe & Hall (1980) showed that *Sclerotium cepivorum* infections more than 2 cm below the stem plate of white rot affected 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 colonization and infecting 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 tomato roots seemed to be essential for movement of the fusarium crown rot and root rot pathogen in soil, and therefore 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 cylinder and possible infections of radicles on the same plant via the taproot were initially ignored (Suffert, 2006). 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 carrot tap root transplantation (method C) 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 can be investigated, using a nylon mesh as a barrier to root spread (Crowe & Hall, 1980; Rekah *et al.*, 1999; Suffert, 2006) in order to differentiate infections due to mycelium and those occurring from root-to-root contact.

Active growth or dispersal of the fungus in the soil is the most probable explanation for the secondary infections observed. Such growth may result 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), but zoospore dispersal may be involved in secondary infections by other *Pythium* species responsible for CCS (Martin & Loper, 1999).

Soilborne infections may arise from two sources: the initial soil inoculum or the active transmission of the pathogen between plant tissues. Several studies on soilborne 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 a 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 (Stack, 1980; Pfender, 1982). The present biological demonstration of the occurrence of secondary infection and the method for reproducing alloinfection could form the basis of an epidemiological model for CCS, based, in particular, on equations developed by Brassett & Gilligan (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 soilborne 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 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 curative measures such as applications of fungicide or manipulating harvest date to limit secondary infections.

Acknowledgements

We would like to thank P. Lucas (INRA) for helpful discussions during the writing of this paper, and M. Prunier, M. Guibert, JM. Lucas, M. Leray, and J. Beuzelin for technical assistance. Financial support was provided by grants from INRA, including grants for the ICP project (Integrated Crop Protection).

References

Bailey DJ, Gilligan CA, 1999. Dynamics of primary and secondary infection in take-all epidemics. *Phytopathology* **89**, 84–91.

Brassett PR, Gilligan CA, 1988. A model for primary and secondary infection in botanical epidemics. *Zeitschrift für Planzenkrankenheit und Pflanzenschutz* **95**, 352–60.

Campion C, Massiot P, 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**, 725–35.

Campion C, Vian B, Nicole M, 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**, 221–30.

Colbach N, Lucas P, Meynard JM, 1997. Influence of crop management on take-all development and disease cycles on winter wheat. *Phytopathology* **87**, 26–32.

Crowe FJ, Hall DH, 1980. Vertical distribution of sclerotia of *Sclerotium cepivorum* and host root systems relative to white rot of onion and garlic. *Phytopathology* **70**, 70–3.

Groom MR, Perry DA, 1985. Induction of 'cavity spot like' lesions in roots of *Daucus carota* by *Pythium violae*. *Transactions of the British Mycological Society* **84**, 755–8.

Guba EF, Young RE, Ui T, 1961. Cavity spot disease of carrots and parsnip roots. *Plant Disease Reporter* **45**, 102–5.

Hiltunen LH, White JG, 2002. Cavity spot of carrot (*Daucus carota*). *Annals of Applied Biology* **141**, 201–23.

Huang HC, Hoes JA, 1980. Importance of plant spacing and sclerotial position to development of sclerotinia wilt of sunflower. *Plant Disease* **64**, 81–4.

Koch DO, Jeger MJ, Gerik TJ, Kenerley CM, 1987. Effects of plant density on progress of phymatotrichum root rot in cotton. *Phytopathology* **77**, 1657–62.

Large EC, 1966. Measuring plant disease. *Annual Review of Phytopathology* **4**, 9–28.

Martin FN, Loper JE, 1999. Soilborne plant diseases caused by *Pythium* spp.: ecology, epidemiology, and prospects for biological control. *Critical Reviews in Plant Sciences* **18**, 111–81.

McRoberts N, Hughes G, 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, Rouxel F, 1988. La maladie de la tache de la carotte due à *Pythium violae*: données symptomatologiques et étiologiques. *Agronomie* **8**, 701–6.

Otten W, Filipe JAN, Bailey DJ, Gilligan CA, 2003. Quantification and analysis of transmission rates for soilborne epidemics. *Ecology* **84**, 3232–9.

Perry DA, Harrison JG, 1979. Cavity spot of carrots. I. Symptomatology and calcium involvement. *Annals of Applied Biology* **93**, 101–8.

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**, 31–2.

Pfender WF, Hagedorn DJ, 1983. Disease progress and yield loss in *Aphanomyces* root rot of peas. *Phytopathology* **73**, 110–3.

Phelps K, White JG, Henn AJ, 1991. Studies on the frequency distribution of *Pythium*-induced cavity spot of carrots. *Annals of Applied Biology* **119**, 21–30.

Rekah Y, Shtienberg D, Katan J, 1999. Spatial distribution and temporal development of fusarium crown and root rot of tomato and pathogen dissemination in field soil. *Phytopathology* **89**, 831–9.

Rekah Y, Shtienberg D, 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**, 367–75.

SAS, 2000. *Statistical Analysis System, SAS/STAT User's Guide*, *Version 8·1*. Cary, NC, USA: SAS Institute Inc.

Scott MR, 1956a. Studies of the biology of *Sclerotium cepivorum* Berk. I. Growth of the mycelium in soil. *Annals of Applied Biology* **44**, 576–83.

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**, 584–9.

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**, 1090–3.

Stack RW, 1980. Disease progression in common root rot of spring wheat and barley. *Canadian Journal of Plant Pathology* **2**, 187–93.

Suffert F, 2006. *Epidémiologie du Cavity Spot de la Carotte. Perspectives d'Application en Protection Intégrée*. Rennes, France: Agrocampus Rennes, PhD thesis.

Van der Plaats-Niterink AJ, 1981. Monograph of the genus *Pythium*. *Studies in Mycology* **21**, 1–242. Baarn, the Netherlands: Centraalbureau voor Schimmelcultures.

Webb CR, Gilligan CA, Asher MJC, 1999. A model for the temporal buildup of *Polymyxa betae*. *Phytopathology* **89**, 30–8.

Zadoks JC, Schein RD, 1979. *Epidemiology and Plant Disease Management*. Oxford, UK: Oxford University Press.

Lateral roots of carrot have a low impact on alloinfections in cavity spot epidemic caused by *Pythium violae*

F. Suffert · J.-M. Lucas

Received: 13 November 2007 / Accepted: 3 April 2008 / Published online: 19 June 2008
© The Phytopathological Society of Japan and Springer 2008

Abstract Carrot cavity spot, caused by a complex of *Pythium* species, is characterized by sunken elliptical lesions on the taproot. Recent epidemiological studies of *P. violae* have demonstrated the occurrence of both primary and secondary infections, with two types of secondary infection, autoinfection and alloinfection. Investigating the mechanisms underlying alloinfection and the role of carrot lateral roots, we asked whether direct physical root contact plays a role in alloinfection and whether root exudates enhance mycelial growth in soil alone. A rhizobox system was designed to differentiate the effects of each mechanism: a buffer zone created by nylon mesh was used to test the first mechanism, and young carrots with a root system similar to lateral roots were used to test the second. Alloinfections were generated in rhizoboxes via diseased taproots transplanted close to healthy, mature carrots. The nylon mesh had no significant effect on disease intensity (reflecting alloinfection), providing evidence that mycelial growth in soil contributed more to disease spread than did physical contact among roots. Nor did young carrots significantly affect alloinfection; thus root exudates had little effect on mycelial growth.

Keywords Alloinfections · Carrot cavity spot · *Pythium violae* · Rhizobox system · Root-to-root contamination · Soilborne pathogen

F. Suffert (✉) · J.-M. Lucas
INRA, UMR1099 BiO3P (Biologie des Organismes et des Populations appliquée à la Protection des Plantes), 35653 Le Rheu, France
e-mail: fsuffert@grignon.inra.fr

F. Suffert · J.-M. Lucas
Agrocampus Rennes, UMR1099 BiO3P, 35653 Le Rheu, France

F. Suffert
INRA, UMR1290 BIOGER-CPP (Biologie et Gestion des Risques en Agriculture-Champignons Pathogènes des Plantes), 78850 Thiverval-Grignon, France

F. Suffert
AgroParisTech, UMR1290 BIOGER-CPP, 78850 Thiverval-Grignon, France

Introduction

Carrot cavity spot (CCS), characterized by sunken elliptical lesions on the taproot, is one of the most damaging diseases caused by a soilborne pathogen that affects carrot (*Daucus carota*) (Hiltunen and White 2002). CCS is caused by a complex of *Pythium* sp., predominantly *P. violae* and *P. sulcatum* in France (Guerin et al. 1994) and *P. sulcatum* in Japan (Nagai et al. 1986; Watanabe et al. 1986).

Soilborne plant pathogens are transmitted to the plant host by various means, including mycelial growth, organic debris in soil, infected host plants, spore dispersion in soil water, and the root growth that brings infected and healthy roots into direct physical contact. Inoculum in the soil is responsible for primary infections. The pathogen then produces secondary inoculum, which spreads from primary foci to neighbouring plants, in a process that is called alloinfection. Such alloinfections have been described for some soilborne pathogens, such as *Sclerotium cepivorum* causing white rot of onion and garlic (Scott 1956), *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* causing fusarium crown and root rot of tomato (Rekah et al. 1999), and *Pythium irregulare* (Burdon and Chilvers 1975) and *P. ultimum* var. *ultimum* (Green and Jensen 2000) causing cress and cucumber damping off, respectively.

Although CCS was suggested to resemble other soilborne pathogens with regard to secondary infections (Phelps et al. 1991) nearly two decades ago, alloinfections by *P. violae* have only recently been investigated (Suffert 2006). Three complementary methods were used. The first approach was a deductive one to look at the decrease over time of a time-dependent parameter involved in the relation between incidence and severity (Suffert and Montfort 2008). On the basis of the results, CCS epidemics seemed to be driven successively by (1) the mobilisation of soil inoculum, leading to primary infection; (2) the spread of disease to neighbouring taproots (alloinfection); and (3) the intensification of disease in the taproot (autoinfection). The second approach was a modeling one to describe CCS epidemics in a field experiment after the soil was artificially infested with *P. violae*. Three mathematical models that support the hypothesis of both primary and secondary infections (the logistic model, the bilogistic model of Hau et al. (1993), and the model of Brassett and Gilligan (1988)) were correctly fitted to the disease incidence progress curves (Suffert 2007). For the third approach, a purely experimental approach, diseased carrot taproots were transplanted close to healthy roots in a greenhouse environment. *P. violae* spread from taproot to taproot, firmly establishing the occurrence of alloinfection and the polycyclic nature of a CCS epidemic (Suffert and Montfort 2007).

Although some *Pythium* species rarely produce zoospores (Van der Plaats-Niterink 1981), they spread from primary foci to adjacent plants. Alloinfections by *Pythium* may be caused by active mycelial growth through the soil from CCS lesions. Zoospores may be involved in root-to-root contaminations but are not crucial.

Until now, CCS has been defined only on the basis of symptoms on the taproot; however, infection of lateral roots cannot be totally excluded. Lateral roots, as defined by Harvis (1939), may be involved in another mechanism for disease spread if there is direct physical contact between lateral roots and adjacent taproots. Some soilborne pathogens, such as *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici* (Gilligan 1980; Holden 1976) and *Rhizoctonia* sp. (Hofman and Jongebloed 1988), colonize the surface of their host roots with superficial, long, unbranched hyphae, called runner hyphae, and spread from plant to plant. While runner hyphae have never been observed in *Pythium* sp., intermingling lateral roots of carrot may be regarded as an ideal medium for mycelial growth and an efficient route for inoculum dispersal.

Another mechanism may involve biochemical effects of root exudates. Root exudates in moist soil stimulate the sporangial germination and the mycelial growth of *Pythium* sp. (Huisman 1982; Schroth and Hildebrand 1964). Similarly, exudates from carrot lateral roots might enhance mycelial growth of *P. violae* through a rhizosphere effect.

Few papers have addressed the importance of active mycelial growth in root-to-root contamination; more precisely, we lack knowledge about the dynamics of CCS. In this context, we designed a rhizobox system to investigate the mechanisms involved in potential alloinfection via diseased lateral roots of carrot and to look specifically for a link between direct physical contact among roots and alloinfection. We also asked whether root exudates alone enhance mycelial growth in the soil.

Materials and methods

Daucus carota (cv. Nanco, Vilmorin & Cie, Paris, France) grown in a steam-sterilised soil mixture (50% sand, 25% compost, and 25% organic soil) was used. *P. violae* (strain Pv490, CBS 102.609, Baarn, The Netherlands) was grown at 20°C on carrot juice agar.

Following Green and Jensen (2000) and Rekah et al. (1999), using Petri dishes and a water agar medium, we verified that a 200-µm nylon mesh does not prevent the spread of mycelium of *P. violae*. Then, rectangular rhizoboxes were divided into two identical compartments (the donor and the receptor compartments) using that nylon mesh, which created a 30-mm wide central buffer zone designed to prevent contact between the carrot root systems without preventing movement of *Pythium* through the nylon mesh (Fig. 1a). Four polyvinyl chloride (PVC) tubes were placed in the donor compartment in a row 30 mm from the central buffer zone (the distance between the centre of the PVC tube and the nearest nylon mesh) (Fig. 1b). The two compartments and the buffer zone were filled with the soil mixture.

Experiments were done in a greenhouse maintained between 17 and 27°C, compatible with growth of both *D. carota* and *P. violae* (Suffert and Guibert 2007). Eleven carrots (the receptor plants) were sown in the receptor compartment, in two staggered rows 30 mm (first row) and 50 mm (second row) from the nearest nylon mesh. Fresh store-bought Nanco carrots were used as donor taproots. They were wounded at two spots (each 1–2 cm^2) with abrasive tissue, and a mycelial plug (5 mm in diameter), extracted from a 7-day-old *P. violae* culture, was placed on each wound (Suffert and Montfort 2007). Plugs were held in place with sterile pins. Inoculated taproots were incubated for 48 h in hermetically sealed plastic boxes. The agar plugs were then removed. Alloinfections by *P. violae* were generated in rhizoboxes by replacing the PVC tubes with these donor roots 12 weeks after the sowing of the receptor plants.



Fig. 1 Rhizobox apparatus and treatment setup to study the effect of lateral roots on alloinfections by *Pythium violae*. **a–b** Dimensions and composition of rhizobox. $w = 250$ mm, $l = 360$ mm, $h = 320$ mm. Material: 26-L polypropylene container; 200-µm nylon mesh; 32-mm diameter polyvinyl chloride (PVC) tube; 6-mm thick PVC strip; 5-mm diameter inox screw and wing bolt. **c–f** Infected carrots were transplanted into rows in the rhizobox at one of two distances from carrots later sown from seed. Distances: $i = 30$ mm, $j = 90$ mm (first row of receptor taproots) or $j = 110$ mm (second row of receptor taproots). Treatments: **c** N−/R−. **d** N−/R+. **e** N+/R−. **f** N+/R+ (*N*+ with nylon mesh, *N*− no nylon mesh, *R*+ with added roots, *R*− no added roots)

Sixty carrots were sown in the central buffer zone in treatments N+/R+ and N−/R+ (see below) 3 days after the transplantation of the donor taproots, so that the young roots provided a root system similar to lateral roots and as a way to enhance root exudates and any potential effect on mycelial growth. The leaves were cut 1 cm above the soil surface 18 days after. The receptor taproots were harvested 2 weeks later, i.e., 5 weeks after the transplantation of the donor taproots because in prior experiments several alloinfections occurred within 4 weeks after transplantation (Suffert and Montfort 2007).

The experiment had a two-factor, completely randomized factorial design (N and R) with eight replications, i.e., a total of 32 rhizoboxes. The treatments were (1) rhizoboxes without nylon mesh or added roots (N−/R−) (Fig. 1c), (2) rhizoboxes without nylon mesh and with added roots (N−/R+) (Figs. 1d and 2), (3) rhizoboxes with nylon mesh and without added roots (N+/R−) (Fig. 1e), and (4) rhizoboxes with nylon mesh and with added roots (N+/R+) (Fig. 1f). In treatment N−/R−, the mycelium of *P. violae* could grow from CCS lesions on donor taproots to receptor taproots, and the lateral roots of the donor and the receptor root systems could contact each other as in the field. In treatment N−/R+, mycelial growth was potentially enhanced by exudation from the presence of added roots. In treatment N+/R−, the mycelium of *P. violae* could grow from lesions on the donor taproots to the receptor taproots through the nylon mesh; however, the amount of contact between lateral roots of the donor and of the receptor root systems was greatly reduced, and the root exudation in the central buffer zone was also reduced (not formally estimated). In treatment N+/R+, the mycelium of *P. violae* could grow through the nylon mesh; however, contact between lateral roots of the donor and of the receptor root systems was greatly reduced, and mycelial growth was potentially enhanced by exudation from the presence of additional roots.

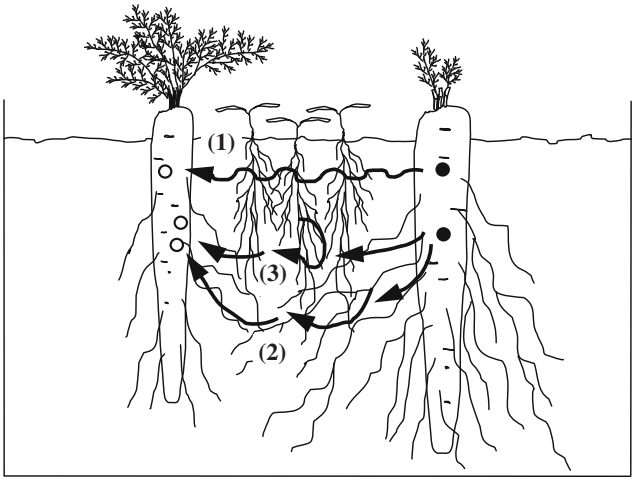


Fig. 2 Diagram of processes involved in alloinfections by *Pythium violae* and potentially occurring in the treatment N−/R+. (1) Active mycelial growth in the soil alone. (2) Infections enhanced by direct physical contact between lateral roots of donor and receptor root systems. (3) Mycelial growth enhanced by exudation from added roots. Black circles represent CCS lesions on the donor taproot and *white circles* represent CCS lesions on the receptor taproot

CCS lesions were scored using standardised measurements defined by Suffert and Montfort (2008): i is the disease incidence, tda is the total diseased area, d is the lesion density, and si is the symptom intensity. Statistical analyses were carried out using the SAS statistical package, version 8.1 (SAS Institute 2000). Treatment effects were tested on the average CCS measurements (i, tda, d, and si) of the 11 receptor taproots in the first and second rows in each rhizobox using ANOVA (SAS PROC GLM) including main effects (N and R) and interactions (N × R) for the two-factorial model (F-test, $P < 0.05$):

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + (\alpha\beta)_{ij} + \varepsilon_{ijk},$$

where Y is a CCS measurement (i, tda, d, or si), i = N−, N+ and j = R−, R+ are the levels of factors N and R, and $1 < k < n/2$ (with $n = 16$) denotes replications per factor level combination.

Results

Alloinfections from donor to receptor taproots occurred in the rhizoboxes in the absence ($Y_{N-} > 0$) and the presence of the nylon mesh ($Y_{N+} > 0$), and the null hypothesis H_0: $Y_{N+} = Y_{N-}$ was not rejected. This confirmed that mycelium of *Pythium* could grow through the nylon mesh in soil.

Extremely few (0–8) fragments of lateral roots were found in the buffer zone in treatments N+/R+ and N+/R−. The central buffer zone prevented the growth and the intermingling of lateral roots from one compartment to the other. The differences in disease incidence i and symptom intensity si between treatments N+ and N− in the absence (R−) and presence of additional roots (R+) were not statistically significant (F-test, $P < 0.05$) (Table 1; Fig. 3). The differences in the occurrence of alloinfection between treatments N+ and N− for lesion density d and for total diseased area tda were higher, but also not statistically significant (F-test, $P < 0.05$), implying that root-to-root contact did not increase the contamination between donor and receptor root systems. Thus, the spread of *P. violae* through the soil may be the predominant mode of spatial spread of CCS.

Alloinfections from donor to receptor taproots occurred in the rhizoboxes in the absence ($Y_{R-} > 0$) and in the presence of added roots ($Y_{R+} > 0$), and the null hypothesis H_0: $Y_{R+} = Y_{R-}$ was not rejected. The added roots in treatment R+ had little impact on the spread of CCS from donor to receptor plants, especially for i and si (Fig. 3). Only low, nonsignificant differences between treatments R+ and R− were observed for d and tda (F-test, $P < 0.05$). Despite high standard errors for i and tolerable ones for d and si, this treatment established that root exudation potentially involved in root-to-root contamination is negligible in sterilized sandy soil.

Discussion

The two-compartment rhizobox system used in the present study confined carrot lateral roots to their respective compartment and thus prevented the carrot root system of each compartment from intermingling.

Although differences in the lesion density d between treatments N+ and N− were observed ($d = 2.3$ in N+/R+ compared to 4.3 in N−/R+, $d = 1.5$ in N+/R− compared to 3.5 in N−/R−), they were not statistically significant, and the hypothesis $Y_{N+} = Y_{N-}$ was not rejected: root-to-root contamination was not a major mechanism of the alloinfection. The hypothesis $Y_{R+} = Y_{R-}$ was not rejected

Table 1 Results of ANOVA to test the effects of each factor (N, R) and interaction (N × R) on the occurrence of alloinfections by *Pythium violae*

Variable	*i*		*d*		si		tda	
	F-ratio	*P*	*F*-ratio	*P*	*F*-ratio	*P*	*F*-ratio	*P*
N	1.07	0.310	3.10	0.089	0.77	0.389	2.48	0.126
R	0.12	0.729	0.53	0.474	0.13	0.723	0.36	0.555
N × R	0.04	0.844	0.01	0.978	0.96	0.335	0.03	0.876

The *F*-ratios measure the contribution of each factor (N, R) and interaction (N × R) on the variance of the response. When the *p*-value was lower than 0.05, the corresponding factor had a statistically significant 95% confidence level

i disease incidence, *tda* total diseased area, *d* lesion density, *si* symptom intensity

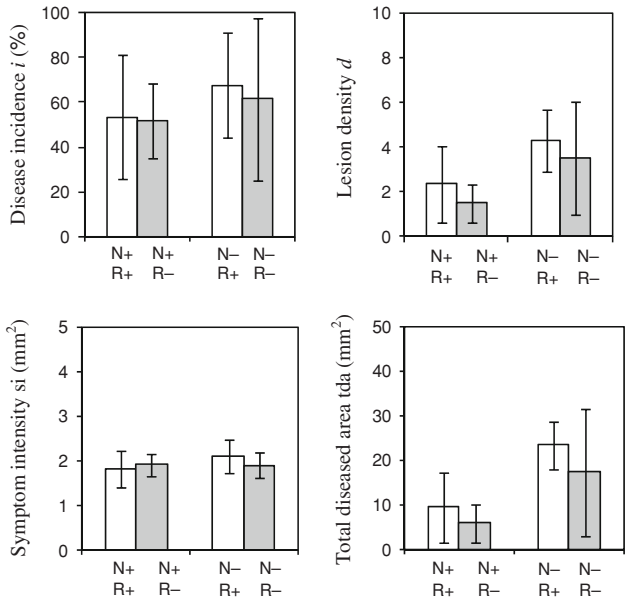


Fig. 3 Effect of carrot lateral roots on the occurrence of alloinfections by *Pythium violae*. *N+* with nylon mesh, *N−* no nylon mesh, *R+* with added roots, *R−* no added roots. Data are from 11 donor roots × 32 rhizoboxes. *Bars* represent the standard error. No differences between means were significant (ANOVA, *F*-test, $P < 0.05$)

either: root exudates did not enhance alloinfection. Consequently, the experiment established that active mycelial growth from CCS lesions is probably the most prevalent mechanism involved in alloinfections by *P. violae* because zoospores are of little importance (Van der Plaats-Niterink 1981). Similarly, Green and Jensen (2000) showed in controlled conditions that growth of mycelium from primary foci within the potting mix to roots of adjoining plants can be an important means of the spread of cucumber damping-off and root rot caused by *P. ultimum* var. *ultimum*.

Our results showed that *P. violae* can spread more than 90 mm throughout a sterilized sandy soil after 5 weeks. This distance is compatible with previous results obtained by Suffert et al. (2008) using taproot transplantation as a method of soil infestation by *P. violae* and with results obtained by Green and Jensen (2000) for *P. ultimum* var. *ultimum* (in steamed potting mix, hyphae on average grew 96 mm from diseased root tissue). The intensity of CCS on the receptor taproots in the second row was not significantly different from the intensity on taproots in the first row (data not shown). Thus, the mycelium of *P. violae* could grow equally through 90 or 110 mm in the given rhizobox system, perhaps enhanced by the first row of receptor taproots, which may support further disease spread.

The given rhizobox system could be improved, but constraints that contributed to heterogeneous results (high variance of disease intensities) are inherent to diseases caused by soilborne pathogens and cannot be easily taken into account. For example, the occurrence of alloinfection depends on edaphic conditions: low soil moistures and temperatures over 30°C prevent the development of *Pythium* sp. The duration of exposure between donor and receptor taproots cannot exceed 5 weeks in sandy soil or the transplanted taproots will rot.

The present experiment confirmed that a carrot taproot quickly produces new lateral roots and leaves regrow 2 weeks after transplantation (Suffert and Montfort 2007). Concomitantly with CCS lesions on taproots, brown to rust-colored microlesions were sometimes observed on carrot lateral roots, but *Pythium* species were rarely isolated from them (Suffert and Guibert 2007). Consequently, while lateral roots have appeared to enhance disease spread, this enhancement was probably due to an asymptomatic colonization of the root surface rather than to infection *sensu stricto*. Previous studies have shown that CCS lesions occasionally coincide with lenticels, but the lesions are not consistently associated with anatomical features such as sites of lateral roots origin (Perry and Harrison 1979).

The separation of two soil compartments by a selective barrier (e.g., a nylon mesh) was also used by Scott (1956), Rekah et al. (1999), Crowe and Hall (1980) and Green and Jensen (2000) to test the effects of infections from active mycelia in the soil alone and from direct physical root contact on the spread of soilborne pathogens and resulting disease, but their conclusions varied. Scott (1956) studied the spread of white rot from *S. cepivorum* in field onion crops and reported that the pathogen spread from inoculated onion bulbs to adjacent plants but did not spread when root systems were enclosed in small bags made of a nylon fabric even though mycelia from infected roots penetrated the mesh and came into contact with roots of neighbouring plants. To study the spread of *F. oxysporum* f. sp. *radici-lycopersici* from roots of an inoculated plant to roots of adjacent plants, Rekah et al. (1999) used containers divided by a 2.5-cm-wide wooden barrier, with an opening of 10 cm × 10 cm in the center. The openings were sealed with a 50-µm nylon mesh, and the space between the nets was filled with noninfested fumigated soil. When no barrier existed, 70% of plants adjacent to the focus plants were infected compared to less than 10% in containers with a barrier. The pathogen spread preferentially via root-to-root contact, unlike *P. violae*.

Two weeks after sowing, the added carrot roots were still thin enough to have a biochemical impact similar to lateral roots. Although differences in lesion density *d* between treatments R+ and R− were observed ($d = 2.3$ in N+/R+ compared to 1.5 in N+/R− and $d = 4.3$ in N−/R+ compared to 3.5 in N−/R−), they were not statistically significant, and the hypothesis $Y_{R+} = Y_{R-}$ was not rejected: the presence of additional roots in treatment R+ had a very limited impact on the CCS propagation from donor to receptor plants. The plant density is important for

Pythium-induced disease spread; for example, the increase in disease severity caused by increasing cucumber density was greatest at a lower concentration of inoculum of *P. ultimum* var. *ultimum* (Green and Jensen 2000), and a reduction in mean planting density was also effective in limiting CCS development by alloinfection (0.5, 1.6 and 2.0 lesions per root in microcosms containing 8, 16 and 31 roots, respectively) (Suffert et al. 2008). Very few studies have dealt with the effect of root exudates (exogenous carbohydrates and amino acids diffusing from host plants) on alloinfections. Zoospores of *P. ultimum* are attracted to roots of a number of plant species; accumulation typically occurs in the root hair region and the zone of cell elongation just behind the root cap (Nelson 1990). The production of secondary inoculum of *Pythium* sp. has already been established (Burdon and Chilvers 1975; Green and Jensen 2000; Suffert and Montfort 2007); however, no study has firmly differentiated between spread by mycelia from that by zoospores. Microscopic examinations of *P. ultimum* in the bulk potting mix confirmed that the spread was due to active mycelial growth because no zoospores were observed in the soil (Green and Jensen 2000). Van der Plaats-Niterink (1981) stated that *P. violae*, like *P. ultimum* var. *ultimum*, rarely produces sporangia and zoospores; however, this hypothesis should be tested for other *Pythium* sp. known to cause CSS (Hiltunen and White 2002). Direct microscopic observation of zoospores and mycelium growing either along the lateral roots or directly through soil may help to confirm this.

Acknowledgments This work was supported by the INRA Plant Health and Environment Department, in part by grants from the ICP project 2001–2003 (Integrated Crop Protection). We thank M. Prunier and C. Guérin for technical assistance and referees for constructive criticism of the manuscript. We also thank S. Tanis-Plant for her input on the English.

References

Brassett PR, Gilligan CA (1988) A model for primary and secondary infection in botanical epidemics. Z Pflanzenkr Pflanzensch 95:352–360

Burdon JJ, Chilvers GA (1975) A comparison between host density and inoculum density effects on the frequency of primary infection foci in *Pythium*-induced damping-off disease. Aust J Bot 23:899–904

Crowe FJ, Hall DH (1980) Vertical distribution of sclerotia of *Sclerotium cepivorum* and host root systems relative to white rot of onion and garlic. Phytopathology 70:70–73

Gilligan CA (1980) Colonization of lateral, seminal and adventitious roots of wheat by the take-all fungus, *Gaeumannomyces graminis* var. tritici. J Agr Sci 94:325–329

Green H, Jensen DF (2000) Disease progression by active mycelial growth and biocontrol of *Pythium ultimum* var. *ultimum* studied using a rhizobox system. Phytopathology 90:1049–1055

Guerin L, Briard M, Rouxel F (1994) Biochemical characterisation of *Pythium* spp. involved in cavity spot of carrots in France. Ann Appl Biol 125:255–265

Hau B, Amorim L, Bergamin Filho A (1993) Mathematical functions to describe disease progress curve of double sigmoid pattern. Phytopathology 83:928–932

Harvis L (1939) Anatomy of the hypocotyl and roots of *Daucus carota*. J Agr Res 58:557–566

Hiltunen LH, White JG (2002) Cavity spot of carrot (*Daucus carota*). Ann Appl Biol 141:201–223

Hofman TW, Jongebloed PHJ (1988) Infection process of *Rhizoctonia solani* on *Solanum tuberosum* and effects of granular nematicides. Neth J Plant Pathol 94:243–252

Holden J (1976) Infection of wheat seminal roots by varieties of *Phialophora radicicola* and *Gaeumannomyces graminis*. Soil Biol Biochem 8:109–119

Huisman OC (1982) Interrelations of root growth dynamics to epidemiology of root-invading fungi. Annu Rev Phytopathol 20:303–327

Nagai Y, Fukami M, Murata A, Watanabe T (1986) Brown-blotted root rot of carrots in Japan. (1) occurrence, symptoms and isolation. Ann Phytopathol Soc Japan 52:278–286

Nelson EB (1990) Exudate molecules initiating fungal responses to seeds and roots. Plant Soil 129:61–73

Perry DA, Harrison JG (1979) Cavity spot of carrots. I. Symptomatology and calcium involvement. Ann Appl Biol 93:101–108

Phelps K, White JG, Henn AJ (1991) Studies on the frequency distribution of *Pythium*-induced cavity spot of carrots. Ann Appl Biol 119:21–30

Rekah Y, Shtienberg D, Katan J (1999) Spatial distribution and temporal development of fusarium crown and root rot of tomato and pathogen dissemination in field soil. Phytopathology 89:831–839

SAS Institute (2000) Statistical Analysis System, SAS/STAT user's guide, version 8.1. SAS Institute , Cary

Schroth MN, Hildebrand DC (1964) Influence of plant exudates on root-infecting fungi. Annu Rev Phytopathol 2:101–132

Scott MR (1956) Studies of the biology of *Sclerotium cepivorum* Berk. II. The spread of white rot from plant to plant. Ann Appl Biol 44:584–589

Suffert F (2006) Epidémiologie du cavity spot de la carotte. Perspectives d'application en protection intégrée. PhD dissertation, Agrocampus Rennes, France [http://tel.archives-ouvertes.fr/tel-00119268]

Suffert F (2007) Modélisation de cinétiques de la maladie de la tache de la carotte provoquée par un complexe du genre *Pythium* dominé par le *Pythium violae*. Can J Plant Pathol 29:41–55

Suffert F, Delalande D, Prunier M, Andrivon D (2008) Modulation of primary and secondary infections in epidemics of carrot cavity spot through agronomic management practices. Plant Pathol 57:109–121

Suffert F, Guibert M (2007) The ecology of a *Pythium* community in relation to the epidemiology of carrot cavity spot. Appl Soil Ecol 35:488–501

Suffert F, Montfort F (2007) Demonstration of secondary infection by *Pythium violae* in epidemics of carrot cavity spot using root transplantation as a method of soil infestation. Plant Pathol 56:588–594

Suffert F, Montfort F (2008) Pathometric relationships reveal epidemiological processes involved in carrot cavity spot epidemics. Eur J Plant Pathol doi 10.1007/s10658-008-9309-y

Van der Plaats-Niterink AJ (1981) Monograph of the genus *Pythium*. Studies in Mycology 21. Centraalbureau voor Schimmelcultures, Baarn

Watanabe T, Nagai Y, Fukami M (1986) Brown-blotted root rot of carrots in Japan. (2) Culture and identification. Ann Phytopathol Soc Japan 52:287–291

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*, 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 mécanismes biologiques intervenant dans les allo-infections a également été posée. Plusieurs éléments laissent penser que ces contaminations sont une conséquence directe de la croissance saprophytique du mycélium dans le sol à partir de lésions, sous forme libre, depuis une racine infectée. Les racines adventives semblent jouer un rôle mineur dans l'extensification de la maladie.

CHAPITRE VI

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

Suffert F, Delalande D, Prunier M et Andrivon D (2008) Modulation of primary and secondary infections in epidemics of carrot cavity spot through agronomic management practices. *Plant Pathology*, 57(1): 109-121.

PROBLEMATIQUE

Plusieurs facteurs environnementaux et culturaux 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 culturaux, 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), conditionnement 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 différents 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. Le facteur « humidité du sol » n'a cependant

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 »).

Modulation of primary and secondary infections in epidemics of carrot cavity spot through agronomic management practices

F. Suffert*†, D. Delalande, M. Prunier and D. Andrivon

INRA, Agrocampus Rennes, UMR1099 BiO3P (Biologie des Organismes et des Populations appliquée à la Protection des Plantes), Domaine de la Motte, BP 35327, F-35653 Le Rheu, France

The relative importance of primary and secondary infections (auto- and alloinfections) in the development of a carrot cavity spot (CCS) epidemic caused by *Pythium* spp. were investigated. Three cropping factors: fungicide application, soil moisture and planting density, were selected as the key variables affecting the disease tetrahedron. Their effects on: (i) disease measurements at a specific time, (ii) the areas under the disease progress curves (AUDPCs) and (iii) a time-dependent parameter in a pathometric incidence-severity relationship, were studied. Mefenoxam applications 5 and 9 weeks after sowing reduced the intensity of a field CCS epidemic that involved both primary and secondary infections. In microcosm experiments, mefenoxam reduced secondary infections by *Pythium violae* obtained by transplanting infected carrot roots and slowed disease progress (1·6 lesions per root in treated versus 5·8 lesions in non-treated microcosms). A deficit of soil moisture limited the movement of *Pythium* propagules to host tissue, and thus reduced primary infections in the field; it also promoted the healing of lesions, limiting lesion expansion and the potential for alloinfections (6·8–7·5 lesions per root in irrigated plots compared with 2·4 lesions in non-irrigated plots). A negative relationship between the mean root-to-root distance and the rate of alloinfections was established in microcosms; a reduction in mean planting density was also effective in limiting CCS development (0·5, 1·6 and 2·0 lesions per root in microcosms containing 8, 16 and 31 roots, respectively). An integrated disease management system based on a combination of cultural methods, such as optimized fungicide application, date of harvest versus soil moisture content, and host density versus planting pattern, may make a useful contribute to the control of CCS.

Keywords: carrot cavity spot, mefenoxam, planting density, *Pythium violae*, secondary infection, soil moisture

Introduction

Carrot cavity spot (CCS) is one of the most damaging fungal diseases of carrot worldwide, causing yield losses as badly affected roots are unmarketable (Guba *et al*., 1961; Hiltunen & White, 2002). This soilborne disease is characterized by small sunken elliptical lesions on the taproot. In France, CCS is mostly caused by *Pythium violae* and *P. sulcatum* (Montfort & Rouxel, 1988; Breton & Rouxel, 1993; Suffert & Guibert, 2007). Over the last 20 years, information about the aetiology of the disease has been gathered, but few epidemiological studies have investigated the dynamics of the disease in the field.

The occurrence of primary and secondary infections in CCS epidemics was recently demonstrated experimentally (Suffert & Montfort, 2007). The fitting of simulation models to disease progress curves also supports the occurrence of both processes (Suffert, 2007). The decrease over time of the time-dependent parameter $a(t)$ in the pathometric relationship $i = b \cdot (1 - \exp(-a(t) \cdot tda)$, where i is the disease incidence, tda the total diseased area and t the thermal time (accumulated degree days from sowing, base 3·5°C), indicated that CCS epidemics were driven by (i) mobilization of soil inoculum (primary infection), (ii) disease intensification (autoinfection, on the same root) and (iii) disease spread (alloinfection, i.e. root-to-root contamination) (Suffert, 2006). The polycyclic nature of CCS epidemics was thus firmly established: soil inoculum of *Pythium* sp. is the source of primary infections and diseased roots then provide inoculum for secondary infections.

*E-mail: fsuffert@grignon.inra.fr

†Present address: INRA, Agro Paris Tech, UMR1290 BIOGER-CPP (Biologie et Gestion des Risques en Agriculture – Champignons Pathogènes des Plantes), BP 01, F-78850 Thiverval-Grignon, France.

Accepted 6 June 2007

The experimental use of fungicide is a classical way of identifying the importance of different phases in an epidemic. This is also obviously useful to optimize agricultural practices (dose and date of application). The fungicide, mefenoxam (R-isomer of metalaxyl), provides a mean of controlling CCS (Hiltunen & White, 2002). The timing of application was shown to be important for effective disease control (Lyshol *et al*., 1984; Gladders & McPherson, 1986; McDonald, 1994). Although effects on the different epidemiological processes were not considered separately, several observations raised the possibility that the fungicide acts predominantly on either primary or secondary infections. While seed treatments and early season application were generally found to be most effective (Hiltunen & White, 2002), the hypothesis that mefenoxam could reduce both primary and secondary infections rates should be tested.

Soil moisture is one of the most important environmental factors known to favour the expression of soilborne diseases (Griffin, 1969; Cook & Papendick, 1972) and the seasonal activity of *Pythium* spp. (Stanghellini, 1974). An increase of CCS is generally associated with high soil moisture (Guba *et al*., 1961), for example after rainfall (McDonald, 1994) or irrigation periods (Perry & Harrison, 1979) or in poorly drained or flooded soils (Soroker *et al*., 1984; Vivoda *et al*., 1991). As *Pythium* species are zoosporic organisms, the effect of soil moisture on CCS development could be the result of enhanced secondary infection rates and increased lesion size; however, this hypothesis has not yet been confirmed experimentally.

Planting density can affect the number of primary infection foci, as established for *P. irregulare* in cress seedlings (Burdon & Chilvers, 1975), but mainly the rate and time of alloinfections. This effect was described for some soilborne pathogens, such as *Sclerotium rolfsii* infecting carrot (Smith *et al*., 1988), *Sclerotium cepivorum* infecting onion (Scott, 1956; Crowe & Hall, 1980; Littley & Rahe, 1987), *Sclerotinia sclerotiorum* infecting sunflower (Huang & Hoes, 1980), *Phymatotrichum omnivorum* infecting cotton (Koch *et al*., 1987), and *Helminthosporium solani* and *Rhizoctonia solani* infecting potato (Firman & Allen, 1995). White (1988) suggested that the high plant densities in later carrot crops, where most taproots were touching neighbours, enhanced the potential for plant-to-plant spread. Although Vivoda *et al*. (1991) found no significant differences in the incidence of CCS among three densities of 57, 115 or 230 plants m^{-2} in the field, this hypothesis should still be tested in experimental controlled conditions (microcosms).

The aim of the present study was to assess the relative importance of primary and secondary infections in the development of a CCS epidemic. The work was based on analysis of the modulation of disease progress curves, in whole epidemics in the field and in microcosms where alloinfections only were generated using the transplantation method described by Suffert & Montfort (2007), by various cropping factors postulated to influence infection mechanisms. The research strategy was to select cropping factors acting on separate components of the disease tetrahedron involving the pathogen, the environment and the host defined by Zadoks & Schein (1979), such as fungicide application (effect on pathogen inoculum), soil moisture (effect on abiotic environment) and planting density (effect on host availability). Each factor that potentially affects independently or concomitantly primary infections, auto- and alloinfections, and lesion expansion, is an experimental tool to elucidate the processes occurring in CCS epidemics.

Materials and methods

Field experiment

The effects of fungicide applications and soil moisture contents on the development of a whole CCS epidemic were tested in plots located at the INRA Station of Le Rheu (Ille-et-Vilaine, France; 48°01′ N, 1°43′ W). The silt loam soil (16·3% clay, 62·5% silt, 21·2% sand and 2·4% organic matter) was infested with *P. violae* (isolate Pv490, CBS 102·609, obtained in 1994 from CCS lesions in Normandy) on 29 April 2002, 3 weeks before sowing carrots (cv. Nanco). To produce inoculum, bags containing 240 mL of dry barley grains and 300 mL of distilled water were autoclaved twice at 120°C for 1 h at 24-h intervals, and inoculated with plugs of *P. violae*, then incubated for 3 weeks at 20°C in a dark room. The inoculum was applied on the soil surface at 50 g m^{-2} (dry grain) (dose D10; Suffert, 2007). *Pythium sulcatum*, *P. intermedium*, *P. sylvaticum*, *P. coloratum* and *P. ultimum*, known to be pathogenic on carrot, were found in the field area (Suffert & Guibert, 2007). Experimental units were 2- × 6-m plots and consisted of five rows 50 cm apart with 80 plants per linear metre. Cultural practices applied uniformly to all plots were similar to those described by Suffert & Guibert (2007). Disease was assessed about every month on samples consisting of all carrot roots present along a 50-cm segment of any of the three central rows of each plot. Each sample typically included 30–40 roots. Air temperature 1 m above soil level and soil temperature at a depth of 20 cm were measured with a Hobo H8® (Prosensor) at 15-min intervals throughout the experiments.

Effect of fungicide application on a whole epidemic

The experiment was set up as a randomized block design (four blocks), with timing of fungicide application as one factor with four treatments: untreated control (NT), early application (P_1) immediately after sowing, intermediate application (P_2) 5 weeks after sowing (4 July 2002), and late application (P_3) 9 weeks after sowing (21 August 2002). Plots were artificially infested with *P. violae* as described above and sown to carrot on 29 May 2002. Each fungicide spray application consisted of 0·75 L ha^{-1} Santhal TC® (480 g L^{-1} mefenoxam; Syngenta Agro). This rate is 1·5 times the recommended rate; it was chosen to compensate for the loss of active ingredient applied on leaves, as the product is normally applied directly to the seed bed (Hiltunen & White, 2002). Five samples were harvested from each plot (S1, 08 July 2002, 591 degree

days from sowing (dd); S2, 29 July 2002, 903 dd; S3, 19 August 2002, 1197 dd; S4, 30 September 2002, 1715 dd; and S5, 18 November 2002, 2103 dd) and scored for disease intensity. Areas under the disease progress curves (AUDPCs) were calculated for three different intervals: $AUDPC_1$ from sowing to 1197 dd (S3), $AUDPC_2$ from 1197 dd (S3) to 1715 dd (S4), and $AUDPC_3$ from 1715 dd (S4) to 2103 dd (S5).

Effect of soil moisture on a whole epidemic

The experiment was set up as a randomized block design (four blocks), with soil moisture levels generated by manipulating irrigation intensity with sprinklers as one factor with three treatments: dry (NI; non-irrigated), medium (I_1; about 200 L m^{-2} over 5 months) and wet (I_2; about 600 L m^{-2} over 5 months). Natural rainfall amounted to about 400 mm during the experiment. Plots were artificially infested with *P. violae* as described above and sown to carrot on 1 June 2003. Nightly irrigation periods were activated every second or third day in July and August with a Toro GreenKeeper 212® controller; each irrigation period lasted 2 h in I_1 and 4 h in I_2 plots. The flow was measured as 4 L m^{-2} h^{-1}. Soil moisture content was monitored weekly from 24 June 2003 to 18 November 2003 by measuring the wet weight (*WW*) and dry weight (*DW*) of soil cores collected weekly at random locations from the topsoil (0- to 15-cm depth) in rows of a plot of each treatment (three weekly cores per treatment). Soils cores were weighed before (*WW*) and after desiccation at 120°C for 48 h (*DW*), and the gravimetric soil moisture (*GSM*) was calculated as:

$$GSM = \frac{WW - DW}{WW} \times 100 \quad (1)$$

Disease was assessed on six sets of carrot samples (S1, 1 July 2003, 601 dd; S2, 21 July 2003, 924 dd; S3, 5 August 2003, 1181 dd; S4, 28 August 2003, 1605 dd; S5, 30 September 2003, 2027 dd; and S6, 24 November 2003, 2329 dd). AUDPCs were calculated for two intervals: $AUDPC_1$ from sowing to 1181 dd (S3) and $AUDPC_2$ from 1181 dd (S3) to 2329 dd (S6).

Controlled-conditions experiments

Microcosm experiments were carried out to generate CCS epidemics from secondary infections only. They were conducted in pots in growth chambers where climatic conditions (16 h daylight at 20°C and 8 h night at 12°C) were regulated and compatible with both carrot growth and *P. violae* development (Van der Plaats-Niterink, 1981; Suffert & Guibert, 2007) and in greenhouses where temperature was maintained in the range 17–27°C and the light was natural. Secondary infections were obtained by transplanting infected carrot (cv. Nanco) roots ('donor plants') into a population of healthy mature carrots ('receptor plants') grown in a steam-sterilized soil mixture (50% sand, 25% compost, 25% organic soil) (Suffert & Montfort, 2007). PVC tubes (32 mm diameter, 230 mm long) were introduced into each pot, and seeds destined to generate the receptor plants were sown around the tubes. Twelve weeks after sowing the tubes were replaced by donor roots artificially inoculated with *P. violae* (Pv490). Donor roots were prepared by washing fresh carrot roots in 0·3% bleach for 1 min, rinsing them three times with sterile water, wounding the epidermis of the roots at two or four spots (1–2 cm^2) with abrasive tissue, and inoculating each wounded spot by depositing a mycelial plug (5 mm diameter) cut from a 7-day-old culture of *P. violae* grown at 20°C on carrot juice agar. Plugs were held in place with sterile pins. Inoculated roots were incubated for 48 h in hermetically sealed plastic boxes to create high-humidity conditions. Agar plugs were then removed and roots were transplanted into the pots. Microcosms were watered as needed to adjust soil moisture to the water-holding capacity. Air temperature and soil temperature at a depth of 15 cm were measured with a Hobo H8® at 15-min intervals.

Effect of fungicide application on alloinfections

This experiment was set up in a greenhouse as a randomized block design (four blocks), with fungicide application as one factor with two treatments: fungicide application (T) and untreated control (NT). The experiment was repeated once (rep1 and rep2). Microcosms consisted of rectangular pots (36 cm long, 25 cm wide, 32 cm high), into which 21 carrots were sown in a regular pattern in five rows (5rp/3rp/rp + dp + rp + dp + rp/3rp/5rp; dp = donor plant, rp = receptor plant). Twelve weeks after sowing, two donor roots with two CCS lesions were transplanted into each microcosm. Seven days after transplanting, mefenoxam (35 μL of Santhal TC® in 150 mL of water) was sprayed onto the soil of each microcosm (except controls, which were sprayed with water). Symptoms were scored on the receptor roots at three dates of harvest (S1, S2 and S3 – 21, 33 and 46 days after transplanting, respectively) and AUDPCs were calculated over the whole duration of the experiment.

Effect of distance between donor and receptor plants on alloinfections

This experiment, repeated once (rep1 and rep2), was set up in a growth chamber as a randomized block design (three blocks), with distance between donor and receptor roots as one factor with three treatments: L50 = 50 mm, L70 = 70 mm and L90 = 90 mm. Six seeds, destined to produce the receptor plants, were sown at equidistant points from the centre of circular 10-L pots (28 cm diameter, 18 cm high). Twelve weeks after sowing, a donor root with four CCS lesions was transplanted into the centre of each pot. The receptor roots were harvested weekly from 1 to 4 weeks after transplantation and symptoms scored. AUDPCs were calculated from 1162 dd (S0) to 1550 dd (S4).

Effect of planting density on alloinfections

This experiment, repeated twice (rep1, rep2 and rep3), was set up in a greenhouse as a randomized block design (four blocks), with carrot planting density as one factor

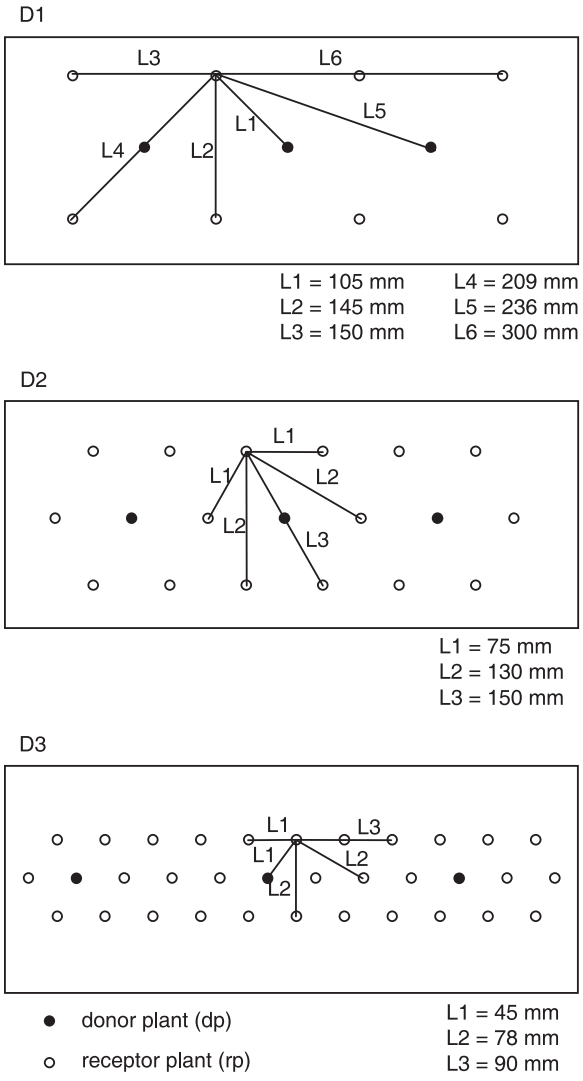


Figure 1 Illustration of three carrot root patterns in experimental microcosms to test the effect of planting density on carrot cavity spot alloinfections by *Pythium violae*.

with three treatments: D1 with eight rp, D2 with 16 rp, and D3 with 31 rp. Three donor plants with two CCS lesions were transplanted into a central row in microcosms consisting of rectangular pots (55 cm long, 25 cm wide, 25 cm high) 12 weeks after sowing receptor plants in a geometric arrangement to obtain planting patterns (Fig. 1) characterized by two variables:

(i) 'mean linear density' (D) of the carrot population (D1: 20·0 roots m^{-1}; D2: 34·5 roots m^{-1}; D3: 61·8 roots m^{-1}); this variable, classically used by growers to characterize sowing density, did not permit assessment of the effective distance between roots, which depends on the width of the row and on the sowing pattern;

(ii) 'mean root-to-root distance' (L) of the carrot population, assessed by the mean distance between each root and the six nearest roots (D1: 143 mm; D2: 86 mm; D3: 51 mm); L was calculated based on the six roots closest to the donor plant, under the hypothesis that the potential of alloinfections generated by more distant roots was negligible.

Receptor plants were harvested and symptoms scored 5 weeks after transplanting.

Disease assessment, statistical analyses and modelling

Two types of variable were used to quantify the development of the epidemics. Disease measurements at a specific time (Y) were evaluated at different sampling dates: disease incidence i (proportion of diseased roots), lesion density d (number of lesions per root), symptom intensity si (diameter of lesions) and total diseased area tda (total necrotic area per root) (Suffert, 2006, 2007). Epidemic development over the season was quantified though the computation of areas under disease progress curves (AUDPCs) (Campbell & Madden, 1990), using the formula of Shaner & Finney (1977):

$$\mathrm{AUDPC}_{Y,j_a\to j_b} = \sum_{j=j_a}^{j_b} \frac{1}{2}(y_j + y_{j+1}) \times (t_{j+1} - t_j) \qquad (2)$$

where y_j is the disease score at the j^{th} evaluation, t_j is the thermal time (accumulated degree days from sowing, base 3·5°C) at the j^{th} evaluation, $n = j_a - j_b$ is the number of intervals of integration ranged from the j_a^{th} to the j_b^{th} evaluation.

The temporal decrease of the time-dependent parameter $a(t)$ in the pathometric relationship between i and tda during CCS epidemics was established by Suffert (2006):

$$i = b \cdot (1 - e^{-a(t)\cdot tda}) \qquad (3)$$

This suggested changes in epidemiological processes, because the product $a(t) \times b$ reflects the balance between primary and secondary infections (Willocquet & Savary, 2004). Thus, the influence of cropping factors on the fluctuations of $a(t)$ was tested with $b = 100$.

Statistical analyses were performed using the SAS statistical package, version 8·1 (SAS, 2000). Treatment effects on Y (i, tda, d, and si) were tested with the ANOVA procedure and the Scheffe test ($P < 0{\cdot}05$). The NPAR1WAY procedure and Wilcoxon-Mann-Whitney test ($P < 0{\cdot}1$) were used to analyse treatment effects on AUDPC_Y and $a(t)$ because these variables were not normally distributed.

Data from the fungicide experiment in microcosms (rep1, treatments T and NT) were used to measure the dispersal gradient of alloinfections by fitting the power law model, which assumes that the number of contaminations is inversely proportional to some power of the distance from the source (Campbell & Madden, 1990) and corresponds to:

$$Y = \alpha \cdot L^{-\gamma} \qquad (4)$$

where α and γ are parameters and the slope of the gradient γ represents the rate of decrease in Y with distance. Symptoms were scored distinguishing the position of each receptor root in the microcosms and its distance from the donor roots. The relationship in Eqn 4 was tested for $Y = tda$ and the slope of the gradient was assessed using

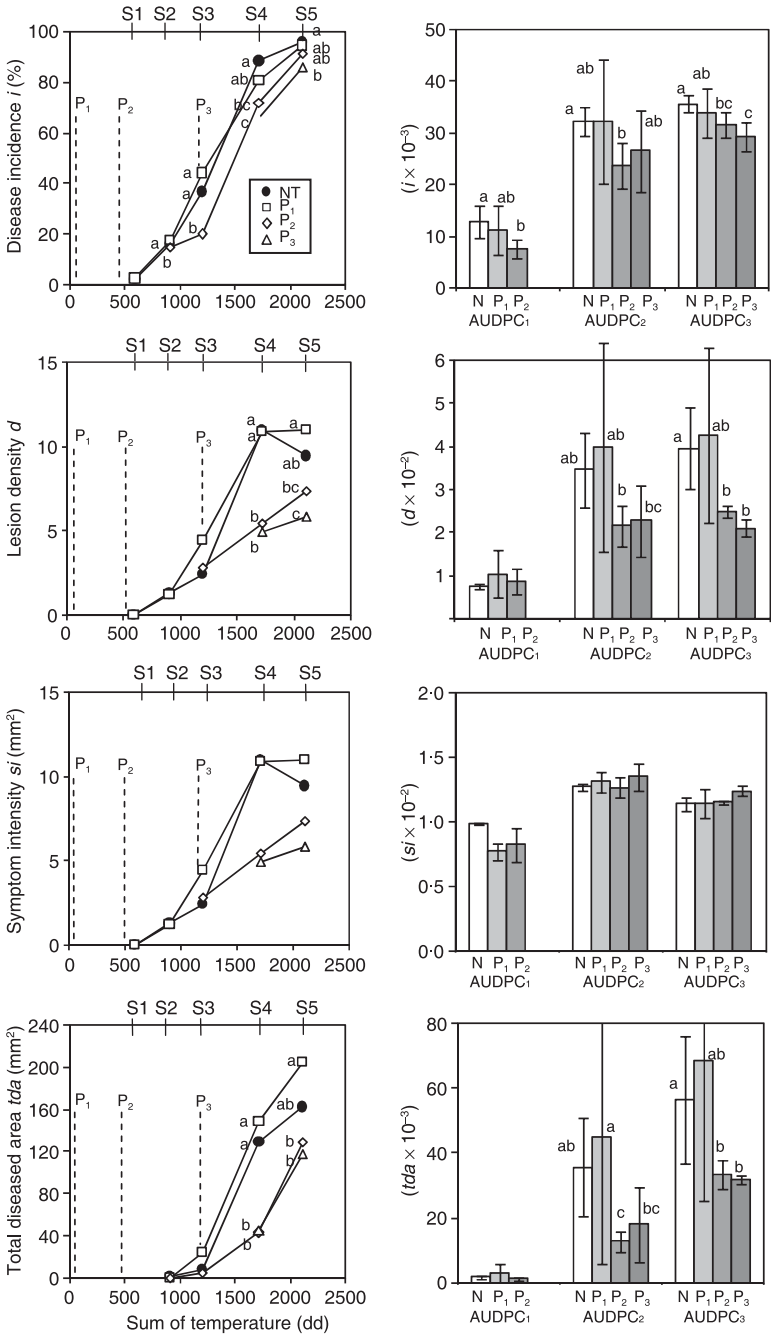


Figure 2 Effect of three dates [at sowing (P_1) or 5 (P_2) or 9 weeks (P_3) after sowing] of fungicide application (mefenoxam) on the dynamics of a carrot cavity spot field epidemic (Le Rheu, France, 2002). Three intervals were distinguished to calculate AUDPCs [$AUDPC_1$ from S0 (sowing) to S3 (1197 degree days (dd) after sowing), $AUDPC_2$ from S3 to S4 (1715 dd), and $AUDPC_3$ from S4 to S5 (2103 dd)]. Different lowercase letters indicate significantly different disease measurements at a specific time (ANOVA, Scheffe test, $P < 0{\cdot}05$) or AUDPCs (NPAR1WAY, Wilcoxon-Mann-Whitney test, $P < 0{\cdot}1$). NT = untreated controls.

the average of γ values fitted by the method of minimization of sums of squares at each sampling date.

Results

Effects of fungicide application

Field epidemic

The earliest mefenoxam application (P_1) had no significant impact on either disease variables at a specific time or AUDPCs (Fig. 2). Later applications (P_2 and P_3) significantly reduced *i*, *d* and *tda* during the last stage of the epidemic (between S4 and S5) (Scheffe test, $P < 0{\cdot}05$), and thus the respective $AUDPC_2$ and $AUDPC_3$ values (Wilcoxon-Mann-Whitney test, $P < 0{\cdot}1$) (Fig. 2). Neither treatment had any effect on *si*. The term *a*(*t*) was stable between S3 and S5, and decreased with later fungicide application dates (Fig. 3a). However, the only statistically significant differences were between untreated and intermediate- and late-treatment plots (P_2 and P_3).

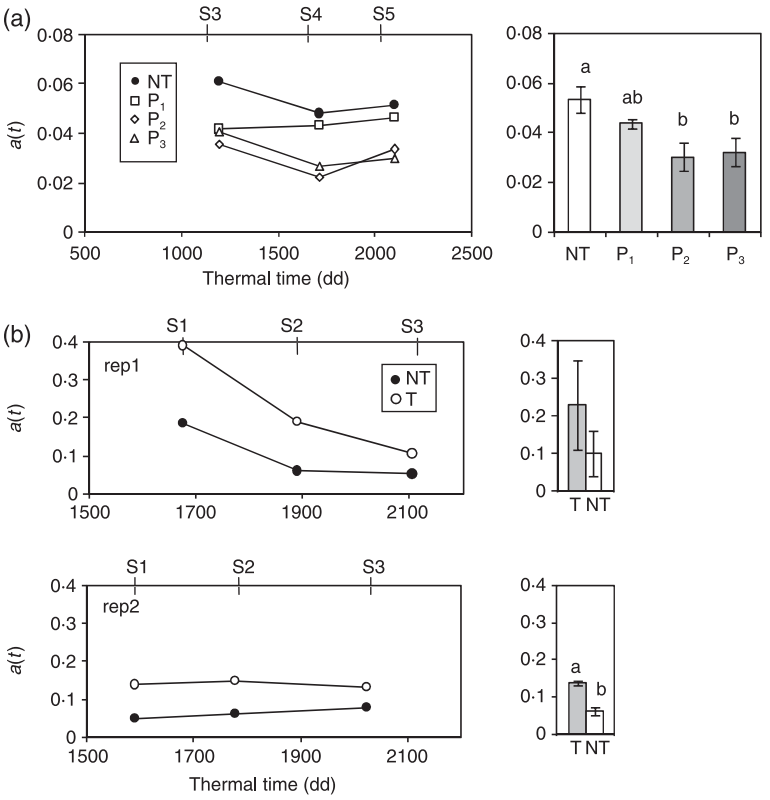


Figure 3 Effect of a fungicide application (mefenoxam) on the time-dependent parameter $a(t)$ in the relationship $i = 100 \cdot (1 - \exp(-a(t) \cdot tda))$ in (a) a carrot cavity spot (CCS) field epidemic (Le Rheu, France, 2002) (NT, untreated controls; P_1, fungicide application at sowing; P_2, 5 weeks after sowing; P_3, 9 weeks after sowing) and (b) a CCS epidemic generated in experimental microcosms by alloinfections of *Pythium violae* only (NT, untreated controls; T, fungicide-treated). Values of $a(t)$ were optimized by the method of minimization of sums of squares ($P < 0{\cdot}01$). t refers to the thermal time (accumulated degree days from sowing, base 3·5°C). Different lowercase letters indicate significantly different mean values of $a(t)$ between treatments (NPAR1WAY, Wilcoxon-Mann-Whitney test, $P < 0{\cdot}1$).

Alloinfections

Mefenoxam applications significantly decreased all disease variables in the microcosm experiment (Fig. 4). The term $a(t)$ decreased with time in rep1, but remained stable in rep2 (Fig. 3b). Interestingly, $a(t)$ was significantly larger in treated than in untreated microcosms (Wilcoxon-Mann-Whitney test, $P < 0{\cdot}1$).

Effects of soil moisture

The summer of 2003 was exceptionally dry, as shown by the critical low point reached in non-irrigated soils (NI) in the middle of summer ($GSM = 6\%$), before the *GSM* increased following scattered rainfall (Fig. 5). The three irrigation levels (NI, I_1 and I_2) generated significantly different soil moisture contents and different temporal patterns for the increase of *i*, *d*, *si* and *tda* (Fig. 6). The differences were significant between NI and I_1/I_2 for each disease variable (ANOVA, Scheffe test, $P < 0{\cdot}05$), notably lesion density *d* (five to seven lesions per root in I_1/I_2 between S4 and S6, vs. two lesions per root in NI). A the end of the epidemic, disease incidence *i* reached 90% and *tda* ranged from 55 to 85 mm^2 in I_1/I_2, but *i* barely exceeded 60% and *tda* was less than 15 mm^2 in NI. Symptom intensity *si* was stable over time or slightly decreasing; significant differences were observed between NI, I_1 and I_2 at sampling date S4. As a consequence, soil moisture significantly affected $AUDPC_1$ and $AUDPC_2$ for several disease variables (Wilcoxon-Mann-Whitney test, $P < 0{\cdot}1$) (Fig. 6). During the first part of the epidemic, differences were high between NI and I_1/I_2 for $AUDPC_1$ of *i*, *d* and *tda*; during the second part, high differences were observed for $AUDPC_2$ of *i*, *d*, *si* and *tda*. Differences between I_1 and I_2 were observed only for $AUDPC_1$ of *d* and for $AUDPC_2$ of *si*. The term $a(t)$ was nearly stable and ranged from 0·07 to 0·08 between S2 and S6 for the three treatments (Fig. 7). After S3, $a(t)$ decreased in I_1/I_2 to 0·04/0·06, but exceeded 0·10 in NI. A linear decreasing relationship existed between a(t) and *GSM* ($R^2 = 0{\cdot}560$). On average, $a(t) = 0{\cdot}099$ for $GSM = 11{\cdot}5\%$, $a(t) = 0{\cdot}048$ for $GSM = 17{\cdot}7\%$, and $a(t) = 0{\cdot}038$ for $GSM = 20{\cdot}2\%$.

Effects of planting density

Effect of distance between donor and receptor plants on alloinfections

A negative relationship between the distance between donor and receptor roots and the intensity of alloinfections was identified (Fig. 8). However, this effect was heterogeneous for *i*, *d*, *si* and *tda* and the variance was high, especially in L7. Significant differences were found for *i* and *tda* at sampling date S4 in rep1 and rep2 (Scheffe test, $P < 0{\cdot}05$). Effects were homogeneous and significant on AUDPCs in rep2, and particularly high for *d* (344 in L5, 269 in L7, and 89 in L9) and *tda* (5735 in L5, 2463 in L7, and 385 in L9).

The estimated slope γ of the dispersal gradient of alloinfections ranged from 1·33 to 2·23 in the microcosm experiment. The average value ($\gamma = 1{\cdot}72$) was used to fit the power law model (Eqn 4) in both treatments T

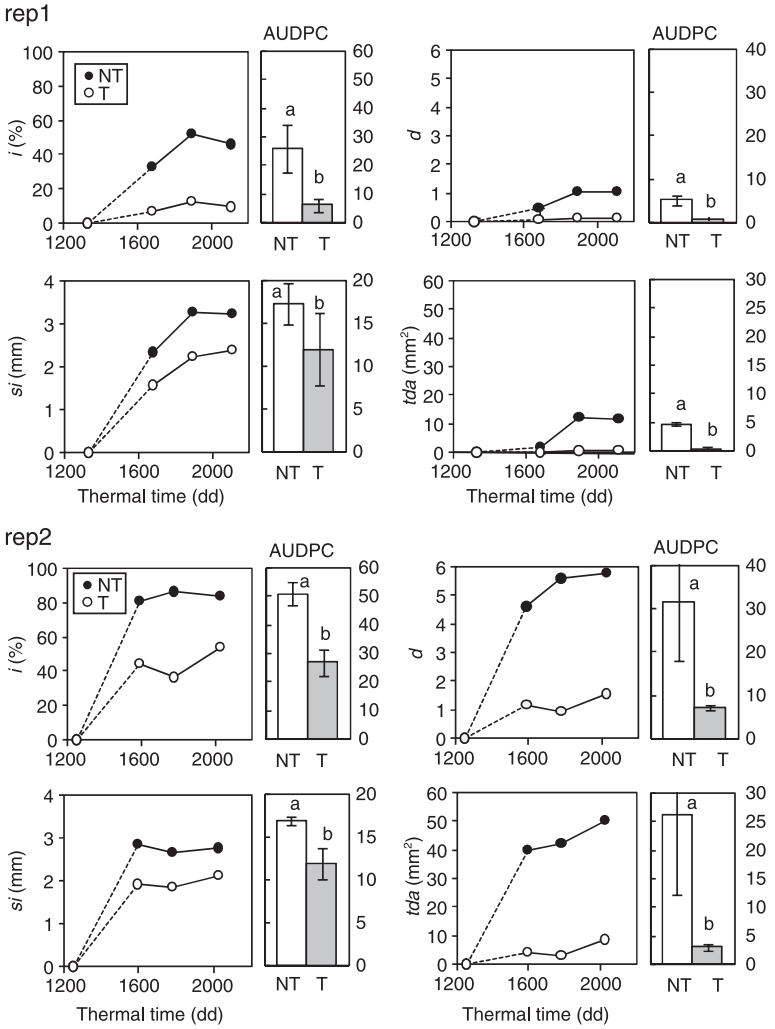


Figure 4 Effect of a fungicide application (mefenoxam) on the dynamics of carrot cavity spot alloinfections generated by *Pythium violae* in experimental microcosms. Three samples were taken 21, 33 and 46 days after transplantation of the donor root. Different lowercase letters indicate AUDPCs significantly different between treatments (NPAR1WAY, Wilcoxon-Mann-Whitney test, $P < 0{\cdot}1$). *i* is disease incidence, *d* lesion density, *si* symptom intensity and *tda* total diseased area. T, treated; NT, untreated controls.

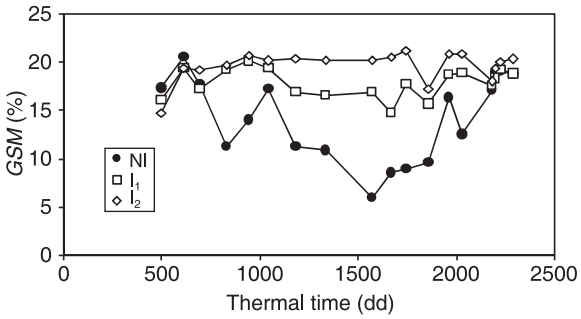


Figure 5 Monitoring of gravimetric soil moisture (*GSM*) generated by three irrigation levels in the field (Le Rheu, France, 2003). NI, non-irrigated control; I_1, medium irrigation level (about 200 L m^{-2} over 5 months); I_2, high irrigation level (about 600 L m^{-2} over 5 months).

and NT (Fig. 9). Terms α_T and α_{NT} increased with time and seemed to reach maxima in S2 ($16{\cdot}6 \times 10^{-3}$ and $9{\cdot}8 \times 10^{-2}$, respectively) and S3 ($15{\cdot}7 \times 10^{-3}$ and $8{\cdot}5 \times 10^{-2}$, respectively).

Effect of planting density on alloinfections

Disease severity, as measured by both *d* and *tda*, significantly increased with root density in rep 1 (Fig. 10), although differences were not significant in rep2 and rep3. The relationship $i = 100 \cdot (1 - \exp(-a(t) \cdot tda))$ was not significantly affected by planting density (data not shown).

Discussion

The occurrence of secondary infections in CCS was formally demonstrated through experiments (Suffert & Montfort, 2007) and modelling (Suffert, 2006, 2007). The current study assessed the relative importance of primary vs. secondary infections in the development of an epidemic, distinguishing autoinfection from alloinfection. Since the interactions between the main pathogenic *Pythium* species during the infection phase are non-significant (Suffert & Guibert, 2007), the epidemiological processes described here can probably be generalized whatever the composition and temporal fluctuations

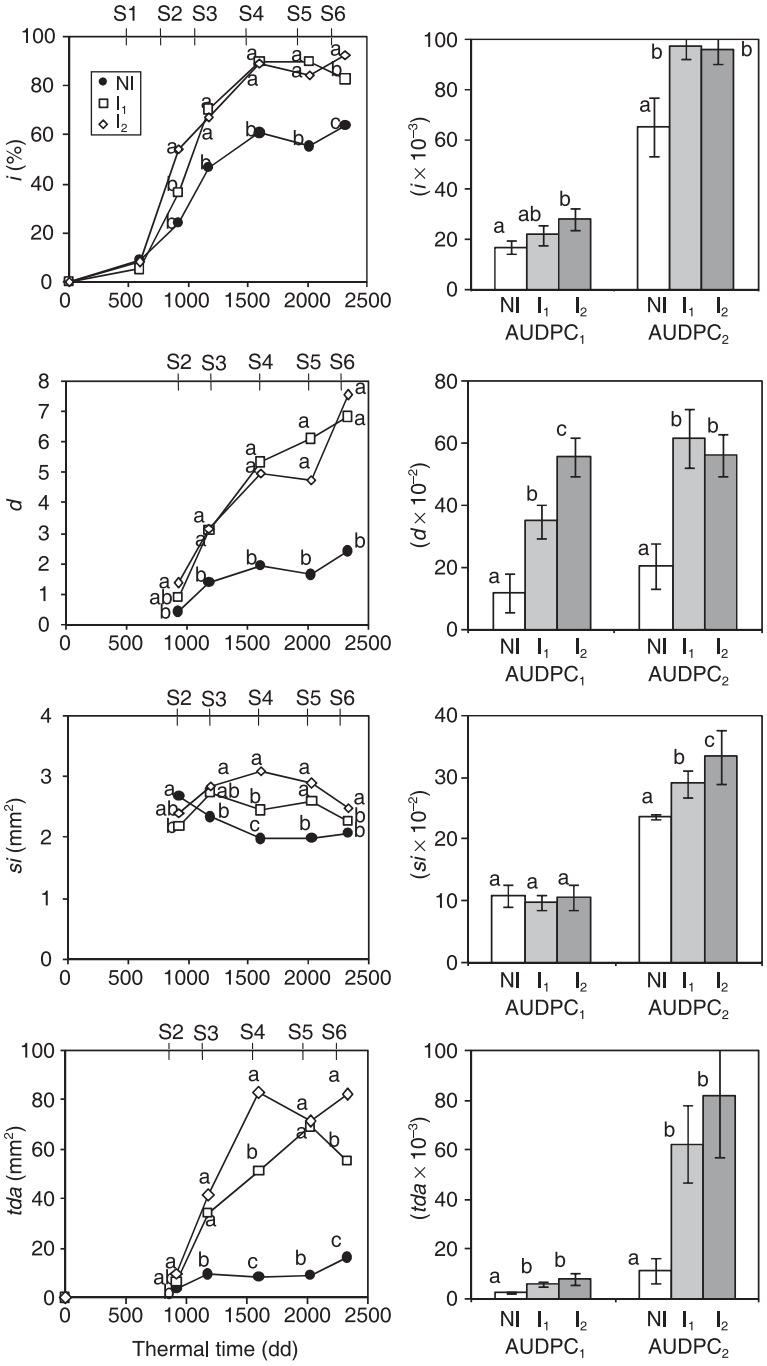


Figure 6 Effect of three soil moisture contents generated by different irrigation levels [NI, non-irrigated control; I_1, medium irrigation level (about 200 L m^{-2} over 5 months); I_2, high irrigation level (about 600 L m^{-2} over 5 months)] on the dynamics of a carrot cavity spot epidemic in the field (Le Rheu, France, 2003). Two intervals were distinguished to calculate AUDPCs [$AUDPC_1$ from S0 (sowing) to S3 (1181 degree days after sowing), and $AUDPC_2$ from S3 to S6 (2329 dd)]. Different lowercase letters indicate disease measurements at a specific time (ANOVA, Scheffe test, $P < 0{\cdot}05$) and AUDPCs (NPAR1WAY, Wilcoxon-Mann-Whitney test, $P < 0{\cdot}1$) significantly different between treatments. *i* is disease incidence, *d* lesion density, *si* symptom intensity and *tda* total diseased area.

in relative species abundance within the *Pythium* complex.

The fungicide field experiment showed that intermediate and late applications of mefenoxam were more effective on a CCS epidemic than an application immediately after sowing, suggesting that the fungicide primarily controlled secondary infections. This was confirmed by the microcosm experiment, in which mefenoxam applied late at a high dose (4 L ha^{-1}) was effective on alloinfections. However, this is not consistent with some field experiments showing that sprays applied at similar or later timings are generally less effective (Hiltunen & White, 2002), nor with the fact that the product is registered for use in the early stages of a CCS epidemic (applications on plants having two or four leaves), which both imply that mefenoxam should reduce primary infections. There is conflicting evidence in the literature about the performance of early sprays (Lyshol *et al*., 1984; Gladders & McPherson, 1986; McDonald, 1994), which might be caused in part by differences in soil types and soil moisture. If this is

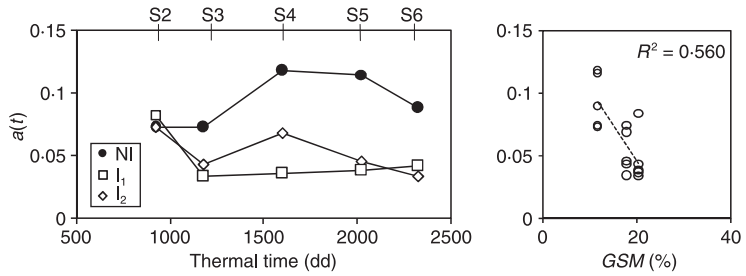


Figure 7 Effect of three soil moisture contents generated by different irrigation levels [NI, non-irrigated control; I_1, medium irrigation level (about 200 L m^{-2} over 5 months); I_2, high irrigation level (about 600 L m^{-2} over 5 months)] on the time-dependent parameter $a(t)$ in the relationship $i = 100 \cdot (1 - \exp(-a(t) \cdot tda))$ in a carrot cavity spot field epidemic (Le Rheu, France, 2003). Values of $a(t)$ were optimized by the method of minimization of sums of squares ($P < 0{\cdot}01$). t refers to thermal time (accumulated degree days from sowing, base 3·5°C). Mean GSM (gravimetric soil moisture) was calculated from 15 July to 30 September 2003. Different lowercase letters indicate mean values of $a(t)$ significantly different between treatments (NPAR1WAY, Wilcoxon-Mann-Whitney test, $P < 0{\cdot}1$).

the case, the erratic performance of early sprays could result from a deficit in controlling secondary infections (probably generated by motile zoospores) when the fungicide is applied to wet soils or during high rainfall, resulting in leaching and hence reduced activity. Because transplanted roots are not necessarily a mimic of natural infection, the results should be validated in commercial fields.

The higher levels of disease in irrigated than in non-irrigated plots, consistent with past reports (White, 1988; Vivoda *et al*., 1991; McDonald, 1994), point to a highly significant effect of these secondary infections in fuelling CCS epidemics. The data on increased disease severity and symptom intensity in moist treatments, confirming the observations of Benard & Punja (1995), point to the fact that soil moisture probably also favours lesion expansion, and thus has a pleiotropic effect on most epidemiological processes identified by Suffert (2006). Low soil moisture may reduce the number of primary infections during the earlier stages of the epidemic, preventing the pathogen from reaching the host, probably by impeding the growth of mycelium and strongly decreasing the spread of zoospores. The limiting effect of low soil moisture on CCS would then be less evident in non-zoosporic species, such as *P. violae*, than in zoosporic members of the CCS *Pythium* complex. A deficit of soil moisture also favours the healing of CCS lesions and reduces the number of lesions having a water-soaked appearance as a result of the maceration of superficial tissues (Campion *et al*., 1997). This reduces the potential for secondary infections, which increases with increasing lesion size (*si*) and increasing total diseased area (*tda*).

The steep gradient of alloinfections generated in microcosms (rep1) illustrated that root-to-root contaminations can largely affect the progression of a CCS epidemic: the narrower the plant spacing, the more efficient the spread of the pathogen, the less time needed for infection, and the higher the number of infected plants. During the first 10 days after transplanting the donor roots, the maximal daily air temperature oscillated around 25°C in rep1 (ranged from 21·5°C to 27·5°C), although it was stable around 20°C and never exceeded 22°C in rep2 and rep3. The optimum temperature for *P. violae* was found to be 19°C by Suffert & Guibert (2007), while other authors showed it was about 15°C (Montfort & Rouxel, 1988) or ranged from 20°C to 25°C (Van der Plaats-Niterink, 1981; Schrandt *et al*., 1994). Thus, the conditions of development of *P. violae* were limiting in rep1, but optimal in rep2 and rep3. The mean root-to-root distance has a strong impact when edaphic conditions (soil moisture and temperature) limit the movement of *Pythium* propagules to host tissue; however, when conditions are optimal, the mycelium can grow from a CCS lesion through the sandy soil and easily reach the adjacent roots, whatever the planting density (up to a mean root-to-root distance of about 10 cm). The latency period for alloinfections ranged from 1 to 2 weeks, and the minimum root-to-root distance for alloinfection after 5 weeks exceeded 90 mm. Although White (1988) suggested that high plant densities may facilitate root-to-root spread and lead to greater levels of CCS, Vivoda *et al*. (1991) established no significant differences in the incidence of CCS among three plant densities. Such discrepancy is probably caused by differences in environmental conditions (edaphic and cropping factors), illustrated here by the heterogeneous results between rep1, rep2 and rep3.

Plant density generally increases the development of several soilborne plant pathogens; however, most authors failed to take the planting geometry into account besides actual density, resulting in the erroneous conclusion that disease incidence is inversely proportional to root spacing (Gibson, 1956; Scott, 1956). Clark & Ewans (1954) established a non-linear relationship between mean planting density (D) and mean root-to-root distance (L) when roots are uniformly distributed:

$$L = 0{\cdot}5 \cdot D^{-0.5} \qquad (5)$$

However, two crops with a constant D can differ in L, because the relationship also depends on the width of the row and on the geometry of the planting pattern. This was indirectly suggested by Crowe & Hall (1980) and Firman & Allen (1995), who showed that the rate of root-to-root

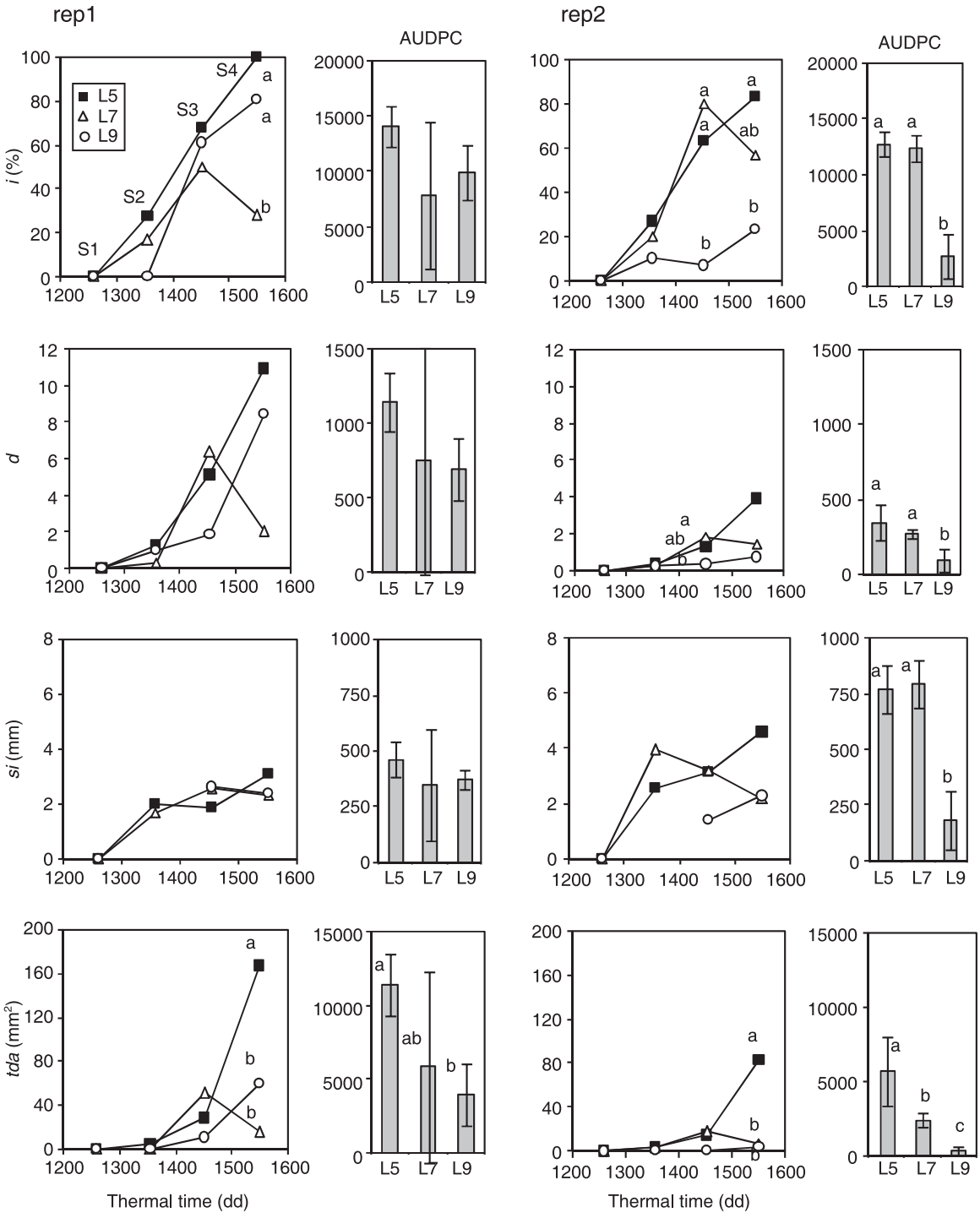


Figure 8 Effect of the distance between donor and receptor plants (L5, 50 mm; L7, 70 mm; or L9, 90 mm) on the dynamics of carrot cavity spot alloinfections generated by *Pythium violae* in experimental microcosms. Samples were taken 1, 2, 3 and 4 weeks after transplantation of the donor roots (S1, S2, S3 and S4, respectively). Different lowercase letters indicate disease measurements at a specific time (ANOVA, Scheffe test, $P < 0{\cdot}05$) or respective AUDPCs (NPAR1WAY, Wilcoxon-Mann-Whitney test, $P < 0{\cdot}1$) significantly different between treatments. *i* is disease incidence, *d* lesion density, *si* symptom intensity and *tda* total diseased area.

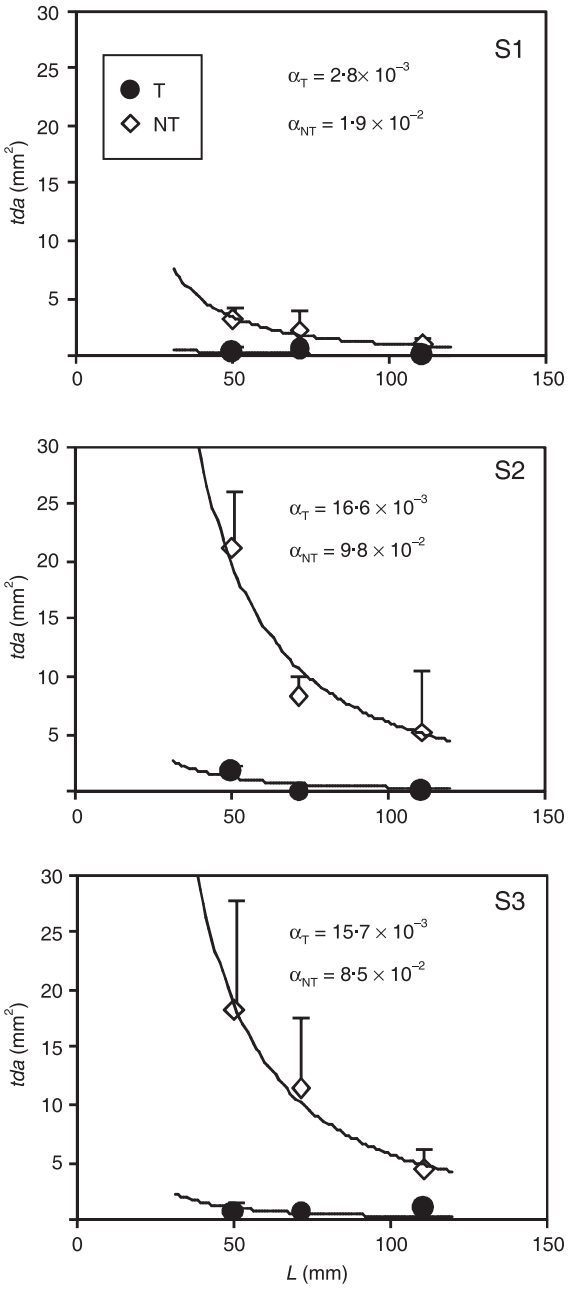


Figure 9 Dispersal gradient of carrot cavity spot alloinfections generated by *Pythium violae* in experimental microcosms. The power law model given by $tda = \alpha \cdot L^{-\gamma}$ was fitted with $\gamma = 1{\cdot}72$; *tda* is the total diseased area and *L* the distance between the receptor root and the nearest donor root. Three samples were taken 21, 33 and 46 days after transplantation of the donor root (S1, S2 and S3, respectively). T, plots treated with mefenoxam; NT, untreated control plots.

contamination is intrinsically influenced by both distance between roots and spatial arrangement. Because carrots are grown to meet a particular specification of root size, quality and yield, reducing seed density in commercial crops is not a realistic prospect; wider spacing would increase root size. However, it may be possible to devise planting patterns that increase the mean root-to-root distance at a constant mean linear density, and then decrease the potential for alloinfections.

An integrated disease management (IDM) system based on the epidemiology of CCS and a combination of cultural methods, such as optimizing fungicide application, date of harvest vs. soil moisture contents, and host density vs. planting pattern, seems to be a promising and sustainable way to control CCS. Synergistic effects of methods should be identified and applied, especially when they act on different stages of the epidemic. Of course, the current discussion should not understate the importance of primary infections. Even small lesions make roots unmarketable and crop losses ensue when the percentage of roots affected becomes too great to be sorted on the grading line. If secondary infections arising from primary ones are considered, the primary lesions become even more important. Quantification of soil inoculum during the life of the crop is thus a fundamental factor to include in an efficient IDM system. For a polycyclic disease such as CCS, the most effective strategies must combine methods that complement each other and reduce rates of primary infection, secondary infection and lesion expansion. Mefenoxam may be able to reduce alloinfections when sprayed during the cropping season, and thus slow the progression of CCS in time and space down. However, the failure of metalaxyl or mefenoxam to control CCS, associated with its reduced persistence in soil (Davison & McKay, 1999), has reduced the efficacy of fungicides on farms, so that targeting key infection processes and optimizing dates of applications has become more important. A deficit of soil moisture can reduce both primary and secondary infections, but this is difficult to control because of natural rainfall, and can also affect markedly plant growth. Growers can only reduce soil moisture by methods such as drainage, soil ridging or raised beds. However, an awareness of the soil moisture content during the storage of carrots in the field in winter is essential; the choice of harvest date is an indirect means to manage soil moisture effects in the development of CCS. Therefore, control through a sowing pattern that reduced the mean root-to-root distance may have significant advantages. Unlike decreasing inoculum density, which can only affect the number of primary infections, reducing plant spacing may decrease the rate of transmission through space.

Acknowledgements

This work was supported by the INRA Plant Health and Environment Department, in part by grants from the ICP project 2001–2003 (Integrated Crop Protection). We thank Micheline Leray, André Mouton, and Christian Guérin for technical assistance, Françoise Montfort, Marie Gosme, Danielle Breton, and Lydia Bousset-Vaslin for helpful discussions, and anonymous referees for constructive criticism of the manuscript.

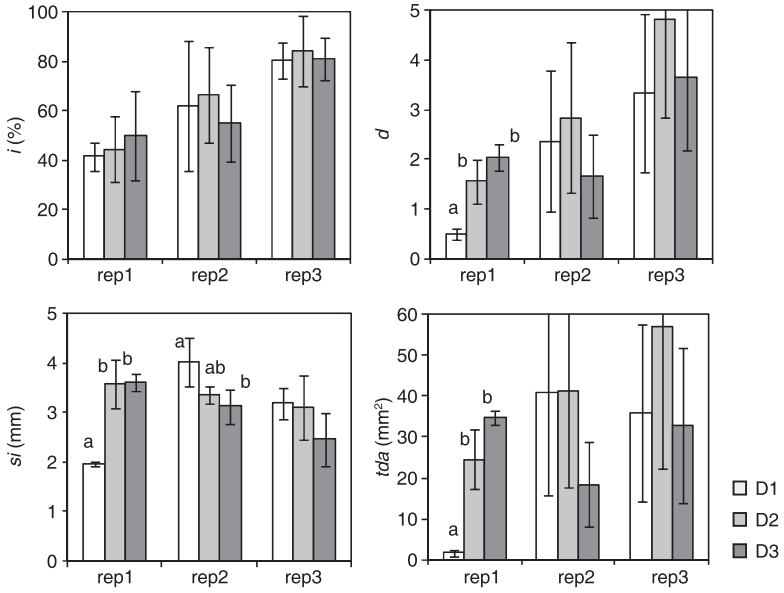


Figure 10 Effect of planting density on the dynamics of carrot cavity spot alloinfections generated by *Pythium violae* in experimental microcosms. D1 = eight receptor roots, D2 = 16 receptor roots, and D3 = 31 receptor roots. The experiment was carried out three times. Different lowercase letters indicate disease measurements at a specific time significantly different between treatments (ANOVA, Scheffe test, $P < 0{\cdot}05$). *i* is disease incidence, *d* lesion density, *si* symptom intensity and *tda* total diseased area.

References

Benard D, 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, Rouxel F, 1993. Données récentes sur le cavity spot de la carotte en France. *Acta Horticulturae* **354**, 159–70.

Burdon JJ, Chilvers GA, 1975. 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**, 899–904.

Campbell CL, Madden LV, 1990. *Introduction to Plant Disease Epidemiology*. New York, USA: John Wiley & Sons.

Campion C, Massiot P, 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**, 725–35.

Clark PJ, Ewans FC, 1954. Distance to nearest neighbour as a measure of spatial relationships in populations. *Ecology* **35**, 445–53.

Cook RJ, Papendick RI, 1972. Influence of water potential of soils and plants on root disease. *Annual Review of Phytopathology* **10**, 349–74.

Crowe FJ, Hall DH, 1980. Vertical distribution of sclerotia of *Sclerotium cepivorum* and host root systems relative to white rot of onion and garlic. *Phytopathology* **70**, 70–3.

Davison EM, McKay AG, 1999. Reduced persistence of metalaxyl in soil associated with its failure to control cavity spot of carrots. *Plant Pathology* **48**, 830–5.

Firman DM, 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**, 73–85.

Gibson IAS, 1956. Sowing density and damping-off in pine seedlings. *East African Agriculture Journal* **21**, 183–8.

Gladders P, McPherson GM, 1986. Control of cavity spot in carrots with fungicides. *Aspects of Applied Biology* **12**, 223–33.

Griffin DM, 1969. Soil water in the ecology of fungi. *Annual Review of Phytopathology* **7**, 289–310.

Guba EF, Young RE, Ui T, 1961. Cavity spot disease of carrots and parsnip roots. *Plant Disease Reporter* **45**, 102–5.

Hiltunen LH, White JG, 2002. Cavity spot of carrot (*Daucus carota*). *Annals of Applied Biology* **141**, 201–23.

Huang HC, Hoes JA, 1980. Importance of plant spacing and sclerotial position to development of Sclerotinia wilt of sunflower. *Plant Disease* **64**, 81–4.

Koch DO, Jeger MJ, Gerik TJ, Kenerley CM, 1987. Effects of plant density on progress of Phymatotrichum root rot in cotton. *Phytopathology* **77**, 1657–62.

Littley ER, Rahe HJ, 1987. Effect of host plant density on white rot of onion caused by *Sclerotium cepivorum*. *Canadian Journal of Plant Pathology* **9**, 146–51.

Lyshol AJ, Semb L, Taksdal G, 1984. Reduction of cavity spot and root dieback in carrots by fungicide applications. *Plant Pathology* **33**, 193–8.

McDonald MR, 1994. *Cavity Spot of Carrot (*Pythium *spp.): Etiology, Epidemiology and Control*. Guelph, Canada: University of Guelph, PhD thesis.

Montfort F, Rouxel F, 1988. La maladie de la tache de la carotte due à *Pythium violae*: données symptomatologiques et étiologiques. *Agronomie* **8**, 701–6.

Perry DA, 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**, 109–15.

SAS, 2000. *Statistical Analysis System, SAS/STAT User's Guide, Version 8·1*. Cary, NC, USA: SAS Institute Inc.

Schrandt JK, Davis RM, Nunez JJ, 1994. Host range and influence of nutrition, temperature and pH on growth of *Pythium violae* from carrot. *Plant Disease* **78**, 335–8.

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**, 584–9.

Shaner G, Finney RE, 1977. The effect of nitrogen fertilization on the expression of slow-mildewing resistance in Knox wheat. *Phytopathology* **67**, 1051–6.

Smith VL, Campbell CL, Jenkins SF, Benson DM, 1988. Effects of host density and number of disease foci on epidemics of southern blight of processing carrot. *Phytopathology* **78**, 595–600.

Soroker E, Bashan Y, Okon Y, 1984. Reproducible induction of cavity spot in carrots and physiological and microbial changes occurring during cavity formation. *Soil Biology and Biochemistry* **16**, 541–8.

Stanghellini ME, 1974. Spore germination, growth and survival of *Pythium* in soil. *Proceedings of the American Phytopathology Society* **1**, 211–4.

Suffert F, 2006. *Epidémiologie du Cavity Spot de la Carotte. Perspectives d'Application en Protection Intégrée*. Rennes, France: Agrocampus Rennes, PhD thesis, [http://tel.archives-ouvertes.fr/tel-00119268].

Suffert F, 2007. Modélisation de cinétiques de la maladie de la tache de la carotte provoquée par un complexe du genre *Pythium* dominé par le *Pythium violae*. *Canadian Journal of Plant Pathology* **29**, 41–55.

Suffert F, Guibert M, 2007. The ecology of a *Pythium* community in relation to the epidemiology of carrot cavity spot. *Applied Soil Ecology* **35**, 488–501.

Suffert F, Montfort F, 2007. Demonstration of secondary infection by *Pythium violae* in epidemics of carrot cavity spot using root transplantation as a method of soil infestation. *Plant Pathology* **56**, 588–94.

Van der Plaats-Niterink AJ, 1981. Monograph of the genus *Pythium*. *Studies in Mycology* **21**, 1–242.

Vivoda E, Davis RM, Nunez JJ, Guerard JP, 1991. Factors affecting the development of cavity spot of carrot. *Plant Disease* **75**, 519–22.

White JG, 1988. Studies on the biology and control of cavity spot of carrots. *Annals of Applied Biology* **113**, 259–68.

Willocquet L, Savary S, 2004. An epidemiological simulation model with three scales of spatial hierarchy. *Phytopathology* **94**, 883–91.

Zadoks JC, Schein RD, 1979. *Epidemiology and Plant Disease Management*. Oxford, UK: Oxford University Press.

CHAPITRE VII

Perspectives d'application et de modélisation

A. Suffert F (2005) Cadre théorique de la notion de complémentation caractérisant des stratégies de protection des cultures. *Phytoprotection*, 86(2): 89-92.

B. Perspectives d'application à la protection intégrée de carottes (non publ.)

C. Modelling cavity spot epidemics (non publ.)

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.

Cadre théorique de la notion de complémentation caractérisant des stratégies de protection des cultures

Frédéric Suffert[1]

Reçu 2005-07-27; accepté 2005-08-29

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 « complémentation », 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 « complémentation » sont liés aux conséquences, à la nature, voire à l'origine de la combinaison de méthodes.

Mots clés : Additivité, compatibilité, complémentarité, méthodes de protection, protection intégrée, supplétivité.

[A theoretical approach to the "complementation" notion concerning strategies of crop protection]

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 "complementation" 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 "complementation" are related to consequences, nature, and even to the basis for combining the methods.

Keywords: Additivity, compatibility, complementarity, integrated control, methods of protection, suppletivity.

1. INRA, UMR Biologie des Organismes et des Populations Appliquée à la Protection des Plantes (BiO3P), Domaine de la Motte, F-35653 Le Rheu cedex, France; Courriel : Frederic.Suffert@rennes.inra.fr

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 réservant la priorité à la mise en œuvre délibérée des éléments naturels de limitation et en respectant les seuils de tolérance (Bajwa et Kogan 1996; Ferron 1999; OILB/SROP 1973). 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. Toutefois, 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, n'ont favorisé que l'utilisation raisonnée des pesticides (Way et 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 (Deguine et Ferron 2004; Ehler et Bottrell 2000; Ferron 1999; Jacobsen 1997). 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.

Complémentarité

Des méthodes de lutte sont dites « complémentaires » lorsque leurs mécanismes d'action respectifs se complémentent 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 par 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 ou d'organes montés en vue d'un fonctionnement d'ensemble (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 et 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) (Campbell et Benson 1994; Davet 1996).

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 protection 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 qui 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.

Compatibilité
Des méthodes de lutte sont dites « compatibles » lorsque leurs propriétés respectives se complémentent qualitativement : de par 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 être incompatible avec le fait que le contexte de production soit non mécanisé, par exemple, dans un pays en voie de développement 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 et 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 et 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 règlementaires); 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.

Supplétivité
Des méthodes de lutte sont dites « supplétives » lorsque les échelles temporelles ou spatiales auxquelles elles agissent se complémentent 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 (Robert 2001). Par extension sémantique, nous considérerons qu'une compensation de méthode par une autre peut à la fois être basée sur des considérations temporelles et spatiales. 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 par des échelles de temps plus longues (caractère stratégique). Des méthodes de lutte peuvent ainsi à la fois être efficaces sur les phases polycycliques (plusieurs cycles par an) et polyétiques (à récurrence pluriannuelle) d'une épidémie : par exemple, l'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 (Bailey et Gilligan 1999; Campbell et Benson 1994) : mobilisation de l'inoculum du sol, intensification des attaques et extensification des attaques (contaminations de racines à racines). De la même manière, d'un point de vue spatial, des moyens de lutte peuvent aussi être « supplétifs » puisqu'ils peuvent avoir 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 natures (processus et mécanismes d'action, effets et conséquences, nature et propriétés des moyens, échelles temporelles et spatiales d'expression).

Comme l'ont constaté Ehler et Bottrell (2000), juxtaposer différentes méthodes de lutte ne signifie pas pratiquer la lutte intégrée et certaines incompatibilités peuvent avoir de graves conséquences sur la stabilité d'un agroécosystème, au-delà d'une simple inefficacité ou du 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, se complètent 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 de caractériser la façon de mieux les agencer pour obtenir davantage d'efficacité et de durabilité.

RÉFÉRENCES

Bailey, D.J. et C.A. Gilligan. 1999. Dynamics of primary and secondary infection in take-all epidemics. Phytopathology 89 : 84-91.

Bajwa, W.L. et M. Kogan. 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, C.L. et D.M. Benson. 1994. Epidemiology and management of root diseases. Springer Verlag, Heidelberg. 344 pp.

Davet, P. 1996. Vie microbienne du sol et production végétale. INRA Éditions, Paris. 383 pp.

Deguine, P.J.P. et P. Ferron. 2004. Protection des cultures et développement durable: bilan et perspectives. Pages 33-41 *in* Colloque « Développement durable : leçons et perspectives », Ouagadougou. [http://www.francophonie-durable.org/documents/colloque-ouaga-a3-contribution-deguine.pdf] [consulté le 29 août 2005].

de Wit, C.T. et H. van Keulen. 1987. Modelling production of field crops and its requirements. Geoderma 40 : 253-265.

Ehler, L.E. et D.G. Bottrell. 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].

Ferron, P. 1999. Protection intégrée des cultures : évolution du concept et de son application. Les Dossiers de l'environnement, n° 19. [http://www.inra.fr/dpenv/ferpid19.htm] [consulté le 29 août 2005].

Jacobsen, B.J. 1997. Role of plant pathology in integrated pest management. Annu. Rev. Phytopathol. 35 : 373-391.

McRoberts, N., G. Hughes et S. Savary. 2003. Integrated approaches to understanding and control of diseases and pests in field crops. Australas. Plant Pathol. 32 : 167-180.

OILB-SROP. 1973. Statuts. Bull. SROP, 1973/1. 25 pp.

Robert, P. 2001. Le Petit Robert, Dictionnaire de la langue française, Paris. 2841 pp.

Way, M.J. et H.F. Emden. 2000. Integrated pest management in practice – pathways towards successful application. Crop Prot. 19 : 81-103.

Zadoks, J.C. et R.D. Schein. 1979. Epidemiology and plant disease management. Oxford University Press, 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 intégrée[1], 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 complémentation 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.

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).



- 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 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 (Figure VII-3 et VII-4). Selon le type de production, la densité 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 parait 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.

Figure VII-3 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 ».

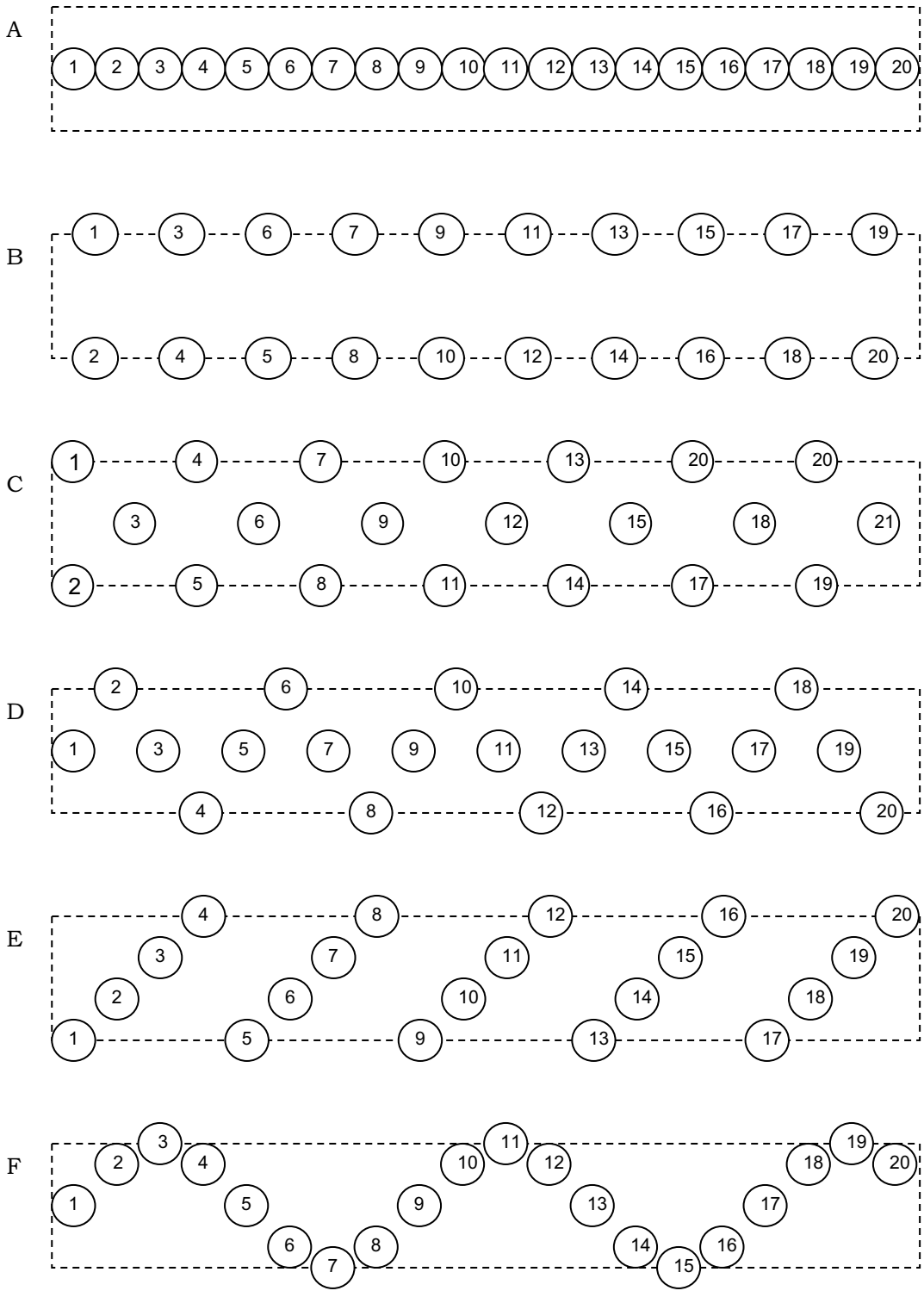


Figure VII-4 Distances moyennes théoriques entre racines pour six structures de semis en fonction du nombre de plantes prises en compte dans le calcul (1 à 8).

Cas de six structures géométriques de semis ayant la même densité linéaire moyenne (largeur de rang constante) ; les structures A à F sont décrites à la Figure VII-3 ; L est la distance moyenne entre racines.

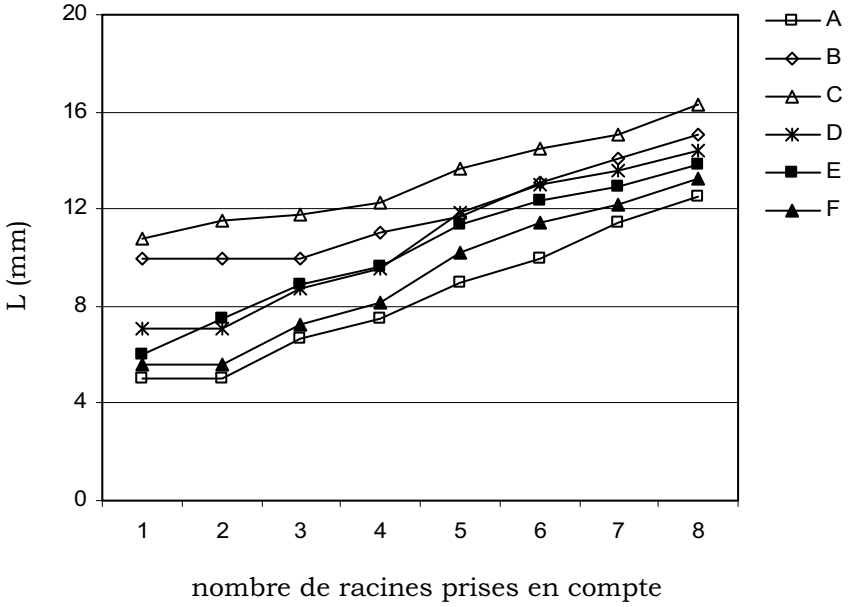


Tableau VII-1 Effets des facteurs environnementaux et culturaux les plus significatifs sur le développement d'une épidémie de cavity spot.

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.

Processus affecté / *Facteurs*	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.

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 complémentation

Exploiter la « complémentation » 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.

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 complémenter. 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.

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 inoculum[1] (*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 roots[2].
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 (Willocquet & 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 inital 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] Démontré expérimentalement au Chapitre V.

[2] Voir Chapitre V p. 151.

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 results in the development of CCS lesions. In principle, positive effects of adventitious roots on alloinfection are plausible[3], 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 area[4] (*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 alloinfections[5]:

$$\frac{dI}{dt} = \frac{dIp}{dt} + \frac{dIsauto}{dt} + \frac{dIsallo}{dt} \qquad (1)$$

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. 151.

[4] Voir Chapitre III p. 89.

[5] Voir Chapitre I p. 71.

$$\frac{dTDA_r}{dt} = \frac{dTDAp_r}{dt} + \frac{dTDAsauto_r}{dt} + \frac{dTDAsallo_r}{dt} \qquad (2)$$

$$TA_r = TSA_r + TDA_r \qquad (3)$$

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:

$$\frac{dTDA}{dt} = \frac{dTDAp}{dt} + \frac{dTDAsauto}{dt} + \frac{dTDAsallo}{dt} \qquad (4)$$

where *TDAp*, *TDAsauto*, and *TDAsallo* 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-5 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.

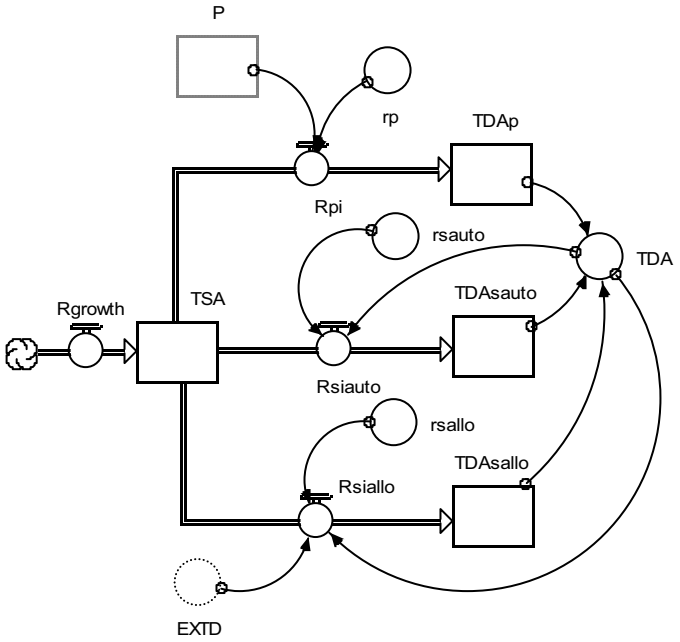


Figure VII-5 – Structure of the preliminary simulation model for CCS epidemics.

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 season[6]. 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).

$$\frac{dTDA}{dt} = Rle.\left(\frac{dTDAp}{dt} + \frac{dTDAsauto}{dt} + \frac{dTDAsallo}{dt}\right) \qquad (6)$$

$$\frac{dTDA}{dt} = Rle.\left(rp.P.\left(\frac{TSA}{TSA+TDA}\right) + rsauto.\left(\frac{TSA}{TSA+TDA}\right).TDA + rsallo.EXTD.\left(\frac{TSA}{TSA+TDA}\right).TDA\right) \qquad (7)$$

[6] Voir Chapitre VI p. 168.

The Figure VII-4 illustrates the structure of the sub-model of lesion extension.

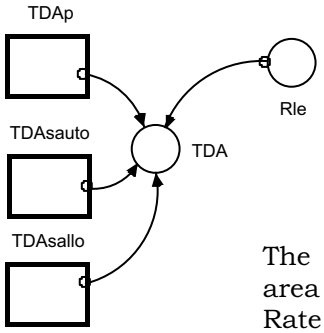


Figure VII-6 – Sub-model of lesion extension.

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-5 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 roots[7]:

$$\mathrm{EXTD} = \frac{1}{\mathrm{R}} . \sum_{r=1}^{R} \left(\sum_{n=1}^{N} \rho . (\mathrm{L_i} - \mathrm{DIAM})^{-\gamma} \right) \qquad (8)$$

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. 173.

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 distance[7] is supposed to be identical for each carrot root.

Then,

$$EXTD = \rho.(Lm - DIAM)^{-\gamma} \qquad (9)$$

where *Lm* is the mean inter-root distance.

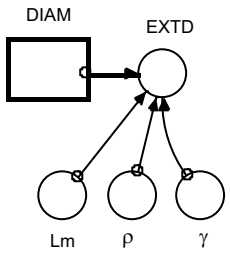


Figure VII-7 – Sub-model of the function 'root density' effect for disease extensification.

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-5 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 grown[8]:

$$\frac{dP}{dt} = Pdecay = -RRdecay.P \qquad (10)$$

where *Pdecay* is the rate of decay of the primary inoculum and *RRdecay* the relative rate of primary inoculum.

[8] Voir Chapitre IV p. 134.

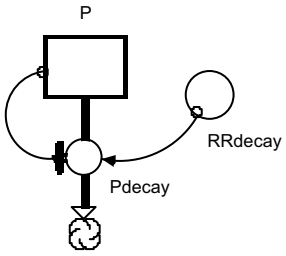


Figure VII-8 – Sub-model of primary inoculum decay.

The decrease of the amount of primary inoculum (*P*) is represented. The rate of decay of the primary inoculum (*Pdecay*) has been incorporated. See Table VII-2 for meaning of abbreviations and dimensions; see Figure VII-5 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*):

$$\frac{dTDA}{dt} = \left(Rle.\left(rp.P. + rsauto.TDA + rsallo.EXTD.TDA\right).COFR\right)^{ACC} \qquad (11)$$

with:

$$COFR = \left(1 - \frac{TDA}{TSA + TDA}\right) = \frac{TSA}{TSA + TDA} \qquad (12)$$

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.

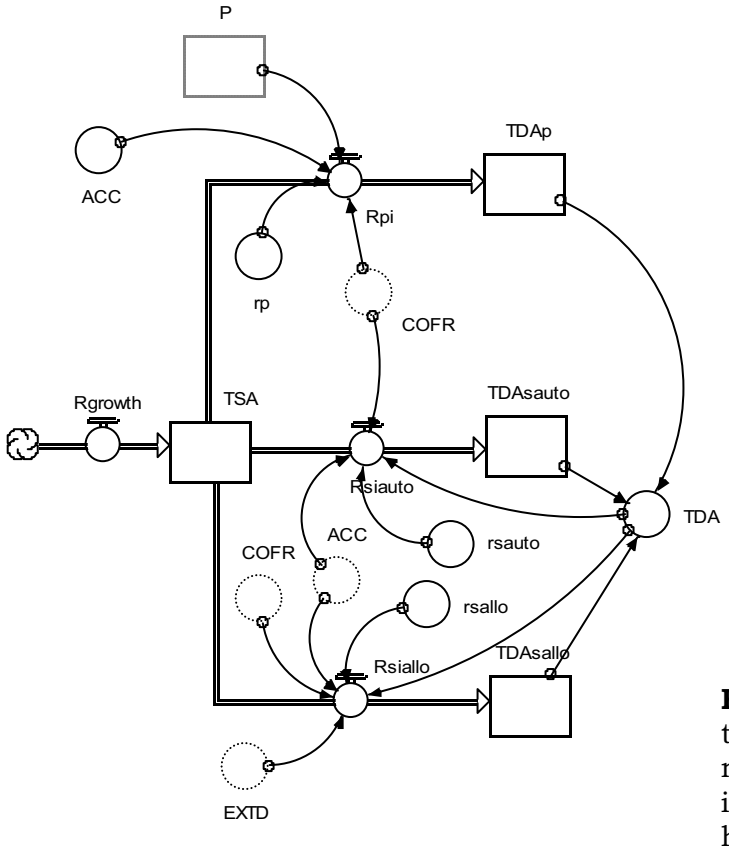


Figure VII-9 – Structure of the preliminary simulation model for CCS epidemics including accessibility of healthy tissues to infection.

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-5 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 ½ 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.

$$\text{Rgrowth} = \frac{\text{dTA}}{\text{dt}} = \text{Rgr.TA.}(1 - \frac{\text{TA}}{\text{TA max}}) \qquad (13)$$

where *Rgrowth* is the growth rate of the total area of root (*TA*) and *TAmax* represents the maximum total area attainable by the root (Figure VII-10).

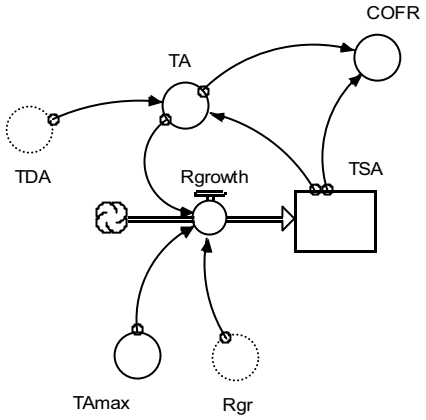


Figure VII-10 – Sub-model of carrot growth and estimation of the correction factor *COFR*.

The growth of a carrot is represented by the growth of the total taproot area (*TA*). 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-5 for meaning of symbols.

$$\text{Rdiam} = \frac{\text{dDIAM}}{\text{dt}} = \text{Rgr.DIAM.}(1 - \frac{\text{DIAM}}{\text{DIAM max}}) \qquad (14)$$

where *Rdiam* is the growth rate of the mean diameter (*DIAM*) and *DIAMmax* represents the mean maximum diameter attainable by a mature carrot root (Figure VII-11).

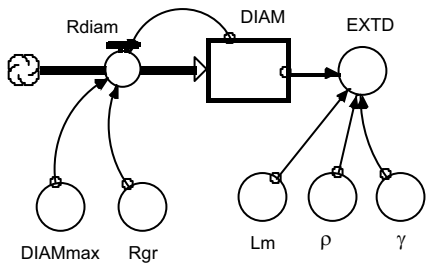


Figure VII-11 – Sub-model of carrot growth and estimation of the function 'root density' effect.

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-7 has been incorporated. See Table VII-2 for meaning of abbreviations and dimensions; see Figure VII-5 for meaning of symbols.

2.4.2. Cultural and environmental factors

Effect of seedling density[10] was taken into account previously with the function *EXTD*, included in the structure of the preliminary simulation model (Figure VII-5). Other external functions such as the effect of soil moisture[11] (*MOIS*), the effect of lethal or very limiting temperature[12] (*TEMP*), and the effect of fungicide treatment[13] (*FUNG*) are considered to have an impact on different pathways of disease transmission. Rates of infection (*Rpi*, *Rsiauto*, and *Rsiallo*) 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 measurements[14] 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-12).

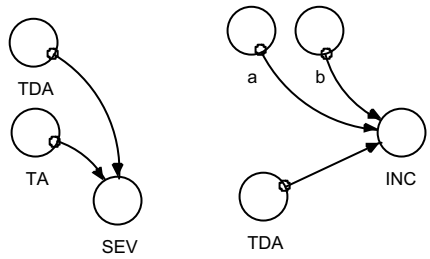


Figure VII-12 – Model output and pathometrical relationship.

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-5 for meaning of symbols.

The complete exploratory compartmental state-variable model is presented in Figure VII-13.

[10] Voir Chapitre VI p. 166.

[11] Voir Chapitre VI p. 170.

[12] Voir Chapitre IV p. 131.

[13] Voir Chapitre VI p. 167.

[14] Voir Chapitre II p. 89.

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 Performence 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 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 *si*, 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 proposions ; 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 radiculaire 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 culturaux 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 culturaux, 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 secondaire 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 « complémentation » 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 supplétivité). 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 culturale 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 complémentation.

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

Agreste (2002) Répartition de la production française de carottes en 2002. 7 pp.

Agrios G (2005) Plant pathology. 5th edition. Elsiever, 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 aventitious 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 Planzenkrankenheit 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 & Soon, 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 adjustement 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 od 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.

Davsion EM et McKay AG (2003) Host range of *Pythium sulcatum* and the effects of rotation on *Pythium* diseases of carrots. Autralasian 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 Agrobiolgia 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 avanced 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 ecologiques de la protection des cultures: gestion des populations et amenagement 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 Witzenberger 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 combinating 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 Knaflewski M (2004) Preliminary model of carrot growth. Acta Horticulturae 654: 235-241.

Lackner AL et Alexander SA (1984) Incidence and development of *Verticicladiella procera* 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, Pattterson 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 consequencesof environmental heterogeneity for biological control. Bulletin of the of the Entomology Society of America 15: 237-240.

Lewis JA et Lumsden RD (1984) Reduction of preemergence damping-off of peas caused *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.

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 Washignton 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 Performence 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.
Steinhosrt 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 *Polymaxa 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.

Willocquet 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) Synergisn between plant viruses: a mathematical analysis of the epidemiological implications. Plant Pathology 50: 732-746.

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

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.

Discipline - Epidémiologie Végétale

Unité - UMR BiO3P INRA/Agrocampus Rennes, Domaine de la Motte, F-35653 Le Rheu

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 a conduit un programme de recherches sur l'épidémiologie du cavity spot entre 2001 et 2007.