tel-00913095, version 1 - 3 Dec 2013

N° ordre : 2012-22
N° Série : D-66

THESE / AGROCAMPUS OUEST

Sous le label de l'Université Européenne de Bretagne

pour obtenir le diplôme de :

DOCTEUR DE L'INSTITUT SUPERIEUR DES SCIENCES AGRONOMIQUES, AGRO-ALIMENTAIRES, HORTICOLES ET DU PAYSAGE

Spécialité : Biologie et Agronomie

Ecole Doctorale : Vie-Agro-Santé

présentée par :

Benjamin RICHARD

Analyse des interactions dynamiques entre le développement de la plante hôte, l'architecture du couvert et le développement d'une épidémie de maladie fongique aérienne : cas du pathosystème pois/ascochytose

soutenue le 19 Novembre 2012 devant la commission d'Examen

Composition du jury :

E. COSTES	Directrice de recherche, INRA	Rapporteur
I. SACHE	Chargé de recherche, HDR, INRA	Rapporteur
M. MANZANARES-DAULEUX	Professeur, Agrocampus Ouest	Examinateur
M. SAUDREAU	Chargé de recherche, INRA	Examinateur
R. FAIVRE	Directeur de recherche, INRA	Co-directeur de thèse
B. TIVOLI	Ingénieur de recherche, HDR, INRA	Directeur de thèse

tel-00913095, version 1 - 3 Dec 2013

Remerciements

Cette thèse a été financée par une bourse mixte Inra (départements Santé des Plantes et Environnement et Mathématiques et Informatique Appliquées), la région Bretagne et l'Union Nationale Interprofessionnelle des plantes riches en Protéines (UNIP). Elle s'est déroulée majoritairement à la station Inra de Rennes-Le Rheu avec des séjours ponctuels à l'Inra de Toulouse sur le site de Castanet-Tolosan. Je remercie donc Jean-Christophe Simon puis Denis Tagu pour l'UMR 'Biologie des Organismes et des Populations appliquée à la Protection des Plantes' (BiO3P) devenu 'Institut de Génétique, Environnement et Protection des Plantes' (IGEPP) en cours de route, et Régis Sabbadin pour l'UPR 'Biométrie et Intelligence Artificielle' de m'avoir accueilli au sein de leurs unités.

Tout d'abord, je voudrais remercier mes directeur et co-directeur de thèse, Bernard Tivoli, ingénieur de recherche à l'Inra de Rennes, et Robert Faivre, directeur de recherche à l'Inra de Toulouse, d'avoir fait confiance à un novice tel que moi en pathologie végétale pour ce sujet de thèse et d'avoir fait preuve de patience. Merci pour toutes les connaissances que vous m'avez transmises, autant dans un domaine spécifique que dans la recherche scientifique en général.

De nombreuses personnes ont collaboré à ce travail sans qui tout ceci n'aurait pu aboutir. L'ordre qui va suivre n'a pas d'importance et j'espère que je n'oublierai personne... Un grand merci à Stéphane Jumel pour ces trois années et sa maîtrise pour l'implémentation des essais au champ ainsi que son aide et ses connaissances sur la plante et le pathogène. Merci également à François Rouault, parti trop tôt (pour une mutation en interne, NDA) pour sa gestion des acquisitions des données météorologiques et l'entretien des appareils, brillamment remplacé par Christophe Langrume, que je remercie également pour l'analyse des données. Merci à Christophe Le May, qui m'a mis en confiance dès mon arrivée et qui m'a beaucoup aidé pour mon premier colloque international (et les suivants également). Merci également à Caroline Onfroy, pour son aide pour les essais en conditions contrôlées et sa gentillesse, à Alain Baranger pour ses conseils ainsi qu'aux autres membres du groupe pois, en particulier, Anne Moussart, Marie-Noëlle Even et Michèle Guibert pour leur participation à des réunions techniques et leur soutien. Un grand merci également aux gens du domaine expérimentale pour l'implémentation des essais, les personnes qui nous ont soumis les semences et enfin tous les 'main d'œuvre occasionnelle' (Marine, Camilla, Anne-Lucie, Pauline, Camille, Jonas, Anthony, Cécile) pour les (longues) heures à noter les chiffres dictés et/ou compter des spores (entre autres). Un immense merci à Pierre Casadebaig pour toute son aide lors de ma thèse et les explications sur le modèle Archidemio. Merci également à Didier Andrivon, pour ses conseils et remarques pertinents, Agnès Calonnec pour m'avoir initié à la méthode d'analyse PLS-PM (et au ski de fond) et Laura Trinchera pour m'avoir accordé du temps pour réfléchir à comment l'utiliser sur mon modèle d'étude. Je remercie François Buissière, pour son aide sur l'interprétation des données microclimatiques ainsi que Sébastien Saint-Jean et Marc Saudreau ainsi que toutes les personnes que j'ai pu croiser au sein du projet Archidemio (je pense notamment à Sébastien Guyader et Philippe Cartolaro) et du réseau EpiArch. Un grand merci à Sabine Banniza, pour sa gentillesse, son aide pour la vérification de l'anglais dans mes articles et résumés et ses conseils, ainsi qu'à son étudiante de master, Lena Syrovy, et d'une manière générale, toutes les personnes rencontrées dans les différents colloques pour les discussions et échanges, scientifiques ou non.

Merci également aux différents membres du comité de pilotage, Marie-Hélène Jeuffroy, Marie-Laure Lousteau, Michaël Chelle, Véronique Biarnes, Alain Baranger et Anne Atlan pour leurs conseils pour l'orientation de mon travail de thèse. Je remercie aussi Evelyne Costes et Ivan Sache d'avoir accepté d'être rapporteurs de cette thèse ainsi que les autres membres du jury : Maria Manzanares-Dauleux et Marc Saudreau.

Parce que l'ambiance de travail est également très importante, je remercie toutes les personnes trop nombreuses pour être citées, majoritairement des anciens BiO3P, pour leur gentillesse, soutien, humour, ... En particulier, un grand merci à tous les portakabiens, ex-portakabiens et affiliés sans qui ma thèse aurait manqué

tel-00913095, version 1 - 3 Dec 2013

de saveur, je pense notamment à Pascaline (super hôte de maison), Fred (roi du palet), Romain (pour nos soirées films de grande qualité), Emilie L., Emilie H. (amie des serpents mais pas des chats), Angélique ('L'amie du petit déjeuner'), Gabriele (le meilleur [et seul] italien que je connaisse), Gilles, Nanou et Gersende parmi les personnes non encore citées ; les femmes de ménage du Portakabine, pour nos discussions du mercredi et m'avoir proposé de m'engager si je ne trouvais rien après ma thèse ; les ex-pats de Montpellier, Manu et Isa, ainsi que tous ceux qui sont venus au moins une fois aux apéros mensuels que j'ai 'organisé' pendant presque deux ans (sous recommandation de l'AERES, pour une fois qu'une recommandation est suivie à la lettre...), en particulier Alan pour sa fidélité. Un grand merci également aux amis aux quatre coins de France voire plus loin pour leur soutien, en particulier à Cécile pour son suivi hebdomadaire pendant ce dernier mois de rédaction, ainsi que toutes les personnes que j'ai pu croiser indirectement grâce à ma thèse. Quelques personnes d'exception (je ne sais pas dans quel sens il vaut mieux l'interpréter) de l'Inra auxquelles je n'ai pas encore adressé de remerciements :

Melen et Muriel, mes co-bagnards, pour l'excellente ambiance, les soirées, les fous rires, ... Ses trois années n'auraient pas eu la même saveur sans vous.

Estelle, qui s'est assurée que je ne meure pas déshydraté dans mon bureau et tous ses nombreux encouragements dont le plus important, partir à La Réunion mes deux dernières semaines de rédaction en me laissant sa chatte sur les bras, Charlotte (que je remercie également), pour me tenir compagnie le soir (on le montera ce show de reprise de duo pour congrès scientifique).

Marine, soutien journalier, relectrice assidue et cuisinière hors-pair (de légumes majoritairement hélas) et excellente hôte occasionnelle. Merci pour le soutien et de m'avoir aérer l'esprit avec Estelle à défaut d'avoir favorisé la repousse de l'herbe sous la fenêtre de mon bureau.

Carole, pour 'toutes les choses faites ensembles' (j'espère quand même que les essais sénescences vont donner de beaux résultats), ses encouragements et sa gentillesse. Les QTL n'ont qu'à bien se tenir.

Je remercie également quelques sponsors annexes tels Red Bull, Doliprane et Bolino pour l''aide à la survie', Gunther, Dalida et Joe Dassin pour leurs discographies ainsi que Nostalgie pour sa programmation musicale, *Pisellino* pour son aide à la concentration de dernières minutes[1], Farmville pour m'avoir donné goût à l'agriculture depuis mon master 2 et enfin Canon_patho pour sa fidélité dans les impressions et un soutien sans faille.

Un grand merci à mes parents, pour leur soutien et leurs encouragements (« Tu penses que tu vas finir dans les temps ? ») ainsi qu'à mes deux frères sur qui je sais que je peux compter malgré la distance.

Enfin merci à vous qui lisez ces lignes et qui, je l'espère, vous apprêtez à lire cette thèse, en espérant qu'elle vous interrogera sur le rôle de l'architecture du couvert pour le développement d'une épidémie de maladie fongique aérienne autant qu'elle m'a donné goût à cette discipline.

[1] Nittono H, Fukushima M, Yano A, Moriya H (2012) The Power of Kawaii: Viewing Cute Images Promotes a Careful Behavior and Narrows Attentional Focus. PLoS ONE 7(9): e46362. doi:10.1371/journal.pone.0046362

tel-00913095, version 1 - 3 Dec 2013

Sommaire

Introduction générale.....1

Introduction bibliographique.....3

I. Architecture des couverts.....3

a. Qu'est-ce que l'architecture ?.....3

b. Comment caractériser l'architecture ?.....4

c. Comment faire varier l'architecture ?.....5

d. Pourquoi manipuler l'architecture ?.....7

II. Influence de l'architecture du couvert sur le développement des épidémies.....7

a. Un peu d'histoire.....8

b. Recherches actuelles.....9

III. Le pathosystème pois/ascochytose.....12

a. Le pois.....12

b. La maladie.....15

i. Description du pathogène.....16

ii. Cycle d'une épidémie.....17

iii. Impact de l'architecture du couvert sur le développement de l'ascochytose.....17

iv. Impact sur le rendement.....18

v. Méthodes de lutte contre les épidémies.....18

Objectif du travail de thèse.....20

Références bibliographiques.....22

Chapitre 1 - Influence du stade de la plante et de l'âge des organes sur la réceptivité du pois à l'ascochytose.....30

Influence of plant stage and organ age on the receptivity of *Pisum sativum* to *Mycosphaerella pinodes*.....32

Références bibliographiques.....45

Chapitre 2 - Conception des scénarios architecturaux.....49

I. Analyse de sensibilité des variétés à l'ascochytose.....49

a. Variétés étudiées.....49

b. Production de l'inoculum.....50

c. Inoculation et estimation de la sévérité de la maladie.....50

d. Résultats.....50
II. Dispositif expérimental au champ.....51
a. Plan expérimental.....51
b. Abréviations.....51
c. Evaluation de la maladie et de la sénescence.....51
d. Estimation des caractéristiques architecturales des couverts.....52
e. Analyses statistiques.....52
III. Description des couverts.....53
a. Hauteur des couverts.....53
b. Fermeture des couverts.....53
c. Indice de surface foliaire (Leaf Area Index).....54
d. Densité de surface foliaire (Leaf Area Density).....54
Références bibliographiques.....56

Chapitre 3 - Effet de l'architecture du couvert de pois sur le microclimat et conséquences pour le développement de l'épidémie au champ.....57
Effect of pea canopy architecture on microclimate and consequences on ascochyta blight infection under field conditions.....59
Références bibliographiques.....75

Chapitre 4 - Influence de l'architecture du couvert sur le développement de l'ascochytose au champ via la sénescence des organes.....79
I. Objectifs.....79
II. Influence du couvert sur la sénescence naturelle des stipules.....80
a. Evolution de la sénescence dans les différentes strates du couvert.....80
b. Impact de la densité de semis sur la sénescence.....81
c. Influence des caractéristiques architecturales des variétés sur la sénescence.....82
d. Facteurs architecturaux influençant la sénescence.....83
III. Evolution de la maladie au champ.....83
a. Sévérité de la maladie dans les différentes strates du couvert.....84
b. Influence de la densité de semis sur la maladie.....84
c. Influence des caractéristiques architecturales des variétés sur la maladie.....85
IV. Influence de la sénescence naturelle sur la maladie.....86
V. Conclusions.....87
Références bibliographiques.....90

tel-00913095, version 1 - 3 Dec 2013

Chapitre 5 - Effet de la maladie sur le couvert et sur le rendement.....91

I. Objectifs.....91

II. Impact de la maladie sur la sénescence des stipules.....91

III. Impact de l'ascochytose sur la verse des couverts.....92

IV. Impact de la maladie sur le rendement.....93

V. Conclusions.....94

Références bibliographiques.....96

Discussion générale.....97

I. Apport de notre étude sur les interactions entre l'architecture du couvert de pois et l'ascochytose.....97

a. Influence de l'âge des tissus et du stade de développement des plantes sur la réceptivité à l'ascochytose.....97

b. Influence de l'architecture du couvert de pois sur le microclimat et conséquence sur l'initialisation de la maladie.....98

c. Influence de l'architecture du couvert de pois sur le développement et la sévérité de la maladie au champ.....99

d. Rétroactions de la maladie sur le couvert.....99

II. Apports de nos résultats dans différents domaines.....100

a. Conception d'idéotype variétal.....100

b. Contribution à la modélisation.....101

c. Conséquences agronomiques.....102

d. Participation à une démarche novatrice de recherche et de développement.....102

III. Limites de l'étude.....104

a. Dispositif expérimental.....104

b. Paramètres mesurés.....104

c. Extension de l'étude.....105

IV. Perspectives de travail.....106

a. Le pois d'hiver.....106

b. Vers l'expérimentation *in silico*.....107

c. Une combinaison avec la résistance génétique pour une plus grande durabilité des résistances.....108

d. Vers d'autres architectures de couvert : les associations végétales ou variétales.....109

e. Architecture du couvert et changements climatiques.....109

Références bibliographiques.....111

tel-00913095, version 1 - 3 Dec 2013

tel-00913095, version 1 - 3 Dec 2013

Index des figures

Introduction

Figure 0.1 Présentation des différents modèles architecturaux (Hallé et al., 1978)

Figure 0.2 A. Représentation d'une ramification à une échelle unitaire ***a*** dans le plan s1 ou comme une succession d'éléments y_i (topologie) dans le plan s_2. **B.** Représentation géométrique de l'élément ***a***. **C.** Représentation géométrique à une échelle plus fine (Godin et al., 1999).

Figure 0.3 Evolution de la réceptivité (en rouge) en fonction de l'âge de l'hôte (adapté de Rapilly, 1991)

Figure 0.4 Schéma d'une plante de pois (Munier-Jolain et al., 2005)

Figure 0.5 Principaux stades de développement du pois protéagineux (Source : ITFC-UNIP)

Figure 0.6 Représentation schématique des propagules de *Mycosphaerella pinodes*. **A**, coupe verticale d'un pseudothèce contenant des asques (**B**) remplies d'ascospores (**C**). **D**, coupe verticale d'une pycnide. **E**, agrandissement de la paroi avec conidiophores. **F**, pycniospores. (Lawyer, 1984)

Figure 0.7 Durées d'humectation continue nécessaires en fonction de la température pour la germination (en vert), la formation des appressoria (en bleu) et la pénétration (en rouge) de *Mycosphaerella pinodes* (Roger et al., 1996b)

Figure 0.8 Cycle épidémique de l'ascochytose du pois due à Mycosphaerella pinodes (Tivoli & Banniza, 2007)

Figure 0.9 Diagramme des leviers étudiés au champ : gradients de réceptivité et d'humectation pour expliquer les variations de profil de maladie en fonction de l'architecture du couvert modifiée en fonction de la variété utilisée et de la densité de semis

Chapitre 1

Fig. 1.1 Relationship between the visual senescence scale (from 0 to 4) and the measures of absorbance of the stipule tissues of the pea cultivar Baccara using the lightweight handheld chlorophyll meter SPAD-502 (R^2=0.78).

Fig. 1.2 Median initial visual senescence (0-4 scale, grey histogram) observed on the day of inoculation and median disease severity (0-7 scale, black diamond) observed 7 days after inoculation, of stipules of the pea cultivar Baccara inoculated with a spore suspension of *Mycosphaerella pinodes* (1000 spores $drop^{-1}$) at six plant stages: flowering plants (F), plants at the beginning of seed filling (BSF), at the end of beginning of seed filling (EBSF), at the beginning of the yellowing (GY), at the end of the yellowing (YG) and with yellow stipules (Y).

Fig. 1.3 Relationship between median disease score (0-7 scale) observed 7 days after inoculation and pea stipule age of the pea cultivar Baccara inoculated with a drop suspension of *Mycosphaerella pinodes* (1000 spores $drop^{-1}$) in cumulative degree days (basis 0 °C) (R^2 = 0.69).

Fig. 1.4 Median visual senescence scores per node of inoculated (black) and control (grey) stipules of the pea cultivar Baccara, spray-inoculated with a spore suspension of *Mycosphaerella pinodes* at five plant stages: 13 nodes (13N), Beginning of Flowering (BF), Beginning of Seed Filling (BSF), End of Beginning of Seed Filling (EBSF) and Physiological Maturity (PM), observed 7days after inoculation. '**G**' indicates green stipules on which no visual senescence was observed. * indicates a significant difference between inoculated and control stipules per node; Wilcoxon Rank Sum Test (P<0.05)

tel-00913095, version 1 - 3 Dec 2013

Chapitre 2

Figure 2.1 Echelle de notation de la maladie adaptée par Schoeny et al. (2010) à partir de l'échelle de Roger et Tivoli (1996) : 0, aucun symptôme ; 1, quelques ponctuations ; 2, nombreuses ponctuations ; 3, lésions nécrotiques coalescentes couvrant moins de 25% de l'organe ; 4, nécroses couvrant entre 25 et 50% de l'organe ; 5, zone nécrotique entre 50 et 75% de l'organe ; 6, ensemble des lésions supérieur à 75% de l'organe

Figure 2.2 Aires sous la courbe de développement de la maladie (AUDPC) entre 3 et 7 jours (en bleu), entre 3 et 10 jours (en rouge) et entre 3 et 14 jours (en vert) pour trois variétés de pois d'hiver (Enduro, Hr151 et James), quatre variétés de pois de printemps (Antares, Athos, Baccara et Gregor), deux témoins sensibles (JI296 et Solara) et deux témoins résistants (Geronimo et Hr886). Les barres ayant des lettres strictement différentes présentent des différences significatives au taux d'erreur de 5% selon le test de Tukey HSD. Aux trois dates de notations, toutes les variétés de printemps sont sensibles à la maladie avec un même niveau de sensibilité tandis que les variétés d'hiver présentent de faibles niveaux de résistances partielles.

Figure 2.3 : Représentation de la parcelle expérimentale concernant le bloc avec traitement fongicide pour l'essai Pois de printemps 2009. En bleu sont représentées les placettes pour le cv. Athos, en vert pour le cv. Antares et en orange pour le cv. Gregor. En rectangles transparents sont représentées les placettes semées à la densité 40 graines par mètre carré et en rectangles pleins celles semées à 80 graines par mètre carré. Les rectangles mauves représentent un quatrième cultivar de bordure, Kayanne, pour séparer les blocs densités du dispositif en split-plot. Les soleils rouges représentent les centrales d'acquisition des données micrométéorologiques. Un dispositif similaire est placé juste à côté sans protection fongique.

Figure 2.4 : Représentation de la parcelle expérimentale concernant le bloc avec traitement fongicide pour l'essai Pois de printemps 2010. En bleu sont représentées les placettes pour le cv. Athos, en vert pour le cv. Antares et en orange pour le cv. Gregor. Les rectangles pleins représentent les placettes semées à 80 graines par mètre carré, ceux avec une couleur atténuée celles semées à la densité 40 graines par mètre carré, et ceux remplis en blanc les placettes semées à 80. Les rectangles mauves représentent un quatrième cultivar de bordure, Kayanne, pour séparer les blocs densités du dispositif en split-plot. Les soleils rouges représentent les centrales d'acquisition des données micrométéorologiques. Un dispositif similaire est placé juste à côté sans protection fongique.

Figure 2.5 Echelle de notation de la sénescence visuelle allant de 0 à 4 : 0, organe entièrement verte; 1, apparition du jaunissement ; 2, organe majoritairement jaune, quelques traces de vert ; 3, organe entièrement jaune ; 4, organe déshydraté.

Figure 2.6 Regressions obtenues en 2009 et 2010 entre la longueur des stipules et la surface foliaire chez trois cultivars de printemps Athos, Antares et Gregor à deux dates de notation afin d'avoir une large gamme de variation. Les résultats montrent une très forte relation entre ces deux paramètres avec des R^2 variant entre 0,95 et 0,99.

Figure 2.7 Développement de la hauteur des couverts (a.-b.), fermeture des couverts (c.-d.) et indice de surface foliaire (LAI) (e.-f.) aux printemps 2009 et 2010 pour les cultivars de pois Athos , Antares et Gregor aux densités de semis 80, 40 and 30 graines par mètre carré en somme de degrés-jour depuis semis en base 0.

Chapitre 3

Fig. 3.1 Evolution of canopy height (a.-b.), canopy closure (c.-d.) and Leaf Area Index (e.-f.) in 2009 and 2010 respectively of three pea cultivars (Athos, Antares, Gregor), sown at 80, 40 and 30 seeds per square meter

Fig. 3.2 Potential infectious opportunities (in red) represented on the air temperature curve (black) according the presence of free water on sensors outside (a.) and inside the canopy of cultivar Athos sown at 80 seeds per square meter (Athos-80) at the middle (b.) and bottom (c.) of the canopy in 2009. Each red dot represents the arrival date of a successful spore for infection according to our model. Dotted green lines represent the margins of the studied climatic periods with the blue rectangles on the x-axis representing rainfall periods and the orange ones dry periods

tel-00913095, version 1 - 3 Dec 2013

Chapitre 4

Figure 4.1 Evolution de la sévérité de maladie (échelle de 0 à 6) en fonction de la sénescence naturelle (échelle de 0 à 4) pour les cultivars Athos (en bleu), Antares (en rouge) et Gregor (en vert) aux densités de semis 80, 40 et 30 graines par mètre carré (du plus foncé au plus clair).

Figure 4.2 Sévérité de maladie (0-6) en fonction du niveau de sénescence naturelle (0-4) des stipules de trois cultivars de pois à trois dates de notation en 2009 (2, 15, 22 juin 2009) et 2010 (7, 18, 30 juin 2010). Pour chacune des dates, le niveau de sévérité le plus faible est observé pour les stipules entièrement vertes (note 0) et le plus fort pour les stipules déshydratées (note 4).

Chapitre 5

Figure 5.1 Comparaison de la sénescence (médianes, échelle 0-4) dans des couverts inoculés (en rose, orange et vert pâle) et avec protection fongique (en bleu, en rouge et en vert foncé) pour trois cultivars de pois, Athos, Antares et Gregor semés à 80 et 40 graines par mètre carré à quatre niveau dans le couvert : entre 0 et 25% (Inf25), entre 26 et 50% (Mid50), entre 51 et 75% (Mid75) et entre 76 et 100% (Sup75) à la troisième date de notation en 2009.

Figure 5.2 Comparaison de la sénescence (médianes, échelle 0-4) dans des couverts inoculés (en rose, orange et vert pâle) et avec protection fongique (en bleu, en rouge et en vert foncé) pour trois cultivars de pois, Athos (haut) , Antares (milieu) et Gregor (bas) semés à 80 (gauche), 40 (centre) et 30 (droite) graines par mètre carré à quatre niveau dans le couvert : entre 0 et 25% (Inf25), entre 26 et 50% (Mid50), entre 51 et 75% (Mid75) et entre 76 et 100% (Sup75) à la troisième date de notation en 2010. Les données pour le couvert Athos-80 sont manquantes pour la parcelle avec traitement fongicide.

Figure 5.3 Evolution des hauteurs de couvert en fin de saison culturale 2009 dans des couverts semés à 80 ou 40 graines par mètre carré de cultivars de pois : Athos, Antares et Gregor dans des placettes avec traitement fongique (trait plein) ou inoculées avec un mélange de souches de *Mycosphaerella pinodes* (en pointillé) en somme de degrés-jours en base 0 depuis semis.

Figure 5.4 Evolution des hauteurs de couvert en fin de saison culturale 2009 dans des couverts semés à 80 , 40 ou 30 graines par mètre carré de cultivars de pois : Athos, Antares et Gregor dans des placettes avec traitement fongique (trait plein) ou inoculées avec un mélange de souches de *Mycosphaerella pinodes* (en pointillé) en somme de degrés-jours en base 0 depuis semis.

Figure 5.5 Rendements en quintaux par hectare pour des grains avec un taux d'humidité de 14% en 2009 (a.) et 2010 (b.) dans des parcelles traitées avec des fongicides (en bleu) ou inoculées avec un mélange de souches de *Mycosphaerella pinodes* (en rouge) pour trois cultivars, Athos, Antares et Gregor semés à deux (80 et 40) et trois (80, 40 et 30 graines par mètre carré) densités. Les pourcentages représentent le pourcentage de pertes induit par l'absence de traitement et le * si cette différence de rendement est significative ($p<0,05$).

tel-00913095, version 1 - 3 Dec 2013

Index des tableaux

Chapitre 1

Table 1.1 Median disease severity score (disease scale 0–6) per node of the pea cultivar Baccara spray-inoculated with a spore suspension of *Mycosphaerella pinodes* (5×10^5 spores ml^{-1}) at five plant stages: 13 nodes (13 N), beginning of flowering (BF), beginning of seed filling (BSF), end of beginning of seed filling (EBSF) and physiological maturity (PM), observed 7 days after inoculation.

Table 1.2 Median disease scores (disease scale 0-7) on pods per plant of the pea cultivar Baccara 2, 4 and 7 days after drop-inoculation (dai) of *Mycosphaerella pinodes* (1000 spores $drop^{-1}$) on pea plants at five plant stages: plants at the beginning of the seed filing (BSF), at the end of the seed filing (EBSF), at beginning of the yellowing (GY), at the end of the yellowing (YG), and yellow (Y).

Table 1.3 Mean lesion diameter (mm) observed 3 and 4 days after inoculation (dai) on detached stipules of the pea cultivar Baccara drop-inoculated with a spore suspension of *Mycosphaerella pinodes* (1000 spores $drop^{-1}$) at seven plant stages: green stipules from 13 nodes plants (13N), green stipules from flowering plants (F), green stipules from plants at the end of beginning of seed filling (EBSF), stipules at the beginning of the yellowing (GY), stipules at the end of the yellowing (YG), yellow stipules (Y) and dehydrated stipules (D).

Table 1.4 Median disease scores (disease scale 0-7) on detached pods of the pea cultivar Baccara 2, 3, 4 and 7 days after drop-inoculation (dai) of *Mycosphaerella pinodes* (1000 spores $drop^{-1}$) at eight plant stages: very young pods (VYP), at the beginning of the seed filing (BSF), at the end of the seed filing (EBSF), green pods totally filled 8 days before physiological maturity (PM-8), at beginning of the yellowing (GY), at the end of the yellowing (YG), yellow (Y) and totally dehydrated (D).

Chapitre2

Tableau 2.1 Caractéristiques architecturales des trois variétés de pois de printemps utilisées au champ en 2009 et 2010

Tableau 2.2 Indice de surface foliaire (LAI) et densité de surface foliaire (LAD) de trois cultivars de pois Athos, Antares and Gregor semés à 80 et 40 graines par mètre carré au printemps 2009 à deux dates de développement en degrés-jour en base 0 après semis

Tableau 2.3 Indice de surface foliaire (LAI) et densité de surface foliaire (LAD) de trois cultivars de pois Athos, Antares and Gregor semés à 80, 40 et 30 graines par mètre carré au printemps 2010 à deux dates de développement en degrés-jour en base 0 après semis

Chapitre 3

Table 3.1 Architectural features of the three pea cultivars used in field experiments

Table 3.2 Dates of rainfall and dry periods studied in 2009 and 2010 and average daily rainfall values

Table 3.3 Leaf Area Index (LAI) and Density (LAD) of three pea cultivars (Athos, Antares, Gregor) sown at 80 and 40 seeds per square meter in 2009 (mean ±standard error)

Table 3.4 Average daily leaf wetness durations (in hours) for two dry periods (before and after canopy closure) in 2009 and 2010 in three pea cultivar canopies (Athos, Antares, Gregor) sown at three densities (30, 40 or 80 seeds per square meter), measured inside (at the bottom or middle), or outside the canopy

Table 3.5 Average daily leaf wetness durations (in hours) for two rainfall periods (before and after canopy closure) in 2009 and 2010 in three pea cultivar canopies (Athos, Antares, Gregor) sown at three densities (30, 40 or 80 seeds per square meter), measured inside (at the bottom or middle), or outside the canopy

Table 3.6 Pearson's correlations between canopy architectural features: Leaf Area Index (LAIas), canopy height (CHas) and Leaf Area Density (LADas) above leaf wetness sensor, and between each of these features and leaf wetness duration (LWD) during dry periods (DP) in 2009 and 2010

Table 3.7 Pearson's correlations between canopy architectural features: Leaf Area Index (LAIas), canopy height (CHas) and Leaf Area Density (LADas) above leaf wetness sensor, and between each of these features and leaf wetness duration (LWD) during rainfall periods (RP) in 2009 and 2010

Chapitre 4

Tableau 4.1 Appréciation de la sénescence naturelle (échelle 0-4) des couverts des cultivars Athos, Antares et Gregor semés à 80 et 40 graines par mètre carré en 2009 observées à différentes strates du couvert (entre 0 et 25% du couvert : Inf25, entre 26 et 50% du couvert : Mid50, entre 51 et 75% : Mid75 et entre 76 et 100% du couvert : Sup75), à trois dates de notation (2, 15 et 22 juin 2009).

Tableau 4.2 Appréciation de la sénescence naturelle (échelle 0-4) des couverts des cultivars Athos, Antares et Gregor semés à 80, 40 et 30 graines par mètre carré en 2010 observées à différentes strates du couvert (entre 0 et 25% du couvert : Inf25, entre 26 et 50% du couvert : Mid50, entre 51 et 75% : Mid75 et entre 76 et 100% du couvert : Sup75), à trois dates de notation (7, 18 et 30 juin 2010).

Tableau 4.3 Appréciation de la sénescence naturelle (échelle 0-4) des différentes strates des couverts (entre 0 et 25% du couvert : Inf25, entre 26 et 50% du couvert : Mid50, entre 51 et 75% : Mid75 et entre 76 et 100% du couvert : Sup75) en fonction du cultivar : Athos, Antares ou Gregor et de la densité de semis : 80 ou 40 graines par mètre carré en 2009 observées à différentes strates du couvert, à trois dates de notation (2, 15 et 22 juin 2009).

Tableau 4.4 Appréciation de la sénescence naturelle (échelle 0-4) des différentes strates des couverts (entre 0 et 25% du couvert : Inf25, entre 26 et 50% du couvert : Mid50, entre 51 et 75% : Mid75 et entre 76 et 100% du couvert : Sup75) en fonction du cultivar : Athos, Antares ou Gregor et de la densité de semis : 80, 40 ou 30 graines par mètre carré en 2010 observées à différentes strates du couvert, à trois dates de notation (7, 18 et 30 juin 2010).

Tableau 4.5 Corrélations de Spearman entre la sénescence naturelle de stipules de pois et certaines caractéristiques architecturales du couvert et de la plante au-dessus de l'étage considéré au printemps 2009 à deux dates de notations (2 et 15 juin 2009). Toutes les corrélations obtenues sont significatives au seuil de 5%, avec en rouge les corrélations positives et en noir les corrélations négatives.

Tableau 4.6 Corrélations de Spearman entre la sénescence naturelle de stipules de pois et des caractéristiques architecturales du couvert et de la plante au-dessus de l'étage considéré au printemps 2010 à deux dates de notation (7 et 18 juin). Toutes les corrélations obtenues sont significatives au seuil de 5%, avec en rouge les corrélations positives et en noir les corrélations négatives.

Tableau 4.7 Appréciation de la maladie (échelle 0-6) des couverts des cultivars Athos, Antares et Gregor semés à 80 et 40 graines par mètre carré en 2009 observées à différentes strates du couvert (entre 0 et 25% du couvert : Inf25, entre 26 et 50% du couvert : Mid50, entre 51 et 75% : Mid75 et entre 76 et 100% du couvert : Sup75), à trois dates de notation (2, 15 et 22 juin 2009).

Tableau 4.8 Appréciation de la maladie (échelle 0-6) des couverts des cultivars Athos, Antares et Gregor semés à 80, 40 et 30 graines par mètre carré en 2010 observées à différentes strates du couvert (entre 0 et 25% du couvert : Inf25, entre 26 et 50% du couvert : Mid50, entre 51 et 75% : Mid75 et entre 76 et 100% du couvert : Sup75), à trois dates de notation (7, 18 et 30 juin 2010).

Tableau 4.9 Appréciation de la maladie (échelle 0-6) des différentes strates des couverts (entre 0 et 25% du couvert : Inf25, entre 26 et 50% du couvert : Mid50, entre 51 et 75% : Mid75 et entre 76 et 100% du couvert : Sup75) en fonction du cultivar : Athos, Antares ou Gregor et de la densité de semis : 80 ou 40 graines par

tel-00913095, version 1 - 3 Dec 2013

mètre carré en 2009 observées à différentes strates du couvert, à trois dates de notation (2, 15 et 22 juin 2009).

Tableau 4.10 Appréciation de la maladie (échelle 0-6) des différentes strates des couverts (entre 0 et 25% du couvert : Inf25, entre 26 et 50% du couvert : Mid50, entre 51 et 75% : Mid75 et entre 76 et 100% du couvert : Sup75) en fonction du cultivar : Athos, Antares ou Gregor et de la densité de semis : 80, 40 ou 30 graines par mètre carré en 2010 observées à différentes strates du couvert, à trois dates de notation (7, 18 et 30 juin 2010).

tel-00913095, version 1 - 3 Dec 2013

Index des Annexes

Annexe I : Current knowledge on plant/canopy architectural traits that reduce the expression and development of epidemics. Tivoli, B., Calonnec, A., Richard, B., Ney, B., & Andrivon, D. (2012). *European Journal of Plant Pathology*, DOI 10.1007/s10658-012-0066-6

Annexe II : Piégeage de spores

tel-00913095, version 1 - 3 Dec 2013

Abréviations

13N	Plants or organs from plants with 13 nodes
Antares-30	Cultivar Antares semé à 30 graines par mètre carré
Antares-40	Cultivar Antares semé à 40 graines par mètre carré
Antares-80	Cultivar Antares semé à 80 graines par mètre carré
Athos-30	Cultivar Athos semé à 30 graines par mètre carré
Athos-40	Cultivar Athos semé à 40 graines par mètre carré
Athos-80	Cultivar Athos semé à 80 graines par mètre carré
BF	Plants at the beginning of flowering, defined as the date on which the first reproductive node reached flowering
BSF	Plants or organs from plants at the beginning of seed filling, defined as the date on which the first reproductive node reached this stage
CHas	Canopy height above sensor
dai	Days after inoculation
dj	Degrés-jour
D	Dehydrated organs
D30	Densité de semis de 30 graines par mètre carré
D40	Densité de semis de 40 graines par mètre carré
D80	Densité de semis de 80 graines par mètre carré
DP	Dry Period
DP09-1	First Dry Period of 2009
EBSF	Plants or organs from plants at the end of beginning of seed filling, defined as the date on which the last reproductive node reached this stage
F	Flowering plants or organs from flowering plants
Gregor-30	Cultivar Gregor semé à 30 graines par mètre carré
Gregor-40	Cultivar Gregor semé à 40 graines par mètre carré
Gregor-80	Cultivar Gregor semé à 80 graines par mètre carré
GY	Organs or plants with organs at the beginning of the yellowing
LAD	Leaf Area Density
LADas	LAD above sensor
LAIas	Leaf Area Index above sensor
LW	Leaf Wetness

tel-00913095, version 1 - 3 Dec 2013

LWD	Leaf Wetness Duration
PM	Plants at the physiological maturity stage
PM-8	Green pods totally filled 8 days before physiological maturity
RH	Relative Humidity
RP	Rainfall Period
RP09-1	First Rainfall Period of 2009
SLA	Stade Limite d'Avortement
Ta	Air Temperature
VYP	Very young pods with a length between 3 and 5cm
VS	Visual senescence
Y	Yellow organs or plants with yellow organs
YG	Organs or plants with organs at the end of the yellowing

tel-00913095, version 1 - 3 Dec 2013

tel-00913095, version 1 - 3 Dec 2013

Introduction

Introduction générale

L'augmentation de la productivité agricole des plantes durant les cinq dernières décennies a reposé sur l'amélioration du potentiel de rendement des variétés cultivées et sur l'utilisation massive de produits phytosanitaires. Mais, les pratiques actuelles de protection des cultures soulèvent des problèmes complexes :

- l'utilisation du 'tout-chimique' ne suffit pas pour assurer une protection satisfaisante (émergence de populations parasitaires résistantes, difficultés de positionnement ou d'application des traitements).
- l'intégration des différentes méthodes de lutte disponibles (chimiques, génétiques, biologiques, préventives), est encore balbutiante ;
- enfin, la gestion conjointe et coordonnée de complexes de bioagresseurs au niveau d'une parcelle, et plus encore au niveau d'un paysage agricole, reste à inventer.

En France, des analyses et prises de positions dans la mouvance de la dynamique européenne amorcée cette dernière décennie, ont montré qu'il est urgent d'affiner nos connaissances sur les méthodes alternatives à la lutte chimique et ce, dans la perspective d'une agriculture durable. Il s'agit d'une part de l'expertise scientifique collective « Pesticides, agriculture et environnement » (automne 2005 - Aubertot et al., 2005), d'autre part du « Grenelle de l'Environnement » (automne 2007) et de la mise en place du plan *Ecophyto 2018* qui vise à diminuer de 50% si possible l'utilisation de pesticides par rapport à 2008. Cette dynamique se traduit par le développement de nombreux projets de recherche visant à concevoir et élaborer des méthodes alternatives de lutte, parmi lesquels figure le projet ANR Archidémio, qui réunit quatre pathosystèmes du réseau EpiArch, réseau réunissant des chercheurs de différentes disciplines et différents instituts : anthracnose de l'igname (*Colletotrichum gloeosporioides/Dioscorea alata*), ascochytose du pois (*Mycosphaerella pinodes/Pisum sativum*), mildiou de la pomme de terre (*Phytophthora infestans/ Solanum tuberosum*) et oïdium de la vigne (*Erysiphe necator/Vitis vinifera*). L'objectif du projet Archidémio, qui est de placer la plante comme levier de protection des cultures pour réduire les épidémies de maladies fongiques aériennes, vise à acquérir, structurer et exploiter des connaissances nouvelles sur les interactions 'plantes'/ 'maladies' au sein d'un couvert végétal en vue i) d'analyser comment les caractéristiques architecturales des plantes modifient l'expression et l'évolution des épidémies, et ii) de définir des caractéristiques architecturales des plantes (et du couvert végétal) susceptibles de réduire les développements épidémiques.

tel-00913095, version 1 - 3 Dec 2013

Quatre questions sont abordées:

- Comment l'architecture de plante et du couvert pilote-t-elle l'épidémie ?
- Quels sont les leviers et mécanismes liés à la plante et au couvert susceptibles de faire diminuer la maladie ?
- Comment les exploiter ?
- Quel est l'impact de la maladie sur les processus physiologiques de la plante conduisant au rendement ainsi que sur la récolte ?

Le travail de thèse que j'ai développé, directement adossé au projet Archidémio, s'intéresse plus particulièrement aux deux premières questions ci-dessus. Il s'insère dans la thématique de l'équipe de recherche 'Résistance et adaptation' de l'Institut de Génétique et de Protection des Plantes (IGEPP) de l'Inra de Rennes en collaboration avec l'Unip (Union Nationale Interprofessionnelle des plantes riches en Protéines). Il est centré sur une maladie aérienne du pois protéagineux (*Pisum sativum*) particulièrement préjudiciable entraînant jusqu'à 50% de pertes de rendement et faisant l'objet de 2 à 4 traitements fongicides chaque année: l'ascochytose due au pathogène fongique *Mycosphaerella pinodes*. Ce travail de thèse fait suite à plusieurs thèses d'épidémiologie sur l'ascochytose du pois ainsi qu'à d'autres travaux prenant en compte l'architecture des couverts et vise à préciser comment l'architecture du couvert de pois peut modifier l'apparition et le développement de l'ascochytose via le microclimat et/ou la sénescence des organes de la plante.

La présentation du travail de recherche ainsi que les objectifs et les hypothèses de travail seront déterminés au terme de la partie bibliographique. Une première partie en amont du travail effectué au champ sera consacrée à l'étude de la réceptivité des stipules et des gousses à l'ascochytose en fonction de la sénescence des organes. Elle sera suivie d'une partie décrivant les caractéristiques des variétés utilisées et des couverts générés dans les expérimentations menées au champ, faisant office à la fois de 'Matériels et méthodes' et de caractérisation des scénarios obtenus pour ces expérimentations. Les trois parties suivantes seront consacrées à i) l'impact de l'architecture sur le microclimat au sein du couvert, ii) l'influence du couvert sur le développement de la sénescence au sein du couvert et son lien avec le développement épidémique et iii) les rétroactions de la maladie sur le couvert et le rendement. Une dernière partie concernera une discussion générale des résultats obtenus ainsi que des propositions de perspectives d'étude.

tel-00913095, version 1 - 3 Dec 2013

tel-00913095, version 1 - 3 Dec 2013

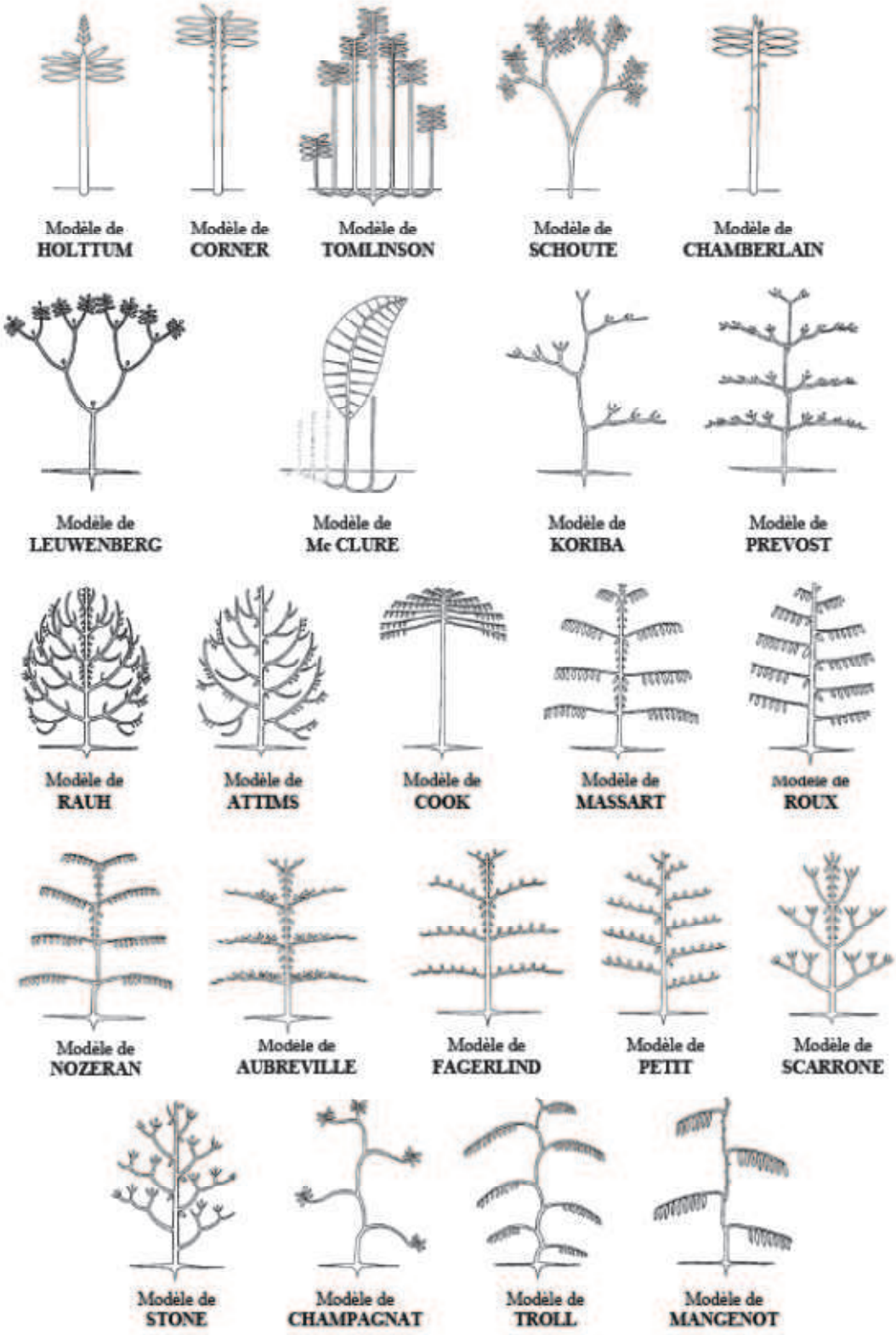


Figure 0.1 Présentation des différents modèles architecturaux (Hallé et al., 1978)

Introduction bibliographique

I. Architecture des couverts

Cette partie bibliographique relative à l'architecture a pour objectif d'apporter des éléments d'information sur la manière de définir les paramètres architecturaux définissant une plante et un couvert, la manière de les influencer et sur les traits architecturaux susceptibles de servir de levier pour minimiser ou échapper à une épidémie et ce, dans le cas des maladies aériennes des plantes. Cette première partie qui sert ainsi de socle à ce travail de thèse en posant (l'architecture de) la plante et du couvert comme acteurs dans la gestion d'une épidémie, permet également de définir certains termes clés.

a. Qu'est-ce que l'architecture ?

Selon la définition de la neuvième édition du dictionnaire de l'Académie française (1992), l'architecture, du latin *architectura* qui signifie « art de construire les maisons », désigne la disposition, l'ordonnance d'un édifice et peut par analogie être appliquée à d'autres objets tels qu'une plante par exemple**.** Par extension, l'architecture du couvert tient compte des différentes plantes constituant un couvert et renseigne donc sur le voisinage de chaque plante le constituant. En 1965, de Wit définit différents types de couverts végétaux en fonction de la fréquence d'inclinaison des feuilles dans un couvert pour étudier la pénétration lumineuse : planophiles quand les feuilles horizontales sont les plus fréquentes, érectophile quand la fréquence de feuilles dressées (verticales) est la plus importante. Cependant, cette notion est plutôt statique et ne prend pas en compte la notion de développement de la plante. Dans les années 1970, se développe la notion de « modèles architecturaux » (Hallé et al., 1978) définis en fonction de quatre caractéristiques morphologiques simples prenant en compte le développement de la plante au cours du temps :

- le motif de croissance de la plante : déterminé ou indéterminé, rythmique ou continu ;
- la ramification : terminale, latérale ou aucune ramification, monopodiale ou sympodiale, rythmique, continue ou diffuse ;
- la direction de croissances des axes : orthotropes, plagiotropes ou mixtes ;
- la position des structures reproductives : latérale ou terminale.

Le nombre de modèles architecturaux référencés par Hallé et al., 1978, était au nombre de 23 (Figure 0.1) et ne permettait qu'une description générale de la plante dans son ensemble sans renseigner précisément les caractéristiques architecturales de ses composantes (Barthélémy & Caraglio, 2007). L'échelle de description s'est petit à petit affinée pour aboutir à une définition comme suggérée par Godin et al. (1999) définissant l'architecture comme l'organisation des

tel-00913095, version 1 - 3 Dec 2013

tel-00913095, version 1 - 3 Dec 2013

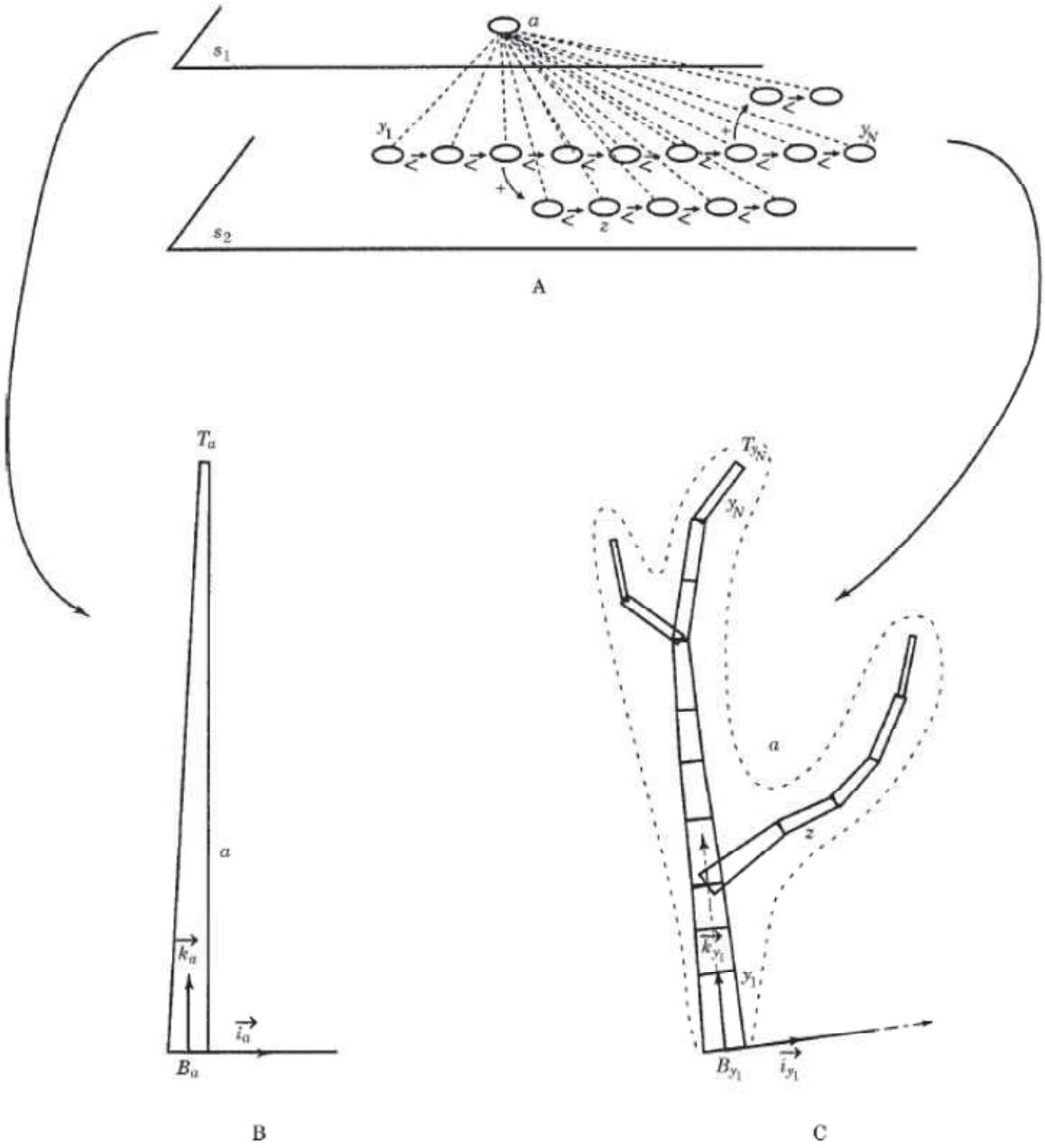


Figure 0.2 A. Représentation d'une ramification à une échelle unitaire ***a*** dans le plan s1 ou comme une succession d'éléments $\boldsymbol{y_i}$ (topologie) dans le plan s_2. **B.** Représentation géométrique de l'élément ***a***. **C.** Représentation géométrique à une échelle plus fine (Godin et al., 1999).

composantes de la plante pouvant évoluer avec le temps de la germination à la mort de la plante et définie par deux types d'information : topologique et géométrique. La topologie renseigne toutes les connections physiques entre les organes de la plante tandis que la géométrie contient les informations renseignant sur la forme, la taille, l'orientation et la localisation spatiale de chacune des composantes, les caractéristiques de la composante dépendant de son stade ontogénique. La plante peut ainsi être représentée sous forme de graphe dont chaque nœud contient les informations géométriques de la composante correspondante et les flèches entre les nœuds leurs liens physiques (Figure 0.2). L'architecture des plantes et des couverts est le résultat du développement et de la croissance des plantes au cours d'une saison culturale c'est-à-dire de processus éminemment dynamiques.

b. Comment caractériser l'architecture ?

Caractériser l'architecture d'une plante (et *a fortiori* d'un couvert) est quelque chose de long et fastidieux car cela repose sur de nombreuses mesures analytiques. Ces dernières peuvent être réalisées au champ, soit par des méthodes destructrices en prélevant des plantes et en mesurant leurs composantes, entraînant une perte d'informations concernant la disposition des organes dans l'espace, soit indirectement à l'aide de capteurs. La digitalisation 3D à l'aide de capteurs est un moyen d'obtenir une représentation explicite en trois dimensions de la plante numérisée et ainsi d'avoir directement accès aux informations sur la topologie et la géométrie de ses composantes (Moulia & Sinoquet, 1993). Cependant, dans certains couverts complexes comme celui du pois où le maintien de la plante se réalise grâce au support d'une plante sur les plantes voisines par l'intermédiaire des vrilles, cette approche n'est pour l'instant pas envisageable pour des plantes en plein champ. Les données ainsi acquises peuvent permettre l'élaboration de modèles de développement de l'architecture de la plante. Il est alors question dans ce cas-là de modèles empiriques avec une approche « top-down ». Dans d'autres cas, lorsque les modèles synthétisent les connaissances écophysiologiques, il est question de modèles causaux ou mécanistiques avec une approche « bottom-up » (Prusinkiewicz, 1998).

De nombreux modèles dynamiques de développement de plantes en trois dimensions sont élaborés tels les modèles L-PEACH sur pêcher (Lopez et al., 2010) ou ADEL-maize pour le maïs (Fournier & Andrieu, 1999), permettant d'apprécier l'évolution de l'architecture au sein des couverts. Parmi ceux-là, un certain nombre de modèles se base sur une grammaire fonctionnelle appelée *système de Lindermayer* ou plus communément *L-System* prenant en compte l'émergence de nouveaux modules au cours du temps ainsi que le développement de chaque module constituant la plante (Prusinkiewicz, 1998). Une telle représentation peut ainsi permettre d'étudier l'effet de tel ou tel mode de conduite sur une culture.

tel-00913095, version 1 - 3 Dec 2013

tel-00913095, version 1 - 3 Dec 2013

De nombreux termes permettent de décrire l'architecture d'une plante ou d'un couvert, par exemple 'couvert dense *vs* couvert ouvert', 'port érigé *vs* port buissonnant', … Inversement, il n'existe que peu de variables synthétiques permettant de définir/représenter l'architecture. Une notion importante induite par l'architecture d'un couvert souvent utilisée, est la porosité. Cette dernière représentant l'ensemble des vides d'un couvert est évoquée dans certaines études sans pour autant avoir été explicitement définie et encore moins estimée. Campbell (1984) a développé une échelle qualitative multicritère pour estimer la porosité dans le cadre de l'étude de l'architecture de différents couverts de haricot. Cette échelle prend en compte le port de la plante, variant de 1 pour les plantes les plus droites à 5 pour celles prostrées ; le nombre de ramifications formant un tunnel entre deux rangs, c'est-à-dire s'étalant entre les rangs, variant de 1 pour un espace ouvert (sans ramification, sol nu) à 5 pour des ramifications obstruant entièrement ; la taille de ce tunnel à l'intérieur d'un sillon (1 : espace ouvert, 5 : pas de tunnel visible) et la densité de ramification à l'intérieur d'un rang (1 : fortement poreux, 5 : extrêmement dense). Une telle approche ne permet cependant qu'une estimation qualitative de la porosité et la nature variée de chacune des notes ne permet pas l'estimation d'une note globale. La porosité peut également être mesurée directement soit à l'aide d'analyse d'images comme effectuée par Deshpande (1992) par analyse fractale à partir de photos prises au-dessus du couvert et de profil le long d'une rangée à l'intérieur de couverts de haricot contrastés définies par l'échelle précédente. Par ailleurs, les mesures de rayonnement permettent d'apprécier l'atténuation de la lumière au sein de différents couverts. Les mesures de surfaces foliaires ainsi que la digitalisation des plantes évoquées plus haut peuvent également être utilisées pour estimer la porosité d'un couvert via la densité de surface foliaire (Leaf Area Density, LAD), définie comme la quantité de surface foliaire sur un mètre carré dans un volume d'un mètre carré par la hauteur du couvert, ou plus simplement via l'indice de surface foliaire (Leaf Area Index, LAI) divisé par la hauteur du couvert (Treuhaft et al., 2002). En effet, le LAD a été utilisé pour développer des modèles de dispersion de spores anémophiles dans le couvert (Andrade et al., 2009; Ferrandino, 2008), couvert que les premiers auteurs ont défini comme « un labyrinthe complexe d'obstacles ».

c. Comment faire varier l'architecture ?

Le développement de chaque composante de la plante dépend à la fois de processus de croissance endogènes mais également de contraintes exogènes exercées par l'environnement (Barthélémy & Caraglio, 2007). Ainsi, une plante ne présentera pas la même architecture en fonction de l'interaction entre son génotype et l'environnement, soit pour des raisons biotiques comme par exemple une compétition entre individus pour une même ressource accentuée par la densité

d'individus (Mathieu et al., 2009), soit à cause de facteurs abiotiques comme un stress hydrique par exemple.

La génétique de la plante. Chaque plante dispose d'un potentiel architectural en fonction de son pool génétique qui se développera au mieux dans ses conditions optimales de croissance (Turnbull, 2005). Ces déterminants génétiques peuvent servir de premier levier pour influencer l'architecture et concernent par exemple la taille de la plante (nombre et longueur des entre-nœuds), le potentiel de ramifications ou encore la date de début floraison. Bien que n'étant pas une caractéristique architecturale au sens propre, la date de floraison joue un rôle important dans le processus ontogénique de la plante, entraînant l'apparition de nouvelles structures et un changement dans l'allocation des ressources (Huyghe, 1998). Dans le cas de la vigne par exemple, la variété du porte-greffe peut également influencer le cépage rattaché en favorisant sa vigueur (Jones et al., 2009). L'interaction génotype-milieu peut modifier sensiblement le phénotype d'une plante. Ainsi, l'irrigation ou la fertilisation de la parcelle peuvent modifier l'architecture du couvert en favorisant le développement des plantes. Inversement, un stress hydrique peut entraîner un changement dans l'angle d'orientation des feuilles et impacter l'efficience de rayonnement utile à la photosynthèse et donc le développement de biomasse (Ridao et al., 1996).

Les date et densité de semis. La date de semis constitue un autre facteur important susceptible de modifier l'architecture du couvert. Par exemple, dans le cadre d'un essai sur blé d'hiver de la variété Soissons semé à trois dates, fin septembre (date de semis précoce pour la région parisienne), fin octobre (semis normal) et mi-novembre (semis tardif), Dornbusch et al. (2011) observent des feuilles plus longues et plus larges durant le stade de croissance juvénile pour le semis précoce par rapport aux dates suivantes mais ne retrouvent pas ces différences pour les trois derniers étages au stade adulte après la phase hivernale. Une autre conséquence de la date de semis pendant cet essai est une taille d'entre-nœud plus importante pour le semis précoce que le semis tardif conduisant à une hauteur de plante plus importante à floraison pour le semis précoce. Un autre moyen important pour modifier l'architecture est la densité de semis et l'espacement inter-rang. En diminuant la distance entre chaque plante, ces dernières disposent d'un plus grand espace pour se développer et généralement un développement plus important de la plante est observé en faible densité de semis (Turnbull, 2005).

Les associations végétales. Les associations végétales constituent une pratique répandue dans les systèmes à bas intrants, mélangeant généralement légumineuses et céréales. Ce mode de conduite qui constitue un moyen de modifier l'architecture de chacun des couverts pris isolément, permet de limiter les apports en azote sur la céréale tout en maintenant les rendements. Il permet aussi de diversifier les architectures, par exemple en limitant la verse des légumineuses dans le cas d'un mélange pois-blé (Pelzer et al., 2012) ou en augmentant la surface foliaire par plante dans le

tel-00913095, version 1 - 3 Dec 2013

cadre d'une association pois-orge par rapport à une monoculture d'orge (Corre-Hellou et al., 2006). Cependant, Nelson & Robichaux (1997) observent dans le cadre d'une association niébé (*Vigna unguiculata*)-millet perlé en testant deux variétés de niébé, l'une à port buissonnant avec fort rendement et l'autre à port étalé ou grimpant à rendement plus faible, un meilleur rendement en interculture pour la variété à port étalé. Ils concluent que le choix d'une variété en monoculture ne sera pas forcément le même en cultures associées.

Les interventions de l'Homme. L'architecture peut également être influencée directement par une action physique de l'homme sur la plante en la tuteurant, comme par exemple pour la culture de l'igname ou du houblon, selon le mode de palissage comme pour la vigne, l'élagage ou l'écimage au cours de la saison de croissance végétative (Turnbull, 2005). L'action directe de l'homme sur l'architecture des plantes est particulièrement importante dans les cas des plantes ligneuses (vigne, arbres fruitiers, éventuellement peuplements forestiers) via les opérations de taille lors des différentes périodes de l'année.

d. Pourquoi manipuler l'architecture ?

L'objectif principal en agronomie de manipuler l'architecture des couverts est de maximiser et stabiliser les rendements. Durant la révolution verte des années 60-70, l'incorporation de gènes de nanisme dans des variétés de blé et de riz a permis de meilleurs rendements, les plantes investissant moins dans la biomasse (en particuliers avec une diminution de la taille des entre-nœuds) et une meilleure résistance à la verse (Huyghe, 1998; Turnbull, 2005). Cependant, cette caractéristique architecturale de réduction de la hauteur des individus et de la longueur des entre-nœuds tend à favoriser les épidémies en diminuant les distances de dispersion du pathogène et en favorisant des couverts compacts avec des microclimats plus favorables aux pathogènes, comme nous allons le voir dans la deuxième partie bibliographique.

De cette partie bibliographique, outre la description rapide des traits architecturaux des plantes, deux points nécessitent une attention particulière pour la compréhension de la démarche suivie pendant la thèse et des méthodes employées. Il s'agit d'une part, de la possibilité d'estimer l'architecture via une variable synthétique telle que la porosité et d'autre part, d'avoir connaissance des différents moyens pouvant être mis en œuvre pour modifier l'architecture des couverts.

II. Influence de l'architecture du couvert sur le développement des épidémies

Une bibliographie détaillée relative à l'influence de l'architecture du couvert sur le développement des épidémies est effectuée dans les chapitres **1-**Réceptivité et **3-**Microclimat de ce document de thèse. Par ailleurs, deux articles de synthèse mentionnent les principaux aspects

tel-00913095, version 1 - 3 Dec 2013

relatifs à cette thématique (Ando et al., 2007; Tivoli et al., 2012). Dans cette partie bibliographique, essentielle pour ce travail de thèse, je reprendrai les aspects susceptibles d'éclairer à la fois la problématique de mon travail et les résultats obtenus (l'article de synthèse de Tivoli et al. (2012) auquel j'ai collaboré est joint en annexe).

Dans la partie précédente, nous avons évoqué les leviers permettant de manipuler l'architecture du couvert. De part une évolution constante de l'architecture du couvert au cours du temps, modulée par la plasticité de la plante en réponse à l'environnement (conditions pédoclimatiques et actions humaines), l'étude de son influence sur les maladies aériennes est complexe car il faut à la fois tenir compte du développement de la plante au cours de la culture (partie écophysiologie évoquée dans la partie précédente) et de la dynamique de l'épidémie. Cet impact peut engendrer un effet très favorable à la maladie, un ralentissement de l'épidémie, ou encore une absence de maladie suite à un évitement total. Dans cette partie, nous aborderons les recherches concernant les interactions entre l'architecture du couvert et le développement d'épidémies aériennes.

a. Un peu d'histoire

Les recherches en épidémiologie végétale relatives aux études de l'influence des couverts sur le développement d'épidémies aériennes se sont développées dans les années 70. Des essais en plein champ ont été effectués avec des couverts contrastés en faisant varier les variétés, les densités de semis ou le mode de conduite. Elles ont permis de décrire des idéotypes, c'est-à-dire de types variétaux ou culturaux permettant de maximiser l'échappement à la maladie au sein des couverts. Ces études concernent principalement la sclérotiniose (*Sclerotinia sclerotiorum*) du haricot (*Phaseolus vulgaris*). Les auteurs suggèrent une architecture du couvert ouverte afin de modifier le microclimat en le rendant défavorable au développement de la maladie par le biais de *plantes à croissance déterminée avec un port dressé rigide et vigoureux ou à croissance indéterminée de petites tailles, constituées de peu de tiges principales possédant de longs entre-nœuds, peu de ramifications et de petites tailles ainsi que des feuilles de petites tailles afin de favoriser la circulation de l'air et une meilleure pénétration lumineuse au sein du couvert, permettant un séchage de la rosée plus rapide à la surface des feuilles* (Coyne et al., 1974). De plus, ils suggèrent, des plantes possédant un *port dressé et une faible densité de couvert pour générer un microclimat défavorable à l'infection et au développement de la maladie* (Schwartz et al., 1978). La limitation de la fréquence et du volume d'irrigation renforce l'effet défavorable de ces phénotypes sur la maladie (Blad et al., 1978; Weiss et al., 1980). Schwartz et al. (1978) observent également une quantité plus importante de fleurs sénescentes tombées au sol sous le couvert le plus dense, dont de nombreuses sont colonisées par le pathogène, à l'inverse des couverts ouverts présentant peu de fleurs sénescentes au sol colonisées,

tel-00913095, version 1 - 3 Dec 2013

suggérant ainsi une source d'inoculum secondaire plus importante pour le couvert le plus dense. Enfin, Blad et al. (1978) suggèrent d'associer à l'échappement dû à l'architecture, la résistance génétique de nouveaux cultivars.

Dans les années 80-90, avec l'utilisation massive des fongicides, les études concernant l'action de l'architecture des couverts comme frein au développement d'épidémies tombent en désuétude.

Dans les années 2000, avec l'apparition de pathogènes résistants à certains fongicides et dans un désir de protection de l'environnement et de qualité sanitaire des aliments visant à diminuer l'usage des fongicides, voire à l'interdiction de certains, une demande forte de retour à des méthodes alternatives/combinatoires de luttes contre les pathogènes a été formulée aussi bien au niveau des instances politiques, des défenseurs de l'environnement que des consommateurs. Concernant l'utilisation de l'architecture des couverts, les études sont ré-initiées sur la base des constatations au champ et des idéotypes proposés dans les années 70, c'est-à-dire i) sélectionner des variétés et/ou proposer des modes de culture permettant de générer un couvert aéré et ce, afin d'avoir un microclimat discriminant pour le pathogène et ii) limiter le développement d'organes sur lesquels les pathogènes pourraient se développer préférentiellement et ainsi maximiser l'échappement à la maladie en combinaison si possible avec de la résistance génétique. De plus, l'évolution de la technologie en 30 ans a permis d'affiner la recherche en i) fournissant du matériel pour l'étude du microclimat (température, humidité relative, durée d'humectation, …) plus performant et à des échelles plus fines , ii) améliorant le formalisme mathématique avec le couplage de modèles écophysiologique et épidémiologique facilité par un matériel informatique plus performant , iii) générant une représentation virtuelle du couvert permettant une meilleure appréciation des épidémies modélisées , iv) développant via une connaissance génétique approfondie sur les gènes codant l'architecture des plantes et un matériel d'analyse plus performant.

b. Recherches actuelles

De nombreux guides en agriculture intégrée indiquent des méthodes de lutte prophylactique pour gérer l'action de pathogènes via l'architecture des couverts en favorisant l'aération au sein des couverts ou en enlevant les organes les plus sensibles. Ces guides, comme par exemple le 'Field guide for integrated pest management in hops' (Anonyme, 2009), en intègrent les résultats de recherche ou utilisent des données basées sur dire d'experts. Ils suggèrent par exemple d'éliminer les parties basales des plantes à la fin de l'hiver pour diminuer la quantité d'inoculum dans le cas du mildiou et de l'oïdium ou de favoriser l'aération des couverts pour diminuer l'humectation des cônes de houblon dans le cas des épidémies d'alternariose. En effet, comme nous l'avons vu précédemment, de part sa densité et/ou son ouverture, un couvert peut influencer de différentes manières le

tel-00913095, version 1 - 3 Dec 2013

développement d'une épidémie : par exemple, en diminuant la densité d'hôte, en impactant sur la dispersion des spores ou en modifiant le microclimat au sein du couvert (Ando et al., 2007).

La dispersion des pathogènes. En diminuant la densité de semis, la pénétration de la pluie peut être favorisée améliorant ainsi la dispersion des spores propagées par éclaboussure (Burdon & Chilvers, 1982). C'est le cas du pathosystème fraise/*Colletotrichum acutatum* (Madden & Boudreau, 1997) où une forte densité de semis limite la dispersion par éclaboussure du pathogène. Cependant, en diminuant la densité d'hôte ou la densité de semis, ou en augmentant l'espace inter-rang, le nombre de surfaces réceptrices diminue également ce qui peut contribuer à défavoriser l'épidémie. Dans le cas de cultures associées hôte&non-hôte ou sensible&résistante, un effet barrière physique à la dispersion est observé en complément d'un effet sur la dilution de l'hôte au sein du couvert (Mundt, 2002; Trenbath, 1993; Wolfe, 1985). Dans le cadre d'une étude de l'effet de mélanges 'maïs-sorgho' et 'sorgho résistant-sorgho sensible' par rapport à une monoculture de sorgho sensible sur la progression de l'anthracnose (*Colletotrichum sublineolum*) et de la brûlure foliaire (*Exserohilum turcicum*) du sorgho, Ngugi et al. (2001) ont observé un retard dans l'initiation des épidémies et une sévérité moindre dans les mélanges par rapport à la monoculture et une meilleure efficacité en utilisation du mélange intra-rang par rapport à un mélange inter-rang. La relation entre l'intensité de la pluie et la dispersion par éclaboussure est cependant complexe. En effet, pour les spores dispersées par éclaboussure, il faut une énergie cinétique suffisante pour extraire les spores du mucus dans lesquelles elles sont incluses, mais une intensité de pluie trop forte peut également empêcher le dépôt sur feuilles ou nettoyer les feuilles sur lesquelles les spores se seraient déposées (Huber et al., 2006). La vitesse d'impact des gouttes peut ainsi être modifiée par exemple par les profils de LAI ou l'angle d'inclinaison des feuilles et un couvert dense pourrait donc favoriser une épidémie en cas d'épisode pluvieux intense.

La dispersion de spores anémophiles est également impactée durant la phase de développement végétatif du couvert (Ferrandino, 2008). En effet, le devenir des spores anémophiles (dépôt sur le sol ; sur un organe réceptif ou non, sain ou non ; ou sortie du couvert) dépend de la densité de surface foliaire, les couverts denses présentant un 'effet barrière' à la dispersion des spores. La notion de porosité du couvert revêt donc une caractéristique importante pour expliquer l'impact du couvert sur la dispersion de l'inoculum. Mais la porosité, en favorisant l'aération du couvert pour les couverts les plus poreux, impacte aussi le développement de l'épidémie en asséchant plus rapidement le couvert et donc créant des conditions microclimatiques défavorables au développement d'épidémies (Deshpande et al., 1995).

tel-00913095, version 1 - 3 Dec 2013

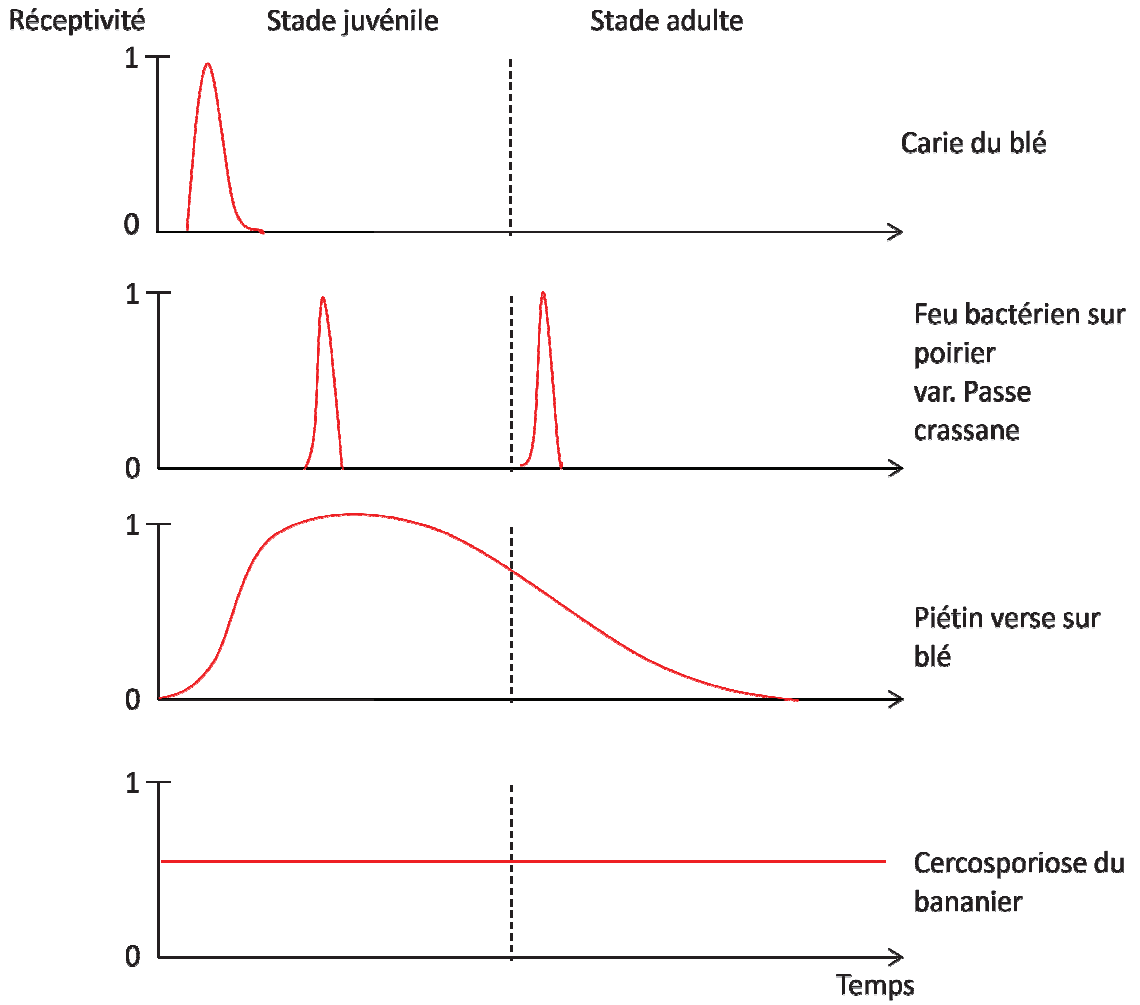


Figure 0.3 Evolution de la réceptivité (en rouge) en fonction de l'âge de l'hôte (adapté de Rapilly, 1991)

tel-00913095, version 1 - 3 Dec 2013

Le développement de la maladie. La persistance d'eau libre sur les feuilles constitue une condition nécessaire à la germination de nombreux pathogènes mais également à leur sporulation (Huber & Gillespie, 1992; Rotem et al., 1978). Cette durée d'humectation nécessaire à l'infection d'un hôte peut varier en fonction de la température. En modifiant l'architecture du couvert, la durée d'humectation peut ainsi être réduite et permettre ainsi de diminuer ou d'éviter le développement des épidémies. Par exemple, concernant la sclérotiniose du haricot, Deshpande et al. (1995) observent des durées d'humectation plus longues dans les couverts denses du cv. Tara que dans les couverts ouverts du cv. Starlight entraînant des sévérités de maladie plus importantes dans les couverts denses que dans les couverts aérés. De même sur carotte, Kora et al. (2005), en aérant le couvert et en enlevant les organes sénescents sur lesquels se développe *Sclerotinia sclerotiorum*, modifient le microclimat en diminuant l'humidité relative et en augmentant les températures de l'air et du sol en journée dans les couverts aérés créant un environnement défavorable au développement de la maladie. Dans le cas de couverts denses, l'irrigation du couvert peut également favoriser les épidémies lorsque les conditions météorologiques de la parcelle ne sont pas favorables aux pathogènes (Rotem & Palti, 1969). Une bibliographie plus exhaustive sera présentée dans le chapitre 3.

La réceptivité des organes. De plus, au cours de la croissance/développement de la plante, la réceptivité des organes à la maladie peut évoluer au cours du temps. Le terme 'réceptivité' est utilisé en épidémiologie sans avoir de définition précise et peut avoir différents sens. Il peut être associé à la notion de résistance partielle comme dans le cadre de la rouille de l'avoine (Luke, 1981) mais dans le cadre de notre étude, nous utiliserons la définition de Rapilly (1991). Il définit ainsi le terme réceptivité comme une « notion quantitative qui traduit le fait que la plante-hôte où les tissus sont, en dehors de tout aspect de résistance, dans un état où un parasite peut les contaminer plus ou moins intensément ». La figure 0.3 présente l'évolution de la réceptivité pour plusieurs pathosystèmes en fonction du temps. Par exemple, dans le cadre du feu bactérien (*Erwinia amylovora*) sur poirier de la variété Passe crassane, nous pouvons observer deux pics de réceptivité qui correspondent aux deux dates de floraison de l'hôte. Dans le cas de l'ergot du seigle (*Claviceps purpurea*) cité par Burdon & Chilvers (1982), une faible densité de semis prolonge la durée de floraison du seigle qui est une période durant laquelle l'hôte est plus réceptif à la maladie et favorise ainsi la maladie. Ce changement peut venir également d'un changement morphologique de l'organe pouvant être affecté par le couvert. Dans le cas du pathosystème soja/rouille (*Phakopsora pachyrhizi*), Dias et al. (2011) observent un meilleur développement de la maladie par ombrage qui s'expliquerait en partie par une diminution de production de la phytoalexine glyceolline, sa production étant régulée par un apport lumineux. Des couverts plus denses favorisant l'ombrage des

tel-00913095, version 1 - 3 Dec 2013

étages inférieurs diminueraient ainsi la production de molécules de défense vis-à-vis du pathogène. Schnee et al. (2011) observent un effet de la vigueur, définie comme l'intensité végétative de la vigne sur l'évolution de la résistance ontogénique de la vigne à l'oïdium (*Erysiphe necator*). Les plantes présentant un niveau de vigueur élevé caractérisé par une croissance importante du nombre de rameaux secondaires après écimage des rameaux primaires produisent ainsi plus de matériel jeune qui est sensible à la maladie que les vignes avec un faible niveau de vigueur n'ayant pas eu nécessairement besoin d'élagage des rameaux primaires.

Enfin, une approche conceptuelle mixte, couplant modèle de croissance d'une culture et modèle épidémiologique a permis également de mettre en évidence certains leviers de l'architecture pouvant influencer le développement d'une épidémie soit en modélisant l'effet de caractéristiques architecturales de la plante hôte sur le développement de l'épidémie (Calonnec et al., 2008, Robert et al., 2008 ; Baccar et al., 2011; Casadebaig et al., 2012), la propagation d'une épidémie dans une parcelle (Calonnec et al., 2009) ou d'une parcelle à une autre (Andrade et al., 2009). La bonne *correspondance* des résultats simulés à des données observées au champ laisse présager un usage de tels modèles pour éprouver des hypothèses à la recherche d'idéotypes variétaux ou culturaux à valider par la suite par des essais au champ.

Par rapport aux études développées dans ce travail de thèse, il s'agit d'intégrer comment l'architecture du couvert peut agir de façon parfois contradictoire sur la dispersion des spores. Cette partie bibliographique nous renseigne plus particulièrement d'une part, sur l'impact de l'architecture sur le développement des maladies via le microclimat et d'autre part, sur l'importance de la réceptivité des tissus sur l'expression des maladies et les dynamiques épidémiques.

III. Le pathosystème pois/ascochytose

a. Le pois

Une importante mise au point sur le fonctionnement du pois protéagineux a été réalisée dans l'ouvrage 'Agrophysiologie du pois protéagineux' (Anonyme, 1994), réactualisé par Munier-Jolain et al. en 2005. Ces ouvrages basés notamment sur une approche d'écophysiologie, analysent de façon approfondie le fonctionnement d'un peuplement de pois en conditions non limitantes en décrivant les différentes étapes de développement et de fonctionnement d'une plante de pois. Nous reprendrons ici les grandes lignes relatives à la croissance et au développement du pois, qui seront utiles pour la compréhension des résultats obtenus.

Le pois protéagineux (*Pisum sativum*) est une plante annuelle de la famille des légumineuses à croissance indéterminée dont les graines possèdent entre 23 et 25% de protéines. Contrairement

tel-00913095, version 1 - 3 Dec 2013

tel-00913095, version 1 - 3 Dec 2013

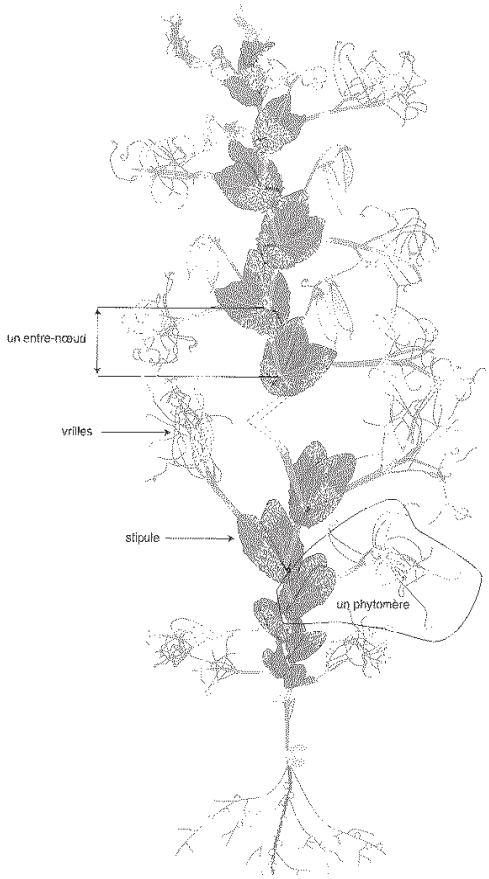


Figure 0.4 Schéma d'une plante de pois (Munier-Jolain et al., 2005)

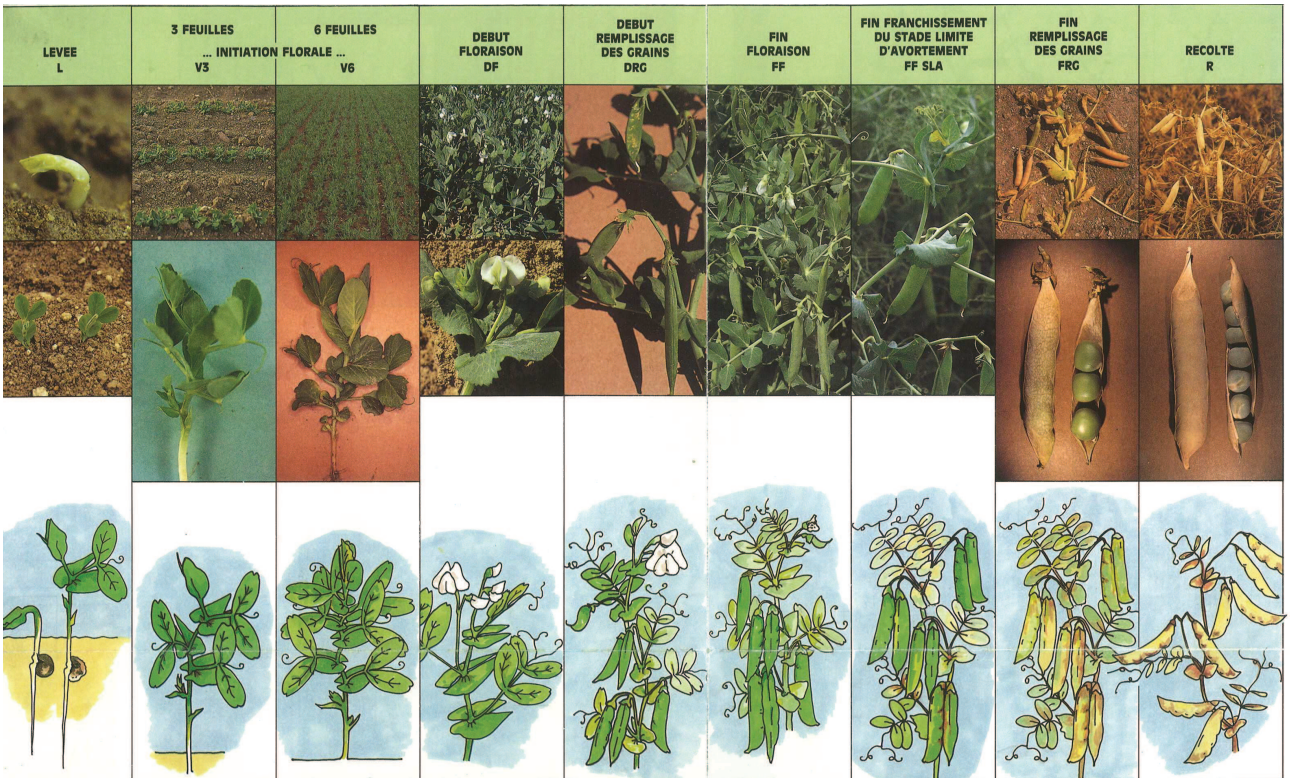


Figure 0.5 Principaux stades de développement du pois protéagineux (Source : ITFC-UNIP)

aux plantes à croissance déterminée chez lesquelles tous les organes possèdent une floraison et une maturité groupées, le pois est caractérisé par les développements végétatif et reproducteur se déroulant simultanément jusqu'à l'arrêt du fonctionnement de l'apex. Une plante de pois est constituée d'un axe principal avec plus ou moins de ramifications selon la variété, partant généralement de la première ou deuxième écaille de la plante (pré-feuilles présentes à la base de la tige). Les pois d'hiver semés à l'automne ont tendance à former davantage de ramifications en cas de gel de l'apex de la tige principale (Munier-Jolain et al., 2005). Le pois a également tendance à compenser en faibles densités de semis en générant de nouvelles ramifications (Jeuffroy & Ney, 1997). Chaque tige de pois est constituée d'un enchaînement de phytomères d'âges différents (les plus âgés étant situés à la base de la plante) constitués de :

- un entre-nœud, correspondant à la partie de tige entre deux nœuds successifs ;
- une feuille composée de deux stipules, de vrilles et de folioles chez les variétés « feuillues » ou de vrilles supplémentaires chez les variétés 'afila' ;
- un méristème axillaire à l'aisselle des stipules, pouvant donner naissance à une ramification secondaire si la dominance apicale est levée. Si le phytomère portant le méristème est initié après l'induction florale, le méristème pourra produire une à deux fleurs suivant les conditions d'éclairement et de température (Figure 0.4).

Selon la définition de l'architecture donnée précédemment, l'architecture d'une plante de pois peut être vue comme un ou plusieurs axes constitués de phytomères consécutifs disposés en strates les uns au dessus des autres le long de chaque axe caulinaire. Selon les variétés, le nombre de tiges, la taille des stipules et par extension le LAI varient.

Différents stades physiologiques se succèdent durant la saison culturale. Après la levée, l'initiation florale commence généralement au stade 3-4 feuilles chez les pois de printemps et 5-6 feuilles chez les pois d'hiver. S'en suivent le stade floraison, entre début et fin floraison (Figure 0.5) puis le stade de nouaison entre le début et la fin du Stade Limite d'Avortement (SLA). Le SLA se définit comme le stade auquel une gousse ne peut plus avorter et se caractérise par des diamètres de graines supérieurs à 6mm et une teneur en eau équivalente à 85% du poids frais des graines. Il correspond généralement au stade de début de remplissage des graines. Le stade 'Fin SLA' est atteint quand le dernier étage fructifère franchit le SLA. Enfin, le stade maturité physiologique est atteint quand le dernier étage porte des graines présentant une teneur en eau inférieure à 55%. Après la floraison, les différents stades sont donc présents le long de la tige principale: éventuellement des boutons floraux sur les nœuds les plus jeunes, des fleurs, des gousses en formation, des gousses ayant atteint le SLA et des gousses à maturité physiologique sur les nœuds les plus âgés. La récolte a lieu quand la teneur en eau des graines est de l'ordre de 14%.

tel-00913095, version 1 - 3 Dec 2013

Pendant une première période, l'accumulation de biomasse aérienne est peu rapide, puis du stade 4-5 feuilles à fin floraison, la vitesse est maximale. Elle se ralentit à partir de ce stade puis cesse à maturité physiologique des graines. Chez le pois, les ressources azotées proviennent de la fixation symbiotique de l'azote atmosphérique via les nodosités induites par les bactéries *Rhizobium leguminosarum* et pour une faible part, de l'absorption de l'azote minéral. Au cours du développement, se différencient des organes sources et puits pour le carbone et l'azote. La photosynthèse qui est le résultat de l'interception du rayonnement actif, constitue une source de carbone pour les différents puits. Dès les premières gousses formées, les assimilats carbonés et azotés sont mobilisés pour aller remplir les graines en formation. Le rendement final peut être attribué à une série de composantes du rendement, chacune d'entre elles étant le résultat d'une relation source-puits opérant pendant les phases successives du développement. Pour le pois, comme pour les autres espèces, le rendement est décomposé en nombre de graines par m^2 x poids moyen d'une graine.

Compte tenu des études menées dans cette thèse, un point particulier relatif à la durée de vie de la surface foliaire mérite d'être mentionné. Pic (1998) s'est intéressée à la durée de vie des feuilles de pois et au phénomène de sénescence. L'auteur définit la sénescence comme la phase finale du développement d'une feuille, durant laquelle une part importante d'azote, de carbone et d'éléments minéraux sont recyclés pour d'autres organes de la plantes. Après le déploiement d'une feuille, deux phases précédant la sénescence sont observées :

- une phase de maturation d'environ 250 degrés-jours (dj) au cours de laquelle la feuille atteint son optimum de fonctionnement photosynthétique ;
- une seconde phase de 200 dj, durant laquelle la feuille a un fonctionnement optimal.

Dès le début de la remobilisation des assimilats carbonés et azotés, la sénescence progressive des organes foliaires à partir de la base des plantes est notable. Chez les légumineuses à graines, la remobilisation de l'azote des feuilles vers les graines provoque *in fine* la sénescence générale des feuilles observée pendant les derniers stades de développement (Sinclair & de Wit, 1976). Par ailleurs, la sénescence qui survient donc de façon séquentielle à partir d'un certain âge des feuilles, est également favorisée dans le bas du couvert par l'absence de lumière (Hay & Walker, 1989). Cette absence de lumière peut être particulièrement importante à partir de la fermeture du couvert et est accentuée dans le cas de densités de peuplement élevées.

L'ensemble des résultats relatifs à la croissance et au développement du pois ont fait l'objet de modélisation : modèle de développements végétatif et reproducteur du pois, modèle de répartition des assimilats carbonés, modèle d'élaboration du nombre de graines, modèles globaux de fonctionnement d'un peuplement de pois (Munier-Jolain et al., 2005).

tel-00913095, version 1 - 3 Dec 2013

Enfin, le pois fait l'objet de nombreux travaux en génétique et sélection (Anonyme, 2008) sur des aspects aussi importants que la résistance au froid (types hiver), l'amélioration pour le rendement (passage des types feuillus aux types afila), la précocité, la tenue de tige, la résistance aux maladies et la teneur de protéines des graines. De plus, la variabilité génétique du pois a généré des phénotypes architecturaux variés en jouant sur la hauteur des plantes, le nombre de ramifications, la taille des stipules ou encore la tenue de tige. Le nombre de ramifications est sous la dépendance de facteurs génétiques mais dépend également de la croissance des plantes. Le cas le plus extrême est apporté par les nouveaux types de pois d'hiver sensibles à la photopériode, dont le nombre de ramifications est particulièrement élevé (Lejeune-Hénaut et al., 2008). En ce qui concerne le rôle de la croissance des plantes sur le nombre de ramifications, Field & Jackson (1975) ont mis en évidence que les différents niveaux de compétition pour les assimilats liés à la densité de plantes peuvent modifier sensiblement le nombre total de ramifications. Par ailleurs, dans le cas des organes foliaires, Cousin (1992) mentionne que le gène '*afila*' entraîne par rapport aux variétés feuillues, une réduction de 40% de la surface foliaire qui est alors mieux répartie le long de la tige, ce qui assure une meilleure pénétration de la lumière dans le couvert, une prolongation de la photosynthèse des stipules et ainsi un meilleur rendement. Cet auteur note également que le gène '*rogue*' réduit la largeur des stipules qui deviennent dressés comme des oreilles de lapin. Enfin, en ce qui concerne la tenue de tige, indispensable pour limiter la verse et faciliter la récolte, les sélectionneurs sont actuellement très mobilisés sur l'amélioration de ce caractère (Carrouée, communication personnelle).

Par rapport au travail de thèse, trois éléments décrits ci-dessus sont particulièrement importants à retenir: i) la structuration architecturée de la plante de pois et du couvert, représentée sur une dimension en un enchainement de strates successives le long des tiges, ii) la sénescence des organes des plantes commençant en bas des plantes et remontant progressivement et enfin iii) la variabilité architecturale du pois liée au phénotype variétal.

b. La maladie

L'ascochytose a fait l'objet de plusieurs revues bibliographiques synthétiques dont deux récentes: Bretag et al. (2006) et Tivoli & Banniza (2007). Nous ne reprendrons dans cette partie que les éléments nécessaires à la compréhension de notre travail.

tel-00913095, version 1 - 3 Dec 2013

tel-00913095, version 1 - 3 Dec 2013

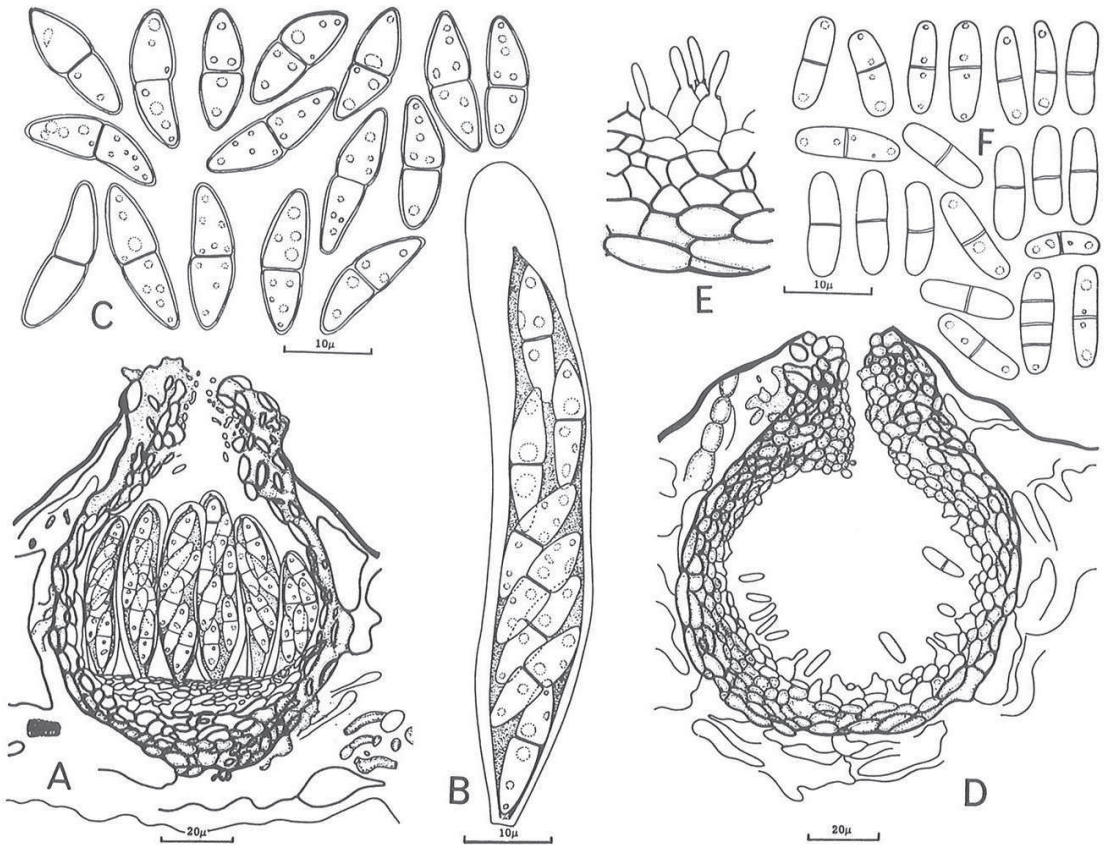


Figure 0.6 Représentation schématique des propagules de *Mycosphaerella pinodes*. **A**, coupe verticale d'un pseudothèce contenant des asques (**B**) remplies d'ascospores (**C**). **D**, coupe verticale d'une pycnide. **E**, agrandissement de la paroi avec conidiophores. **F**, pycniospores. (Lawyer, 1984)

i. Description du pathogène

L'ascochytose du pois est due à un complexe parasitaire affectant toutes les régions productrices de pois de par le monde quand les conditions environnementales sont favorables (Bretag et al., 2006). Ce complexe est constitué de trois pathogènes distincts :

- *Mycosphaerella pinodes* ;
- *Phoma medicaginis* var. *pinodella* ;
- *Ascochyta pisi*.

En Australie, deux autres espèces de *Phoma* ont été récemment identifiées dans le complexe, *P. koolunga* (Davidson et al., 2009) et *P. herbarum* (Li et al., 2011) mais leur présence reste minoritaire par rapport à *M. pinodes* et *P. medicaginis* var. *pinodella* (Davidson et al., 2011). En France le terme d'anthracnose est utilisé à tort. En effet, sa dénomination internationale est exclusivement réservée aux maladies dues à un champignon à acervules du genre *Colletotrichum*. Présente dans d'autres régions du monde (Australie, Canada), cette maladie sur pois est provoquée par le champignon *C. pisi.*

Le complexe des trois espèces décrites ci-dessus est cependant peu étudié et généralement les études se concentrent sur les infections dues à *M. pinodes*, pathogène le plus agressif du complexe et le plus répandu (Tivoli & Banniza, 2007). Une étude du complexe parasitaire par Le May et al. (2009c) constitué de *M. pinodes* et *P. medicaginis* var *pinodella*, en conditions contrôlées, a mis en évidence des cas de synergisme quand un des pathogènes arrive après l'autre ou d'antagonisme quand les deux sont inoculés en même temps.

Dans ce travail de thèse, nous nous focaliserons donc sur l'ascochytose provoquée par *M. pinodes*. Ce dernier est un champignon hémibiotrophe et homothallique (Woudenberg et al., 2012) de la famille des Ascomycètes et qui dispose de deux types de propagules (Tivoli & Banniza, 2007) issues :

- des pseudothèces (reproduction sexuée) qui produisent des ascospores formées dans des asques (Figure 0.6). Les spores sont éjectées par un phénomène d'humectation/dessiccation dit 'jack in the box' (Ingold, 1933) et dispersées par le vent (dispersion anémophile) sur des distances pouvant atteindre 1 600m (Lawyer, 1984) ;
- des pycnides (multiplication asexuée), produisant les pycniospores et dispersées sur de plus courtes distances par éclaboussures ou 'splashing' lors d'épisodes pluvieux ou d'irrigation aérienne/aspersion.

Le pathogène a besoin d'eau libre ou d'une humidité relative proche de la saturation pour infecter son hôte avec un optimum de température aux alentours de 20°C (Roger et al., 1999b). A cette température, une durée continue d'humectation de 8 h suffit au pathogène pour germer et pénétrer dans les tissus de son hôte. En s'éloignant de cet optimum, les durées d'humectation

tel-00913095, version 1 - 3 Dec 2013

tel-00913095, version 1 - 3 Dec 2013

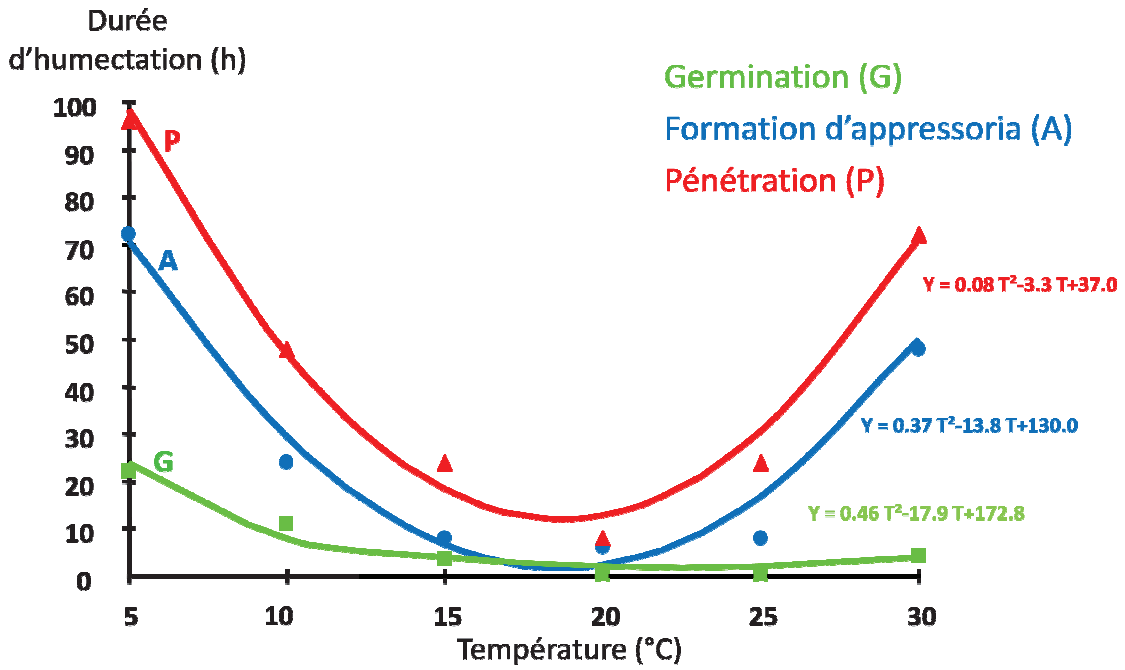


Figure 0.7 Durées d'humectation continue nécessaires en fonction de la température pour la germination (en vert), la formation des appressoria (en bleu) et la pénétration (en rouge) de *Mycosphaerella pinodes* (Roger et al., 1996b)

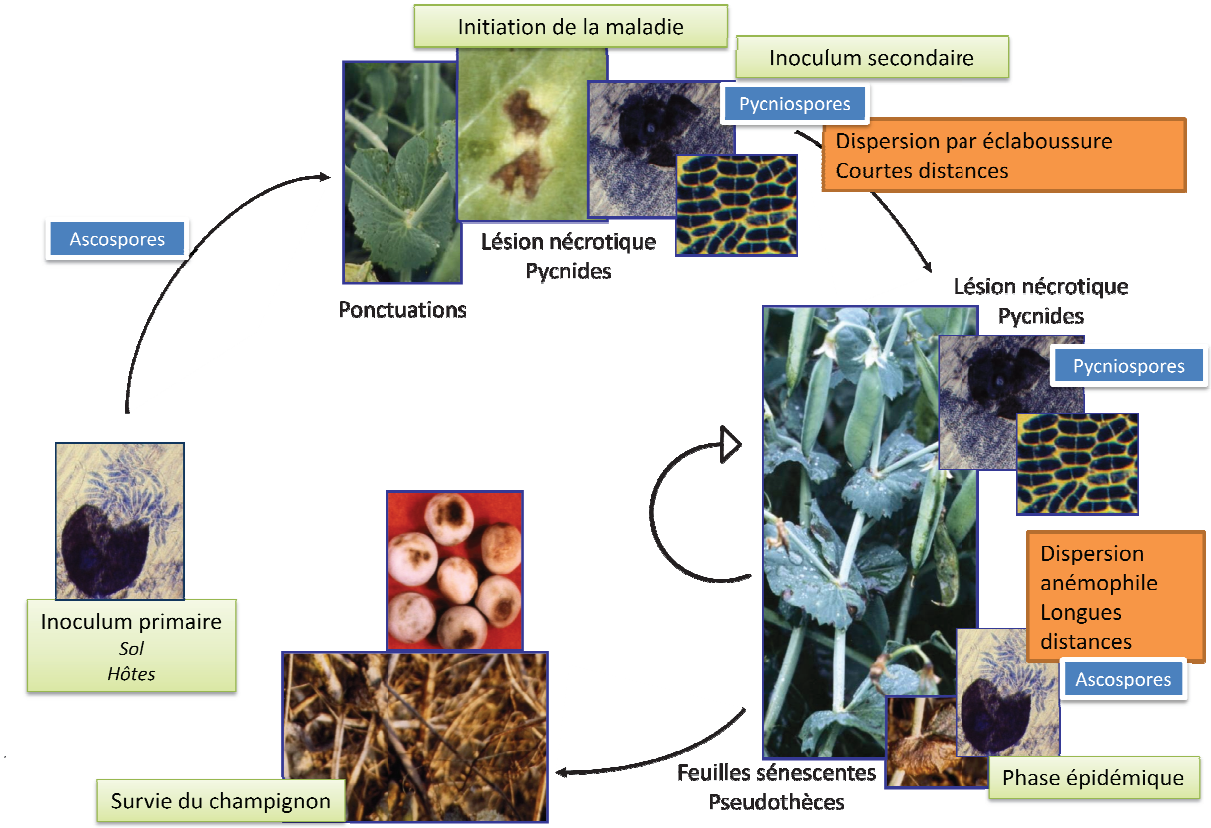


Figure 0.8 Cycle épidémique de l'ascochytose du pois due à Mycosphaerella pinodes (Tivoli & Banniza, 2007)

nécessaires pour infecter le pois augmentent au fur et à mesure que la température diminue ou augmente (Figure 0.7). En cas d'interruption de présence d'eau libre pendant la phase d'infection, le processus est ralenti voire stoppé si la sécheresse a lieu pendant la phase de germination de la spore (Roger et al., 1999a). Si les premières lésions apparaissent avant l'interruption de la période humide, l'extension des lésions peut continuer si la température se maintient aux alentours de l'optimum de 20°C.

ii. Cycle d'une épidémie

L'ascochytose est une maladie polyclique affectant toutes les parties aériennes de la plante : stipules, tiges, fleurs, gousses et graines. L'inoculum primaire arrive sous forme d'ascospores dont l'origine reste encore mal connue : sol, résidus de culture ou légumineuses sauvages (Bretag, 2006; Tivoli & Banniza, 2007). Les résidus de culture en Australie ne sont pas enfouis à l'inverse de la France et fournissent ainsi une source importante d'inoculum (Davidson & Kimber, 2006). L'épidémie démarre ensuite à la base des couverts quand les conditions environnementales le permettent et ce, de manière homogène sur toutes les plantes de la parcelle (Roger & Tivoli, 1996) avant de progresser vers le sommet des couverts (Figure 0.8). Des ponctuations apparaissent sur les stipules et les pycnides sont les premières propagules à se former quand les ponctuations devenues lésions deviennent coalescentes. Les pseudothèces apparaissent sur les organes sénescents et accélèrent l'épidémie dans le couvert en permettant une plus grande dispersion des spores. En effet, Schoeny et al. (2008) ont observé en conditions contrôlées que les pycniospores dispersées par éclaboussure ont un taux de propagation au nœud supérieur très faible. Les autres parties aériennes (tiges, gousses et par extension graines) sont également infectées. Heath and Wood (1971) ont montré que la maladie peut s'exprimer différemment selon l'âge de l'organe. Ils ont décrit des nécroses limitées sur feuilles vertes et des nécroses évolutives sur feuilles sénescentes, contenant respectivement des teneurs élevées et faibles de phytoalexine. Enfin, le semis de graines infectées entraîne un faible taux de germination et provoque généralement un pourrissement racinaire (Moussart et al., 1998).

iii. Impact de l'architecture du couvert sur le développement de l'ascochytose

Des études récentes ont montré un impact de l'architecture du couvert pouvant mener à des gradients de maladie au champ différents. Cependant, ces résultats n'apportent pas d'éléments de réponse concrets sur les processus induits par l'architecture sur le développement de l'ascochytose. Le May et al. (2009b) observent un impact de l'architecture du couvert de pois sur la cinétique spatio-temporelle de développement de l'ascochytose entre les couverts de quatre cultivars de pois de printemps : pour un nœud donné, plus le LAI au-dessus de ce nœud et la distance moyenne entre ce nœud et ses neuf plus proches voisins est grande, plus la sévérité de la maladie sera élevée tandis

tel-00913095, version 1 - 3 Dec 2013

que plus l'entre-nœud est long entre le nœud inférieur et le nœud étudié, moins sévère sera la maladie sur le nœud étudié. Dans le cas d'associations culturales entre blé et pois (Schoeny et al., 2010) et blé, féverole, orge, avoine ou triticale et pois (Fernandez-Aparicio et al., 2010), une diminution de la sévérité par rapport à une monoculture de pois a été observée pouvant s'expliquer par une réduction de la densité de biomasse de l'espèce hôte, un changement dans le microclimat ou un effet barrière physique à la dispersion par l'espèce non-hôte. En conditions contrôlées (milieu non-turbulent), Schoeny et al. (2008) ont étudié l'influence du couvert sur la diffusion par splashing de pycniospores à l'aide d'un simulateur de pluie. Ils ont observé un gradient exponentiel négatif de dispersion horizontale des spores avec des pentes similaires à partir d'un LAI de 0,46 et une pente plus forte dans un couvert moins dense avec un LAI de 0,36, suggérant une dispersion plus faible pour un couvert peu dense malgré un potentiel de dispersion (grâce à l'aération du couvert) plus important. Par ailleurs, Banniza et al. (2005) ont montré l'importance de la tenue de tige pour éviter les risques de verse du pois, à la suite de laquelle tout trait architectural potentiellement intéressant pour ralentir la progression de la maladie, disparaît pour arriver à une culture plaquée contre le sol.

iv. Impact sur le rendement

L'ascochytose impacte le rendement du pois en diminuant le nombre de graines par gousse mais également le poids d'une graine (Garry et al., 1998, Béasse et al., 1999). Si l'infection d'une gousse a lieu avant le début de remplissage des graines, cela peut également entraîner un avortement de la gousse (Béasse et al., 1999). Le pathogène réduit sensiblement la surface photosynthétiquement active d'une feuille en diminuant l'efficience d'utilisation du rayonnement intercepté (Béasse et al., 2000). Des diminutions de rendement allant de 19 à 43% ont été observées au Canada (Xue et al., 1997) et Tivoli et al. (1996) ont signalé des diminutions de rendement pouvant atteindre 40%. Par ailleurs, Tivoli et Banniza (2007) notent que la maladie peut sérieusement affecter la qualité des graines.

v. Méthodes de lutte contre les épidémies

Afin de lutter contre les épidémies d'ascochytose au champ, des applications de fongicides à large spectre tel le chlorothalonil (Warkentin et al., 1996) sont effectuées entre les stades Début et Fin floraison. Généralement deux ou trois applications de chlorothalonil sont réalisées sur pois de printemps et trois ou quatre sur pois d'hiver (Carrouée, communication personnelle). L'utilisation de modèles prédictifs de risque épidémique tel celui développé par Schoeny et al. (2007) sur le site du Rheu pourrait permettre de programmer l'application de fongicides uniquement en cas de risques. En Australie, un modèle de risque de relargage de spores a été développé afin d'indiquer aux agriculteurs les périodes propices pour semer tout en minimisant les risques d'infection (Salam et al.,

tel-00913095, version 1 - 3 Dec 2013

2011). Sur pois d'hiver, la date de semis a également une importance sur le développement de l'épidémie : si le pois est semé trop tôt à l'automne, le risque d'infection est plus grand avec notamment des risques d'infection avant la phase de repos hivernal et de développement de la maladie pendant les hivers doux et humides (Le May et al., 2009a; Schoeny et al., 2007).

Il n'existe pas de sources de résistance génétique suffisamment élevée chez le pois pour se maintenir suffisamment longtemps au cours de la culture. Malgré une légère hausse dans la résistance partielle à la maladie (Onfroy et al., 2007; Warkentin et al., 2012), les niveaux de résistance partielle des cultivars reste faible et la grande majorité des cultivars est considérée comme sensible (Tivoli et al., 2006).

De cette revue bibliographique sur le pathosystème, quatre points importants méritent d'être retenus pour la compréhension du travail décrit ensuite: i) les conditions optimales d'infection (eau libre, température) ; ii) la progression verticale de la maladie de la base vers le haut des plantes ; iii) la sensibilité à l'ascochytose plus importante pour des feuilles âgées que pour des feuilles plus jeunes ; et enfin, iv) la verse du couvert en fin de saison culture qui bouleverse/détruit l'architecture du couvert en l'affaissant.

tel-00913095, version 1 - 3 Dec 2013

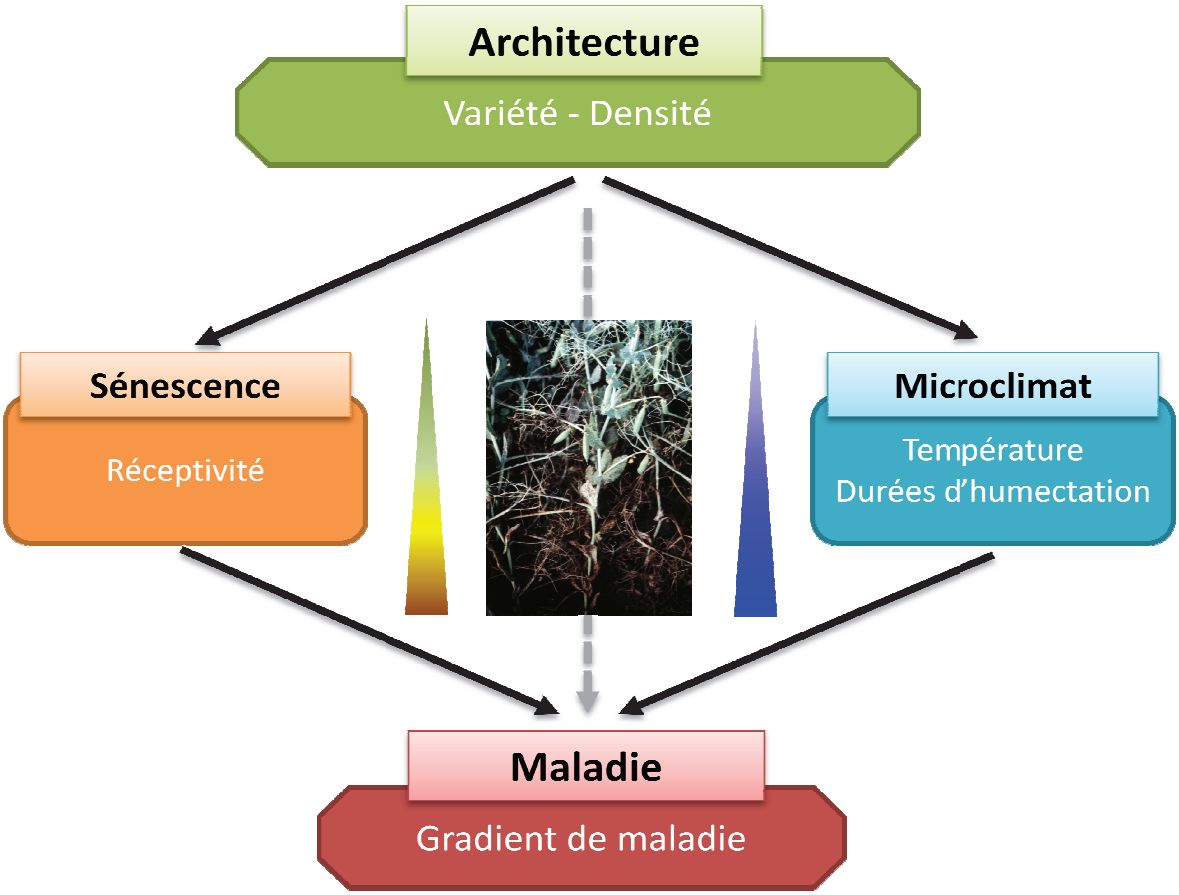


Figure 0.9 Diagramme des leviers étudiés au champ : gradients de réceptivité et d'humectation pour expliquer les variations de profil de maladie en fonction de l'architecture du couvert modifiée en fonction de la variété utilisée et de la densité de semis

tel-00913095, version 1 - 3 Dec 2013

Objectif du travail de thèse

L'ensemble de cette étude bibliographique a montré qu'une modification de l'architecture d'un couvert génère un microclimat particulier: des couverts peu denses et ouverts ayant tendance à diminuer les durées d'humectation au sein du couvert et ainsi diminuer la sévérité des maladies. Le couvert peut également agir sur la dispersion des spores : les couverts moins denses favorisent la dispersion par éclaboussure ou par le vent sans pour autant avoir un effet distinct sur l'infection ; les couverts denses ayant tendance à avoir un 'effet barrière' sur la dispersion contrebalancé par la présence de tissus hôtes et donc des zones d'interception plus importantes quand il y a interception de spores. Enfin, le couvert peut également influencer la sensibilité des tissus. En ce qui concerne le pois, les résultats décrits précédemment confirment le rôle de l'architecture du couvert sur le développement spatio-temporel de l'ascochytose due à *M. pinodes* en émettant des hypothèses sur les leviers sur lesquels pourraient jouer l'architecture via le microclimat et/ou l'état physiologique des organes (réceptivité des tissus).

L'objectif de ce travail de thèse consiste donc à analyser selon quels mécanismes l'architecture du couvert de pois peut influencer le développement de l'ascochytose au champ. Notre démarche a consisté à éprouver deux hypothèses de travail (Figure 0.9) :

- L'existence d'un gradient de réceptivité à la maladie au sein du couvert avec les stipules à la base des couverts plus sénescentes et donc plus réceptives. Hypothèse architecturale : *les couverts plus denses auraient tendance à accentuer la sénescence et donc le gradient de réceptivité entraînerait une réceptivité plus importante dans les couverts denses* ;
- L'existence d'un gradient d'humectation dans les couverts, avec la présence d'eau au sein du couvert plus importante à la base. Hypothèse architecturale : *les couverts fermés et denses auraient tendance à diminuer l'assèchement à l'intérieur et donc à accentuer les durées d'humectation*.

Pour étudier cela, nous avons utilisé deux leviers pour faire varier l'architecture des couverts :

- Un levier variétal en utilisant trois cultivars de pois de printemps avec des caractéristiques architecturales bien différenciées ;
- Un levier 'densité de semis' en semant à différentes densités, afin de créer des couverts plus ou moins aérés.

tel-00913095, version 1 - 3 Dec 2013

Deux années d'expérimentation au champ sur le site de l'Inra du Rheu en 2009 et 2010, ont permis d'obtenir la majorité de nos résultats. De plus, deux années d'expérimentation en conditions contrôlées ont permis d'acquérir des données analytiques sur la réceptivité des tissus à l'ascochytose.

Le premier chapitre de ce travail de thèse consistera à détailler les résultats obtenus sur la réceptivité en conditions contrôlées. Le chapitre 2 présentera le dispositif expérimental au champ des deux années, avec un descriptif des variétés utilisés et un descriptif des scénarios architecturaux obtenus. Le chapitre 3 sera consacré à l'influence du couvert sur le microclimat et l'adaptation d'un modèle en vue de définir les périodes favorables à l'infection à partir des données microclimatiques. Dans le chapitre 4 sera abordé l'impact du couvert sur la sénescence au sein des couverts et les conséquences sur le développement de l'épidémie. Enfin, le dernier chapitre de résultats sera consacré aux rétroactions de la maladie sur le couvert et le rendement. Il sera suivi d'une discussion générale sur les divers résultats obtenus et les perspectives ouvertes par un tel travail.

tel-00913095, version 1 - 3 Dec 2013

Références bibliographiques

Académie française. (1992). Dictionnaire de l'Académie française. Tome 1, A-Enz (9 ed.). Paris: Imprimerie nationale.

Ando, K., Grumet, R., Terpstra, K., & Kelly, J. D. (2007). Manipulation of plant architecture to enhance crop disease control. *CAB Reviews: Perspectives in Agriculture, Veterinary Science, Nutrition and Natural Resources, 2*, 8 pp.

Andrade, D., Pan, Z. T., Dannevik, W., & Zidek, J. (2009). Modeling Soybean Rust Spore Escape from Infected Canopies: Model Description and Preliminary Results. *Journal of Applied Meteorology and Climatology, 48*, 789-803.

Anonyme. (1994). Agrophysiologie du pois protéagineux. Applications à la production agricole.: Unip, ITCF, Inra.

Anonyme. (2008). La filière protéagineuse. Quels défis? (Ouvrage collectif, Editions Quae ed.).

Anonyme. (2009). Field guide for integrated pest management in hops: Cooperative publication : Oregon state university, University of Idaho, USDA agricultural research service & Washington state university.

Aubertot, J. N., Barbier, J. M., Carpentier, A., Gril, J. J., Guichard, L., Lucas, P., Savary, S., Savini, I., Voltz, M., Bonicelli, B., Ruelle, P., Laplana, R., & Turpin, N. (2005). *Pesticides, agriculture et environnement : réduire l'utilisation des pesticides et en limiter les impacts environnementaux. Rapport d'expertise collective*: Inra-Cemagref.

Baccar, R., Fournier, C., Dornbusch, T., Andrieu, B., Gouache, D., & Robert, C. (2011). Modelling the effect of wheat canopy architecture as affected by sowing density on *Septoria tritici* epidemics using a coupled epidemic-virtual plant model. *Annals of Botany, 108*, 1179-1194.

Banniza, S., Hashemi, P., Warkentin, T. D., Vandenberg, A., & Davis, A. R. (2005). The relationships among lodging, stem anatomy, degree of lignification, and resistance to mycosphaerella blight in field pea (*Pisum sativum*). *Canadian Journal of Botany-Revue Canadienne De Botanique, 83*, 1365-1365.

Barthélémy, D., & Caraglio, Y. (2007). Plant architecture: A dynamic, multilevel and comprehensive approach to plant form, structure and ontogeny. *Annals of Botany, 99*, 375-407.

Béasse, C., Ney, B., & Tivoli, B. (1999). Effects of pod infection by *Mycosphaerella pinodes* on yield components of pea (*Pisum sativum*). *Annals of Applied Biology, 135*, 359-367.

Béasse, C., Ney, B., & Tivoli, B. (2000). A simple model of pea (*Pisum sativum*) growth affected by *Mycosphaerella pinodes*. *Plant Pathology, 49*, 187-200.

Blad, B. L., Steadman, J. R., & Weiss, A. (1978). Canopy structure and irrigation influence white mold disease and microclimate of dry edible beans. *Phytopathology, 68*, 1431-1437.

tel-00913095, version 1 - 3 Dec 2013

Bretag, T. W., Keane, P. J., & Price, T. V. (2006). The epidemiology and control of ascochyta blight in field peas: a review. *Australian Journal of Agricultural Research, 57*, 883-902.

Burdon, J. J., & Chilvers, G. A. (1982). Host density as a factor in plant disease ecology. *Annual Review of Phytopathology, 20*, 143-166.

Calonnec, A., Cartolaro, P., & Chadoeuf, J. (2009). Highlighting features of spatiotemporal spread of powdery mildew epidemics in the vineyard using statistical modeling on field experimental data. *Phytopathology, 99*, 411-422.

Calonnec, A., Cartolaro, P., Naulin, J. M., Bailey, D., & Langlais, M. (2008). A host-pathogen simulation model: powdery mildew of grapevine. *Plant Pathology, 57*, 493-508.

Campbell, C. L. (1984). A study of the epidemiology of white mold (*Sclerotinia sclerotinium* Lib. deBary) in relation to canopy morphology and leaf wetness of *Phaseolus vulgaris.* M.S., Nebraska, Lincoln, Nebraska.

Casadebaig, P., Quesnel, G., Langlais, M., & Faivre, R. (2012). A generic model to stimulate air-borne diseases as a function of crop architecture. *PLoS ONE, Accepted*.

Corre-Hellou, G., Fustec, J., & Crozat, Y. (2006). Interspecific competition for soil N and its interaction with N-2 fixation, leaf expansion and crop growth in pea-barley intercrops. *Plant and Soil, 282*, 195-208.

Cousin, R. (1992). Le pois. In A. Gallais & H. Bannerot (Eds.), *Amélioration des espèces végétales cultivées. Objectifs et critères de sélection* (pp. 173-188): Inra Editions.

Coyne, D. P., Steadman, J. R., & Anderson, F. N. (1974). Effect of modified plant architecture of great northern dry bean varieties (*Phaseolus vulgaris*) on white mold severity, and components of yield. *Plant Disease Reporter, 58*, 379-382.

Davidson, J. A., Hartley, D., Priest, M., Krysinska-Kaczmarek, M., Herdina, McKay, A., & Scott, E. S. (2009). A new species of Phoma causes ascochyta blight symptoms on field peas (Pisum sativum) in South Australia. *Mycologia, 101*, 120-128.

Davidson, J. A., & Kimber, R. B. E. (2006). *Integrated disease management of ascochyta blight in pulse crops.* Paper presented at the Ascochyta 2006 Workshop, Le Tronchet, FRANCE.

Davidson, J. A., Krysinska-Kaczmarek, M., Wilmshurst, C. J., McKay, A., Herdina, & Scott, E. S. (2011). Distribution and survival of ascochyta blight pathogens in field-pea-cropping soils of Australia. *Plant Disease, 95*, 1217-1223.

de Wit, C. T. (1965). *Photosynthesis of leaf canopies* (Agricultural research reports No. 663). Wageningen: Pudoc.

Deshpande, R. Y. (1992). Effect of plant architecture on microclimate, white mold and yield of dry beans (*Phaseolus vulgaris* L.) and implications for disease management. Ph. D. dissertation, University of Nebraska, Lincoln, Nebraska.

tel-00913095, version 1 - 3 Dec 2013

Deshpande, R. Y., Hubbard, K. G., Coyne, D. P., Steadman, J. R., & Parkhurst, A. M. (1995). Estimating leaf wetness in dry bean canopies as a prerequisite to evaluating white mold disease. *Agronomy Journal, 87*, 613-619.

Dias, A. P. S., Li, X., Harmon, P. F., Harmon, C. L., & Yang, X. B. (2011). Effects of shade intensity and duration on asian soybean rust caused by *Phakopsora pachyrhizi*. *Plant Disease, 95*, 485-489.

Dornbusch, T., Baccar, R., Watt, J., Hillier, J., Bertheloot, J., Fournier, C., & Andrieu, B. (2011). Plasticity of winter wheat modulated by sowing date, plant population density and nitrogen fertilisation: Dimensions and size of leaf blades, sheaths and internodes in relation to their position on a stem. *Field Crops Research, 121*, 116-124.

Fernandez-Aparicio, M., Amri, M., Kharrat, M., & Rubiales, D. (2010). Intercropping reduces *Mycosphaerella pinodes* severity and delays upward progress on the pea plant. *Crop Protection, 29*, 744-750.

Ferrandino, F. J. (2008). Effect of crop growth and canopy filtration on the dynamics of plant disease epidemics spread by aerially dispersed spores. *Phytopathology, 98*, 492-503.

Field, R. J., & Jackson, D. I. (1975). Light effects on apical dominance. *Annals of Botany, 39*, 369-374.

Fournier, C., & Andrieu, B. (1999). ADEL-maize: an L-system based model for the integration of growth processes from the organ to the canopy. Application to regulation of morphogenesis by light availability. *Agronomie, 19*, 313-327.

Garry, G., Jeuffroy, M. H., & Tivoli, B. (1998). Effects of Ascochyta blight (*Mycosphaerella pinodes* Berk & Blox) on biomass production, seed number and seed weight of dried-pea (*Pisum sativum* L) as affected by plant growth stage and disease intensity. *Annals of Applied Biology, 132*, 49-59.

Godin, C., Costes, E., & Sinoquet, H. (1999). A method for describing plant architecture which integrates topology and geometry. *Annals of Botany, 84*, 343-357.

Hallé, F., Oldeman, R. A. A., & Tomlinson, P. B. (1978). Tropical trees and forests: an architectural analysis: Springer-Verlag.

Hay, R. K. M., & Walker, A. J. (1989). An introduction to the physiology of crop yield (Longman Scientific & Technical ed.).

Heath, M. C., & Wood, R. K. S. (1971). Role of inhibitors of fungal growth in the limitation of leaf spots caused by *Ascochyta pisi* and *Mycosphaerella pinodes*. *Annals of Botany, 35*, 475-491.

Huber, L., & Gillespie, T. J. (1992). Modeling leaf wetness in relation to plant-disease epidemiology. *Annual Review of Phytopathology, 30*, 553-577.

Huber, L., Madden, L. V., & Fitt, B. D. L. (2006). Environmental biophysics applied to the dispersal of fungal spores by rain-splash. In B. M. Cooke, D. G. Jones & B. Kaye (Eds.), *The Epidemiology of Plant Diseases* (pp. 417-444): Springer Netherlands.

tel-00913095, version 1 - 3 Dec 2013

Huyghe, C. (1998). Genetics and genetic modifications of plant architecture in grain legumes: a review. *Agronomie, 18*, 383-411.

Ingold, C. T. (1933). Spore discharge in the Ascomycetes. *New Phytologist, 32*, 175-196.

Jeuffroy, M. H., & Ney, B. (1997). Crop physiology and productivity. *Field Crops Research, 53*, 3-16.

Jones, T. H., Cullis, B. R., Clingeleffer, P. R., & Rühi, E. H. (2009). Effects of novel hybrid and traditional rootstocks on vigour and yield components of Shiraz grapevines. *Australian Journal of Grape and Wine Research, 15*, 284-292.

Kora, C., McDonald, M. R., & Boland, G. J. (2005). Lateral clipping of canopy influences the microclimate and development of apothecia of *Sclerotinia sclerotiorum* in carrots. *Plant Disease, 89*, 549-557.

Lawyer, A. (1984). Foliar diseases caused by fungi: dieases caused by Ascochyta spp. In D. J. Hagedorn (Ed.), *Compendium of Pea Diseases* (pp. 11-15). Saint-Paul, MN: APS Press, The American Phytopathological Society.

Le May, C., Jumel, S., Schoeny, A., & Tivoli, B. (2009a). Ascochyta blight development on a new winter pea genotype highly reactive to photoperiod under field conditions. *Field Crops Research, 111*, 32-38.

Le May, C., Ney, B., Lemarchand, E., Schoeny, A., & Tivoli, B. (2009b). Effect of pea plant architecture on spatiotemporal epidemic development of ascochyta blight (*Mycosphaerella pinodes*) in the field. *Plant Pathology, 58*, 332-343.

Le May, C., Potage, G., Andrivon, D., Tivoli, B., & Outreman, Y. (2009c). Plant disease complex: Antagonism and synergism between pathogens of the ascochyta blight complex on pea. *Journal of Phytopathology, 157*, 715-721.

Lejeune-Hénaut, I., Hanocq, E., Bethencourt, L., Fontaine, V., Delbreil, B., Morin, J., Petit, A., Devaux, R., Boilleau, M., Stempniak, J. J., Thomas, M., Laine, A. L., Foucher, F., Baranger, A., Burstin, J., Rameau, C., & Giauffret, C. (2008). The flowering locus Hr colocalizes with a major QTL affecting winter frost tolerance in *Pisum sativum* L. *Theoretical and Applied Genetics, 116*, 1105-1116.

Li, Y. P., You, M. P., Khan, T. N., Finnegan, P. M., & Barbetti, M. J. (2011). First report of *Phoma herbarum* on field pea (*Pisum sativum*) in Australia. *Plant Disease, 95*, 1590-1590.

Lopez, G., Favreau, R. R., Smith, C., & DeJong, T. M. (2010). L-PEACH: A computer-based model to understand how peach trees grow. *Horttechnology, 20*, 983-990.

Luke, H. H. (1981). Influence of disease severity and environmental conditions on low receptivity of oats to crown rust. *Plant disease, 65*, 125-127.

Madden, L. V., & Boudreau, M. A. (1997). Effect of strawberry density on the spread of anthracnose caused by *Colletotrichum acutatum*. *Phytopathology, 87*, 828-838.

tel-00913095, version 1 - 3 Dec 2013

Mathieu, A., Cournede, P. H., Letort, V., Barthelemy, D., & de Reffye, P. (2009). A dynamic model of plant growth with interactions between development and functional mechanisms to study plant structural plasticity related to trophic competition. *Annals of Botany, 103*, 1173-1186.

Moulia, B., & Sinoquet, H. (1993). Three-dimensional digitizing systems for plant canopy geometrical structure: a review. In C. Varlet-Grancher, R. Bonhomme & H. Sinoquet (Eds.), *Crop structure and light microclimate: characterization and applications* (pp. 183-193). Paris: INRA Editions.

Moussart, A., Tivoli, B., Lemarchand, E., Deneufbourg, F., Roi, S., & Sicard, G. (1998). Role of seed infection by the Ascochyta blight pathogen of dried pea (*Mycosphaerella pinodes*) in seedling emergence, early disease development and transmission of the disease to aerial plant parts. *European Journal of Plant Pathology, 104*, 93-102.

Mundt, C. C. (2002). Use of multiline cultivars and cultivar mixtures for disease management. *Annual Review of Phytopathology, 40*, 381-410.

Munier-Jolain, N., Biarnès, V., Chaillet, I., Lecoeur, J., & Jeuffroy, M. H. (2005). Agrophysiologie du pois protéagineux: Inra.

Nelson, S. C., & Robichaux, R. H. (1997). Identifying plant architectural traits associated with yield under intercropping: Implications of genotype-cropping system interactions. *Plant Breeding, 116*, 163-170.

Ngugi, H. K., King, S. B., Holt, J., & Julian, A. M. (2001). Simultaneous temporal progress of sorghum anthracnose and leaf blight in crop mixtures with disparate patterns. *Phytopathology, 91*, 720-729.

Onfroy, C., Baranger, A., & Tivoli, B. (2007). Biotic factors affecting the expression of partial resistance in pea to ascochyta blight in a detached stipule assay. *European Journal of Plant Pathology, 119*, 13-27.

Pelzer, E., Bazot, M., Makowski, D., Corre-Hellou, G., Naudin, C., Al Rifai, M., Baranger, E., Bedoussac, L., Biarnes, V., Boucheny, P., Carrouee, B., Dorvillez, D., Foissy, D., Gaillard, B., Guichard, L., Mansard, M. C., Omon, B., Prieur, L., Yvergniaux, M., Justes, E., & Jeuffroy, M. H. (2012). Pea-wheat intercrops in low-input conditions combine high economic performances and low environmental impacts. *European Journal of Agronomy, 40*, 39-53.

Pic, E. (1998). Analyse de la sénescence foliaire chez le pois (*Pisum sativum* L. cv. Messire) : utilisation conjointe d'un modèle de développement et de marqueurs moléculaires.

Prusinkiewicz, P. (1998). Modeling of spatial structure and development of plants: a review. *Scientia Horticulturae, 74*, 113-149.

Rapilly, F. (1991). L'épidémiologie en pathologie végétale: mycoses aériennes. Paris: Institut National de la Recherche Agronomique.

tel-00913095, version 1 - 3 Dec 2013

Ridao, E., Oliveira, C. F., Conde, J. R., & Minguez, M. I. (1996). Radiation interception and use, and spectral reflectance of contrasting canopies of autumn sown faba beans and semi-leafless peas. *Agricultural and Forest Meteorology, 79*, 183-203.

Robert, C., Fournier, C., Andrieu, B., & Ney, B. (2008). Coupling a 3D virtual wheat (*Triticum aestivum*) plant model with a *Septoria tritici* epidemic model (Septo3D): a new approach to investigate plant-pathogen interactions linked to canopy architecture. *Functional Plant Biology, 35*, 997-1013.

Roger, C., & Tivoli, B. (1996). Spatio-temporal development of pycnidia and perithecia and dissemination of spores of *Mycosphaerella pinodes* on pea (*Pisum sativum*). *Plant Pathology, 45*, 518-528.

Roger, C., Tivoli, B., & Huber, L. (1999a). Effects of interrupted wet periods and different temperatures on the development of ascochyta blight caused by *Mycosphaerella pinodes* on pea (*Pisum sativum*) seedlings. *Plant Pathology, 48*, 10-18.

Roger, C., Tivoli, B., & Huber, L. (1999b). Effects of temperature and moisture on disease and fruit body development of *Mycosphaerella pinodes* on pea (*Pisum sativum*). *Plant Pathology, 48*, 1-9.

Rotem, J., Cohen, Y., & Bashi, E. (1978). Host and environmental-influences on sporulation in vivo. *Annual Review of Phytopathology, 16*, 83-101.

Rotem, J., & Palti, J. (1969). Irrigation and Plant Diseases. *Annual Review of Phytopathology, 7*, 267-288.

Salam, M. U., Galloway, J., MacLeod, W. J., Davidson, J. A., Seymour, M., Pritchard, I., Salam, K. P., Diggle, A. J., & Maling, T. (2011). G1 Blackspot Manager model predicts the maturity and release of ascospores in relation to ascochyta blight on field pea. *Australasian Plant Pathology, 40*, 621-631.

Schnee, S., Jolivet, J., & Calonnec, A. (2011). *Consideration of dynamical plant-pathogen interactions for an improved management of powdery mildew epidemics in grapevine.* Paper presented at the Integrated Protection and Production in Viticulture, Staufen im Breisgau, Germany.

Schoeny, A., Jumel, S., Rouault, F., Le May, C., & Tivoli, B. (2007). Assessment of airborne primary inoculum availability and modelling of disease onset of ascochyta blight in field peas. *European Journal of Plant Pathology, 119*, 87-97.

Schoeny, A., Jumel, S., Rouault, F., Lemarchand, E., & Tivoli, B. (2010). Effect and underlying mechanisms of pea-cereal intercropping on the epidemic development of ascochyta blight. *European Journal of Plant Pathology, 126*, 317-331.

tel-00913095, version 1 - 3 Dec 2013

Schoeny, A., Menat, J., Darsonval, A., Rouault, F., Jumel, S., & Tivoli, B. (2008). Effect of pea canopy architecture on splash dispersal of *Mycosphaerella pinodes* conidia. *Plant Pathology, 57*, 1073-1085.

Schwartz, H. F., Steadman, J. R., & Coyne, D. P. (1978). Influence of *Phaseolus vulgaris* blossoming characteristics and canopy structure upon reaction to *Sclerotinia sclerotiorum*. *Phytopathology, 68*, 465-470.

Sinclair, T. R., & de Wit, C. T. (1976). Analysis of the carbon and nitrogen limitations to soybean yield. *Agronomy Journal, 68*, 319-324.

Tivoli, B., & Banniza, S. (2007). Comparison of the epidemiology of ascochyta blights on grain legumes. *European Journal of Plant Pathology, 119*, 59-76.

Tivoli, B., Baranger, A., Avila, C. M., Banniza, S., Barbetti, M., Chen, W. D., Davidson, J., Lindeck, K., Kharrat, M., Rubiales, D., Sadiki, M., Sillero, J. C., Sweetingham, M., & Muehlbauer, F. J. (2006). Screening techniques and sources of resistance to foliar diseases caused by major necrotrophic fungi in grain legumes. *Euphytica, 147*, 223-253.

Tivoli, B., Beasse, C., Lemarchand, E., & Masson, E. (1996). Effect of ascochyta blight (*Mycosphaerella pinodes*) on yield components of single pea (*Pisum sativum*) plants under field conditions. *Annals of Applied Biology, 129*, 207-216.

Tivoli, B., Calonnec, A., Richard, B., Ney, B., & Andrivon, D. (2012). Current knowledge on plant/canopy architectural traits that reduce the expression and development of epidemics. *European Journal of Plant Pathology, In press*.

Trenbath, B. R. (1993). Intercropping for the management of pests and diseases. *Field Crops Research, 34*, 381-405.

Treuhaft, R. N., Asner, G. P., Law, B. E., & Van Tuyl, S. (2002). Forest leaf area density profiles from the quantitative fusion of radar and hyperspectral data. *Journal of Geophysical Research-Atmospheres, 107*.

Turnbull, C. G. N. (2005). Plant Architecture and Its Manipulation: Blackwell.

Warkentin, T. D., Liu, Y., Jha, A., Tar'an, B., Sindhu, A., Marwan, M., Sharpe, A., & Banniza, S. (2012). *Improving mycosphaerella blight resistance in pea.* Paper presented at the IIIrd International Ascochyta Workshop, Cordoba, Spain.

Warkentin, T. D., Rashid, K. Y., & Xue, A. G. (1996). Fungicidal control of ascochyta blight of field pea. *Canadian Journal of Plant Science, 76*, 67-71.

Weiss, A., Hipps, L. E., Blad, B. L., & Steadman, J. R. (1980). Comparison of within-canopy microclimate and white mold disease (*Sclerotinia sclerotiorum*) development in dry edible beans as influenced by canopy structure and irrigation. *Agricultural Meteorology, 22*, 11-21.

tel-00913095, version 1 - 3 Dec 2013

Wolfe, M. S. (1985). The current status and prospects of multiline cultivars and variety mixtures for disease resistance. *Annual Review of Phytopathology, 23*, 251-273.

Woudenberg, J. H. C., De Gruyter, J., Crous, P. W., & Zwiers, L. H. (2012). Analysis of the mating-type loci of co-occurring and phylogenetically related species of Ascochyta and Phoma. *Molecular Plant Pathology, 13*, 350-362.

Xue, A. G., Warkentin, T. D., & Kenaschuk, E. O. (1997). Effects of timings of inoculation with *Mycosphaerella pinodes* on yield and seed infection of field pea. *Canadian Journal of Plant Science, 77*, 685-689.

tel-00913095, version 1 - 3 Dec 2013

tel-00913095, version 1 - 3 Dec 2013

Chapitre 1

Influence du stade de la plante et de l'âge des organes sur la réceptivité du pois à l'ascochytose

Chapitre 1 – Influence du stade de la plante et de l'âge des organes sur la réceptivité du pois à l'ascochytose

Sur pois de printemps, les épidémies d'ascochytose débutent généralement à la base des couverts sur des stipules jaunissantes avec une sévérité de maladie plus importante à la base que dans les parties supérieures du couvert.

L'objectif de ce premier chapitre est de vérifier lors d'expérimentations analytiques menées en conditions contrôlées, l'augmentation de la réceptivité du pois à l'ascochytose en fonction du stade de développement du pois et/ou l'âge des organes.

Dans le but d'étudier ces relations, deux expérimentations sont conduites en 2009 et 2010 sur plantes entières et stipules et gousses détachées maintenues en survie, de la variété Baccara, sensible à la maladie.

En 2009, cinq stades d'âges physiologiques différents sont sélectionnés en fonction de leur date de semis : jeune plante de 13 étages, début floraison, stade limite d'avortement, fin du stade limite d'avortement et maturité physiologique. Au moment de l'inoculation, seul le dernier stade présente un gradient de sénescence visuelle important. En 2010, les stades sont déterminés en fonction de la sénescence globale de la plante ou de l'organe : vert ; vert-jaune, c'est-à-dire avec un début de jaunissement ; jaune-vert, c'est-à-dire majoritairement jaune ; et jaune correspondant à la maturité physiologique. Les plantes 'vertes' sont divisées en trois catégories en fonction de leur stade de développement : floraison, remplissage des graines et fin de remplissage des graines. Pour les stipules détachées, la catégorie 'verte' est également subdivisée en trois catégories en fonction du stade de développement de la plante : jeune plante avant floraison d'environ 13 étages ; au stade floraison ; et au stade fin de remplissage des gousses. Enfin, les gousses 'vertes' sont séparées en quatre catégories : très jeunes gousses avec une longueur entre 3 et 5 cm, début de remplissage des graines, fin de remplissage des graines et gousses remplies. Un dernier stade est étudié pour les organes détachés, le stade 'déshydraté'. Sur plantes entières en 2010 et sur organes détachés, l'inoculation est effectuée par dépôt d'une goutte d'inoculum sur chaque stipule et gousse pour chacun des stades précédemment cités. En 2009, l'inoculation sur plantes entières est effectuée par pulvérisation, afin d'étudier également une possible rétroaction de la maladie sur la sénescence.

Les résultats obtenus mettent en évidence une modification de la réceptivité à la maladie avec l'apparition du jaunissement des organes. Les stipules vertes ne présentent pas de différences de réceptivité, peu importe le stade de la plante. La sénescence de l'organe, plus que le stade de développement la plante lui-même, a un effet prépondérant sur la réceptivité à la maladie, c'est-à-dire que l'état de sénescence de l'organe influence davantage la réceptivité que le stade de

tel-00913095, version 1 - 3 Dec 2013

développement auquel l'organe appartient. Pour les stades où la sénescence visuelle a débuté, un effet position du nœud, en lien avec l'âge de l'organe, est visible avec une réceptivité plus importante à la base des plantes. Sur stipules détachées, une réceptivité plus importante est observée dès qu'apparaît le début du jaunissement. Sur gousses détachées, les gousses en cours de remplissage montrent un niveau de réceptivité à la maladie plus faible que les gousses en cours de maturation. De plus, sur plantes entières, une accentuation de la sénescence visuelle par la maladie a été observé, d'autant plus importante si le niveau de sénescence visuelle de la stipule était faible au moment de l'infection.

En conclusion, que ce soit sur organes détachés ou plante entière, les organes (stipules et gousses) présentent une plus grande réceptivité à l'ascochytose avec l'apparition de la sénescence visuelle (jaunissement). Les résultats obtenus démontrent donc l'existence de gradient de réceptivité de la base au somment de la plante.

Cette étude analytique a fait l'objet d'une publication dans European Journal of Plant Pathology*, présentée ci-après (Richard et al., 2012).*

tel-00913095, version 1 - 3 Dec 2013

Influence of plant stage and organ age on the receptivity of *Pisum sativum* to *Mycosphaerella pinodes*

Benjamin Richard, Stéphane Jumel, François Rouault and Bernard Tivoli

INRA, Agrocampus Ouest, University of Rennes 1, UMR 1099, Biology of Organisms and Populations applied to Plant Protection BiO3P, Le Rheu, France

Corresponding author

B. RICHARD, INRA, UMR 1099 BiO3P, BP 35327, 35653 Le Rheu Cedex, France

Tél : 33 0 223 48 58 19 ; fax : 33 0 223 48 51 50

E-mail : benjamin.richard@rennes.inra.fr

European Journal of Plant Pathology, 132, 367-379

tel-00913095, version 1 - 3 Dec 2013

Abstract

On spring pea, ascochyta blight (*Mycosphaerella pinodes*) frequently appears at the plant base on yellowing stipules and disease scores are higher on basal parts of the plants than on the uppermost parts. In order to investigate the relationship between pea plant growth stage and/or organ age, and ascochyta blight on whole plants and detached stipules and pods, two experiments were conducted in 2009 and 2010 under controlled conditions. This study showed that plant stage does not influence receptivity to ascochyta blight before the appearance of the first visual signs of senescence (beginning of yellowing). When stipules were green, regardless of the plant stage, no differences of receptivity was observed (except for the youngest stipule(s) at the top of the plant). Plant stage only had an effect on receptivity by the way of the importance of the visual senescence of the organs and visual senescence has a more predominant effect on plant receptivity than the plant stage considered alone. An effect of the nodal position, linked with the stipule age, was observed on whole plants inoculation with a decreasing disease severity gradient from the base to the top of the plant which was explained by a greater receptivity for the basal/older stipules which began to be yellowing. On detached stipules, a higher receptivity was observed as soon as visual senescence had been observed. On pods, during their filling, few symptoms appeared and severity was important as soon as they began to be yellowing. The effect of ascochyta blight on induced senescence of the infected stipules was also observed.

Abbreviations

13N (plants or organs from plants with 13 nodes), BF (plants at the beginning of flowering, defined as the date on which the first reproductive node reached flowering), BSF (plants or organs from plants at the beginning of seed filling, defined as the date on which the first reproductive node reached this stage), dai (days after inoculation), D (dehydrated organs), EBSF (plants or organs from plants at the end of beginning of seed filling, defined as the date on which the last reproductive node reached this stage), F (flowering plants or organs from flowering plants), GY (organs or plants with organs at the beginning of the yellowing), PM (plants at the physiological maturity stage), PM-8 (green pods totally filled 8 days before physiological maturity), VYP (very young pods with a length between 3 and 5cm), VS (visual senescence), Y (yellow organs or plants with yellow organs), YG (organs or plants with organs at the end of the yellowing).

Keywords

Ascochyta blight, Chlorophyll-meter, Pea, Pod, Stipule, Visual senescence

tel-00913095, version 1 - 3 Dec 2013

tel-00913095, version 1 - 3 Dec 2013

Introduction

The level of disease severity of susceptible cultivars and/or genotypes varies depending on the age of the plants and/or its organs. During plant ageing, two contrasting reactions can be observed: an increase in resistance (called ontogenic resistance) or, more importantly, an increase in susceptibility of the plant and/or the organs. Ontogenic resistance was defined by Agrios (2005) as an increase in the degree of resistance of a plant to a pathogen with age and the development stage of the plant. To describe an increase in susceptibility, the term plant or organ receptivity was used previously, albeit without detailed definition, by several authors (Pelletier & Fry, 1990; Yang et al., 1998). In this paper, we will use the term 'receptivity' as the stage of a host tissue at which its level of susceptibility to a pathogen increases independently of all genetic resistance aspects.

In the case of ontogenic resistance, younger organs are more susceptible and older organs/plants become less susceptible during the cropping season, as for example in the case of grape and powdery mildew (*Uncinula necator*) (Doster & Schnathorst, 1985), pepper and anthracnose (*Colletotrichum coccodes*) (Hong & Hwang, 1998) or strawberry and powdery mildew (*Podosphaera aphanis*) (Carisse & Bouchard, 2010). Inoculating whole pepper plants at different growth stages with *C. coccodes* in a controlled environment, Hong and Hwang (1998) observed that ontogenic resistance appeared starting at the four-leaf stage and plant disease severity was very low from the eight-leaf stage onwards. This increase in resistance could be associated with an improvement of pre- or post-infection physical and chemical barriers of a thicker cuticular membrane as plant organs mature. However, Valsangiacomo and Gessler (1988) observed that the pathogen *Venturia inaequalis* could penetrate the cuticular membrane of apple leaves irrespective of their age, but the pathogen developed less in older leaves. On pea, Fondevilla et al. (2006) who described the effect of leaf age on resistance expression to powdery mildew (*Erysiphe pisi*), observed that the resistance of leaves of the accession carrying gene *er2* increased with leaf age, and that fully mature leaves were completely resistant. This resistance was explained by a lower success rate of germinated spores to establish colonies on old compared to young leaves, and by smaller colonies after successful infection.

According to the phenomenon of receptivity, Elmer and Ferrandino (1995) and Kurt and Tok (2006), who studied septoria blight on tomatoes and parsley, respectively, showed that older leaves, at the base of plants grown under controlled environment conditions were more susceptible to disease than younger leaves, developing at the top of the plant. Considering late potato blight (*Phytophthora infestans*), some authors found similar results with an increase in susceptibility as the leaves age (Carnegie & Colhoun, 1982; Millett et al., 2009; Visker et al., 2003). However, other authors observed that leaves of younger (preflowering) and older (postflowering or senescing) plants

tel-00913095, version 1 - 3 Dec 2013

are more susceptible than those of intermediate-aged (flowering) plants (Fry & Apple, 1986; Stewart, 1990). In detached leaf tests of five genotypes of faba bean, Bouhassan et al. (2004) studied the effect of leaf age (upper, middle and lower portions of the stems) at three growth stages (seedling, flowering and podding stages) on *Botrytis fabae* infection. They observed that the lesions of *B. fabae* were larger on old leaves than on young leaves and that the area under the disease progress curves (AUDPC) values increased from the seedling to the flowering stage but declined at the podding stage. Some authors have studied the effect of nodal position on leaf receptivity. Yang et al. (1998) observed that lesion area on rice leaves infected by *Pyricularia grisea* was not affected by leaf age and nodal position (4^{th} to the 7^{th} node). In contrast, Schoeny et al. (2008) observed that lesions on the two youngest stipules were significantly larger compared to those on stipules of other nodes when comparing the susceptibility of drop-inoculated pea stipules at different nodes on plants at three vegetative growth stages (6-, 8- and 10-leaf) to *Mycosphaerella pinodes*. This result is in contrast to observations made by Heath and Wood (1969) and Zimmer and Sabourin (1986) who observed on plantlets with four leaves, a greater proportion of infected leaf tissue on leaflets of the second node or third node than on leaflets of the fourth node (which was the uppermost).

On spring pea under field conditions in France, ascochyta blight frequently appears at the plant base when stipules turned yellow after canopy closure (during or after the flowering stage) (B. Tivoli, unpublished data). It was observed that disease scores were higher on the lower parts of the plants than on the uppermost parts (Fernandez-Aparicio et al., 2010; Le May et al., 2009; Tivoli et al., 2000). This agrees with observations by Heath and Wood (1971) who had defined 'restricted lesions' on green leaves and 'spreading lesions' on senescent leaves with high and low level of phytoalexins, respectively. During the flowering and podding stages until physiological maturity, senescent leaves appear at the base of the plants and progress towards the upper parts of the plants. These observations lead us to hypothesise that plant stage and stipule age may be an essential element which contributes to explaining the epidemiological development of the disease under field conditions (Tivoli & Banniza, 2007).

Consequently, the objectives of this paper were to investigate i) the relationship between plant stage and/or organ age, and receptivity to ascochyta blight on whole plants and on detached organs (stipules and pods) under controlled conditions and ii) the possible influence of the disease on leaf senescence, as observed by Behr et al. (2010) in the *Colletotrichum graminicola*/maize pathosystem.

Materials and methods

Plant material and culture conditions

tel-00913095, version 1 - 3 Dec 2013

The susceptible pea (*Pisum sativum*) cultivar Baccara was used throughout the study. Two seeds were sown in 2 L pots filled with a 1:1:1 soil-sand-peat mixture and grown in a glasshouse. Growing temperatures were of 15 ± 3 °C during daytime and 12 ± 3 °C at night with a 14h photoperiod (natural light and artificial light supplement for 6 hours at 300 µmol m^{-2} s^{-1}). To limit heterogeneity between plants, basal branches of each plant were removed. The pots were regularly moved to prevent any edge effects.

Two experiments were carried out in 2009 and 2010, both on whole plants and detached organs. For the experiment conducted in 2009, 30 seeds (15 pots per sowing) were sown every 2 weeks from 1 November 2008 to 15 January 2009, and plants were subsequently selected and grouped according to different physiological stages (as described by Ney and Turc (1993)): 13 nodes (13N), beginning of flowering (BF, defined as the date on which the first reproductive node reached flowering), beginning of seed filling (BSF, defined as the date on which the first reproductive node reached this stage), end of beginning of seed filling (EBSF, defined as the date on which the last reproductive node reached this stage) and physiological maturity (PM, defined as the date on which the first reproductive node reached this stage). These five stages correspond with 8-, 10-, 12-, 14- and 16-week old plants, respectively. The foliar parts of the plants belonging to the 13N to EBSF stages had a strong green color; those of the plants belonging to the PM stage were of a yellowing color. In 2010, plants of several stages were obtained after similar sowings made between 1 November 2009 and 31 January 2010. Before inoculation, they were selected and grouped according to their global visual senescence: green (G) i.e. all the organs (stipules and/or pods) are green; green-yellow (GY) i.e. the beginning of the yellowing of most of organs; yellow-green (YG) i.e. the end of the yellowing of most of the organs; and yellow (Y) which correspond to the PM stage.

For the whole plant inoculation, green plants were subdivided in three subcategories: flowering plants (F), BSF plants characterized by flat pods and EBSF plants.

For the detached inoculation assay of organs, green detached stipules were subdivided according to three growing stages of the plant: 13N, F, EBSF. The green detached pods were subdivided based on pod development: very young pods (VYP, length between 3 and 5cm), BSF, EBSF, and green pods totally filled 8 days before PM (PM-8). A last class consisted of dehydrated detached organs (D).

Production of inoculum

The pycnidiospore suspension of the *M. pinodes* single spore isolate 91.31.12 was obtained after growing the isolate on V8 juice agar for 9-10 days at 20 ± 1 °C with a 12 h photoperiod of white light

(wavelength: 350–750 nm), flooding the culture with distilled water, gently scraping the agar surface and filtering through four layers of muslin to remove mycelium and agar fragments. The concentration of the solution was determined with a haemocytometer (Malassez cell) and adjusted with sterile distilled water.

Inoculation

Pycnidiospore suspension in solution with 0.2% Tween as a wetting agent was used either by spraying an entire plant, or by deposition of a single drop on each stipule and pod of an entire plant and/or detached organs (stipule and pod).

Whole plant inoculation

In 2009, a suspension of pycniospores (5 x 10^5 spores ml^{-1}) was sprayed using a hand-held garden sprayer, on eight plants of each group of plants previously described. In addition, eight plants of each group were also sprayed with sterile distilled water supplemented with 0.2% Tween as control. Spray-inoculation was performed by spraying a 20 ml suspension per plant except for the plants of the first stage of 2009 where only 15 ml were sprayed. To promote disease development, all sprayed plants were covered with a transparent plastic bag during the entire time of the experiment. After inoculation, plants were transferred to a growth chamber and incubated under a continuous cycle of 14h at 18 °C in light (photosynthetically active radiation: 475µmol m^{-2} s^{-1}) and 10h at 15 °C in darkness. In 2010, to have better control of the inoculation, inoculations were done by depositing a drop of spore suspension on each stipule and pod of ten plants for the seven stages described below. Organs of each node were inoculated with a 10µl drop of a spore suspension at 10^5 spores ml^{-1} (Onfroy et al., 2007). One drop of inoculum suspension was deposited on the upper surface of each stipule, avoiding the main veins, or on the middle of each pod. As in 2009, sterile distilled water supplemented with 0.2% Tween was used as control, by drop deposition on two control plants.

Detached organs

The inoculation method used was based on that proposed by Heath and Wood (1969) and Onfroy et al. (2007), consisting of depositing a drop of pycniospore suspension on detached stipules. In 2010, nine representative stipules or pods of each category previously described, were detached and grouped by three in 14 cm diameter Petri dishes containing three filter paper discs and 10 ml of sterile distilled water in order to maintain humidity. Filter paper was used in order to avoid contact of an excess of water with the senescing organs. Each organ was inoculated with a 10µl drop of suspension containing a 10^5 spores ml^{-1}. In order to prevent desiccation, moist cotton wool was

tel-00913095, version 1 - 3 Dec 2013

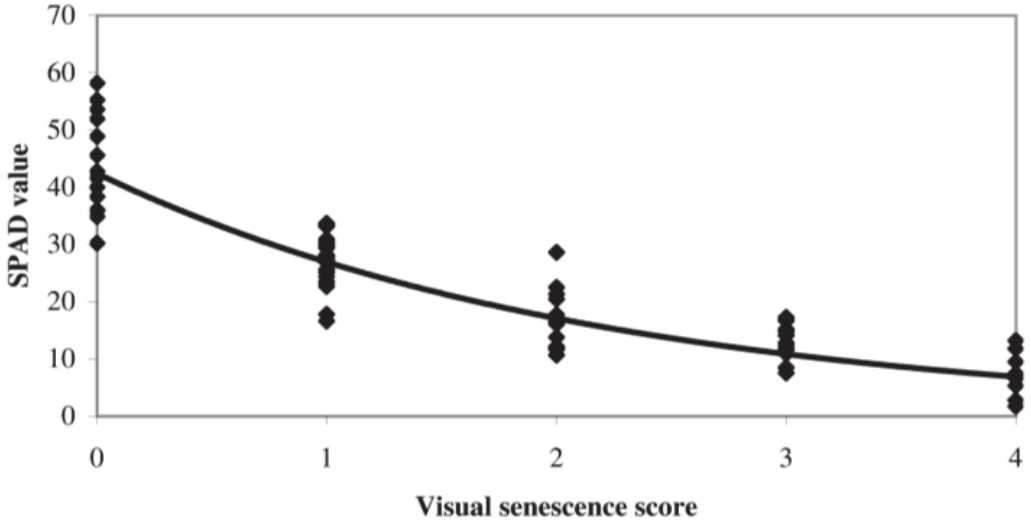


Fig. 1.1 Relationship between the visual senescence scale (from 0 to 4) and the measures of absorbance of the stipule tissues of the pea cultivar Baccara using the lightweight handheld chlorophyll meter SPAD-502 (R^2=0.78).

tel-00913095, version 1 - 3 Dec 2013

applied at the base of each organ. After inoculation, Petri dishes were placed into large transparent plastic boxes (10 dishes per box) and were incubated in a climatic test chamber at 20 °C with a 14h photoperiod. Controls consisted in depositing a drop of sterile distilled water supplemented with 0.2% Tween on stipules or pods.

Senescence assessment

Here, we define "visual senescence" (VS) as the visual consequence of the physiological processes of senescence described by Pic et al. (2002). This VS observed on stipules and pods was assessed with a 0-4 scale described as follows: 0, green stipule or pod (G); 1, less than 25% of the stipule or pod is yellow (GY); 2, more than 50% of the stipule or the pod is yellow (YG); 3, yellow stipule or pod (Y); 4, dehydrated stipule or pod. As shown in the Fig. 1.1, these visual classes of senescence obtained with 78 stipules, presented a good relationship with the measures obtained with the commercial portable, non-destructive chlorophyll-meter SPAD-502 (Minolta) which determines the relative amount of chlorophyll present by measuring the absorbance of the leaf (Manetas et al., 1998).

To study the effect of ascochyta blight on VS of stipules, each inoculated stipule was assessed twice: first for ascochyta blight development with the 0-6 scale of symptom development described below, secondly for stipule area without necrosis using the 0-4 VS scale. For control plants, the total area of each stipule was assessed with the VS 0-4 scale.

Disease assessment

For spray-inoculation, disease severity was assessed using a 0-6 scale adapted by Schoeny et al. (2010) from the 0-5 scale previously described by Roger and Tivoli (1996): 0, no symptoms; 1, few flecks; 2, numerous flecks; 3, coalescing necrotic lesions covering <25% of the organ area; 4, 25-50% of the organ area necrotic; 5, 50-75% of the organ area necrotic; 6, >75% of the organ area necrotic. For drop inoculation, a 0-7 scale adapted by Onfroy et al. (2007) from the scale described by Wroth (1998), taking into account coalescence of flecks and lesion extension, was used: 0, no symptoms; 1, flecks appearing; 2, flecks covering half of the drop deposition area; 3, coalescence of the flecks in the area of drop deposition (approx. 3mm diameter); 4, between 3 and 6 mm lesion diameter; 5, 6-9 mm lesion diameter; 6, 10-12 mm lesion diameter; 7, more than 12 mm lesion diameter. According to the experiments, disease severity was assessed from 3 to 7 days after inoculation (dai).

Statistical analysis

tel-00913095, version 1 - 3 Dec 2013

tel-00913095, version 1 - 3 Dec 2013

Table 1.1 Median disease severity score (disease scale 0–6) per node of the pea cultivar Baccara spray-inoculated with a spore suspension of *Mycosphaerella pinodes* (5×10^5 spores ml^{-1}) at five plant stages: 13 nodes (13 N), beginning of flowering (BF), beginning of seed filling (BSF), end of beginning of seed filling (EBSF) and physiological maturity (PM), observed 7 days after inoculation.

	Stage				
Node	13N	BF	BSF	EBSF	PM
1	5.0 a	4.0 abc	5.0 ab	5.0 a	
2	5.0 a	5.0 abc	5.0 ab	5.0 a	
3	5.0 a	3.0 de	5.5 a	5.5 a	6.0 a
4	5.0 a	4.5 abc	5.0 ab	5.0 a	6.0 a
5	5.0 a	4.0 cd	5.0 abc	4.0 a	6.0 a
6	4.0 a	5.0 abc	4.5 abc	4.0 a	5.0 ab
7	5.0 a	4.0 cd	4.5 abc	4.0 a	5.5 ab
8	4.0 a	5.0 abc	4.0 bcd	3.5 a	5.0 ab
9	4.5 a	4.5 bc	5.0 abc	4.0 a	6.0 ab
10	5.0 a	5.0 a	4.5 bcd	3.5 a	5.0 ab
11	5.0 a	5.0 ab	5.0 abc	4.0 a	5.0 ab
12	4.0 ab	5.0 ab	4.0 bc	4.0 a	5.0 bc
13	3.0 b	5.0 ab	5.0 abc	4.0 a	5.0 bc
14	3.0 b	4.5 bc	4.5 bc	4.5 a	5.0 bc
15		3.0 de	4.0 bc	4.0 a	5.0 bc
16		3.0 e	4.0 bcd	3.5 a	4.5 c
17		2.0 e	4.0 cd	4.0 a	4.0 cd
18			3.0 d	3.5 a	4.0 cd
19			3.0 cd	4.5 a	4.0 cd
20				4.0 a	4.0 d
Median/stipule					
- inferior part*	5.0 Aa	4.0 Ba	5.0 Aa	4.0 Ba	5.0 Ca
- superior part**	3.5 Ab	4.0 Aa	4.0 Ab	4.0 Aa	5.0 Bb
- all plant***	5.0 A	4.0 B	4.0 AB	4.0 B	5.0 C

* Median disease score of the first 10 nodes
** Median disease score of the stipules from the node 11 to the last node
*** Median disease score of the stipules of the all plant
For each plant stage (i.e. for each column of the table), disease score of the node showing the same lower case letter are not significantly different; Wilcoxon Rank Sum Test (P<0.05)
For each disease score mean of inferior part, superior part or all plant (i.e. for each line of the table), showing the same upper case letter between stages are not significantly different; Wilcoxon Rank Sum Test (P<0.05)

Table 1.2 Median disease scores (disease scale 0-7) on pods per plant of the pea cultivar Baccara 2, 4 and 7 days after drop-inoculation (dai) of *Mycosphaerella pinodes* (1000 spores $drop^{-1}$) on pea plants at five plant stages: plants at the beginning of the seed filing (BSF), at the end of the seed filing (EBSF), at beginning of the yellowing (GY), at the end of the yellowing (YG), and yellow (Y).

	Days after inoculation		
Stage	2	4	7
BSF	1.0 a	1.0 a	1.0 a
EBSF	1.0 b	1.0 b	2.0 a
GY	1.0 b	3.0 c	4.5 b
YG	1.0 b	4.0 d	6.0 c
Y	1.0 b	4.0 cd	6.0 c

For each dai, disease score of the pod growth stage showing the same lower case letter are not significantly different; Wilcoxon Rank Sum Test (P<0.05)

All statistical analyses were performed using R software version 2.11.1 (R Development Core Team, 2010).

As scores were ranked semi-quantitative values, non-parametric statistical methods were performed as suggested by Madden et al. (2007). A Kruskal-Wallis test was so preferred to an analysis of variance (ANOVA) (Kruskal & Wallis, 1952). Pairwise comparison were then performed on medians with the Wilcoxon Rank Sum test ($P<0.05$) adjusted with the False Discovery Rate method (Benjamini & Hochberg, 1995) in order to minimize type I error. However, when only diameters were observed, an analysis of variance was performed using linear models. Means were then compared by Tukey's Honestly Significant Differences test ($P<0.05$).

Results

Whole plants

Effect of visual senescence of the organs on ascochyta blight development

In 2009, on the day of spray-inoculation with the spore suspension, stipules of the plants of the 13N and BF stages showed no VS excepted for the first node (VS = 2). A gradient of senescence was observed on stipules of the plants of the BSF and EBSF stages, decreasing from the base to the 5th node (VS from 2 to 1). Stipules of the plants of the PM stage showed a gradient of senescence decreasing from the bottom to the 12th node (VS from 4 to 1). For the four stages between 13N and EBSF, no significant differences were observed in ascochyta blight severity 4dai among classes of plant ages ($P<0.05$): the median of the disease severity per plant was 3 (results not shown). In these classes, the effect 'plants' was more important than the effect 'plant ages'. Conversely, the median of disease severity of stipules on plants at the PM stage was significantly higher (median of the disease severity = 4) than those of the four other stages. Seven days after inoculation, the PM stage remained significantly more diseased and differences appeared between the 13N stage, and the BF and EBSF stages (Table 1.1). This effect was more pronounced when considering the median of the disease severity on the 10 basal stipules of the plants with the 13N and BSF stages, which were significantly different from those of the BF and EBSF stages (median scores of 5 and 4, respectively). Furthermore, the PM stage was significantly different from the four other physiological stages (median score of 5). For the upper part of the plants (from the node 11 to the last node), only plants of the PM stage were significantly more diseased. On plants of all physiological stages, the youngest stipules were generally significantly less diseased than the other stipules. The 13N, BF, BSF and PM stages showed a significant difference in disease severity between stipules of the different nodes (from 5 to 3, 5 to 2, 5.5 to 3 and 6 to 4 for the oldest and youngest stipules, respectively). The effect

tel-00913095, version 1 - 3 Dec 2013

tel-00913095, version 1 - 3 Dec 2013

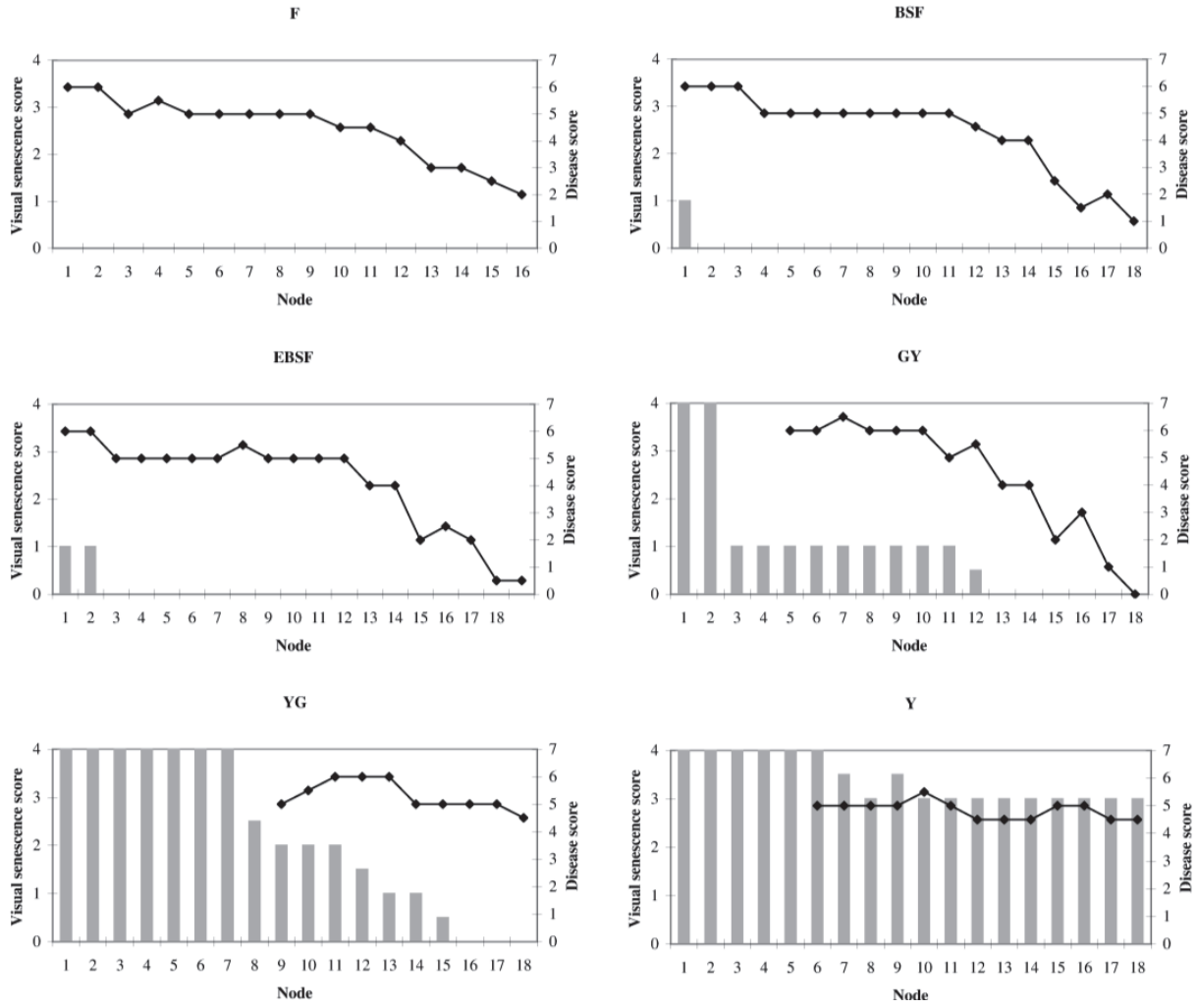


Fig. 1.2 Median initial visual senescence (0-4 scale, grey histogram) observed on the day of inoculation and median disease severity (0-7 scale, black diamond) observed 7 days after inoculation, of stipules of the pea cultivar Baccara inoculated with a spore suspension of *Mycosphaerella pinodes* (1000 spores drop^{-1}) at six plant stages: flowering plants (F), plants at the beginning of seed filling (BSF), at the end of beginning of seed filling (EBSF), at the beginning of the yellowing (GY), at the end of the yellowing (YG) and with yellow stipules (Y).

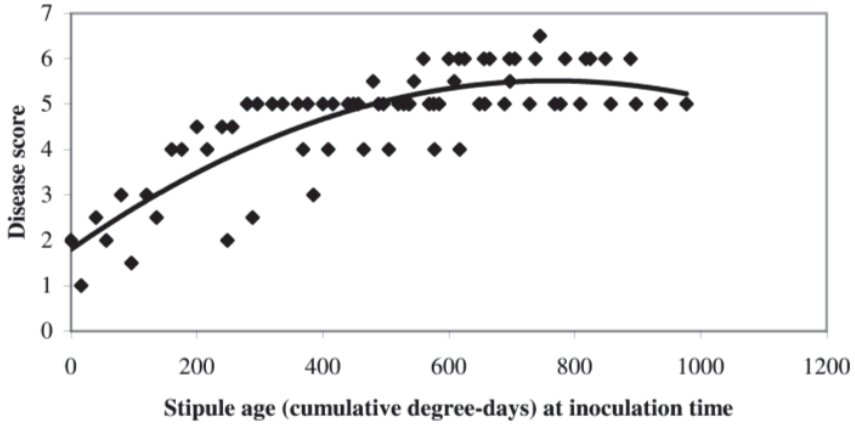


Fig. 1.3 Relationship between median disease score (0-7 scale) observed 7 days after inoculation and pea stipule age of the pea cultivar Baccara inoculated with a drop suspension of *Mycosphaerella pinodes* (1000 spores drop^{-1}) in cumulative degree days (basis 0 °C) (R^2 = 0.69).

tel-00913095, version 1 - 3 Dec 2013

of stipule ages was very clear when comparing the median of disease severity between the 10 basal stipules and those of the upper stipules of the plants: significant differences were observed at the 13N, BSF and PM stage.

In 2010, stipule senescence observed on the day of drop-inoculation with a spore suspension increased with the plant stages (Fig. 1.2). Weak senescence was observed on the stipules of plants of the first nodes of F, BSF and EBSF stages. A gradient of senescence was observed on stipules of plants of the GY and YG stages, decreasing from the base to the top of the plant. At the Y stage, because of the high level of senescence of the stipules, no gradient was observed. On stipules of the plants of the six stages, disease severity observed 2dai was low with scores below 3 and few differences in disease severities on nodes depending on their position were observed (data not shown). Four days after inoculation, disease scores observed on the stipules of the plants of the different stages, had increased and ranged between 1 and 4 (data not shown). Seven days after inoculation (Fig. 1.2), a disease gradient (from 1 to 6) was observed with disease severity significantly more prominent at the base of the plants compared to only a few flecks on the stipules of the last nodes ($P<0.05$) on plants of the F, BSF, EBSF and GY stages,. For these stages (mainly for BSF, EBSF and GY), linear pattern was observed until the 10^{th} node and then median disease score decreased until the youngest node. For the two oldest stages (YG and Y), because of the high level of senescence, the disease scores were higher except on the stipules of the younger nodes and no gradient was observed. These observations agreed with those obtained in 2009 using spray-inoculation.

Results described above revealed an effect of stipule senescence on the disease severity. As senescence depends on the age of the stipule, the relationship between disease severity and age of the stipule expressed in cumulative degree days (CDD) was studied (Fig. 1.3). A gradual increase in disease severity from few flecks on young leaflets until high disease scores on older leaves was observed up to 600 CDD, beyond which values reached a plateau ($R^2 = 0.69$). This plateau corresponds to the oldest green stipules before reaching VS with lesion diameters greater than 5mm. This observation suggests a similar receptivity to ascochyta blight for all yellowing stipules.

On pods, no differences in disease severity scores were observed among the different nodes of the reproductive parts (data not shown). Results showed (Table 1.2) that 2 dai, mean disease scores per plant were similar between the pods of the different plant stages (mean disease score value about 1). Significant differences appeared 4 dai between the two youngest stages (BSF and EBSF) on which the disease score was low (between 1 and 2), and the other stages on which disease severity ranged between 3 and 4. Seven days after inoculation, the same differences were observed with still only flecks on the pods of the BSF and EBSF plants compared to prominent lesions on the pods of the plants of the other stages (disease scores between 4 and 6). Four and 7 dai, the pods of

tel-00913095, version 1 - 3 Dec 2013

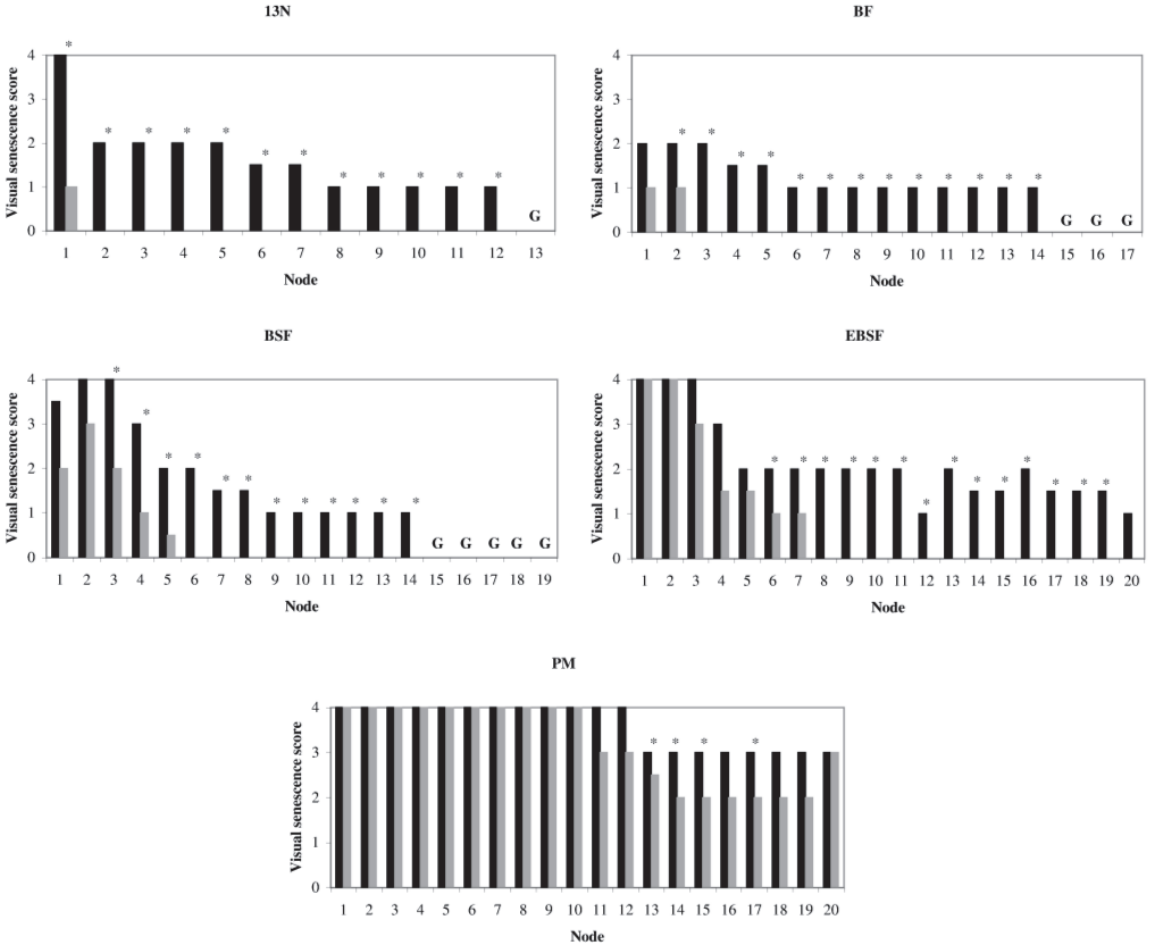


Fig. 1.4 Median visual senescence scores per node of inoculated (black) and control (grey) stipules of the pea cultivar Baccara, spray-inoculated with a spore suspension of *Mycosphaerella pinodes* at five plant stages: 13 nodes (13N), Beginning of Flowering (BF), Beginning of Seed Filling (BSF), End of Beginning of Seed Filling (EBSF) and Physiological Maturity (PM), observed 7days after inoculation. '**G**' indicates green stipules on which no visual senescence was observed. * indicates a significant difference between inoculated and control stipules per node; Wilcoxon Rank Sum Test (P<0.05)

Table 1.3 Mean lesion diameter (mm) observed 3 and 4 days after inoculation (dai) on detached stipules of the pea cultivar Baccara drop-inoculated with a spore suspension of *Mycosphaerella pinodes* (1000 spores drop^{-1}) at seven plant stages: green stipules from 13 nodes plants (13N), green stipules from flowering plants (F), green stipules from plants at the end of beginning of seed filling (EBSF), stipules at the beginning of the yellowing (GY), stipules at the end of the yellowing (YG), yellow stipules (Y) and dehydrated stipules (D).

	Days after inoculation	
Stage	3	4
13N	3.3 a	4.5 a
F	3.2 a	5.2 a
EBSF	3.8 a	5.8 a
GY	5.3 b	8.3 b
YG	5.1 b	7.7 b
Y	5.3 b	7.1 b
D	5.6 b	7.5 b

For each dai, mean lesion diameters showing the same lower case letter are not significantly different; Tukey HSD test (P<0.05).

the GY stage had an intermediate reaction between high susceptibility (YG and Y stages) and lower susceptibility (BSF and EBSF stages).

Effect of the disease on the stipule senescence

On plants inoculated by spray-inoculation in 2009, initial senescence of stipules was assessed on the day of inoculation for each plant of the different physiological stages using the visual scale previously described. Observation on senescence was already described above. On the day of inoculation, half of the plants were inoculated, the other half was used as control plants to observe the development of the VS without ascochyta blight development (see Materials and Methods). VS of the stipules of the control plants belonging to 13N and BF stages observed 7dai (Fig. 1.4), was restricted to only the two first basal nodes showing a weak discoloration. On inoculated plants, this senescence had increased significantly until the 12-14th node, but the intensity of senescence was low ($P<0.05$). The VS of the stipules of the control plants belonging to BSF and EBSF stages, showed a gradient from the base of the plant to the 6-7th node with VS scores ranged from 3-4 to 1. On inoculated plants, this senescence increased up to the 14th and 19th node of BSF and EBSF plants, respectively, and senescence scores of nodes 3 to 14 and 7 to 19, respectively, were significantly greater than those of the corresponding control plants ($P<0.05$). On control plants belonging to PM stage, because of the high level of VS of the stipules, a low gradient was and only few significant differences were observed for nodes 13, 14, 15 and 17. For all the stages, senescence induced by the disease seemed more important when the level of initial senescence was low compared to situations where initial senescence was higher.

Detached organs

On detached organs (stipules and pod), disease development was observed 3, 4 and 7 dai.

Ascochyta blight development on detached stipules

Based on lesion diameters observed 3 and 4 dai for all stages, stipules could be grouped into two classes with significantly different scores ($P<0.05$): the first (stipules from plants at 13N, F and EBSF stages) with low disease scores and the second (stipules from plants at GY, YG, Y and D stages) with higher disease scores (Table 1.3). For example 3dai the youngest and oldest stages had lesions of around 3 and 5 mm diameter, respectively. Seven days after inoculation, stipules of the plants at YG, Y and D stages were severely damaged and it was impossible to measure lesion diameters. For the 4 other stages (13N, F, EBSF and GY), no significant differences between the lesion diameters were observed.

tel-00913095, version 1 - 3 Dec 2013

Table 1.4 Median disease scores (disease scale 0-7) on detached pods of the pea cultivar Baccara 2, 3, 4 and 7 days after drop-inoculation (dai) of *Mycosphaerella pinodes* (1000 spores drop^{-1}) at eight plant stages: very young pods (VYP), at the beginning of the seed filing (BSF), at the end of the seed filing (EBSF), green pods totally filled 8 days before physiological maturity (PM-8), at beginning of the yellowing (GY), at the end of the yellowing (YG), yellow (Y) and totally dehydrated (D).

	Days after inoculation			
Stage	2	3	4	7
VYP	2 a	2 a	2 a	4 a
BSF	1 b	1 b	2 b	2 b
EBSF	1 b	1 ab	2 ab	2 b
PM-8	3 c	4 cd	5 c	6 c
GY	3 c	5 d	6 d	7 d
YG	4 d	5 d	6 d	7 de
Y	3 c	4 ce	6 cd	7 de
D	3 c	4 e	5 c	6 ce

For each dai, disease score of the pod growth stage showing the same lower case letter are not significantly different; Wilcoxon Rank Sum Test ($P<0.05$)

tel-00913095, version 1 - 3 Dec 2013

Ascochyta blight development on detached pods

On pods of the different stages drop-inoculated with a spore suspension, disease flecks appeared 2dai (Table 1.4). Based on the severity of the disease developed on the pods of the eight stages, pods could be separated into two groups. The younger stages (VYP, BSF and EBSF) which corresponded to green coloured pods, showed a low disease level with VYP stage usually significantly more diseased than BSF and EBSF. On these pods, necroses were generally confined to the drop 7dai. The oldest stages (PM-8, GY, YG, Y and D) which corresponded to discoloured pods, showed a higher disease level (> 3 score 2 dai). On pods of these stages, disease symptoms largely exceeded the diameter of the drop. Usually, pods of the PM-8 stage had an intermediate reaction between the green and discoloured pods, and their lesion diameters were significantly smaller than those of the four oldest stages (data not shown).

Discussion

In this study, disease receptivity of leaves and pods was investigated on whole plants and detached organs in controlled conditions. The main objective of this study was to investigate the relationship between plant stage and organ age, and ascochyta blight receptivity of pea. This study showed that plant stage does not influence ascochyta blight receptivity before the appearance of the first stages of VS (beginning of yellowing). Irrespective of the plant stage, when the stipules had a green colour, no differences in receptivity was observed (excepted for the youngest stipule(s) of the plant top). The physiological stage of the plant only had an effect on receptivity in connection with VS of the organs, and VS had a more dominant effect on plant receptivity than plant stage considered alone. An effect of the nodal position directly linked with stipule age was observed on whole plants, with a decreasing disease severity gradient from the base to the top of the plant which can be explained by a higher receptivity for the basal/older stipules. For young stages where all the stipules were still green at the time of inoculation, receptivity was low. Receptivity increased on plants where the process of VS had started and was at a maximum on plants with stipules that were all yellow. This result was confirmed by observation on detached organs, on which, differences appeared according to plants growth stage with older plants more receptive to the disease. For pods, similar effects were observed on whole plants and detached organs: green/young pods were less diseased than yellowing pods.

The ascochyta blight receptivity level does not increase with the intensity of yellowing: it reached its maximum just at the beginning of yellowing of the organs (around 600 degree days for the stipules). As described by Pic et al. (2002), the senescence process occurs before the beginning of

tel-00913095, version 1 - 3 Dec 2013

the yellowing of the organs and so we hypothesize that the molecular initiation of senescence could play a role in the evolution of the disease receptivity.

Heath and Wood (1969) and Zimmer and Sabourin (1986) had already observed a similar nodal position effect on disease receptivity but they studied only disease receptivity on plantlets. To our knowledge, this is the first time that such results were obtained on adult plants at different growth stages and organ ages for ascochyta blight on pea. Similar observations were also obtained in other pathosystems and described in detail, e.g. for potato/*Phytophthora infestans* (Carnegie and Colhoun, 1982, Visker et al., 2003), potato/*Alternaria solani* (Rodriguez et al., 2006), tomato/*Septoria lycopersici* (Elmer and Ferrandino, 1995) and parsley/*Septoria petroselini* (Kurt and Tok, 2006).

Plant or organ receptivity may influence some specific stage of the infectious process. For instance, Yang et al. (1998) studying the effect of leaf age and nodal position on receptivity of rice leaves to *Pyricularia grisea*, measured two parameters: lesion density and lesion area. They observed that lesion density was similar for leaves from the 4th to the 7th nodal position, but dropped rapidly with leaf age and leaf position. Conversely, lesion area was not affected by leaf age and nodal position. Moreover, Rodriguez et al. (2006) studied the components of early blight resistance (*A. solani*) on four potato cultivars (susceptible and resistant) according to leaves position (lower, middle or upper). They observed the smallest values of disease severity on upper leaves for all cultivars but neither latent period nor spore production by lesion area were influenced by leaf position.

If ascochyta blight severity is influenced by the organ receptivity due to VS, conversely our study has shown that ascochyta blight is able to accelerate organ senescence, a phenomenon which could be called 'induced VS'. It was shown that when initial VS was low, the induced VS by ascochyta blight seemed more important than when initial VS was higher. This phenomenon of early leaf senescence was also observed in other pathosystems such as maize/*Colletotrichum graminicola* (Behr et al., 2010) and clover/*Stemphylium* species (Bradley et al., 2003). Pathogen induced senescence can either be a defence mechanisms consisting of losing the contaminated organ in order to delay infection (reduce chance in secondary infection), or a consequence of the pathogen aggressiveness (Lers, 2007). In the case of ascochyta blight on pea, this premature senescence of the infected stipules could favour the pathogen by decreasing defence mechanisms in stipules and increasing their receptivity for secondary infections.

Several hypotheses could explain the nature of age-related receptivity of pea leaves and pods to infection by *M. pinodes.* One hypothesis could be a loss in defence-related mechanisms as the organ ages. Bailey (1969) studying the impact of the senescence on the production of pea phytoalexin pisatin in leaves, had observed a decrease of pisatin in senescing leaves. Elmer and Ferrandino (1995) and Kurt and Tok (2006), who studied septoria blight on tomatoes and parsley, respectively, showed in controlled environment conditions that older leaves localised at the base of

tel-00913095, version 1 - 3 Dec 2013

the plant were more susceptible to disease than younger leaves on the top of the plant. Both authors suggested that this age-related change in receptivity might be induced by a loss in defence-related mechanisms in older leaves. Another hypothesis expounded by Elmer and Ferrandino and developed from Horsfall (1986), is based on the fact that the fungus requires a certain amount of sugar. As elder organs have a lower sugar content than younger organs, it would be hypothesized that the fungus colonizes older organs more aggressively to satisfy this sugar requirement. In our experiments, we also observed a greater porosity of the cuticular membrane for water and spore suspensions on detached pods where VS had started. It could there also be hypothesized that a reduction in cuticular membrane resistance to fungal penetration is due to the higher porosity of the membrane, as suggested by Martin (1964) who studied the role of the cuticle in the defence against plant disease.

Our study clearly describes the influence of VS, which decreases from the base to the upper parts of the plant, on the gradient of the ascochyta blight on pea. The observed disease gradient in our study is identical to that observed under field conditions on spring pea. In addition, because of the high receptivity of the yellowing stipules, this study contributes to explaining why ascochyta blight generally appears when the canopy of spring peas is closed as canopy closure favours the yellowing of the stipules due to lack of light). However, under field conditions, other factors could explain this gradient such as a more favourable microclimate for disease development at the base of the plant canopy. Microclimatic conditions, in particular leaf wetness duration which is important in the epidemic development of ascochyta blight (Roger et al., 1999), could be influenced by canopy architecture: a dense canopy could maintain longer leaf wetness durations but also reduce light penetration and so enhance senescence at the base of the canopy. Furthermore, different spore concentrations could occur at different heights in the canopy and a negative spore gradient from the base to the upper part of the pea canopy could contribute to inducing the disease gradient along the plants. These factors could be impacted by manipulating plant and canopy architecture (Ando et al., 2007). Thus, field studies are required where the canopy architecture is modified through sowing density and genotype, or where genotypes with late development senescence are assessed in order to test these hypotheses.

Acknowledgements We thank Sabine Banniza and Didier Andrivon for reviewing this manuscript and for their constructive suggestions. We also thank Robert Faivre and Yannick Outreman for their valuable suggestions. This work was granted by Agence Nationale de la Recherche (ANR): project ARCHIDEMIO grant ANR-08-STRA-04, UNIP (Union Nationale Interprofessionnelle des Plantes riches en Protéines, Paris), INRA (Institut Nationnal de la Recherche Agronomique) and the Brittany region.

tel-00913095, version 1 - 3 Dec 2013

tel-00913095, version 1 - 3 Dec 2013

References

Agrios, G. N. (2005). Plant Pathology (Fifth ed.). Burlington, MA: Elsevier Academic Press.

Ando, K., Grumet, R., Terpstra, K., & Kelly, J. D. (2007). Manipulation of plant architecture to enhance crop disease control. *CAB Reviews: Perspectives in Agriculture, Veterinary Science, Nutrition and Natural Resources, 2*, 8 pp.

Bailey, J. A. (1969). Phytoalexin production by leaves of *Pisum sativum* in relation to senescence. *Annals of Applied Biology, 64*, 315-324.

Behr, M., Humbeck, K., Hause, G., Deising, H. B., & Wirsel, S. G. R. (2010). The hemibiotroph *Colletotrichum graminicola* locally induces photosynthetically active green islands but globally accelerates senescence on aging maize leaves. *Molecular Plant-Microbe Interactions, 23*, 879-892.

Benjamini, Y., & Hochberg, Y. (1995). Controlling the false discovery rate - a practical and powerful approach to multiple testing. *Journal of the Royal Statistical Society Series B-Methodological, 57*, 289-300.

Bouhassan, A., Sadiki, M., & Tivoli, B. (2004). Evaluation of a collection of faba bean (*Vicia faba* L.) genotypes originating from the Maghreb for resistance to chocolate spot (*Botrytis fabae*) by assessment in the field and laboratory. *Euphytica, 135*, 55-62.

Bradley, D. J., Gilbert, G. S., & Parker, I. M. (2003). Susceptibility of clover species to fungal infection: the interaction of leaf surface traits and environment. *American Journal of Botany, 90*, 857-864.

Carisse, O., & Bouchard, J. (2010). Age-related susceptibility of strawberry leaves and berries to infection by *Podosphaera aphanis*. *Crop Protection, 29*, 969-978.

Carnegie, S. F., & Colhoun, J. (1982). Susceptibility of potato leaves to *Phytophthora infestans* in relation to plant-age and leaf position. *Journal of Phytopathology, 104*, 157-167.

Doster, M. A., & Schnathorst, W. C. (1985). Effects of leaf maturity and cultivar resistance on development of the powdery mildew fungus on grapevines. *Phytopathology, 75*, 318-321.

Elmer, W. H., & Ferrandino, F. J. (1995). Influence of spore density, leaf age, temperature, and dew periods on septoria leaf-spot of tomato. *Plant Disease, 79*, 287-290.

Fernandez-Aparicio, M., Amri, M., Kharrat, M., & Rubiales, D. (2010). Intercropping reduces *Mycosphaerella pinodes* severity and delays upward progress on the pea plant. *Crop Protection, 29*, 744-750.

Fondevilla, S., Carver, T. L. W., Moreno, M. T., & Rubiales, D. (2006). Macroscopic and histological characterisation of genes *er1* and *er2* for powdery mildew resistance in pea. *European Journal of Plant Pathology, 115*, 309-321.

Fry, W. E., & Apple, A. E. (1986). Disease management implications of age-related-changes in susceptibility of potato foliage to *Phytophthora infestans*. *American Potato Journal, 63*, 47-56.

Heath, M. C., & Wood, R. K. S. (1969). Leaf spots induced by *Ascochyta pisi* and *Mycosphaerella pinodes*. *Annals of Botany, 33*, 657-669.

Heath, M. C., & Wood, R. K. S. (1971). Role of inhibitors of fungal growth in the limitation of leaf spots caused by *Ascochyta pisi* and *Mycosphaerella pinodes*. *Annals of Botany, 35*, 475-491.

Hong, J. K., & Hwang, B. K. (1998). Influence of inoculum density, wetness duration, plant age, inoculation method, and cultivar resistance on infection of pepper plants by *Colletotrichum coccodes*. *Plant Disease, 82*, 1079-1083.

Horsfall, J. (1986). The fungus searches for sugar: an essay. In A. Varma & J. P. Verma (Eds.), *Vistas in Plant Pathology* (pp. 1-11). New Delhi, India: Malhotra Publishing House.

Kruskal, W., & Wallis, A. (1952). Use of ranks in one-criterion variance analysis. *Journal of the American Statistical Association, 47*, 583-621.

Kurt, S., & Tok, F. M. (2006). Influence of inoculum concentration, leaf age, temperature, and duration of leaf wetness on Septoria blight of parsley. *Crop Protection, 25*, 556-561.

Le May, C., Ney, B., Lemarchand, E., Schoeny, A., & Tivoli, B. (2009). Effect of pea plant architecture on spatiotemporal epidemic development of ascochyta blight (*Mycosphaerella pinodes*) in the field. *Plant Pathology, 58*, 332-343.

Lers, A. (2007). Environmental regulation of leaf senescence. *Annual Plant Reviews Volume 26: Senescence Processes in Plants* (pp. 108-144): Blackwell Publishing Ltd.

Madden, L. V., Hughes, G., & van den Bosch, F. (2007). Measuring plant diseases. In L. V. Madden, G. Hughes & F. van den Bosch (Eds.), *The study of plant disease epidemics* (pp. 11-31). Saint-Paul: APS Press.

Manetas, Y., Grammatikopoulos, G., & Kyparissis, A. (1998). The use of the portable, non-destructive, SPAD-502 (Minolta) chlorophyll meter with leaves of varying trichome density and anthocyanin content. *Journal of Plant Physiology, 153*, 513-516.

Martin, J. T. (1964). Role of cuticule in the defense against plant disease. *Annual Review of Phytopathology, 2*, 81-100.

Millett, B. P., Mollov, D. S., Iorizzo, M., Carputo, D., & Bradeen, J. M. (2009). Changes in disease resistance phenotypes associated with plant physiological age are not caused by variation in R gene transcript abundance. *Molecular Plant-Microbe Interactions, 22*, 362-368.

Ney, B., & Turc, O. (1993). Heat-unit-based description of the reproductive development of pea. *Crop Science, 33*, 510-514.

tel-00913095, version 1 - 3 Dec 2013

Onfroy, C., Baranger, A., & Tivoli, B. (2007). Biotic factors affecting the expression of partial resistance in pea to ascochyta blight in a detached stipule assay. *European Journal of Plant Pathology, 119*, 13-27.

Pelletier, J. R., & Fry, W. E. (1990). Characterization of resistance to early blight in three potato cultivars - receptivity. *Phytopathology, 80*, 361-366.

Pic, E., de la Serve, B. T., Tardieu, F., & Turc, O. (2002). Leaf senescence induced by mild water deficit follows the same sequence of macroscopic, biochemical, and molecular events as monocarpic senescence in pea. *Plant Physiology, 128*, 236-246.

R Development Core Team. (2010). R: A language and environment for statistical computing. (Version 2.10.1). Vienna, Austria: R Foundation for Statistical Computing.

Rodriguez, M. A. D., Brommonschenkel, S. H., Matsuoka, K., & Mizubuti, E. S. G. (2006). Components of resistance to early blight in four potato cultivars: Effect of leaf position. *Journal of Phytopathology, 154*, 230-235.

Roger, C., & Tivoli, B. (1996). Spatio-temporal development of pycnidia and perithecia and dissemination of spores of *Mycosphaerella pinodes* on pea (*Pisum sativum*). *Plant Pathology, 45*, 518-528.

Roger, C., Tivoli, B., & Huber, L. (1999). Effects of temperature and moisture on disease and fruit body development of *Mycosphaerella pinodes* on pea (*Pisum sativum*). *Plant Pathology, 48*, 1-9.

Schoeny, A., Jumel, S., Rouault, F., Lemarchand, E., & Tivoli, B. (2010). Effect and underlying mechanisms of pea-cereal intercropping on the epidemic development of ascochyta blight. *European Journal of Plant Pathology, 126*, 317-331.

Schoeny, A., Menat, J., Darsonval, A., Rouault, F., Jumel, S., & Tivoli, B. (2008). Effect of pea canopy architecture on splash dispersal of *Mycosphaerella pinodes* conidia. *Plant Pathology, 57*, 1073-1085.

Stewart, H. E. (1990). Effect of plant-age and inoculum concentration on expression of major gene resistance to *Phytophthora infestans* in detached potato leaflets. *Mycological Research, 94*, 823-826.

Tivoli, B., & Banniza, S. (2007). Comparison of the epidemiology of ascochyta blights on grain legumes. *European Journal of Plant Pathology, 119*, 59-76.

Tivoli, B., Ney, B., Jeuffroy, M. H., Huber, L., & Roger, C. (2000). Impact of the epidemic development of ascochyta blight on peas. In P. Maillard & R. Bonhomme (Eds.), *Behavior of Plants Subject to Environmental Stress* (pp. 497-514). Paris: Institut National de la Recherche Agronomique.

Valsangiacomo, C., & Gessler, C. (1988). Role of the cuticular membrane in ontogenic and Vf-resistance of apple leaves against *Venturia inaequalis*. *Phytopathology, 78*, 1066-1068.

tel-00913095, version 1 - 3 Dec 2013

Visker, M., Keizer, L. C. P., Budding, D. J., Van Loon, L. C., Colon, L. T., & Struik, P. C. (2003). Leaf position prevails over plant age and leaf age in reflecting resistance to late blight in potato. *Phytopathology, 93*, 666-674.

Wroth, J. M. (1998). Possible role for wild genotypes of *Pisum* spp. to enhance ascochyta blight resistance in pea. *Australian Journal of Experimental Agriculture, 38*, 469-479.

Yang, Y., Wilson, L. T., Makela, M. E., Marchetti, M. A., & Krausz, J. P. (1998). Effect of leaf age and nodal position on receptivity of rice leaves to infection by *Pyricularia grisea*. *Journal of Phytopathology, 146*, 157-164.

Zimmer, R. C., & Sabourin, D. (1986). Determining resistance reactions of field pea cultivars at the seedling stage to *Mycosphaerella pinodes*. *Phytopathology, 76*, 878-881.

tel-00913095, version 1 - 3 Dec 2013

tel-00913095, version 1 - 3 Dec 2013

Chapitre 2

Conception des scénarios architecturaux

Chapitre 2 – Conception des scénarios architecturaux

Afin d'étudier l'influence de l'architecture du couvert de pois sur le développement de l'ascochytose au champ, deux expérimentations sont effectuées sur pois de printemps en 2009 et 2010 sur le site du Rheu. Ce chapitre décrivant les scénarios architecturaux qui nous ont permis d'éprouver nos hypothèses de travail au champ, est conçu pour être un chapitre introductif aux chapitres 3, 4 et 5 suivants. Il présente dans un premier temps le choix des variétés de pois utilisées, puis le dispositif expérimental mis en place. Dans une dernière partie, nous montrerons comment les modalités expérimentales retenues ont permis d'obtenir des couverts présentant des architectures différentes.

I. Analyse de sensibilité des variétés à l'ascochytose

Trois cultivars de pois de printemps sont choisis en fonction de leurs caractéristiques architecturales décrites dans le catalogue variétal (Tableau 2.1) :

- Athos, qui est une variété courte ayant tendance à faire de nombreuses ramifications ;
- Antares, variété haute ;
- Gregor, variété haute avec une bonne tenue de tige.

Ces trois variétés sont réputées sensibles à la maladie avec un même niveau de sensibilité mais nous avons quand même tenu à vérifier cette caractéristique. L'étude du niveau de sensibilité des variétés est réalisée sur jeunes plantes selon la méthodologie définie par Onfroy et al. (2007).

a. Variétés étudiées

Ce test de comportement variétal est réalisé dans le but de comparer l'ensemble du matériel végétal du laboratoire en expérimentation au champ et en serre en 2009 et 2010. En plus des trois variétés de printemps directement utilisées dans nos expérimentations au champ (Athos, Antares et Gregor), quatre autres variétés ou génotypes ont été testés: la variété de pois de printemps Baccara (utilisée dans le chapitre 1), ainsi que trois variétés de pois d'hiver en expérimentation au champ dans d'autres essais (James, Enduro et Hr151: S03 H151 AZ Hr). Le niveau de sensibilité de ces variétés a été comparé à celui de quatre variétés témoins, Hr886 et Geronimo (partiellement résistantes) et Solara et JI296 (sensibles). Les graines de chaque variété sont semées dans un mélange 1 :1 :1 terre-sable-tourbe à raison de trois graines par pot. Les pots sont placés dans des bacs maxi-serres (onze pots par maxi-serre) qui sont ensuite disposés dans des chambres climatiques

tel-00913095, version 1 - 3 Dec 2013

tel-00913095, version 1 - 3 Dec 2013

Tableau 2.1 Caractéristiques architecturales des trois variétés de pois de printemps utilisées au champ en 2009 et 2010

Cultivar	Hauteur de tige	Capacité à ramifier	Résistance à la verse
Athos	Basse	Forte	Intermédiaire
Antares	Haute	Intermédiaire	Intermédiaire
Gregor	Haute	Intermédiaire	Bonne

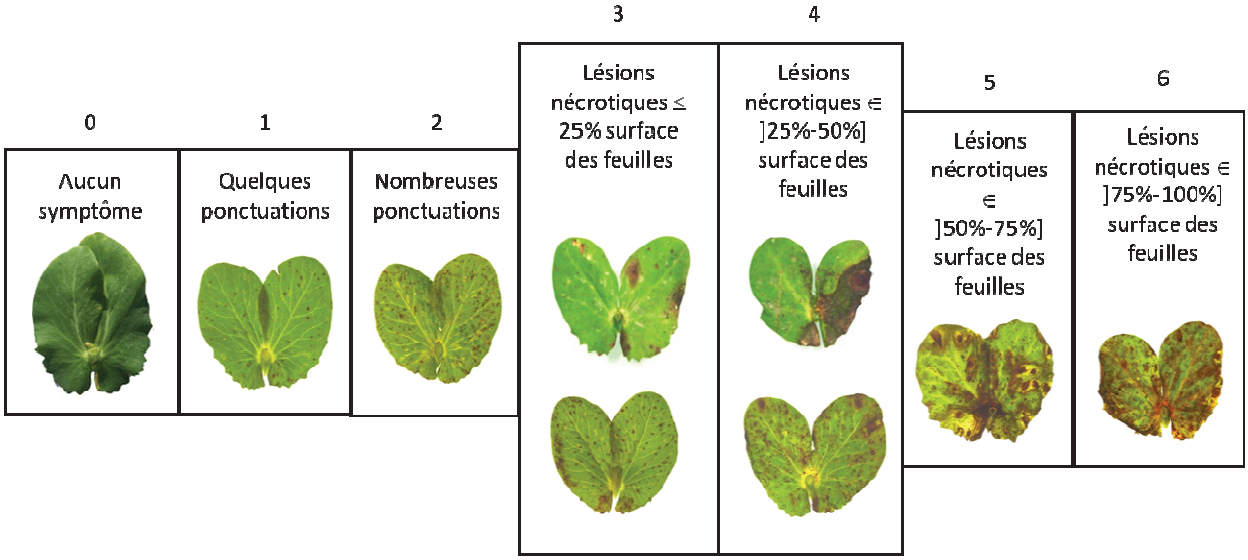


Figure 2.1 Echelle de notation de la maladie adaptée par Schoeny et al. (2010) à partir de l'échelle de Roger et Tivoli (1996) : 0, aucun symptôme ; 1, quelques ponctuations ; 2, nombreuses ponctuations ; 3, lésions nécrotiques coalescentes couvrant moins de 25% de l'organe ; 4, nécroses couvrant entre 25 et 50% de l'organe ; 5, zone nécrotique entre 50 et 75% de l'organe ; 6, ensemble des lésions supérieur à 75% de l'organe

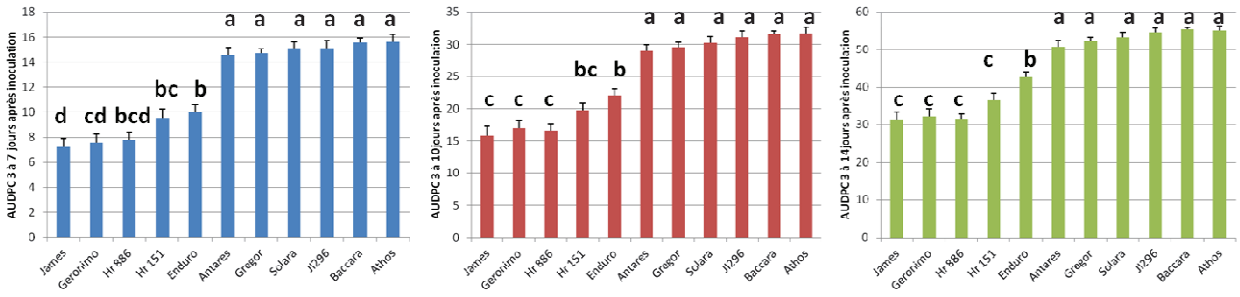


Figure 2.2 Aires sous la courbe de développement de la maladie (AUDPC) entre 3 et 7 jours (en bleu), entre 3 et 10 jours (en rouge) et entre 3 et 14 jours (en vert) pour trois variétés de pois d'hiver (Enduro, Hr151 et James), quatre variétés de pois de printemps (Antares, Athos, Baccara et Gregor), deux témoins sensibles (JI296 et Solara) et deux témoins résistants (Geronimo et Hr886). Les barres ayant des lettres strictement différentes présentent des différences significatives au taux d'erreur de 5% selon le test de Tukey HSD. Aux trois dates de notations, toutes les variétés de printemps sont sensibles à la maladie avec un même niveau de sensibilité tandis que les variétés d'hiver présentent de faibles niveaux de résistances partielles.

à 15°C avec une photopériode de 14h à l'aide d'un éclairage artificiel à 300 µmol.m^{-2}.s^{-1} pendant trois semaines jusqu'au stade 3-4 feuilles.

b. Production de l'inoculum

Un isolat de la souche de *M. pinodes* 91.31.12 est repiqué sur un milieu V8-agar incubé pendant 9-10 jours en chambre de culture à 20°C avec une photopériode de 12h à la lumière blanche (longueur d'onde : 350-750nm). Une suspension de pycniospores est ensuite obtenue en déposant sur la culture un film d'eau stérile, en grattant la surface d'agar afin de récupérer les pycniospores et en filtrant le tout au travers de quatre couches de mousseline. La concentration de la solution est ensuite déterminée à l'aide d'un haemocytomètre (cellule de Malassez) et ajustée à l'aide d'eau distillée stérile. Enfin, du Tween a été ajouté comme agent mouillant (2 gouttes pour un litre de solution).

c. Inoculation et estimation de la sévérité de la maladie

Les plantes sont inoculées par pulvérisation de suspension de spores avec une concentration de 10^5spores.l^{-1} et un volume de 33ml par maxi-serre au stade 3-4 feuilles (11pots par maxi-serre). L'incubation a lieu en chambre climatique avec une photopériode de 14h à 18°C et 10h de nuit à 15°C. Pour éviter le dessèchement des plantules, les plantes restent dans l'obscurité pendant 24h à 18°C après inoculation. La sévérité de maladie est estimée 3, 7, 10 et 14 jours après inoculation à l'aide d'une échelle de 0 à 6 adaptée par Schoeny et al. (2010) à partir de l'échelle de Roger et Tivoli (1996) : 0, aucun symptôme ; 1, quelques ponctuations ; 2, nombreuses ponctuations ; 3, lésions nécrotiques coalescentes couvrant moins de 25% de l'organe ; 4, nécroses couvrant entre 25 et 50% de l'organe ; 5, zone nécrotique entre 50 et 75% de l'organe ; 6, ensemble des lésions supérieur à 75% de l'organe (Figure 2.1).

d. Résultats

L'essai consiste en quatre blocs de trois jeunes plantes par variété et est répété une fois. Les aires sous la courbe de développement de la maladie sont calculées pour chaque variété et des analyses de variance sont utilisées avec des comparaisons de moyennes à l'aide du test de Tukey au seuil de significativité de 5% à l'aide du logiciel XLSTAT.

Les sévérités de maladie sont homogènes entre les deux répétitions. Toutes les variétés de pois de printemps ont montré un fort niveau de sensibilité (équivalent à celui des génotypes témoins sensibles Solara et JI 296) avec aucune différence significative entre elles 7, 10 et 14 jours après inoculation avec des AUDPC variant entre 14,6 (Antares) et 15,6 (Athos), entre 28,9 (Antares) et 31,6

tel-00913095, version 1 - 3 Dec 2013

tel-00913095, version 1 - 3 Dec 2013

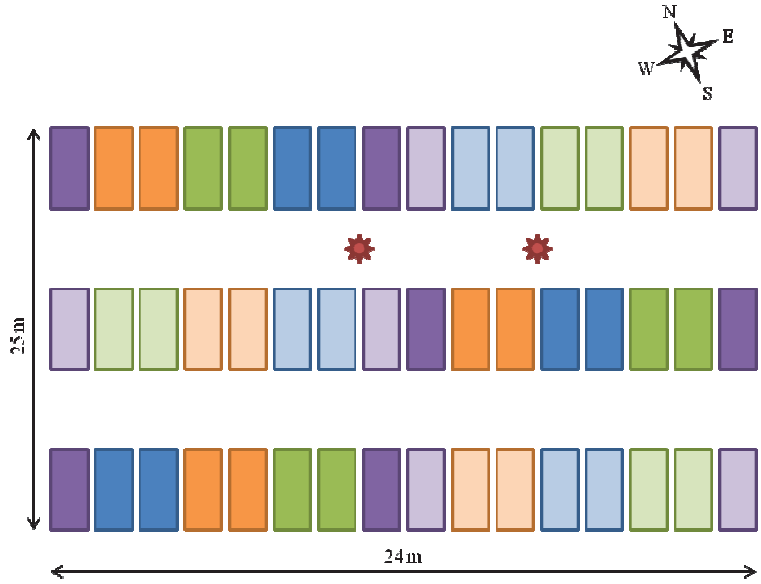


Figure 2.3 : Représentation de la parcelle expérimentale concernant le bloc avec traitement fongicide pour l'essai Pois de printemps 2009. En bleu sont représentées les placettes pour le cv. Athos, en vert pour le cv. Antares et en orange pour le cv. Gregor. En rectangles transparents sont représentées les placettes semées à la densité 40 graines par mètre carré et en rectangles pleins celles semées à 80 graines par mètre carré. Les rectangles mauves représentent un quatrième cultivar de bordure, Kayanne, pour séparer les blocs densités du dispositif en split-plot. Les soleils rouges représentent les centrales d'acquisition des données micrométéorologiques. Un dispositif similaire est placé juste à côté sans protection fongique.

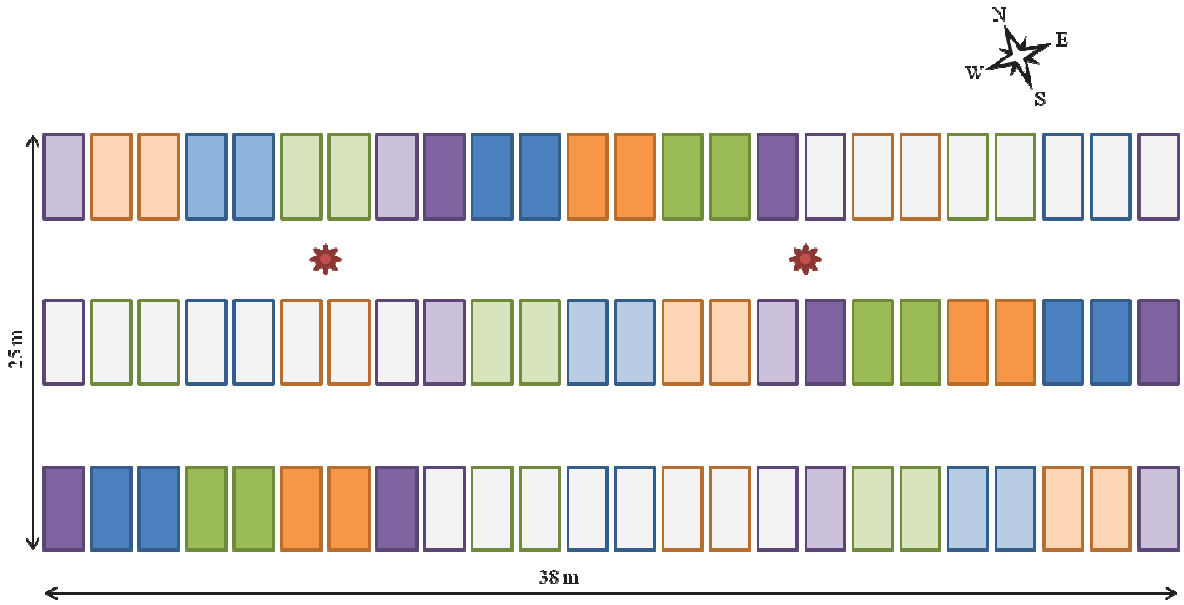


Figure 2.4 : Représentation de la parcelle expérimentale concernant le bloc avec traitement fongicide pour l'essai Pois de printemps 2010. En bleu sont représentées les placettes pour le cv. Athos, en vert pour le cv. Antares et en orange pour le cv. Gregor. Les rectangles pleins représentent les placettes semées à 80 graines par mètre carré, ceux avec une couleur atténuée celles semées à la densité 40 graines par mètre carré, et ceux remplis en blanc les placettes semées à 80. Les rectangles mauves représentent un quatrième cultivar de bordure, Kayanne, pour séparer les blocs densités du dispositif en split-plot. Les soleils rouges représentent les centrales d'acquisition des données micrométéorologiques. Un dispositif similaire est placé juste à côté sans protection fongique.

(Baccara), et entre 50,9 (Antares) et 55,4 (Baccara) respectivement (Figure 2.2). Les variétés et génotypes résistants présentent des niveaux de maladie beaucoup plus faibles.

II. Dispositif expérimental au champ

a. Plan expérimental

Les essais sont réalisés sur le domaine expérimental de l'INRA de Rennes au Rheu (48°06'00'' N, 1°48'00'' W). Les trois cultivars précédemment décrits sont semés aux printemps 2009 et 2010, à des densités de 80 (densité standard de semis) et 40 graines par mètre carré le 23 février 2009 et de 80, 40 et 30 graines par mètre carré le 9 mars 2010 selon un dispositif en split-plot. Dans ce dispositif, le bloc principal correspondant au niveau de maladie (Blocs traités ou Non traités/inoculés) est subdivisé en sous-blocs pour chacune des densités dans lesquels sont randomisées les trois variétés, comme l'illustrent les figures 2.3 et 2.4 pour les essais 2009 et 2010 respectivement. Chaque modalité (variété x densité) est constituée de deux placettes, une pour l'estimation des paramètres de hauteur et fermeture du couvert ainsi que du rendement, et une pour le prélèvement de plantes pour l'estimation de la maladie, de la sénescence et de la surface foliaire par étages. Chaque modalité est répétée trois fois. Le dispositif est dupliqué afin d'avoir un bloc avec traitement fongicide (Banko500, substance active : chlorothalonil 500 g/l; quatre applications fongicides en 2009 et trois en 2010) permettant d'estimer la sénescence visuelle naturelle des organes et un bloc inoculé avec des grains d'orge colonisés à l'aide d'un mélange d'isolats de *M. pinodes* afin de simuler une inoculation naturelle comme dans Schoeny et al. (2010). L'inoculation en 2009 eut lieu le 28 avril (à 580 degrés-jours après semis) avec un volume de 150 ml de grains d'orge par placette de 10,5 m^2 (environ 1000 grains) et le 30 avril 2010 (515 degrés-jours après semis) avec un volume de 375 ml.

b. Abréviations

Afin d'alléger le texte, les densités de semis seront notés D80, D40 et D30 pour une densité de semis de 80, 40 et 30 graines par mètre carré respectivement. Chaque modalité sera noté comme suit 'nom du cultivar' - 'valeur de la densité de semis', soit par exemple Antares-80, Athos-80 et Gregor-80 pour les cultivars Antares, Athos et Gregor à la densité D80 respectivement et Antares-40 et Antares-30 pour le cultivar Antares semé aux densités D40 et D30 respectivement.

c. Evaluation de la maladie et de la sénescence

Les premières ponctuations dues à la maladie sont apparues vers le 27 mai en 2009 et le 28 mai en 2010. La maladie est estimée à l'aide de l'échelle de 0 à 6 décrite ci-dessus, les 2, 15 et 22 juin en 2009 et les 7, 18 et 30 juin en 2010. Pour chaque date, 5 à 10 plantes sont prélevées par bloc dans

tel-00913095, version 1 - 3 Dec 2013

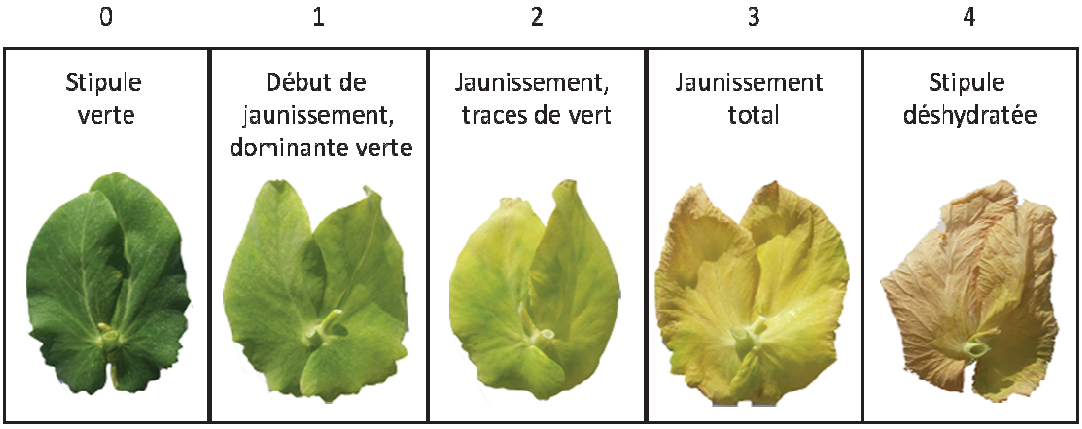


Figure 2.5 Echelle de notation de la sénescence visuelle allant de 0 à 4 : 0, organe entièrement verte; 1, apparition du jaunissement ; 2, organe majoritairement jaune, quelques traces de vert ; 3, organe entièrement jaune ; 4, organe déshydraté.

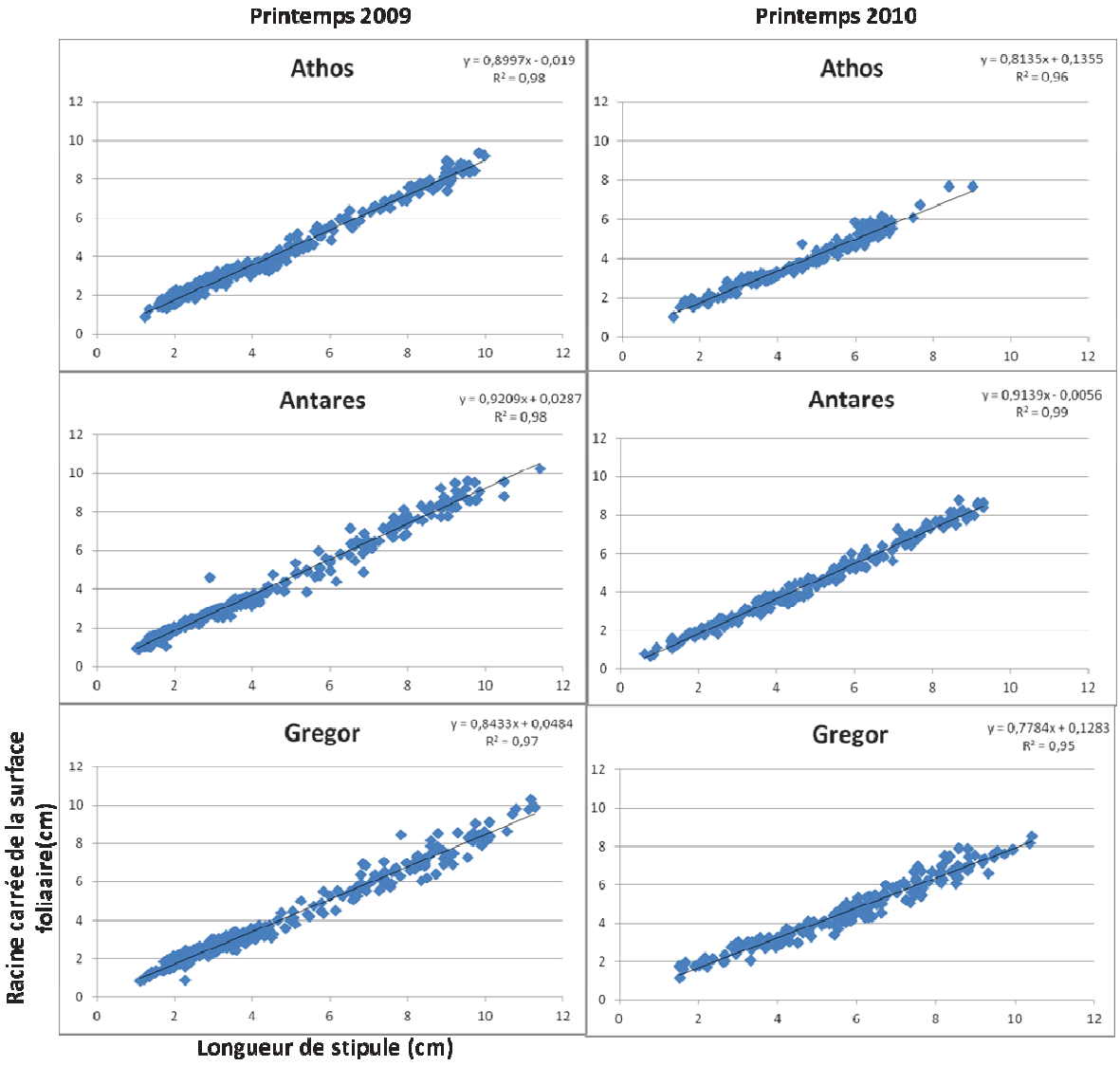


Figure 2.6 Regressions obtenues en 2009 et 2010 entre la longueur des stipules et la surface foliaire chez trois cultivars de printemps Athos, Antares et Gregor à deux dates de notation afin d'avoir une large gamme de variation. Les résultats montrent une très forte relation entre ces deux paramètres avec des R^2 variant entre 0,95 et 0,99.

tel-00913095, version 1 - 3 Dec 2013

chacune des deux parties (avec et sans protection fongique) et la notation est réalisée sur les stipules de tous les étages. Une estimation de la sénescence visuelle à l'aide d'une échelle colorimétrique allant de 0 à 4 (et définie dans le chapitre 1) : 0 pour un organe entièrement vert, 1 pour un organe avec un début de jaunissement, 2 pour un organe majoritairement jaune avec des portions encore vertes, 3 pour un organe entièrement jaune et 4 pour un organe déshydraté est également réalisée sur ces mêmes étages (Figure 2.5). Les stipules manquantes dans les bas du couvert furent considérées comme des stipules présentant un niveau 4 de sénescence visuelle. Pour la suite de ce chapitre, le terme 'sénescence' désignera la sénescence visuelle d'un organe à partir de cette échelle. Le terme 'sénescence naturelle' sera attribué à la sénescence estimée dans les parcelles avec traitement fongicide et le terme 'sénescence induite' à la sénescence dans les parcelles inoculées, incluant la sénescence naturelle plus la sénescence induite par la maladie.

d. Estimation des caractéristiques architecturales des couverts

Trois paramètres sont utilisés pour une caractérisation globale des couverts: leurs cinétiques de hauteur, de LAI et de fermeture. L'arrivée de l'ascochytose étant tardive sur pois de printemps en France et n'ayant pas d'impact sur le développement des stipules et des plantes (Béasse et al., 2000), la surface foliaire et par extension l'indice de surface foliaire (Leaf Area Index, LAI), ne sont mesurés que dans la parcelle avec traitement fongique. Quinze plantes sont prélevées par modalité (cinq par bloc) et la longueur de chaque stipule sur tige principale et ramifications est mesurée. A l'aide de régressions obtenues chaque année pour chacune des variétés en mesurant la surface foliaire à l'aide d'un planimètre ainsi que la longueur de stipules à deux dates en début et fin de culture (R^2 variant entre 0,95 et 0,99), le LAI a ainsi été estimé pour chaque date de prélèvement (Figure 2.6). La hauteur du couvert pour chaque modalité est mesurée dans chacun des blocs à l'aide d'un HerboMETRE®. La densité de surface foliaire (Leaf Area Density, LAD), défini comme le LAI divisé par la hauteur du couvert (Treuhaft et al., 2002) est calculé à chacune des dates correspondantes. La fermeture du couvert est également mesurée dans chaque placette à l'aide de la photographie d'un carré d'un m^2 analysée à l'aide d'un logiciel d'analyse d'image (Assess, American Phytopathological Society, www.apsnet.org).

e. Analyses statistiques

Les analyses statistiques sont réalisées à l'aide des logiciels R et XLSTAT. Pour les variables qualitatives (variables mesurées), des analyses de variance sont utilisées avec des comparaisons de moyennes à l'aide du test de Tukey au seuil de significativité de 5%. Pour les variables semi-qualitatives (notes), des tests non-paramétriques sont utilisés : le test de Kruskal-Wallis pour la comparaison des moyennes de rang et le test de Steel-Dwass-Critchlow-Fligner avec correction de

tel-00913095, version 1 - 3 Dec 2013

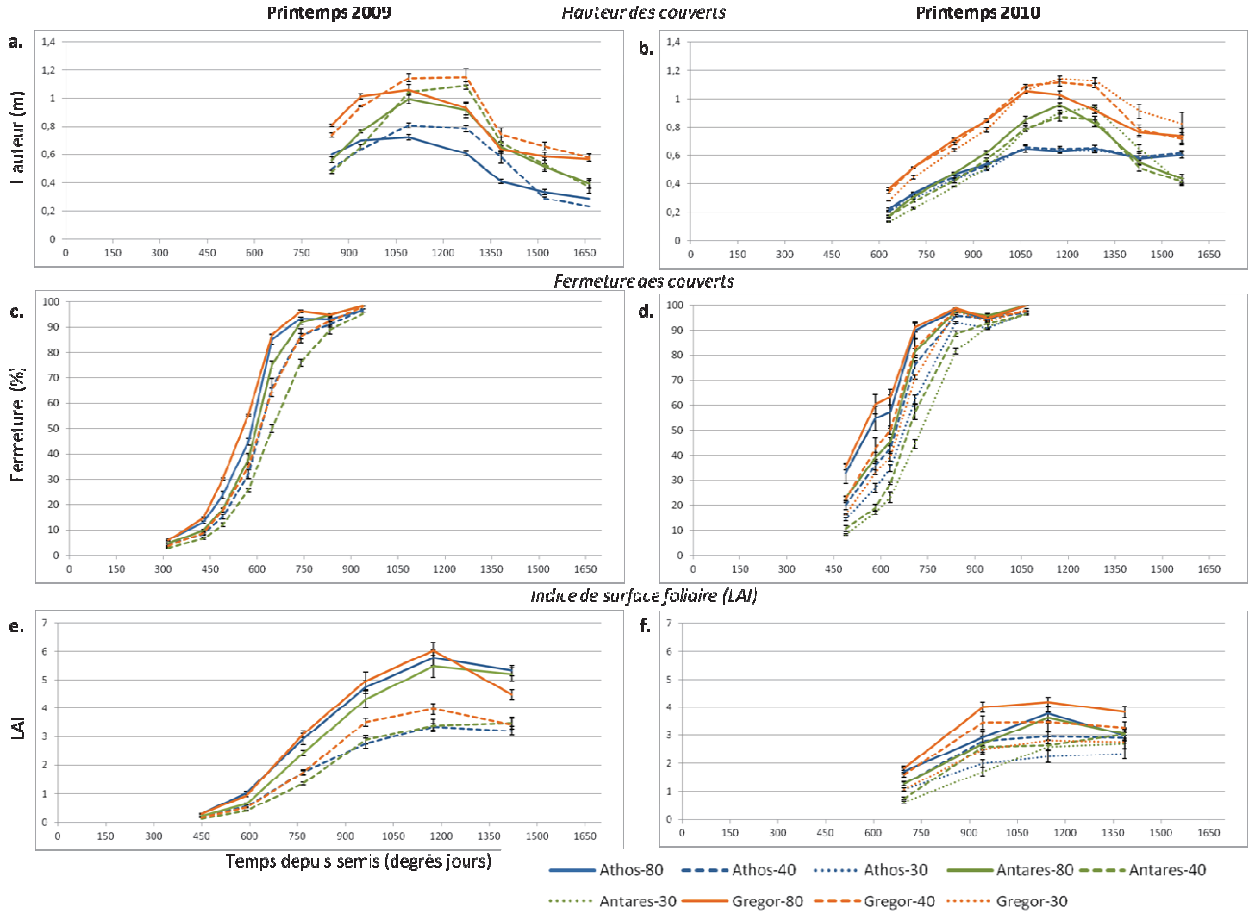


Figure 2.7 Développement de la hauteur des couverts (a.-b.), fermeture des couverts (c.-d.) et indice de surface foliaire (LAI) (e.-f.) aux printemps 2009 et 2010 pour les cultivars de pois Athos , Antares et Gregor aux densités de semis 80, 40 and 30 graines par mètre carré en somme de degrés-jour depuis semis en base 0.

tel-00913095, version 1 - 3 Dec 2013

Bonferroni pour les comparaisons par paire (Hollander & Wolfe, 1999), toujours au seuil de significativité de 5%.

Dans les chapitres 4 et 5, afin de comparer les modalités entre elles, pour chaque plante, chaque numéro d'étage a été converti en hauteur relative de l'étage correspondant en estimant la hauteur théorique de l'étage de la plante à l'aide de la somme des valeurs moyennes d'entre-nœuds correspondant divisée par la hauteur théorique de la plante correspondante :

$$HauteurRelative[i] = \frac{\sum_{x=1}^{i} Entre - Noeud[x]}{\sum_{y=1}^{n} Entre - Noeud[y]} * 100$$

où i=étage étudié, n=étage maximal de la plante et Entre-Nœud[k] la longueur de l'entre-nœud entre les étages k-1 et k. Chaque plante a ensuite été divisée en quatre portions : entre 0 et 25%, entre 26 et 50%, entre 51 et 75% et entre 76 et 100% de la plante.

III. Description des couverts

a. Hauteur des couverts

Pour chacune des modalités (cultivar x densité de semis), la cinétique de hauteur des couverts mesurée se déroule en trois phases : i) une augmentation de la hauteur des couverts jusqu'au début du mois de juin, ce qui correspond à 1090 degrés-jours (en base 0 depuis semis) en 2009, 1065 en 2010, ii) un plateau pendant une à deux semaines (environ 200 degrés-jours en 2009, 365 en 2010) puis iii) un affaissement des couverts, à l'exception des couverts du cv. Athos en 2010 pour les parcelles avec traitements fongicides (Figure 2.7 a. et b.). Pour chacune des densités, le cv. Gregor a généré les plus hauts couverts par rapport aux couverts issus des cvs. Athos et Antares ($p<0,05$). Jusqu'à 940 degrés-jours depuis semis les deux années, les couverts Antares étaient aussi hauts (2009) ou plus petits (2010) que les couverts Athos ($p<0$,05). Les couverts Antares ont ensuite décroché par rapport aux couverts Athos et ont été significativement plus grands ($p<0,05$). De plus, pour les cvs. Antares et Gregor, un effet densité de semis est observé jusqu'à 940 degrés-jours avec des couverts plus hauts à D80 qu'à D40 en 2009 et à D80 et D40 qu'à D30 en 2010. Pendant la période d'affaissement des couverts, un effet densité de semis est également observé pour le cv. Gregor avec une verse plus importante à la densité D80 qu'aux densités D40 et D30 ($p<0,05$).

b. Fermeture des couverts

Pour chacune des années et chacun des cultivars, un effet densité de semis est observé avec une fermeture plus rapide pour les couverts à la densité D80 qu'aux densités D40 et D30 (Figure 2.7 c. et d., $p<0,05$). Aucune différence significative n'est observée entre les densités D40 et D30 en 2010 pour chacun des cultivars ($p<0,05$). En **2009**, cette différence est visible entre 430 et 740 degrés-jours avec une fermeture plus lente des couverts Antares par rapport à celles des couverts Athos et Gregor

tel-00913095, version 1 - 3 Dec 2013

Tableau 2.2 Indice de surface foliaire (LAI) et densité de surface foliaire (LAD) de trois cultivars de pois Athos, Antares and Gregor semés à 80 et 40 graines par mètre carré au printemps 2009 à deux dates de développement en degrés-jour en base 0 après semis

	960 degrés-jours				1175 degrés-jours			
	LAI		LAD		LAI		LAD	
Athos-80	4,75	*±0,23*	6,78	*±0,33*	5,77	*±0,28*	8,04	*±0,46*
Antares-80	4,32	*±0,29*	5,67	*±0,40*	5,48	*±0,39*	5,55	*±0,41*
Gregor-80	4,97	*±0,31*	4,88	*±0,28*	6,03	*±0,28*	5,75	*±0,32*
Athos-40	2,77	*±0,18*	4,33	*±0,28*	3,35	*±0,11*	4,15	*±0,14*
Antares-40	2,89	*±0,14*	4,40	*±0,22*	3,39	*±0,22*	3,24	*±0,21*
Gregor-40	3,51	*±0,14*	3,73	*±0,14*	3,98	*±0,19*	3,50	*±0,20*

Tableau 2.3 Indice de surface foliaire (LAI) et densité de surface foliaire (LAD) de trois cultivars de pois Athos, Antares and Gregor semés à 80, 40 et 30 graines par mètre carré au printemps 2010 à deux dates de développement en degrés-jour en base 0 après semis

	940 degrés-jours				1145 degrés-jours			
	LAI		LAD		LAI		LAD	
Athos-80	2,93	*±0,19*	5,42	*±0,35*	3,78	*±0,27*	6,04	*±0,43*
Antares-80	2,70	*±0,22*	4,37	*±0,35*	3,64	*±0,19*	3,82	*±0,20*
Gregor-80	4,00	*±0,18*	4,66	*±0,20*	4,18	*±0,17*	4,10	*±0,20*
Athos-40	2,79	*±0,18*	5,30	*±0,34*	2,97	*±0,14*	4,61	*±0,21*
Antares-40	2,58	*±0,18*	4,52	*±0,31*	2,65	*±0,17*	3,05	*±0,20*
Gregor-40	3,46	*±0,24*	4,06	*±0,28*	4,41	*±0,55*	3,65	*±0,45*
Athos-30	1,99	*±0,14*	3,99	*±0,27*	2,24	*±0,21*	3,51	*±0,29*
Antares-30	1,69	*±0,15*	3,28	*±0,27*	2,59	*±0,13*	2,86	*±0,14*
Gregor-30	2,50	*±0,15*	3,19	*±0,17*	2,82	*±0,13*	2,48	*±0,12*

tel-00913095, version 1 - 3 Dec 2013

pour chacune des densités de semis ($p<0,05$). Tous les couverts sont considérés comme fermés à partir de 940 degrés-jours. En **2010**, durant la période de fermeture des couverts, une fermeture plus lente pour le cv. Antares par rapport au cv. Gregor est observée pour chacune des densités de semis et entre les cvs. Antares et Athos aux densités D40 et D30 avec une fermeture plus lente pour le cv. Antares ($p<0,05$). Tous les couverts sont fermés à plus de 90% à 940 degrés-jours et sont considérés comme fermés à partir de 1065 degrés-jours.

c. Indice de surface foliaire (Leaf Area Index)

En **2009**, pour chacun des cultivars et durant toute la saison de culture, les LAI sont plus importants à la densité D80 qu'à la densité D40 (Figure 2.7 e., $p<0,05$). Très peu de différences sont observées entre variétés excepté pour le cv. Gregor à la densité D40 qui a généré les couverts avec les plus forts LAI comparés aux cvs. Antares et Athos ($p<0,05$). En **2010**, les valeurs de LAI sont plus faibles qu'en 2009 (Figure 2.7 f.). Un effet significatif de la densité de semis pour chacune des variétés est généralement observé avec les LAI des fortes densités supérieurs à ceux des densités plus faibles. Le cultivar Gregor présente des LAI significativement supérieurs aux deux autres cultivars.

d. Densité de surface foliaire (Leaf Area Density)

En **2009**, un effet de la densité de semis sur le LAD pour chacune des variétés similaire à celui observé pour le LAI, est observé : les couverts semés à D80 possèdent des valeurs de LAD significativement plus importantes que ceux semés à D40 (Tableau 2.2). De part sa petite taille, les valeurs de LAD du cv. Athos sont les plus élevées avec des différences significatives par rapport aux LAD du cv. Gregor à chacune des densités de semis ($p<0,05$). En **2010**, l'effet densité de semis est généralement plus important qu'en 2009 (Tableau 2.3, $p<0,05$). Le cas du cv. Athos (qui a la plus petite taille) est particulièrement intéressant puisque son LAD est largement supérieur aux LAD des autres variétés à chacune des densités de semis. Une telle observation montre que la densité de feuilles au sein du couvert est beaucoup plus importante chez ce cultivar que chez les autres variétés.

En résumé, différentes architectures sont donc obtenues en agissant à la fois sur le cultivar utilisé et sur la densité de semis. Le cultivar Gregor a fourni les couverts les plus grands, avec un LAI important et une vitesse de fermeture rapide. A l'inverse, le cultivar Athos a été celui dont les couverts ont été les plus bas mais cependant avec des valeurs de LAI suffisamment importantes et une vitesse de fermeture similaire à celle de Gregor. Le cultivar Antares quant à lui est caractérisé par une fermeture des couverts plus lente, une hauteur en début de saison proche de celle d'Athos avant de se

tel-00913095, version 1 - 3 Dec 2013

rapprocher de celle des couverts de Gregor. Les couverts qui en résultent sont également ceux avec les plus faibles LAI. De part sa petite taille, le cultivar Athos est celui dont les couverts ont eu les plus grandes valeurs de LAD, qui peut être vu comme la compacité du couvert (ou une faible porosité au sein du couvert?). La densité de semis a eu un impact direct sur le LAI et la vitesse de fermeture des couverts, avec une diminution de ces paramètres avec la réduction de la densité de semis. Cependant, nous n'avons pas réussi à obtenir de couvert restant ouvert, le pois ayant tendance à compenser quand la densité de semis diminue.

En observant les vitesses de fermeture des couverts et les valeurs de LAI, les scénarios les plus tranchés sont ceux combinant variété et densité de semis : en 2009, le couvert le plus dense obtenu est Gregor-80 et le moins dense Antares-40 et en 2010, ces couverts sont Gregor-80 et Antares-30 respectivement.

tel-00913095, version 1 - 3 Dec 2013

Références bibliographiques

Béasse, C., Ney, B., & Tivoli, B. (2000). A simple model of pea (*Pisum sativum*) growth affected by *Mycosphaerella pinodes*. *Plant Pathology, 49*, 187-200.

Hollander, M., & Wolfe, D. A. (1999). Nonparametric statistical methods (2nd ed.): Wiley-Interscience.

Onfroy, C., Baranger, A., & Tivoli, B. (2007). Biotic factors affecting the expression of partial resistance in pea to ascochyta blight in a detached stipule assay. *European Journal of Plant Pathology, 119*, 13-27.

Roger, C., & Tivoli, B. (1996). Spatio-temporal development of pycnidia and perithecia and dissemination of spores of *Mycosphaerella pinodes* on pea (*Pisum sativum*). *Plant Pathology, 45*, 518-528.

Schoeny, A., Jumel, S., Rouault, F., Lemarchand, E., & Tivoli, B. (2010). Effect and underlying mechanisms of pea-cereal intercropping on the epidemic development of ascochyta blight. *European Journal of Plant Pathology, 126*, 317-331.

Treuhaft, R. N., Asner, G. P., Law, B. E., & Van Tuyl, S. (2002). Forest leaf area density profiles from the quantitative fusion of radar and hyperspectral data. *Journal of Geophysical Research-Atmospheres, 107*.

tel-00913095, version 1 - 3 Dec 2013

tel-00913095, version 1 - 3 Dec 2013

Chapitre 3

Effet de l'architecture du couvert de pois sur le microclimat et conséquences pour le développement de l'épidémie au champ

Chapitre 3 – Effet de l'architecture du couvert de pois sur le microclimat et conséquences pour le développement de l'épidémie au champ

L'objectif principal de ce chapitre 3 est d'étudier comment l'architecture des couverts décrits dans le chapitre précédent peut influencer certaines variables microclimatiques (durée d'humectation, température de l'air et vitesse du vent) et entraîner des différences par rapport aux données météorologiques externes. Un second objectif consiste à étudier comment le microclimat engendré au sein du couvert est susceptible de piloter l'initialisation de l'ascochytose. Pour cela, un modèle simulant le potentiel infectieux, basé sur la température et la durée d'humectation, a été développé en incrémentant le modèle générique d'infection développé par Magarey et al. (2005) fournissant la durée d'humectation nécessaire à une température donnée pour qu'un pathogène infecte son hôte. La durée d'humectation au sein du couvert est mesurée à deux hauteurs : à la base et à mi-hauteur des couverts, avec un déplacement des capteurs chaque semaine en fonction de l'évolution de la hauteur du couvert. Concernant la température de l'air, peu de différences sont observées entre les différents couverts, et entre intérieur et extérieur des couverts (un différentiel souvent inférieur à 1°C est observé). Par ailleurs, la vitesse du vent, mesurée à une hauteur fixe en bas du couvert en 2009 et à 50 cm du sol en 2010, diminue au fur et à mesure que le sommet du couvert se rapproche du capteur jusqu'à devenir très faible une fois que la hauteur du couvert dépasse celle du capteur.

L'étude présentée dans ce chapitre, porte principalement sur la durée d'humectation et deux types de périodes humides sont étudiées : des périodes pluvieuses dont la principale source d'humectation est la pluie et des périodes sèches sans précipitation ni irrigation dont la source principale d'humectation est la rosée. Durant les périodes pluvieuses, la durée d'humectation est plus longue à l'intérieur des couverts qu'à l'extérieur (entre 3 et 10h de plus selon la période), avec peu de variations entre les différents couverts et selon la position basse ou médiane du capteur. Un effet positif du LAI au-dessus du capteur sur la durée d'humectation est visible en début de saison quand les LAI sont encore faibles avant la fermeture des couverts. Concernant les périodes sèches, la durée d'humectation observée est la conséquence d'un plus ou moins grand dépôt de rosée sur et au sein du couvert. Au sein des couverts, elle s'atténue avec le développement du couvert, d'abord à la base puis au milieu des couverts, jusqu'à atteindre une valeur nulle en bas de couvert pour les couverts les plus denses en fin de saison culturale. L'atténuation est d'autant plus importante que la densité de semis augmente. Un effet variétal est également observé avec des durées d'humectation

tel-00913095, version 1 - 3 Dec 2013

plus courte pour le cv. Gregor. Généralement, la durée d'humectation est plus longue à l'extérieur du couvert qu'à l'intérieur pendant ces périodes. Cette différence est due à un ralentissement de la formation de rosée modifiée par une augmentation du LAI et de la hauteur de couvert au-dessus du capteur. L'étude du LAD comme variable intégrative pour estimer la porosité a montré des corrélations plus faibles que les variables le définissant séparément (LAI et hauteur).

D'après notre adaptation du modèle de Magarey, seules les périodes pluvieuses sont favorables pour l'infection, la température de l'air en périodes sèches étant trop faible pour initialiser l'infection en présence de rosée sous les conditions environnementales rennaises. Enfin, les simulations à partir des données météorologiques hors couvert présentent un potentiel favorable à l'infection moindre par rapport aux données microclimatiques. Leur utilisation en modélisation risquerait d'entraîner une sous-estimation du potentiel infectieux.

En conclusion, deux influences de l'architecture du couvert sur la durée d'humectation sont observées. En périodes pluvieuses, de longues durées d'humectation avec une faible différence entre le bas et le milieu du couvert mais plus longues qu'à l'extérieur du couvert (liée à une plus lente évaporation au sein du couvert qu'à l'extérieur). En périodes de rosée, un gradient d'humectation avec une humectation plus longue à l'extérieur du couvert puis diminuant au sein du couvert avec un raccourcissement plus drastique pour les couverts les plus denses. Selon notre modèle, les différents scénarios architecturaux que nous avons générés n'ont pas permis d'obtenir des couverts suffisamment contrastés pour permettre une aération suffisamment importante pour assécher rapidement l'intérieur des couverts. Cependant, en comparant les deux couverts les plus contrastés, le couvert le moins dense présente généralement des durées d'humectation plus courtes en périodes pluvieuses.

Cette étude a fait l'objet d'un article accepté pour publication à European Journal of Plant Pathology, *et est présenté ci-après (Richard et al., 2012).*

tel-00913095, version 1 - 3 Dec 2013

Effect of pea canopy architecture on microclimate and consequences on ascochyta blight infection under field conditions

Benjamin Richard, François Bussière, Christophe Langrume, François Rouault, Stéphane Jumel, Robert Faivre and Bernard Tivoli

B. Richard, C. Langrume, F. Rouault, S. Jumel, B. Tivoli: INRA, UMR 1349 IGEPP, F-35653 Le Rheu, France

F. Bussière: INRA, UPR 1321 ASTRO, F-97170 Petit-Bourg, France

R. Faivre: INRA, UPR 875 BIA, F-31326 Castanet Tolosan, France

Corresponding author

B.Richard, INRA, UMR 1349 IGEPP, F-35653 Le Rheu, France

Tel: 33 0 223 48 58 19; fax: 33 0 223 48 51 50

E-mail: benjamin.richard@rennes.inra.fr

tel-00913095, version 1 - 3 Dec 2013

Abstract

In order to investigate the impact of pea canopy architecture and development on microclimate and infection by *Mycosphaerella pinodes*, two field experiments were conducted in 2009 and 2010 at Le Rheu (France) to obtain canopies contrasted in height, closure dynamic, leaf area index (LAI) and leaf area density (LAD). Three pea cultivars (Athos, Antares, Gregor) were sown at two (80 and 40 seeds/m² in 2009) and three densities (80, 40 and 30 seeds/m² in 2010) and microclimatic sensors were located inside the canopy (at the bottom and in the middle) and outside. Two main sources of wetness were identified: rainfall and dew. During rainfall periods, average daily leaf wetness duration (LWD) was about 15h, and 3 to 10h longer inside than outside the canopies. LWD was positively correlated with LAI until canopy closure during these periods. During dry periods when dew was the only source of leaf wetness, average daily LWD was short, decreasing as the canopy is developing. Shorter LWDs were observed at the base than at the mid-level of the canopies and longer LWDs were observed outside the canopy and inside the less dense canopies irrespective of the cultivar. LWD was negatively correlated with canopy height and LAI during these periods. Slow wind speeds were recorded inside the canopies (less than 0.5km/h) and no significant canopy effect was observed on air temperature. An infection model was developed and showed that only rainfall periods which induced long LWDs inside the canopy, were favourable to *M. pinodes* infection under our climatic conditions and suggested a more favourable microclimate inside the densest canopies.

Abbreviation

CHas (Canopy Height above sensor), D30 (30 seeds per square metre), D40 (40 seeds per square metre), D80 (80 seeds per square metre), DP (Dry Period), DP09-1 (First Dry Period of 2009), LAD (Leaf Area Density), LADas (LAD above sensor), LAIas (Leaf Area Index above sensor), LW (Leaf Wetness), LWD (Leaf Wetness Duration), RH (Relative Humidity), RP (Rainfall Period), RP09-1 (First Rainfall Period of 2009), Ta (Air Temperature), U (Wind Speed)

Keywords

Leaf area index, Leaf wetness duration, Magarey model, *Mycosphaerella pinodes*, Plant density

tel-00913095, version 1 - 3 Dec 2013

tel-00913095, version 1 - 3 Dec 2013

Introduction

Successful infection of a plant by an aerial fungal pathogen requires the confluence of three components: the susceptibility of the host, a minimal amount of efficient inoculum and favourable climatic conditions such as air temperature (Ta) and relative humidity (RH) or leaf wetness (LW). LW is described as free liquid water on plant leaves due to rain, irrigation, dew or guttation from the plant itself and its persistence is usually necessary to allow fungal spores to germinate and infect their hosts, but also for sporulation (Huber & Gillespie, 1992; Rotem et al., 1978). Thus, leaf wetness duration (LWD) is an important driving variable in disease forecasting or infection models (Bregaglio et al., 2011) and studying its effect is important to understand aerial fungal disease epidemics. Many works have been conducted to study relationships between disease development and driving weather variables such as Ta and RH or LWD in controlled environments (Magarey et al., 2005; Mwakutuya & Banniza, 2010; Nekoduka et al., 2010; Obanor et al., 2011). Under field conditions, several authors have studied the impact of the canopy on the microclimate (usually, air or soil temperature and LWD) during a cropping season or particular periods regardless of disease development (Dalla Marta et al., 2008; Jacobs et al., 2005; Jacobs et al., 1994; Narvaez et al., 2010; Schmitz & Grant, 2009; Sentelhas et al., 2005; Sentelhas et al., 2004; Verma et al., 2007). However, LWD is a parameter difficult to estimate because of the lack of a standard exposure protocol as well as the dependence of LWD on atmospheric conditions such as RH, wind speed, radiation and cloudiness, and their interactions with the canopy (Sentelhas et al., 2004). Besides, Sentelhas et al. (2005) showed that LWD measured at different heights is depending on canopies (apple, coffee, grape and maize) and on climatic sequence (rainfall or dew). Few studies have described the epidemic development in relation to the microclimatic variables and canopy architecture (Deshpande et al., 1995; Kora et al., 2005; McDonald et al., 2008; Narvaez et al., 2010; Schmitz & Grant, 2009; Schoeny et al., 2010). Indeed, plant and canopy architecture can sometimes be used to limit the impact of environmental conditions favourable for infection and disease development by acting on microclimatic variables such as LWD, e.g. by using different genotypes or sowing densities or by mechanical modification of the canopy such as clipping (Ando et al., 2007). The studies developed by Weiss et al. (1980) and Deshpande et al. (1995) showed that dry bean canopies architecture depending on cultivar had a direct effect on white mold epidemic (*Sclerotinia sclerotinium*) in semi-arid region. The effect of climatic sequences to predict the occurrence of disease onset was developed through several modelling approaches (Bugiani et al., 1993; Schoeny et al., 2007; Shane & Teng, 1983). To our knowledge none were based on microclimatic sequences. In addition to specific disease infection models, generic disease infection models were developed from studies under

Table 3.1 Architectural features of the three pea cultivars used in field experiments

Cultivar	Stem height	Branching ability	Lodging resistance
Athos	Low	High	Intermediate
Antares	High	Intermediate	Intermediate
Gregor	High	Intermediate	Good

tel-00913095, version 1 - 3 Dec 2013

controlled conditions and/or field data (Duthie, 1997; Magarey et al., 2005). Magarey et al. (2005) developed a generic infection model for foliar fungal pathogens validated by datasets from 53 controlled conditions studies combining different temperatures and wetness durations.

Initiation and spread of ascochyta blight on pea due to *Mycosphaerella pinodes,* is dependent on microclimatic conditions such as LWD and air temperature (Bretag et al., 2006). Roger et al. (1999b) showed that at 20°C, the required continuous LWD for pathogen penetration was about 8h whereas at 5°C, it was increased to 72h. In addition, Roger et al. (1999a) showed that under controlled conditions, a temperature of 10°C was too low to induce a significant level of disease. Conversely, a temperature of 13°C started to promote serious disease severity, and from 15°C to 23°C, disease severity was the most dramatic. However, they also showed that germinating spores before penetration were sensitive to dryness. In the field, disease spread on spring pea starts at the base of the canopy (Fernandez-Aparicio et al., 2010; Tivoli et al., 2000) and can be influenced by canopy architecture (Le May et al., 2009). The hypothesis developed by Le May et al. (2009) that canopy architecture could reduce the impact of ascochyta blight by direct or indirect effects on environmental conditions was never tested. Therefore, the objectives of this study were (i) to describe the impact of canopy architecture on LWD, Ta and wind speed inside the canopy under field conditions via a combination of cultivars and sowing densities, (ii) to compare climatic data inside and outside the canopy and (iii) to investigate which climatic sequences were favourable to ascochyta blight infection in the different canopies using an infection model adapted from the Magarey model. This last objective will provide information to know whether the observed differences between weather above the canopy and microclimate are actually relevant for the pathogen.

tel-00913095, version 1 - 3 Dec 2013

Materials and methods

Experimental design

Two field experiments were conducted in 2009 and 2010 at Le Rheu (48°06'00" N, 1°48'00'' W), western France, characterised by a maritime climate with mild and rainy weather. Three spring pea cultivars, Athos (Nickerson, France), Antares (Serasem, France) and Gregor (Serasem, France) were selected according to their architectural features (Table 3.1). Each cultivar is semi-leafless and previous results in controlled conditions have shown the same susceptibility level to ascochyta blight for all three cultivars (Data not shown).

Experiments were sown in a split-plot design with three replications on 23 February 2009 and on 9 March 2010, using two seeding densities (main plot treatment) in 2009 (80 and 40 seeds per square meter, called D80 and D40) and three in 2010 (80, 40 and 30 seeds per square meter, called D80, D40 and D30), and three cultivars (sub plot treatment). For each treatment combination, two plots (1.5 m wide x 7 m long each) were established, one to allow architectural components assessment (which is partially destructive), and one for microclimate parameters measurements. Plots were seeded with a six-row drill at 22 cm row spacing. Border plots were seeded on both sides of main plot treatments at the same seeding density than their neighbour main plot using a fourth cultivar (Kayanne, Momont, France). The plots were protected by a fungicide treatment (Banko500, active substance: chlorothalonil 500 g/l, Arysta Lifescience, www.arystalifescience.com). Four applications were necessary in 2009 (on 24 April, 20 May, 29 May and 16 June 2009) and three in 2010 (on 12 May, 28 May and 11 June 2010).

Architecture measurements

The kinetics of three elementary variables describing canopy architecture were studied: crop height, canopy closure and Leaf Area Index (LAI). Crop height and canopy closure were measured directly in the field. Canopy height was recorded every week with a pasture plate meter (HerboMETRE, ITCF, www.agro-systemes.com), three measurements per replicate. Canopy closure was estimated by image analysis of pictures recorded every week until the closure of all canopies. One square meter was marked in each plot, photographed vertically every week from the top and the picture was analysed with image analysis software (Assess, American Phytopathological Society, www.apsnet.org). In order to estimate the Leaf Area Index (LAI), defined as m² of total one-sided leaf surface per m^2 of soil, we established allometric relationships between stipule length and stipule area measured with a leaf area meter (LI-3100, LI-COR Biosciences, www.licor.com) on 30 and 15 plants for each cultivar in 2009 and 2010 respectively. The regression models obtained were used to determine leaf area at each node of five plants which were removed from plots of each treatment combination every two weeks from 16 April to 24 June in 2009, and from 18 May to 28 June in 2010. In addition, we calculated Leaf Area Density (LAD) defined by Treuhaft et al. (2002) as the LAI divided by the canopy height (m² of total one-sided leaf surface per m^3 of canopy volume).

Microclimate and weather data monitoring

tel-00913095, version 1 - 3 Dec 2013

Table 3.2 Dates of rainfall and dry periods studied in 2009 and 2010 and average daily rainfall values

	2009			2010		
Rainfall periods	RP09-1	27 April to 1 May	4.9*	RP10-1	8 May to 11 May	4.4*
	RP09-2	10 May to 16 May	6.6*	RP10-2	25 May to 2 June	2.7*
	RP09-3	25 May to 26 May	14.6*	RP10-3	5 June to 11 June	4.6*
	RP09-4	6 June to 12 June	7.5*	RP10-4	13 June to 15 June	3.9*
Dry periods	DP09-1	1 May to 10 May	0*	DP10-1	5 May to 8 May	0*
	DP09-2	19 May to 23 May	0*	DP10-2	11 May to 16 May	0*
	DP09-3	26 May to 5 June	0*	DP10-3	2 June to 5 June	0*
	DP09-4	19 June to 25 June	0*	DP10-4	19 June to 22 June	0*
				DP10-5	30 June to 4 July	0*

*Average daily rainfall in mm

tel-00913095, version 1 - 3 Dec 2013

Microclimatic data were monitored in two replicates for each treatment combination. Leaf wetness durations (LWD) were recorded at the base and at the mid-level of the canopy with dielectric leaf wetness sensors (LWS-1, Decagon Devices Inc., United States of America) fixed at a 45° angle from the horizontal. Mid-level canopy sensors were moved weekly, if necessary, in order to keep them at the mean height of the canopy. In 2009, two sensors were used at each level in each replicate, one west-oriented and the other east-oriented. No important differences between East and West orientations were observed (data not shown), thus only one sensor with an eastern orientation was used for each level in each replicate in 2010. Air temperature (Ta) was recorded with in-house designed thermocouples. In 2009, Ta sensors were placed at the base of the canopy (10 cm above ground) in two replicates of the treatment with the lowest and highest LAI, with two sensors per replicate. In 2010, Ta was measured in all treatments at the mid-level of each canopy, in two replicates per treatment, one sensor per replicate. Wind speed was recorded with ultrasonic anemometers (WindSonic, Gill Instruments, United Kingdom) in one replicate of the two canopies with most contrasting LAI 10 cm above ground in 2009, and 50 cm above ground in 2010. Data were recorded every minute (averaged every 15 minutes) with two dataloggers (CR10 and CR1000, Campbell Scientific Inc., www.campbellsci.com).

Weather data (rainfall, air temperature and wetness duration) were recorded 2 m above ground by an automatic weather station located 400 m away from the field experiment. Precipitation was also measured with a tipping bucket rain gauge above the canopy (ARG100, Campbell Scientific Inc., www.campbellsci.com). In addition, two LWD sensors and two thermocouples were placed above the canopy 1.5 m above ground in 2010.

tel-00913095, version 1 - 3 Dec 2013

Microclimate and weather data treatment

As canopy wetness may originate from rainfall or dew deposition, which can both be influenced by the canopy architecture development, we decided to study separately periods with and without rainfall. Cropping seasons were subdivided into Rainfall Periods (RP) with at least one precipitation event per day and into Dry Periods (DP) with no precipitation. Thus we identify four rainfall and four dry periods in 2009, and in 2010 four rainfall and five dry periods (Table 3.2).

Infection model

A probability infection model was developed from the generic infection model proposed by Magarey et al. (2005). The Magarey model was developed for predicting periods favourable for infection by

tel-00913095, version 1 - 3 Dec 2013

fungal foliar pathogens. A wetness duration requirement ($W(T)$) for reaching a critical disease threshold (initiation of spore penetration), at temperature T is estimated from a temperature response function $f(T)$ and the minimum value of the wetness duration requirement (W_{min}):

$$W(T) = \frac{W_{min}}{f(T)} \leq W_{max} \quad (1)$$

$W(T)$ is the wetness duration requirement (in hours) for the critical disease threshold at temperature T, W_{min} the minimum value of the wetness duration requirement for the critical disease threshold at any temperature, $f(T)$ the temperature response function and W_{max} the maximum value of the wetness duration requirement for the critical disease threshold at any temperature. The temperature function response depends of cardinal temperature parameters obtained empirically:

$$f(T) = \left(\frac{T_{max} - T}{T_{max} - T_{opt}}\right)\left(\frac{T - T_{min}}{T_{opt} - T_{min}}\right)^{(T_{opt} - T_{min})/(T_{max} - T_{opt})} \quad (2)$$

if $T_{min} \leq T \leq T_{max}$, 0 otherwise, where T is the mean temperature (°C) during wetness period, T_{min} the minimum, T_{max} the maximum, and T_{opt} the optimum temperature for infection. All parameters (cardinal temperatures and minimum and maximum values of the wetness duration requirement) for ascochyta blight were obtained from Roger et al. (1999a) and Magarey et al. (2005): T_{min} = 1.4°C, T_{opt} = 20°C, T_{max}= 35°C, W_{min}= 8h and W_{max}= 72h.

The model estimated the potential of a spore to infect the host every 15 minutes during a period τ of the monitored cropping season if there was wetness recorded (τ = 5 days).

Infection potential is calculated by:

$$Infection(t) = \sum_{i=t}^{t+\tau} \omega_i \quad (3)$$

where t = the time of arrival of the spore, i = time step (15 minutes), τ = maximal duration for the spore to infect (480 quarters of an hour), ω_i = the infectious potential at the time i.

The infectious potential ω_i is derived from the wetness duration requirement (1) and so is dependent of the wetness and the air temperature at the time i:

$$\omega_i = \frac{1}{4W(T_i)} \quad (4)$$

At the end of the period τ, if $Infection(t) \geq 1$, the microclimatic conditions are favourable for a spore which arrived at the time t to infect the stipule.

When there is no wetness at time i, three options are possible as we don't have any information on the process. The first one is to stop the development of the spore and state that there is no infection. The second option assumes that spore development is not sensitive to dry period: accumulation of

tel-00913095, version 1 - 3 Dec 2013

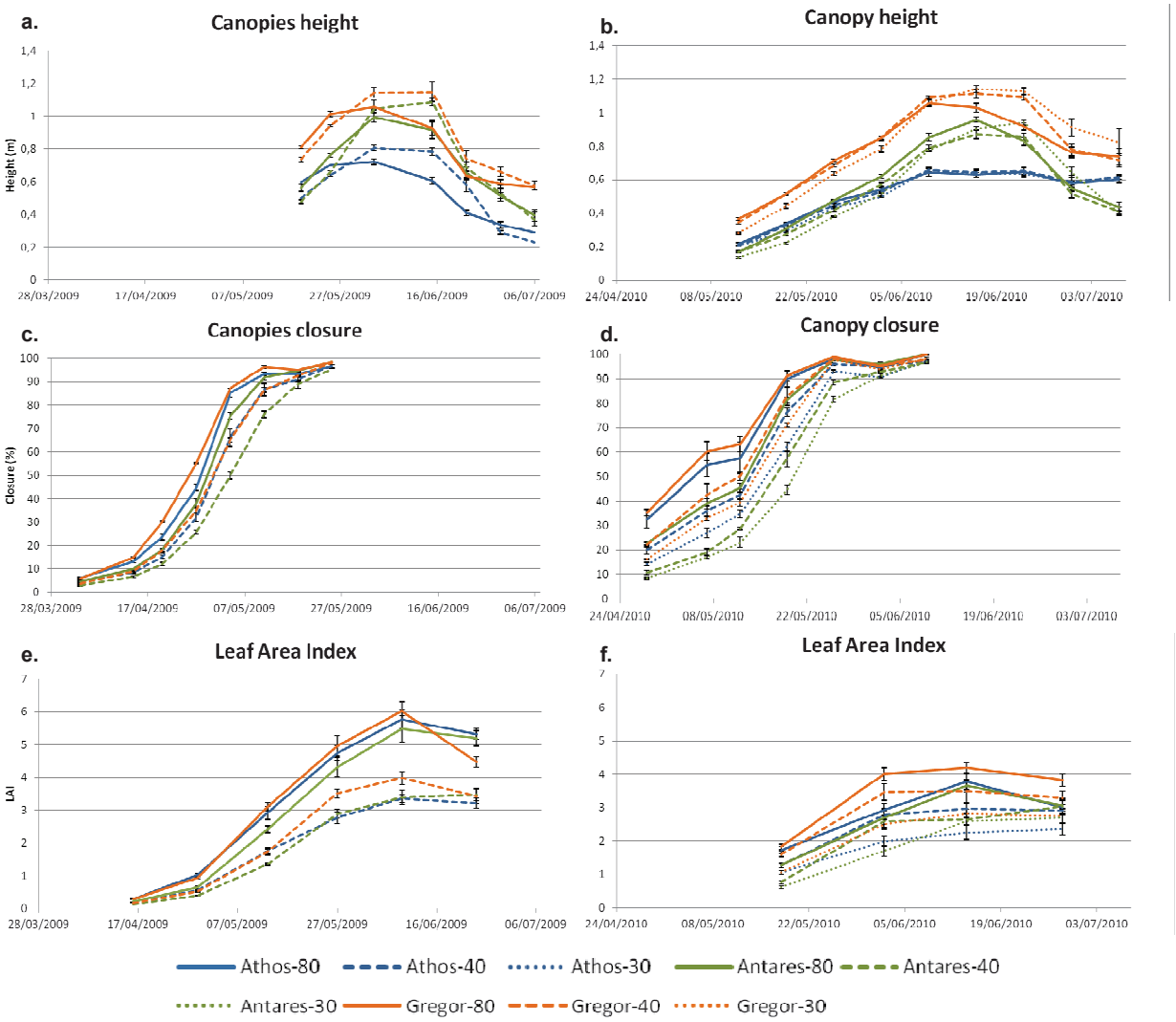


Fig. 3.1 Evolution of canopy height (a.-b.), canopy closure (c.-d.) and Leaf Area Index (e.-f.) in 2009 and 2010 respectively of three pea cultivars (Athos, Antares, Gregor), sown at 80, 40 and 30 seeds per square meter

infectious potential ω_i will continue as soon as wetness occurs. We propose a median alternative: the sum of the previous infectious potential is divided by a factor τ_c defined as the maximal survival duration of a germinating spore without wetness (18 h), leading to the linear decrease of the accumulated potential. The infectious potential ω_i will increase again as soon as wetness occurs.

Statistical analyses

Statistical analyses were performed using R software version 2.14.1 (R Development Core Team, 2011) and XLSTAT (version 2011.5.01, Addinsoft, 1995-2011).
Normal distribution of data was assessed with the Kolmogorov-Smirnov test. Analyses of variance (ANOVAs) were performed to test the effects of cultivar and sowing density on canopy closure, canopy height, leaf area index and leaf area density for each year and date separately. Normal distribution of the residuals was assessed with the Shapiro-Wilk test. Means of these parameters were compared with Tukey's honest significance test of difference (HSD, $p<0.05$). Chi-squared tests were performed for each wetness period in order to study position inside the canopy, cultivar and density effects. Chi-squared tests were also performed on the number of potential infection moments during the cropping season. Relationships between canopy architectural features above sensors (LAI, LAD, canopy height), and between each of these parameters and LWD during each studied wet period were tested by Pearson correlation analysis for each period separately.
All tests were performed with a significance level of 0.05 ($p < 0.05$).

Results

Canopy descriptions

For the two years, cultivar and plant density provided a wide range canopy growth dynamics, during the cropping seasons visible as canopy height, canopy closure and LAI (Fig. 3.1).

Canopy height Irrespective of cultivar and seeding density, the canopy height dynamics measured in the field followed three phases: i) an increase until the beginning of June, ii) a period of one or two weeks (in 2009 and 2010, respectively) without changes (plateau) and iii) a decrease due to canopy lodging. Lodging was observed except for cv. Athos in 2010. During the cropping season, cv. Gregor was significantly taller than cvs. Athos and Antares, irrespective of plant density (Tukey's HSD,

tel-00913095, version 1 - 3 Dec 2013

Table 3.3 Leaf Area Index (LAI) and Density (LAD) of three pea cultivars (Athos, Antares, Gregor) sown at 80 and 40 seeds per square meter in 2009 (mean ±standard error)

	27/05/2009		09/06/2009	
	LAI*	LAD*	LAI*	LAD*
Athos-80	4.75 *±0.23*a	6.78 *±0.33* a	5.77 *±0.28* a	8.04 *±0.46* a
Antares-80	4.32 *±0.29* ab	5.67 *±0.40* ab	5.48 *±0.39* a	5.55 *±0.41* b
Gregor-80	4.97 *±0.31* a	4.88 *±0.28* bc	6.03 *±0.28* a	5.75 *±0.32* b
Athos-40	2.77 *±0.18* c	4.33 *±0.28* c	3.35 *±0.11* b	4.15 *±0.14* c
Antares-40	2.89 *±0.14* c	4.40 *±0.22* bc	3.39 *±0.22* b	3.24 *±0.21* c
Gregor-40	3.51 *±0.14* bc	3.73 *±0.14* c	3.98 *±0.19* b	3.50 *±0.20* c

*Means in the same column followed by the same lower case letter are not significantly different according to the Tukey HSD test ($p<0.05$)

tel-00913095, version 1 - 3 Dec 2013

p<0.05). Until mid-May, cv. Antares was as tall as (2009) or significantly shorter (2010) than cv. Athos. From the end of May, the height of cv. Antares was significantly greater than that of cv. Athos.

Canopy closure For both years, an effect of the plant density was observed on canopy closure: denser canopies were closed significantly sooner, irrespective of cultivar (Tukey's HSD, p<0.05). For example, on 7 May 2009, the canopy closure of cv. Athos was 85% at D80 density whereas it was 66% at D40 density. During this period, a cultivar influence was also observed with a significantly slower canopy closure for cv. Antares for both densities. In 2010, no significant differences were observed between canopy closure in D40 and D30 plots irrespective of cultivar. Significantly slower canopy closure for cv. Antares than for cv. Gregor was recorded at both densities, and for cv. Athos at D40 and D30 densities. During canopy lodging, the effect of plant density was also observed for cv. Gregor with a more important lodging in the D80 canopy than in the D40 and D30 canopies.

Leaf Area Index For both years, we obtained a very high R^2-value (between 0.95 and 0.99) for the regression models between stipule length and stipule area for each cultivar.
In 2009, a significant plant density effect was observed for all cultivars along the cropping season with a greater Leaf Area Index (LAI) in the D80 than in the D40 canopies (Tukey's HSD, p<0.05). Less LAI differences were observed between cultivars except for cv. Gregor at D40 which showed usually significant higher LAI than those of cvs. Athos and Antares (Table 3.3). In 2010, LAI were smaller than in 2009, but with a significant plant density effect as well: LAI from high density canopies were significantly greater than those from low density.
From the LAI and canopy closure dynamics observed, it is possible to identify the two most contrasting canopies: Gregor-80 (most dense) and Antares-40 (least dense) in 2009 and Gregor-80 and Antares-30 in 2010.

Leaf Area Density In 2009, plant density affected significantly LAD, like LAI with greater LAD at D80 than at D40 for each cultivar all over the cropping season (Table 3.3). Also, cv. Athos which had the smallest height, showed a significantly greater LAD than cv. Gregor for both densities (Tukey's HSD, p<0.05). In 2010 (data not shown), the density effect was more important. For cv. Athos, D80 canopies were characterized by significantly greater LAD than the D30 canopies. Cultivar Athos showed the greatest LAD among cultivars for both densities except at the end of the cropping season. However differences among cultivars were not as significant as in 2009.

Effect of canopy on wind speed (U) and air temperature (Ta)

tel-00913095, version 1 - 3 Dec 2013

tel-00913095, version 1 - 3 Dec 2013

Table 4 Average daily leaf wetness durations (in hours) for two dry periods (before and after canopy closure) in 2009 and 2010 in three pea cultivar canopies (Athos, Antares, Gregor) sown at three densities (30, 40 or 80 seeds per square meter), measured inside (at the bottom or middle), or outside the canopy

		Before canopy closure*						After canopy closure**					
		30		40		80		30		40		80	
		Bottom	Middle	Bottom	Middle	Bottom	Middle	Bottom	Middle	Bottom	Middle	Bottom	Middle
2009	Athos	-	-	5.4	8.8	3.4	9.3	-	-	0.3	3.3	0.0	1.9
	Antares	-	-	4.0	8.3	3.9	9.0	-	-	0.1	2.4	0.1	1.7
	Gregor	-	-	3.7	4.9	1.6	4.7	-	-	0.1	0.4	0.1	0.2
	Inside mean***	-	-	4.3 *±0.4*	7.3 *±1.0*	3.0 *±0.6*	7.7 *±1.2*	-	-	0.2 *±0.1*	2.0 *±0.7*	0.1 *±0.0*	1.3 *±0.4*
	Outside	2.5						3.1					
2010	Athos	7.4	7.4	7.2	8.0	8.5	8.0	0.0	6.7	0.0	3.9	0.0	1.7
	Antares	8.2	7.8	7.3	7.2	8.0	7.6	0.0	7.1	0.0	1.4	0.0	0.0
	Gregor	5.5	7.3	4.9	7.9	5.3	8.4	0.0	2.6	0.0	1.9	0.0	0.9
	Inside mean***	7.0 *±0.7*	7.5 *±0.1*	6.5 *±0.6*	7.7 *±0.2*	7.3 *±0.8*	8.0 *±0.2*	0.0 *±0.0*	5.5 *±1.2*	0.0 *±0.0*	2.4 *±0.7*	0.0 *±0.0*	0.9 *±0.4*
	Outside	7.0 *±0.2*						7.0 *±0.3*					

* Before canopy closure: 2009 (DP09-1), 2010 (DP10-2)

** After canopy closure: 2009 (DP09-3), 2010 (DP10-4)

*** Number in italic: standard error

No differences of canopy effect on U and Ta were observed between canopies (data not shown).
The effect of canopy on U was similar during the two years: at the beginning of the cropping season, when sensors were still above the canopies, U was ranged between 0.5 and 4.5m s^{-1}, similar for both canopies and less than at 2 m height. The difference in U between inside and outside the canopies increased with canopy development. For both years, U inside the canopy became very low as soon as the top of the canopy developed above the sensor.
In 2009, the average Ta between May and July ranged from 12.2 to 19.3°C, and from 10.6 to 19.3°C in 2010. Differences of Ta between above and within canopies were usually very small but Ta was usually slightly cooler of less than 0.5°C inside the canopies. Overall, there were no Ta differences inside the canopies irrespective of cultivar or plant density. Differences among treatments were usually very low (less than 1°C), with median values close to 0°C.

LWD at the base, middle and above the canopy

LWDs were analysed during the dry (DP) and rainfall (RP) periods defined before (Table 3.2). The LWD standard errors calculated from 3 or 4 data for each treatment were generally less than one hour per day (data not shown). For simplification, each year, only one period before canopy closure and one after are presented to illustrate the different LWD patterns.

LWD during dry periods (DPs) The two DPs chosen for each year were, before canopy closure from 1 May 2009 to 9 May 2009 (DP09-1) and from 11 May 2010 to 16 May (DP10-2), and after canopy closure from 26 May to 5 June 2009 (DP09-3) and from 19 June to 22 June 2010 (DP10-4).
In both years, LWD inside the canopies progressively decreased during the cropping season, as the canopies grew (data not shown). These differences appeared first at the base of the canopies during the cropping season. After canopy closure (Table 3.4), LWD which was near zero at the base of the canopy, was significantly lower than at the mid-level (Chi-squared test, $p<0.05$). For both years, significant differences appeared in full canopies with shorter LWD at the base than at mid-level, with an average LWD of around 3h, ranging from 0h to 9.3h depending on the cultivar and stage (data not shown). Before canopy closure (Table 3.4), significantly greater LWDs were recorded in 2009 inside the canopies except at the base of Gregor-80 (average daily LWD ranging from 3.4 to 9.3h) than outside the canopies (average daily LWD of 2.5h). During each year, after canopy closure, LWDs were significantly shorter inside than outside the canopies, except at mid-level for Athos-40 and Antares-40 both years and Athos-30 and Antares-30 in 2010. A significant plant density effect was generally

tel-00913095, version 1 - 3 Dec 2013

tel-00913095, version 1 - 3 Dec 2013

Table 3.5 Average daily leaf wetness durations (in hours) for two rainfall periods (before and after canopy closure) in 2009 and 2010 in three pea cultivar canopies (Athos, Antares, Gregor) sown at three densities (30, 40 or 80 seeds per square meter), measured inside (at the bottom or middle), or outside the canopy

		Before canopy closure*						After canopy closure**					
		30		40		80		30		40		80	
		Bottom	Middle	Bottom	Middle	Bottom	Middle	Bottom	Middle	Bottom	Middle	Bottom	Middle
2009	Athos	-	-	16.0	15.9	19.8	17.1	-	-	11.1	14.5	15.2	10.6
	Antares	-	-	15.6	15.3	17.5	16.0	-	-	13.0	11.7	11.2	11.9
	Gregor	-	-	14.6	14.2	19.5	16.6	-	-	10.2	10.3	13.7	13.8
	Inside mean***	-	-	15.4 *±0.3*	15.1 *±0.4*	18.9 *±0.6*	16.6 *±0.3*	-	-	11.4 *±0.7*	12.2 *±1.0*	13.3 *±1.0*	12.1 *±0.8*
	Outside	9.6						7.3					
2010	Athos	15.7	12.4	15.4	14.0	15.8	15.0	15.2	15.6	15.6	15.6	15.1	15.2
	Antares	14.8	12.5	14.9	13.1	15.9	14.4	12.5	15.3	15.5	14.6	18.5	18.6
	Gregor	15.7	14.7	16.1	16.0	16.5	15.8	13.7	13.8	12.1	14.0	14.6	14.7
	Inside mean***	15.4 *±0.2*	13.2 *±0.6*	15.5 *±0.3*	14.4 *±0.7*	16.1 *±0.2*	15.1 *±0.4*	13.8 *±0.6*	14.9 *±0.5*	14.4 *±0.9*	14.7 *±0.4*	16.1 *±1.0*	16.1 *±1.0*
	Outside	13.4 *±0.8*						10.9 *±0.5*					

* Before canopy closure: 2009 (RP09-2), 2010 (RP10-1)

** After canopy closure: 2009 (RP09-4), 2010(RP10-3)

*** Number in italic: standard error

observed for the three cultivars after canopy closure, the higher the density, the shorter the LWD (D80 < D40 < D30) at the mid-level. During these periods, a cultivar effect was observed depending of plant density with shorter LWD in the cv. Gregor canopy than in the cvs. Athos and Antares ones, whatever the position of the sensor.

LWD during rainfall periods (RPs) The Two RPs chosen for each year were: before canopy closure from 10 to 16 May 2009 (RP09-2, with an average daily rainfall of 6.6mm) and from 8 to 16 May 2010 (RP10-1, with an average daily rainfall of 4.4mm), and after canopy closure from 6 to 12 June 2009 (RP09-4, with an average daily rainfall of 7.5mm) and from 2 to 5 June 2010 (RP10-3, with an average daily rainfall of 4.6mm).

For both years (Table 3.5), no significant LWD differences were observed inside the canopy whatever the cultivar, the position of the sensor into the canopy or the plant density with an average daily LWD around 13.5h ranging from 10.6h to 21.0h according to the period (data not shown, Chi-squared test, $p<0.05$). LWDs observed inside the canopies were significantly longer than outside (Table 3.5). This is particularly true in 2009 where daily LWDs before the canopy closure ranged from 14.1h to 19.7h inside the canopies while it was 9.5h outside. LWDs generally decreased after the closure of the canopy and there was usually no differences between the position of the sensor (bottom and mid-level) and between densities whatever the cultivar.

In conclusion, comparing to outside LWD, canopy development triggering an increase in LAI, reduced LWD inside canopies during DPs and enhanced it during RPs. Moreover, differences between LWDs were enhanced by the combination of cultivar and plant density. For both years, during DPs, LWDs were significantly shorter in Gregor-80 (densest canopy) at both levels than in the less dense canopy (Antares-40 and Antares-30 in 2009 and 2010 respectively). During RPs, LWDs were significantly longer in Gregor-80 at the bottom, at the middle or at both levels of the canopy according the period.

Relationship between canopy features and LWD

Correlations between architectural features Three architectural features were studied: Leaf Area Index above the sensor (LAIas), canopy height above the sensor (CHas) and Leaf Area Density above the sensor (LADas). LAIas and CHas were positively correlated during RPs and DPs (Tables 3.6 & 3.7, Pearson's correlation, $p<0.05$). Correlations between LAIas and LADas are mostly positive, significant

tel-00913095, version 1 - 3 Dec 2013

Table 3.6 Pearson's correlations between canopy architectural features: Leaf Area Index (LAIas), canopy height (CHas) and Leaf Area Density (LADas) above leaf wetness sensor, and between each of these features and leaf wetness duration (LWD) during dry periods (DP) in 2009 and 2010

	LAIas-CHas	LAIas-LADas	CHas-LADas	LAIas-LWD	CHas-LWD	LADas-LWD
DP09-1	0.66*	0.82***	0.20ns	-0.85***	-0.84***	-0.57
DP09-2	0.87***	0.85***	0.50ns	-0.82**	-0.85***	-0.60*
DP09-3	0.86***	0.31ns	-0.19ns	-0.74**	-0.76**	-0.02ns
DP09-4	0.42ns	-0.11ns	-0.67*	-0.36ns	-0.70*	0.28ns
DP10-1	-	-	-	0.26ns	-	-
DP10-2	0.90***	-0.15ns	-0.39ns	-0.41ns	-0.61**	0.14ns
DP10-3	0.92***	0.77***	0.47*	-0.84***	-0.84***	-0.59**
DP10-4	0.85***	0.74***	0.30ns	-0.65**	-0.57*	-0.56*
DP10-5	0.83***	-0.11ns	-0.51*	-0.72***	-0.56*	-0.04ns

* 0.05>=p>0.01 ; ** 0.01>=p>0.001 ; *** 0.001>=p ; ns=non significant

Table 3.7 Pearson's correlations between canopy architectural features: Leaf Area Index (LAIas), canopy height (CHas) and Leaf Area Density (LADas) above leaf wetness sensor, and between each of these features and leaf wetness duration (LWD) during rainfall periods (RP) in 2009 and 2010

	LAIas-CHas	LAIas-LADas	CHas-LADas	LAIas-LWD	CHas-LWD	LADas-LWD
RP09-1	-	-	-	0.77**	-	-
RP09-2	0.70*	0.21ns	-0.49ns	0.87***	0.45ns	0.29ns
RP09-3	0.86**	0.31ns	-0.19ns	0.60*	0.27ns	0.58*
RP09-4	0.61*	0.51ns	-0.32ns	0.29ns	-0.10ns	0.33ns
RP10-1	0.90***	-0.15ns	-0.37ns	0.87***	0.83***	-0.13ns
RP10-2	0.86***	0.48*	-0.02ns	-0.17ns	-0.41ns	0.35ns
RP10-3	0.88***	0.86***	0.54*	-0.17ns	-0.35ns	0.00ns
RP10-4	0.84***	0.71***	0.25ns	0.08ns	-0.17ns	0.40ns

* 0.05>=p>0.01 ; ** 0.01>=p>0.001 ; *** 0.001>=p ; ns=non significant

tel-00913095, version 1 - 3 Dec 2013

at the two first dry periods in 2009 and in June 2010 whatever the period. Correlations between CHas and LADas were usually not significant for both RPs and DPs.

Influence of canopy architecture on LWD, via LAIas, CHas and LADas In 2009, LWD was positively correlated with LAIas during the RPs and negatively during the DPs (Pearson's correlation, $p<0.05$). The correlations were significant except for the last period for both wet period with a decreasing of the correlation with time). In 2010, similar significant correlations were obtained only for RP10-1 and from DP10-3, DP10-4 and DP10-5. LWD was significantly negatively correlated with CHas only during the DPs both years. During RPs and DPs, LADas did not usually show significant correlations with LWD. Accordingly, during RPs, LWD tended to be enhanced at the base of the canopies and in dense canopies which had greater LAI at the beginning of the cropping season. Conversely, during dry periods, LWD was negatively correlated to LAIas and in a lesser manner to CHas.

Influence of leaf wetness duration and air temperature on the infectious potential of *M. pinodes*

Interactions between air temperature and leaf wetness duration As LWD alone is not sufficient to explain the ability for a pathogen to infect its host, it is important to consider the interaction between LWD and Ta. In our experiments, LWD during dry periods (dew deposit) occurred at Ta lower than 10°C. For example, during the DP10-2, when considering only Ta above 10°C, daily LWD became shorter than 0.5 h whereas total daily LWD ranged between 5.5h and 8.2h (data not shown). During rainfall periods, most of daily LWD occurred while Ta was above 10°C. For example, total daily LWD during the RP 10-3, was reduced of less than 1h when we consider only Ta above 10°C (data not shown). When we chose to keep data for Ta above 13 or 15°C, total daily LWD inside the canopies reductions were less than 1 or 5h, respectively. However, above 15°C LWD remained longer than 7.5h.

Infection simulation The prediction model showed similar results for both years. According to our simulations, potential infection occurred after rainfall and mainly during the RPs previously described as illustrated by Figure 3.2 for Athos-80 in 2009. During DPs, the combination of Ta and LWD were thus insufficient to allow infection to take place. There was significantly less favourable potential infection periods when data from outside the canopy (weather data) were used rather than data from inside (microclimatic data, Chi-squared test, $p<0.05$). In 2009 (data not shown), when calculated from weather data, only 94h were declared favourable to infection whereas it ranged up to 125h (at the mid level of Antares-40) to 265h (at the base level of Gregor-80) when calculated from inside

tel-00913095, version 1 - 3 Dec 2013

tel-00913095, version 1 - 3 Dec 2013

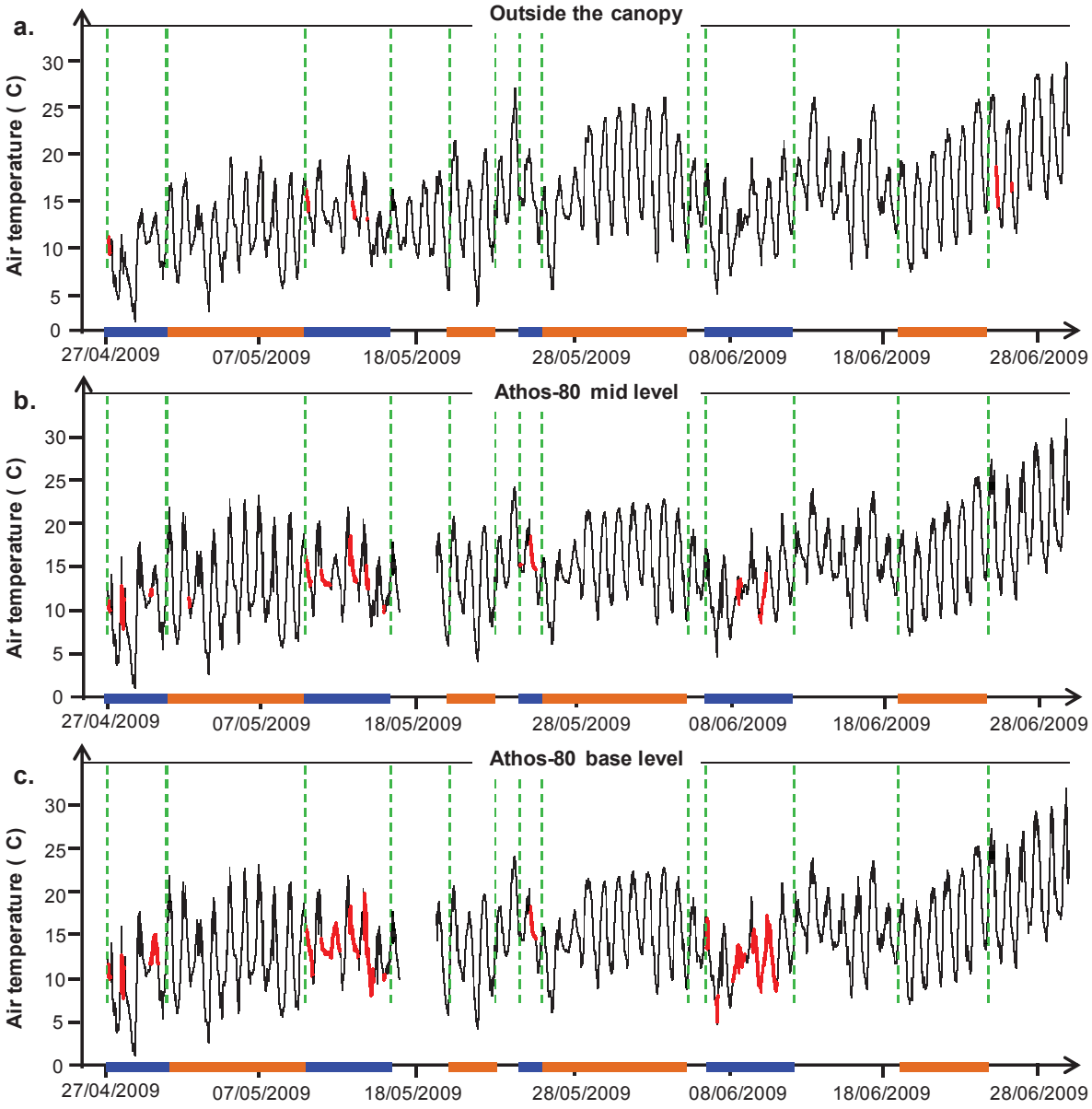


Fig. 3.2 Potential infectious opportunities (in red) represented on the air temperature curve (black) according the presence of free water on sensors outside (a.) and inside the canopy of cultivar Athos sown at 80 seeds per square meter (Athos-80) at the middle (b.) and bottom (c.) of the canopy in 2009. Each red dot represents the arrival date of a successful spore for infection according to our model. Dotted green lines represent the margins of the studied climatic periods with the blue rectangles on the x-axis representing rainfall periods and the orange ones dry periods

data. In 2010 (data not shown), 29h were estimated favourable from weather data, against 75h (at the mid level of Gregor-30) to 213h (at the base level of Antares-80) from data from inside. Among data from inside the canopy, for both years, there were more potential hours at the bottom than at the middle. A significant density effect was generally observed in 2009 and 2010 with more potential infection opportunities in the D80 canopies than in the lower densities. No consistent differences between cultivars were observed in both years. Finally, different periods conducive to infection were observed depending on the year: in 2009 the model suggested that infection can occur between 8h and 21h after a spore arrival whereas in 2010 it was between 8h and 16h (data not shown).

Comparison of the model prediction and the disease onset observed in 2009 and 2010 In 2009, the first symptoms (flecks on stipules) were observed in non-treated adjacent plots after RP09-3. According to our model with weather data from outside the canopy, no potential infection opportunity was predicted during this period and the previous favourable period for infection occurred during period RP09-2, i.e. a latent/incubation period of about two weeks, which is quite long for the pathogen. On the contrary, the model predicted potential infection during this period when microclimatic data were used. In 2010, the first flecks appeared at the base of the canopies during RP10-2. According to our model, the disease initiation could occur during this period, when using either data from outside or from inside the canopy (data not shown). However, few potential infection opportunities were obtained from outside data compared to microclimatic ones.

Discussion

This study highlighted the necessity to consider not only standard weather data but the microclimate inside the canopy for ascochyta blight development on pea. In addition, significant variations in LWD were observed inside and outside the canopy, in contrast to air temperature which was relatively homogenous. Wind speed inside the canopy was significantly reduced. LAI and height influenced LWD but surprisingly, the parameter LAD, which could be considered as the most integrative, was not often correlated to LWD. Further analyses should be conducted to better define and estimate the concept of canopy porosity. The novel aspect of our study was to investigate the effect of plant canopy architecture on microclimate, to compare it to weather parameters (mainly LWD) outside the canopy and to develop a simple infection model to study the impact of these differences on ascochyta blight infection during a whole cropping season.

tel-00913095, version 1 - 3 Dec 2013

Canopy architecture and LWD Some authors studied LWD on a daily scale in fields, mainly during dew events, in order to evaluate this variable (Dalla Marta et al., 2008; Jacobs et al., 1994; Lau et al., 2000; Sentelhas et al., 2004), to validate LWD models (Jacobs et al., 2005; Wilson et al., 1999) or to use infection models (Bregaglio et al., 2011). In these studies, authors suggested that the use of only one sensor outside the canopy was sufficient because few differences were observed between wetness outside and in the top layer of the canopy. However, in our study, we clearly showed that significant differences were recorded between outside and inside canopy. During RPs, an estimation of the LWD based solely on outside values underestimated within-canopy LWD whereas during DPs, these values overestimated within-canopy LWD. Sentelhas et al. (2005) also observed agreement in measurements between the top layer of a turfgrass canopy and an outside sensor, but noted significant differences in LWD between the top and the bottom layer of certain canopies, as was shown here. They propose using at least two sensor heights inside the canopy as previously suggested by Huber and Gillespie (1992).

The sensor position effect observed during DPs is easily explained by the dew formation process. In our climatic conditions, dew is mainly due to dewfall, i.e. from water coming from the air above the canopy (Huber & Gillespie, 1992). Dew appears first at the top of the canopy due to a more rapid cooling of the top leaves, then develops in the middle, and at last in the bottom layers of the canopy if the cooling of leaves in that layer is sufficient to provide water condensation. For middle and bottom layers, leaves above provide a sheltering effect which slows down nocturnal radiation losses and thus delays dew formation (Huber & Gillespie, 1992). Our results showed that in the denser canopies, no LW was recorded at the bottom of the canopies when the above layers were sufficiently developed to insulate leaves from cooling. The few cases of LW which could be observed during DPs at the bottom of the canopy could be due to water dripping down from the above layers (Jacobs et al., 1994; Wilson et al., 1999).

The cultivar effect observed in our study with shorter LWD in canopies of cv. Gregor could then also be explained by less favourable canopy architecture of the above layers to promote dew formation. Dew formation is greatly influenced by canopy architecture and LWD is negatively correlated with LAI and canopy height above sensors during dry periods. However, LAD did not seem to impact LWD during our dry periods, which is surprising. A measurement of the canopy structure capturing porosity or permeability in addition to height and LAI appears to be necessary.

During rainfall periods, some water was intercepted by the top layer of leaves whereas the rest reached subsequent layers or the soil. As observed by several authors (Schmitz & Grant, 2009; Sentelhas et al., 2005), wetness during rain events usually reaches all the layers of the canopy at the same time as opposed to dew. For some of the periods studied here, observed differences between

tel-00913095, version 1 - 3 Dec 2013

LWD values at the bottom of canopies in plots with different seeding densities could be explained by a slower dry-off at the base of the canopy. In dense canopies, dry-off is usually slower at the bottom of the canopies than in open canopies, where turbulent mixing of air is enhanced. In our experiments, wind speed was greatly influenced by the canopy development and turbulences were reduced inside all the canopies. Even with a low seeding density, e.g. 30 seeds per square meters, pea canopies closed and became compact.

The lack of differences in Ta between canopies, and between inside and outside the canopy is surprising. Schoeny et al. (2010) also observed differences of less than 0.5°C when Ta was less than 14°C but the temperature was up 2.2°C lower inside the canopy when Ta were above 14°C . In other pathosystems, such as dry bean and white mold, Blad et al. (1978) observed 3 to 4°C cooler Ta inside the canopy than outside under normal irrigation by furrow, and 7 to 8°C under high irrigation by furrow. A measure of plant organ temperature might have shown differences between canopies due to a shading effect that is more important in the dense canopies during canopy development (Chelle, 2005).

Canopy architecture and microclimate influence on disease onset The microclimatic conditions described above have a direct effect on the possibility for a pathogen to infect its host. In our study, longer LWDs were observed during RPs than during DPs with few differences between sowing densities. Our simulation model predicted, however, significantly more potential infection opportunities with microclimate data observed inside plots with highest seeding density, which suggested a more favourable microclimate inside the dense canopies. Several authors had modified microclimate by decreasing seeding density or pruning within canopies with a positive impact on decreasing disease severity, e.g. for the pathosystems carrot/Sclerotinia rot (*Sclerotinia sclerotinium*) (Kora et al., 2005), dry edible bean/white mold (Deshpande et al., 1995) or sunflower/phomopsis stem canker (*Diaporthe helianthi*) (Debaeke & Moinard, 2010). Under field conditions, Schoeny et al. (2010) observed a decrease of ascochyta blight severity in a pea-cereal intercrop compared with a pea monocrop due to less favourable microclimatic conditions in the intercrop, in particular shorter LWD. Moreover, on soybean, Schmitz & Grant (2009) observed that initial infection of *Phakopsora pachyrhizi*, which starts in the lower canopy, can occur only during rain events, wetness duration being too short during dew events. This observation is similar to our simulations. Although daily LWD was shown to be an important indicator for favourable infection periods, indicating whether the requirement of pathogens for free water to infect their hosts is satisfied, Ta must also be taken into account as it determines the speed of the infection process. Under our climate conditions, Ta was too low during dew periods (lower than 10°C) to provide infection. However, in other regions, dew

tel-00913095, version 1 - 3 Dec 2013

could occur at higher temperatures and become more important in the infection process. This could mean that less dense canopies could lose their impact on the unfavourable microclimate for disease development. According to our model, a more favourable microclimate develops in the base layer of dense canopies. Thus, more receptive organs and favourable microclimatic conditions could be part of the explanation for disease onset at the base of the pea canopies, its vertical progress to the top and the impact of architecture on this gradient (Fernandez-Aparicio et al., 2010; Le May et al., 2009; Richard et al., 2012).

Further investigations are thus needed to investigate the aspect of host receptivity and microclimate conditions, and others mechanisms such as spore concentrations in the different layers of the canopy, on ascochyta blight development on pea in the field. Such information could then be used to predict unfavourable canopy architecture for disease onset and/or development and be part of an integrated pest management with lower pesticide input.

Acknowledgements We thank Dr. Sabine Banniza for reviewing this manuscript and for her constructive suggestions. We also thank Dr. Marc Saudreau, Dr. Sébastien Saint-Jean and Mr. Dominique Flura for their valuable suggestions. This work was granted by Agence Nationale de la Recherche (ANR): project ARCHIDEMIO grant ANR-08-STRA-04, UNIP (Union Nationale Interprofessionnelle des Plantes riches en Protéines, Paris), INRA (Institut Nationnal de la Recherche Agronomique) and the Brittany Region.

tel-00913095, version 1 - 3 Dec 2013

tel-00913095, version 1 - 3 Dec 2013

References

Ando, K., Grumet, R., Terpstra, K., & Kelly, J. D. (2007). Manipulation of plant architecture to enhance crop disease control. *CAB Reviews: Perspectives in Agriculture, Veterinary Science, Nutrition and Natural Resources, 2*, 8 pp.

Blad, B. L., Steadman, J. R., & Weiss, A. (1978). Canopy structure and irrigation influence white mold disease and microclimate of dry edible beans. *Phytopathology, 68*, 1431-1437.

Bregaglio, S., Donatelli, M., Confalonieri, R., Acutis, M., & Orlandini, S. (2011). Multi metric evaluation of leaf wetness models for large-area application of plant disease models. *Agricultural and Forest Meteorology, 151*, 1163-1172.

Bretag, T. W., Keane, P. J., & Price, T. V. (2006). The epidemiology and control of ascochyta blight in field peas: a review. *Australian Journal of Agricultural Research, 57*, 883-902.

Bugiani, R., Cavanni, P., & Ponti, I. (1993). An advisory service for the occurrence of *Phytophthora infestans* on tomato in Emilia-Romagna region. *EPPO Bulletin, 23*, 607-613.

Chelle, M. (2005). Phylloclimate or the climate perceived by individual plant organs: What is it? How to model it? What for? *New Phytologist, 166*, 781-790.

Dalla Marta, A., Martinelli, L., & Orlandini, S. (2008). Leaf wetness spatial variability within grapevine canopy. *American Journal of Enology and Viticulture, 59*, 78-82.

Debaeke, P., & Moinard, J. (2010). Effect of crop management on epidemics of phomopsis stem canker (*Diaporthe helianthi*) for susceptible and tolerant sunflower cultivars. *Field Crops Research, 115*, 50-60.

Deshpande, R. Y., Hubbard, K. G., Coyne, D. P., Steadman, J. R., & Parkhurst, A. M. (1995). Estimating leaf wetness in dry bean canopies as a prerequisite to evaluating white mold disease. *Agronomy Journal, 87*, 613-619.

Duthie, J. A. (1997). Models of the response of foliar parasites to the combined effects of temperature and duration of wetness. *Phytopathology, 87*, 1088-1095.

Fernandez-Aparicio, M., Amri, M., Kharrat, M., & Rubiales, D. (2010). Intercropping reduces *Mycosphaerella pinodes* severity and delays upward progress on the pea plant. *Crop Protection, 29*, 744-750.

Huber, L., & Gillespie, T. J. (1992). Modeling leaf wetness in relation to plant-disease epidemiology. *Annual Review of Phytopathology, 30*, 553-577.

Jacobs, A. F. G., Heusinkveld, B. G., & Klok, E. J. (2005). Leaf wetness within a lily canopy. *Meteorological Applications, 12*, 193-198.

Jacobs, A. F. G., Vanpul, A., & Elkilani, R. M. M. (1994). Dew formation and the drying process within a maize canopy. *Boundary-Layer Meteorology, 69*, 367-378.

Kora, C., McDonald, M. R., & Boland, G. J. (2005). Lateral clipping of canopy influences the microclimate and development of apothecia of *Sclerotinia sclerotiorum* in carrots. *Plant Disease, 89*, 549-557.

Lau, Y. F., Gleason, M. L., Zriba, N., Taylor, S. E., & Hinz, P. N. (2000). Effects of coating, deployment angle, and compass orientation on performance of electronic wetness sensors during dew periods. *Plant Disease, 84*, 192-197.

Le May, C., Ney, B., Lemarchand, E., Schoeny, A., & Tivoli, B. (2009). Effect of pea plant architecture on spatiotemporal epidemic development of ascochyta blight (*Mycosphaerella pinodes*) in the field. *Plant Pathology, 58*, 332-343.

Magarey, R. D., Sutton, T. B., & Thayer, C. L. (2005). A simple generic infection model for foliar fungal plant pathogens. *Phytopathology, 95*, 92-100.

McDonald, M. R., Kooi, K. D. V., & Westerveld, S. M. (2008). Effect of foliar trimming and fungicides on apothecial number of *Sclerotinia sclerotiorum*, leaf blight severity, yield, and canopy microclimate in carrot. *Plant Disease, 92*, 132-136.

Mwakutuya, E., & Banniza, S. (2010). Influence of temperature and wetness periods on the development of stemphylium blight on lentil. *Plant Disease, 94*, 1219-1224.

Narvaez, D. F., Jurick, W. M., Marois, J. J., & Wright, D. L. (2010). Effects of surface wetness periods on development of soybean rust under field conditions. *Plant Disease, 94*, 258-264.

Nekoduka, S., Tanaka, K., & Sano, T. (2010). Pathogenicity of *Mycochaetophora gentianae*, causal fungus of gentian brown leaf spot, as affected by host species, inoculum density, temperature, leaf wetness duration, and leaf position. *Journal of General Plant Pathology, 76*, 370-376.

Obanor, F. O., Walter, M., Jones, E. E., & Jaspers, M. V. (2011). Effects of temperature, inoculum concentration, leaf age, and continuous and interrupted wetness on infection of olive plants by *Spilocaea oleagina*. *Plant Pathology, 60*, 190-199.

R Development Core Team. (2011). R: A language and environment for statistical computing. (Version 2.10.1). Vienna, Austria: R Foundation for Statistical Computing.

Richard, B., Jumel, S., Rouault, F., & Tivoli, B. (2012). Influence of plant stage and organ age on the receptivity of *Pisum sativum* to *Mycosphaerella pinodes*. *European Journal of Plant Pathology, 132*, 367-379.

tel-00913095, version 1 - 3 Dec 2013

Roger, C., Tivoli, B., & Huber, L. (1999a). Effects of interrupted wet periods and different temperatures on the development of ascochyta blight caused by *Mycosphaerella pinodes* on pea (*Pisum sativum*) seedlings. *Plant Pathology, 48*, 10-18.

Roger, C., Tivoli, B., & Huber, L. (1999b). Effects of temperature and moisture on disease and fruit body development of *Mycosphaerella pinodes* on pea (*Pisum sativum*). *Plant Pathology, 48*, 1-9.

Rotem, J., Cohen, Y., & Bashi, E. (1978). Host and environmental-influences on sporulation in vivo. *Annual Review of Phytopathology, 16*, 83-101.

Schmitz, H. F., & Grant, R. H. (2009). Precipitation and dew in a soybean canopy: Spatial variations in leaf wetness and implications for *Phakopsora pachyrhizi* infection. *Agricultural and Forest Meteorology, 149*, 1621-1627.

Schoeny, A., Jumel, S., Rouault, F., Le May, C., & Tivoli, B. (2007). Assessment of airborne primary inoculum availability and modelling of disease onset of ascochyta blight in field peas. *European Journal of Plant Pathology, 119*, 87-97.

Schoeny, A., Jumel, S., Rouault, F., Lemarchand, E., & Tivoli, B. (2010). Effect and underlying mechanisms of pea-cereal intercropping on the epidemic development of ascochyta blight. *European Journal of Plant Pathology, 126*, 317-331.

Sentelhas, P. C., Gillespie, T. J., Batzer, J. C., Gleason, M. L., Monteiro, J., Pezzopane, J. R. M., & Pedro, M. J. (2005). Spatial variability of leaf wetness duration in different crop canopies. *International Journal of Biometeorology, 49*, 363-370.

Sentelhas, P. C., Gillespie, T. J., Gleason, M. L., Monteiro, J., & Helland, S. T. (2004). Operational exposure of leaf wetness sensors. *Agricultural and Forest Meteorology, 126*, 59-72.

Shane, W. W., & Teng, P. S. (1983). *Cercospora beticola* infection prediction model. *Sugarbeet Research and Extension Reports, 14*, 174-179.

Tivoli, B., Ney, B., Jeuffroy, M. H., Huber, L., & Roger, C. (2000). Impact of the epidemic development of ascochyta blight on peas. In P. Maillard & R. Bonhomme (Eds.), *Behavior of Plants Subject to Environmental Stress* (pp. 497-514). Paris: Institut National de la Recherche Agronomique.

Treuhaft, R. N., Asner, G. P., Law, B. E., & Van Tuyl, S. (2002). Forest leaf area density profiles from the quantitative fusion of radar and hyperspectral data. *Journal of Geophysical Research-Atmospheres, 107* (D21), 7-1–7-13.

Verma, N., MacDonald, L., & Punja, Z. K. (2007). Environmental and host requirements for field infection of blueberry fruits by *Colletotrichum acutatum* in British Columbia. *Plant Pathology, 56*, 107-113.

tel-00913095, version 1 - 3 Dec 2013

Weiss, A., Hipps, L. E., Blad, B. L., & Steadman, J. R. (1980). Comparison of within-canopy microclimate and white mold disease (*Sclerotinia sclerotiorum*) development in dry edible beans as influenced by canopy structure and irrigation. *Agricultural Meteorology, 22*, 11-21.

Wilson, T. B., Bland, W. L., & Norman, J. M. (1999). Measurement and simulation of dew accumulation and drying in a potato canopy. *Agricultural and Forest Meteorology, 93*, 111-119.

tel-00913095, version 1 - 3 Dec 2013

tel-00913095, version 1 - 3 Dec 2013

Chapitre 4

Influence de l'architecture du couvert sur le développement de l'ascochytose au champ via la sénescence des organes

Chapitre 4 – Influence de l'architecture du couvert sur le développement de l'ascochytose au champ via la sénescence des organes

I. Objectifs

Des études récentes menées au champ par Le May et al. (2009), mettent en évidence un impact de l'architecture du couvert de pois sur la cinétique spatio-temporelle de développement de l'ascochytose. Les résultats obtenus dans le chapitre précédent montrent, sous nos conditions météorologiques, que seules les périodes pluvieuses sont favorables à l'initiation (et au développement) de la maladie. Durant ces périodes, les durées d'humectation sont plus importantes à l'intérieur des couverts qu'à l'extérieur. Avant la fermeture des couverts, nous avons montré que les couverts les plus denses prolongent sensiblement la durée d'humectation des organes au sein du couvert. Par ailleurs, les résultats analytiques obtenus dans le chapitre 1 ont montré une plus grande réceptivité des stipules (et des gousses) à l'ascochytose dès lors que les organes entrent en sénescence. Cette plus grande réceptivité des organes sénescents peut être également une des causes de l'apparition de la maladie à la base du couvert puis de sa progression vers le sommet. Nous avons donc voulu éprouver cette hypothèse au champ en précisant d'une part, comment l'architecture du couvert est susceptible de modifier la sénescence des organes et d'autre part, comment cette différence de sénescence est susceptible de modifier la cinétique de la maladie. Cette étude est basée sur l'implantation de deux essais de pois de printemps en 2009 et 2010, permettant d'obtenir plusieurs scénarios architecturaux en faisant varier à la fois la nature du cultivar utilisé et la densité de semis (Chapitre 2).

Au champ, différents paramètres sont étudiés pour chacune des modalités :

- Le développement de la maladie et de la sénescence visuelle à chaque étage de plantes prélevées toutes les deux semaines à partir de l'apparition de la maladie ;
- L'évolution de la fermeture du couvert, de la hauteur du couvert et du LAI.

A partir de ces paramètres, des corrélations sont étudiées entre la sévérité de la maladie et la sénescence visuelle des organes mais également entre la sénescence des organes et les différents paramètres architecturaux étudiés.

tel-00913095, version 1 - 3 Dec 2013

tel-00913095, version 1 - 3 Dec 2013

Tableau 4.1 Appréciation de la sénescence naturelle (échelle 0-4) des couverts des cultivars Athos, Antares et Gregor semés à 80 et 40 graines par mètre carré en 2009 observées à différentes strates du couvert (entre 0 et 25% du couvert : Inf25, entre 26 et 50% du couvert : Mid50, entre 51 et 75% : Mid75 et entre 76 et 100% du couvert : Sup75), à trois dates de notation (2, 15 et 22 juin 2009).
Pour une même colonne, une différence de lettres indique une différence significative des valeurs de médianes entre les deux modalités selon le test de Steel-Dwass-Critchlow-Fligner au seuil de significativité de 5%. La moyenne des rangs permet de tenir compte de la distribution des notes autour de la médiane.

		Date1			Date2			Date3		
	Portion	Médiane	Moyenne des rangs		Médiane	Moyenne des rangs		Médiane	Moyenne des rangs	
Athos-80	Sup75	0	60,0	A	0	49,8	A	0	46,5	A
	Mid75	0	60,0	A	0	55,8	A	0	68,3	B
	Mid50	0	88,7	B	1	99,5	B	2	124,8	C
	Inf25	2	186,7	C	4	185,0	C	4	205,0	D
Athos-40	Sup75	0	77,0	A	0	71,5	A	0	57,5	A
	Mid75	0	77,0	A	0	71,5	A	0	61,0	A
	Mid50	0	84,8	A	0	101,5	B	1	122,8	B
	Inf25	2	191,6	B	4	202,2	C	4	209,8	C
Antares-80	Sup75	0	68,5	A	0	70,5	A	0	59,5	A
	Mid75	0	68,5	A	0	72,2	A	0	83,3	B
	Mid50	0	84,3	B	1	123,3	B	1	159,1	C
	Inf25	3	218,6	C	4	242,8	C	4	261,2	D
Antares-40	Sup75	0	81,0	A	0	82,0	A	0	61,0	A
	Mid75	0	81,0	A	0	84,0	A	0	86,4	B
	Mid50	0	93,3	A	0	127,7	B	1	156,0	C
	Inf25	2	212,6	B	4	266,0	C	4	263,9	D
Gregor-80	Sup75	0	75,0	A	0	54,9	A	0	56,3	A
	Mid75	0	75,0	A	0	86,2	B	1	102,8	B
	Mid50	1	127,6	B	3	185,3	C	4	220,3	C
	Inf25	3	242,8	C	4	241,9	D	4	250,5	D
Gregor-40	Sup75	0	88,0	A	0	78,5	A	0	77,0	A
	Mid75	0	88,0	A	0	81,7	A	0	95,0	B
	Mid50	0	106,8	B	1	159,6	B	2	176,1	C
	Inf25	1	243,0	C	4	270,8	C	4	270,0	D

Tableau 4.2 Appréciation de la sénescence naturelle (échelle 0-4) des couverts des cultivars Athos, Antares et Gregor semés à 80, 40 et 30 graines par mètre carré en 2010 observées à différentes strates du couvert (entre 0 et 25% du couvert : Inf25, entre 26 et 50% du couvert : Mid50, entre 51 et 75% : Mid75 et entre 76 et 100% du couvert : Sup75), à trois dates de notation (7, 18 et 30 juin 2010).
Pour une même colonne, une différence de lettres indique une différence significative des valeurs de médianes entre les deux modalités selon le test de Steel-Dwass-Critchlow-Fligner au seuil de significativité de 5%. La moyenne des rangs permet de tenir compte de la distribution des notes autour de la médiane. '-' indique des données manquantes.

		Date1			Date2			Date3		
	Portion	Médiane	Moyenne des rangs		Médiane	Moyenne des rangs		Médiane	Moyenne des rangs	
Athos-80	Sup75	0	129,5	A	0	37,0	A	-	-	-
	Mid75	0	131,4	A	0	63,1	B	-	-	-
	Mid50	0	142,5	A	1	107,6	C	-	-	-
	Inf25	2	342,6	B	4	187,8	D	-	-	-
Athos-40	Sup75	0	156,5	A	0	47,0	A	1	30,5	A
	Mid75	0	156,5	A	0	67,7	B	1	46,8	B
	Mid50	0	162,7	A	1	119,5	C	2	83,4	C
	Inf25	1	350,7	B	3	203,2	D	4	137,8	D
Athos-30	Sup75	0	196,0	A	0	97,0	A	0	34,0	A
	Mid75	0	196,0	A	0	101,1	A	1	61,2	B
	Mid50	0	196,0	A	0	138,1	B	1	85,5	C
	Inf25	1	351,2	B	2	281,2	C	4	148,1	D
Antares-80	Sup75	0	124,6	A	0	73,5	A	0	48,7	A
	Mid75	0	137,2	A	0	93,7	B	1	83,7	B
	Mid50	0	175,7	B	1	174,5	C	2	143,1	C
	Inf25	2	396,7	C	4	319,6	D	4	244,3	D
Antares-40	Sup75	0	138,0	A	0	46,0	A	0	43,5	A
	Mid75	0	138,0	A	0	46,0	A	0	63,0	B
	Mid50	0	160,5	B	1	89,1	B	2	117,6	C
	Inf25	2	385,6	C	3	168,0	C	4	192,3	D
Antares-30	Sup75	0	175,0	A	0	106,5	A	0	67,5	A
	Mid75	0	175,0	A	0	106,5	A	0	98,3	B
	Mid50	0	185,2	A	0	177,9	B	1	166,0	C
	Inf25	1	374,6	B	3	354,4	C	4	278,0	D
Gregor-80	Sup75	0	176,0	A	0	85,3	A	1	35,2	A
	Mid75	0	176,0	A	0	109,3	B	2	55,5	B
	Mid50	0	201,2	B	1	189,1	C	3	102,2	C
	Inf25	2	450,1	C	4	320,8	D	4	155,8	D
Gregor-40	Sup75	0	184,0	A	0	102,8	A	0	33,5	A
	Mid75	0	184,0	A	0	104,5	A	1	59,1	B
	Mid50	0	201,4	B	1	180,6	B	2	109,3	C
	Inf25	1	442,7	C	3	332,5	C	4	172,4	D
Gregor-30	Sup75	0	205,7	A	0	71,5	A	0	51,6	A
	Mid75	0	203,5	A	0	84,5	B	0	67,9	A
	Mid50	0	207,7	A	1	163,5	C	1	112,2	B
	Inf25	1	411,0	B	3	260,0	D	4	181,7	C

II. Influence du couvert sur la sénescence naturelle des stipules

a. Evolution de la sénescence dans les différentes strates du couvert

En 2009 et en 2010, les observations sur stipules sont réalisées à trois dates (Tableaux 4.1 et 4.2) correspondant à trois périodes distinctes de développement de l'épidémie : initiation, développement et fin de l'épidémie. Un gradient de sénescence est observé au champ avec un niveau de sénescence plus important à la base des couverts.

En **2009** (Tableau 4.1) pour la **date 1**, seul le premier quart de chaque couvert (Inf25) présente un niveau de sénescence significativement plus important par rapport aux portions supérieures avec une majorité de stipules présentant au moins un début de jaunissement (note 1) à un jaunissement total (note 3). Seuls les couverts aux densités les plus élevées (80 graines/m^2) et la variété Gregor aux deux densités, disposent d'un niveau de sénescence significativement plus important également pour le deuxième quart du couvert (entre 26 et 50% du couvert, Mid50) que pour les deux quarts supérieurs (entre 51 et 75% du couvert, Mid75, et entre 76 et 100% du couvert, Sup75) avec certains étages présentant un début de sénescence. Pour la **deuxième date** de notation, le premier quart de toutes les modalités montre une intensité de sénescence maximale avec une note médiane de 4 et donc une majorité de stipules déshydratées, significativement plus importante que celles des portions supérieures. Le deuxième quart présente des notes variant de 0 pour Antares-40 et Athos-40 à 3 pour Gregor-80, toujours significativement plus importantes que celles des portions supérieures illustrées par des moyennes de rangs supérieures ($p<0,05$). Une différence significative apparaît entre les portions Mid75 et Sup75 uniquement pour le couvert Gregor-80. Pour la **troisième date** de notation de 2009, toutes les portions montrent des différences significatives entre elles avec des niveaux de sénescence plus importants à la base des couverts ($p<0.05$). Seul le couvert Gregor-80 présente une note médiane de 4 pour le deuxième quart du couvert tandis que les autres couverts présentent des notes médianes entre 1 et 2. Les deux dernières portions possèdent des notes médianes de 0 avec cependant une moyenne de rangs plus importante pour le troisième quart du couvert.

En **2010** (Tableau 4.2) à la **date 1**, nous observons le même comportement qu'en 2009 avec seulement le premier quart de chaque couvert présentant au moins un début de jaunissement et ainsi un niveau de sénescence plus important que pour les portions supérieures. Pour les cvs. Antares et Gregor à D80 et D40, la portion Mid50 présente également une sénescence significativement plus importante que les portions supérieures avec une moyenne de rangs plus forte ($p<0,05$). Pour la **deuxième date** de notation, seuls les couverts à la plus forte densité de semis disposent d'une note médiane de sénescence de 4 pour le premier quart et une différence significative entre chacune des portions du couvert. La deuxième portion du couvert montre également une sénescence marquée avec une note médiane de 1 pour tous les cultivars aux densités de semis D80 et D40 et pour le

tel-00913095, version 1 - 3 Dec 2013

Tableau 4.3 Appréciation de la sénescence naturelle (échelle 0-4) des différentes strates des couverts (entre 0 et 25% du couvert : Inf25, entre 26 et 50% du couvert : Mid50, entre 51 et 75% : Mid75 et entre 76 et 100% du couvert : Sup75) en fonction du cultivar : Athos, Antares ou Gregor et de la densité de semis : 80 ou 40 graines par mètre carré en 2009 observées à différentes strates du couvert, à trois dates de notation (2, 15 et 22 juin 2009).
Pour une même colonne, une différence de lettres indique une différence significative des valeurs de médianes entre les deux modalités selon le test de Steel-Dwass-Critchlow-Fligner au seuil de significativité de 5%. La moyenne des rangs permet de tenir compte de la distribution des notes autour de la médiane. En rouge sont représentés les deux couverts les plus contrastés en termes de LAI et cinétique de fermeture des couverts : Gregor-80, le plus dense et Antares-40, le moins dense. '*' Toutes les stipules de la portion à 0.

		Inf25			Mid50			Mid75			Sup75		
		Médiane	Moyenne des rangs		Médiane	Moyenne des rangs		Médiane	Moyenne des rangs		Médiane	Moyenne des rangs	
Date1	Athos-80	2	361,2	a	0	179,1	ab	0	*	a	0	*	a
	Athos-40	2	322,8	a	0	137,0	c	0	*	a	0	*	a
	Antares-80	3	472,1	b	0	154,0	bc	0	*	a	0	*	a
	Antares-40	**2**	**353,4**	**a**	**0**	**143,4**	**bc**	**0**	*	**a**	**0**	*	**a**
	Gregor-80	**3**	**473,8**	**b**	**1**	**211,9**	**a**	**0**	*	**a**	**0**	*	**a**
	Gregor-40	1	320,4	a	0	148,3	bc	0	*	a	0	*	a
Date2	Athos-80	4	375,4	a	1	161,5	a	0	149,4	a	0	*	a
	Athos-40	4	284,6	b	0	101,2	b	0	133,0	a	0	*	a
	Antares-80	4	408,3	a	1	137,9	ab	0	136,0	a	0	*	a
	Antares-40	**4**	**387,0**	**a**	**0**	**118,1**	**b**	**0**	**136,0**	**a**	**0**	*	**a**
	Gregor-80	**4**	**479,8**	**c**	**3**	**265,5**	**c**	**0**	**197,3**	**b**	**0**	*	**a**
	Gregor-40	4	417,6	a	1	171,3	a	0	137,8	a	0	*	a
Date3	Athos-80	4	435,0	ab	2	166,6	a	0	157,1	ab	0	233,0	a
	Athos-40	4	300,5	d	1	96,6	b	0	112,2	c	0	233,0	a
	Antares-80	4	412,8	bc	1	149,1	a	0	149,3	b	0	233,0	a
	Antares-40	**4**	**372,7**	**c**	**1**	**128,3**	**ab**	**0**	**147,9**	**b**	**0**	**233,0**	**a**
	Gregor-80	**4**	**446,5**	**a**	**4**	**273,6**	**c**	**1**	**198,9**	**a**	**0**	**235,7**	**a**
	Gregor-40	4	403,8	bc	2	159,9	a	0	134,0	bc	0	235,8	a

Tableau 4.4 Appréciation de la sénescence naturelle (échelle 0-4) des différentes strates des couverts (entre 0 et 25% du couvert : Inf25, entre 26 et 50% du couvert : Mid50, entre 51 et 75% : Mid75 et entre 76 et 100% du couvert : Sup75) en fonction du cultivar : Athos, Antares ou Gregor et de la densité de semis : 80, 40 ou 30 graines par mètre carré en 2010 observées à différentes strates du couvert, à trois dates de notation (7, 18 et 30 juin 2010).
Pour une même colonne, une différence de lettres indique une différence significative des valeurs de médianes entre les deux modalités selon le test de Steel-Dwass-Critchlow-Fligner au seuil de significativité de 5%. La moyenne des rangs permet de tenir compte de la distribution des notes autour de la médiane. En rouge sont représentés les deux couverts les plus contrastés en termes de LAI et cinétique de fermeture des couverts : Gregor-80, le plus dense et Antares-30, le moins dense.

	Couvert	Inf25			Mid50			Mid75			Sup75		
		Médiane	Moyenne des rangs		Médiane	Moyenne des rangs		Médiane	Moyenne des rangs		Médiane	Moyenne des rangs	
Date1	Athos-80	2	1350,3	ab	0	468,7	ab	0	34094,0	a	0	435,9	a
	Athos-40	1	1087,9	de	0	442,4	ab	0	34486,0	a	0	430,5	a
	Athos-30	1	824,1	f	0	427,5	a	0	40501,0	a	0	430,5	a
	Antares-80	2	1472,8	a	0	568,4	c	0	36527,0	a	0	440,8	a
	Antares-40	2	1269,1	bc	0	482,5	b	0	26867,0	a	0	430,5	a
	Antares-30	**1**	**922,9**	**ef**	**0**	**448,5**	**ab**	**0**	**32080,0**	**a**	**0**	**430,5**	**a**
	Gregor-80	**2**	**1355,9**	**ab**	**0**	**480,2**	**b**	**0**	**41704,0**	**a**	**0**	**430,5**	**a**
	Gregor-40	1	1169,9	cd	0	461,8	a	0	42506,0	a	0	430,5	a
	Gregor-30	1	956,1	ef	0	435,3	a	0	40501,0	a	0	434,4	a
Date2	Athos-80	4	777,0	ab	1	419,5	a	0	16718,0	a	0	334,3	a
	Athos-40	3	643,7	bc	1	337,0	bc	0	13528,5	ab	0	319,0	a
	Athos-30	2	548,7	c	0	182,6	f	0	16047,0	b	0	319,0	a
	Antares-80	4	848,8	a	1	360,9	ab	0	18497,0	ab	0	319,0	a
	Antares-40	3	666,2	bc	1	271,8	cde	0	7285,0	b	0	319,0	a
	Antares-30	**3**	**637,3**	**c**	**0**	**232,5**	**ef**	**0**	**17155,0**	**b**	**0**	**319,0**	**a**
	Gregor-80	**4**	**870,4**	**a**	**1**	**350,3**	**abc**	**0**	**22156,0**	**ab**	**0**	**322,4**	**a**
	Gregor-40	3	659,7	bc	1	252,8	de	0	18833,5	b	0	326,8	a
	Gregor-30	3	630,2	c	1	309,4	bcd	0	14771,0	b	0	319,0	a
Date3	Athos-80	-			-			-			-		
	Athos-40	4	440,7	abc	2	218,3	a	1	6526,0	ab	1	326,9	a
	Athos-30	4	354,6	a	1	111,3	cd	1	5494,0	cd	0	189,2	bc
	Antares-80	4	499,1	cd	2	221,1	a	1	9511,5	bc	0	208,8	b
	Antares-40	4	456,2	bc	2	153,6	bc	0	4218,5	d	0	161,5	c
	Antares-30	**4**	**367,4**	**a**	**1**	**105,2**	**d**	**0**	**6063,5**	**d**	**0**	**166,4**	**c**
	Gregor-80	**4**	**529,8**	**d**	**3**	**283,7**	**e**	**2**	**9861,0**	**a**	**1**	**324,2**	**a**
	Gregor-40	4	463,3	bc	2	206,6	ab	1	7341,0	c	0	216,2	b
	Gregor-30	4	380,2	ab	1	138,6	cd	0	4940,5	cd	0	203,9	b

tel-00913095, version 1 - 3 Dec 2013

couvert Gregor-30 significativement plus importante que pour les portions supérieures, qui disposent majoritairement de stipules encore vertes ($p<0.05$). A la **date 3**, toutes les portions de chaque couvert présentent elles-aussi des différences significatives entre elles avec une sénescence plus importante à la base, sauf pour le couvert Gregor-30 où les deux dernières portions ne sont pas significativement différentes entre elles. Le niveau médian de sénescence pour la deuxième portion du couvert varie entre 1 pour les faibles densités de semis à 3 pour Gregor-80. A l'exception des couverts de la densité de semis D30 et du couvert Antares-40, tous les couverts présentent une note médiane de 1 pour la troisième section du couvert (0 pour les autres) et les couverts Athos-40 et Gregor-80 disposent de niveaux de sénescence plus importants pour la dernière portion du couvert avec une note médiane de 1.

En résumé pour chacune des années, un gradient de sénescence est présent dans chacun des couverts avec une sénescence plus importante à la base des couverts en lien avec l'âge des stipules. A la première date de notation, seul le premier quart du couvert présente un niveau de sénescence visuelle important. A la deuxième date de notation, un gradient continu s'observe de la base au sommet des couverts et à la date 3, la majorité des couverts présente au moins un début de sénescence pour leurs trois premiers quarts.

b. Impact de la densité de semis sur la sénescence

Pour chacune des variétés et chaque portion de couverts, il ressort globalement un effet de la densité de semis, d'abord pour la première moitié du couvert à la date 1 puis jusqu'au trois quarts du couvert à partir de la date 2 avec un niveau de sénescence plus important pour la forte densité de semis (Tableaux 4.3 & 4.4).

En **2009** cependant (Tableau 4.3), la densité de semis ne semble pas affecter la sénescence des stipules du cultivar Antares à partir de la date 2. A la **date 1**, une accentuation de sénescence est visible pour la première moitié des couverts Gregor, Antares Inf25 et Athos Mid50 (notes médianes de 3 & 1, 3 et 0 à D80 contre 1 & 0 pour Gregor-40 Inf25 et Mid50, 2 pour Antares-40 Inf25 et 0 pour Athos-40 Mid50, respectivement). A la **date2**, une accentuation significative de la sénescence par une forte densité de semis est visible pour les trois premiers quarts des couverts Gregor et la première moitié des couverts Athos avec des notes médianes de 4, 3 et 0 pour Gregor-80 aux hauteurs Inf25, Mid50 et Mid75 et 4 et 1 pour Athos-80 pour les portions Inf25 et Mid50 contre 4, 1 et 0 pour Gregor-40 et 4 et 0 pour Athos-40 pour les portions correspondantes. A la **date 3**, ces mêmes différences sont observées avec en plus, un effet densité pour le troisième quart du couvert Athos-80 et ainsi une accélération de la sénescence dans les couverts Athos et Gregor à la densité D80 par rapport à la densité D40 pour les trois premiers quarts du couvert ($p<0,05$).

tel-00913095, version 1 - 3 Dec 2013

En **2010** (Tableau 4.4), pour la **première date** de notation, un effet densité de semis est visible à la base de tous les couverts avec une sénescence significativement plus importante en D80 qu'en D40, et plus importante en D40 qu'en D30 ($p<0,05$). Pour la deuxième partie du couvert (Mid50), la sénescence est plus importante pour les couverts Antares-80 et Gregor-80 que pour ceux correspondant aux densités de semis inférieures, avec une proportion de stipules sénescentes plus importante aux alentours de la note médiane de 0. Les portions supérieures ne présentent pas quant à elles de niveaux de sénescence différents. A la **date2**, des différences similaires sont visibles avec en plus une sénescence plus importante pour le troisième quart du couvert pour le cultivar Athos à la densité D80 qu'à la densité D30. A la **date 3**, une accentuation de la sénescence par la forte densité de semis (D80) est visible pour tous les couverts sur l'ensemble du gradient ($p<0,05$).

Pour résumer, pour chaque variété à l'exception du cv. Antares à partir de la date 2 en 2009, une accentuation significative de la sénescence est observable avec une augmentation de la densité de semis, pour le premier quart du couvert d'abord puis pour les portions suivantes aux dates ultérieures.

c. Influence des caractéristiques architecturales des variétés sur la sénescence

Pour chacune des dates, l'influence de la variété est étudiée à chacune des densités de semis. Malgré des caractéristiques variétales contrastées entre les trois variétés, il ne semble pas y avoir de motifs répétés d'une année sur l'autre même s'il arrive d'observer un niveau de sénescence significativement plus important dans les couverts de Gregor que dans un couvert Athos et/ou Antares, en particulier en 2009, avec une évolution similaire à celle observée avec l'effet densité de semis caractérisé par un effet apparaissant d'abord à la base des couverts et dans la forte densité en premier. Par exemple à la deuxième date de notation de 2009 (Tableau 4.3), à D80, la sénescence dans le couvert Gregor-80 est significativement plus importante que dans les couverts Antares-80 et Athos-80 pour les trois premières portions du couvert ($p<0,05$).

L'influence de la variété s'observe davantage via l'effet couplé Variété*Densité de semis en étudiant les deux couverts les plus contrastés en termes de LAI et fermeture des couverts, Gregor-80 ('le plus dense') et Antares-40 en 2009 et Gregor-80 et Antares-30 en 2010. Nous observons d'abord un niveau de sénescence significativement plus important à la base du couvert pour le couvert Gregor-80 à la date 1, puis une propagation aux portions supérieurs aux dates suivantes (Tableaux 4.3 & 4.4, $p<0,05$). Cette observation montre que plus qu'un effet architectural variétal seul, le couplage Variété*Densité de semis peut conduire à des différences marquées de couvert influant ensuite sur la sénescence.

tel-00913095, version 1 - 3 Dec 2013

Tableau 4.5 Corrélations de Spearman entre la sénescence naturelle de stipules de pois et certaines caractéristiques architecturales du couvert et de la plante au-dessus de l'étage considéré au printemps 2009 à deux dates de notations (2 et 15 juin 2009). Toutes les corrélations obtenues sont significatives au seuil de 5%, avec en rouge les corrélations positives et en noir les corrélations négatives.

	Date 1	Date 2
	Sénescence naturelle	Sénescence naturelle
Hauteur de couvert au-dessus du nœud	**0,76**	**0,83**
Longueur de l'entre-nœud	**-0,72**	**-0,65**
Hauteur du nœud dans le couvert	**-0,80**	**-0,84**
Hauteur relative du nœud dans le couvert	**-0,82**	**-0,86**
Hauteur de plante au-dessus du nœud	**0,78**	**0,86**
LAD au-dessus du nœud	**0,38**	**0,34**
LAI au-dessus du nœud	**0,77**	**0,81**
Maladie	**0,71**	**0,86**

Tableau 4.6 Corrélations de Spearman entre la sénescence naturelle de stipules de pois et des caractéristiques architecturales du couvert et de la plante au-dessus de l'étage considéré au printemps 2010 à deux dates de notation (7 et 18 juin). Toutes les corrélations obtenues sont significatives au seuil de 5%, avec en rouge les corrélations positives et en noir les corrélations négatives.

	Date 1	Date 2
	Sénescence naturelle	Sénescence naturelle
Hauteur de couvert au-dessus de l'étage	**0,70**	**0,82**
Longueur de l'entre-nœud	**-0,81**	**-0,80**
Hauteur du nœud dans le couvert	**-0,83**	**-0,90**
Hauteur relative du nœud dans le couvert	**-0,84**	**-0,92**
Hauteur de plante au-dessus du nœud	**0,66**	**0,82**
LAD au-dessus du nœud	**0,55**	**0,67**
LAI au-dessus du nœud	**0,71**	**0,86**
Maladie	**0,79**	**0,84**

tel-00913095, version 1 - 3 Dec 2013

d. Facteurs architecturaux influençant la sénescence

La question qui se pose maintenant est de savoir si certains traits architecturaux sont plus particulièrement responsables de la sénescence naturelle des stipules. Une étude de corrélation est donc réalisée entre certains paramètres architecturaux tels que le LAI, le LAD, la hauteur de couvert ou de plante au-dessus d'un nœud ainsi que la longueur de l'entre-nœud correspondant et la hauteur ou la position relative du nœud sur la plante, et la sénescence naturelle des stipules correspondantes aux deux premières dates de notation pour chaque année, quand la verse du couvert n'est pas encore suffisamment importante pour impacter l'architecture. Pour les deux dates observées, des corrélations positives importantes existent entre les hauteurs de couvert, les valeurs de LAI et de LAD au-dessus du nœud et la sénescence naturelle de la stipule : plus la quantité de surface foliaire ou la hauteur de couvert sont importantes au-dessus du nœud, plus le niveau de sénescence est grand (Tableaux 4.5 & 4.6). A noter que la corrélation avec le LAD est la plus faible, en particulier en 2009. Inversement, des corrélations négatives sont observées entre la position du nœud dans le couvert (hauteur du nœud sur la plante ou dans le couvert, hauteur relative) et la sénescence : plus le nœud est positionné haut dans le couvert, moins le couvert influence la sénescence du nœud. Une corrélation négative est également observée entre la taille de l'entre-nœud et la sénescence naturelle. Cependant, cette dernière étant positivement corrélée avec la position dans le couvert (les entre-nœuds les plus grands ayant tendance à se retrouver dans la partie haute du couvert où le niveau de sénescence est moindre), cette corrélation ne peut pas être prise en considération dans le cadre de notre travail. De plus, pour chaque variété, une corrélation positive (mais relativement faible par rapport aux autres) est observée entre la densité de semis et le LAI, ce qui corrobore l'impact de la densité de semis sur la sénescence avec une accentuation de la sénescence par ombrage.

En résumé, plus un couvert est dense, plus la quantité de couvert au-dessus d'un nœud est importante, ce qui accentue la sénescence de ce dernier par rapport à un nœud du même âge dans un couvert moins dense.

III. Evolution de la maladie au champ

Dans chacun des couverts, la sévérité de maladie est étudiée au niveau des différentes portions selon l'échelle de sévérité précédemment décrite allant de 0 (sain) à 6 (75 à 100 % de la surface des stipules nécrosée).

tel-00913095, version 1 - 3 Dec 2013

tel-00913095, version 1 - 3 Dec 2013

Tableau 4.7 Appréciation de la maladie (échelle 0-6) des couverts des cultivars Athos, Antares et Gregor semés à 80 et 40 graines par mètre carré en 2009 observées à différentes strates du couvert (entre 0 et 25% du couvert : Inf25, entre 26 et 50% du couvert : Mid50, entre 51 et 75% : Mid75 et entre 76 et 100% du couvert : Sup75), à trois dates de notation (2, 15 et 22 juin 2009).
Pour une même colonne, une différence de lettres indique une différence significative des valeurs de médianes entre les deux modalités selon le test de Steel-Dwass-Critchlow-Fligner au seuil de significativité de 5%. La moyenne des rangs permet de tenir compte de la distribution des notes autour de la médiane.

		Date1			Date2			Date3		
	Portion	Médiane	Moyenne des rangs		Médiane	Moyenne des rangs		Médiane	Moyenne des rangs	
Athos-80	Sup75	0	50,1	A	1	39,7	A	3	40,8	A
	Mid75	0	70,6	B	3	80,1	B	4	83,1	B
	Mid50	1	127,0	C	3	112,2	C	5	120,8	C
	Inf25	3	166,1	D	6	158,0	D	6	176,5	D
Athos-40	Sup75	0	53,0	A	1	42,2	A	1	42,2	A
	Mid75	0	58,4	A	1	85,0	B	3	86,8	B
	Mid50	1	129,3	B	3	123,9	C	4	131,4	C
	Inf25	3	179,0	C	6	189,7	D	6	185,9	D
Antares-80	Sup75	0	61,5	A	1	56,6	A	2	50,6	A
	Mid75	0	73,0	B	3	121,7	B	3	111,7	B
	Mid50	1	145,0	C	3	160,8	C	5	153,1	C
	Inf25	3	198,0	D	6	240,4	D	6	222,3	D
Antares-40	Sup75	0	62,7	A	1	58,4	A	1	50,3	A
	Mid75	0	71,8	A	3	114,6	B	3	116,4	B
	Mid50	1	141,0	B	3	163,4	C	4	161,9	C
	Inf25	3	207,0	C	6	245,7	D	6	231,6	D
Gregor-80	Sup75	0	63,0	A	1	56,1	A	3	55,1	A
	Mid75	0	82,9	B	3	113,3	B	4,5	125,2	B
	Mid50	3	178,8	C	4	160,4	C	5	150,1	C
	Inf25	3	190,6	C	6	222,1	D	6	205,5	D
Gregor-40	Sup75	0	66,0	A	1	62,4	A	1	59,3	A
	Mid75	0	82,3	B	3	125,8	B	3	129,3	B
	Mid50	3	183,1	C	4	175,0	C	5	171,5	C
	Inf25	3	209,8	D	6	230,0	D	6	233,3	D

Tableau 4.8 Appréciation de la maladie (échelle 0-6) des couverts des cultivars Athos, Antares et Gregor semés à 80, 40 et 30 graines par mètre carré en 2010 observées à différentes strates du couvert (entre 0 et 25% du couvert : Inf25, entre 26 et 50% du couvert : Mid50, entre 51 et 75% : Mid75 et entre 76 et 100% du couvert : Sup75), à trois dates de notation (7, 18 et 30 juin 2010).
Pour une même colonne, une différence de lettres indique une différence significative des valeurs de médianes entre les deux modalités selon le test de Steel-Dwass-Critchlow-Fligner au seuil de significativité de 5%. La moyenne des rangs permet de tenir compte de la distribution des notes autour de la médiane.

		Date1			Date2			Date3		
	Portion	Médiane	Moyenne des rangs		Médiane	Moyenne des rangs		Médiane	Moyenne des rangs	
Athos-80	Sup75	1	94,2	A	3	82,9	A	3	75,8	A
	Mid75	1	167,1	B	3	178,7	B	5	198,2	B
	Mid50	2	200,6	B	4	221,0	C	5	265,8	C
	Inf25	4	376,5	C	6	400,4	D	6	362,7	D
Athos-40	Sup75	1	95,5	A	2	82,8	A	3	106,5	A
	Mid75	2	184,7	B	3	198,7	B	5	250,7	B
	Mid50	2	197,2	B	4	244,4	C	6	331,3	C
	Inf25	3	387,4	C	6	419,9	D	6	406,9	D
Athos-30	Sup75	1	101,1	A	2	83,3	A	3	86,8	A
	Mid75	1	196,0	B	3	193,8	B	4	244,5	B
	Mid50	2	222,0	B	4	254,0	C	6	364,3	C
	Inf25	3	408,1	C	6	437,4	D	6	431,5	D
Antares-80	Sup75	1	70,9	A	2	91,3	A	2	94,7	A
	Mid75	1	159,0	B	3	193,2	B	4	240,7	B
	Mid50	2	238,6	C	4	306,4	C	6	413,1	C
	Inf25	3	416,8	D	6	504,6	D	6	480,2	D
Antares-40	Sup75	1	76,2	A	1	62,5	A	2	113,5	A
	Mid75	1	148,1	B	3	145,0	B	4	275,7	B
	Mid50	2	223,2	C	4	214,2	C	6	508,6	C
	Inf25	3	400,4	D	6	355,6	D	6	553,5	D
Antares-30	Sup75	1	107,1	A	1	92,0	A	1	113,3	A
	Mid75	1	191,1	B	3	217,1	B	3	258,7	B
	Mid50	1	231,5	C	4	336,1	C	6	493,5	C
	Inf25	3	422,4	D	6	552,3	D	6	573,7	D
Gregor-80	Sup75	1	141,5	A	3	102,8	A	3	100,5	A
	Mid75	1	240,4	B	4	262,9	B	5	301,3	B
	Mid50	2	278,1	B	5	385,5	C	5	370,0	C
	Inf25	3	450,8	C	6	497,1	D	6	454,8	D
Gregor-40	Sup75	1	120,2	A	2	84,1	A	3	96,3	A
	Mid75	1	211,9	B	3	221,5	B	5	335,8	B
	Mid50	1,5	254,4	C	4	346,0	C	6	467,5	C
	Inf25	3	464,9	D	6	528,7	D	6	486,1	D
Gregor-30	Sup75	1	100,5	A	2	96,0	A	3	115,1	A
	Mid75	2	209,7	B	3	248,0	B	4	286,7	B
	Mid50	2	270,2	C	4	362,3	C	6	453,9	C
	Inf25	3	476,1	D	6	542,6	D	6	534,3	D

tel-00913095, version 1 - 3 Dec 2013

a. Sévérité de la maladie dans les différentes strates du couvert

Chaque année, un gradient de maladie est observé, avec une sévérité significativement plus importante à la base des couverts et décroissant jusqu'au sommet pour toutes les modalités (Tableaux 1 et 2, $p<0,05$).

En **2009** (Tableau 4.7), à la **date 1**, seule la portion comprenant le premier quart du couvert (Inf25) présente majoritairement des lésions (note médiane de 3) tandis que les portions supérieures présentent des notes médianes inférieures. Les deux portions supérieures pour chacune des modalités (Mid75 et Sup75) sont généralement exemptes de maladie (note médiane de 0). Aux **dates 2** et **3**, toutes les premières portions de couvert (Inf25) possèdent une note médiane de maladie de 6 et chaque portion supérieure est significativement moins malade que la portion en-dessous.

En **2010** (Tableau 4.8), tous les étages sont déjà atteints à la **première date** de notation de maladie. Aux **dates 2** et **3**, le même gradient de maladie qu'en 2009 est observé, avec cependant des sévérités plus importantes pour le trois quarts supérieurs de la plante.

Pour résumer, un gradient de maladie se développe chaque année avec une sévérité plus importante à la base des couverts et se propageant vers le sommet.

b. Influence de la densité de semis sur la maladie

L'effet densité de semis se manifeste principalement dans les portions hautes du couvert.

En **2009** (Tableau 4.9), à la **première date** de notation, aucun effet significatif de la densité de semis n'est observé. A la **date 2**, un effet est seulement observé pour le cultivar Athos à la portion Mid50 avec une sévérité plus importante à la densité D80 qu'à la densité D40. A la **date 3**, nous n'observons pas de différences pour la première moitié des couverts sauf pour Antares Inf25 avec une moyenne de rangs plus forte à D80. Au troisième quart du couvert (Mid75), un effet densité significatif est observé pour les cultivars Athos et Gregor avec des sévérités plus importantes (notes médianes de 4 et 4,5) à la densité D80 par rapport à la densité D40 (3 et 3, respectivement). Pour le quart supérieur Sup75, tous les cultivars présentent un effet positif de la densité de semis sur la maladie avec une sévérité plus importante à la densité D80 qu'à la densité D40 : 3, 2 et 3 pour Athos-80, Antares-80 et Gregor-80 contre 1, 1 et 1 pour Athos-40, Antares-40 et Gregor-40 respectivement ($p<0,05$).

En **2010** (Tableau 4.10), à la **première date** de notation, les différences entre densités de semis restent faibles et ne sont présentes que dans les parties basses des couverts. A la **date 2**, la densité de semis impacte peu les couverts du cv Antares. Dans les couverts du cv Athos, une sévérité plus importante de maladie est observée à la densité D80 (note médiane de 3) par rapport aux densités D40 et D30 (notes médianes de 2) pour la dernière portion de couvert (Sup75). Concernant le cultivar Gregor, pour les trois portions supérieures (Mid50, Mid75 et Sup75), la sévérité est

Tableau 4.9 Appréciation de la maladie (échelle 0-6) des différentes strates des couverts (entre 0 et 25% du couvert : Inf25, entre 26 et 50% du couvert : Mid50, entre 51 et 75% : Mid75 et entre 76 et 100% du couvert : Sup75) en fonction du cultivar : Athos, Antares ou Gregor et de la densité de semis : 80 ou 40 graines par mètre carré en 2009 observées à différentes strates du couvert, à trois dates de notation (2, 15 et 22 juin 2009).
Pour une même colonne, une différence de lettres indique une différence significative des valeurs de médianes entre les deux modalités selon le test de Steel-Dwass-Critchlow-Fligner au seuil de significativité de 5%. La moyenne des rangs permet de tenir compte de la distribution des notes autour de la médiane. En rouge sont représentés les deux couverts les plus contrastés en termes de LAI et cinétique de fermeture des couverts : Gregor-80, le plus dense et Antares-40, le moins dense.

		Inf25			Mid50			Mid75			Sup75		
	Couvert	Médiane	Moyenne des rangs		Médiane	Moyenne des rangs		Médiane	Moyenne des rangs		Médiane	Moyenne des rangs	
Date1	Athos-80	3	182,3	a	1	142,0	a	0	156,9	a	0	217,7	a
	Athos-40	3	193,4	a	1	130,4	a	0	127,1	a	0	214,5	a
	Antares-80	3	189,6	a	1	138,1	a	0	136,3	a	0	214,5	a
	Antares-40	**3**	**200,9**	**a**	**1**	**133,1**	**a**	**0**	**136,9**	**a**	**0**	**224,2**	**a**
	Gregor-80	**3**	**175,8**	**a**	**3**	**216,4**	**b**	**0**	**147,5**	**a**	**0**	**214,5**	**a**
	Gregor-40	3	197,7	a	3	203,5	b	0	143,0	a	0	214,5	a
Date2	Athos-80	6	191,3	ab	3	152,9	ab	3	174,1	a	1	297,8	a
	Athos-40	6	174,9	a	3	106,4	c	1	123,0	b	1	215,8	b
	Antares-80	6	224,6	bcd	3	137,8	abc	3	158,8	ab	1	254,3	ab
	Antares-40	**6**	**200,6**	**abc**	**3**	**114,8**	**bc**	**3**	**132,5**	**ab**	**1**	**252,3**	**ab**
	Gregor-80	**6**	**236,9**	**d**	**4**	**171,7**	**a**	**3**	**158,0**	**ab**	**1**	**286,9**	**a**
	Gregor-40	6	236,7	cd	4	164,5	a	3	153,1	ab	1	234,7	ab
Date3	Athos-80	6	257,5	a	5	126,3	ab	4	183,9	a	3	350,0	a
	Athos-40	6	239,2	ab	4	87,6	bc	3	104,0	b	1	211,4	bc
	Antares-80	6	254,8	a	5	108,3	abc	3	135,1	b	2	259,8	b
	Antares-40	**6**	**222,6**	**b**	**4**	**79,0**	**c**	**3**	**108,1**	**b**	**1**	**169,4**	**c**
	Gregor-80	**6**	**257,5**	**a**	**5**	**145,2**	**a**	**4,5**	**221,2**	**c**	**3**	**352,1**	**a**
	Gregor-40	6	254,3	a	5	111,1	abc	3	142,3	ab	1	222,3	bc

Tableau 4.10 Appréciation de la maladie (échelle 0-6) des différentes strates des couverts (entre 0 et 25% du couvert : Inf25, entre 26 et 50% du couvert : Mid50, entre 51 et 75% : Mid75 et entre 76 et 100% du couvert : Sup75) en fonction du cultivar : Athos, Antares ou Gregor et de la densité de semis : 80, 40 ou 30 graines par mètre carré en 2010 observées à différentes strates du couvert, à trois dates de notation (7, 18 et 30 juin 2010).
Pour une même colonne, une différence de lettres indique une différence significative des valeurs de médianes entre les deux modalités selon le test de Steel-Dwass-Critchlow-Fligner au seuil de significativité de 5%. La moyenne des rangs permet de tenir compte de la distribution des notes autour de la médiane. En rouge sont représentés les deux couverts les plus contrastés en termes de LAI et cinétique de fermeture des couverts : Gregor-80, le plus dense et Antares-30, le moins dense.

		Inf25			Mid50			Mid75			Sup75		
	Couvert	Médiane	Moyenne des rangs		Médiane	Moyenne des rangs		Médiane	Moyenne des rangs		Médiane	Moyenne des rangs	
Date1	Athos-80	4	1279,1	a	2	486,4	abc	1	37831,0	ab	1	596,3	ab
	Athos-40	3	1138,9	ab	2	467,3	bc	2	43014,5	a	1	630,1	a
	Athos-30	3	1134,3	ab	2	411,9	c	1	41057,5	ab	1	513,9	bc
	Antares-80	3	1240,0	a	2	583,7	a	1	34101,5	ab	1	431,6	cd
	Antares-40	3	1260,4	a	2	530,0	ab	1	25325,5	b	1	469,8	cd
	Antares-30	**3**	**1039,5**	**b**	**1**	**300,4**	**d**	**1**	**22939,0**	**c**	**1**	**408,3**	**d**
	Gregor-80	**3**	**1010,9**	**b**	**2**	**472,7**	**abc**	**1**	**46260,5**	**ab**	**1**	**596,5**	**ab**
	Gregor-40	3	1077,3	b	1,5	426,0	c	1	41598,0	b	1	528,5	bc
	Gregor-30	3	1232,3	a	2	546,0	ab	2	46948,5	ab	1	518,6	bc
Date2	Athos-80	6	1077,1	a	4	387,6	ab	3	45931,5	a	3	921,6	a
	Athos-40	6	1083,7	a	4	340,9	a	3	39147,0	a	2	736,3	cd
	Athos-30	6	1138,7	a	4	409,7	ab	3	45965,0	a	2	779,7	bc
	Antares-80	6	1311,6	c	4	472,3	bc	3	28477,5	b	2	512,2	ef
	Antares-40	6	1143,8	ab	4	427,8	b	3	18990,5	b	1	451,5	f
	Antares-30	**6**	**1136,2**	**a**	**4**	**422,4**	**b**	**3**	**31312,5**	**b**	**1**	**439,0**	**f**
	Gregor-80	**6**	**1003,5**	**a**	**5**	**695,3**	**d**	**4**	**75612,0**	**c**	**3**	**842,4**	**ab**
	Gregor-40	6	1305,7	c	4	587,2	c	3	53992,5	a	2	590,9	e
	Gregor-30	6	1260,3	bc	4	585,5	c	3	56176,5	a	2	609,0	de
Date3	Athos-80	6	1132,8	a	5	375,0	a	5	47716,0	ab	3	1133,2	a
	Athos-40	6	1166,4	a	6	458,4	ab	5	47683,5	ab	3	1029,2	a
	Athos-30	6	1193,0	a	6	480,0	ab	4	50998,0	bcd	3	904,2	b
	Antares-80	6	1206,4	a	6	510,7	bc	4	44075,0	cd	2	666,4	d
	Antares-40	6	1319,9	b	6	599,4	cd	4	46181,0	d	2	618,3	d
	Antares-30	**6**	**1309,7**	**b**	**6**	**518,5**	**bc**	**3**	**22376,5**	**e**	**1**	**341,9**	**e**
	Gregor-80	**6**	**1155,3**	**a**	**5**	**447,0**	**ab**	**5**	**69217,0**	**a**	**3**	**1017,9**	**a**
	Gregor-40	6	1323,1	b	6	655,8	d	5	81540,0	a	3	697,3	cd
	Gregor-30	6	1318,3	b	6	527,0	bc	4	58241,0	bcd	3	797,4	bc

tel-00913095, version 1 - 3 Dec 2013

significativement plus importante dans la densité D80 que dans les densités D40 et D30 (notes médianes de 5, 4 et 3 pour les portions Mid50, Mid75 et Sup75 à D80 contre 4, 3&2 et 4, 3&2 à D40 et D30 respectivement). A la **date 3**, à la base des couverts, chaque cultivar présente une sévérité maximale. Entre 51 et 76% du couvert (Mid75), les densités les plus fortes (D80 et D40) entraînent de plus grandes sévérités de maladie pour les cultivars Antares et Gregor (4&4 à D80 et D40 contre 3 à D30 pour Antares et 5&5 à D80 et D40 contre 4 à D30 pour Gregor). Pour le dernier quart du couvert, la sévérité dans les couverts de Athos et Antares à D80 et D40 est plus élevée que dans la plus faible densité D30. Pour le cultivar Gregor, la sévérité à D80 est significativement plus importante qu'à D40 ou D30 (notes médianes de 3 pour les trois couverts mais dispersion plus importante vers une sévérité de 4 pour D80).

En résumé, pour une même variété, la densité de semis a peu d'impact à la première date de notation et diminue la sévérité de maladie dans les portions supérieures aux dates suivantes quand la densité diminue. Cette diminution peut avoir son importance en termes de nuisibilité car ces portions contiennent généralement la majorité des organes fructifères.

c. Influence des caractéristiques architecturales des variétés sur la maladie

Comme présenté dans le chapitre 2, les cultivars présentent le même niveau de sensibilité à la maladie et sont tous les trois sensibles. Cependant, dans nos expérimentations, les cultivars Athos et Gregor ont tendance souvent à présenter une sévérité plus importante que le cultivar Antares pour une même portion de couvert.

En **2009**, pour les **dates 1** et **2**, des différences significatives de sévérité sont observées pour la portion Mid50 avec une sévérité plus importante pour le cv. Gregor par rapport aux deux autres cultivars, pour D80 et D40 à la date 1 et pour D40 uniquement à la date 2 (Tableau 4.9). A la **date 3**, des différences significatives sont observables pour les deux portions supérieures du couvert, Mid75 et Sup75, à D80 avec une sévérité plus importante pour les cv. Gregor par rapport au cv. Athos, lui-même plus malade que le cv. Antares pour la portion Mid75 et une sévérité plus importante pour les cvs. Athos et Gregor que pour le cv. Antares pour Sup75.

En **2010**, toutes les portions de couvert présentent un effet variété au minimum pour une des trois densités de semis. A la **date 1**, à D30, le cv. Gregor présente un niveau de sévérité significativement plus important que celui du cv. Antares pour toutes les portions du couvert (Tableau 4.10). Un comportement similaire est observable entre les cvs Athos et Antares avec une sévérité significativement plus importante pour le cv. Athos pour les trois quarts supérieurs du couvert. A D40, une sévérité plus importante est observable dans la première moitié du couvert pour le cv. Antares par rapport au cv. Gregor et dans la seconde moitié du couvert pour le cv. Athos par rapport aux cvs. Antares et Gregor. A D80, les cvs. Athos et Gregor sont significativement plus

tel-00913095, version 1 - 3 Dec 2013

tel-00913095, version 1 - 3 Dec 2013

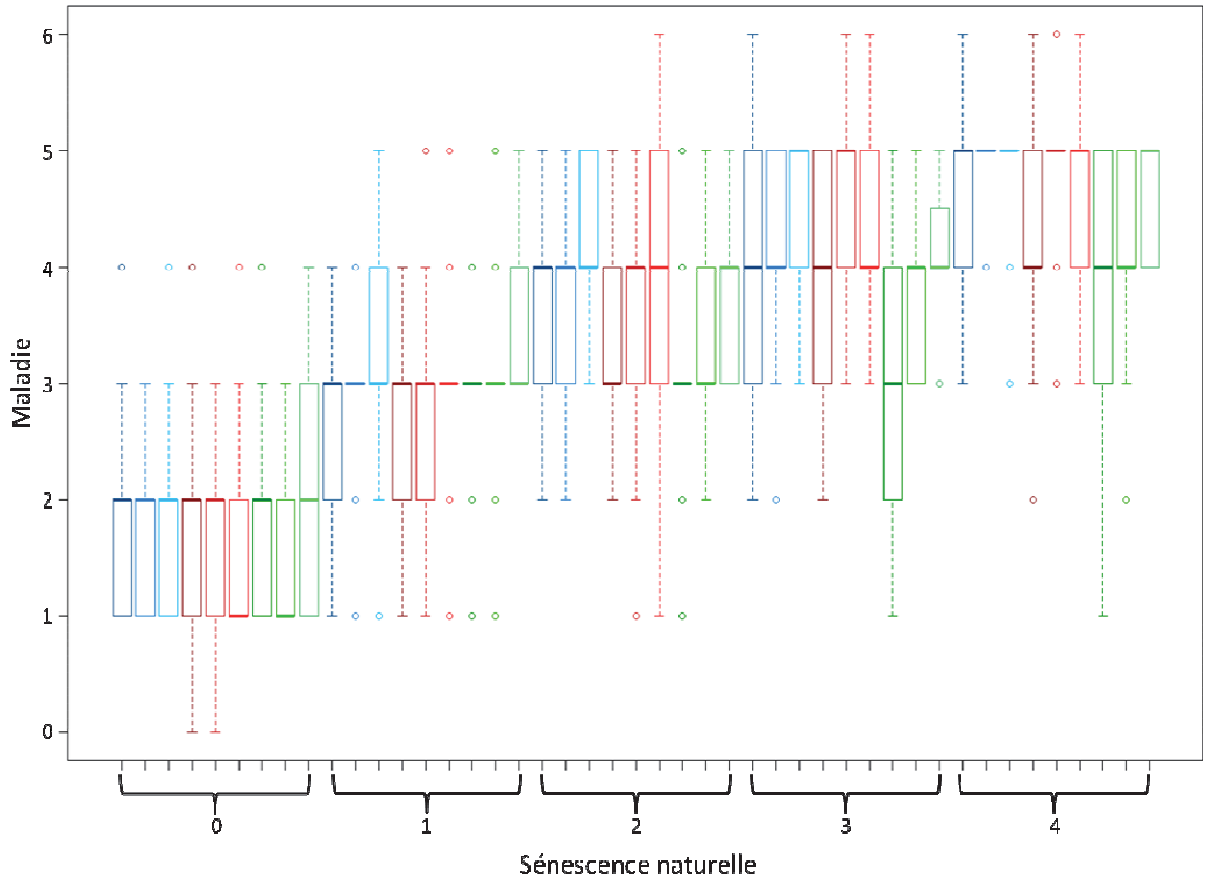


Figure 4.1 Evolution de la sévérité de maladie (échelle de 0 à 6) en fonction de la sénescence naturelle (échelle de 0 à 4) pour les cultivars Athos (en bleu), Antares (en rouge) et Gregor (en vert) aux densités de semis 80, 40 et 30 graines par mètre carré (du plus foncé au plus clair).

malades que le cv. Antares pour la portion Sup75 alors que l'inverse est observé pour la portion Inf25 avec les cvs. Antares et Athos plus sévèrement atteints que le cv. Gregor. A partir de la **date 2**, tous les couverts ont une note médiane maximale de maladie pour la portion Inf25. Pour la portion Mid50, le cv. Gregor est significativement plus malade que les cvs. Antares et Athos pour chacune des densités. Concernant les deux portions supérieures, la sévérité de maladie est significativement plus importante dans les couverts Athos et Gregor que dans les couverts Antares pour chacune des modalités. Enfin, à la **date 3**, le même comportement est observable dans les deux derniers quarts du couvert avec une sévérité moindre pour le couvert Antares peu importe la densité de semis.

De manière globale, en comparant les deux couverts les plus contrastés en termes de fermeture des couverts et de LAI, Gregor-80 (le plus dense) et Antares-40, et en 2010, Gregor-80 et Antares-30, pour chacune des portions du couvert étudié, une sévérité de maladie significativement plus importante est généralement observée dans le couvert le plus dense (Gregor-80) et ce, chaque année à chacune des trois dates de notations (Tableaux 4.9 et 4.10, $p<0,05$).

En résumé, un effet variétal est observable, principalement dans les parties hautes du couvert avec le développement de l'épidémie et une sévérité moindre pour le cv. Antares. En rajoutant l'effet densité à l'effet variétal, la diminution de sévérité dans le couvert le moins dense s'observe pour les parties basses du couvert également.

IV. Influence de la sénescence naturelle sur la maladie

Comme le montrent les tableaux 4.5 et 4.6, une forte corrélation positive existe entre la sénescence de la stipule et le niveau de sévérité de la maladie. Cette corrélation observée au champ rejoint les observations analytiques décrites dans le chapitre concernant l'étude de la réceptivité à l'ascochytose en conditions contrôlées dans lequel une augmentation de la réceptivité à la maladie est démontrée dès l'entrée en sénescence des organes. Afin d'approfondir cet aspect au champ, nous avons étudié le niveau de sévérité de la maladie en fonction de la sénescence naturelle des stipules de chaque étage sur les trois premiers quarts du couvert, l'exposition à l'inoculum étant moindre pour le quart restant contenant les étages les plus récents (Sup75). Comme le montre l'exemple de la date 1 de 2010 (Figure 4.1), le même comportement au champ est observé pour tous les couverts: pour chacune des modalités, les stipules entièrement vertes (note 0) présentent le plus faible niveau de sévérité avec pour la majorité la présence uniquement de ponctuations (note de sévérité de 1 et de 2) ; à partir de la note 1 de sénescence (apparition du jaunissement), une hausse de la sévérité est observée avec l'apparition de nécroses qui s'accentuent avec l'accentuation de la sénescence. En regroupant les cultivars et en observant les six dates de notation (Figure 4.2), l'augmentation de réceptivité est bien illustrée en partant des plus faibles niveaux de sévérité de maladie pour les stipules entièrement vertes, une augmentation avec le début jaunissement et la

tel-00913095, version 1 - 3 Dec 2013

tel-00913095, version 1 - 3 Dec 2013

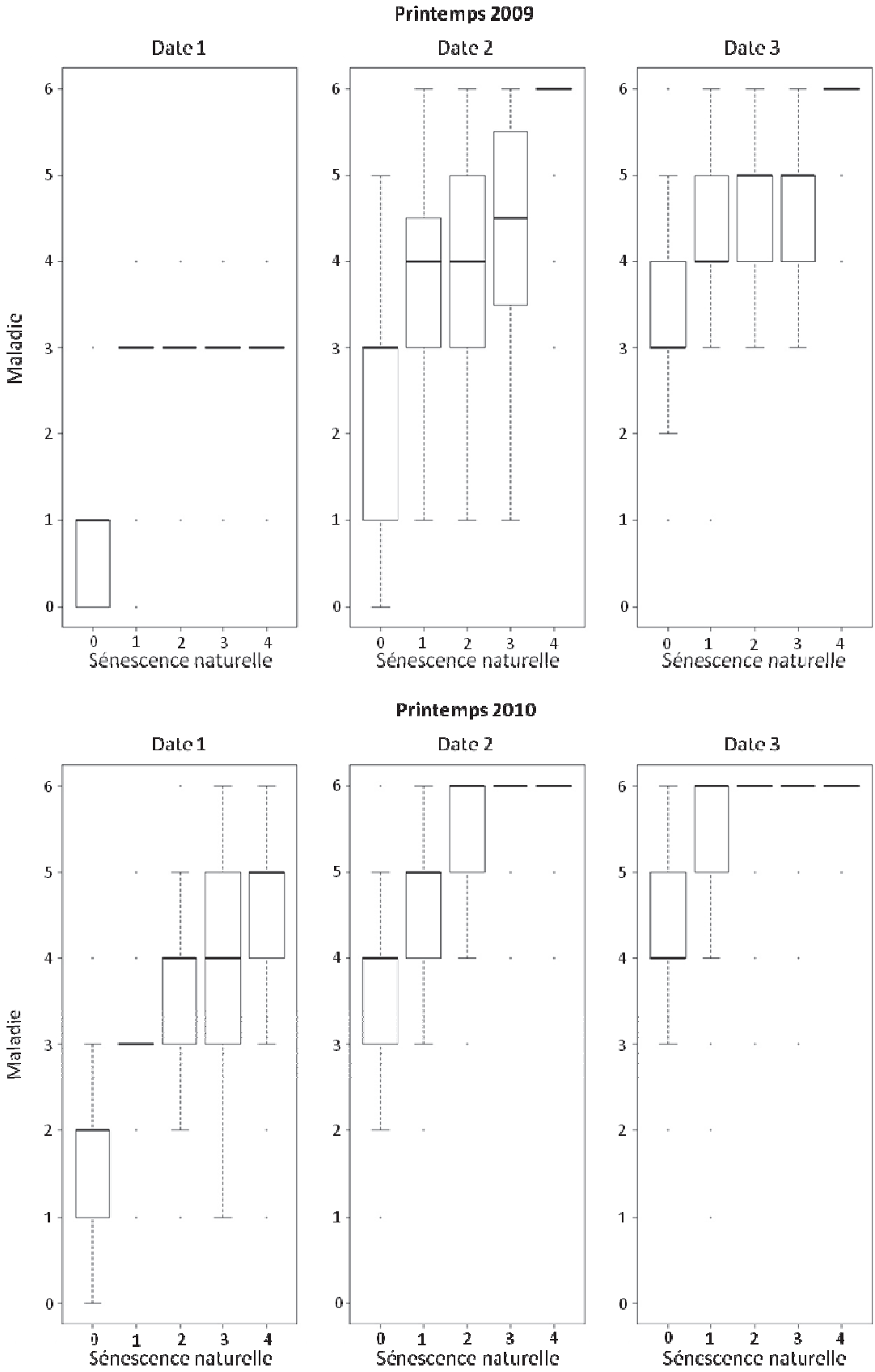


Figure 4.2 Sévérité de maladie (0-6) en fonction du niveau de sénescence naturelle (0-4) des stipules de trois cultivars de pois à trois dates de notation en 2009 (2, 15, 22 juin 2009) et 2010 (7, 18, 30 juin 2010). Pour chacune des dates, le niveau de sévérité le plus faible est observé pour les stipules entièrement vertes (note 0) et le plus fort pour les stipules déshydratées (note 4).

mise en place d'un seuil quand le jaunissement commence à être généralisé (note de 2). Ces observations confirment donc bien le fait que la sénescence naturelle du pois de printemps au champ contribue significativement au développement de l'ascochytose. Dans les deux couverts les plus contrastés en 2009 et 2010 dans lesquels une sénescence moindre est observée dans le couvert le moins dense, la diminution de sévérité de maladie pourrait s'expliquer par un ralentissement du franchissement du seuil de réceptivité observable entre la maladie et la sénescence naturelle de l'organe infecté.

En résumé, pour chacune des modalités, le même comportement est observé avec une augmentation de la réceptivité des stipules en lien avec leur sénescence.

V. Conclusions

Les résultats de ce chapitre permettent de valider l'une des hypothèses fortes que nous avons émises en début de thèse, à savoir le rôle prépondérant de la sénescence visuelle des stipules dans l'aggravation de la maladie. Nous avons montré que la diminution de la densité de semis qui a un effet sur l'évolution de la sénescence naturelle dans les couverts, ralentit la sénescence des stipules via notamment une diminution de la densité des étages supérieurs du couvert et à une meilleure pénétration de la lumière. De plus, en combinant la densité de semis avec la variété, le ralentissement de la sénescence peut être accentué. Cependant, le pois, de part sa capacité à compenser en biomasse dans les régions non limitantes en eau quand la densité de semis diminue, a simplement ralenti la fermeture des couverts sans permettre de garder des couverts « ouverts » aux plus faibles densités (couverts dont une partie du sol reste visible en regardant par le haut du couvert). Sur pois chiche, Chang et al. (2007) ont montré que l'effet cultivar dans leurs deux années d'essais (deux cultivars, trois espacements entre lignes de semis et trois densités de semis par ligne) était prépondérant par rapport à la densité de semis pour réduire la sévérité de l'ascochytose (*Didymella rabiei*) tout en observant une diminution de sévérité avec une diminution de densité de semis.

Dans une revue réalisée en 1982 sur la densité d'hôte comme facteur agissant sur les maladies des plantes, Burdon & Chilvers ont observé que dans le cas de maladies polycycliques sur une saison de culture, il existe pour une majorité de pathosystèmes une corrélation positive entre la densité d'hôte et l'incidence de la maladie, sans pour autant préciser si ces différences pouvaient s'expliquer par un microclimat plus favorable dans les fortes densités, une plus grande proximité entre plantes hôtes favorisant la dispersion ou des changements physiques ou métaboliques chez l'hôte. Cependant, une augmentation de la densité d'hôte peut également être corrélée négativement avec la sévérité de maladie comme par exemple dans le cas du pathosystème fraise/*Colletotrichum acutatum* (Madden & Boudreau, 1997) en limitant la dispersion par

tel-00913095, version 1 - 3 Dec 2013

éclaboussure du pathogène ou dans le cas de l'ergot du seigle (*Claviceps purpurea*) cité par Burdon & Chilvers où une faible densité prolonge la durée de floraison qui est une période durant laquelle l'hôte est plus réceptif à la maladie. La plupart des auteurs qui démontrent un effet densité de semis ne font qu'émettre des hypothèses concernant l'interaction entre la densité de semis et le développement de la maladie. Sur soja, Dias et al. (2011) ont montré un meilleur développement de *Phakopsora pachyrhizi* à l'ombre qu'en pleine lumière, expliquant en partie le développement de cette maladie à la base des couverts. Sur pois, Le May et al. (2009) ont mis en évidence le lien entre l'augmentation du LAI au-dessus d'un nœud et l'augmentation de la sévérité de maladie sur ce nœud, sans pouvoir conclure quels étaient les mécanismes impliqués.

Dans notre étude, nous avons ainsi montré la relation étroite entre la densité de semis, le LAI, la sénescence visuelle et la sévérité de la maladie. L'étude des caractéristiques des couverts a permis de mettre en évidence certains facteurs jouant sur ce processus de ralentissement du jaunissement des stipules tels le LAI, la hauteur de couvert et le LAD. En favorisant des couverts aérés, c'est-à-dire en minimisant le LAI, le jaunissement est ralenti. Sur lupin, Lopez-Bellido et al. (2000) ont aussi observé une augmentation du LAI avec une augmentation de la densité de semis entraînant une sénescence plus précoce aux fortes densités de semis. La hauteur du couvert joue aussi sur la sénescence: un couvert haut ayant généralement tendance à générer davantage d'étages et par conséquent à augmenter son LAI, favorise également la sénescence. Le LAD, a contrario, montre la plus faible corrélation positive entre augmentations du LAD au-dessus du nœud et de la sénescence. Curieusement, ce paramètre synthétique intégrant LAI et hauteur, et défini comme pouvant permettre de rendre compte de la porosité ou la compacité d'un couvert, ne semble pas assez précis dans notre expérimentation pour estimer cette notion de porosité.

La prise en compte de facteurs génétiques comme par exemple, l'aptitude d'un cultivar à retarder la sénescence des étages inférieurs, peut permettre de gérer efficacement la sénescence. Dans le cadre de notre travail, nous ne disposons pas des cinétiques de sénescence des trois cultivars en conditions contrôlées pour discerner un effet lié à une caractéristique génétique du cultivar sur sa vitesse de sénescence à un aspect lié à l'architecture du couvert. Par exemple pour les deux années, il a été observé un début de floraison plus tardif (entre 4 et 7 jours) pour le cultivar Antares et une fin du stade limite d'avortement pour Athos plus précoce d'une semaine.

Les étages les plus bas étant les plus vieux, ce sont eux les premiers à rentrer en sénescence et dont les ressources sont réallouées pour le remplissage des gousses. Un cultivar avec un couvert aéré retardant son développement phénologique pourrait donc être un atout pour ralentir la sénescence au sein des couverts. Dans notre cas, le cultivar Antares, semé à une faible densité, semble le plus à même de ralentir une épidémie d'ascochytose face à des couverts plus denses comme Gregor-80 où les niveaux de sénescence et de sévérité étaient plus élevés. Cependant, la

tel-00913095, version 1 - 3 Dec 2013

faible résistance à la verse d'un cultivar comme Antares pourrait porter préjudice aux bénéfices acquis durant le développement du couvert.

tel-00913095, version 1 - 3 Dec 2013

Références bibliographiques

Burdon, J. J., & Chilvers, G. A. (1982). Host density as a factor in plant disease ecology. *Annual Review of Phytopathology, 20*, 143-166.

Chang, K. F., Ahmed, H. U., Hwang, S. F., Gossen, B. D., Howard, R. J., Warkentin, T. D., Strelkov, S. E., & Blade, S. F. (2007). Impact of cultivar, row spacing and seeding rate on ascochyta blight severity and yield of chickpea. *Canadian Journal of Plant Science, 87*, 395-403.

Dias, A. P. S., Li, X., Harmon, P. F., Harmon, C. L., & Yang, X. B. (2011). Effects of shade intensity and duration on asian soybean rust caused by *Phakopsora pachyrhizi*. *Plant Disease, 95*, 485-489.

Le May, C., Ney, B., Lemarchand, E., Schoeny, A., & Tivoli, B. (2009). Effect of pea plant architecture on spatiotemporal epidemic development of ascochyta blight (*Mycosphaerella pinodes*) in the field. *Plant Pathology, 58*, 332-343.

Lopez-Bellido, L., Fuentes, M., & Castillo, J. E. (2000). Growth and yield of white lupin under Mediterranean conditions: Effect of plant density. *Agronomy Journal, 92*, 200-205.

Madden, L. V., & Boudreau, M. A. (1997). Effect of strawberry density on the spread of anthracnose caused by *Colletotrichum acutatum*. *Phytopathology, 87*, 828-838.

tel-00913095, version 1 - 3 Dec 2013

tel-00913095, version 1 - 3 Dec 2013

Chapitre 5

Effet de la maladie sur le couvert et sur le rendement

Chapitre 5 – Effet de la maladie sur le couvert et sur le rendement

tel-00913095, version 1 - 3 Dec 2013

I. Objectifs

Dans les chapitres précédents, nous avons montré comment l'architecture du couvert est susceptible d'agir sur l'apparition et le développement de l'ascochytose, via la sénescence des organes et/ou le microclimat. Cependant, il existe également des rétroactions de la maladie sur le couvert. Cette maladie est réputée (le plus souvent, selon les dires d'experts) d'une part, pour accélérer la sénescence des organes et d'autre part, pour accélérer la verse des plantes. Si sur pois de printemps au champ, Béasse et al. (2000) ont montré que l'arrivée tardive de la maladie après la mise en place de la partie végétative n'influence pas le développement des plantes, nous avons mis en évidence qu'en conditions contrôlées (Richard et al., 2012; Chapitre 1 des résultats) la maladie accélère la sénescence des stipules. Par ailleurs, Banniza et al. (2005) ont observé au champ une augmentation de la verse des couverts de pois suite à des attaques d'ascochytose. Comme l'ont démontré Wang et al., 2006), une telle verse pourrait également augmenter la sévérité de la maladie. Enfin, des études précédentes (Béasse et al., 2000; Garry et al., 1998; Le May et al., 2005) ont montré un impact de la maladie sur les processus physiologiques conduisant au rendement. Ces auteurs ont montré que l'effet sur la photosynthèse, qui est prépondérant, conduit soit à l'avortement des graines en formation, soit à une mauvaise remobilisation du carbone (et de l'azote) et donc à une réduction du poids des graines expliquant ainsi les pertes de rendement occasionnées par la maladie.

Lors des essais au champ réalisés pour ce travail, nous avons souhaité savoir si la maladie est susceptible d'affecter certains traits architecturaux du couvert. Nous avons d'une part, voulu confirmer au champ l'observation déjà réalisée en conditions contrôlées selon laquelle la maladie accélère la sénescence et d'autre part, éprouver l'hypothèse, dans nos conditions de culture, que l'ascochytose favorise la verse des couverts. Enfin, au terme du chapitre, nous montrerons comment la maladie exprimée dans les différentes modalités a pu affecter ou non le rendement du pois.

II. Impact de la maladie sur la sénescence des stipules

Sur les stipules présentant des symptômes de maladie, la sénescence est appréciée en dehors des zones malades. Une accélération de la sénescence des stipules dans les parcelles inoculées est observée (Figures 5.1 & 5.2). Ces différences apparaissent d'abord dans le bas des couverts en début d'épidémie là où la sévérité de maladie est plus importante, et progressent en parallèle du développement des symptômes sur les étages supérieurs. En **2009**, à la **date 1**, des différences significatives avec des notes plus élevées de sénescence étaient observables dans le

tel-00913095, version 1 - 3 Dec 2013

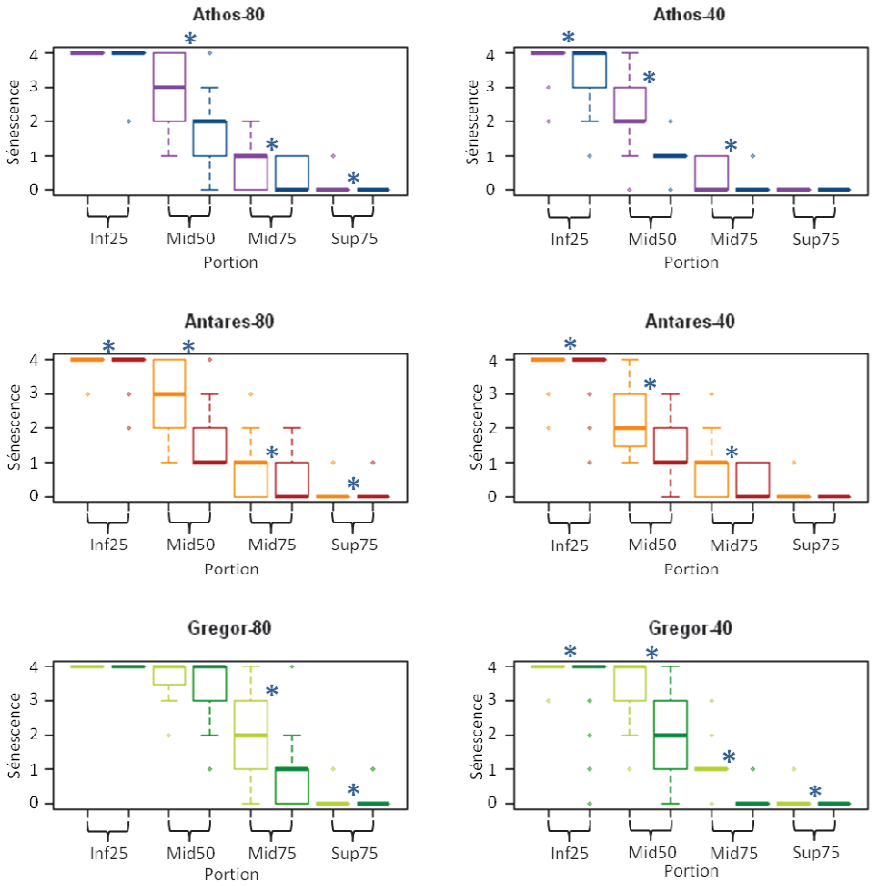


Figure 5.1 Comparaison de la sénescence (médianes, échelle 0-4) dans des couverts inoculés (en rose, orange et vert pâle) et avec protection fongique (en bleu, en rouge et en vert foncé) pour trois cultivars de pois, Athos , Antares et Gregor semés à 80 et 40 graines par mètre carré à quatre niveau dans le couvert : entre 0 et 25% (Inf25), entre 26 et 50% (Mid50), entre 51 et 75% (Mid75) et entre 76 et 100% (Sup75) à la troisième date de notation en 2009.

* Sénescence significativement plus importante dans le couvert inoculé avec un seuil de significativité de 5% selon le test de de Steel-Dwass-Critchlow-Fligner.

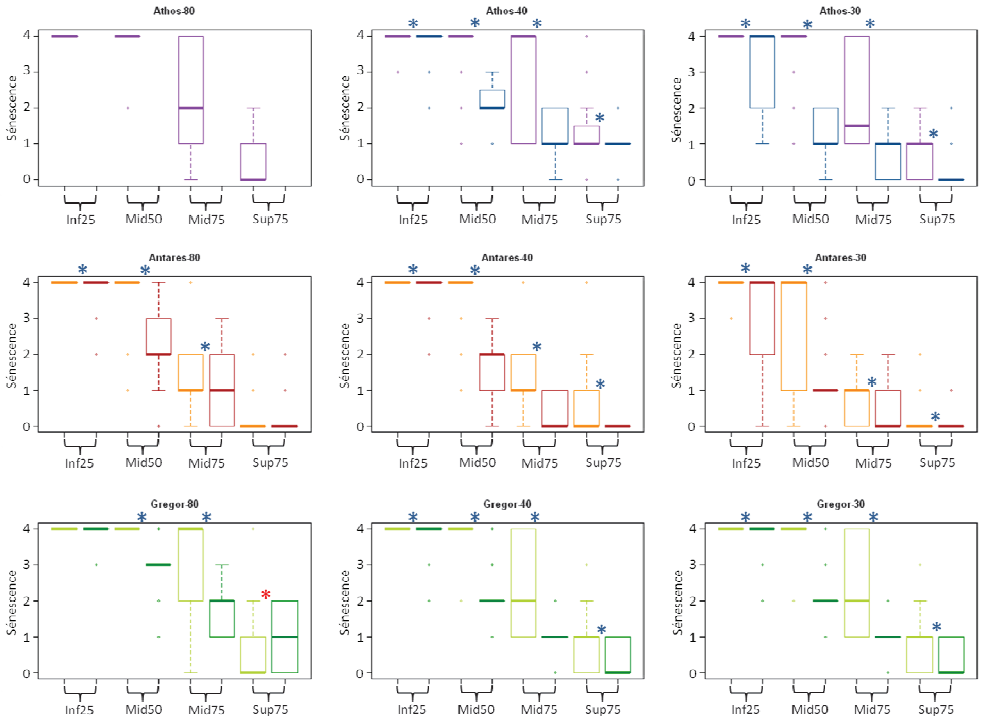


Figure 5.2 Comparaison de la sénescence (médianes, échelle 0-4) dans des couverts inoculés (en rose, orange et vert pâle) et avec protection fongique (en bleu, en rouge et en vert foncé) pour trois cultivars de pois, Athos (haut) , Antares (milieu) et Gregor (bas) semés à 80 (gauche), 40 (centre) et 30 (droite) graines par mètre carré à quatre niveau dans le couvert : entre 0 et 25% (Inf25), entre 26 et 50% (Mid50), entre 51 et 75% (Mid75) et entre 76 et 100% (Sup75) à la troisième date de notation en 2010. Les données pour le couvert Athos-80 sont manquantes pour la parcelle avec traitement fongicide.

* Sénescence significativement plus importante dans le couvert inoculé avec un seuil de significativité de 5% selon le test de de Steel-Dwass-Critchlow-Fligner.

* Sénescence significativement plus importante dans le couvert avec protection fongique avec un seuil de significativité de 5% selon le test de de Steel-Dwass-Critchlow-Fligner.

premier quart des couverts (Inf25) des placettes inoculées (et où la sévérité de maladie était de 3, correspondant à l'apparition des nécroses) dans l'ensemble des couverts à l'exception du couvert Antares-80 qui ne présente pas de différences significatives malgré une sévérité médiane de maladie de 3. Les couverts Gregor-80&-40 présentaient également une sénescence plus importante dans le deuxième niveau de couvert étudié (Mid50) pour les placettes inoculées. A la **date 2**, la sénescence dans les placettes inoculées est significativement plus importantes pour les deux premiers niveaux (Athos-80&-40, Antares-40) ou les trois premiers niveaux des couverts (Antares-80 et Gregor-40) ($p<0,05$). Enfin, à la **date 3**, quasiment toutes les portions des couverts inoculés présentaient un niveau de sénescence significativement plus important que leurs homologues protégés, à l'exception des portions ayant atteint le niveau de sénescence maximal à la base des couverts (Athos-80 et Gregor-80) ou encore une faible sévérité de maladie dans le quart supérieur des couverts (Sup75, note médiane de 1, Athos-40 et Antares-40) (Figure 5.1).

En **2010**, une évolution similaire de la sénescence dans les parcelles inoculées par rapport aux parcelles correspondantes protégées est observée (Figure 5.2) : un gradient décroissant de sénescence vers le haut du couvert est constaté avec généralement un niveau de sénescence significativement plus important dans les parcelles inoculées pour chaque portion de couvert.

En résumé, la maladie accélère la sénescence des stipules au fur et à mesure que la maladie progresse au sein du couvert.

III. Impact de l'ascochytose sur la verse des couverts

La verse des couverts est plus importante lorsque les plantes sont malades que lorsqu'elles sont protégées et dans certains cas, elle se produit plus tôt (Figures 5.3 & 5.4).

En **2009**, dans l'ensemble des modalités, la verse due à la maladie accentue le phénomène de verse naturelle qui commence à 1270 degrés-jours après le semis. Il ne semble pas se produire une verse plus importante aux fortes densités (densités où la maladie est plus importante, chapitre 4). La verse a débuté après 1090 degrés-jours après le semis pour la densité D80 et 1270 degrés-jours pour la densité D40. A la densité D80, le cv. Gregor ne présente pas de différences de verse entre les deux modalités alors qu'à la densité D40, une verse plus importante est observée pour les parcelles infectées aux deux dernières dates avec une différence significative seulement à 1665 degrés-jours. Pour les cvs. Antares et Athos, la verse est accentuée dans les parcelles inoculées à partir de 1385 degrés-jours, avec des différences significatives pour Athos-40 à 1385 et 1665 degrés-jours, 1520 degrés-jours pour Athos-80 ($p<0,05$).

En **2010**, comme en 2009 la verse des couverts malades accentue la verse naturelle. Cependant dans les couverts semés à la densité de 40 graines par mètre carré, la verse due à la

tel-00913095, version 1 - 3 Dec 2013

tel-00913095, version 1 - 3 Dec 2013

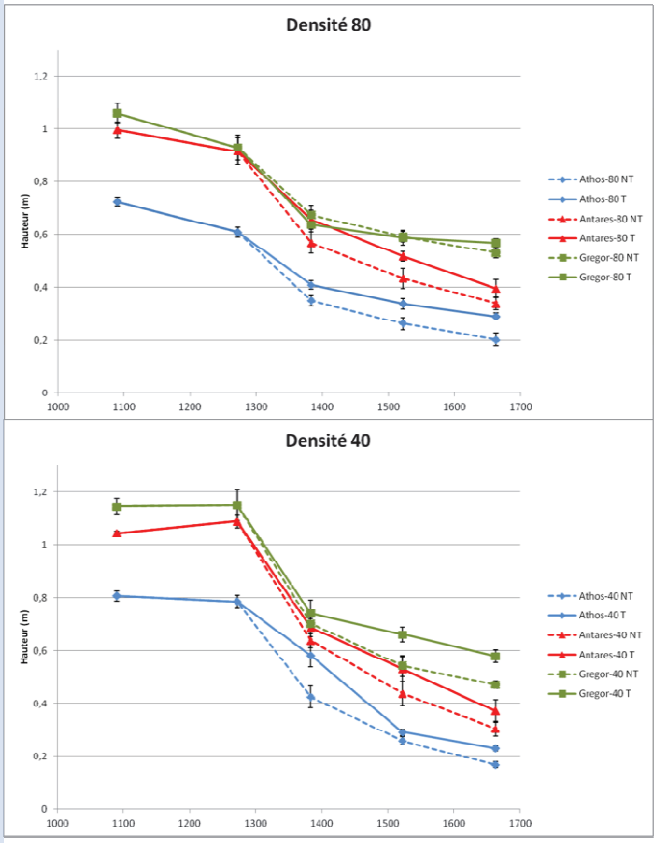


Figure 5.3 Evolution des hauteurs de couvert en fin de saison culturale 2009 dans des couverts semés à 80 ou 40 graines par mètre carré de cultivars de pois : Athos, Antares et Gregor dans des placettes avec traitement fongique (trait plein) ou inoculées avec un mélange de souches de *Mycosphaerella pinodes* (en pointillé) en somme de degrés-jours en base 0 depuis semis.

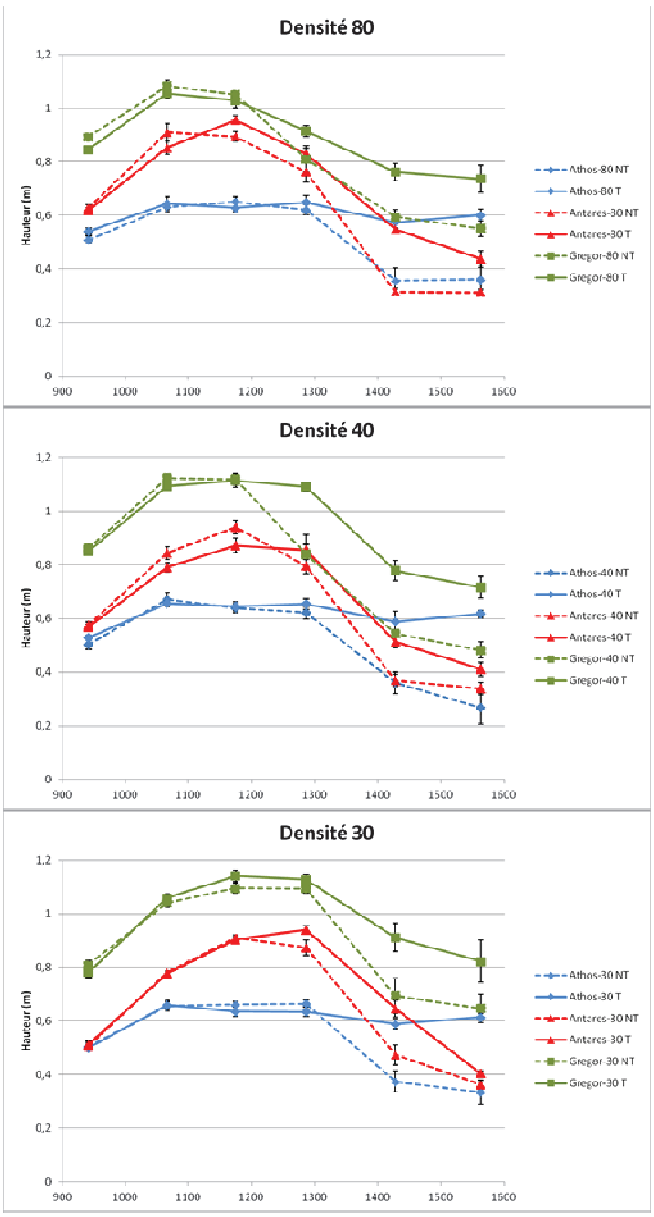


Figure 5.4 Evolution des hauteurs de couvert en fin de saison culturale 2009 dans des couverts semés à 80 , 40 ou 30 graines par mètre carré de cultivars de pois : Athos, Antares et Gregor dans des placettes avec traitement fongique (trait plein) ou inoculées avec un mélange de souches de *Mycosphaerella pinodes* (en pointillé) en somme de degrés-jours en base 0 depuis semis.

maladie précède la verse naturelle. Le cas extrême est représenté par la variété Athos aux trois densités qui contrairement aux deux autres variétés, ne présente aucune verse dans les couverts protégés et qui verse seulement quand la maladie est présente. Pour la densité D80, la verse a débuté à partir de 1175 degrés-jours pour les cultivars Antares et Gregor (avec une légère verse pour Gregor pour la période allant de 1065 à 1175 degrés-jours) et à partir de 1285 degrés-jours pour Athos inoculé. A la densité D40, les couverts Antares et Gregor inoculés ont commencé à verser après 1175 degrés-jours contre 1285 pour les équivalents protégés et Athos inoculé. A la densité D30, la verse a débuté à partir de 1285 degrés-jours. Les premières différences significatives ont été observées à partir de 1430 degrés-jours avec une accentuation significative de la verse dans les placettes inoculées des cultivars Athos et Antares peu importe la densité de semis et pour Gregor-40 et Gregor-30. A 1565 degrés-jours, la verse était toujours plus importante dans les couverts Athos-80, -40 & -30, Antares-80 et Gregor-40 & -30 ($p<0.05$). Un aspect intéressant mérite d'être noté: la variété Athos qui en 2010 n'a pas versé lorsqu'elle était saine, a été considérablement fragilisée par la maladie avec une verse pour chacune des trois densités de semis. Cette verse induite par la maladie suite à une fragilisation des tiges constitue un facteur très déstructurant de l'architecture des couverts qui ont tendance à verser naturellement.

Pour résumer, la maladie accentue la verse des couverts, accentuant l'effet déstructurant sur le couvert engendré par la verse.

IV. Impact de la maladie sur le rendement

Le rendement a été calculé à partir des placettes récoltées en q/ha avec taux d'hygrométrie des grains à 14%. Les résultats présentés ici ne concernent que la biomasse brute, ils ne tiennent pas compte de la qualité des graines ni de la valeur économique des pertes résultant de la maladie pour la significativité des résultats. Pour chacune des deux années, la diminution de la densité de semis n'a pas entraîné de perte de biomasse significative. En **2009**, les cvs. Athos et Gregor présentent des différences de moins de 2q/ha en moyenne, avec des rendements moyens de 78q/ha pour Athos-80, 77q/ha pour Athos-40, 67q/ha pour Gregor-80 et 68q/ha pour Gregor-40. Le cv. Antares présente une différence de rendement moyen un peu plus importante (de l'ordre de 5q/ha) avec 69q/ha pour Antares-80 contre 64q/ha pour Antares-40. En **2010**, les écarts entre densités de semis restent faibles pour les cvs. Athos et Gregor (68, 67 et 67q/ha pour Athos-80, -40 & -30 respectivement et 72, 72 et 74 pour Gregor-80, -40 & -30 respectivement). Seul le cv. Antares présente une diminution importante de rendement passant de 75 q/ha en moyenne pour D80 à 65 q/ha pour D30.

En **2009**, les pertes de rendement des parcelles inoculées varient entre 9% pour Gregor-40 et 18% pour Athos-80 (Figure 5.5 a.). Seule cette dernière différence est significative ($p<0,05$). La diminution de densité a entraîné une diminution du pourcentage de pertes de l'ordre de 2% pour les

tel-00913095, version 1 - 3 Dec 2013

tel-00913095, version 1 - 3 Dec 2013

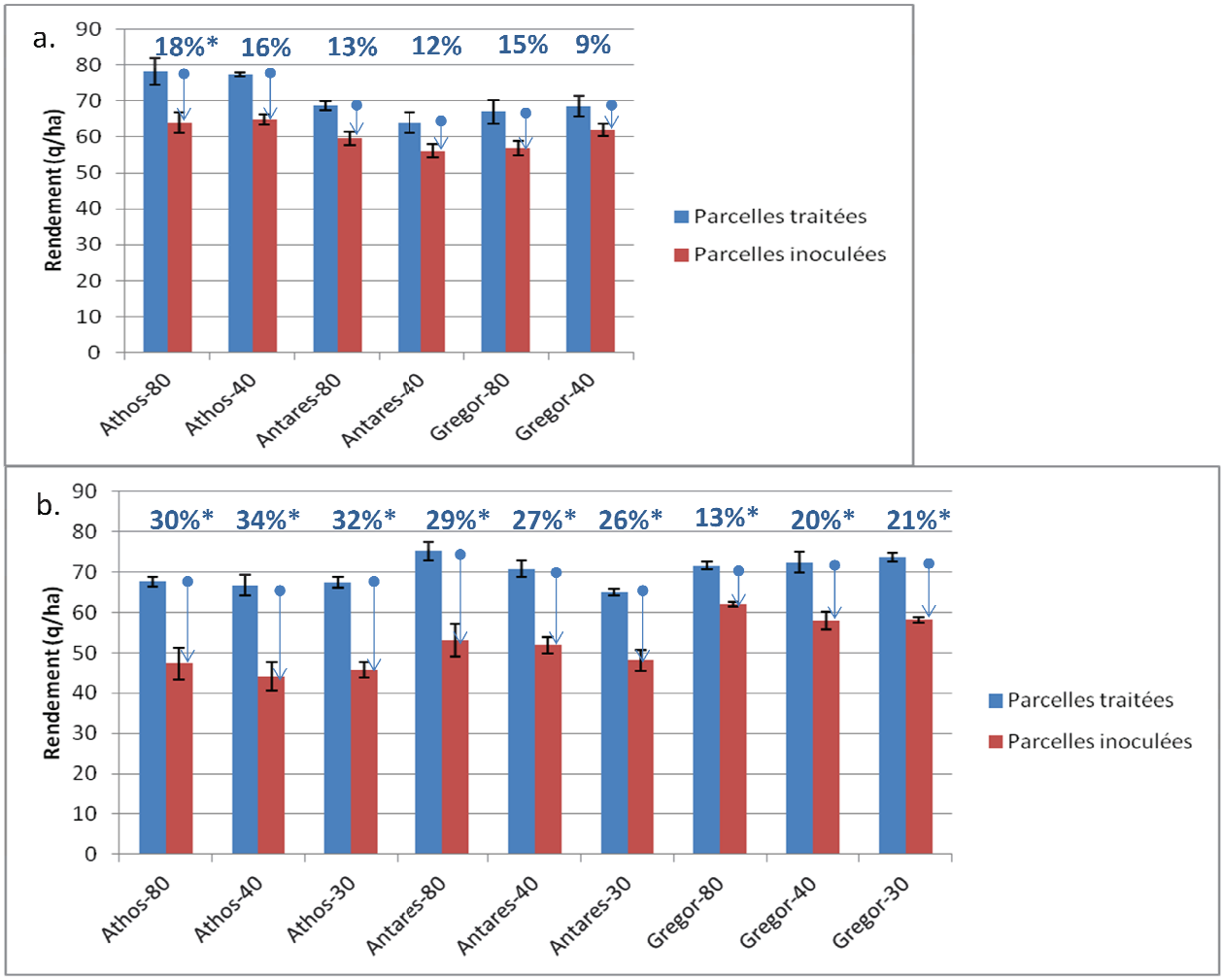


Figure 5.5 Rendements en quintaux par hectare pour des grains avec un taux d'humidité de 14% en 2009 (a.) et 2010 (b.) dans des parcelles traitées avec des fongicides (en bleu) ou inoculées avec un mélange de souches de *Mycosphaerella pinodes* (en rouge) pour trois cultivars, Athos, Antares et Gregor semés à deux (80 et 40) et trois (80, 40 et 30 graines par mètre carré) densités. Les pourcentages représentent le pourcentage de pertes induit par l'absence de traitement et le * si cette différence de rendement est significative ($p<0,05$).

cvs. Antares et Athos, et de l'ordre de 4% pour le cv. Gregor. En **2010**, le pourcentage de pertes a été plus important avec des pertes entre 13% pour Gregor-80 et 34% pour Athos-40 par rapport aux parcelles avec traitement fongique et toutes les différences sont significatives (Figure 5.5 b., $p<0,05$). En termes d'effet de la densité entre parcelles inoculées d'une même variété, les rendements restent proches comme pour les parcelles avec traitement fongicide.

En résumé, sans tenir compte d'un aspect sanitaire des graines récoltées, la maladie engendre des pertes importantes de rendement, plus conséquentes en 2010, année où l'épidémie a été la plus sévère.

V. Conclusions

Nous avons observé ici deux impacts de la maladie sur le couvert : une accélération de la sénescence des organes infectés ainsi qu'une accentuation de la verse. Ces deux phénomènes peuvent entraîner des pertes de rendement. Une accentuation de la sénescence entraîne une réduction brutale de surface photosynthétique et par conséquent une réduction de la remobilisation du carbone et de l'azote vers les graines. Sur cette remobilisation, l'ascochytose agit au niveau d'une stipule de trois manières différentes: directement via les surfaces nécrosées, via la surface virtuelle photosynthétiquement altérée (Garry et al., 1998) et de façon directe via la sénescence induite par la maladie que nous avons mise en évidence et qui confirme les observations déjà réalisées en conditions contrôlées (Chapitre 1). La résistance à la verse est un critère pris en compte par les sélectionneurs pour améliorer les rendements et faciliter la récolte. En corroborant les observations faites par Banniza et al. (2005), nous illustrons l'accentuation de perte de rendement que peut entrainer la maladie. En effet, dans le cas d'un couvert malade, la verse compacte le couvert et la partie compactée peut ainsi favoriser le maintien de l'humidité dans et sous la partie versée, favorisant considérablement l'extension de la maladie et par conséquent à la fois les diminutions de rendement et la détérioration de la qualité sanitaire des semences. Un tel effet de l'accentuation de la verse par une maladie conduisant à un impact du rendement a également été observé par exemple dans le cas du rhizoctone du riz dû à *Rhizoctonia solani* (Wu et al., 2012) ou la maladie des tâches grises/cercosporiose du maïs due à *Cercospora zeae-maydis* (Ward et al., 1999). Dans notre étude, la faible verse induite chez le cv. Gregor, connu pour sa résistance à la verse, pourrait s'expliquer à partir des observations de Banniza et al. (2005), par une infection moindre de ses tiges grâce à une plus grande teneur en lignine maintenant la tige érigée.

Enfin, en ce qui concerne les rendements, il est intéressant mais un peu troublant de voir que ces deux années expérimentales réalisées dans les conditions pédoclimatiques rennaises, n'ont pas mis en évidence d'effet de la densité de semis sur le rendement et ce, même avec 30 graines/m^2 à l'exception du cv. Antares en 2010. La maladie a bien entraîné des pertes de rendement, mais le

tel-00913095, version 1 - 3 Dec 2013

différentiel de rendement est quasiment le même dans les différentes combinaisons densité-variété. Sur lupin, Lopez-Bellido et al. (2000) ont également observé pendant un essai au champ de quatre ans un même rendement en graines pour trois densités de semis (20, 40 et 60 plantes par mètre carré) mais une diminution du nombre de gousses avec l'augmentation de la densité de semis. Des résultats similaires sur pois chiche obtenus par Chang et al. (2007) où une réduction de la densité de semis a entraîné une augmentation du rendement par plante et ainsi maintenu le rendement sur une des deux années d'essais.

En conclusion, sur pois de printemps, la diminution de la densité de semis pourrait être, dans certaines situations pédoclimatiques particulières, un des leviers pour lutter contre l'ascochytose sans entraîner de pertes de rendement pour l'agriculteur.

tel-00913095, version 1 - 3 Dec 2013

Références bibliographiques

Banniza, S., Hashemi, P., Warkentin, T. D., Vandenberg, A., & Davis, A. R. (2005). The relationships among lodging, stem anatomy, degree of lignification, and resistance to mycosphaerella blight in field pea (*Pisum sativum*). *Canadian Journal of Botany-Revue Canadienne De Botanique, 83*, 1365-1365.

Béasse, C., Ney, B., & Tivoli, B. (2000). A simple model of pea (*Pisum sativum*) growth affected by *Mycosphaerella pinodes*. *Plant Pathology, 49*, 187-200.

Chang, K. F., Ahmed, H. U., Hwang, S. F., Gossen, B. D., Howard, R. J., Warkentin, T. D., Strelkov, S. E., & Blade, S. F. (2007). Impact of cultivar, row spacing and seeding rate on ascochyta blight severity and yield of chickpea. *Canadian Journal of Plant Science, 87*, 395-403.

Garry, G., Jeuffroy, M. H., Ney, B., & Tivoli, B. (1998). Effects of Ascochyta blight (*Mycosphaerella pinodes*) on the photosynthesizing leaf area and the photosynthetic efficiency of the green leaf area of dried-pea (*Pisum sativum*). *Plant Pathology, 47*, 473-479.

Le May, C., Schoeny, A., Tivoli, B., & Ney, B. (2005). Improvement and validation of a pea crop growth model to simulate the growth of cultivars infected with Ascochyta blight (*Mycosphaerella pinodes*). *European Journal of Plant Pathology, 112*, 1-12.

Lopez-Bellido, L., Fuentes, M., & Castillo, J. E. (2000). Growth and yield of white lupin under Mediterranean conditions: Effect of plant density. *Agronomy Journal, 92*, 200-205.

Richard, B., Jumel, S., Rouault, F., & Tivoli, B. (2012). Influence of plant stage and organ age on the receptivity of *Pisum sativum* to *Mycosphaerella pinodes*. *European Journal of Plant Pathology, 132*, 367-379.

Wang, T. F., Gossen, B. D., & Slinkard, A. E. (2006). Lodging increases severity and impact of mycosphaerella blight on field pea. *Canadian Journal of Plant Science, 86*, 855-863.

Ward, J. M. J., Stromberg, E. L., Nowell, D. C., & Nutter, F. W. (1999). Gray leaf spot - A disease of global importance in maize production. *Plant Disease, 83*, 884-895.

Wu, W., Huang, J. L., Cui, K. L., Nie, L. X., Wang, Q., Yang, F., Shah, F., Yao, F. X., & Peng, S. B. (2012). Sheath blight reduces stem breaking resistance and increases lodging susceptibility of rice plants. *Field Crops Research, 128*, 101-108.

tel-00913095, version 1 - 3 Dec 2013

tel-00913095, version 1 - 3 Dec 2013

Discussion générale

Discussion générale

Ce travail de thèse se situe dans la mouvance des recherches actuellement développées visant à mettre au point des méthodes permettant de réduire de façon conséquente l'utilisation des pesticides (et des fongicides en particulier). Parmi ces méthodes, le levier 'architecture du couvert' est exploré et les études que nous avons développées ont pour but d'étudier l'influence de l'architecture du couvert de pois sur le développement des épidémies d'ascochytose. Elles ont permis d'éprouver deux hypothèses : i) le couvert peut accentuer la sénescence des stipules et donc augmenter leur réceptivité à la maladie ; et ii) le couvert a un impact sur la durée d'humectation des organes des plantes, ce qui peut influencer l'infection et le développement de l'épidémie. Les deux années d'expérimentation au champ sur pois de printemps ont contribué à mettre en avant l'intérêt de deux facteurs permettant de moduler l'architecture du couvert: la variété utilisée ainsi que la densité de semis.

Cette discussion s'articule autour de quatre sections: les apports de l'étude, les conséquences de nos résultats, les limites de l'étude, et les perspectives de travail.

I. Apport de notre étude sur les interactions entre l'architecture du couvert de pois et l'ascochytose

Dans cette section, nous reprenons brièvement les principaux résultats obtenus pendant ces trois années de thèse.

a. Influence de l'âge des tissus et du stade de développement des plantes sur la réceptivité à l'ascochytose

L'augmentation de la réceptivité à la maladie avec la sénescence des organes est un phénomène qui a souvent été énoncé dans des études précédentes sans pour autant avoir été démontré. L'étude analytique de la réceptivité présentée dans le chapitre 1 a permis de valider cette affirmation. Pour les stades de développement présentant au minimum un début de jaunissement à la base des plantes, une plus grande sévérité de maladie a été observée sur les étages les plus sénescents se trouvant à leur base. Le gradient est moins marqué pour les stades les plus avancés avec une sévérité importante à chaque étage. Ces observations rejoignent celles de Heath & Wood (1971) qui observent des lésions restreintes sur stipules vertes présentant un fort taux de la phytoalexine pisatine alors que les lésions s'étendent davantage sur des stipules sénescentes qui elles présentent un faible taux de pisatine.

tel-00913095, version 1 - 3 Dec 2013

b. Influence de l'architecture du couvert de pois sur le microclimat et conséquence sur l'initialisation de la maladie

Notre étude mettant principalement l'accent sur la durée d'humectation au sein des couverts, nous ne reviendrons pas sur les résultats relatifs au vent dont la vitesse au sein du couvert devient quasi-nulle dès lors que celui-ci se ferme, et à la température dont le différentiel avec l'extérieur est très faible, résultats présentés dans le chapitre 3.

Deux scénarios ont été observés en fonction de la source d'humectation. Dans le cas de périodes pluvieuses, un effet global de l'architecture a été observé, avec des durées d'humectation plus longues au sein du couvert qu'à l'extérieur. L'architecture des couverts permet ainsi de retenir l'humidité et de prolonger la période d'eau libre sur les stipules en limitant l'aération et ce, de façon différentielle dans les différents couverts générés (LAI et hauteur des couverts). Dans le cas de périodes sèches (en absence de précipitations) lors desquelles la source principale d'humectation est la rosée, les paramètres architecturaux des couverts modifient le dépôt de rosée sur les différents étages et ainsi, agissent sur la durée d'humectation à l'intérieur des couverts. Au cours du développement des couverts, les durées d'humectations diminuent au sein des couverts, d'abord à leur base puis au milieu, par rapport aux valeurs extérieures. Cette diminution s'explique par une augmentation du LAI au-dessus des positions étudiées.

La température de l'air, qui constitue un paramètre essentiel pour favoriser l'infection en présence d'eau libre, a été prise en compte dans l'adaptation du modèle générique développé par Magarey et al. (2005), permettant d'étudier le potentiel d'infection à partir des données météorologiques hors couvert et microclimatiques (extérieur et intérieur du couvert). Un tel modèle a permis d'identifier des périodes favorables à l'infection mais également d'éprouver l'intérêt de se baser sur des données microclimatiques plutôt que sur des données mesurées à l'extérieur du couvert. Dans nos conditions climatiques, c'est-à-dire lorsque la rosée se dépose généralement à des températures inférieures à 10°C, seules les périodes pluvieuses ont été identifiées comme pouvant être favorables à l'infection de la plante par le pathogène. De plus d'après notre modélisation, le nombre de créneaux d'infection potentielle est moindre à partir des durées d'humectation mesurées à l'extérieur des couverts par rapport aux données microclimatiques. Une étude basée uniquement sur les durées d'humectation à l'extérieur du couvert sous-estimerait les risques épidémiques. Des périodes pluvieuses favorables à l'infection ont été identifiées bien avant l'apparition des premiers symptômes par notre modèle, ce qui laisse supposer que l'humectation est une caractéristique nécessaire à l'infection mais n'est pas le facteur limitant principal. L'absence (ou le faible nombre) d'organes réceptifs durant ces périodes semble donc constituer le facteur limitant, la présence de spores étant assurée par les grains d'orges infectés disposés au champ.

tel-00913095, version 1 - 3 Dec 2013

c. Influence de l'architecture du couvert de pois sur le développement et la sévérité de la maladie au champ

Suite à l'infection, nous avons montré que le développement de la maladie au champ ainsi que sa sévérité, sont directement liés d'une part, à l'architecture du couvert via le microclimat et d'autre part, à la réceptivité des tissus.

En périodes pluvieuses, le couvert permet une humectation plus longue qu'à l'extérieur à des températures favorables au développement du pathogène. Ce maintien de conditions favorables peut être en partie atténué dans les couverts les moins denses où un ralentissement de la sénescence, et donc de la réceptivité à la maladie, est observé. Dans les scénarios les plus contrastés en termes de LAI, la sénescence est généralement moindre dans le scénario le moins dense avec des durées d'humectation moins longues en périodes pluvieuses que dans le couvert le plus dense. La combinaison 'période d'humectation moins longue' et 'organes moins réceptifs' désigne donc le cv. Antares à la plus faible densité de semis comme le type de couvert le plus favorable au ralentissement d'une épidémie.

Concernant l'impact du couvert sur la maladie via la sénescence, chaque modalité a présenté une diminution de la sévérité de la maladie de la base de la plante vers son sommet en lien avec le gradient de sénescence. Les différences de sévérité entre scénarios architecturaux se sont surtout réparties dans les portions supérieures des plantes avec une sévérité moindre pour les couverts les moins denses. Cela pourrait avoir une répercussion directe sur la maladie sur gousses puisque les organes fructifères se situent principalement dans cette région. De plus, les périthèces se développant sur les organes sénescents (Roger & Tivoli, 1996), un ralentissement dans la sénescence des organes pourrait ralentir l'apparition des structures sexuelles fructifères du pathogène et ainsi ralentir l'épidémie.

d. Rétroactions de la maladie sur le couvert

Dans ce travail de thèse, nous avons principalement étudié l'effet de l'architecture du couvert sur la maladie, mais inversement, deux rétroactions importantes de la maladie sur le couvert ont été observées.

La première est une accentuation de la sénescence des organes infectés. Déjà observée lors des études analytiques développées dans le chapitre 1, cette accentuation peut avoir un impact important sur le développement des épidémies au champ en accélérant l'apparition de pseudothèces au sein du couvert. Il semble donc important de pouvoir agir sur l'épidémie dès l'infection en retardant la sénescence des organes pour qu'ils soient le moins réceptifs possibles le plus longtemps possible et en limitant la durée d'humectation au sein des couverts.

tel-00913095, version 1 - 3 Dec 2013

La deuxième concerne une accentuation de la verse par la maladie, déjà observée par Banniza et al. (2005). La verse entraîne un effondrement de l'architecture mise en place tout au long du développement de la plante et en compactant les couverts, tend à maintenir un niveau élevé d'humidité au sein des parties compactées et rapprocher les organes fructifères des zones basses du couvert les plus infectées. La verse augmentant la maladie (Wang et al., 2006), cette rétroaction peut donc accentuer l'épidémie.

II. Apports de nos résultats dans différents domaines

a. Conception d'idéotype variétal

Un idéotype est un 'modèle biologique dont on espère l'expression ou le comportement d'une manière particulière en fonction d'un environnement donné' (Donald, 1968), c'est-à-dire une plante dont l'expression de son génotype en fonction de l'environnement qui l'entoure serait optimale pour répondre à une question précise. Cette notion peut être adaptée à la conception d'idéotypes en protection des cultures visant à limiter les développement épidémique des maladies (Andrivon et al., 2012). Dans le cadre de notre étude et sous nos conditions environnementales, les couverts les moins denses que nous avons générés chacune des années, peuvent indiquer une piste pour la conception et la construction d'idéotypes afin de ralentir les épidémies d'ascochytose. En effet, une des démarches pour l'élaboration d'idéotype est de sélectionner à partir de cultivars déjà existants les gènes permettant d'obtenir les phénotypes les plus efficaces pour limiter le développement d'une épidémie. Dans notre étude, le cv. Antares semble actuellement le plus proche de l'architecture d'un tel idéotype, avec un couvert qui se ferme plus lentement et un LAI plus faible que les deux autres cultivars ainsi qu'un couvert haut. De plus, la pratique culturale consistant à le semer à une plus faible densité permet une meilleure aération du couvert. En effet, sur pois de printemps, le levier principal sur lequel il semble important de jouer consiste à diminuer la densité du couvert afin d'une part, pour favoriser l'aération du couvert et d'autre part, pour ralentir la sénescence des stipules. L'introduction de gènes qui ralentissent la sénescence dans des variétés possédant des caractéristiques architecturales proches de celles d'Antares peut donc constituer une piste pour le développement d'idéotypes de pois de printemps en régions océaniques. Cependant, comme nous l'avons vu en introduction, les caractéristiques d'architecture peuvent varier, voire être antagonistes, en fonction de l'objectif recherché pour construire l'idéotype. Cela peut être le cas entre un objectif de rendement maximum et un objectif d'échappement à la maladie. Par exemple dans le cas du blé, la sélection s'est orientée vers des variétés petites à forts rendements tandis qu'un idéotype pour échapper à la septoriose serait caractérisé par des plantes grandes avec des entre-nœuds longs. Il est donc nécessaire de trouver des compromis entre objectifs pour maximiser

tel-00913095, version 1 - 3 Dec 2013

les idéotypes, en couplant des modèles de croissance, de résistance à la maladie et à la verse comme développé par Parker et al. (2003).

b. Contribution à la modélisation

Les informations obtenues dans ce travail peuvent également être exploitées pour l'élaboration de modèles dynamiques d'initiation d'épidémies et de développement épidémiologique, couplés avec des modèles écophysiologiques de croissance et de développement des plantes et des couverts. Par exemple, un couplage avec un modèle de représentation de plantes virtuelles tel le modèle L-Pea (Barillot et al., 2012) peut fournir une représentation de développement de l'épidémie, comme dans le couplage réalisé par Robert et al. (2008) entre un modèle de représentation 3D du blé et un modèle épidémique sur la septoriose. Une des sorties attendues d'un tel couplage serait la conception d'idéotypes en faisant varier différents paramètres architecturaux et d'apprécier visuellement la conséquence de ces constructions sur le développement épidémique. L'étape suivante sera alors de valider les scénarios les plus pertinents par expérimentation au champ.

Une autre démarche de modélisation, menée dans le projet ANR Systerra Archidémio (2009-2012) auquel mon travail de thèse est adossé, a consisté à développer un modèle générique conceptuel, constituant le cœur du projet. Ce modèle repose sur la combinaison de trois compartiments: un compartiment 'culture ' contenant la dynamique de croissance et de développement des plantes, principalement en termes de LAI et hauteur, et leurs dispositions et le mode de conduite au sein de la parcelle ; un compartiment 'Environnement', englobant les paramètres météorologiques au-dessus de la parcelle et le microclimat ; et un compartiment 'pathogène' concernant la dynamique de développement épidémique (Casadebaig et al., 2012). Le modèle épidémiologique est de type SEIR à quatre compartiments : un compartiment sains (S pour 'susceptible') pour le pourcentage d'organes sains, un compartiment infecté (E pour 'Exposed') regroupant les organes infectés en période de latence, un compartiment infectieux (I pour 'Infectious') pour les organes infectés sporulants et un dernier compartiment R pour 'Removed' comportant les organes ne participant plus au processus épidémique. Le pathosystème pois-ascochytose est caractéristique car il permet de décrire un type de support pour le modèle Archidemio : une épidémie à une dimension (ascension verticale le long d'une tige avec des strates empilées), avec une augmentation de la réceptivité au cours du temps et deux modes de dispersion : par éclaboussure et anémophile. Les données acquises pendant nos essais seront ultérieurement utilisés pour paramétrer le modèle, en renseignant par exemple un module dédié à l'évolution de la réceptivité en fonction de la sénescence des organes ou d'intégrer le passage des données météorologiques au microclimat au sein du couvert.

tel-00913095, version 1 - 3 Dec 2013

c. Conséquences agronomiques

Une contribution importante de ce travail de thèse réside dans le fait que les résultats apportent des éléments pour la conception de types variétaux défavorables au développement épidémique en proposant notamment une clé d'observation de la sénescence des organes. La sensibilisation à la prise en compte de l'architecture des acteurs agronomiques de terrain et des sélectionneurs, repose sur les acquis de ce travail. Néanmoins, il convient de rester modeste car la prise en compte de la seule architecture ne constituera sans doute jamais un arsenal assez puissant pour juguler la maladie. Il faudra certainement la compléter d'une part, avec la résistance génétique et d'autre part, avec la lutte fongicide. Il n'est pas impossible cependant que les seules caractéristiques architecturales permettent de maîtriser la maladie dans le cas de pressions faible à moyenne d'inoculum.

d. Participation à une démarche novatrice de recherche et de développement

Mon travail de thèse, grâce à son insertion dans le projet Archidémio, m'a permis de contribuer à toute une réflexion collective relative à cette thématique de recherche via une approche comparative des différents pathosystèmes (anthracnose de l'igname, ascochytose du pois, mildiou de la pomme de terre et oïdium de la vigne) et regroupant des équipes de disciplines diverses (mathématiques appliquées, phytopathologie, microclimatologie, agronomie, génétique végétale). En effet, les quatre pathosystèmes concernent une gamme d'hôtes variée : culture pérenne ou annuelle, de type liane ou érigé, avec résistance ontogénique ou non et également des pathogènes avec des caractéristiques différentes : dispersion anémophile, par ruissellement et/ou par éclaboussure. Pour chacun des pathosystèmes, l'objectif initial était d'obtenir des couverts aérés pour limiter la durée d'humectation au sein de couvert et la présence d'organe réceptif. Outre les aspects mentionnés ci-dessus, plusieurs domaines sont concernés par cette approche comparative :

- *Le microclimat*. Les résultats que nous avons obtenus concernant le rôle de l'architecture sur le microclimat puis sur la maladie, ont permis de compléter les observations réalisées sur les pathosystèmes anthracnose/igname et mildiou/pomme de terre, et de démontrer que le microclimat peut agir différemment sur la maladie selon les pathosystèmes considérés dans leurs environnements respectifs. Sur pois, la composante 'précipitations' est déterminante dans nos conditions environnementales, tandis que la rosée agit beaucoup plus efficacement sur le développement du mildiou de la pomme de terre, sans doute en raison de la période estivale de culture. Sur igname, le mode de conduite à plat entraîne une durée d'humectation homogène au sein du couvert plus importante que le mode de conduite tuteuré (avec pour les ignames tuteurés une durées d'humectation plus longue en bas du

tel-00913095, version 1 - 3 Dec 2013

couvert). L'importance de la température de surface, plus importante dans le cas d'ignames à plat par rapport à ceux tuteurés, pourrait jouer un rôle déterminant dans cette différence de sévérité ;

- *La réceptivité.* Dans ce domaine également, l'approche comparative est intéressante puisque l'importance de la réceptivité des tissus a été notamment mise en évidence sur anthracnose/igname, ascochytose/pois et oïdium/vigne avec une sensibilité accrue des organes jeunes chez l'igname et la vigne, et inversement des organes âgés chez le pois. Dans un cas, la sélection tendrait vers des couverts limitant la formation d'organes jeunes/accélérant la mise en place de la résistance ontogénique tandis que dans un autre, le retard de la maturité des organes serait recherché;
- *L'épidémiologie.* La conception d'un modèle générique a nécessité la définition d'une unité fonctionnelle commune à différents pathosystèmes. Dans le cadre du modèle Archidemio, cette unité fonctionnelle est définie comme un élément du couvert végétal au sein duquel le fonctionnement est considéré homogène en termes de croissance de l'hôte, développement de la maladie et microclimat. La structure du couvert est définie par les relations entre ces unités, relations pouvant aussi être dynamiques. Ces unités fonctionnelles sont variables selon les pathosystèmes allant de l'organe pour la vigne, une strate de feuilles sur une même plante pour l'igname tuteuré, la plante entière pour la pomme de terre et l'igname en culture à plat, ou une strate de couvert, définie par l'étage d'une plante moyenne, pour le pois, la diffusion de la maladie se faisant entre unités voisines selon le mode de dispersion du pathogène.
- *La génétique*. Les résultats obtenus relatifs à la réceptivité (chapitre 1) ont été directement utilisés par Carole Giorgetti dans sont travail de thèse à l'IGEPP, également adossé au projet Archidémio, intitulé 'Part relative de l'architecture et de la résistance partielle dans le contrôle génétique du ralentissement des épidémies d'ascochytose à *Mycosphaerella pinodes* chez le pois'. Elle a en effet utilisé cette méthodologie pour caractériser la cinétique de sénescence de chacun des individus de ses différentes familles, ainsi que leur niveau de sensibilité au pathogène.
- *La prise en compte de cette thématique par les professions agricoles*. Outre diverses équipes de recherche de l'Inra, des professionnels ont pris part aux réunions de projet. D'ailleurs, l'objectif d'une des tâches était de transmettre des scénarios aux structures professionnelles. Dans le cadre du pois, des essais ont été conduits en ce sens suite à nos résultats en observant la sévérité de maladie dans de nouvelles variétés sur la base de leurs propriétés architecturales et de leur vitesse de fermeture de couvert. Une journée de restitutions des

tel-00913095, version 1 - 3 Dec 2013

résultats du projet Archidemio auprès des professions agricoles le 22 novembre 2012 permettra une plus large diffusion de cette approche.

III. Limites de l'étude

Suite à ce travail, divers points relatifs au dispositif expérimental, aux variables observées et à l'extension de l'étude, méritent d'être soulevés. Certains de ces aspects soulèvent également de nouvelles questions qui viennent en complément de la section suivante 'Perspectives d'étude'.

a. Dispositif expérimental

Fermeture du couvert. Tout d'abord, nous n'avons pas réussi à obtenir de couverts restant ouverts (dont une partie du sol aurait été visible au travers du couvert) pendant toute la saison culturale, malgré une densité de semis variant de 30 à 80 graines par mètre carré. Ce point reste à relativiser car nous avons quand même obtenu une gamme de couverts suffisamment contrastés pouvant fournir des pistes à la recherche de variétés de pois avec de faibles capacités de compensation. Cependant, cette caractéristique pourrait nuire au rendement et s'avérer finalement contre-productive.

Mesure du microclimat. Un deuxième point concerne l'étude du microclimat au sein du couvert. Le nombre de capteurs au sein d'une placette reste faible pour vraiment décrire un gradient mais la faible variation entre nos placettes d'une même modalité témoigne de la robustesse de notre approche. La question peut se poser également sur l'exploitation des durées d'humectation. Nous avons fait le choix d'étudier des périodes de plusieurs jours par rapport à une approche plus classique d'étude sur 24h afin d'identifier au mieux des périodes favorables pour le développement de l'épidémie. Enfin, nous n'avons étudié la température de l'air qu'à un seul niveau du couvert, partant de résultats précédents montrant un faible impact du couvert de pois sur la température de l'air. Nous n'avons cependant pas étudié la température à la surface des stipules qui pourrait être plus sensible à l'architecture du couvert (Chelle, 2005).

b. Paramètres mesurés

La recherche d'un paramètre synthétique de caractérisation de l'architecture. Pour les études de dynamiques épidémiologiques, un paramètre synthétique qui prendrait en compte des aspects analytiques architecturaux (tailles de plantes, longueurs d'entrenœuds, ramifications, tailles des stipules) serait des plus utiles. Une première approche a été réalisée dans ce travail via le LAI ou le LAD. Un travail de fond tant sur le concept lui-même que sur la méthodologie d'appréciation de la porosité, reste à réaliser.

tel-00913095, version 1 - 3 Dec 2013

Présence d'autres gradients. Dans notre étude, nous nous sommes focalisés sur deux gradients mais la présence d'un gradient de spores au sein du couvert qui a été observée par Roger & Tivoli (1996), nécessite des études supplémentaires. Ces auteurs ont en effet mis en évidence une plus grande concentration de spores à la base des couverts et la présence de pycniospores seulement dans la moitié basse du couvert. Une observation préliminaire dans ce sens a été effectuée dans l'essai Pois de printemps 2010 à deux dates de notations, mi et fin juin, pour chaque variété aux densités D80 et D30 dans un seul bloc. Cinq hauteurs de piégeage ont été étudiées, 0, 20, 40, 60 et 100 cm avec deux lames vaselinées par niveau. Pour chaque modalité, le nombre de spores piégées décroit du bas vers le haut du couvert avec, pour chaque variété et à une même hauteur, un plus grand nombre de spores interceptées à D80 qu'à D30. Contrairement à Roger & Tivoli (1996), l'étude du ratio ascospores/pycniospores à la première date de notation a mis en évidence la présence des deux types de spores à chacune des hauteurs étudiées (Annexe II). Ces résultats préliminaires montrent la présence d'un gradient supplémentaire au sein du couvert pouvant expliquer la progression de la maladie, avec une pression d'inoculum plus importante à la base des couverts et dans les couverts les plus denses.

Initialisation de l'épidémie. Lors des deux années d'expérimentation, le début de l'épidémie a été tardif, avec une infection survenant après la fermeture des couverts, ce qui est le cas le plus courant sur pois de printemps et les épidémies d'ascochytose ne modifient que très peu l'architecture (Béasse et al., 2000). Cependant, l'utilisation de variétés avec une sénescence précoce ou de pois d'hiver pourrait entraîner des infections plus précoces, dans lesquelles la météorologie et/ou le microclimat pourrait jouer un rôle plus important, et modifier le développement végétatif des plantes. L'implication d'études sur pois d'hiver sera détaillée dans la partie 'Perspectives de travail'.

c. Extension de l'étude

Zone géographique. Notre étude concerne une région bien spécifique et nos résultats ne peuvent sans doute pas tous être transférables à d'autres régions caractérisées par des pédoclimats différents. Des études similaires, en particulier concernant le microclimat dans d'autres régions, pourraient renforcer nos observations, par exemple dans des régions avec des températures de rosée plus importantes. Dans un essai réalisé au Canada en comparant deux cultivars de pois de printemps, un afila (sans folioles) et un feuillu, le nombre de jours à humidité saturante par semaine entre début juillet et fin août a été plus important dans le couvert en monoculture du cultivar feuillu mais avec une sévérité de maladie moindre (Syrovy et al., 2012). La sévérité plus importante chez le cultivar afila pourrait s'expliquer par un couvert plus compact avec une hauteur de couvert plus faible et des entre-nœuds plus courts par rapport au cultivar feuillu.

tel-00913095, version 1 - 3 Dec 2013

Complexe parasitaire. Le dernier point à signaler est relatif au complexe parasitaire. Bien que *M. pinodes* soit le pathogène le plus agressif et le plus étudié de ce pathosystème, nous ne pouvons être sûr que l'effet d'un échappement à *M. pinodes* pourrait avoir comme effet sur les autres pathogènes du complexe ou d'autres pathogènes du pois. Dans l'hypothèse où un autre pathogène serait favorisé, cette infection pourrait favoriser l'infection de *M. pinodes* comme observé par Le May et al. (2009b) avec une facilitation de l'infection par *M. pinodes* après une infection par *Phoma medicaginis* var. *pinodella*.

IV. Perspectives de travail

L'architecture du couvert ne permet pas d'éviter une épidémie mais peut constituer un levier intéressant pour diminuer l'utilisation de produits phytosanitaires. De plus, un couvert plus aéré peut également permettre une meilleure pénétration des produits au sein du couvert et donc favoriser leur efficacité. Ce travail de thèse ouvre des perspectives sur plusieurs pistes d'études complémentaires ou de réflexions.

a. Le pois d'hiver

Ce travail de thèse s'est focalisé sur des variétés de pois de printemps. Cependant, le pois d'hiver se développe de plus en plus en France dans une optique de stabilité et d'amélioration des rendements en évitant les stress abiotiques de fin de saison culturale. Cela nécessite une date de semis précoce à l'automne pour éviter les risques de tassement de sols dû aux conditions climatiques souvent plus difficiles à la fin de l'automne et une tolérance au gel (Hanocq et al., 2009). Cependant, les semis précoces, en allongeant le cycle de développement de la plante, sont plus sévèrement touchés par l'ascochytose que les semis tardifs, les premiers symptômes pouvant apparaître avant la phase hivernale (Le May et al., 2009a; Schoeny et al., 2007). Afin d'améliorer la résistance au gel, de nouveaux types de pois d'hiver sont développés, sensibles à la photopériode grâce à la présence du gène Hr. Une des caractéristiques de ce type de pois est de disposer d'un port en rosette lui conférant de nombreuses ramifications après la disparition de la tige principale durant l'hiver (Lejeune-Hénaut et al., 2008). Cette caractéristique pourrait engendrer des couverts plus denses au printemps. Une étude réalisée par Le May et al. (Le May et al., 2009a) impliquant trois génotypes (deux cultivars de pois d'hiver classique et un génotype de pois d'hiver Hr), avec plusieurs dates de semis dans cinq régions différentes a montré que pour chacun des sites, le génotype Hr était celui le moins sévèrement malade. Une des causes possibles pourrait être liée à la petite taille de ses stipules, limitant le nombre de zones d'interception de l'inoculum et augmentant la perméabilité du couvert. Il est donc nécessaire d'étudier l'influence des couverts de variétés usuelles et Hr sur le microclimat et le développement de l'ascochytose afin d'étendre notre démarche sur pois d'hiver.

tel-00913095, version 1 - 3 Dec 2013

Nous avons présenté dans le chapitre 2 des variétés de pois d'hiver ayant un faible niveau de résistance par rapport aux variétés de pois de printemps qui elles, étaient toutes sensibles. Une hypothèse forte concernant le pois d'hiver est que l'approche climatique (plutôt que microclimatique) est sans doute suffisante pour prévoir le déclenchement de la maladie et le début de la période épidémique.

b. Vers l'expérimentation *in silico*

Comme nous l'avons vu dans la deuxième partie de cette discussion, ce travail de thèse apporte de nombreux éléments pour développer ou 'nourrir' des modèles existants tel le modèle Archidemio. Divers points peuvent être abordés directement à partir de nos données ou en les complétant par d'autres.

De l'extérieur à l'intérieur du couvert. L'architecture du couvert influence la durée d'humectation en son sein. Des modèles simples d'extinction du rayonnement lumineux à l'intérieur du couvert en fonction du LAI des différents étages et d'un coefficient d'extinction propre à la culture existent. Un tel modèle peut être envisagé pour décrire l'évolution de la durée d'humectation en fonction du LAI mais nécessite des mesures complémentaires plus précises de LAI, par exemple en prenant directement des mesures au niveau du capteur d'humectation à l'aide d'appareils de mesure de LAI. L'utilité d'un tel modèle est la simulation de la durée d'humectation à l'intérieur du couvert à partir des données météorologiques dans le module 'environnement' du modèle Archidemio.

Elaboration d'un modèle épidémiologique de type SEIR. L'échelle de notation de sévérité de maladie utilisée dans ce travail de thèse peut être facilement transposable à un modèle épidémiologique de type SEIR, comme cela a été considéré dans le modèle Archidemio : la note 0 correspondant au compartiment 'sain', les notes 1 et 2 au compartiment 'latent' et les notes 3, 4, 5 et 6 au compartiment 'infectieux'. Un paramètre reste à définir pour passer du compartiment 'infectieux' à 'retiré' comme par exemple en supposant qu'après deux épisodes pluvieux, un organe avec une note 6 ne participe plus au processus infectieux. Un modèle épidémiologique peut ainsi être adapté des résultats de Roger et al. (1999) concernant l'évolution des notes de maladies en fonction de la température et de la durée d'humectation à partir de nos données microclimatiques. Un tel modèle permettrait de confirmer ou d'infirmer le fait que les températures sont trop faibles pour le développement de la maladie sous nos conditions climatiques et donc une augmentation de la durée d'humectation dans les couverts les moins denses en périodes de rosée ne serait pas préjudiciable.

Réceptivité. Des modèles écophysiologiques existent permettant de simuler la croissance et la sénescence d'une plante de pois. A partir de nos données acquises, un paramètre représentant la réceptivité d'une stipule à la maladie pourrait être intégré dans des modèles épidémiologiques

tel-00913095, version 1 - 3 Dec 2013

comme dans le cadre du modèle Archidemio où un tel paramètre agirait pour moduler l'infection, c'est-à-dire le passage de l'état 'sain' à 'infecté'. Ce paramètre a pour l'instant une valeur arbitraire dans le modèle.

Dispersion des spores. Une étude réalisée par Schoeny et al. (2008) a montré en conditions contrôlées à l'aide d'un simulateur de pluie le faible pourcentage de pycnides qui arrivent à passer à un étage supérieur. L'adaptation de modèles concernant la dispersion de spores anémophiles, tels ceux développés par Ferrandino (2008) sur la dispersion de spores en fonction de la structure du couvert, dans le cadre des travaux de Ferrandino caractérisée par le LAD, est nécessaire pour paramétrer la diffusion de la maladie dans le couverts. Des essais complémentaires au champ et/ou en conditions contrôlées seront nécessaires pour valider de tels modèles.

Nuisibilité. Nous avons acquis de nombreuses données concernant les composantes de rendement de nos différents scénarios. Ces éléments peuvent être intégrés pour développer un modèle concernant la nuisibilité et coupler à un modèle tel le modèle Archidemio. Cette intégration permettrait d'évaluer l'impact que pourrait avoir un idéotype, maximisant l'échappement à la maladie, sur le rendement. Enfin, le modèle développé précédemment par Béasse et al. (2000) et Le May et al. (2005) pourrait être adapté au pois d'hiver à partir de données acquises dans les essais proposés dans la sous-partie précédente et ainsi intégrer la nuisibilité.

c. Une combinaison avec la résistance génétique pour une plus grande durabilité des résistances

Nous l'avons vu en introduction, le niveau de résistance partielle à l'ascochytose est faible. Cependant, la combinaison entre résistance partielle et l'échappement grâce à l'architecture peut contribuer à réduire la gravité des épidémies d'ascochytose. Des colocalisations ont été observées entre des zones du génome du pois (Quantitative Trait Loci, QTLs) contrôlant l'architecture du couvert et des QTLs de résistance partielle (Fondevilla et al., 2011; Prioul et al., 2004). Ces colocalisations peuvent s'expliquer par i) un effet direct de l'architecture sur la maladie, ii) une liaison génétique de ces zones avec un locus codant pour la résistance partielle et un autre pour un caractère d'architecture, ou iii) de la pléiotropie avec un même locus codant pour un critère de résistance partielle et un caractère d'architecture, ces deux dernières hypothèses étant traitées dans le cadre de la thèse en cours de C. Giorgetti, l'hypothèse i) pouvant être écartée dans le cas d'une analyse sur jeunes plantes en conditions contrôlées sans effet direct du couvert. Une fois le mécanisme de résistance partielle analysé en lien avec l'architecture, il sera alors possible de concevoir des génotypes possédant à la fois un niveau satisfaisant de résistance partielle et des caractéristiques architecturales ralentissant le développement épidémique de l'ascochytose. L'existence de tels génotypes permet de penser que les populations de *M. pinodes* auront davantage

tel-00913095, version 1 - 3 Dec 2013

de difficulté à contourner cette 'double résistance' et que la durabilité d'une telle résistance sera prolongée. Cette affirmation constitue une hypothèse de travail qui à notre connaissance, n'a jamais été explorée et qu'il conviendrait donc d'éprouver dans les années à venir.

d. Vers d'autres architectures de couvert : les associations végétales ou variétales

Les associations végétales basées généralement sur des cultures de légumineuses et de céréales, constituent une pratique répandue dans les systèmes à bas intrants. Dans cette optique, il est important d'étudier dans quelle mesure le changement induit par une association végétale, agit sur l'architecture et donc permet de ralentir une épidémie. Cependant, le potentiel d'échappement d'une association variétale pour diminuer une épidémie peut être très variable (Trenbath, 1993) et une variété semblant 'idéale' en monoculture ne le sera pas forcément en association variétale, comme observé par Nelson & Robichaux (1997) dans le cadre d'une association niébé - millet perlé. Une étude considérant l'architecture du couvert d'une association pois-céréales sur le développement de l'ascochytose en prenant en compte le microclimat a été réalisée sur le site du Rheu au printemps 2005 et hiver 2005-2006 (Schoeny et al., 2010). Les résultats ont montré une diminution de la sévérité sur gousses et tiges en association par rapport à une monoculture de pois, expliquée partiellement par une diminution des durées d'humectation dans les associations végétales. Des investigations plus précises en termes de microclimat mais également d'estimation de l'architecture de couverts associées et de chacune des plantes du mélange ainsi que la dispersion en plein champ sont nécessaires pour valoriser ce type d'usage en agriculture biologique. De plus, dans le cadre d'une lutte conjointe contre des pathogènes, il semble pertinent, par exemple dans le cadre d'une association pois-blé, d'étudier conjointement l'effet de l'architecture du couvert sur l'ascochytose du pois mais également sur la septoriose du blé, pour estimer par exemple si un mélange discriminant pour une des maladies l'est également pour l'autre.

Sans aller jusqu'aux associations végétales, une piste plus généralisable serait d'explorer les mélanges variétaux dans le cas du pois. En effet, la culture associée d'une variété possédant des caractéristiques architecturales intéressantes voire de la résistance partielle en plus, et une variété très productive mais très favorable au développement épidémique de l'ascochytose, pourrait s'avérer très efficace pour limiter le développement de la maladie et assurer de bons rendements.

e. Architecture du couvert et changements climatiques

Un dernier point qui me semble nécessaire d'aborder ici est l'impact des changements climatiques sur l'architecture du couvert. L'idéotype d'aujourd'hui pour une région donnée ne sera pas forcément l'idéotype de demain suite aux changements en termes de température, précipitations, concentration en dioxyde de carbone et autre facteurs résultant des activités

tel-00913095, version 1 - 3 Dec 2013

humaines. Une approche à l'aide de la modélisation, couplée à des données acquises en conditions contrôlées, permettrait de renseigner leur impact sur la durabilité d'un idéotype. En effet, les revues s'intéressant à l'impact des changements climatiques sur les pathogènes (Anderson et al., 2004; Garrett et al., 2006; Pangga et al., 2012; West et al., 2012) relaient l'importance de vecteur que jouera la plante à l'échelle du paysage en étendant sa zone potentielle de répartition plus au Nord ou à l'échelle de la parcelle en augmentant sa biomasse suite à l'augmentation du taux de dioxyde de carbone dans l'atmosphère. Cette augmentation de biomasse entrainera des modifications au niveau de l'architecture de la plante et aura des répercutions au niveau du microclimat, à la fois dues à un changement induit par une modification du climat (changement dans la pluviométrie, …) mais également dues à un changement de l'architecture du couvert. De nombreux auteurs (dans nombre de revues) s'accordent à dire que l'augmentation de la densité des couverts augmenteraient l'humidité à l'intérieur sans jamais citer de références concrètes. Des essais en conditions contrôlées, soit dans des systèmes « open-topped chamber » ou « free air concentration enrichment » seraient nécessaires pour connaître les effets d'une augmentation de dioxyde de carbone et d'ozone sur la plante et sur le pathogène, une augmentation de CO_2 pouvant par exemple entraîner une diminution de la sénescence tandis qu'une augmentation d'O_3 entraînerait une hausse de la sénescence (Eastburn et al., 2011). De plus, une augmentation de CO2 peut entraîner également une augmentation de l'agressivité et de la fitness du pathogène ou n'avoir aucun effet voire être discriminant pour le pathogène (Pangga et al., 2011). L'influence des changements climatiques est donc particulièrement dépendante du pathogène, de l'hôte et de la zone d'étude concernés. La réalisation d'expérimentations couplant données expérimentales quantitatives et modélisation telles celle développée par Pangga et al. (2011) permettra d'apporter des réponses en ce sens.

En conclusion, nous avons vu ou tout du moins entraperçu dans ce travail de thèse comment la plante et par extension un couvert de pois peut servir de levier dans le développement de l'ascochytose, en influençant le microclimat et la réceptivité à la maladie, ce qui rappelle la devise Spes messis in semine *(L'espoir de la moisson est dans la semence).*

tel-00913095, version 1 - 3 Dec 2013

Références bibliographiques

Anderson, P. K., Cunningham, A. A., Patel, N. G., Morales, F. J., Epstein, P. R., & Daszak, P. (2004). Emerging infectious diseases of plants: pathogen pollution, climate change and agrotechnology drivers. *Trends in Ecology & Evolution, 19*, 535-544.

Andrivon, D., Giorgetti, C., Baranger, A., Calonnec, A., Cartolaro, P., Faivre, R., Guyader, S., Lauri, P. E., Lescourret, F., Parisi, L., Ney, B., Tivoli, B., & Sache, I. (2012). Defining and designing architectural ideotypes to control epidemics? *European Journal of Plant Pathology, In Press*.

Banniza, S., Hashemi, P., Warkentin, T. D., Vandenberg, A., & Davis, A. R. (2005). The relationships among lodging, stem anatomy, degree of lignification, and resistance to mycosphaerella blight in field pea (*Pisum sativum*). *Canadian Journal of Botany-Revue Canadienne De Botanique, 83*, 1365-1365.

Barillot, R., Combes, D., Huynh, P., & Escobar-Gutiérrez, A. J. (2012). *Ideotype construction from an architectural model of pea.* Paper presented at the Plant and Canopy Architecture Impact on Disease Epidemiology and Pest Development, Rennes, France.

Béasse, C., Ney, B., & Tivoli, B. (2000). A simple model of pea (*Pisum sativum*) growth affected by *Mycosphaerella pinodes*. *Plant Pathology, 49*, 187-200.

Casadebaig, P., Quesnel, G., Langlais, M., & Faivre, R. (2012). A generic model to stimulate air-borne diseases as a function of crop architecture. *PLoS ONE, Accepted*.

Chelle, M. (2005). Phylloclimate or the climate perceived by individual plant organs: What is it? How to model it? What for? *New Phytologist, 166*, 781-790.

Donald, C. M. (1968). The breeding of crop ideotypes. *Euphytica, 17*, 385-403.

Eastburn, D. M., McElrone, A. J., & Bilgin, D. D. (2011). Influence of atmospheric and climatic change on plant-pathogen interactions. *Plant Pathology, 60*, 54-69.

Ferrandino, F. J. (2008). Effect of crop growth and canopy filtration on the dynamics of plant disease epidemics spread by aerially dispersed spores. *Phytopathology, 98*, 492-503.

Fondevilla, S., Almeida, N. F., Satovic, Z., Rubiales, D., Patto, M. C. V., Cubero, J. I., & Torres, A. M. (2011). Identification of common genomic regions controlling resistance to *Mycosphaerella pinodes*, earliness and architectural traits in different pea genetic backgrounds. *Euphytica, 182*, 43-52.

Garrett, K. A., Dendy, S. P., Frank, E. E., Rouse, M. N., & Travers, S. E. (2006). Climate change effects on plant disease: genomes to ecosystems. *Annual Review of Phytopathology, 44*, 489-509.

Hanocq, E., Jeuffroy, M. H., Lejeune-Hénaut, I., & Munier-Jolain, N. (2009). Construire des idéotypes pour des systèmes de culture variés en pois d'hiver. *Innovations Agronomiques, 7*, 14-28.

tel-00913095, version 1 - 3 Dec 2013

Heath, M. C., & Wood, R. K. S. (1971). Role of inhibitors of fungal growth in the limitation of leaf spots caused by *Ascochyta pisi* and *Mycosphaerella pinodes*. *Annals of Botany, 35*, 475-491.

Le May, C., Jumel, S., Schoeny, A., & Tivoli, B. (2009a). Ascochyta blight development on a new winter pea genotype highly reactive to photoperiod under field conditions. *Field Crops Research, 111*, 32-38.

Le May, C., Potage, G., Andrivon, D., Tivoli, B., & Outreman, Y. (2009b). Plant disease complex: Antagonism and synergism between pathogens of the ascochyta blight complex on pea. *Journal of Phytopathology, 157*, 715-721.

Le May, C., Schoeny, A., Tivoli, B., & Ney, B. (2005). Improvement and validation of a pea crop growth model to simulate the growth of cultivars infected with Ascochyta blight (*Mycosphaerella pinodes*). *European Journal of Plant Pathology, 112*, 1-12.

Lejeune-Hénaut, I., Hanocq, E., Bethencourt, L., Fontaine, V., Delbreil, B., Morin, J., Petit, A., Devaux, R., Boilleau, M., Stempniak, J. J., Thomas, M., Laine, A. L., Foucher, F., Baranger, A., Burstin, J., Rameau, C., & Giauffret, C. (2008). The flowering locus Hr colocalizes with a major QTL affecting winter frost tolerance in *Pisum sativum* L. *Theoretical and Applied Genetics, 116*, 1105-1116.

Magarey, R. D., Sutton, T. B., & Thayer, C. L. (2005). A simple generic infection model for foliar fungal plant pathogens. *Phytopathology, 95*, 92-100.

Nelson, S. C., & Robichaux, R. H. (1997). Identifying plant architectural traits associated with yield under intercropping: Implications of genotype-cropping system interactions. *Plant Breeding, 116*, 163-170.

Pangga, I. B., Hanan, J., & Chakraborty, S. (2011). Pathogen dynamics in a crop canopy and their evolution under changing climate. *Plant Pathology, 60*, 70-81.

Pangga, I. B., Hanan, J., & Chakraborty, S. (2012). Climate change impacts on plant canopy architecture: implications for pest and pathogen management. *European Journal of Plant Pathology, In press*.

Parker, S. R., Berry, P. M., Paveley, N. D., van den Bosch, F., Lovell, D. J., & Bcpc. (2003). A rational basis for the design of wheat canopy ideotypes. Farnham: British Crop Protection Council.

Prioul, S., Frankewitz, A., Deniot, G., Morin, G., & Baranger, A. (2004). Mapping of quantitative trait loci for partial resistance to *Mycosphaerella pinodes* in pea (*Pisum sativum* L.), at the seedling and adult plant stages. *Theoretical and Applied Genetics, 108*, 1322-1334.

Robert, C., Fournier, C., Andrieu, B., & Ney, B. (2008). Coupling a 3D virtual wheat (*Triticum aestivum*) plant model with a *Septoria tritici* epidemic model (Septo3D): a new approach to investigate plant-pathogen interactions linked to canopy architecture. *Functional Plant Biology, 35*, 997-1013.

tel-00913095, version 1 - 3 Dec 2013

Roger, C., & Tivoli, B. (1996). Spatio-temporal development of pycnidia and perithecia and dissemination of spores of *Mycosphaerella pinodes* on pea (*Pisum sativum*). *Plant Pathology, 45*, 518-528.

Roger, C., Tivoli, B., & Huber, L. (1999). Effects of interrupted wet periods and different temperatures on the development of ascochyta blight caused by *Mycosphaerella pinodes* on pea (*Pisum sativum*) seedlings. *Plant Pathology, 48*, 10-18.

Schoeny, A., Jumel, S., Rouault, F., Le May, C., & Tivoli, B. (2007). Assessment of airborne primary inoculum availability and modelling of disease onset of ascochyta blight in field peas. *European Journal of Plant Pathology, 119*, 87-97.

Schoeny, A., Jumel, S., Rouault, F., Lemarchand, E., & Tivoli, B. (2010). Effect and underlying mechanisms of pea-cereal intercropping on the epidemic development of ascochyta blight. *European Journal of Plant Pathology, 126*, 317-331.

Schoeny, A., Menat, J., Darsonval, A., Rouault, F., Jumel, S., & Tivoli, B. (2008). Effect of pea canopy architecture on splash dispersal of *Mycosphaerella pinodes* conidia. *Plant Pathology, 57*, 1073-1085.

Syrovy, A., Banniza, S., & Shirtliffe, S. (2012). *Inter-seeding semileafless with conventional leafed field pea alters canopy and Mycosphaerella pinodes blight development.* Paper presented at the Plant and Canopy Architecture Impact on Disease Epidemiology and Pest Development, Rennes, France.

Trenbath, B. R. (1993). Intercropping for the management of pests and diseases. *Field Crops Research, 34*, 381-405.

Wang, T. F., Gossen, B. D., & Slinkard, A. E. (2006). Lodging increases severity and impact of mycosphaerella blight on field pea. *Canadian Journal of Plant Science, 86*, 855-863.

West, J., Townsend, J., Stevens, M., & Fitt, B. L. (2012). Comparative biology of different plant pathogens to estimate effects of climate change on crop diseases in Europe. *European Journal of Plant Pathology, 133*, 315-331.

tel-00913095, version 1 - 3 Dec 2013

tel-00913095, version 1 - 3 Dec 2013

Annexes

tel-00913095, version 1 - 3 Dec 2013

Annexe I

Current knowledge on plant/canopy architectural traits that reduce the expression and development of epidemics.

Tivoli, B., Calonnec, A., Richard, B., Ney, B., & Andrivon, D. (2012).
European Journal of Plant Pathology,
DOI 10.1007/s10658-012-0066-6

Eur J Plant Pathol
DOI 10.1007/s10658-012-0066-6

Current knowledge on plant/canopy architectural traits that reduce the expression and development of epidemics

Bernard Tivoli · Agnès Calonnec · Benjamin Richard · Bertrand Ney · Didier Andrivon

Accepted: 16 August 2012
© The Author(s) 2012. This article is published with open access at Springerlink.com

tel-00913095, version 1 - 3 Dec 2013

Abstract To reduce the use of pesticides, innovative studies have been developed to introduce the plant as the centre of the crop protection system. The aim of this paper is to explain how architectural traits of plants and canopies induce a more or less severe epidemic and how they may be modified in order to reduce disease development. In particular, it focuses on three key questions: i) which processes linked to epidemics can be influenced by architecture ii) how can architecture be characterized relative to these modes of action, and iii) how can these effects be explored and exploited? The roles of plant/canopy architecture on inoculum interception, on epidemic development via the microclimate and on tissue receptivity are discussed. In addition, the concepts of disease avoidance, canopy porosity and an ideotype unfavourable for disease development are described. This paper shows that many advances have already been made, but progress is still required in four main fields: microclimatology, mathematical modelling of plants, molecular genetics and ideotype conception.

B. Tivoli (✉) · B. Richard · D. Andrivon
INRA, UMR1349 IGEPP,
35653 Le Rheu, France
e-mail: bernard.tivoli@rennes.inra.fr

A. Calonnec
INRA SAVE and Université de Bordeaux ISVV,
33883 Villenave d'Ornon, France

B. Ney
AgroParisTech INRA, Environnement et Grandes Cultures,
78850 Thiverval-Grignon, France

Published online: 14 September 2012

Keywords Canopy · Disease avoidance · Ideotype · Leaf area density · Microclimate · Porosity

Introduction

The increase in agricultural production over the past 50 years has been attributed to the improvement of yield potential of major crop cultivars, the improvement of seed quality and the massive use of plant health products during the cropping season. Alternative control methods to reduce the number of pesticide applications have not been extensively developed, and often resistant cultivars have enjoyed a limited success because of the breakdown of major-gene resistance and of the usually lower yields of resistant cultivars compared with their susceptible counterparts sprayed with pesticides. The very high success of controlling plant pests through pesticide applications has limited the amount of attention paid to cultural practices in crop protection systems, in spite of the development of pest genotypes resistant to major pesticide families. The complex problems for human health and environmental protection generated by crop protection systems that have primarily relied on pesticides over the past 30 years, have led to the development of products with significantly reduced toxicity by the pesticide industry and growers' organisations since the turn of the millennium, but also to increased efforts to reduce their overall use. These developments have been strengthened by a global movement on regulation and legislation towards stricter criteria for pesticide

tel-00913095, version 1 - 3 Dec 2013

registration, and by setting ambitious goals for a reduction of pesticide applications. For example, Europe has adopted a revised legislative arsenal on pesticides including several Directives on pesticide registration, marketing (Regulation 1107–2009) and sustainable use (Directive_2009_128_EC), and the French government currently enforces a national action plan for pesticide reduction (the Ecophyto 2018 plan) which aims at halving pesticide applications over a 10-year period. This legislation also withdraws from the market the most toxic molecules (Butault et al. 2010; Ecophyto 2018: http://agriculture.gouv.fr/Ecophyto-in-English). Consequently, low-pesticide systems based on the development of innovative control methods need to be developed and their performance evaluated.

Setting up and implementing alternatives to the 'pesticide only' approach requires research to improve currently existing methods (decision support systems, longer rotations, more robust cultivars), to assess their applicability in practice, but also to develop new knowledge that can be put to use in integrated and innovative crop protection and crop production systems. Among these methods, the exploitation of the architectural features of plants and canopies to reduce disease development has been initiated, but remains insufficiently analysed. Research developed on this topic aims at revisiting the plant - disease interactions within host canopies, in order: i) to analyse how plant architectural traits modify the epidemiological processes, ii) to define which of these traits (alone or in combination, at the scale of the plant or the canopy) can reduce epidemic progress, and iii) to jointly model plant and epidemic disease development.

Plant architecture is a term applied to the organization of plant components in space, which can change with time (Godin et al. 1999). Plant characteristics, mainly plant height, the number of branches, the leaf area, the respective position of the organs (leaf, stem, flowers and fruits), are genetically controlled, but also depend on environmental influences and/or human interventions. In addition, these architectural characteristics and their general form vary during the growth/development stages of plants (Costes et al. 2003; Renton et al. 2006; Barthélémy and Caraglio 2007). They can be modified by human intervention at sowing or planting (plant density, date of sowing (or planting), row spacing, etc), as well as during the vegetative period (irrigation, fertilisation, pruning and trimming, etc), resulting in a multiplicity of plant and canopy architectures.

The aim of this review, which will focus on aerial diseases caused by fungi, is to describe and explain from a global perspective how plant architectural traits induce a more or less severe epidemic, and how pathogens may have adapted to exploit these traits, but not to give an exhaustive presentation of the mechanisms involved in disease reduction in different canopies. In particular, it will focus on three key questions: i) which processes linked to epidemics can architecture influence, ii) how can architecture be characterised relative to these modes of action, and iii) how can its effect be explored and exploited?

Which processes linked to epidemics can architecture influence?

Disease is the consequence of the dynamic interaction between the plant and the pathogen under the influence of the environment and human actions. Due to the plant/canopy plasticity during crop development and the localisation of inoculum sources within the canopy, it is important to consider the simultaneous dynamics of plant/canopy architecture and epidemic development during the cropping season, rather than a snapshot of crop/plant architecture at a single moment or developmental stage. The success of disease epidemics will depend on the initial inoculum pressure and the climatic conditions, but also on the dynamics of canopy architecture and of host receptivity to infection over time. The confrontation between the pathogen and the plant therefore raises three major issues: i) can architecture modify inoculum interception, ii) how does architecture drive the occurrence of microclimatic conditions favourable to epidemic development, and iii) can architecture change the dynamics of tissue receptivity?

Plant architecture and inoculum interception A pathogen's life cycle consists of several successive phases: inoculum interception by the plant, infection (germination, penetration), plant colonisation, spore production, and dispersion (wind or splash dispersion) to other organs, plants and/or canopies (Agrios 2005). Inoculum interception may be qualified as a passive phenomenon, which is not the case for insects where host choice is active. The pathogens may be characterised by several trophic status (from biotrophic to necrotrophic) and the observed symptoms may affect only one or several organs (leaf, stem, flower, fruit and

tel-00913095, version 1 - 3 Dec 2013

grains). Schoeny et al. (2008) showed the relationship between the leaf area index (LAI) and the horizontal dispersal gradient of *Mycosphaerella pinodes* pycniospores on pea. The leaves density measured through the LAI had an effect on the barrier rate increasing with canopy LAI. Similar effects were previously observed in the case of *Colletotrichum acutatum* on strawberry (Yang et al. 1990; Madden et al. 1993), suggesting that the barrier effect is a major contributor to architectural effects in a wide range of pathosystems. For ascochyta blight on chickpea (*Didymella rabiei*), Chang et al. (2007) showed that the high plant densities consistently associated with high levels of ascochyta blight are due on one hand to the high number of plants available to intercept inoculum, and on the other hand to the reduction of air movement within dense canopies, thereby maintaining a more humid microclimate that favours disease development.

Plant architecture and favourable microclimate for epidemic development Most fungal and bacterial pathogens need water (high level of relative humidity, dew, surface moisture of the organ) and certain temperatures to germinate at the surface of the host tissues and to penetrate the host tissues. Most pathogens also need water (rain, passive water movement) and/or wind for dispersal (Mc Cartney and Fitt 1998). In apple orchards, Simon et al. (2006) showed that some trimming systems led to a higher aeration within the trees and, therefore shorter periods of wetness, hence less apple scab infection (*Venturia inaequalis*).

The consequence of unfavourable effects of architectural features of the canopy on disease onset and development is described as 'disease avoidance' or 'disease escape'. This occurs when susceptible plants do not become infected because the factors necessary for disease do not take place at the proper time or for a sufficiently long period (Agrios 2005). Generally, a plant or canopy architecture unfavourable to an aerial epidemic may result in the total avoidance of disease expression, but more frequently reduces disease severity rather than preventing infection completely. Thus, Schwartz et al. (1978) and Park (1993) suggested that, in addition to genetic resistance, the use of a plant architecture which produces a less favourable microenvironment for fungal infection could significantly reduce disease. Coyne et al (1974) indeed observed that a microclimate unfavourable to the development of white mold (*Whetzelina sclerotiorum*) was generated within the canopy by the architecture of some dry bean cultivars. Blad et al. (1978) and Weiss et al. (1980) showed that a very low incidence of white mold is observed in the most open canopies characterised by a warm and dry microclimate, whereas dense canopies with temperatures below 30 °C and high leaf wetness duration and intensity, are highly conducive to the disease. This avoidance mechanism may be attributed to greater air movement within and beneath the canopy by way of a 'tunnel effect' above the open furrow, which contributes to faster drying of the foliage and the soil surface (Fuller et al. 1984). Disease avoidance is frequently described in intercropping systems. For example, mixed crops of faba bean and maize or faba bean and barley reduced the severity of chocolate spot on faba bean (*Botrytis fabae*), because of an increased air flow and consequently less humid conditions within the canopy in comparison to faba bean alone (Sahile et al. 2008).

Plant architecture and tissue receptivity to infection Canopy architecture can modify the physiology of plant organs, leading to major changes in their receptivity to infection and disease. The term receptivity may have different levels of acceptability among authors. For example, for several rust researchers, low receptivity is associated with low-rusting that is partial resistance (Luke et al. 1981). In this paper, we use the term receptivity defined by Rapilly (1991) as the stage of a host tissue at which its level of susceptibility to a pathogen increases independently of all genetic resistance aspects. In particular, architecture impacts senescence, which is often a major factor for tissue receptivity to infection. However, accelerated senescence can either enhance or reduce epidemic development, depending on the pathosystem. For instance, faster senescence (measured by yellowing of the organs) due to shading and plant-to-plant competition is an important component of higher ascochyta blight severity in dense pea stands (Richard et al. 2012). By contrast, ontogenic resistance was defined by Agrios (2005) as an increase in the degree of resistance of a plant to a pathogen with age and the development stage of the plant. In the case of grapevine, this phenomenon which was linked to higher sugar contents in grape leaves, reduces the period of susceptibility to grape powdery mildew (*Erysiphe necator*) to the first few days following leaf emergence (Schnee et al. 2011).

tel-00913095, version 1 - 3 Dec 2013

How to characterise architecture relative to these processes?

As shown above, architecture primarily influences disease development through the spatial density and relative position of organs: it is those traits that determine inoculum interception, microclimate and physiological changes within canopies. These architectural traits relevant for epidemiological investigations could be best integrated into a single architectural variable, the canopy porosity. Several authors have used the integrative terms "porous" or "porosity" to express the ability of the air to go through the canopy and to dry the leaf area, but without giving a precise definition for porosity. Deshpande (1992) characterized the dry bean canopy porosity with a scale scored from 1 to 5 where 1=open canopy with the soil surface between rows completely visible and 5=completely closed canopy over the furrow, no soil visible. An interesting definition of 'optical porosity of a barrier' was made by Lazzaro et al. (2008) in the case of the hedgerows. These authors defined it as the percentage of silhouette that can be crossed by light. This is the sum of the 'holes' in the canopy that allows seeing beyond. As with the cultivated species, the hedgerow acts as a barrier to air flow and the spatial arrangement of branches and leaves may significantly modify the air flow in the canopy.

Porosity characteristics are not easy to describe. In the case of *Phaseolus vulgaris*, an attempt was developed by Campbell (1984), who defined field scoring scales to characterize the canopy components in terms of plant architecture: plant uprightness (from 1: most upright to 5: prostrate), branching over the tunnel formed by the canopy above the furrow (from 1: open to 5: no porosity), tunnel size within furrow (from 1: open rows to 5: no tunnel), or branch density over the row (from 1: highly porous to 5: extremely dense). Unfortunately, these scores are hardly cumulative, and therefore do not provide a quantitative, aggregated measure of porosity. An alternative is to measure crop porosity directly, either through diffuse non-intercepted radiation or from fractal analysis of digitalised 2D pictures of the canopy. Diffuse non-intercepted radiation (DIFN) is an accurate and direct measure of porosity; values range from 0 to 1, where 0 indicates that the sky is not visible to the sensor (entirely compact canopy) and 1 indicates that the foliage is not visible by the sensor (entirely open canopy). Campbell (1984) also used a fractal analysis to measure the light penetration. It consists of taking digital pictures of the top and of the front of the canopy, and to analyse these simultaneously with an image-fractal program, which calculates the count of the open areas in the canopy. The fractal dimension ranges between 1 and 2, where 1 corresponds to a canopy with no tunnel and no porosity and 2 to a totally bright canopy with very little foliage between the rows. This last method needs to be standardised. Several authors have also studied the light microclimate among vegetation components inside the canopy from 3D models (Sinoquet et al. 1998; Massonnet et al. 2008).

In epidemiology, the concept of canopy porosity is not only used to express disease avoidance under the influence of the air movement within the canopy, and consequently the rapid drying of the foliage (Fuller et al. 1984), but also to describe spore propagation inside the canopy. Thus, Deshpande (1992) concluded that a porous canopy would contribute to avoidance of white mold by maintaining effective air circulation in the dry bean canopy. The architectural trait of the canopy which is synonymous with 'porous' is 'upright and open', as opposed to 'prostrate and dense' (Deshpande et al. 1995). For the rust on soybean, Andrade et al. (2009) established a forecast model for escape rate of spores of *Phakopsora pachyrhizi* in relation to the wind flow within soybean canopies. These authors explain that the escape rate of spores depends on the interaction between spores and turbulence within and above an infected canopy, and on the filtering capacity of the canopy to trap upward-travelling spores. The 'barrier effect' described by numerous authors, generally due to high stem densities which prevent horizontal and vertical spore dispersal, clearly corresponds with non-porous canopies.

Canopy porosity can also be approached with the notion of density. Thus in the case of white mold on dry bean, Schwartz et al. (1978) calculated the canopy density (cm/g) as total leaf area (cm^2)/average plant height (cm)×total dry weight (g). On five genotypes, the total canopy density ranging from 2.2 to 3.4, and genotypes with lower canopy densities were significantly less prone to infection. An alternative measure is Leaf Area Density (LAD), defined by Treuhaft et al. (2002) as the total one-sided leaf surface area per unit volume in the canopy. LAD is a good indicator of forest biomass. In plant disease epidemiology, more than plant biomass, this measure may be interesting to assess the canopy density and its impact for intra-canopy microclimate. In the case of grapevine, the strong increase in canopy density in the vigorous stands leading to

tel-00913095, version 1 - 3 Dec 2013

microclimatic conditions (leaf water potential and relative humidity) more conducive to grey mould (*Botrytis cinerea*) was called 'plant vigour' (Valdés-Gomez et al. 2008). Shoot vigour which is one feature of plant architecture related to microclimate, can be evaluated through the rate of leaf appearance, shoot extension and/or increase in cane diameter or biomass. Higher shoot vigour is associated with a significant increase in grey mould incidence at harvest, because leaf water potential and relative humidity inside the canopy increased as vines were more vigorous.

How to explore and exploit these mechanisms for better disease management?

Understanding the complex interactions between architecture and epidemic development obviously requires a true multidisciplinary approach, but also the building of new concepts and methodologies. Many steps forward have already been made, but progress is still required on three main fields: microclimatology, mathematical modelling and molecular genetics. Progress in these areas will contribute to define the plant ideotype unfavourable (or less favourable) to a disease epidemic.

Microclimatology As outlined above, architecture strongly impacts the microclimatic conditions within a canopy, but one important question is to know if it is necessary to consider the microclimatic variables to explain the epidemic development of the diseases, compared to the climatic ones measured outside the canopy (mesoclimate). An interesting example showing the importance of the microenvironmental factors on brown patch disease development on tall fescue was described by Giesler et al. (1996). These authors demonstrated how plant densities (low and high) may act on leaf wetness duration, relative humidity and temperatures (foliage and air), among the climatic conditions observed during three successive seasons. For example, they observed that leaf wetness duration averaged over 10 days was 0.8 h longer in high density than in low density and that relative humidity above 90 % was 2.3 h longer in the highest density. Fortunately, it is now possible to measure and predict most microclimatic variables within a crop canopy. The studies developed for instance by Huber and Gillespie (1992), Makowski et al. (2011) or Bregaglio et al. (2011) on leaf wetness duration and its integration in epidemiological models, are interesting examples. The next stage is now to analyse not only the microclimate within the canopy, but the phylloclimate, i.e. the climate each plant organ, and consequently each pathogen propagule, is exposed to (Chelle 2005). In this type of study, the question is to know how the microclimate may act on the disease development at the organ scale.

Mathematical modelling As shown above, architecture acts on epidemics by the way of complex and sometimes contradictory effects. This complex interplay of direct and indirect effects makes it hard to predict and optimise the architectural traits that will restrict most the disease dynamics from field experiments alone. This is why the development of mathematical models, allowing the quantification of these effects and interactions and the making of predictions through simulation, is of utmost importance. Several attempts in these directions have already shown the power of mathematical models. Ferrandino's (2008) paper is a good example of what mathematical modelling can contribute to the study of the effect of crop growth and canopy filtration on the dynamics of plant diseases spread by aerially dispersed spores. This author, by studying the simultaneous development of host and pathogen, showed that crop growth may have major impact on the development of plant disease epidemics occurring during the vegetative phase of crop growth. More complex mechanistic models have also been developed (Calonnec et al. 2008; Baccar et al. 2011). These models require 'virtual plants', i.e. a mathematical representation of the host structure. Generic 3D descriptions of plant structures are offered by the 'L system' algorithm developed by Prusinkiewicz et al. (1997) but can also be obtained by field measurements, combining description with digitization of plant architectures (Godin et al. 1999), which integrates topology and geometry. However, not all epidemiological models require such detailed descriptions of plant architecture. For instance, Wilson and Chakraborty (1998) developed a virtual plant model to study plant disease interactions. In addition, a new approach to investigate plant-pathogen interactions linked to canopy architecture was described by Robert et al. (2008) and Casadebaig et al. (2012). Finding the proper description of architecture – possibly through integrative variables such as canopy porosity (see above) – and of epidemiological mechanisms remains a major challenge for future work to keep algorithms tractable and

simulations possible within a reasonable time frame while maintaining biological relevance.

Molecular genetics The more intense exploration of plant genomes through better phenotyping techniques and the development of molecular markers and of whole genome sequences, helps in mapping the genes responsible for different architectural traits (Sakamoto and Matsuoka 2004; Ross et al. 2005; Turnbull 2005), but also those for partial resistance. In some cases, genes responsible for architectural traits and resistance QTLs co-localise. For example, Prioul et al. (2004) observed a high relationship between QTLs of pea for resistance to *M. pinodes*, plant height and flowering date. Similarly, Miklas et al. (2003) observed QTLs of resistance to white mold in snap bean associated with canopy height, lodging traits or internode length. The next challenge is to determine whether these co-locations indicate pleiotropic effects of the same genes, or result from insufficient resolution of QTL mapping. The advent of metabolomics, which allows a high-throughput analysis of physiological processes, will be also of great help to unravel the mechanisms behind tissue receptivity, senescence and ontogenic resistance, and to determine whether these mechanisms are also linked to genes involved in architecture.

Ideotype conception As a microclimate unfavourable to disease development may be induced by the canopy, several authors proposed the concept of an architectural ideotype unfavourable to disease epidemics. Coyne et al (1974) defined dry bean ideotypes suitable to limit white mold development to be of sturdy stiff upright determinate or short indeterminate plant habits, consisting of a few main stems long internodes, few short side branches, and small trifoliates. The canopies generated by such genotypes would favour a more rapid drying of the leaf surface, by way of an improved air circulation and a better penetration of light. These authors distinguished these ideotypes from the 'compact dense plants', as the 'dense determinate' dry bean varieties. Later, Schwartz et al. (1978) concluded that a cultivar designed to maximize disease avoidance should possess an upright growth habit, open plant structure, and low canopy density to induce microclimatic conditions within the canopy which are unfavourable to several stages of the disease cycle. Conversely, the genotypes with a significantly denser canopy are very favourable for white mold epidemics. The more critical determinant of disease severity was conferred by the distribution of the leaf area, especially near the ground. In the case of ascochyta blight on pea, Le May et al (2009) concluded that to reduce the wetness period, optimum canopy architecture to reduce the disease includes low LAI (mainly achieved by a low area of stipules), high internode distances and high mean distance between nodes. Such ideotypes, targeted to increase disease avoidance, are of great interest when they are combined with physiological resistance. Therefore breeding programs have been developed to combine disease avoidance and genetic resistance in new cultivars, for instance in dry bean (Coyne et al. 1977; Miklas et al. 2001) or in peanut (Coffelt and Porter 1982). These researches might rapidly allow to combine the architectural traits and other disease control methods (resistance, cultural practices) to reduce the use of pesticides.

Conclusion: an interdisciplinary approach

Research exploring the possibility of using canopy architecture for disease control has considerably progressed during the past 10 years. Currently, many authors do not hesitate to think of 'manipulating' architecture to design agronomical solutions to control diseases, in both annual and perennial crops (Bultzer et al. 1998; Simon et al. 2006; Ando et al. 2007). As shown in this review, the concepts and methods have been improved, and an integrative scientific strategy is now being followed. Two major fields have been covered by the scientists in the agronomy community. The first is to link the dynamics of plant development and of disease epidemics. Therefore, the complementarities among plant pathologists, entomologists, geneticists, agronomists, microclimatologists and mathematical modellers are now evident, and several groups who develop shared concepts, such as the EpiArch network in France, are implementing this multidisciplinary strategy into joint research projects. This perennial network is reinforced by the ARCHIDEMIO project which studies the plant - pathogen interactions within host canopies in four pathosystems: pea/ascochyta blight (*M. pinodes*), potato/late blight (*Phytophthora infestans*), grape/powdery mildew (*E. necator*), and yam/anthracnose (*Colletotrichum gloeosporioides*). The second field is to study the impact of this plant development/disease

tel-00913095, version 1 - 3 Dec 2013

epidemic interaction on yield components and on final yield. As described by Tivoli et al. (2010), this point needs to take into account the effects of key factors such as the time of infection, the site of infection and the intensity of infection.

Acknowledgements The authors are grateful to Pr Sabine Banniza (University of Saskatoon, Canada) for critical comments on the manuscript. This work was granted by Agence Nationale de la Recherche (ANR): project ARCHIDEMIO grant ANR-08-STRA-04.

Open Access This article is distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License which permits any use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author(s) and the source are credited.

References

Agrios, G. N. (2005). Plant Pathology. 5th Edition. Burlington: Elsevier Academic Press.

Ando K., Grumet R., Terpstra K., & Kelly J. D. (2007). Manipulation of plant architecture to enhance crop disease control. CAB Reviews: Perspectives in Agriculture, Veterinary Science, Nutrition and Natural Resources 2, N ° 26. http://www.cababstractsplus.org/cabreviews

Andrade, D., Pan, Z., Dannevik, W., & Zidek, J. (2009). Modeling soybean rust spore from infected canopies: model description and preliminary results. *Journal of Applied Meteorology and Climatology, 48*, 789–803.

Baccar, R., Fournier, C., Dornbusch, T., Andrieu, B., Gouache, D., & Robert, C. (2011). Modelling the effect pf wheat canopy architecture as affected by sowing density on *Septoria tritici* epidemics using a coupled epidemic-virtual model. *Annals of Botany*. doi:10.1093/aob/mcr 126.

Barthélémy, D., & Caraglio, Y. (2007). Plant architecture: a dynamic, multilevel and comprehensive approach of plant form, structure and ontogeny. *Annals of Botany, 99*, 375–407.

Blad, B. L., Steadman, J. R., & Weiss, A. (1978). Canopy structure and irrigation influence white mold disease and microclimate of dry edible beans. *Phytopathology, 68*, 1431–1437.

Bregaglio, S., Donatelli, M., Canfalonieri, R., Acutis, M., & Orlandini, S. (2011). Multimetric evaluation of leaf wetness models for large-area application of plant disease models. *Agricultural and Forest Meteorology, 151*, 1163–1172.

Bultzer, T. M., Bailey, J., & Beute, M. K. (1998). Integrated management of sclerotinia blight in peanut: utilizing canopy morphology, mechanical pruning, and fungicide timing. *Plant Disease, 82*, 1312–1318.

Butault, J. P., Dedryver, C. A., Gary, C., Guichard, L., Jacquet, F., Meynard, J. M., Nicot, P., Pitrat, M., Reau, R., Sauphanor, B., Savini, I., Volay, T., & Ecophyto R&D. (2010). *Which options to reduce pesticide use? Synopsis of the study (8 pp)*. Paris: Institut National de la Recherche Agronomique.

Calonnec, A., Cartolaro, P., Naulin, J. M., Bailey, D., & Langlais, M. (2008). A host-pathogen simulation model: powdery mildew of grapevine. *Plant Pathology, 147*, 493–508.

Campbell, C. L. (1984). A study of the epidemiology of white mold (*Sclerotinia sclerotiorum* Lib. De Bary) in relation to canopy morphology and leaf wetness of *Phaseolus vulgaris*. *M.S. Thesis*, University of Nebraska, Lincoln, Nebraska 124 pp.

Casadebaig, P., Quesnel, G., Langlais, M., & Faivre, R. (2012). A generic model to simulate air-borne diseases as a function of crop architecture. *PLoS ONE* accepted (PONE-D-12 03636R1).

Chang, K. F., Ahmed, H. U., Hwang, S. F., Gossen, B. D., Howard, R. J., Warkentin, T. D., Stelkov, S. E., & Blade, S. F. (2007). Impact of cultivar, row spacing and seeldling rate on ascochyta blight severity and yield of chickpea. *Canadian Journal of Plant Science, 87*, 395–403.

Chelle, M. (2005). Phylloclimate or the climate perceived by individual plant organs: What is it? How to model it? What for? *New Phytologist, 166*, 801–812.

Coffelt, T. A., & Porter, D. M. (1982). Screening peanuts for resistance to sclerotinia blight. *Plant Disease, 66*, 385–387.

Costes, E., Sinoquet, H., Kelner, J. J., & Godin, C. (2003). Exploring within-tree architectural development of two apple cultivars over 6 years. *Annals of Botany, 91*, 91–104.

Coyne, D. P., Steadman, J. R., & Anderson, F. N. (1974). Effect of modified plant architecture of great Northern dry bean varieties (*Phaseolus vulgaris*) on white mold severity, and components of yield. *Plant Disease Reporter, 58*, 379–382.

Coyne, D. P., Steadman, J. R., & Schwartz, H. F. (1977). Reaction of Phaseolus dry bean germplasm to *Sclerotinia sclerotiorum*. *Plant Disease Reporter, 61*, 226–230.

Deshpande, R. Y. (1992). Effect of plant architecture on microclimate, white mold and yield of dry beans (*Phaseolus vulgaris* L.) and implication in disease management. *Ph. D. diss*. Univ. of Nebraska-Lincoln (Diss. Abstr. DA 9237659).

Deshpande, R. Y., Hubbard, K. G., Coyne, D. P., Steadman, J. R., & Parkhurst, A. M. (1995). Estimating leaf wetness in dry bean canopies as a prerequisite to evaluating white mold disease. *Agronomy Journal, 87*, 613–619.

Ferrandino, F. J. (2008). The effect of crop growth and canopy filtration on the dynamics of plant disease epidemics spread by aerial dispersed spores. *Phytopathology, 98*, 492–503.

Fuller, P. A., Steadman, J. R., & Coyne, D. P. (1984). Enhancement of white mold avoidance and yield in dry beans by canopy elevation. *Horticultural Science, 19*, 78–79.

Giesler, L. J., Yuen, G. Y., & Horst, G. L. (1996). The microclimate in tall fescue turf as affected by canopy density and its influence on brown patch disease. *Plant Disease, 80*, 389–394.

Godin, C., Costes, E., & Sinoquet, H. (1999). A method for describing plant architecture which integrates topology and geometry. *Annals of Botany, 84*, 343–357.

Huber, L., & Gillespie, T. J. (1992). Modelling leaf wetness in relation to plant disease epidemiology. *Annual Review of Phytopathology, 30*, 553–577.

Lazzaro, L., Otto, S., & Zanin, G. (2008). Role of hedgerows in intercepting spray drift: evaluation and modelling of the effect. *Agriculture, Ecosystems and Environment, 123*, 317–327.

Le May, C., Ney, B., Lemarchand, E., Schoeny, A., & Tivoli, B. (2009). Effect of pea plant architecture on the spatio-temporal epidemic development of ascochyta blight (*Mycosphaerella pinodes*) in the field. *Plant Pathology, 58*, 332–343.

tel-00913095, version 1 - 3 Dec 2013

tel-00913095, version 1 - 3 Dec 2013

Luke, H. H., Pfahler, P. L., & Barnett, R. D. (1981). Influence of disease severity and environmental conditions on low receptivity of oats to crown rust. *Plant Disease, 65*, 125–127.

Madden, L. V., Wilson, L. L., & Ellis, M. A. (1993). Field spread of anthracnose fruit rot of strawberry in relation to ground cover and ambient weather conditions. *Plant Disease, 77*, 861–866.

Makowski, D., Bancal, R., & Vicent, A. (2011). Estimation of leaf wetness duration requirements of foliar fungal pathogens with uncertain data. An application to Mycosphaerella nawae. *Phytopathology, 101*, 1346–1354.

Massonnet, C., Regnard, J. L., Lauri, P. E., Costes, E., & Sinoquet, H. (2008). Unraveling the relative contributions of foliage distribution and leaf functions to branch capacities in two apple cultivars. *Tree Physiology, 28*, 665–678.

Mc Cartney, H. A., & Fitt, B. D. L. (1998). Dispersal of foliar fungal plant pathogens: mechanisms, gradients and spatial patterns. In D. G. Jones (Ed.), *The epidemiology of plant diseases* (pp. 138–160). Dordrecht: Kluwer Academic Publishers.

Miklas, P. N., Delorme, R., & Riley, R. (2003). Identification of QTL conditioning resistance to white mold in snap bean. *Journal of the American Society for Horticultural Science, 128*, 564–570.

Miklas, P. N., Johnson, W. C., Delorme, R., & Gepts, P. (2001). QTL conditioning physiological resistance and avoidance to white mold in dry bean. *Crop Science, 41*, 309–315.

Park, S. J. (1993). Response of bush and upright plant type selections to white mold and seed yield of common beans grown in various row widths in southern Ontario. *Canadian Journal of Plant Science, 73*, 265–272.

Prioul, S., Frankewitz, A., Deniot, G., Morin, G., & Baranger, A. (2004). Mapping of quantitative trait loci for partial resistance to *Mycosphaerella pinodes* in pea (*Pisum sativum* L.), at the seedling and adult stages. *Theorical Applied Genetics, 108*, 1322–1334.

Prusinkiewicz, P., Hammel, M., Hanan, J., & Mech, R. (Eds.). (1997). *Visual models of plant development*. Berlin: Springer.

Rapilly, F. (1991). *L'épidémiologie en pathologie végétale: mycoses aériennes*. Paris: Institut National de la Recherche Agronomique.

Renton, M., Guédon, Y., Godin, C., & Costes, E. (2006). Similarities and gradients in growth unit branching patterns during tree ontogeny based on a stochastic approach in 'Fuji' apple trees. *Journal of Experimental Botany, 57*, 3131–3143.

Richard, B., Jumel, S., Rouault, F., & Tivoli, B. (2012). Plant stage and organ age, two factors that affect pea (*Pisum sativum*) receptivity to ascochyta blight (*Mycosphaerella pinodes*). *European Journal of Plant Pathology, 132*, 367–379.

Robert, C., Fournier, C., Andrieu, B., & Ney, B. (2008). Coupling a 3D virtual wheat (*Triticum aestivum*) plant model with a *Septoria tritici* epidemic model (Serpto3D): a new approach to investigate plant-pathogen interactions linked to canopy architecture. *Functional Plant Biology, 35*, 997–1013.

Ross, J. J., Reid, J. B., Weller, J. L., & Symons, G. M. (2005). Shoot architecture I. Regulation of stem length. In C. G. N. Turnbull (Ed.), *Plant architecture and its manipulation, Annual Plant Reviews, Volume 17*, (pp 57–91). Blackwell Publishing, CRC Press.

Sahile, S., Fininsa, C., Sakhuja, P. K., & Ahmed, S. (2008). Effect of mixed cropping and fungicides on chocolate spot (Botrytis fabae) of faba bean (Vicia faba) in Ethiopia. *Crop Protection, 27*, 275–282.

Sakamoto, T., & Matsuoka, M. (2004). Generating high-yielding varieties by genetic manipulation of plant architecture. *Current Opinion in Biotechnology, 15*, 144–147.

Schoeny, A., Menat, J., Darsonval, A., Rouault, F., Jumel, S., & Tivoli, B. (2008). Effect of pea canopy architecture on splash dispersal of *Mycosphaerella pinodes* conidia. *Plant Pathology, 57*, 1073–1085.

Schwartz, H. F., Steadman, J. R., & Coyne, D. P. (1978). Influence of *Phaseolus vulgaris* blossoming characteristics and canopy structure upon reaction to *Sclerotinia sclerotiorum*. *Phytopathology, 68*, 465–470.

Schnee, S., Jolivet, J., & Calonnec, A. (2011). Consideration of dynamical plant-pathogen interactions for an improved management of powdery mildew epidemics in grapevine. *Integrated protection and production in viticulture. OIBC/wprs Bulletin, 67*, 131–138.

Simon, S., Lauri, P. E., Brun, L., Defrance, H., & Sauphanor, B. (2006). Does manipulation of fruit-tree architecture affect the development of pests and pathogens? A case study in an organic apple orchard. *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology, 81*, 765–773.

Sinoquet, H., Thanisawanyangkura, S., Mabrouk, H., & Kasemsap, P. (1998). Characterisation of the light environment in canopies using 3D digitising and image processing. *Annals of Botany, 82*, 203–212.

Tivoli, B., Le May, C., Schoeny, A., Jeuffroy, M. H., & Ney, B. (2010). Impact of ascochyta blight on spring pea functioning and yield. In Editions Quae (Ed.), *Physiology of pea crop*, (pp 182–193). Versailles: CRC Press.

Treuhaft, R. N., Asner, G. P., Law, B. E., & Van Tuyl, S. (2002). Forest leaf area density profiles from the quantitative fusion of radar and hyperspectral data. *Journal of Geophysical Research, 107*(D21), 7-1–7-13.

Turnbull, C. G. N. (2005). Plant architecture and its manipulation. In C. G. N. Turnbull (Ed.), *Annual Plant Reviews, 17* (322 pp). Blackwell Publishing, CRC Press.

Valdés-Gomez, H., Fermaud, M., Roudet, J., Calonnec, A., & Gary, C. (2008). Grey mould incidence is reduced on grapevines with lower vegetative and reproductive growth. *Crop Protection, 27*, 1174–1186.

Weiss, A., Hipps, L. E., Blad, B. L., & Steadman, J. R. (1980). Comparison of within-canopy microclimate and white mold disease (*Scerotinia scerotiorum*) development in dry edible beans as influenced by canopy structure and irrigation. *Agricultural Meteorology, 22*, 11–21.

Wilson, P. A., & Chakraborty, S. (1998). The virtual plant: a new tool for the study and management of plant diseases. *Crop Protection, 17*, 231–239.

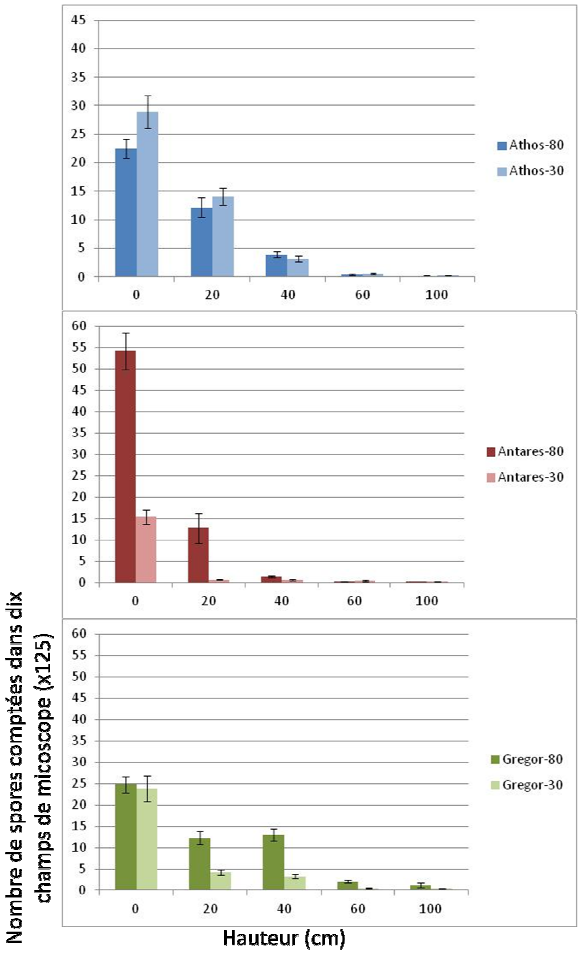
Yang, X., Madden, L. V., Wilson, L. L., & Ellis, M. A. (1990). Effects of surface topography and rain intensity on splash dispersal of *Colletotrichum acutatum*. *Phytopathology, 80*, 1115–1120.

tel-00913095, version 1 - 3 Dec 2013

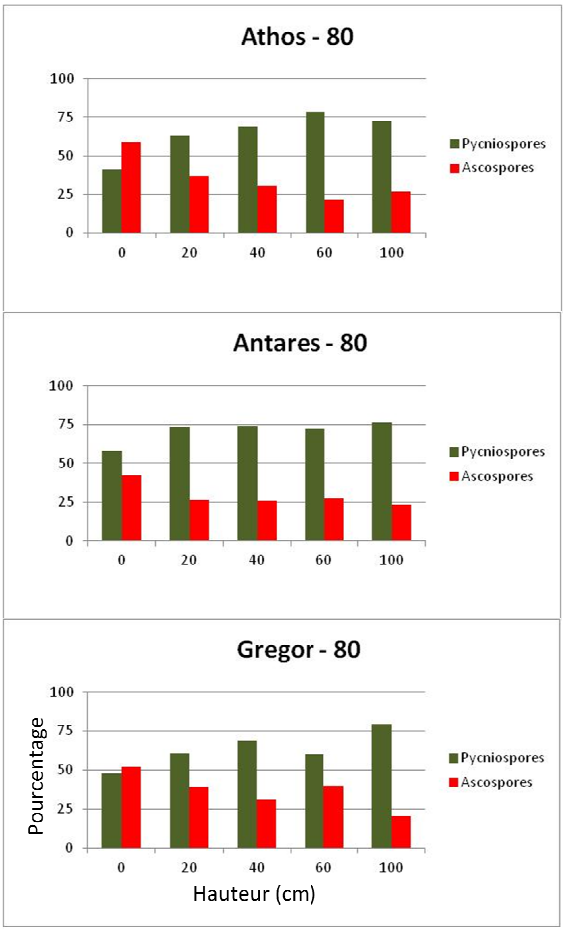
Annexe II – Piégeage de spores

Piégeage du 21 au 25 juin 2010

Nombre de spores interceptées à cinq hauteurs dans le couvert (0, 20, 40, 60 et 100 cm à partir du sol).



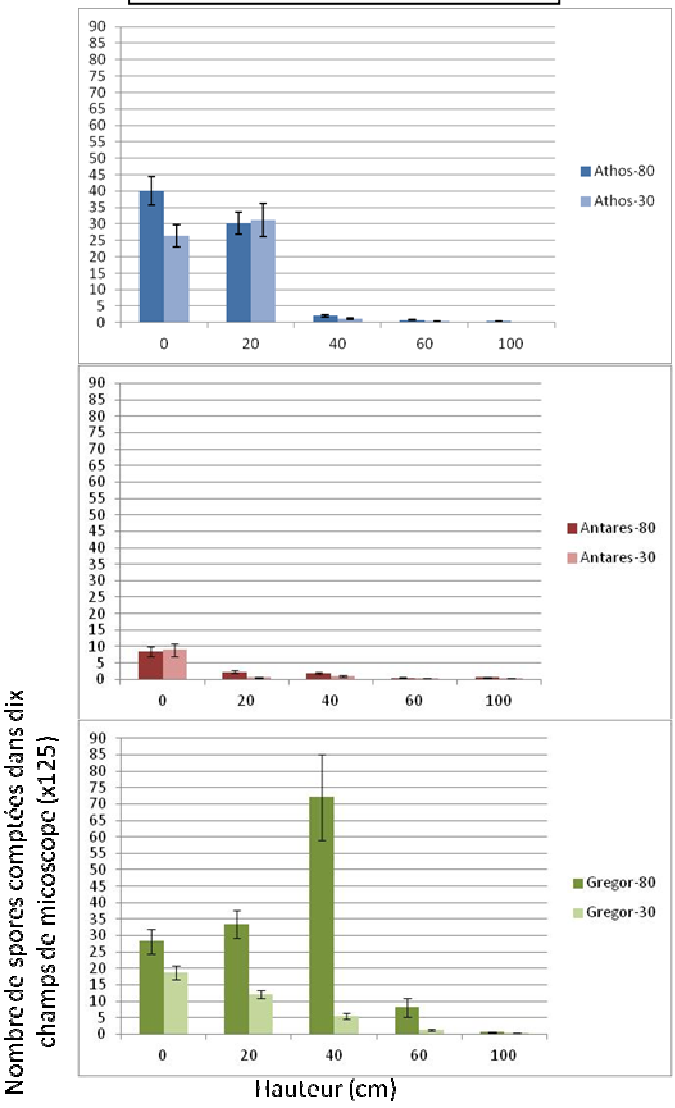
Ratio entre pycniospores et ascospores à cinq hauteurs de piégeage



tel-00913095, version 1 - 3 Dec 2013

Piégeage du 2 au 7 juillet 2010

Nombre de spores interceptées à cinq hauteurs dans le couvert (0, 20, 40, 60 et 100 cm à partir du sol).



tel-00913095, version 1 - 3 Dec 2013

TITRE: Analyse des interactions dynamiques entre le développement de la plante hôte, l'architecture du couvert et le développement d'une épidémie de maladie fongique aérienne : cas du pathosystème pois/ascochytose.

RESUME : L'architecture du couvert constitue un levier susceptible de limiter le développement épidémique des mycoses aériennes des plantes. La grande variabilité des caractéristiques architecturales du pois fait du pathosystème *Mycosphaerella pinodes*/pois un candidat idéal pour une telle étude. Deux hypothèses sont testées pour expliquer la montée de la maladie de la base vers le haut du couvert en cours de culture : i) la présence d'un gradient de réceptivité des organes du pois liée à leur niveau de sénescence, et ii) la présence d'un gradient d'humectation avec une durée d'humectation plus longue à la base des couverts. Au champ, trois cultivars ont été semés à plusieurs densités afin d'obtenir divers scénarios architecturaux. Les couverts les plus denses présentent des niveaux de sénescence plus élevés générés par les indices de surface foliaire des étages supérieurs ainsi qu'un niveau de maladie plus sévère. Une étude analytique complémentaire, réalisée en conditions contrôlées, a montré la plus grande réceptivité à l'ascochytose des organes sénescents. Les mesures microclimatiques montrent une augmentation générale de la durée d'humectation au sein des couverts par rapport à l'extérieur durant les périodes pluvieuses, seules périodes favorables à l'infection d'après notre modélisation adaptée du modèle de Magarey et al. Nos résultats montrent ainsi que l'architecture impacte directement et indirectement le développement épidémique, mais ne peut fournir seule un échappement total à la maladie ; elle doit donc être combinée à d'autres méthodes de lutte.

TITLE: Analysis of dynamic interactions between host plant development, canopy architecture and development of aerial (foliar) fungal diseases: study of the pathosystem Ascochyta blight/pea.

ABSTRACT: Canopy architecture is a driver to limit the development of fungal aerial diseases. The architectural variability of cultivated pea makes the pathosystem ascochyta blight-pea an excellent candidate for such a study. Here, we tested two sets of hypotheses to explain the disease progress from the bottom to the top of the canopy during the cropping season: i) the presence of a receptivity gradient of pea organs linked to their senescence level, and ii) the presence of a wetness gradient with longer leaf wetness duration (LWD) at the bottom of the canopies. Field trials involved three cultivars, differing by their architectural features and sown at different densities to generate contrasted architectural scenarios. Greater senescence and disease levels were obtained in the densest canopies, due to shading caused by the high leaf area indexes of the upper layers. Experiments under controlled conditions also showed that senescent organs were more susceptible to the disease. Moreover, LWDs, recorded at the bottom and mid-level of the canopies, were favourable for disease infection only during rainy periods, according to a model adapted from Magarey et al. During these periods, LWDs were longer inside the canopy than above it. Our results thus show that canopy architecture impacts epidemic development both directly and indirectly, but cannot provide alone a full disease escape. It can thus usefully be combined with other disease management methods such as genetic resistance.

Discipline : Pathologie végétale

Mots clés : Archidemio, architecture des couverts, durée d'humectation, indice de surface foliaire, microclimat, modèle de Magarey, *Mycosphaerella pinodes*, *Pisum sativum*, réceptivité, sénescence

Laboratoire d'accueil : INRA – Centre de recherche agronomique de Rennes, Unité Mixte de Recherche INRA-Agrocampus Ouest-Université de Rennes I, 'Institut de Génétique, Environnement et Protection des Plantes' (IGEPP)

Domaine de la Motte, BP 35327, 35 653 LE RHEU Cedex, FRANCE