

UNIVERSITE MONTPELLIER II
SCIENCES ET TECHNIQUES DU LANGUEDOC

THESE

pour obtenir le grade de

DOCTEUR DE L'UNIVERSITE MONTPELLIER II

Discipline : Epidémiologie végétale

Formation Doctorale : Ressources Phytogénétiques et Interactions biologiques

Ecole Doctorale : Biologie Intégrative

**Analyse et modélisation épidémiologique
de la tache angulaire du haricot (*Phaseolus vulgaris*)
due à *Phaeoisariopsis griseola***

présentée et soutenue publiquement

par

Delphine Allorent

le 9 mai 2005

JURY

J.L. Notteghem	Professeur, ENSA Montpellier	Président
S. Savary	Directeur de Recherche, IRD	Directeur de thèse
C. Lannou	Chargé de Recherche, INRA Grignon	Rapporteur
P. Lucas	Directeur de Recherche, INRA Rennes	Rapporteur
P. Nicot	Directeur de Recherche, INRA Avignon	Examineur
I. Olivieri	Professeur, Université Montpellier 2	Examineur



Remerciements

Cette thèse a été initiée dans une équipe IRD rattachée à l'UMR CBGP située à Montpellier. Elle a été financée dans le cadre du projet Européen ALS-RESIST No ICA4-CT-2000-30004 qui s'est déroulé d'octobre 2000 à octobre 2004.

Les différents partenaires de ce projet étaient :

- **CATIE, Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza (Costa Rica)**
- **EMBRAPA, Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária 'Arroz e Feijão' (Brésil)**
- **IRD, Institut de Recherche et Développement (UMR CBGP, France)**
- **Université Agronomique de Gembloux (Belgique)**

La thèse s'est déroulée dans ces quatre institutions avec des séjours de 1 an et trois mois au Costa Rica, 3 mois en Belgique et 5 mois au Brésil, pour la réalisation d'expérimentations spécifiques semi contrôlées et de terrain.

Je voudrais remercier les différents partenaires du projet Européen ALS-RESIST qui m'ont permis d'effectuer cette thèse dans de bonnes conditions en m'accueillant chacun dans leurs unités.

Tout d'abord je remercie Serge Savary, mon directeur de thèse, et Laetitia Willocquet pour leur accueil au CATIE au Costa Rica au sein de leur équipe IRD. Merci Serge pour m'avoir fait découvrir le domaine de l'épidémiologie végétale que je ne connaissais pas, et pour m'avoir fait partager tes connaissances et tes expériences tant théoriques que du terrain. Je remercie également Laetitia pour son aide, ses conseils et ses encouragements.

Je remercie Philippe Lepoivre, coordinateur du projet ALS-RESIST et Jean Pierre Busogoro pour leur accueil chaleureux à l'Université de Gembloux en Belgique, leur disponibilité et leurs précieux conseils.

Un grand merci à Aloisio Sartorato qui m'a accueilli les bras ouverts à l'EMBRAPA 'Arroz e feijão' au Brésil, pour m'avoir apporté tous les moyens techniques et les conseils

dont j'ai eu besoin lors de mon séjour, pour sa sympathie et sa patience à supporter mon 'portugol' qui deviendra peut être une langue à part entière...

Je voudrais remercier les personnes qui ont participé à mes comités de thèse pour leurs conseils et leurs suggestions : Jean Pierre Busogoro, Christian Lannou, Philippe Lucas, Serge Morand, Jean Loup Notteghem, Guy Raynal, Serge Savary et Laetitia Willocquet.

Je voudrais remercier les membres du jury d'avoir participer à ma soutenance : Christian Lannou, Philippe Lucas, Philippe Nicot, Jean Loup Notteghem, Isabelle Olivieri et Serge Savary.

Je voudrais également remercier toutes les personnes avec qui j'ai travaillé durant ces trois années. Merci à Jean Louis Janeau pour sa venue au CATIE lors de la mise en place des premières expériences de simulations de pluie, son humour et sa bonne humeur. Je remercie Aldo, Carmen et Arturo aux côtés de qui j'ai travaillé durant plus d'une année au CATIE, qui m'ont beaucoup aidé pour la réalisation des expérimentations, qui ont été d'une patience admirable lors de mon apprentissage des subtilités de la langue, et avec qui j'ai partagé des moments inoubliables. Je remercie également Lourival et Francisco qui m'ont aidé à l'EMBRAPA toujours avec le sourire et avec beaucoup d'humour (Je n'ai pas tout compris!). Je remercie Serge Morand, Isa, Claire, Nathalie G., Karine et Nathalie C. qui m'ont soutenu lors de mes séjours au CBGP.

Merci à Armando, Claudio, Martin y Maybelin, Juan Camilo, Carole, Sergio, Anabella, Alexandra, Francisco, Luisa, Alex, Peter, Isa, Pieril, Nathalie, Tim, Abileni, Melissa, Carolina, Catherine, Gordian, Rachid, Mara, Tatiana, Simone, Emmanuel, Laísa, Celsius, Tchaí, Djogo, Leo, Viniscus, toute la petite famille d'Iranete qui m'est si chère, pour m'avoir fait partager des petits bouts de leur vie, des histoires de leur pays, leurs coutumes, leurs envies, leurs incompréhensions, leurs joies... et pour qui j'ai une profonde amitié. Merci...

Merci à Jules, Sophie et Sam, Cécile, JB et Céllinda, Nadia, Marie et Jo, Marc, la famille Malderez, Isa et Kamel, Anaïke, à ma famille et à ma mère en particulier, qui m'ont soutenu et motivé jusqu'à la fin...

**On dit que les voyages forment la jeunesse
Alors pas question de vieillir !**

Sommaire

SOMMAIRE

Introduction générale	1
Chapitre 1 - Pathosystème <i>Phaseolus vulgaris</i> - <i>Phaeoisariopsis griseola</i>	
<hr/>	
I. <u>Problématique</u>	3
II. <u>Revue de bibliographie</u>	5
A. <u>La plante hôte</u>	5
B. <u>Le pathogène</u>	7
C. <u>La tache angulaire</u>	9
D. <u>Synthèse des caractéristiques épidémiologiques</u>	10
<u>Synopsis en français du manuscrit 1</u>	10
<i>Une analyse - système des caractéristiques épidémiologiques de la tache angulaire du haricot commun</i>	
<u>Manuscrit 1</u>	15
<i>A systems analysis of the epidemiological characteristics of angular leaf spot of bean</i>	
III. <u>Objectifs spécifiques de la thèse</u>	41
Chapitre 2 – Processus monocyclique	
<hr/>	
I. <u>Problématique</u>	42
II. <u>Expérimentations</u>	44
A. <u>Dissémination des spores par la pluie</u>	44
<u>Synopsis en français du manuscrit 2</u>	44

Analyse de la dissémination des spores de *Phaeoisariopsis griseola* dans un couvert végétal de haricot infecté à partir de deux sources d'inoculum

Manuscrit 2.....48

Analysis of rain-induced spore dispersal in a bean stand infected by *Phaeoisariopsis griseola* with two locations of inoculum sources

B. Dissémination des spores par le vent.....67

1. Introduction.....67

2. Matériel et méthodes.....67

3. Résultats.....72

4. Discussion.....73

C. Auto- et alloinfection.....75

Synopsis en français du manuscrit 3.....75

Autoinfection et alloinfection de la tache angulaire du haricot commun étudiées sous simulations de pluie

Manuscrit 3.....79

Autoinfection and alloinfection in angular leaf spot of bean under simulated rainfalls

D. Mobilisation de l'inoculum.....94

Synopsis en français du manuscrit 4.....94

Quantification et modélisation de la mobilisation de l'inoculum à partir de tissus infectés dans le couvert et défoliés au sol dans des épidémies de tache angulaire du haricot commun

Manuscrit 4.....99

Quantifying and modelling the mobilisation of inoculum from diseased leaves and defoliated tissues in epidemics of angular leaf spot of bean

E. Sporulation des lésions situées sur des tissus infectés dans le couvert et défoliés au sol.....127

1. Introduction.....127

2. Matériel et méthodes.....127

3. Résultats.....129

4. Discussion.....133

III. <u>Synthèse</u>	135
-----------------------------------	------------

Chapitre 3 – Effets épidémiologiques de la résistance partielle, l'âge des plantes et l'âge des feuilles

I. <u>Problématique</u>	137
--------------------------------------	------------

II. <u>Revue de bibliographie</u>	139
--	------------

<i>A. <u>La résistance partielle, l'âge des plantes et l'âge des feuilles</u></i>	139
<i>et leurs conséquences épidémiologiques</i>	

<i>B. <u>Cas du pathosystème Phaseolus vulgaris - Phaeoisariopsis griseola</u></i>	141
--	------------

III. <u>Expérimentations</u>	143
---	------------

<i>A. <u>Effet de l'âge des plantes et des feuilles sur différentes</u></i>	143
<i>caractéristiques épidémiologiques de la maladie</i>	

1. Introduction	143
------------------------------	------------

2. Matériel et méthodes	143
--------------------------------------	------------

3. Résultats	148
---------------------------	------------

4. Discussion	157
----------------------------	------------

<i>B. <u>Composantes de résistance partielle</u></i>	157
---	------------

1. Introduction	157
------------------------------	------------

2. Matériel et méthodes	157
--------------------------------------	------------

3. Résultats	165
---------------------------	------------

4. Discussion	174
----------------------------	------------

IV. <u>Synthèse</u>	176
----------------------------------	------------

Chapitre 4 – Effets épidémiologiques de la diversité végétale

I. <u>Problématique</u>	178
II. <u>Revue de bibliographie</u>	180
A. <u>La diversité végétale et ses conséquences épidémiologiques</u>	180
1. Effets de la densité du couvert végétal.....	181
2. Effets des associations intraspécifiques.....	182
3. Effets des associations interspécifiques.....	185
B. <u>Cas du pathosystème Phaseolus vulgaris - Phaeoisariopsis griseola</u>	186
III. <u>Expérimentations</u>	187
1. Introduction.....	187
2. Matériel et méthodes.....	188
3. Résultats.....	194
4. Discussion.....	205
IV. <u>Synthèse</u>	209
Conclusions et perspectives.....	210
Références bibliographiques.....	218
Valorisation de la thèse.....	237

Introduction générale

Les maladies des plantes font partie intégrante des écosystèmes naturels et s'y développent généralement sur un mode endémique. Dans les écosystèmes fortement anthropisés, et en particulier dans les agro-écosystèmes, certaines pratiques agricoles dérèglent les mécanismes naturels assurant la stabilité du système. Les épidémies sont souvent le résultat de cette dérégulation (Zadoks et Schein, 1979), comme cela a été le cas dans les années 1970 pour la rouille fusiforme du pin (*Cronartium fusiforme*) et pour l'helminthosporiose du maïs (*Helminthosporium maydis*). Ces pratiques agricoles incluent une augmentation de la taille et une agrégation des surfaces cultivées, une augmentation de la densité et de l'uniformité des plantes hôtes, une réduction de la diversité variétale ou spécifique (Wolfe, 1995) et une augmentation de la spécialisation qui encourage la mise en place de monocultures continues, avec des rotations des cultures moins nombreuses (Zadoks et Schein, 1979). De plus, l'intensification et la spécialisation des surfaces cultivées amènent à d'autres pratiques agricoles, telles que la fertilisation, l'irrigation et les modifications de l'environnement des cultures, qui contribuent à une augmentation de la quantité initiale de maladie (x_0) et/ou du taux d'infection (r) (x_0 et r , au sens de Van der Plank, 1963) (Palti, 1981). Dans le cadre de l'étude du fonctionnement d'un agro-écosystème, l'intérêt de l'épidémiologiste réside dans les composantes et les sous-systèmes affectant le pathosystème constitué par un peuplement de plantes hôtes et une population de pathogènes en interaction. Ainsi, il apparaît important d'étudier les effets des pratiques agricoles (Palti, 1981), incluant le système de gestion des maladies, sur les épidémies.

Une première étape de l'étude de ces interactions complexes est d'avoir une vision d'ensemble des caractéristiques épidémiologiques du pathosystème et du fonctionnement des épidémies (Zadoks et Schein, 1979; Kranz et Hau, 1980; Campbell et Madden, 1990).

Le pathosystème *Phaseolus vulgaris* - *Phaeoisariopsis griseola* est un support de recherche intéressant pour plusieurs raisons. D'une part, le cycle d'infection du pathogène ne fait intervenir qu'un seul type de propagules, ce qui limite la complexité du système à étudier. D'autre part, l'analyse de ce pathosystème peut apporter des éléments de réflexion et d'expérimentations pour d'autres maladies proches, telles que les cercosporiose de l'arachide (Plaut et Berger, 1980; Alderman et al., 1989; Savary et Servat, 1991) ou du celeri (Berger, 1975) par exemple ou les maladies foliaires de la luzerne (dues notamment aux genres *Cercospora* et *Leptosphaerulina*, Thal et Campbell, 1988; Duthie et Campbell, 1991), qui ont des caractéristiques épidémiologiques communes à la tache angulaire du haricot. Notamment,

l'une des caractéristiques épidémiologiques qui a été peu étudiée est la présence d'une défoliation des tissus malades qui, pour ce genre de pathogènes hémi-biotrophes, peut influencer la dynamique des épidémies. En effet, les tissus malades défoliés et localisés sur le sol représentent une source d'inoculum supplémentaire qui peut contribuer aux infections dans le couvert.

Bien que l'agent pathogène fût décrit pour la première fois en Italie en 1878 (Allen et al., 1998), il existe peu d'information sur l'épidémiologie de la tache angulaire du haricot. Les méthodologies concernant la multiplication du pathogène au laboratoire étant cependant connues, des expériences peuvent être mises en place rapidement afin de répondre aux questions de recherche abordées.

Cette thèse est constituée de quatre chapitres. Au début de chacun des chapitres, une problématique situe le contexte de recherche. Le premier chapitre présente les attributs épidémiologiques du pathosystème *P. vulgaris* - *P. griseola*, ainsi que l'élaboration d'une structure de modèle synthétisant les informations disponibles et à l'aide duquel des axes de recherche sont définis. Ces axes de recherche sont ensuite abordés dans les chapitres 2, 3 et 4. Le deuxième chapitre porte sur certains sous-processus importants du processus monocyclique comme la dissémination des spores par différents mécanismes à partir des deux sources d'inoculum (tissus malades dans le couvert et défoliés sur le sol). Les chapitres trois et quatre concernent quant à eux les interactions entre le pathosystème, l'environnement et l'homme par ses pratiques agricoles. Les effets de l'âge des plantes, de l'âge des feuilles et de la résistance partielle sur les épidémies sont plus particulièrement étudiés dans le troisième chapitre, ainsi que les effets de la diversité végétale sur les épidémies dans le quatrième chapitre.

Chapitre 1

***Pathosystème
Phaseolus vulgaris - Phaeoisariopsis griseola***

I. Problématique

L'épidémiologie végétale peut être définie comme étant la science des maladies des plantes à l'échelle de populations (Van der Plank, 1963). Les populations d'hôtes interagissent avec les populations de pathogènes, l'environnement et l'homme (tétraèdre, Zadoks et Schein, 1979). Pour comprendre comment fonctionnent ces interactions, une analyse du pathosystème dans son environnement est nécessaire. En raison de la complexité des interactions, celles qui ont une importance particulière dans la mise en place et le déroulement des épidémies doivent être mises en évidence. L'analyse des systèmes fournit une méthodologie aidant à identifier les interactions importantes, caractériser la structure essentielle du pathosystème et prédire l'effet d'une action (facteur) sur les épidémies (Zadoks, 1971; Zadoks et Schein, 1979; Kranz et Hau, 1980; Savary, 1995). La première étape est de synthétiser le savoir existant, ce qui conduit à formuler et hiérarchiser des hypothèses. Ces hypothèses sont alors testées à l'aide d'expériences et un modèle synthétique peut être élaboré qui donne une vision générale du fonctionnement du pathosystème. Cette vision peut ne pas coïncider avec le fonctionnement observé du système, ce qui conduit à une identification de lacunes dans les connaissances. Ces lacunes peuvent alors faire l'objet d'expériences spécifiques. Ainsi l'analyse des systèmes apporte un outil de recherche qui permet d'étudier des aspects mal connus du système étudié.

Cette approche générale est l'outil de recherche qui a été choisi pour étudier le fonctionnement du pathosystème *Phaseolus vulgaris - Phaeoisariopsis griseola*, puisque peu d'informations sont disponibles concernant l'épidémiologie de la maladie. La littérature rapporte des études très détaillées de quelques étapes du cycle du champignon, variant selon différents facteurs biotiques ou abiotiques, sans qu'aucun lien n'ait été établi entre ces différentes études et le fonctionnement des épidémies. Pour progresser dans la compréhension des épidémies de tache angulaire du haricot commun, les caractéristiques épidémiologiques les plus importantes, c'est-à-dire pour lesquelles des variations ont le plus d'impact sur les épidémies, doivent être mises en évidence. Un modèle synthétique est nécessaire qui rassemblerait les informations disponibles et soulignerait les lacunes importantes dans le fonctionnement des épidémies qu'il faudrait alors quantifier expérimentalement.

Chapitre 1 – Pathosystème Phaseolus vulgaris - Phaeoisariopsis griseola

Ce premier chapitre porte sur une synthèse bibliographique concernant le pathosystème *Phaseolus vulgaris* - *Phaeoisariopsis griseola*, instrumentée par une structure de modèle décrivant les principales caractéristiques épidémiologiques de la maladie et les paramètres et facteurs qui les influencent. L'objectif de cette synthèse bibliographique n'est pas de rapporter des informations de manière exhaustive, mais plutôt de se concentrer sur les caractéristiques épidémiologiques de la maladie qui peuvent nous amener à mieux comprendre les épidémies de tache angulaire du haricot commun.

II. Revue de bibliographie

A. La plante hôte

Le haricot commun (*Phaseolus vulgaris* L.) appartient à la sous-tribu des *Phaseolinae*, tribu des *Phaseoleae*, famille des *Fabaceae* et ordre des Fabales. Le haricot commun fut domestiqué à partir de deux centres géographiques majeurs, l'un Méso-américain (Amérique Centrale), l'autre Andin (zone andine de l'Amérique du Sud) (Gepts et Debouck, 1991). La domestication du haricot commun en deux centres géographiques différents a entraîné l'apparition de deux groupes de génotypes distinguables par des critères morphologiques, biochimiques et moléculaires (Singh et al., 1991). Les génotypes de haricot commun ont été divisés en six races : trois races (Mesoamerica, Jalisco, et Durango) provenant du groupe Mésoaméricain, et trois races (Chile, Péru, et Nueva Granada) provenant du groupe Andin (Singh et al., 1991).

Le haricot commun constitue une source de protéines végétales majeure dans la plupart des pays d'Amérique Centrale et d'Amérique Latine, ainsi que dans de nombreux autres pays du globe, notamment en Afrique. La production mondiale en 2004 était d'environ 19 millions de tonnes (Mt) de haricots secs, dont le haricot commun qui est le plus cultivé. Les principales régions productrices sont l'Asie (8 Mt avec l'Inde : 3 Mt et la Chine : 2 Mt), l'Amérique Latine (6 Mt avec le Brésil : 3 Mt et le Mexique : 1.4 Mt) et l'Afrique (2.6 Mt avec l'Afrique Sub-Saharienne : 2.5 Mt) (figure 1, source FAOSTAT, 2004).

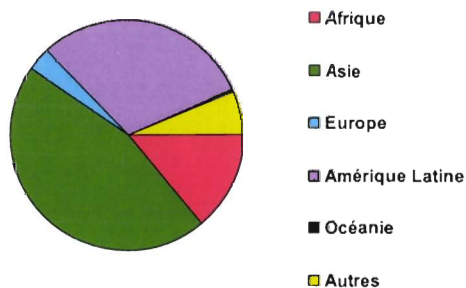


Figure 1. Distribution mondiale de la production de haricots secs.
Source : FAOSTAT, 2004.

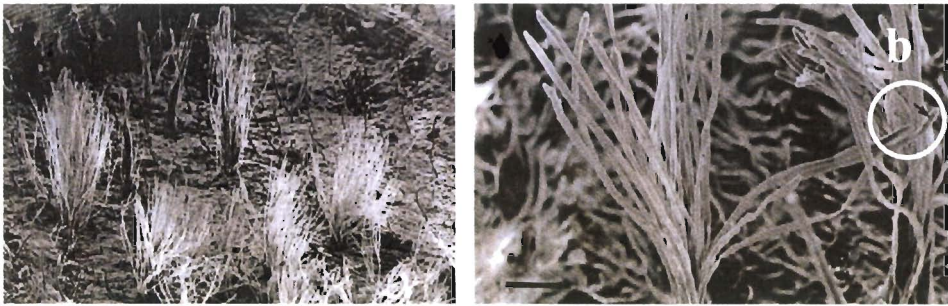


Photo 1. (a) Conidiophores formant les synnemas à la surface inférieure d'une feuille de haricot commun; (b) Spore au sommet d'un conidiophore (voir flèche), la barre représente 30µm; source : Monda et al., 2001.



*Photo 2. Lésions dues à *P. griseola* sur feuilles de haricot commun.*



*Photo 3. Lésions dues à *P. griseola* sur gousses de haricot commun.*

De nombreuses contraintes biotiques et abiotiques peuvent limiter la productivité des cultures de haricot commun, incluant notamment les ravageurs et les maladies. La tache angulaire est considérée comme l'une des plus importantes maladies du haricot commun dans les zones tropicales et subtropicales (Saettler, 1991).

B. Le pathogène

La tache angulaire du haricot commun est causée par le champignon *Phaeoisariopsis griseola* (Sacc.) Ferr., anciennement dénommé *Arthrobotryum puttemansii* Henn., *Cercospora columnaris* Ell. & Ev., *Cercospora griseola* (Sacc.) Raganath. & Ramakr., *Cercospora solimani* Spegazzini, *Cercospora stuhmannii* Henn., *Graphium laxum* Ell., *Isariopsis griseola* Sacc., *Isariopsis laxa* (Ell.) Sacc., *Lindaumyces griseola* Gonz. Frag., *Phaeoisariopsis laxa* (Ell.) Jong & Morris, et *Pseudocercospora columnaris* (Ell. & Ev.) Yen (Correa-Victoria et al., 1989; Deighton, 1990).

Phaeoisariopsis griseola (Sacc.) Ferr. appartient à la sous-division des Deuteromycotina (champignons imparfaits), la classe des Hyphomycètes, l'ordre des Hyphales et la famille des Stibellacées (Allen et al., 1998).

Le champignon pénètre dans la feuille par les stomates et se développe entre les cellules du mésophylle et les cellules palissadiques (Monda et al., 2001). Un stroma est par la suite formé à la surface de la feuille, à partir duquel émergent des conidiophores. Des groupes de 8 à 40 conidiophores sont associés en synnemas (20-40µm de diamètre, 80-500 µm de longueur, photo 1a). Des conidies asexuées (spores) sont formées au sommet des conidiophores (photo 1b). Elles sont de couleur sombre, fusiformes, présentant de 0 à 7 septations et mesurant 3-8µm de largeur × 30-80µm de longueur (Allen et al., 1998). Des variations considérables sont observées au niveau de la taille des spores et du nombre de septations selon les isolats (Buruchara, 1983).

De nombreux auteurs ont mis en évidence un polymorphisme de virulence de divers isolats de *Phaeoisariopsis griseola* sur différentes variétés de haricot commun (Alvarez-Ayala et Schwartz, 1979; Buruchara, 1983; Correa et Saettler, 1986; Correa-Victoria, 1987; Sartorato, 1989; Pastor-Corrales et Jara, 1995; Pastor-Corrales et al., 1998; Nietsche et al., 2001; Mahuku et al., 2002b; Sartorato, 2004).



Photo 4. Extension des lésions et fusion de celles-ci en cas de sévérité élevée.

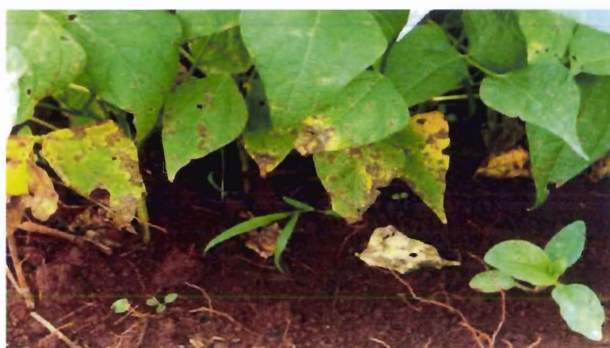


Photo 5. Jaunissement et défoliation des tissus infectés.



Photo 6. Défoliation importante des tissus infectés.

Ce champignon présente une variabilité génétique importante, comme l'ont montré différentes études enzymatiques et moléculaires (Correa-Victoria, 1987; Gúzman et al., 1995; Maya et al., 1995; Pastor-Corrales et Jara, 1995; Chacón et al., 1997; Busogoro et al., 1999; Gúzman et al., 1999; Mahuku et al., 2002a; Mahuku et al., 2002b; Sartorato, 2004). Ces études ont montré que deux groupes majeurs ont évolué dans les populations de *P. griseola*, un groupe Andin et l'autre Mésoaméricain, suggérant une coévolution des isolats de *P. griseola* avec les variétés de *P. vulgaris* (Maya et al., 1995; Pastor-Corrales et Jara, 1995). Les isolats de *P. griseola* du groupe Andin attaquent préférentiellement les variétés de *P. vulgaris* du même groupe génétique, et inversement. Cependant, les isolats de chacun des groupes peuvent attaquer les variétés des deux groupes (Gúzman et al., 1999; Mahuku et al., 2002a). De plus, il a été montré que les isolats des deux groupes peuvent coexister sur une même feuille infectée et au niveau d'une même lésion (Gúzman et al., 1999).

Aucune reproduction sexuée n'a été pour l'instant détectée chez *P. griseola*. La diversité génétique pourrait être due à des phénomènes parasexuels, tels que les mutations, les recombinaisons, les migrations ou les délétions de segments de chromosomes, et la présence de transposons (Mahuku et al., 2002a). L'importance de cette diversité génétique influence et complique les programmes de sélection dans leur recherche de résistance durable du haricot commun à la tache angulaire.

C. La tache angulaire

La tache angulaire a été reportée dans plus de 70 pays des zones tropicales, sub-tropicales et tempérées, incluant l'Afrique, l'Amérique, l'Europe, l'Asie, l'Indonésie, l'Australie, et l'Océanie (Liebenberg et Pretorius, 1997). Des pertes de rendement allant jusqu'à 80% peuvent être observées sur des variétés sensibles de haricot commun (Schwartz et al., 1981).

Les symptômes de la maladie se caractérisent par des lésions sur les feuilles (Photo 2), les tiges et les gousses (Photo 3). La dénomination de 'tache angulaire' vient du fait que les lésions sont généralement limitées par les nervures foliaires (Photo 4). Les lésions s'étendent sur les feuilles et peuvent fusionner en cas de sévérité élevée (Photo 4). Les feuilles atteintes jaunissent et sont défoliées prématurément (Photo 5). Des taux de défoliation très importants peuvent être observés dans certains cas (Photo 6).

D. Synthèse des caractéristiques épidémiologiques

Synopsis en français du manuscrit 1

Une analyse - système des caractéristiques épidémiologiques de la tache angulaire du haricot commun

Introduction

Du fait de l'importance de la tache angulaire dans les zones de production du haricot commun, de nombreuses études se sont tournées vers le pathosystème *Phaseolus vulgaris* - *Phaeoisariopsis griseola*. Néanmoins, très peu de ces études portent sur l'épidémiologie de cette maladie. Nous avons donc voulu analyser et synthétiser les caractéristiques épidémiologiques de la tache angulaire, en les intégrant dans un modèle synthétique. L'approche utilisée est celle de l'analyse des systèmes qui permet de structurer le savoir existant, de formuler et de hiérarchiser des hypothèses, de les tester au cours d'expériences et de proposer un modèle synthétisant le fonctionnement du pathosystème (Zadoks, 1971; Rabbinge et al., 1989; Savary, 1995).

Dans un premier temps, le cycle d'infection du champignon (processus monocyclique, Zadoks et Schein, 1979) a été décomposé en cinq sous-processus : l'établissement des lésions sur l'hôte, l'extension de ces lésions, la défoliation des tissus infectés hôtes, la sporulation des lésions et la dissémination des spores (libération et dépôt sur l'hôte). Ces différentes étapes du cycle ont été examinées et synthétisées dans des sous-modèles. Les paramètres importants intervenant dans le cycle d'infection et les facteurs influençant ces paramètres ont été mis en évidence.

Dans un deuxième temps, ces différents sous-modèles ont été rassemblés dans une seule structure d'un modèle synthétique, afin d'avoir une vision d'ensemble du fonctionnement du système.

Dans une dernière partie, le processus polycyclique a été abordé, sur la base de courbes de progression de maladies obtenues à la station expérimentale de l'EMBRAPA (Brésil) pour des parcelles de haricot sans apport d'inoculum et non traitées avec des fongicides.

Des hypothèses ont été formulées sur le fonctionnement des épidémies de cette maladie, prenant en compte la synthèse des caractéristiques épidémiologiques proposée dans la structure du modèle synthétique.

Synthèse sur le processus monocyclique

Les différentes étapes du cycle ont été analysées et synthétisées dans les sous-modèles A, B, C, D, E et F (figure 1). Les sous-modèles sont reliés ensemble par des coupleurs (Zadoks et Rabbinge, 1985).

Les paramètres importants intervenant dans l'établissement des lésions sur l'hôte (sous-modèle A) sont l'efficacité d'infection et la quantité initiale d'inoculum, qui gouvernent le taux d'infection, et la période de latence (figure 2). L'efficacité d'infection est fonction principalement de la durée d'humectation du couvert (Willoquet et al., 2004). L'infection peut avoir lieu avec une durée minimale de 3h d'humectation du couvert (Cardona-Alvarez et Walker, 1956). La période de latence est fonction de la température et de la combinaison cultivar × isolat considérée. Elle est optimale (la plus courte) à 24°C (Cardona-Alvarez et Walker, 1956; Bassanezi et al., 1997 et 1998).

La vitesse d'extension des lésions (sous-modèle B) chez *P. griseola* est relativement faible (de l'ordre de 0.34mm² par jour) par rapport à d'autres champignons (Berger et al., 1997). Elle est fonction de la température et de la combinaison cultivar × isolat considérée (figure 3). Elle est optimale à 24°C (Inglis et Hagedorn, 1986; Bassanezi et al., 1997 et 1998).

La tache angulaire provoque une défoliation des tissus hôtes, qui peut atteindre des niveaux de 60% des feuilles du couvert au champ (Carneiro et al., 2000). La défoliation des tissus de l'hôte (sous-modèle C) est fonction principalement de la sévérité présente sur ces tissus (figure 4).

La sporulation des lésions (sous-modèle D) est considérée comme intervenant à deux niveaux, sur des feuilles infectées situées dans le couvert et sur des feuilles infectées défoliées situées sur le sol (figure 5). Les facteurs les plus importants influençant la sporulation des lésions sont la durée d'humectation du couvert et la combinaison cultivar × isolat considérée. La formation des synnemmas requiert une période minimale de 24h d'humectation du couvert, et une période minimale de 48h d'humectation du couvert est nécessaire pour une sporulation abondante (Cardona-Alvarez et Walker, 1956).

La dissémination des spores (sous-modèles D et E) de *P. griseola* n'a pratiquement pas été étudiée. Seuls les travaux de Cardona-Alvarez et Walker (1956) ont montré l'influence de la pluie et du vent sur la dissémination des spores. Les particules de sol infecté et les spores transportées par le vent, ainsi que les spores transportées par les gouttelettes d'éclaboussures

(splash) sont des agents de dissémination de la maladie (Cardona-Alvarez et Walker, 1956). Néanmoins, les mécanismes intervenant dans la dissémination des spores n'ont pas été étudiés dans la littérature. Un point intéressant, qui n'a pas été abordé, concerne la libération des spores provenant de deux stocks de spores distincts, celui situé dans le couvert et celui situé sur le sol (figure 6). De même, aucune information n'est disponible concernant le dépôt des spores sur le couvert provenant de ces deux sources (couvert et sol; figure 7).

La figure 8 regroupe les différents sous-modèles A, B, C, D, E et F, en une structure de modèle synthétique qui rend compte des principaux sous processus intervenant lors du processus monocyclique.

Lien entre le processus monocyclique et le fonctionnement des épidémies

Des courbes de progression de maladies ont été obtenues à la station expérimentale de l'EMBRAPA (Brésil), pour des parcelles de haricot sans apport d'inoculum et non traitées avec des fongicides (figure 9). Les épidémies apparaissent tardivement au cours du cycle de culture (vers 60 jours après semis) et augmentent rapidement durant les vingt derniers jours. Les sévérités terminales sont faibles, de l'ordre de 5 à 9% de surface foliaire malade. Ces sévérités sont de l'ordre des sévérités rapportées dans la littérature : de 5% (de Jesus Junior et al., 2001), à 9% (Silva et al., 1998), 23% (Mora et al., 1985), 25% (de Jesus Junior et al., 2003), 27% (Carneiro et al., 1997), 28% (Buruchara et al., 1988), et 29% (Bergamin-Filho et al., 1997). Elles sont la résultante de trois dynamiques : une croissance ralentie du couvert 60 jours après semis, une forte défoliation et une augmentation rapide de la maladie. La défoliation des tissus infectés a plusieurs conséquences sur les épidémies. Elle entraîne une réduction des tissus infectés dans le couvert végétal, et dans le même temps, une élimination du couvert de surfaces foliaires saines qui sont localisées sur ces mêmes tissus infectés. De plus, la défoliation contribue à une modification du microclimat à l'échelle du couvert, qui peut être défavorable à l'intensification de la maladie.

Plusieurs hypothèses peuvent être formulées pour expliquer l'initiation tardive des épidémies de tache angulaire. Elle peut notamment être due à une disponibilité de l'inoculum primaire plus importante ou à une sensibilité de l'hôte qui s'accroît en fin de cycle. Cinq sources d'inoculum sont rapportées dans la littérature : les graines infectées (Orozco-Sarria et Cardona-Alvarez, 1959; Diaz et al., 1965; Sohi et Sharma, 1974; Sindhan et Bose, 1979; Dhingra et Kushalappa, 1980; Sengooba et Mukiibi, 1986), les débris végétaux infectés

(Cardona-Alvarez et Walker, 1956; Barros et al., 1958; Sindhan et Bose, 1979; Sengooba et Mukiibi, 1986; Correa et Saettler, 1987; Rodrigues et al., 1999), les particules de sol infectées (Sindhan et Bose, 1979), d'autres hôtes (principalement des plantes du genre *Phaseolus*, *Pisum* et *Vigna*), et des plantes de haricot commun cultivées en dehors des saisons de culture (Sengooba et Mukiibi, 1986). Peu d'informations sont disponibles sur l'importance relative de ces sources d'inoculum et sur leurs dynamiques. De même, la sensibilité des tissus hôtes en fonction de leur âge a été peu étudiée et les quelques références existantes ne permettent pas d'aboutir à des conclusions claires. La période de latence peut aussi avoir un effet sur le délai des épidémies, puisque celle-ci peut être très longue à des températures faibles ou pour des épidémies se développant sur une variété résistante. La figure 9 représente des épidémies se développant sur une variété sensible et où des conditions extrêmes de températures n'ont pas été de nature à rendre la période de latence excessivement longue. Une hypothèse serait que l'initiation tardive des épidémies serait due à l'accumulation continue des tissus infectés qui sont défoliés, puis à la mobilisation de cet inoculum depuis la surface du sol.

Discussion et conclusion

Une structure de modèle synthétisant les différents processus du cycle infectieux de *P. griseola* est proposée dans la figure 8. Certains de ces processus pourraient expliquer les attributs épidémiologiques de la tache angulaire, tels qu'une initiation tardive des épidémies, une accélération importante, puis un déclin. Notamment, nous formulons l'hypothèse que la défoliation des tissus infectés est un composant clé dans la compréhension des épidémies de cette maladie. Elle serait la cause principale d'un accroissement tardif mais rapide des épidémies dans les derniers stades de croissance de l'hôte, lorsqu'un seuil est atteint pour lequel suffisamment d'inoculum est accumulé au sol et la surface foliaire est maximale. Cette hypothèse requière des expériences adéquates permettant de la tester.

Deux autres caractéristiques épidémiologiques synthétisées dans la figure 8 sont à prendre en considération : l'extension et la sporulation des lésions. L'extension des lésions conduit à un accroissement rapide de la maladie, les lésions produisant des spores sans le délai que constitue la période de latence. De plus, l'extension des lésions est peu sensible aux conditions environnementales qui peuvent limiter les épidémies. Les données concernant la sporulation des lésions sont peu nombreuses, mais suggèrent qu'elle est relativement faible, et fortement dépendante des conditions environnementales telles que l'humectation du couvert.

Une production de spores limitée pourrait être compensée par une efficacité d'infection élevée, combinée à une forte probabilité de survie des spores déposées, comme cela a été montré pour d'autres pathosystèmes analogues (par exemple, Kaizer et Lukezic, 1966; Eversmeyer et Burleigh, 1968; Van Hees-Boukema et Zadoks, 1986; Becker et Burr, 1994). Ces informations restent encore à acquérir dans le cas de la tache angulaire du haricot commun.

La plupart des paramètres et des taux de la structure du modèle synthétique de la figure 8 restent à être quantifiés, notamment les taux de libération et de dépôt des spores, leur relation avec les conditions environnementales, l'efficacité des infections, la sporulation des lésions et la durée de cette sporulation sur les tissus infectés. De plus, de nombreux paramètres et taux de la structure du modèle sont fonction de la combinaison cultivar-isolat considérée et de l'effet de l'âge des plantes. Un point intéressant qui est à aborder concerne l'existence des deux sources d'inoculum au niveau du couvert et au sol. Une autre question importante est reliée à la stratégie de survie de ce pathogène (Zadoks et Schein, 1979), lequel compenserait une production de spores relativement faible par une forte probabilité de survie des spores et une extension des lésions (Berger et al., 1997). Ces hypothèses nécessitent d'être testées, pour évaluer leurs implications dans le fonctionnement des épidémies de la tache angulaire du haricot commun.

Manuscrit 1

A systems analysis of the epidemiological characteristics of angular leaf spot disease of bean¹

Allorent D and Savary S

1. Abstract

This article analyses and synthesises knowledge on the epidemiology of angular leaf spot (ALS) of bean, caused by *Phaeoisariopsis griseola*, using a systems framework aiming at identifying knowledge gaps and guiding further research. The framework consists of six connected sub-models of the ALS monocycle: lesion establishment, lesion extension, defoliation, sporulation, spore liberation, and spore deposition. Each of the sub-models enables the linking of processes to measured, or measurable effects of environmental (physical and host) factors. Analysis of this framework leads to possible interpretations of the typical behaviour of ALS epidemics in the field, especially late onset, high apparent rate of disease increase, and low level of terminal disease severity in the standing canopy. Disease-induced defoliation is one feature of the pathosystem leading to a depletion of infectious tissues from the canopy, which are transferred to the ground. Consequences of defoliation may include: strong reductions of the amount of inoculum and of vacant sites in the canopy, changes in the crop microclimate, and limited maximum disease severity. It also may lead to the progressive accumulation of inoculum below the canopy, which may come to bearing at a later stage of disease epidemics. The hypothesis is forwarded that the multi-fold consequences of defoliation is one main explanation of epidemiological patterns, and that better understanding of this process will generate understanding of epidemics and basis for management, including through resistance breeding. Lesion expansion, sporulation, and survival of spores deposited onto the canopy are other knowledge gaps for which an increased understanding should contribute to this goal.

Key words: angular leaf spot of bean, defoliation, monocyclic process, *Phaeoisariopsis griseola*, polycyclic process, systems analysis.

¹ Manuscrit soumis à *European Journal of Plant Pathology*

2. Introduction

Angular leaf spot (ALS) is caused by *Phaeoisariopsis griseola* (Sacc.), an imperfect fungus belonging to the Moniliales, family Stilbaceae (Saettler, 1991), and is an important bean disease in the tropics and subtropics (Saettler, 1991). Un-checked epidemics may lead to very strong yield reductions, up to 80% in, e.g., Colombia (Schwartz et al., 1981). Typical symptoms on the leaves are greyish lesions, becoming light brown and angular shaped as their extension usually is limited by veins (Cardona-Alvarez and Walker, 1956). Symptoms also develop on other aerial plant parts (stems, petioles, and pods), and are usually observed relatively late in the crop cycle (typically about the flowering stage, Saettler, 1991; Allen et al., 1998). Lesion multiplication and extension on the foliage lead to defoliation, a prime mechanism leading to reduced physiological performance of the canopy (Bergamin Filho et al., 1997). Despite recent and detailed field studies, the importance of the disease, and its representativeness of many foliar, tropical diseases of legumes caused by hemi-biotrophic fungi, comparatively little is known about the epidemiological characteristics of ALS (Liebenberg and Pretorius, 1997).

The purpose of this article is to analyse and synthesise knowledge on ALS epidemiology. Although the overall quantitative behaviour of ALS epidemics is poorly understood, much is known on the underlying processes. One step towards a better epidemiological understanding is to connect pieces of knowledge together using a formal framework, and generate an overall view of the Bean – *P. griseola* system. This is done here using a systems modelling approach, whereby processes are linked together, factors identified, and parameters accounting for the effects of factors on processes, outlined. The approach is that of Forrester (1961), applied to plant pathology (Zadoks, 1971; Teng, 1985) which allows to identify knowledge gaps and so guide further research (Rabbinge et al., 1989).

ALS epidemics result from the functioning of a fairly complex system. This analysis is organised in six sub-models corresponding to different phases of the disease cycle. These sub-models are connected to form an overall systems model that synthesises our quantitative knowledge on ALS epidemiology. This systems model is then used to discuss our understanding of ALS epidemics.

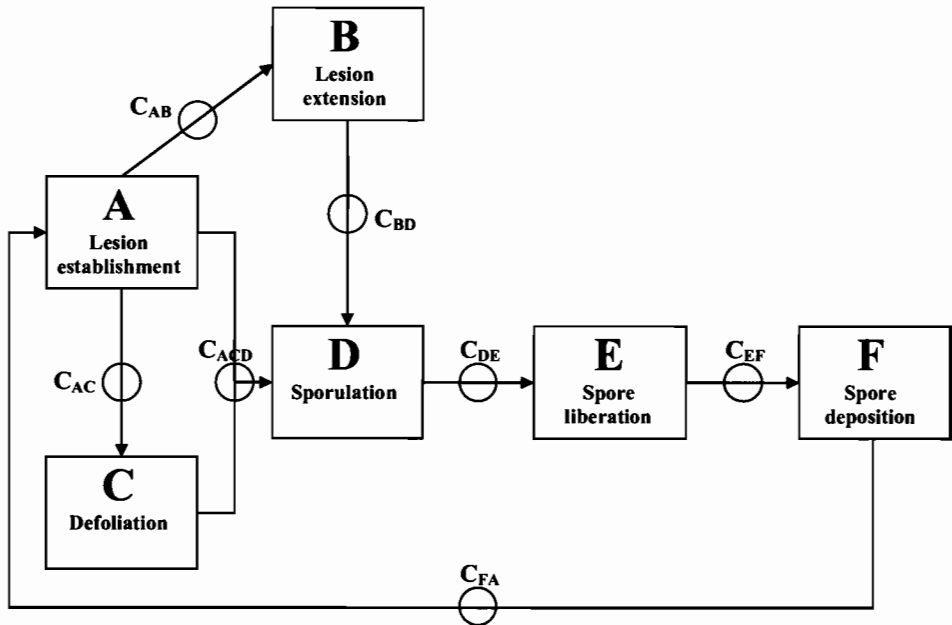


Figure 1. Monocyclic processes in angular leaf spot of bean synthesised as sub-models A, B, C, D, E and F, and the connecting couplers.

C_{AB}: coupler linking lesion establishment to lesion extension,

C_{AC}: coupler linking lesion establishment to host defoliation,

C_{BD}: coupler linking lesion extension to sporulation,

C_{ACD}: coupler linking lesion establishment in the canopy and on the ground to sporulation,

C_{DE}: coupler linking spore accumulation in the system to spore liberation,

C_{EF}: coupler linking liberated spore flows to spore deposition and loss,

C_{FA}: coupler linking spore deposition to the inflow of new efficient spores.

Chapitre 1 – Pathosystème *Phaseolus vulgaris* - *Phaeoisariopsis griseola*

Table 1. List of state variables, rates, parameters and factors used in sub-models A, B, C, D, E and F

Symbol	Meaning of symbol	Dimension
<i>State variables</i>		
DSPO	Number of spores deposited on canopy leaves	$[N_{\text{spores}}]$
HSITE	Number of healthy sites	$[N_{\text{sites}}]$
INFC	Number of infectious sites on canopy leaves	$[N_{\text{sites}}]$
INFD	Number of infectious sites on defoliated leaves	$[N_{\text{sites}}]$
LAT	Number of latent sites	$[N_{\text{sites}}]$
LSPOC	Number of spores liberated from canopy leaves	$[N_{\text{spores}}]$
LSPOD	Number of spores liberated from defoliated leaves	$[N_{\text{spores}}]$
SPOC	Number of spores produced on canopy leaves	$[N_{\text{spores}}]$
SPOD	Number of spores produced on defoliated leaves	$[N_{\text{spores}}]$
<i>Rates</i>		
rAPP	Rate of appearance of infectious sites on canopy leaves	$[N_{\text{sites}} \cdot T^{-1}]$
rDEFh	Rate of defoliation of healthy sites	$[N_{\text{sites}} \cdot T^{-1}]$
rDEFi	Rate of defoliation of infectious sites	$[N_{\text{sites}} \cdot T^{-1}]$
rDEPC	Rate of deposition of spores from canopy leaves	$[N_{\text{spores}} \cdot T^{-1}]$
rDEPD	Rate of deposition of spores from defoliated leaves	$[N_{\text{spores}} \cdot T^{-1}]$
rINF	Rate of infection of healthy sites	$[N_{\text{sites}} \cdot T^{-1}]$
rEXT	Rate of extension of infectious sites on canopy leaves	$[N_{\text{sites}} \cdot T^{-1}]$
rLIBC	Rate of liberation of spores from canopy leaves	$[N_{\text{spores}} \cdot T^{-1}]$
rLIBD	Rate of liberation of spores from defoliated leaves	$[N_{\text{spores}} \cdot T^{-1}]$
rLOSC	Rate of loss of spores from canopy leaves	$[N_{\text{spores}} \cdot T^{-1}]$
rLOSD	Rate of loss of spores from defoliated leaves	$[N_{\text{spores}} \cdot T^{-1}]$
rREM	Rate of removal of infectious sites on defoliated leaves	$[N_{\text{sites}} \cdot T^{-1}]$
rSPOC	Rate of production of spores on canopy leaves	$[N_{\text{spores}} \cdot T^{-1}]$
rSPOD	Rate of production of spores on defoliated leaves	$[N_{\text{spores}} \cdot T^{-1}]$
<i>Parameters</i>		
LP	Latent period	$[T]$
PINC	Primary inoculum	$[N_{\text{spores}}]$
SEV	Severity	$[-]$
<i>Factors</i>		
CxI	Interaction between bean cultivar and <i>P. griseola</i> isolate	$[-]$
LW	Leaf wetness duration	$[T]$
RAD	Radiation	$[J \cdot L^{-2} \cdot T^{-1}]$
RAIN	Rainfall amount	$[L]$
T	Temperature	$[K]$
WIND	Wind speed	$[L \cdot T^{-1}]$

3. Monocyclic process: the infection cycle

The infection cycle in angular leaf spot can be decomposed into five groups of processes:

1. Lesion establishment, corresponding to sub-model A;
2. Lesion extension, corresponding to sub-model B;
3. Defoliation of infected host leaves bearing lesions, corresponding to sub-model C;
4. Sporulation on infectious sites, corresponding to sub-model D;
5. Spore dispersal, corresponding to sub-models E (spore liberation) and F (spore deposition).

Each of these groups of processes is influenced by a number of factors, either physical: temperature, moisture (relative humidity or leaf wetness), radiation, rainfall, and wind, or biological, representing the level of compatibility of cultivar-isolate interaction.

Figure 1 shows the different sub-models and their relationships, which are materialised as couplers (Zadoks and Rabbinge, 1985):

- coupler C_{AC} links lesion establishment to host defoliation, whereby removal from the canopy of infected sites (latent or infectious) brings also about the removal of healthy ones;
- C_{AB} links lesion establishment to lesion extension;
- C_{ACD} links infectious lesion establishment in the canopy (A) and on the ground (C) to sporulation in the system (D);
- C_{BD} links lesion extension to sporulation;
- C_{DE} links spore accumulation in the system (attached and detached leaves on the ground) to spore liberation;
- C_{EF} links flows of liberated spores from two sources (attached and detached infected leaves) to spore deposition onto the canopy, or spore loss; and,
- C_{FA} links spore deposition to the inflow of new efficient spores.

Table 1 lists the different state variables, rates, parameters and factors used in the six sub-models, and their dimensions.

3.1. Lesion establishment

Lesion establishment is considered here as the group of processes including spore germination till the end of the latency period. Effects of different factors on lesion establishment that have been reported in the literature are summarised in Table 2.

Chapitre 1 – Pathosystème *Phaseolus vulgaris* - *Phaeoisariopsis griseola*

Table 2. Synthesis of literature on the factors influencing lesion establishment of *P. griseola*

Variable	Temperature (T) Range (optimum) ^a	Moisture Relative humidity (RH) or leaf wetness (LW) ^a	Radiation (RAD) ^a	Interaction Cultivar × Isolate (C×I) ^a
Spore germination	8-32°C (20-28) [1] 5-33°C (18-24) [2]	None below 49%RH [2] Required 48h at 61% and 6h at 100%[2]	No effect [3] Little increase with light [4]	
Infection efficiency	16-28°C (24) [1] 10-33°C (24) [2]	Required minimal period of 3h to high RH [1] None below 86% RH[2] Required minimal period of 24h to high RH [2] Increased with exposition period to high RH [1,2,3,5] Increased with number of nights with LW, but not required continuous period of LW [6]	Increased with 12h-photoperiod [1]	Variable according to the interaction CxI [7,8, 12]
Latency period (Incubation period)	16-28°C (24) [1] 12-30°C (24) [9,10] Delayed at low temperatures [1,9,10, 11]	Delayed with exposition period to high RH below 16h [5]	No effect [1]	Variable according to the interaction CxI [7,8]

^a References:

[1] Cardona-Alvarez and Walker, 1956; [2] Sindhan and Bose, 1980a; [3] Llanos, 1957; [4] Santos-Filho et al., 1976; [5] Campos-Avila and Fucikovsky Zak, 1981; [6] Willocquet et al., 2004; [7] Correa-Victoria, 1987; [8] Sartorato, 1989; [9] Bassanezi et al., 1997; [10] Bassanezi et al., 1998; [11] Buruchara, 1983; [12] Buruchara et al., 1988

Spore germination in *P. griseola* is strongly dependent on moisture. Spore germination on the leaf surface only takes place under moist conditions and occurs within three days after spore deposition (Monda et al., 2001). By contrast, the range of temperature where spore germination is possible is very wide (5-33°C), and so is the range of (near) optimal temperature (18-28°C; Cardona-Alvarez and Walker, 1956; Sindhan and Bose, 1980a). On the other hand, radiation does not appear to influence spore germination (Llanos, 1957; Santos-Filho et al., 1976).

Infection has often been recorded in the literature as a relative amount of successful lesion establishment, and so reported results incorporate spore germination. The range of temperature where infection occurs is wide (10-33°C; Cardona-Alvarez and Walker, 1956; Sindhan and Bose, 1980a; Bassanezi et al., 1997; Bassanezi et al., 1998), but less so than for spore germination. However, disease development does occur at cool temperatures (16°C), as reported by Inglis and Hagedorn (1986). Infection efficiency (the ratio of established lesions

to deposited spores, Zadoks and Schein, 1979) was specifically studied by Willocquet et al. (2004), and was below 0.1 when inoculated plants were exposed to less than two consecutive nights of leaf wetness (i.e., two 16-hour periods of continuous wetting at 70 to 100% RH with 8h dry intervals at 50 to 80% RH). Optimum infection efficiency, about 0.5, was obtained after 3 to 4 consecutive wet nights, and infection efficiency was not increased by additional wet nights. These results concur with earlier reports concerning lesion establishment, where relative humidity in the air or leaf wetness duration (Cardona-Alvarez and Walker, 1956; Llanos, 1957; Sindhan and Bose, 1980a; Campos-Avila and Fucikovsky Zak, 1980) were varied. Recent results from Willocquet et al. (2004) also show that continuous periods of wetness (or high relative humidity) are not necessary for infection to occur, because the authors exposed the inoculated plants to high humidity only during nights (16h at 70 to 100% RH during nights and 8h at 50 to 80% RH during days). Radiation does not appear to have a measurable effect on infection processes (Cardona-Alvarez and Walker, 1956). By contrast, host genotype by pathogen isolate effects are very strong, as illustrated by results reported by Correa-Victoria (1987), where two to 464 lesions per plant developed on a range of 17 Latin American isolates of *P. griseola* inoculated to 21 bean cultivars. Conversely, lesion density also varies according to the cultivar × isolate combination (from 0.47 to 5.24 lesions per cm²; Sartorato, 1989).

Latency period (LP, Table 1), the delay from spore deposition onto the host to production of a new generation of propagules (Zadoks and Schein, 1979; Campbell and Madden, 1990) is an important epidemiological parameter, as it determines the number of infection cycles a pathogen can cause during the life-cycle of its host. In the case of ALS, as in many heminecrotrophic foliar pathogens (Rapilly, 1983), the incubation period often coincides with LP as sporulation may be initiated as soon as the first lesions appear under high moisture conditions. Information pertaining to both the incubation period and the latency period is summarised here.

Incubation period in ALS is delayed at low temperatures (Cardona-Alvarez and Walker, 1956; Buruchara, 1983; Bassanezi et al., 1997; Bassanezi et al., 1998), and varies from 12-15 days, 9 days, and 10 days at 16°C, 24°C, and 28°C (Cardona-Alvarez and Walker, 1956), respectively. Large variation with the considered cultivar × isolate occur (Correa-Victoria, 1987; Buruchara et al., 1988; Sartorato, 1989). Both periods have a range of 10 to 23 days in terms of incubation (Correa-Victoria, 1987) or of latency (Sartorato, 1989) period.

Figure 2 synthesises the lesion establishment process and highlights some of its factors.

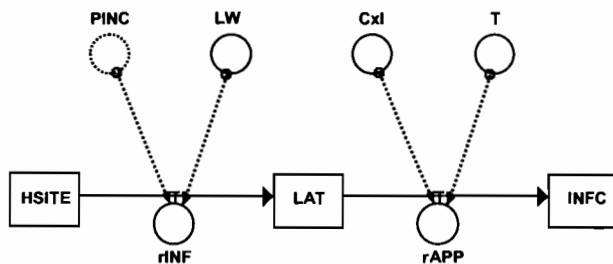


Figure 2. Sub-model A, lesion establishment in a bean canopy.

Squares represent state variables (Table 1),

HSITE: number of healthy sites [N_{sites}],

INFC: number of infectious sites on canopy leaves [N_{sites}],

LAT: number of latent sites [N_{sites}],

Valves represent rates,

$rINF$: rate of infection of healthy sites [$N_{sites} \cdot T^{-1}$],

$rAPP$: rate of appearance of infectious sites on canopy leaves [$N_{sites} \cdot T^{-1}$],

Continuous circles represent factors,

CxI: interaction between bean cultivar and *P. griseola* isolate [-],

LW: leaf wetness duration [T],

T: temperature [K],

Discontinuous circles represent parameters,

PINC: primary inoculum [N_{spores}],

Continuous arrows represent flows of sites,

Discontinuous arrows represent flows of quantitative information from parameters or factors,

(Forrester, 1961).

Primary inoculum (PINC, efficient spores) initiates the process whereby healthy sites (HSITE) are infected and latent sites (LAT) are produced through infection ($rINF$). A key factor for infection to occur is leaf wetness (LW), which does not appear to play a role in further lesion development (Cardona-Alvarez and Walker, 1956). Latent sites may become infectious (INFC) after a latency period, which may coincide with the rate of lesion appearance ($rAPP$). Temperature (T) and the cultivar \times isolate (C \times I) combination play an important role on INFC variation.

3.2. Lesion extension

The effects of different factors on lesion extension recorded in the literature are summarised in Table 3.

Table 3. Synthesis of literature on the factors influencing lesion extension of *P. griseola*

Temperature (T) Range (optimum) ^a	Interaction Cultivar × Isolate (C×I) ^a
12-30°C (24) [1,2] 16-28°C (24) [3] 10-30°C (15) [4]	Variable according to the interaction C×I [5,6] Atypical isolate with lesion diameter of 20mm [7]

^a References:

[1] Bassanezi et al., 1997; [2] Bassanezi et al., 1998; [3] Inglis and Hagedorn, 1984; [4] Verma and Sharma, 1984; [5] Correa-Victoria, 1987; [6] Diaz et al., 1965; [7] Hocking, 1967

Verma and Sharma (1984) reported that lesion size followed an optimum-type relationship with temperature, with maximum values observed at 15°C, which concurs with field observations where larger lesions were measured during cooler (18-22°C) compared to warmer (28-32°C) periods (Verma and Sharma, 1984). The largest lesion sizes (about 14 mm²) and maximal rate of lesion extension ($14 \times 10^{-3} \text{ mm}^2 \cdot \text{h}^{-1}$, i.e. $0.34 \text{ mm}^2 \cdot \text{day}^{-1}$) were observed at 24°C (Inglis and Hagedorn, 1984; Bassanezi et al., 1997; Bassanezi et al., 1998). Such a rate of lesion extension is in the same range as for *Septoria nodorum* on wheat (Berger et al., 1997). It however is smaller than *Exserohilum turcicum* on sweet corn (25 to 43 mm²·day⁻¹), *Phytophthora infestans* on potato (26 to 45 mm²·day⁻¹), or *Fusarium moniliforme* on fig (225mm²·day⁻¹; Berger et al., 1997).

For a given isolate, lesion size (range: 3.8 – 20.9 mm²) strongly depends on the cultivar (Diaz et al., 1965; Correa-Victoria, 1987), and an atypical isolate produces circular lesions of 10 mm in diameter within 6 days after inoculation, with maximum diameters up to 20 mm (Hocking, 1967). A cultivar × isolate interaction on lesion extension has been reported (Diaz et al., 1965; Hocking, 1967; Correa-Victoria, 1987), whose intensity varies with temperature.

A low negative but significant correlation ($r = -0.49$, $P = 0.05$) was found between average number of lesions and average lesion size by Correa-Victoria (1987), although Diaz et al. (1965) did not detect any significant correlation between these variables, possibly because of a defoliation effect.

Figure 3 summarises information from the literature on the lesion extension process in ALS in the simplest possible way: extension of infectious sites leads to a reduction of the number of healthy sites (HSITE), which may become immediately infectious (INFC). Two factors act on the rate of lesion extension, temperature (T) and the cultivar × isolate interaction (C×I).

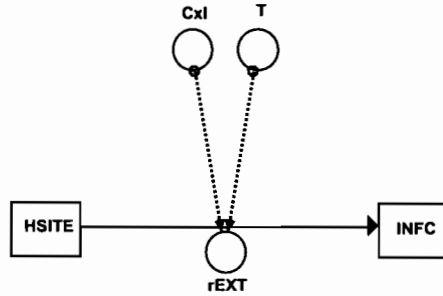


Figure 3. Sub-model B, lesion extension on canopy leaves.

Squares represent state variables (Table 1),

HSITE: number of healthy sites [N_{sites}],

INFC: number of infectious sites on canopy leaves [N_{sites}],

Valves represent rates,

rEXT: rate of extension of infectious sites on canopy leaves [$N_{sites} \cdot T^{-1}$],

Continuous circles represent factors,

Cxl: interaction between bean cultivar and *P. griseola* isolate [-],

T: temperature [K],

Continuous arrows represent flows of sites,

Discontinuous arrows represent flows of quantitative information from factors, (Forrester, 1961).

3.3. Disease-induced defoliation

The effects of different factors on disease-induced defoliation reported in the literature are shown in Table 4.

Table 4. Synthesis of literature on the factors influencing host defoliation caused by *P. griseola*

Temperature (T) Range (optimum) ^a	Severity (SEV) ^a
16-28°C (24) [1] Delayed at 16°C 16-28°C (24) [2] Lower at 16°C	RRDEF ^b = 0.077 ln (SEV+1) – 0.0063 [3]

^a References:

[1] Cardona-Alvarez and Walker, 1956; [2] Inglis and Hagedorn, 1986; [3] Willocquet et al., 2004

^b RRDEF, relative rate of defoliation

Disease-induced defoliation, which may reach 100% under glasshouse conditions begins first and is most rapid at 24°C (Cardona-Alvarez and Walker, 1956; Inglis and Hagedorn, 1986), but is delayed at low temperatures (Cardona-Alvarez and Walker, 1956).

The correlation between defoliation and disease severity is strong, with relatively low ALS severity already causing a substantial defoliation. For instance, a relative rate of defoliation of 0.23 day^{-1} was estimated for a severity of 18% (Willcoquet et al., 2004). Similar positive correlations were found in many leaf spot diseases of annual legumes, such as *Cercosporidium personatum* (*Phaeoisariopsis personata*) on groundnut (e.g., Watson et al., 1986).

Figure 4 provides a synthesis of the defoliation of infectious sites of a bean canopy.

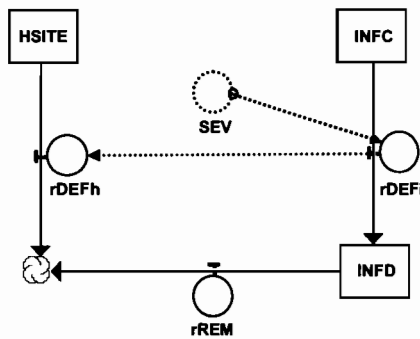


Figure 4. Sub-model C, defoliation of infected leaves bearing healthy and infectious sites.

Squares represent state variables (Table 1),
 HSITE: number of healthy sites [N_{sites}],
 INFC: number of infectious sites on canopy leaves [N_{sites}],
 INFD: number of infectious sites on defoliated leaves [N_{sites}],
 Valves represent rates,
 rDEFh: rate of defoliation of healthy sites [$N_{sites} \cdot T^{-1}$],
 rDEFi: rate of defoliation of infectious sites [$N_{sites} \cdot T^{-1}$],
 rREM: rate of removal of infectious sites on defoliated leaves [$N_{sites} \cdot T^{-1}$],
 Discontinuous circles represent parameters,
 SEV: severity [-],
 Continuous arrows represent flows of sites,
 Discontinuous arrows represent flows of quantitative information from parameters, (Forrester, 1961).

Infectious sites on infected leaves of the canopy (INFC) are defoliated (INFD), bringing about the defoliation of healthy sites (HSITE) belonging to the same infected leaves. The underlying hypothesis of Figure 4 is that defoliation of healthy sites is driven by that of infectious ones, and therefore that physiological defoliation in an infected canopy is negligible compared to

disease-induced defoliation. Defoliated sites remain infectious (INFD) for an infectious period, and are considered removed (rREM) from the system afterwards. The only factor acting on the rate of defoliation of infectious sites (rDEFi), and therefore on healthy ones (rDEFh) is the disease severity (SEV). SEV is the result of the dynamics of disease in the canopy, and thus is determined by several factors acting on a number of processes.

3.4. Sporulation

The effects of different factors on sporulation in ALS from the literature are identified in Table 5.

Table 5. Synthesis of literature on the factors influencing sporulation of *P. griseola*

Temperature (T) Range (optimum) ^a	Moisture Relative humidity (RH) ^a	Radiation (RAD) ^a	Interaction Cultivar × Isolate (C×I) ^a
12-28°C (16) [1] 16-32°C (24) [2] 10-30°C (21-24) [3] Interaction temperature x isolate [5]	None below 71% RH [3] Required minimal period of 24h to high RH to complete coremial formation [4] Required 48h and more to high RH for abundant sporulation [4]	Increased with continuous darkness and 12h- photoperiod [2]	Variable according to the interaction CxI [6]

^a References:

[1] Campos-Avila and Fucikovsky Zak, 1981; [2] Santos-Filho et al., 1976; [3] Sindhan and Bose, 1980a; [4] Cardona-Alvarez and Walker, 1956; [5] Buruchara, 1983; [6] Correa-Victoria, 1987

The range of temperature where sporulation occurs is very wide (10-30°C, Santos-Filho et al., 1976; Sindhan and Bose, 1980a; Campos-Avila and Fucikovsky Zak, 1980). The relative humidity of the air is a very strong limiting factor of sporulation, which does not occur below 71% (Sindhan and Bose, 1980a). Early report by Cardona-Alvarez and Walker (1956) indicated that a 24-hour period was required to complete the formation of coremia, and that an additional humid 48-hour period or more was necessary for spore production. From results in controlled chamber work, it does not appear that sporulation is influenced by radiation (Santos Filho et al., 1976). A temperature-isolate interaction exists, with some isolates having an optimal sporulation temperature at 19°C, whereas the optimum temperature for other isolates is 24°C (Buruchara, 1983). Cultivar-isolate interactions occur too, with large effects on sporulation density (5 to 800 spores per mm² of lesion area; Correa-Victoria, 1987). Sporulation density, on the other hand, does not seem to vary with disease severity, number of lesions, lesion size and incubation period (Correa-Victoria, 1987).

Figure 5 distinguishes two sources and two rates of spore production in the sporulation process occurring in an ALS-infected bean stand. Infectious sites present in the canopy (INFC) and on defoliated leaves (INFD) both produce spores, which lead to two stocks of spores, in the canopy (SPOC) and on defoliated leaves (SPOD). Figure 5 indicates two variables acting on both the rates of sporulation, leaf wetness (LW) and the cultivar × isolate interaction (C×I).

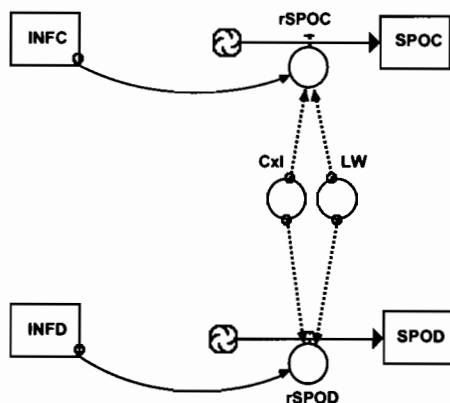


Figure 5. Sub-model D, sporulation of infectious sites on canopy and on defoliated leaves.

Squares represent state variables (Table 1),

INFC: number of infectious sites on canopy leaves [N_{sites}],

INFD: number of infectious sites on defoliated leaves [N_{sites}],

SPOC: number of spores produced on canopy leaves [N_{spores}],

SPOD: number of spores produced on defoliated leaves [N_{spores}],

Valves represent rates,

rSPOC: rate of spore production on canopy leaves [$N_{spores} \cdot T^{-1}$],

rSPOD: rate of spore production on defoliated leaves [$N_{spores} \cdot T^{-1}$],

Continuous circles represent factors,

Cxl: interaction between bean cultivar and *P. griseola* isolate [-],

LW: leaf wetness duration [T],

Continuous arrows represent flows of spores,

Discontinuous arrows represent flows of quantitative information from factors, (Forrester, 1961).

Table 6. Synthesis of literature on the factors influencing spore dissemination of *P. griseola*

Rain ^a	Wind ^a
Splashing spreads the spores from the soil to stems and leaves [1]	Spores in wind-blown soil particles infect plants within 2m [1] Wind-blown spores infect plants up to 7m [1]

^a References:

[1] Cardona-Alvarez and Walker, 1956

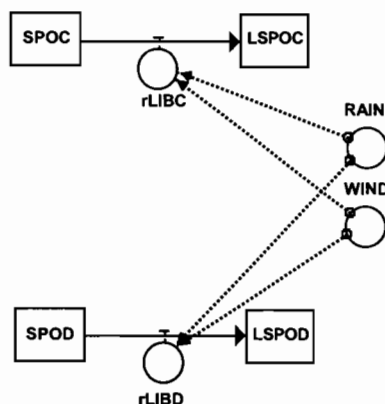


Figure 6. Sub-model E, spore liberation from infectious sites on canopy and defoliated leaves.

Squares represent state variables (Table 1),

LSPOC: number of spores liberated from canopy leaves [N_{spores}],

LSPOD: number of spores liberated from defoliated leaves [N_{spores}],

SPOC: number of spores produced on canopy leaves [N_{spores}],

SPOD: number of spores produced on defoliated leaves [N_{spores}],

Valves represent rates,

$rLIBC$: rate of spore liberation from canopy leaves [$N_{spores} \cdot T^{-1}$],

$rLIBD$: rate of spore liberation from defoliated leaves [$N_{spores} \cdot T^{-1}$],

Continuous circles represent factors,

RAIN: rainfall amount [L],

WIND: wind speed [$L \cdot T^{-1}$],

Continuous arrows represent flows of spores,

Discontinuous arrows represent flows of quantitative information from factors, (Forrester, 1961).

3.5. Spore dispersal

Very little quantitative information is available from the literature on spore liberation and dispersal in *P. griseola*. The effects of different factors on spore dispersal are summarised in Table 6. Both rain and wind appear to liberate and disperse spores of *P. griseola*, and wind-blown particles from infested soil, wind-blown spores, as well as and rain droplet-borne spores are all effective agents of dissemination according to Cardona-Alvarez and Walker (1956).

Figure 6 therefore summarises the spore liberation from lesions in a diseased canopy (SPOC) and on defoliated leaves (SPOD) by rain and wind.

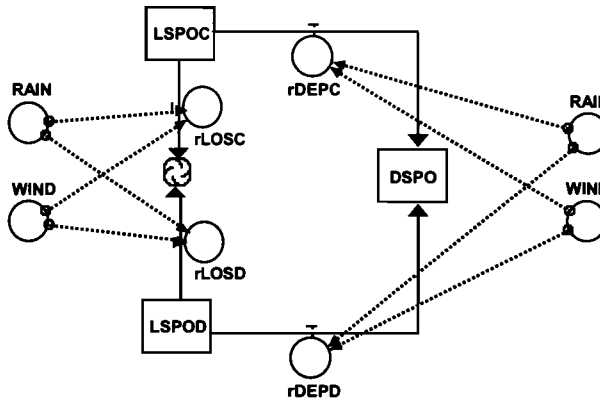


Figure 7. Sub-model F, loss and deposition of the liberated spores from canopy and defoliated leaves.

Squares represent state variables (Table 1),

DSPO: number of spores deposited on canopy leaves [N_{spores}],

LSPOC: number of spores liberated from canopy leaves [N_{spores}],

LSPOD: number of spores liberated from defoliated leaves [N_{spores}],

Valves represent rates,

rDEPC: rate of deposition of spores from canopy leaves [$N_{spores} \cdot T^{-1}$],

rDEPD: rate of deposition of spores from defoliated leaves [$N_{spores} \cdot T^{-1}$],

rLOSC: rate of loss of spores from canopy leaves [$N_{spores} \cdot T^{-1}$],

rLOSD: rate of loss of spores from defoliated leaves [$N_{spores} \cdot T^{-1}$],

Continuous circles represent factors,

RAIN: rainfall amount [L],

WIND: wind speed [$L \cdot T^{-1}$],

Continuous arrows represent flows of spores,

Discontinuous arrows represent flows of quantitative information from factors, (Forrester, 1961).

Figure 7, in turn, represents the rates of deposition (r_{DEPC} and r_{DEPD}) from both stocks of spores which (daily) accumulate in a (combined) stock of spores deposited onto the canopy (DSPO), and the process of spore loss through two loss rates (r_{LOSC} and r_{LOSD}). Spore loss is assumed to occur through escape from the system in the atmosphere and deposition on the ground. All four rates are made dependent on rainfall and wind.

4. Synthesis flowchart of the monocyclic process in the bean-ALS pathosystem

A systems model is represented in Figure 8 which summarises the *Phaeoisariopsis griseola* cycle. Figure 8 links the above sub-models, A-F. Factors influencing rates have been removed from this diagram in order to retain the main features of the processes themselves. Please note that in the structure presented in Figure 8, no change in healthy sites (HSITE) over time, i.e., no host growth is included. Figure 8 is an expansion of Figure 1, where the couplers between sub-models, whether rates, flows of sites, or flows of quantitative information, can be identified.

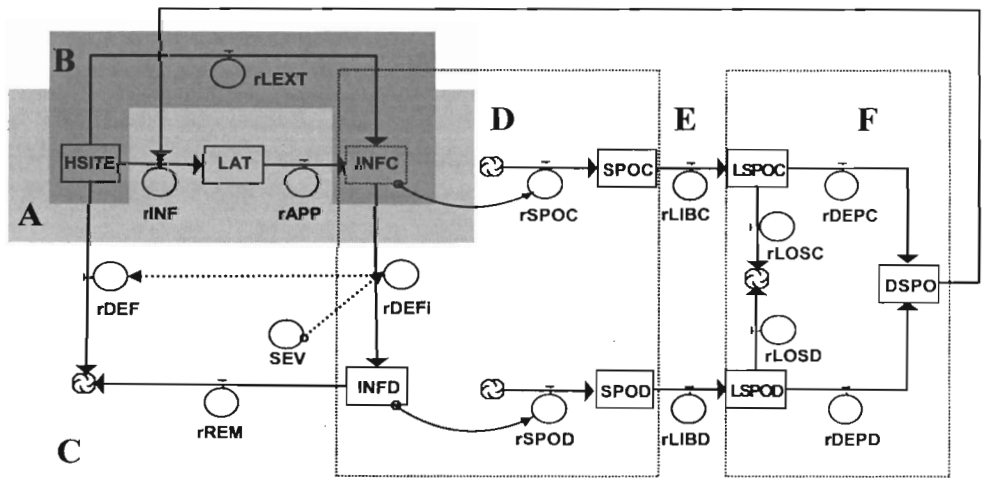


Figure 8. Synthesis flowchart representing the *P. griseola* cycle with sub-models A, B, C, D, E and F.

A, B, C, D, E, and F: refer to sub-models shown in Figure 1. Squares, valves, continuous circles, discontinuous circles, continuous arrows and discontinuous arrows represent state variables, rates, factors, parameters, flows of sites or spores, and flows of quantitative information from parameters, respectively; see Table 1 for meaning of symbols and dimensions (Forrester, 1961).

5. Linking monocyclic processes and the behaviour of ALS epidemics

The flowcharts of Fig. 1 and 8 are in turn sub-processes of an epidemic itself, and polycyclic processes such as ALS epidemics are the result of the cycling of such nested sub-process (Teng and Close, 1978; Zadoks and Schein, 1979).

A series of ALS disease progress curves is shown in Figure 9. These graphs derive from experiments conducted at EMBRAPA Center Arroz e Feijão (Goiania, Brazil) in 2004, where various inoculation and crop association treatments were tested. Only epidemics developing in the un-inoculated, pure bean stands are shown in Fig. 9, in four bean plots (5.5 x 5.5 m, with 0.25 m spacing of cvr Roshina G2). Severity was recorded at one-week intervals, during one month, using a ten-grade scale (Godoy et al., 1997).

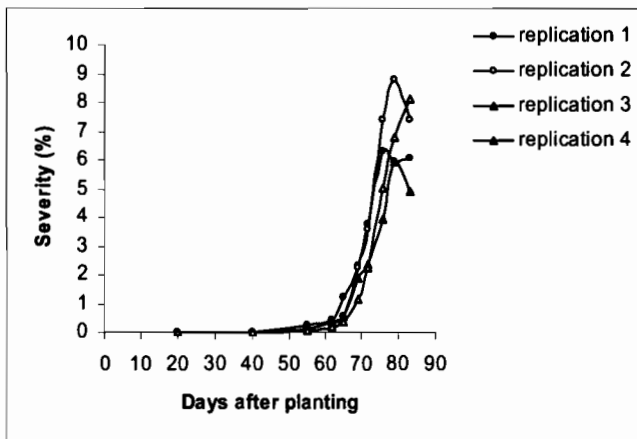


Figure 9. Disease progress curves (severity) of ALS disease in four un-inoculated bean plots (EMBRAPA, Brazil, 2004).

Disease progress curves increased rapidly in 20 days, late in the season, from 60 to 80 days after sowing. The apparent rate of disease increase (Van der Plank, 1963) varied from 0.154 to 0.210, values which are slightly higher than the value estimated for the most susceptible cultivar ($r = 0.142$) by Buruchara et al. (1988). Terminal severities were low, from 5 to 9% of diseased area, and are lower than terminal severities generally reported in the literature: from 5 (de Jesus Junior et al., 2001), to 9% (Silva et al., 1998), 23% (Mora et al., 1985), 25% (de Jesus Junior et al., 2003), 27% (Carneiro et al., 1997), 28% (Buruchara et al., 1988), and 29% (Bergamin-Filho et al., 1997). Terminal severities in ALS epidemics result

primarily from interacting (i) host growth, (ii) defoliation, and (iii) disease increase (Nelson and Campbell, 1993); it is assumed that the low terminal severity of Fig. 9 results from comparatively slow host growth, strong defoliation, and rapid disease increase.

Defoliation can affect observed disease severity in two ways. First, defoliation leads to a loss of diseased leaves which are not included in further disease measurements. Second, loss of diseased leaves alters the crop microclimate so that it may become comparatively unfavourable for disease intensification. Another, indirect effect is that defoliation both reduces growth, and thus the production of healthy sites (the correction factor becomes smaller, Van der Plank, 1963) as well as the amount of disease in the canopy.

Defoliation has strong implications on bean growth and yield, as it reduces green LAI (Bergamin Filho et al., 1997; Carneiro et al., 1997; Silva et al., 1998; Carneiro et al., 2000; de Jesus Junior et al., 2001; de Jesus Junior et al., 2003). Carneiro et al. (2000) measured maximal defoliation at 80 days after planting close to 100% (i.e., 60% if this value is corrected for the physiological defoliation measured in the control, fungicide protected plots) with maximal severity around 20%.

One possible reason for observing late epidemics such as in Fig. 9 is that initial lesions would develop on primary leaves (Barros et al., 1958; Cole, 1966; Hocking, 1967), which become conspicuous only until late flower or early pod set (Barros et al., 1958). Another group of reasons is related to the availability and amount of primary inoculum or to changes in host susceptibility with the development stage. Five sources of primary inoculum are cited in the literature: (i) infected seeds (on which the pathogen might survive up to nine months; Orozco-Sarria and Cardona-Alvarez, 1959; Diaz et al., 1965; Sohi and Sharma, 1974; Sindhan and Bose, 1979; Dhingra and Kushalappa, 1980; Sengooba and Mukiibi, 1986), (ii) infected plant debris over successive seasons (Cardona-Alvarez and Walker, 1956; Barros et al., 1958; Sindhan and Bose, 1979; Sengooba and Mukiibi, 1986; Correa and Saettler, 1987; Rodrigues et al., 1999), (iii) infected soil (Sindhan and Bose, 1979), (iv) infected volunteer plants, and (v) off-season crops (Sengooba and Mukiibi, 1986). Depending on cropping practices, crop rotation, and crop regimens, the relative importance of these sources may vary greatly. Information on change in host susceptibility over development is very scarce (Cardona-Alvarez, 1956; Sindhan and Bose 1980b) and controversial. Another reason for observing late epidemics is that latent period may be very long (up to 22 days) at cool temperatures (which was not the case of epidemics shown in Fig. 9). A last reason is related to the regular, and

inconspicuous accumulation of infectious tissues on the ground through defoliation in a first phase of an epidemic, and the progressive mobilisation of this inoculum in a second phase.

6. Discussion and perspectives

The combination of the successive sub-components (processes) described in Figs 2-7 results in Figure 8, which gives an overview of the basic monocycle component on which an ALS epidemic is grounded. Many of the processes indicated in Fig. 8 are classical components of plant disease epidemics affecting aerial plant parts (Van der Plank, 1963, Zadoks and Schein, 1979, Campbell and Madden, 1990), e.g., infection, latency, sporulation, spore dispersal, and deposition. Some of the processes of Figure 8, however, may especially explain some of the features of ALS epidemics, even though they certainly are not specific to *Phaeoisariopsis griseola*. Specifically, these components may explain why ALS epidemics are slow in appearing in a bean field, why they may develop so fast, and why they appear (in terms of severity) to halt and even decline rapidly (Figure 9).

Disease-induced defoliation is one feature of the pathosystem, which leads to a rapid loss of infectious tissues from the canopy. Consequences of defoliation may include: 1) a strong attrition of the amount of inoculum from the canopy to the ground, 2) a reduction of LAI and so, of vacant sites which otherwise could intercept dispersed spores, 3) changes in the crop microclimate, and 4) limited maximum disease severity. The first point leads to the question of the extent of infectious, defoliated tissues contributing to further disease progress. It may be that these tissues still contribute strongly to disease progress, but with an efficiency far lower than infectious tissues still attached to the canopy. If so, disease-induced defoliation would contribute to reducing the rate of epidemics in their earlier stage, especially if young leaves are more sensitive to defoliation than older ones. The second point would also contribute to reducing the early rate of disease increase. The third point too, as defoliation will reduce relative humidity and leaf wetness duration. Defoliation has a direct effect in reducing the severity in a disease bean stand, as it rapidly and selectively removes tissues that are bearing lesions. On the other hand, the progressive accumulation of infectious material at the base of the canopy progressively generates a continuous source of inoculum to the standing crop. While this source may not suffice to trigger a rapid increase in the early stage of an epidemic, its continuous contribution to new infections may enable disease progress to strongly increase when it becomes large enough. The literature on ALS does not offer

information on the efficiency of this source of inoculum; we however believe it to be comparatively smaller than lesions still present in the canopy. We forward the hypothesis that disease-induced defoliation is a key component to understand ALS epidemic, which is the primary cause for a late, but rapid, increase in disease severity in the later stage of crop growth, when a threshold has been reached, with sufficient inoculum accumulated and sufficient leaf area developed to intercept it. This hypothesis requires formal experimental testing.

Two other features of ALS epidemics are indicated in Fig. 8, which deserve specific attention: lesion extension and sporulation. Lesion extension enables progress to vacant sites, where sporulation may rapidly be initiated. This process is one way for the pathogen to intensify, which is not, or weakly, influenced by environmental factors that would prevent infection via propagule liberation, transport, deposition, and germination. Data on spore production in *Phaeoisariopsis griseola* is scarce, but suggests that it actually is limited in numbers (propagules · infectious area⁻¹), and strongly depends on environmental factors (relative humidity and leaf wetness). A small spore production would have to be compensated by a very high infection efficiency (assuming favourable conditions), combined with a strong survival ability of deposited or germinating spores. Such characteristics concur with observations by Monda et al. (2001), and have been quantitatively described in other pathosystems (e.g., Kaizer and Lukezic, 1966; Eversmeyer and Burleigh, 1968; Van Hees-Boukema and Zadoks, 1986; Becker and Burr, 1994), but have not been quantitatively documented in the case of ALS.

The overall structure of Figure 8 is intended to provide an overview of the mechanisms underlying ALS epidemics. It may serve the purpose of forwarding hypotheses and identifying research issues, but also guide management options. In most countries where bean is an important crop, selection for resistance is the main, often the only, practical direction. So far, selecting for complete resistance to this disease has proven extremely difficult (Correa and Saettler, 1987; Allen et al., 1998). Selection for incomplete resistance is even confronted with a shifty, extremely variable pathogen (Sartorato, 1989; Sartorato and Rava, 1992). It may be that selection should take advantage of new knowledge gained on the functioning of the pathosystem. One such area is the dynamic relationship between severity, defoliation, and inoculum remobilisation. It could be, for instance, that bean cultivars that shed their leaves rapidly after being infected would not enable the pathogen to build inoculum sources, either in the canopy or at its base, that would enable an epidemic to truly develop. Excessive

defoliation would of course reduce yields so strongly that a balance between healthy area duration (HAD, Bergamin Filho et al., 1997), yield accumulation, and disease progress is to be sought. Simulation models, using structures similar to that of Figure 8 should be useful to that aim.

Most of the parameters and rates in the structure described in Figure 8 remain to be quantified. Among them are the rates of spore liberation and deposition, and their relationships with environmental (weather) variables. Similar questions arise when considering, e.g., infection efficiency, spore production and its duration on infectious tissues, and factors that may influence them. Many of the rates and parameters of Figure 8 are also under the influence of aggressivity of the isolate on a given host genotype (host-isolate interaction), and of plant age. A basic question remains to assess the epidemiological significance of having two distinct sources of inoculum in the system. Another generic question pertains to the life strategy of the pathogen (Zadoks and Schein, 1979), which possibly might compensate a comparatively small spore production by a strong survival ability of deposited spores and of lesions themselves (lesion extension; Berger et al., 1997) and a high infection efficiency. Such a behaviour would both be congruent with the overall shape of disease progress curves, and with the existence of a dual source of inoculum. These hypotheses need further quantitative documenting and testing.

7. Acknowledgements

We wish to thank L. Willocquet (INRA-IRD) for her assistance in reviewing the manuscript, and A. Sartorato (EMBRAPA Arroz e Feijão) for his support in field work.

8. References

- Allen DJ, Buruchara RA and Smithson JB (1998) Diseases of common bean. In: Allen DJ and Lenné JM (ed.) The pathology of food and pasture legumes (pp.179-265) Wallingford, CABI, UK
- Barros O, Cardona C, Cardeñosa R and Skiles RL (1958) Angular leaf spot of bean in Columbia. Plant Disease Reporter 42: 420-424

Chapitre 1 – Pathosystème Phaseolus vulgaris - Phaeoisariopsis griseola

- Bassanezi RB, Amorim L, Bergamin Filho A and Godoy CV (1997) Comparative analysis of bean rust and bean angular leaf spot: effect of temperature on monocyclic parameters. *Fitopatologia Brasileira* 22: 432-436
- Bassanezi RB, Amorim L, Filho AB and Hau B (1998) Effects of bean line pattern mosaic virus on the monocyclic components of rust and angular leaf spot of *Phaseolus* bean at different temperatures. *Plant Pathology* 47: 289-298
- Becker CM and Burr TJ (1994) Discontinuous wetting and survival of conidia of *Venturia inaequalis* on apple leaves. *Phytopathology* 84: 372-378
- Bergamin Filho AB, Carneiro SMTPG, Godoy CV, Amorim L, Berger RD and Hau B (1997) Angular leaf spot of *Phaseolus* beans: relationships between disease, healthy leaf area, and yield. *Phytopathology* 87: 506-515
- Berger RD, Bergamin Filho A and Amorim L (1997) Lesion expansion as an epidemic component. *Phytopathology* 87: 1005-1013
- Buruchara RA (1983) Determination of pathogenic variation in *Isariopsis griseola* Sacc. and *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola* (Burk., 1926) Young, Dye and Wilkie 1978. PhD dissertation, University of Nairobi, Kenya
- Buruchara RA, Gathuru EM and Mukunya DM (1988) Disease progress of angular leaf spot caused by *Isariopsis griseola* Sacc. and its implications on resistance of some bean (*Phaseolus vulgaris* L.) cultivars. *Acta Horticulturae* 218: 321-328
- Campbell CL and Madden LV (1990) Introduction to Plant Disease Epidemiology. John Wiley and Sons, New York
- Campos-Avila J and Fucikovsky Zak L (1980) Study of some characteristics of *Isariopsis griseola* Sacc., the agent which causes angular leaf spot of French bean. *Agrociencia* 39: 41-48
- Cardona-Alvarez C and Walker JC (1956) Angular leaf spot of bean. *Phytopathology* 46: 610-615
- Carneiro SMTPG, Amorim L and Bergamin Filho A (1997) Angular leaf spot damage assessment on beans: relationship between disease severity, leaf area, and yield components. *Fitopatologia Brasileira* 22: 427-431
- Carneiro SMTPG, Amorim L, Bergamin Filho A, Hau B and Bianchini A (2000) Leaf area dynamic, defoliation, and healthy leaf area variables on common beans with single and multiple infections of *Phaeoisariopsis griseola* and *Colletotrichum lindemuthianum*. *Summa Phytopathologica* 26: 406-412

Chapitre 1 – Pathosystème Phaseolus vulgaris - Phaeoisariopsis griseola

- Cole H (1966) Angular leaf spot associated with severe defoliation of red kidney beans (*Phaseolus vulgaris*) in Pennsylvania. Plant Disease Reporter 50: 494
- Correa-Victoria FJ (1987) Pathogenic variation, production of toxic metabolites, and isoenzyme analysis in *Phaeoisariopsis griseola* (Sacc.) Ferr. PhD dissertation, Michigan State University, USA
- Correa FJ and Saettler AW (1987) Angular leaf spot of red kidney beans in Michigan. Plant Disease 71: 915-918
- Dhingra OD and Kushalappa AC (1980) No correlation between angular leaf spot intensity and seed infection in bean by *Isariopsis griseola*. Fitopatologia Brasileira 5: 149-152
- Diaz CP, de Armas E and Barrios A (1965) La mancha angular de la caraota producida por *Isariopsis griseola* Sacc. en la cuenca del lago de Valencia. Agronomia Tropical 14: 262-275
- Eversmeyer MG and Burleigh JR (1968) Effect of temperature on longevity of *Puccinia recondita* f. sp. *tritici* urediospores on dry wheat foliage. Plant Disease Reporter 52:186-188
- Forrester JW (1961) Industrial dynamics. Massachusetts Institute of Technology Press, Cambridge
- Godoy CV, Carneiro SMTPG, Iamauti MT, Pria MD, Amorim L, Berger RD and Filho AB (1997) Diagrammatic scales for bean diseases: development and validation. Zeitschrift fur Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz 104: 336-345
- Hocking D (1967) A new virulent form of *Phaeoisariopsis griseola* causing circular leaf spot of French beans. Plant Disease Reporter 51: 276-278
- Inglis DA and Hagedorn DJ (1984) Temperature requirements by *Isariopsis griseola* (IG) for infection and disease development on red kidney beans. Phytopathology 74: 856
- Inglis DA and Hagedorn DJ (1986) Temperature requirements by *Isariopsis griseola* for infection and disease development on red kidney beans. Annual Report of the Bean Improvement Cooperative 29: 35
- de Jesus Junior WC, Vale FXR, Coelho RR, Hau B, Zambolim L, Costa LC and Bergamin Filho A (2001) Effects of angular leaf spot and rust on yield loss of *Phaseolus vulgaris*. Phytopathology 91: 1045-1053
- de Jesus Junior WC, Vale FXR, Coelho RR, Paul PA, Hau B, Bergamin Filho A, Zambolim L and Berger RD (2003) Relationships between angular leaf spot, healthy leaf area, effective

Chapitre 1 – Pathosystème Phaseolus vulgaris - Phaeoisariopsis griseola

- leaf area and yield of *Phaseolus vulgaris*. European Journal of Plant Pathology 109: 625-632
- Kaizer WJ and Lukezic FL (1966) Influence of certain environmental factors on spore survival of *Cercospora hayi* from banana. Phytopathology 56:1290-1293
- Liebenberg MM and Pretorius ZA (1997) A review of angular leaf spot of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). African Plant Protection 3: 81-106
- Llanos CM (1957) Patogenicidad del *Isariopsis griseola* Sacc. en frijol (*Phaseolus vulgaris* L.). Acta Agronomica 7: 165-190
- Monda EO, Sanders FE and Hick A (2001) Infection and colonization of bean leaf by *Phaeoisariopsis griseola*. Plant Pathology 50: 103-110
- Mora B, Pastor Corrales M, Zambolim L, Viera C and Chaves G (1985) Determining yield losses in French bean from angular leaf spot (*Isariopsis griseola* Sacc.). Phytopathology 75: 1178 (abstr.)
- Nelson SC and Campbell CL (1993) Disease progress, defoliation, and spatial pattern in a multiple-pathogen disease complex on white clover. Phytopathology 83: 419-429
- Orozco-Sarria SH and Cardona-Alvarez C (1959) Evidence of seed transmission of angular leaf spot of bean. Phytopathology 49: 159
- Rabbinge R, Ward SA and Van Laar HH (1989) Simulation and Systems Management in Crop Protection. Pudoc, Wageningen
- Rapilly F (1983) Effets de quelques facteurs physiques sur diverses séquences épidémiques. EPPO Bulletin 13: 63-68
- Rodrigues FD, Fernandes JJ and Martins M (1999) Influence of successive bean plantings on the severity of angular leaf spot and rust and yield losses. Pesquisa Agropecuaria Brasileira 34: 1373-1378
- Saettler AW (1991) Angular leaf spot. In: Hall R (ed.) Compendium of bean diseases (pp.15-16) APS Press, St Paul, MN
- Santos-Filho HP, Ferraz S and Sedyama CS (1976) Isolamento e esporulação "in vitro" de *Isariopsis griseola* Sacc. Experientiae 7: 175-193
- Sartorato A (1989) Resistência vertical e horizontal do feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris* L.) a *Isariopsis griseola* Sacc. PhD dissertation, ESALQ (Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiróz"), Piracicaba, Brazil

Chapitre 1 – Pathosystème Phaseolus vulgaris - Phaeoisariopsis griseola

- Sartorato A and Rava CA (1992) Influência da cultivar e do numero de inoculações na severidade da mancha angular (*Isariopsis griseola*) e nas perdas na produção do feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris*). Fitopatologia Brasileira 17: 247-251
- Schwartz HF, Correa V F, Pineda D PA, Otoyá MM and Katherman MJ (1981) Dry bean yield losses caused by Ascochyta, angular, and white leaf spots in Colombia. Plant Disease 65: 494-496
- Sengooba T and Mukiiibi J (1986) Studies on inoculum sources of angular leaf spot of beans caused by *Phaeoisariopsis griseola* in Uganda. Tropical Pest Management 32: 288-291
- Silva MB, Vale FXR, Zambolim L and Hau B (1998) Effects of bean rust, anthracnosis and angular leaf spot on dry bean leaf area. Fitopatologia Brasileira 23: 442-447
- Sindhan GS and Bose SK (1979) Perpetuation of *Phaeoisariopsis griseola* causing angular leaf spot of French beans. Indian Phytopathology 32: 252-254
- Sindhan GS and Bose SK (1980a) Effect of temperature and relative humidity on the development of angular leaf spot of French bean. Progressive horticulture 12: 5-14
- Sindhan GS and Bose SK (1980b) Epidemiology of angular leaf spot of French bean caused by *Phaeoisariopsis griseola*. Indian Phytopathology 33: 64-68
- Sohi HS and Sharma RD (1974) Mode of survival of *Isariopsis griseola* Sacc., the causal agent of angular leaf spot of beans. Indian Journal of Horticulture 31: 110-113
- Teng PS (1985) A comparison of simulation approaches to epidemic modelling. Annual Review of Phytopathology 23: 351-379
- Teng PS and Close RC (1978) Effects of temperature and uredinium density on urediniospore production, latent period, and infectious period of *Puccinia hordei* Otth. New Zealand Journal of Agricultural Research 21:287-296
- Van der Plank JE (1963) Plant Diseases- Epidemics and Control. Academic Press, New York
- Van Hees-Boukema EM and Zadoks JC (1986) Postponed germination of *Puccinia recondita* deposited on wheat seedlings. II. Infectivity of urediospores after postponed germination. Netherlands Journal of Plant Pathology 92:71-80
- Verma BR and Sharma SL (1984) Variability in *Phaeoisariopsis griseola* the cause of angular leaf spot of beans. Indian Phytopathology 37: 580-581
- Watson GR, Kucharek TA, Shokes FM and Gorbet DW (1986) The relationship between late leafspot severity and defoliation in three peanut cultigens. Phytopathology 76: 1081

Chapitre 1 – Pathosystème Phaseolus vulgaris - Phaeoisariopsis griseola

Willoquet L, Alloreant D and Savary S (2004) Quantitative analysis of two important epidemiological features in the common bean - *Phaeoisariopsis griseola* pathosystem.

Fitopatologia Brasileira 29: 676-679

Zadoks JC (1971) Systems analysis and the dynamics of epidemics. *Phytopathology* 61: 600-610

Zadoks JC and Schein RD (1979) *Epidemiology and plant disease management*. Oxford University Press Inc., New York

Zadoks JC and Rabbinge R (1985) Modelling to a purpose. In: Gilligan CA (ed.) *Advances in Plant Pathology. Mathematical Modelling of crop Diseases*. Vol. 3 (pp.231-244) Academic Press, London

III. Objectifs spécifiques de la thèse

Le développement d'une structure de modèle synthétisant le fonctionnement des épidémies de tache angulaire a permis de mettre en évidence plusieurs axes de recherche importants. Ces axes de recherche portent sur :

- 1) l'existence d'une défoliation des tissus infectés de l'hôte qui amène à l'accumulation d'une source d'inoculum supplémentaire au niveau du sol,
- 2) les mécanismes de dissémination des spores à l'échelle d'une plante et d'une parcelle,
- 3) la sporulation des lésions des deux sources d'inoculum que sont les feuilles infectées dans le couvert ou les feuilles infectées détachées et localisées au sol,
- 4) l'extension des lésions qui favorise l'accentuation des épidémies.

Les trois premiers points énoncés ci-dessus sont abordés dans le chapitre 2 et le quatrième point dans le chapitre 3. Des expériences spécifiques sont mises en place dans le but de quantifier des paramètres et d'étudier leurs rôles dans le fonctionnement des épidémies. Les effets de certaines pratiques agricoles sur les épidémies de tache angulaire sont évalués dans les chapitres 3 et 4. L'objectif spécifique est alors d'essayer de comprendre les mécanismes qui régissent les effets épidémiologiques de la résistance partielle, de l'âge des plantes et des feuilles et de la diversité végétale.

Chapitre 2

Processus monocyclique

I. Problématique

Les épidémies sont des processus biologiques complexes qui peuvent être décomposées en plusieurs cycles d'infection ou processus monocycliques qui se succèdent (Zadoks et Schein, 1979). Pour une meilleure compréhension du fonctionnement des épidémies, le processus monocyclique peut être à son tour décomposé en plusieurs sous-processus tels que le dépôt des spores sur l'hôte, la germination de celles-ci, l'infection de l'hôte par ces spores, la sporulation des lésions mises en place lors de l'infection, la libération et la dissémination des spores (Gaeumann, 1946; Butt et Royle, 1980; Kranz, 1980; Campbell et Madden, 1990; Rapilly, 1991). La première étape abordée dans le cadre de l'épidémiologie quantitative consiste en une analyse des sous-processus, étudiés individuellement, pour comprendre comment ils fonctionnent en réponse aux conditions environnementales. Une deuxième étape consiste en une synthèse, effectuée à l'aide de l'analyse des systèmes, permettant de comprendre comment ces différents sous-processus sont reliés (Kranz et Hau, 1980). L'analyse des sous-processus est basée sur des études expérimentales du type stimulus-réponse (Zadoks, 1972; Zadoks et Schein, 1979). Des variables représentatives des sous-processus (comme par exemple l'intensité de production de spores par une lésion) sont quantifiées en réponse à un ou plusieurs facteurs (tels que la température et/ou la durée d'humectation du couvert). L'analyse des sous-processus en interaction avec les conditions environnementales peut avoir une application dans le développement des systèmes de prévision de risques épidémiologiques (Zadoks et Schein, 1979; Campbell et Madden, 1990). On considère alors une période critique (délai) durant laquelle les conditions environnementales sont favorables aux sous-processus ayant un rôle important dans la dynamique des épidémies du pathogène considéré. L'analyse des sous-processus du processus monocyclique nécessite donc une détermination de paramètres (variables) qui vont être quantifiés à l'aide de définitions opérationnelles adéquates.

Dans le premier chapitre, nous avons mis en évidence cinq étapes du processus monocyclique chez *Phaeoisariopsis griseola* que sont l'établissement des lésions sur l'hôte, l'extension de ces lésions, la défoliation des tissus infectés hôtes, la sporulation des lésions, et la dissémination des spores (libération et dépôt sur l'hôte). A partir d'une structure de modèle visant à synthétiser les caractéristiques épidémiologiques de la maladie, l'importance de plusieurs de ces caractéristiques a été soulignée. Ainsi, plusieurs axes de recherche ont été mis

en évidence et des expériences spécifiques ont été mises en place, visant à tester les hypothèses sous-jacentes aux questions de recherche abordées.

Nous nous sommes orientés dans un premier temps sur une meilleure compréhension et une quantification de la dissémination des spores par la pluie et par le vent. Les objectifs de ces premières expériences étaient : 1) d'étudier les mécanismes de dissémination des spores par la pluie à partir des deux stocks de spores représentés par les tissus infectés situés dans le couvert végétal et au sol, et 2) de quantifier l'effet de différents facteurs sur la libération des spores par le vent.

Dans un deuxième temps, l'établissement des lésions a été étudié à différentes échelles spatiales. Les proportions d'autoinfection et d'alloinfection au sein d'une même plante et entre plantes voisines ont été quantifiées dans le cadre d'une dissémination des spores par la pluie. Ces expériences apportent des informations préliminaires sur la possibilité d'utiliser des associations variétales pour contrôler les épidémies de tache angulaire du haricot commun.

Dans une troisième partie, nous nous sommes intéressés à la mobilisation des spores à partir des tissus infectés localisés dans le couvert et au sol. Les objectifs de ces expériences étaient : 1) de quantifier les facteurs quotidiens de multiplication (ratio du nombre de lésions produites par lésion mère et par jour, DMFR, Zadoks, 1971) pour les deux sources d'inoculum et 2) de les incorporer dans un modèle de simulation dérivant de la structure de modèle synthétique élaborée dans le premier chapitre. Le modèle de simulation est destiné à étudier l'effet de ces deux facteurs quotidiens de multiplication mesurés expérimentalement sur les épidémies de tache angulaire du haricot, passant ainsi d'une dimension monocyclique à une dimension polycyclique.

Dans une dernière partie, la sporulation des deux sources d'inoculum a été étudiée afin de mettre en évidence une différence quantitative en terme de sporulation s'il y a lieu.

Quatre des cinq étapes du processus monocyclique ont été abordées dans ce chapitre. L'extension des lésions est abordée dans le chapitre 3, en étudiant les effets de l'âge des plantes, de l'âge des feuilles et de la résistance partielle sur différentes caractéristiques épidémiologiques, dont l'extension des lésions.

II. Expérimentations

A. Dissémination des spores par la pluie

Synopsis en français du manuscrit 2

Analyse de la dissémination des spores de *Phaeoisariopsis griseola* dans un couvert végétal de haricot infecté à partir de deux sources d'inoculum

Introduction

Lors d'un événement pluvieux, plusieurs mécanismes de libération et de transport des spores interviennent (figure 1). Les spores peuvent être libérées à sec dans les premiers instants de la pluie, par l'impact des gouttes de pluie sur les tissus infectés (mécanisme de 'tap and puff'; Hirst et Stedman, 1963) et par éclaboussures (mécanisme de 'splash'; Gregory et al., 1959; Fitt et al., 1989; Madden, 1992) des gouttes de pluie transportant les spores. Les spores en suspension dans l'air peuvent être déposées sur le couvert ou lessivées directement au sol. Des suspensions de spores se forment sur le couvert et s'écoulent le long des tiges et des feuilles jusqu'au sol (Fitt et al., 1989).

Les conséquences des événements pluvieux sur la libération et le transport des spores chez *Phaeoisariopsis griseola* ont été très peu testées. Les différents mécanismes impliqués ont été étudiés à l'aide d'un mini-simulateur de pluie modèle ORSTOM (Asseline et Valentin, 1978), avec des intensités de pluie de 30 mm.h⁻¹ et des durées de pluie variables (5, 10 et 30 minutes).

Les objectifs des expériences menées étaient 1) de caractériser les différents mécanismes de la dissémination des spores induits lors d'événements pluvieux, 2) de mesurer l'effet de différentes durées de pluie sur la dissémination des spores, 3) de quantifier les quantités de spores déplacées à partir d'un stock initial de spores vers les trois compartiments du système que sont l'air, le couvert et le sol et 4) de comparer la mobilisation des spores à partir de deux types de sources d'inoculum, l'une située sur des feuilles infectées au niveau du couvert végétal, l'autre sur des feuilles positionnées au sol.

Des capteurs installés dans des micro-parcelles de haricot (70 × 70 cm) ont permis de quantifier les quantités de spores libérées selon la localisation de la source d'inoculum (photo 1).



Photo 1. Micro-parcelle de haricots (70 x 70 cm) et capteurs de spores mis en place sous le simulateur de pluie.

Quatre types de capteurs de spores sont utilisés simultanément : 1) capteur échantillonnant les spores libérées par éclaboussures de 8 à 80 cm du sol, 2) capteurs de spores par impact (Rotorod®) placés à 27 et 42 cm du sol, échantillonnant les spores libérées à sec dans l'air, 3) plantes pièges intégrées au couvert végétal échantillonnant les spores déposées, et 4) pot enterré échantillonnant les spores lessivées au sol.

Dans une première expérience, la source d'inoculum était constituée par toutes les feuilles des plantes des micro-parcelles préalablement infectées artificiellement. Dans une deuxième expérience, la source d'inoculum était constituée par des feuilles infectées placées sur le sol, à la base des plantes des micro-parcelles, représentant des feuilles infectieuses, défoliées et tombées au sol.

Principaux résultats

Quelle que soit la durée de pluie et la localisation de la source d'inoculum, les pluies simulées libèrent plus de la moitié du stock initial en spores (de 57 à 74% des spores libérées). Dès cinq minutes de pluie, les stocks en spores sont très fortement réduits (63% de spores libérées provenant des feuilles infectées localisées au sol, représentant un ordre de grandeur de 10^6 spores libérées par m^2 , et 57% de spores libérées provenant des feuilles infectées localisées dans le couvert végétal, représentant un ordre de grandeur de 10^7 spores libérées par

m²). Ces pluies provoquent notamment la libération de spores à sec dans l'air quelle que soit la localisation de la source d'inoculum. Cependant, la libération de spores dans l'air est plus importante pour des spores situées sur des feuilles infectées dans le couvert (densités de spores dans l'air, estimées à l'aide des capteurs par impact, de l'ordre de 10² à 10³ spores par m³ pour des spores provenant des feuilles infectées localisées au sol et de l'ordre de 10⁴ spores par m³ pour des spores provenant des feuilles infectées du couvert). Le phénomène d'éclaboussures (splash) entraîne plus de spores à partir des feuilles infectées du couvert (ordre de 10⁴ spores par m²) qu'à partir des feuilles infectées localisées au sol (ordre de 10³ spores par m²). La majorité des spores est échantillonnée à de faibles hauteurs (8-32 cm). L'effet de la durée de pluie sur la dissémination des spores par éclaboussures n'est pas significatif, quelle que soit la localisation de la source d'inoculum. Les quantités de spores lessivées par les pluies simulées sont plus élevées lorsque les spores proviennent des feuilles infectées localisées dans le couvert que lorsqu'elles proviennent des feuilles infectées localisées au sol (ordre de 10⁴ spores par m², pour les deux localisations des sources d'inoculum). Aucun effet significatif de la durée de pluie sur le lessivage des spores n'est détecté. Les quantités de spores déposées sur le couvert sont elles aussi plus élevées lorsque les spores proviennent des feuilles infectées localisées dans le couvert (ordre de 10⁴ spores par m²) que lorsqu'elles proviennent des feuilles infectées localisées au sol (ordre de 10³ spores par m²). Dans le cas où la source d'inoculum est située dans le couvert, la quantité de spores déposées sur ce même couvert augmente numériquement avec la durée de pluie. Cependant ces différences ne sont pas significatives.

Discussion et conclusion

Cette étude, faisant appel à des simulations de pluie réalisées sur des stocks de spores localisés soit dans le couvert végétal soit au sol, conduit à comparer l'importance relative de la localisation de l'inoculum en termes de libération, de transport et de dépôt des spores. Les résultats montrent que les spores localisées sur des feuilles infectées au sol peuvent être mobilisées dans des proportions égales à celles de spores provenant du couvert végétal infecté, dès cinq minutes de pluie. Après ces cinq minutes, la majorité des spores sont en suspension dans l'air. Dans des conditions environnementales adéquates, ces spores peuvent contribuer à de nouvelles infections du couvert végétal si elles sont déposées sur le couvert.

Elles peuvent aussi être transportées sur de longues distances et participer à la dispersion de la maladie (Hirst et Stedman, 1963).

Les événements pluvieux conduisent à la dissémination des spores par éclaboussures, la majorité d'entre-elles atteignant des hauteurs comprises entre 8 et 32 cm. Ces spores peuvent contribuer à de nouvelles infections du couvert végétal, celui-ci étant compris dans cette classe de hauteurs. Des quantités importantes de spores, provenant des feuilles infectées du couvert végétal ou du sol, ont été échantillonnées entre 56 et 80 cm de hauteur. Ces spores libérées dans l'air et intégrées à des gouttelettes de pluie peuvent aussi être transportées sur de longues distances et participer à la propagation de la maladie (Fitt et al., 1989). La viabilité de ces spores n'est pas connue chez *P. griseola*.

Les résultats de ces expériences montrent que la proportion de spores lessivées au sol a été plus importante que la proportion de spores déposées sur le couvert végétal, quelle que soit la localisation de la source d'inoculum. Le lessivage des spores au sol est un mécanisme important qui contribue à la perte de spores potentiellement efficaces et ainsi à la réduction des épidémies.

Les résultats de cette étude montrent que les débris infectés, provenant de la défoliation des tissus infectés, peuvent contribuer à l'accentuation des épidémies de tache angulaire du haricot commun.

Manuscrit 2

***Analysis of rain-induced spore dispersal in a bean stand infected by *Phaeoisariopsis griseola* with two locations of inoculum sources*¹**

Allorent D, Willocquet L, Janeau JL and Savary S

1. Abstract

A rain simulator was used to determine the effects of rainfalls on mobilisation and dispersal of *Phaeoisariopsis griseola* spores from two locations of inoculum sources. Two sources of inoculum were considered: infected tissues located in a bean canopy and infected tissues located on the ground mimicking infected defoliated tissues. Rainfall durations were 5, 10 and 30 minutes of a 30 mm.h⁻¹ rainfall intensity. The different mechanisms studied were splash-dispersal, tap and puff dispersal, spore run-off, and spore deposition on the canopy. They were quantified with different spore traps included in 70 × 70 cm bean microplots. Rainfalls mobilised up to 50% of the spores from the two inoculum sources. Larger numbers of spores were sampled with impact traps in the atmosphere when inoculum was located in the canopy than on the ground. Splash dispersal was larger when inoculum was located on the ground than in the canopy. Effects of rainfall duration were not significant. The majority of the splashed-spores were sampled between 8 to 32 cm from ground but few spores could reach 80 cm in height. Spore run-off and spore deposition were larger when inoculum was located on the ground than in the canopy. The results indicate that inoculum source located on infected defoliated tissues may contribute to new infections of a bean canopy during rainfall events. The epidemiological implications are discussed.

Additional keywords: mechanisms of rain spore dispersal, quantitative epidemiology, rainfall simulations.

¹ Manuscrit en préparation en vue d'une soumission à *Agriculture and Forest Meteorology*, et dont les données ont été partiellement publiées (Savary S, Janeau JL, Allorent D, Escalante M, Avelino J and Willocquet L (2004) Effects of simulated rainfall events on spore dispersal and spore stocks in three tropical pathosystems. *Phytopathology* 94: S92 (abstr.))

2. Introduction

Several mechanisms of spore dispersal are triggered in a diseased crop canopy when a rainfall occurs (Figure 1). Dry spores are liberated as a result of impact of rain drops on infected tissues (the 'tap and puff' mechanism, Hirst and Stedman, 1963), droplets of water containing spores are dispersed as a result of splash events (Gregory et al., 1959; Fitt et al., 1989; Madden, 1992), dry spores suspended in the air are scrubbed by falling rain drops, and spore suspensions are formed that drip along leaf blades and stems (Fitt et al., 1989). The implications of rainfall on dispersal of *Phaeoisariopsis griseola* are unknown.

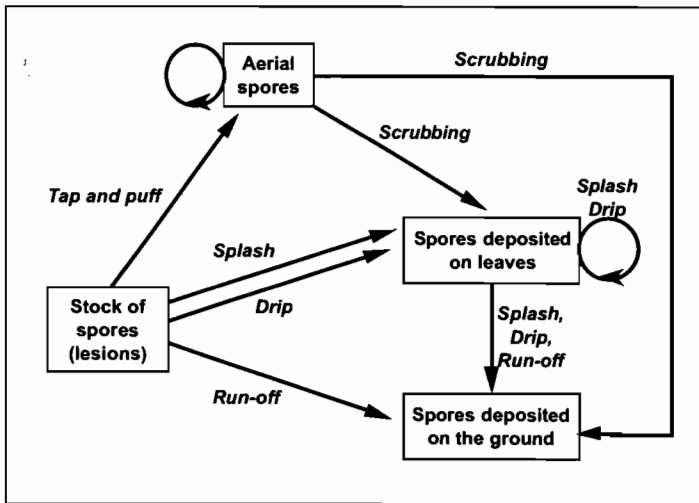


Figure 1. A simplified representation of rain-induced spore movements in a diseased canopy.

Many different approaches are available to address the quantification of rain-induced dispersal of plant-pathogenic fungi by rain. One important feature of many pathosystems, including ALS-bean, is the disease-induced defoliation of tissues, whereby sporulating lesions are brought to the ground. This second source of inoculum has to be considered as well as the initial one, lesions in the canopy. A semi-controlled conditions approach was used in the present study, with infected bean micro-plots and a rainfall simulator. The objectives were 1) to characterise rain-induced mechanisms of spore dispersal in ALS, 2) to measure the effect of rainfall duration on these mechanisms, 3) to quantify the amounts of displaced spores from

lesions to three compartments: the crop canopy, the air above the canopy, and the ground beneath it, and 4) to compare the mobilisation of spores from two sources, differing in their localisation in the canopy, sporulating lesions on leaves in the canopy, or sporulating lesions on leaves fallen on the ground.

3. Material and methods

3.1. Experimental plots and inoculations

The system considered is a 1 m³ cube, including the canopy developed by fifty potted bean plants (cvr Negro Huasteco; Figure 2).

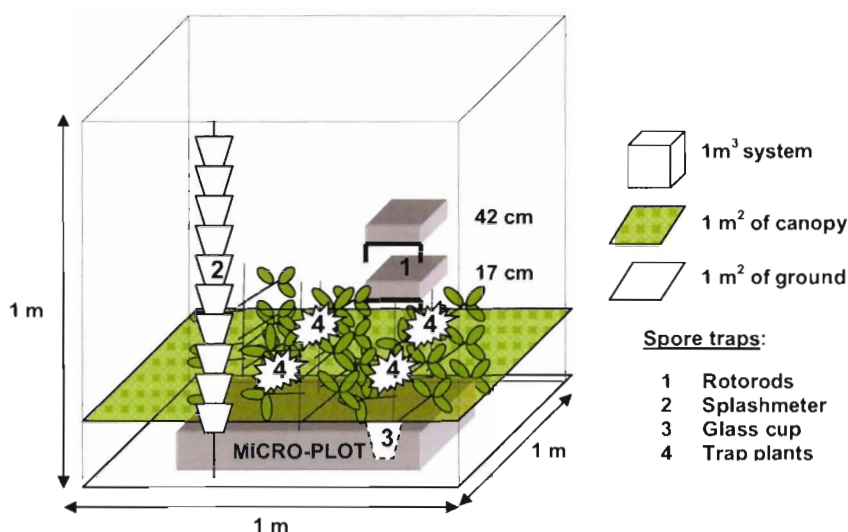


Figure 2. Experimental set-up and positioning of the different spore traps.

Seeds were sown in 11 cm-diameter plastic pots containing 650g of a soil-sand mixture (1:5), with two seeds per pot. Pots were placed in a 70 × 70 cm wooden frame (referred to as a micro-plot) with a 10 × 10 cm spacing, and immersed into the same soil-sand mixture (1:5). Inoculations were made with the isolate P. Turri of *Phaeoisariopsis griseola*, isolated in Turrialba in 2001. Two types of inoculum positioning with respect to the bean canopy were considered: either located within the canopy, or located at its base. In a first experiment (Experiment I), all the leaves of the twenty-two-old micro-plot plants were inoculated using a hand sprayer containing a 5 spores.μl⁻¹ spore suspension (Tween 80 at 0.01% v/v). Inoculated

plants were incubated for three successive nights in the water-saturated atmosphere of polyethylene cages. In a second experiment (Experiment 2), twenty-two-old plants in pots were inoculated using the same procedure to produce infected leaflets which were cut. Just before simulated rainfall events, one infected leaflet was positioned on ground at the base of each potted plant of the micro-plot (25 infected leaflets per micro-plot). Production of spores was induced by incubating infected plants for three successive nights in the polyethylene cages just before simulated rainfall events. Mean temperatures in the greenhouse between sowing and simulated rainfall events varied between 19 and 41°C.

3.2. Positioning of the spore traps

Four types of spore traps were placed in each micro-plot before simulated rainfall events (Figure 2). Five minutes before and five minutes during simulated rainfall events, aerial spores density was measured by running two impact spore traps (Rotorod® model 20) at two heights from ground (17 and 42 cm). It was assumed that spores suspended in droplets cannot be trapped with impact spore traps as droplets do not adhere to the silicone grease covering the rods (Savary and Janeau, 1986). The splash dispersal spore trap (splashmeter) was constructed as described by Bannon and Cooke (1998). It consisted in 10 plastic cups (8 cm-height, 4.5 cm-diameter at base and 7 cm-diameter at top) assembled on a metallic axis. It allows quantifying the number of spores splashed on the cups at different heights (8 to 80 cm from ground). Eight potted trap plants (four pots with two plants each) were placed into the micro-plot to quantify the spores deposited on the canopy (Figure 1). A last type of spore trap was a glass vial (4.5 cm-diameter) buried into the soil to quantify the flow of spores washed-off from the canopy and from the atmosphere to the ground.

3.3. Observations before rainfall simulations

Experiment 1

Observations were made to estimate the total leaf area of each micro-plot canopy and the amount of inoculum per micro-plot (number of lesions). The following observations were made in each micro-plot:

- 1) Number of plants,
- 2) The number of units (cotyledons and leaves) for a sample of four plants,
- 3) The number of infected units,
- 4) The number of lesions per unit for a sample of fifteen units,

5) The length (L) and width (l) of cotyledons and central leaflets for a sample of eight plants. The leaf area was estimated for each leaf of the eight plants with the equation $y = 1.52x + 0.69$ (with $x = L \times l$ and $y =$ total leaf area, $r^2 = 0.95$, Willocquet et al., 2004). The cotyledon area was estimated with an equation obtained for a sample of 20 cotyledons with the same procedure as in Willocquet et al. (2004). This equation was $y = 0.83x - 0.04$ (with $x = L \times l$ and $y =$ total cotyledon area, $r^2 = 0.92$).

Experiment 2

The total leaf area was estimated for all leaves of the canopy in each micro-plot using the same equations as in experiment 1. The number of lesions present on a sample of 36 infected leaflets was assessed before positioning the infected leaflets on the ground.

The leaf area of all trap plants was estimated using the same equations in both experiments.

3.4. Simulated rainfall events

Rain simulations were conducted 15 days after the inoculations of the plants with a rain simulator model ORSTOM (Asseline and Valentin, 1978). The rain simulator consists of a telescopic tower on which one single nozzle is mounted. Moved by an adapted windscreen wiper electric waterproof motor, the nozzle oscillates across the plot at height of 3.5 m. The angle of oscillation is programmed in a computer linked to the motor. The rain intensity corresponding to the angle of oscillation is calculated measuring the quantity of water which falls onto a surface of 1 m^2 during a specified time duration. Possible rain intensities range from 30 to 140 mm.h^{-1} . This rain simulator producing a range of droplets sizes, instead of single-sized drops, provides a realistic approach of field conditions (Savary and Janeau, 1986). The kinetic energy of the artificial rain drops approximates that of natural rain (Asseline and Valentin, 1978). There were three replications of three rain simulations with the same intensity but different durations (30 mm.h^{-1} , during 5, 10 and 30 minutes). This intensity is commonly found in tropical regions (Casenave and Valentin, 1988; Mauchamps and Janeau, 1993).

3.5. Spores counts

Before and after each simulated rainfall event, two leaflets per micro-field were taken to quantify the initial stock of spores. The total number of lesions per leaflet was counted. Twenty lesions were cut into pieces and shaken in 2 ml water with 0.01% (v/v) Tween 80

before counting. Five spore counts were made with a haemocytometer. The number of spores was divided by the number of lesions per leaflet, to derive an average number of spores per lesion. This average number of spores per lesion was multiplied by the number of lesions per micro-plot and divided by the area of the micro-plot (0.49 m^2), to estimate the number of mobilised spores per m^2 during each event.

The number of spores collected on the rotorod samplers was counted and divided by a coefficient according to the constructor specifications (Sampling Technologies, Inc., USA). The sampling rate was $2.6 \text{ m}^3 \cdot \text{h}^{-1}$. The results were expressed as number of spores sampled per m^3 (aerial densities).

After each rainfall event, the surface of each plastic cup of the splash dispersal spore trap was rinsed. The liquid rinsing of a given cup was recovered into the cup located immediately below the rinsed cup, and was dried under laboratory conditions. The spore content of each cup was considered to represent the number of spores which had hit the cup immediately above it. When the content was evaporated, $500 \mu\text{l}$ water with 0.01% (v/v) Tween 80 was added and the spore content of the solution was counted using a haemocytometer. To express the results as number of spores sampled per m^2 , the number of spores caught in each plastic cup was divided by the sampled surface (area of the half cup surface exposed to the splash dispersal).

In the same way, the number of spores caught into the buried vial cup was counted and divided by the sampled surface (area of the vial cup bottom).

After each simulated rainfall event, trap plants were placed in the water-saturated atmosphere of polyethylene cages during three successive nights. In the same time, control plants were inoculated as previously described and incubated with trap plants, to quantify the infection efficiency occurring during these specific environmental conditions. Mean temperatures in the greenhouse during these three days varied between 19 and 40°C . The infection efficiency is defined as the ratio of the density of lesions to the density of deposited spores (Zadoks and Schein, 1979). The density of deposited spores was estimated by spraying twenty Petri dishes containing water-agar with $840 \mu\text{l}$ of spore suspension (same amount as for a leaf at inoculation). The Petri dishes were kept at 24°C in the dark for 12 hours. Three drops of cotton blue were then deposited at random on each Petri dish, and spore counts were made on 4 cm^2 , corresponding to the area of cover slides used for microscopic examinations. A number of spores deposited per cm^2 (density of spores) was thus obtained. After 15 days of

incubation, the number of lesions per leaf was counted on trap plants and control plants. The number of lesions per leaf on the control plants was divided by the leaf area. This density of lesions was divided by the density of deposited spores, to derive the infection efficiency for each experiment. Infection efficiency was 0.26 ± 0.17 (standard deviation), in experiment 1, and 0.26 ± 0.12 , in experiment 2. The number of lesions per leaf of the trap plants was divided by the leaf area, to obtain a lesion density. A mean lesion density was calculated for each micro-plot. This mean lesion density was multiplied by the total leaf area, and divided by the infection efficiency and by the micro-plot area (0.49 m^2), to obtain a number of deposited spores per m^2 .

3.6. Statistical analysis

Analyses of variance were performed with the PROC GLM procedure of SAS (SAS Institute, Cary, NC, version 8, 1999-2001). The effect of rainfall duration (5, 10 or 30 minutes) and experiment (inoculum on ground or inoculum in canopy) on spore densities (number of spores per m^2) was analyzed using a two-way analysis of variance (Gomez and Gomez, 1984), for spore mobilisation, spore washing-off, and spore deposition on trap plants samplings. A logarithmic transformation was used to reduce variance heterogeneity (Gomez and Gomez, 1984). The effect of rainfall duration (without rainfall or 5 minutes after the beginning of rainfall) and height of sampling (17 cm or 42 cm) on the aerial spore densities (number of spores per m^3) was analyzed using a two-way analysis of variance for both experiments. For splash dispersal sampling, the effect of rainfall duration (5, 10 or 30 minutes) and height of sampling (between 8 to 32, 32 to 56 or 56 to 80 cm) on the spore densities (number of spores per m^2) was analyzed using a two-way analysis of variance for both experiments (Gomez and Gomez, 1984).

4. Results

4.1. Spore mobilisation by rainfall

Rainfall induced spores mobilisation in both experiments (Figure 3).

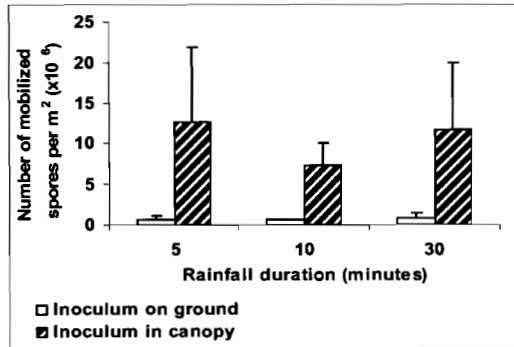


Figure 3. Mobilization of spores from initial stocks according to rainfall duration and inoculum positioning.

Each bar is the mean of three replications; error bars indicate standard deviation.

On average, ten times more spores were mobilised from an initial stock of spores when the inoculum source, represented by artificially infected leaves, was located in the canopy than on the ground. The order of magnitude of mobilised spores ranged from 10^6 (inoculum on the ground) to 10^7 (inoculum source in the canopy) spores per m². As initial stocks were different between experiments (inoculum source on the ground versus in the canopy), percentages of mobilised spores were calculated proportional to the initial number of spores (initial stock of spores). These percentages were large (57 to 74%) for all rainfall durations and for both experiments (Figure 4).

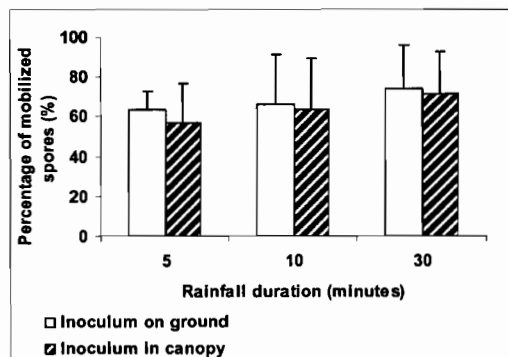


Figure 4. Percentages of mobilized spores from initial stocks according to rainfall duration and inoculum positioning.

Each bar is the mean of three replications; error bars indicate standard deviation.

They increased numerically with rainfall duration, but rainfall duration had no significant effect ($F = 0.54$, $P = 0.59$). No significant differences were detected between experiments ($F = 0.13$, $P = 0.72$), nor a significant interaction between rainfall duration and experiments ($F = 0.02$, $P = 0.98$). Figure 4 shows that after 5 minutes of a 30 mm.h^{-1} rainfall, the majority of spores from the initial stock of spores were already mobilised in both experiments.

4.2. Spores caught by impact spore traps

Rainfall induced spore liberation in air in both experiments (Figure 5).

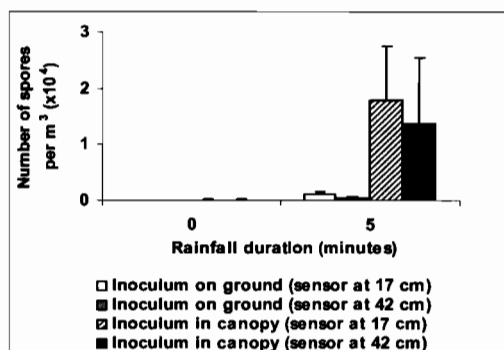


Figure 5. Aerial dry spore densities sampled with rotorod spore traps according to rainfall duration (before and after the beginning of rainfall simulations) and inoculum positioning.

Each bar is the mean of three replications; error bars indicate standard deviation.

Many more spores were liberated when inoculum source was located in the canopy than on the ground. The order of magnitude of sampled spores ranged from 10^2 and 10^3 spores per m^3 (inoculum located on the ground) to 10^4 spores per m^3 (inoculum located in the canopy). Aerial spore densities were higher at 17 cm from ground than at 42 cm for both experiments. These differences were significant only for experiment where inoculum was located on the ground ($F = 6.67$, $P = 0.01$). The effects of rainfall were significant ($F = 195$, inoculum located on the ground; and $F = 177$, inoculum located in the canopy, $P < 0.01$) in both experiments. No significant interaction was detected between rainfall and height of capture.

4.3. Spores caught by a splash dispersal spore trap

About ten times more spores were caught with the splash dispersal spore trap when the inoculum source was located in the canopy than on the ground (Figure 6).

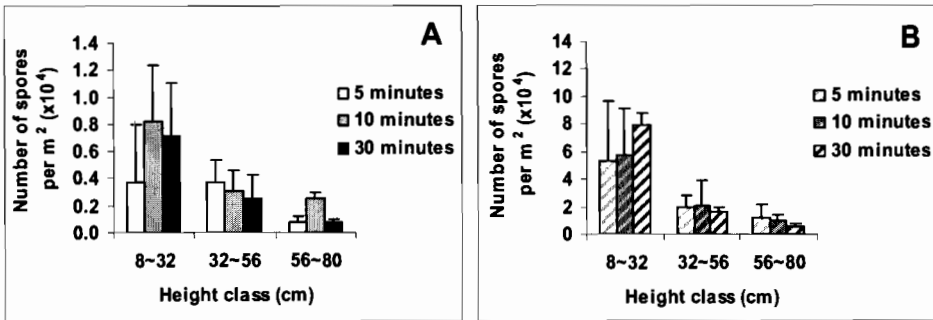


Figure 6. Number of splash-dispersed spores sampled with splash dispersal spore trap according to rainfall duration. **A:** Inoculum on ground; **B:** Inoculum in canopy. Each bar is the mean of three replications; error bars indicate standard deviation.

The order of magnitude of sampled spores ranged from 10^3 (inoculum source located on the ground) to 10^4 (inoculum source located in the canopy) spores per m^2 . Higher numbers of spores were caught between 8 and 32 cm, than between 32 and 56 cm, or 56 and 80 cm, in both experiments. The effects of height were significant in both experiments ($F = 15.9$, inoculum source on the ground; and $F = 25.3$, inoculum source in the canopy; $P < 0.01$). The effects of rainfall duration were not significant ($F = 3.12$, $P = 0.07$ for inoculum source on ground, and $F = 0.07$, $P = 0.93$ for inoculum source on canopy). No significant interaction was detected between rainfall and height of capture.

4.4. Spores caught on ground (run-off)

About twice more spores were caught on ground when inoculum was located in the canopy than on the ground (Figure 7).

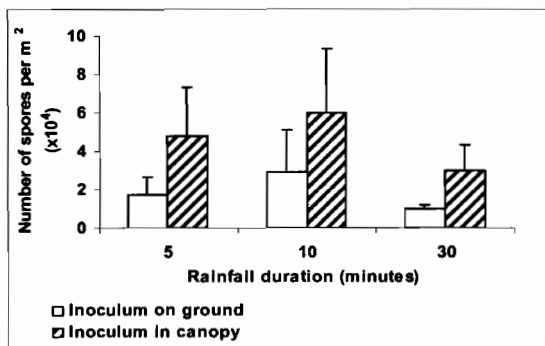


Figure 7. Number of spores washed-off to the ground sampled with glass cup spore trap according to rainfall duration and inoculum positioning.

Each bar is the mean of three replications; error bars indicate standard deviation.

The order of magnitude of sampled spores was 10^4 spores per m^2 for both experiments. These differences between experiments were significant ($F = 9.94$, $P < 0.01$). No significant effects of rainfall duration were detected ($F = 1.91$, $P = 0.19$). No significant interaction was detected between rainfall duration and experiments.

4.5. Spores deposited on canopy (trap plants)

About four times more spores were deposited on trap plants when the inoculum source was located in the canopy than on the ground (Figure 8).

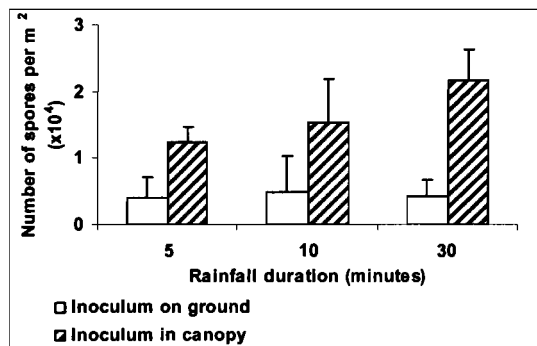


Figure 8. Number of spores deposited on canopy sampled with trap plants according to rainfall duration and inoculum positioning.

Each bar is the mean of three replications; error bars indicate standard deviation.

The order of magnitude of sampled spores ranged from 10^3 (inoculum located on the ground) to 10^4 (inoculum located in the canopy) spores per m^2 . These differences between experiments were significant ($F = 27.8$, $P < 0.01$). The number of deposited spores numerically increased with rainfall duration for experiment where inoculum source was in the canopy, but no significant effect of rainfall duration was detected ($F = 0.47$, $P = 0.64$). No significant interaction was detected between rainfall duration and experiments.

5. Discussion

5.1. Spore mobilisation by rainfall

Our results showed that rainfall induced a large spore mobilisation from initial stock of spores at any rainfall duration and both experiments. The order of magnitude of mobilised spores (0.6×10^6 to 1×10^7 spores per m^2) was lower than in the case of *Puccinia arachidis*

for similar experimentations (1×10^8 to 2×10^8 spores per m^2 ; Savary and Janeau, 1986). It was due to different initial stock of spores, which was larger in Savary and Janeau work. In the case of *Rhynchosporidium secalis*, rainfall simulations of 6.5 mm.h^{-1} and 12 mm.h^{-1} intensities liberated 14×10^7 to 17×10^7 spores from an initial stock after 30 minutes (Fitt et al., 1986). In our experiments, percentages of mobilised spores, proportional to the initial number of spores, after 5 and 10 minutes of a 30 mm.h^{-1} rainfall were larger (57 and 63% respectively, for inoculum source located in the canopy) than for peanut rust (29 and 41% respectively). Rainfall had a great impact on spore mobilisation in ALS disease.

Our results showed that up to 50% of spores were mobilised after 5 minutes of rainfall, and this percentage did not significantly increase with longer rainfall duration. The effect of rainfall duration on spore removal was studied on *Rhynchosporidium secalis* by Fitt and co-workers (1986). They found that the numbers of spores dispersed during continued rainfall simulations of 30 minutes, at 6.5 mm.h^{-1} and 12 mm.h^{-1} intensities, increased between 5 to 10 minutes. After 10 minutes, these numbers decreased. For a 6.5 mm.h^{-1} rainfall intensity, 40% of spores were released in the first ten minutes and 27% in the last ten minutes, and for a 12 mm.h^{-1} rainfall intensity, 39% of spores were released in the first ten minutes, and 25% in the last ten minutes. The authors concluded that numbers of spores available for dispersal will rapidly be depleted with prolonged rain periods (Fitt et al., 1986). Savary and Janeau (1986) found that the percentage of mobilised spores of peanut rust significantly increased between 5 to 10 minutes of a 30 mm.h^{-1} rainfall intensity. Although the effect of rainfall intensity on spore release was not studied in the present experiments, numerous authors found that spore release increased with rainfall intensity (Fitt et al., 1986; Savary and Janeau; 1986; Madden et al., 1996; Ntchimpera et al., 1999).

5.2. Spores caught by impact spore traps

Rainfall induced aerial spore liberation in the case of *Phaeoisariopsis griseola*. The order of magnitude of spore densities in air (10^2 to 10^4 spores per m^3) was in accordance with data from literature. Hirst and Stedman (1963) studied the dry liberation of fungus spores by raindrops. They obtained spore densities of 2×10^3 to 8×10^6 spores per m^3 for different fungi, during 3mm-size drop collisions. Savary and Janeau (1986) obtained spore densities of 10^3 spores per m^3 for peanut rust at 20 cm from ground. In field, a positive correlation between the average daily total number of conidia trapped by rotorods and daily rainfall (mm)

was found in the case of *Mycocentrospora acerina* in autumn, winter and spring (Evenhuis et al. 1997). In our experiments, significant differences of aerial spore densities were observed between sample heights of the rotorods, only when inoculum was located on ground. Many spores were sampled at 17 cm than at 42 cm. Canopy could constrict dry liberation of spores from the ground to the atmosphere.

Percentages of mobilised spores which were sampled by the rotorod sensors could not be calculated, because of different dimensions of the variables (number of mobilised spores per m^2 versus number of sampled spores by rotorod per m^3). However, if percentages of spores sampled on the rods would be calculated proportional to the number of mobilised spores (not densities of spores per m^2 but numbers of spores), these percentages would be: 0.18% of mobilised spores sampled at 17 cm and 0.14% at 42 cm, for the first experiment where inoculum source was located in the canopy. For the second experiment where inoculum source was located on the ground, 0.15% of mobilised spores would be sampled at 17 cm and 0.06% at 42 cm. If we compare experiments, dry liberation of spores would be larger when inoculum source would be located in the canopy. It may due to vibration of canopy leaves, which did not occur with leaves located on ground.

5.3. Spores caught by splash dispersal spore trap

Splash dispersal occurred during rainfall simulations. The order of magnitude of spores sampled with the splash dispersal sensor (10^3 to 10^4 spores per m^2 , between 8 to 32 cm) was in accordance with data obtained by Savary and Janeau in 1986. For five minutes rainfall duration of a $30 \text{ mm}\cdot\text{h}^{-1}$ intensity, the authors obtained 21×10^3 spores per m^2 at 20 cm from ground, and 2×10^3 spores per m^2 at 30 cm from ground. For ten minutes rainfall duration, the authors obtained 18×10^3 spores per m^2 at 20 cm from ground, and 7×10^3 spores per m^2 at 30 cm. Bannon and Cooke (1998) sampled, for *Septoria tritici*, 1.4×10^6 spores per m^2 at 32 cm from ground and 6×10^4 spores per m^2 at 48 cm. Our results show that the effects of rainfall duration were not significant on splash dispersal of spores, as it was the case for peanut rust (Savary and Janeau, 1986). Madden and co-workers (1996) used gravity samplers, consisting in Petri dishes, to sample *Colletotrichum acutatum* spores splashed at different distances from infected fruits. Different plates were exposed every 5 minutes for 1-min periods for a total duration of 46 minutes of different intensities of rainfall simulations. Their results showed that the number of sampled spores increased with rainfall duration to a

maximum (between 10 to 20 minutes, depending of rainfall intensity) and then decreased. The same trend was found by Ntahimpera et al. (1999) for three species of *Colletotrichum*.

Our results showed that larger numbers of splashed spores were caught between 8 to 32 cm, than between 32 to 56 cm and between 56 to 80 cm, in both experiments. There was a vertical gradient of spore-splashed dispersal as observed several studies (Fitt and Bainbridge, 1983; Fitt and Lysandrou, 1984; Brennan et al., 1985a; Savary and Janeau, 1986; Evenhuis et al. 1997; Bannon and Cooke, 1998; Hörberg, 2002). Ballistic splash drops, e.g. of diameters larger than 1 mm, carry more spores than drops with smaller diameters, but they can reach only low heights (Fitt et al., 1989). Approximately 10% of sampled spores reached 56 to 80 cm in both experiments.

Percentages of mobilised spores which were sampled by the splash sensor were calculated. They were larger when the inoculum source was located on ground: 1.1% of mobilised spores sampled between 8 to 32 cm, 0.68% between 32 to 56 cm, and 0.26% between 56 to 80 cm, versus 0.82% of mobilised spores sampled between 8 to 32 cm, 0.24% between 32 to 56 cm, and 0.12% between 56 to 80 cm when the inoculum source was located in the canopy. Walkate et al. (1989) showed that splash height is much reduced when drops hit potted plants than plane surfaces. Fitt et al. (1988) also found differences in the dispersal of *Rhynchosporidium secalis* between barley straw and barley leaves. It may be due to lower transfer momentum from impacting drops to the splash droplets on plant than on rigid surfaces (Madden, 1992; Bannon and Cooke, 1998).

5.4. Spores caught on ground (run-off)

After five minutes of rainfall, large numbers of spores, between 1 to 6×10^4 spores per m^2 , were washed-off on the ground. No significant effects of rainfall duration were observed in both experiments. Large numbers of spores washed-off on the ground were observed for peanut rust by Savary and Janeau in 1986. They observed 4×10^5 spores per m^2 after five minutes of a 30 mm.h^{-1} intensity rainfall, and 7×10^5 spores per m^2 after ten minutes. These differences were significant. However, larger rainfall intensity did not significantly increase the number of washed-off spores in this work.

Percentages of mobilised spores which were sampled on the ground were calculated. They were 3.4% when inoculum source was located on the ground and 0.60% when inoculum source was located in the canopy. The running-off was larger when inoculum source was

located on the ground. The water flow along stems and leaves induces formation of large-diameter drops which could reduce the initial stock of spores located on ground. Madden and co-workers (1996) found that 33, 57 and 59% of spores were washed-off from infected strawberry fruits at 11 mm.h⁻¹, 30 mm.h⁻¹ and 60 mm.h⁻¹ intensities respectively, and rainfall duration of 16 minutes. Ntahimpera and co-workers (1999) found a spore run-off of 24 to 44% for a 11 mm.h⁻¹ rainfall intensity, and 40 to 76% for a 30 mm.h⁻¹ rainfall intensity (duration of 16 minutes), for three *Colletotrichum* species. The percentages of mobilised spores which were sampled on the ground in our experiments were lower than in studies on *Colletotrichum* species. This may be due to the fact that sampling washed-off spores in our design completely relied on the location of traps (vials), and therefore on the amount of spores available on the infected leaves immediately above them or located on the ground.

5.5. Spores deposited on canopy (trap plants)

A large number of spores were sampled on trap plants. The order of magnitude was 4×10^3 spores per m² when inoculum source was located on the ground, versus 2×10^4 spores per m² when inoculum source was located in the canopy. For peanut rust, Savary and Janeau (1986) recorded 5×10^4 deposited spores per m² at canopy level after five minutes of a 30 mm.h⁻¹ intensity rainfall, and 9×10^4 deposited spores per m² after ten minutes. Their results showed that spore deposition increased with rainfall duration. Although the number of deposited spores numerically increased with rainfall duration in our experiments, no significant effects of rainfall duration were detected. The number of deposited spores of different *Colletotrichum* species increased with rainfall duration to a maximum and then decreased (Madden et al., 1996; Ntahimpera et al, 1999).

Percentages of mobilised spores which were sampled on trap plants were calculated. Spore deposition on the canopy was larger when spores were emitted from inoculum source located on the ground (0.97% of mobilised spores) than from inoculum source located in the canopy (0.21% of mobilised spores). This result may be due to larger proportions of splashed-spores emitted from the inoculum source located on the ground than from inoculum source located in the canopy. Therefore, proportions of spores sampled in the air with impact spore traps were lower for spores emitted from the inoculum source located on the ground than from inoculum source located in the canopy. Boudreau and Madden (1995) studied the effect of strawberry plant density on dispersal of *Colletotrichum acutatum* spores located under the

canopy by simulated rain. They found that spore deposition declined with increasing plant density, as plant density affects movements of the spore within the canopy. Plant density had a significant negative effect on the proportion of incident rain that penetrated the canopy, which could result in decreasing the re-splash of spore-carrying splash droplets across the plots (Madden and Boudreau, 1997).

5.6. Spore distribution in the three compartments of the system: atmosphere, canopy and ground, after five minutes of a 30 mm.h⁻¹ rainfall intensity

The spores which were mobilised by rainfalls by the different mechanisms could be distributed into three compartments of the system: the atmosphere, the canopy and the ground. To study this spore distribution, proportions of mobilised sampled spores were used, to take into account the differences in initial stocks of spores between experiments. The proportions of mobilised spores which were sampled in the atmosphere had to be estimate because of different dimension of the variables (number of mobilised spores per m² versus number of sampled spores per m³). The proportion of mobilised spores (MS) can be written as:

$$MS = A + C + G$$

with A, the proportion of mobilised spores sampled in the atmosphere, C, the proportion of mobilised spores sampled on the canopy, and G, the proportion of mobilised spores sampled on the ground.

Spore distributions in the three compartments of the system are shown in Table 1, where the previous equation was used to get new estimates of A.

Table 1. Proportions of mobilised spores sampled in the three compartments of the system after five minutes of a 30mm.h⁻¹ rainfall intensity

Compartment	Proportion of spores mobilised from inoculum located on the ground	Proportion of spores mobilised from inoculum located in the canopy
Atmosphere	0.965 ^a	0.992 ^a
Canopy	0.006	0.002
Ground	0.029	0.006

^a proportions of mobilised spores sampled in the atmosphere (A) were derived from the equation $MS = A + C + G$, where MS is the proportion of mobilised spores, C is the proportion of mobilised spores sampled on the canopy and G is the proportion of mobilised spores sampled on the ground.

According to this calculation, it seems that the majority of the mobilised spores were suspended in the atmosphere after five minutes. A larger proportion of spores seems to be deposited on the canopy when spores were emitted from the inoculum source located on the ground than from the inoculum source located in the canopy. In the same way, the proportion of spores washed-off on the ground seems larger when the inoculum source was located on the ground.

5.7. Epidemiological implications

These experiments indicate a strong reduction in the stock of spores in a ALS-diseased bean canopy following a rainfall event. The rainfall intensity used in our work led to a spore stock depletion of up to 50%, for all rainfall durations and in both experiments. Our results showed that spores which were located on infected leaves on the ground could be mobilised in the same proportions than the spores located on infected leaves in the canopy, immediately after five minutes of rainfall. After this period of time, the majority of spores were transferred in the atmosphere. These spores could be deposited on the canopy by continued rain, which they could infect (Hirst and Stedman, 1963). Rainfall events led to spore dispersal by splash in the case of *P. griseola*. The majority of spores were splashed between 8 to 32 cm, a range of heights that includes the height of the canopy. Under favourable environmental conditions, these spores could also lead to new infections. Relatively important quantities of spores were still sampled at heights ranging between 56 to 80 cm for both localisation of inoculum. At such height, splash-dispersed spores can be transported by wind, and contribute to the long-distance spread of the disease (Brennan et al., 1985a and 1985b; Fitt et al., 1989). The proportion of spores washed-off on the ground was numerically larger than the proportion of spores deposited on the canopy, either when spores were emitted from infected leaves located on the ground or in the canopy. Deposition onto the ground leads to a loss of the potentially efficient spores, and so to reduction of the epidemics. Our results also showed that spores which were located on infected leaves on the ground contributed to the canopy infection. Infected debris on the ground could have an important role in accentuation or carry-over of epidemics.

6. Acknowledgments

This work was supported by the INCO project ALS-RESIST contract number ICA4-CT-2000-30004. We thank C. Nuñez and A. Sanchez for technical assistance.

7. References

- Asseline, J., Valentin, C., 1978. Construction et mise au point d'un infiltromètre à aspersion (ou mini-simulateur de pluie). Cah. Orstom sér. Hydrol. 15, 321-349.
- Bannon, F.J., Cooke, B.M., 1998. Studies on dispersal of *Septoria tritici* pycnidiospores in wheat-clover intercrops. Plant Pathol. 47, 49-56.
- Boudreau, M.A., Madden, L.V., 1995. Effect of strawberry density on dispersal of *Colletotrichum acutatum* by simulated rain. Phytopathology 85, 934-941.
- Brennan, R.M., Fitt, B.D.L., Taylor, G.S., Colhoun, J., 1985a. Dispersal of *Septoria nodorum* pycnidiospores by simulated raindrops in still air. Phytopathol. Z. 112, 281-290.
- Brennan, R.M., Fitt, B.D.L., Taylor, G.S., Colhoun, J., 1985b. Dispersal of *Septoria nodorum* pycnidiospores by simulated rain and wind. Phytopathol. Z. 112, 291-297.
- Casenave, A., Valentin, C., 1988. Les états de surface de la zone sahélienne. Influence sur l'infiltration. Orstom, collection Didactiques, 242 pp.
- Evenhuis, A., Verdam, B., Zadoks J.C., 1997. Splash dispersal of conidia of *Mycocentrospora acerina* in the field. Plant Pathol. 46, 459-469.
- Fitt, B.D.L., Bainbridge, A., 1983. Dispersal of *Pseudocercospora herpotrichoides* spores from infected wheat straw. Phytopathol. Z. 106, 214-225.
- Fitt, B.D.L., Lysandrou M., 1984. Studies on mechanisms of splash dispersal of spores, using *Pseudocercospora herpotrichoides* spores. Phytopathol. Z. 111, 323-331.
- Fitt, B.D.L., Creighton, N.F., Lacey, M.E., McCartney, H.A., 1986. Effects of rainfall intensity and duration on dispersal of *Rhynchosporium secalis* conidia from infected barley leaves. Trans. British Mycol. Society 86, 611-618.
- Fitt, B.D.L., McCartney, H.A., Creighton, N.F., Lacey, M.E., Walklate, P.J., 1988. Dispersal of *Rhynchosporium secalis* conidia from infected barley leaves or straw by simulated rain. Ann. Appl. Biol. 112, 49-59.
- Fitt, B.D.L., McCartney, H.A., Walklate, P.J., 1989. The role of rain in dispersal of pathogen inoculum. Annu. Rev. Phytopathol. 27, 241-270.
- Gomez, K.A., Gomez, A.A., 1984. Statistical procedures for Agricultural Research. 2nd Ed. John Wiley and Sons, New York, 680 pp.
- Gregory, P.H., Guthrie, E.J., Bunce, M.E., 1959. Experiments on splash dispersal of fungus spores. J. Genet. Microb. 20, 328-354.

- Hirst, J.M., Stedman, O.J., 1963. Dry liberation of fungus spores by raindrops. *J. Genet. Microb.* 33, 335-344.
- Hörberg, H.M., 2002. Patterns of splash dispersed conidia of *Fusarium poae* and *Fusarium culmorum*. *Eur. J. Plant Pathol.* 108, 73-80.
- Madden, L.V., 1992. Rainfall and the dispersal of fungal spores. *Adv. Plant Pathol.* 8, 39-79.
- Madden, L.V., Yang, X., Wilson, L.L., 1996. Effects of rain intensity on splash dispersal of *Colletotrichum acutatum*. *Phytopathology* 86, 864-874.
- Madden, L.V., Boudreau, M.A., 1997. Effect of strawberry density on the spread of anthracnose caused by *Colletotrichum acutatum*. *Phytopathology* 87: 828-838.
- Mauchamp, A., Janeau, J.L., 1993. Water funnelling by the crown of *Flourensia cernua*, a Chihuahuan desert shrub. *J. Arid Environ.* 25, 299-306.
- Ntahimpera, N., Wilson, L.L., Ellis, M.A., Madden, L.V., 1999. Comparison of rain effects on splash dispersal of three *Colletotrichum* species infecting strawberry. *Phytopathology* 89, 555-563.
- Savary, S., Janeau, J.L., 1986. Rain-induced dispersal in *Puccinia arachidis*, studied by means of a rainfall simulator. *Neth. J. Plant Pathol.* 92, 163-174.
- Walklate, P.J., McCartney, H.A., Fitt, B.D.L., 1989. Vertical dispersal of plant pathogens by splashing. Part II: Experimental study of the relationship between raindrop size and the maximum splash height. *Plant Pathol.* 38, 64-70.
- Willoquet, L., Alloreant, D., Savary, S., 2004. Quantitative analysis of two important epidemiological features in the common bean - *Phaeoisariopsis griseola* pathosystem. *Fitopatol. Bras.* 29, 676-679.
- Zadoks, J.C., Schein, R.D., 1979. *Epidemiology and plant disease management*. Oxford University Press Inc, New York, USA, 480 pp.

B. Dissémination des spores par le vent

1. Introduction

Peu d'éléments sont connus sur la dissémination des spores par le vent chez *Phaeoisariopsis griseola* (chapitre 1). Même si Cardona-Alvarez et Walker (1956) ont montré que des plantes de haricot situées à plus de 7 m d'une source d'inoculum (plantes artificiellement infectées) sont infectées par des spores disséminées par le vent, il n'apporte que peu de détails expérimentaux. Par exemple, la vitesse de vent pour laquelle ces spores sont disséminées n'est pas spécifiée. Une méthodologie faisant appel à un tunnel à vent a été utilisée pour étudier les effets de différents facteurs sur la dissémination des spores de *P. griseola* par le vent.

Les objectifs de ces expériences étaient d'évaluer 1) la vitesse de vent seuil pour laquelle les spores de *P. griseola* sont libérées et 2) l'effet de la vibration des feuilles sur la libération des spores à une vitesse de vent déterminée.

2. Matériel et méthodes

2.1. Libération des spores à différentes vitesses de vent

L'effet de différentes vitesses de vent sur la dissémination des spores a été étudié au cours d'une expérience qui a été réalisée deux fois.

- Production de folioles sporulantes

Des infections artificielles de la souche P.Turri (provenant du Costa Rica) ont été réalisées sur la première feuille trifoliée ouverte présente sur six plantes de haricot âgées de 15 jours (variété Negro Hhuasteco). Une suspension de spores à 5 spores/ μ l d'une solution de Tween (80) à 0.01% v/v dans de l'eau distillée a été pulvérisée sur chaque foliole de chacune des feuilles à l'aide d'un pulvérisateur manuel (deux pulvérisations par foliole représentant un volume de 840 μ l par feuille). Les six plantes ont été incubées en serre en les plaçant trois nuits successives dans une cage hermétique en polyéthylène dont les parois sont humidifiées à l'aide d'un pulvérisateur. Les températures moyennes durant ces trois jours ont varié de 19 à 39°C pour la première répétition de l'expérimentation et de 19 à 42°C pour la deuxième répétition. Une période minimale de 48h d'humectation du couvert est nécessaire pour une sporulation abondante (Cardona-Alvarez et Walker, 1956). Ainsi, les plantes ont été incubées

une nouvelle fois quinze jours plus tard, dans les mêmes conditions que précédemment, pour obtenir une sporulation importante des lésions apparues sur les feuilles infectées. Les températures moyennes durant ces trois jours ont varié de 19 à 42°C pour la première répétition de l'expérimentation et de 17 à 38°C pour la deuxième répétition. Après les trois nuits d'incubation, cinq folioles infectées produisant des spores ont été choisies aléatoirement sur ces plantes et détachées. Ces folioles ont été placées 18h avant les simulations de vent sur une grille au dessus d'un volume de 60 ml d'eau distillée dans des pots hermétiques individuels situés dans une chambre climatique réglée à 25°C.

- Le tunnel à vent

Le 'tunnel à vent' utilisé est le même appareil construit pour l'étude de la dispersion des spores de l'oidium de la vigne (Willocquet et al., 1998). Le système complet est constitué de trois parties (Photo 1) :

- un variateur de tension donnant une gamme de tensions de courant continu
- le tunnel proprement dit constitué de deux pièces vissables A et B. La pièce A comporte la chambre à échantillon (\varnothing 16 mm) constituée d'une pièce amovible circulaire portant l'échantillon foliaire de 14 mm de diamètre placé à l'horizontale. La pièce B comporte un ventilateur axial (modèle V651, MICRONEL, Paris) dont le débit maximal est de 11.4 m³/h. Des réducteurs amovibles du diamètre interne (\varnothing 16 mm) sont placés entre les pièces A et B, afin d'obtenir des vitesses de vent plus élevées.
- un capteur de spores constitué par une lame vaselinée disposée verticalement à 7mm de la sortie du tunnel afin d'obtenir une capture maximale des spores.



Photo 1. Tunnel à vent utilisé pour étudier les effets de différents facteurs sur la libération des spores de *P. griseola* par simulations de vent.

- 1) CS, capteur de spores constitué par une lame vaselinée
- 2) A, pièce comportant la chambre à échantillon (\varnothing 16 mm, CE)
- 3) B, pièce comportant un ventilateur axial (V, modèle V651, MICRONEL, Paris)
- 4) RAD, réducteurs amovibles du diamètre interne
- 5) VT, variateur de tension

- Les simulations de vent

Immédiatement avant les simulations de vent, un disque foliaire de 14mm de diamètre a été découpé dans chacune des folioles. Le nombre de lésions et leur taille ont été choisis de manière à réduire une hétérogénéité qui pourrait influencer le stock initial en spores et donc le nombre de spores libérées (en moyenne sept lésions par disque, de taille moyenne de 4 mm²). Ces disques foliaires ont été collés sur la plaque horizontale de la chambre à échantillons avec du ruban adhésif double face. Ces échantillons ont été exposés à quatre vitesses de vent successives, en séquence de deux minutes chacune : 1.8 m.s⁻¹, puis 5 m.s⁻¹, puis 10 m.s⁻¹, suivi de 15 m.s⁻¹ et enfin 17 m.s⁻¹. La durée des simulations de vent a été choisie selon les résultats obtenus par Willocquet et al. (1998), où les auteurs montrent que 90% des spores de l'oïdium de la vigne ont été libérées après 30s d'exposition à des vitesses de 5 à 17 ms⁻¹. Cette durée est suffisante pour la libération des spores, leur capture et les changements de vitesses de vent.

- Capture des spores

Avant chaque changement de vitesse de vent, la lame vaselinée servant à capturer les spores est remplacée par une nouvelle. Sur chaque lame une ligne noire horizontale est préalablement tracée à la hauteur où se situent les échantillons. Après les simulations de vent, une goutte de bleu coton est déposée avant de disposer une lamelle de 18 mm x 18 mm. Le comptage des spores se fait en deux passages près de la ligne noire. Une droite de régression a été estimée à partir des données de spores déposées sur huit lames, qui ont été observées sur leur surface entière, et de part et d'autre de la ligne. A partir de l'équation de la droite de régression $y = 3.75 x$ (avec x : nombre de spores de part et d'autre de la ligne et y : nombre de spores totales, $r^2 = 0.99$), le nombre de spores totales déposées sur chacune des lames peut être estimé. L'échantillon de disque foliaire, ayant été exposé à toutes les vitesses, est retiré de la plaque horizontale de la chambre à échantillons. De l'adhésif transparent est apposé sur les lésions sporulantes pour récupérer les spores restantes sur l'échantillon. Les lésions sporulantes ont été localisées sur l'adhésif à l'aide d'un feutre. Une goutte de bleu coton est déposée sur une lame ainsi que l'adhésif, et le nombre de spores restantes par lésion est estimé. En additionnant ce nombre avec le total de spores quantifié sur les lames, le nombre de spores présentes initialement sur l'échantillon est quantifié (stock initial de spores).

Après avoir calculé le pourcentage de spores libérées pour chacune des vitesses (par rapport au total de spores du stock initial), ce pourcentage est cumulé le long de la série de

vitesse. Ainsi le pourcentage de spores potentiellement libérables est obtenu pour chacune des vitesses.

- Analyse des données

Les données transformées en racine carrée de la proportion de spores libérées sont analysées à l'aide d'une analyse de la variance à un facteur (expérience considérée) (Gomez et Gomez, 1984) à l'aide de la procédure GLM du logiciel SAS (SAS Institute, Cary, NC, version 8, 1999-2001).

2.2. Effet de la vibration des feuilles

Une seule source de variation est étudiée dans cette expérience qui a été réalisée deux fois : la présence ou l'absence de vibrations.

- Echantillons foliaires

Seize folioles sporulantes ont été obtenues dans les mêmes conditions que dans la section précédente. Les échantillons foliaires sont constitués d'une surface rectangulaire de 2 cm² découpée dans une des folioles infectées et produisant des spores. Les températures moyennes durant les trois jours incluant la mise en incubation des plantes préalablement infectées ont varié de 17 à 40°C pour la première répétition de l'expérimentation et de 19 à 42°C pour la deuxième répétition. Les températures moyennes durant les trois jours incluant la mise en incubation des plantes juste avant les simulations de vent ont varié de 19 à 43°C pour les deux répétitions de l'expérimentation. Le nombre de lésions sur les échantillons de 2 cm² et leur taille ont été choisis de manière à réduire une hétérogénéité qui pourrait influencer le stock initial en spores et donc le nombre de spores libérées (en moyenne huit lésions par disque, de taille moyenne de 4 mm²).

- Vibrations

Deux traitements ont été considérés : un traitement où l'échantillon est collé sur la plaque horizontale de la chambre à échantillons avec du ruban adhésif double face et un autre où l'échantillon est fixé sur une aiguille, lui laissant la possibilité de vibrer. Huit répétitions ont été effectuées pour chacun des traitements.

- Les simulations de vent

Ces échantillons subissent une seule vitesse de vent de 2 m.s^{-1} , durant deux minutes. Cette vitesse de vent est choisie en fonction des résultats obtenus dans la section précédente, pour laquelle aucune spore n'est capturée sur les pièges utilisés sans vibrations des échantillons foliaires. A cette vitesse de vent, une capture des spores est attribuable à la présence de vibrations des échantillons foliaires.

- Capture des spores

Spores sortant du tunnel

Une lame vaselinée est disposée verticalement à 7 mm de la sortie du tunnel, et deux autres lames ont été disposées de part et d'autre de la première. La présence de vibrations des échantillons foliaires rend la capture des spores difficile, puisque ces vibrations entraînent la formation de flux d'air turbulents qui ne sont plus laminaires comme dans le précédent cas où il n'y avait pas de vibrations. Après les simulations de vent, une goutte de bleu coton est déposée avant de disposer une lamelle de 24 mm × 40 mm, en partant du haut des lames. La lecture du nombre de spores capturées est effectuée sur toute cette surface (960 mm^2).

Spores persistant dans le tunnel

Du fait de la présence de vibrations des échantillons foliaires, des spores peuvent adhérer aux parois du tunnel à vent (pièce A). Ainsi le nombre de spores persistant dans le tunnel est estimé après chaque simulation de vent, en rinçant la pièce A du tunnel avec 10 ml d'une solution de Tween (80) à 0.01% v/v dans de l'eau distillée. Ce liquide de rinçage est récupéré dans un gobelet en plastique et celui-ci est disposé dans une étuve à 60°C jusqu'à évaporation totale de la solution. Les spores ont été alors reprises dans $500\mu\text{l}$ de la même solution que précédemment. La concentration en spores des solutions est estimée par cinq comptages successifs à l'hématimètre et la concentration moyenne est multipliée par le volume de suspension, afin d'obtenir un nombre de spores déposées sur la paroi du tunnel.

Spores persistant sur l'échantillon foliaire

Après chaque simulation de vent, l'échantillon foliaire est retiré. De l'adhésif est apposé sur les lésions sporulantes pour quantifier les spores persistant sur l'échantillon. Les lésions sporulantes ont été localisées sur l'adhésif à l'aide d'un feutre. Une goutte de bleu coton est déposée sur une lame ainsi que l'adhésif. Le nombre de spores résiduelles par lésion est

estimé. En additionnant ce nombre avec le total de spores décompté sur les lames et sur la paroi du tunnel, le nombre de spores présentes initialement sur l'échantillon est quantifié.

- Analyse des données

Le pourcentage de spores libérées est calculé par rapport au total de spores du stock initial. Une analyse de la variance à un facteur (avec ou sans vibration) des données transformées en racine carrée de la proportion de spores libérées est effectuée (Gomez et Gomez, 1984) à l'aide de la procédure GLM du logiciel SAS (SAS Institute, Cary, NC, version 8, 1999-2001).

3. Résultats

3.1. Libération des spores à différentes vitesses de vent

La figure 1 montre les pourcentages cumulés de spores libérées pour des vitesses croissantes de vent allant de 1.8 à 17 m.s⁻¹.

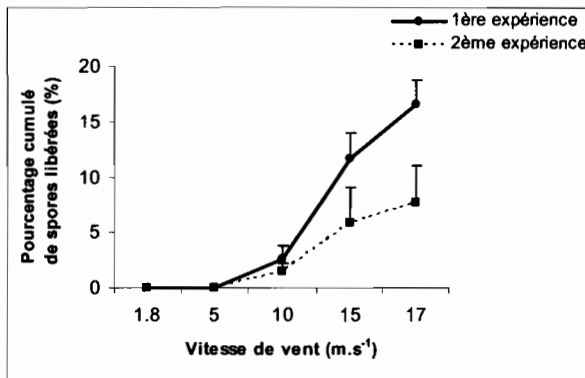


Figure 1. Libération des spores de *P.griseola* pour des vitesses croissantes de vent.

Chaque point correspond à la moyenne de cinq répétitions, les barres d'erreur correspondent à l'écart type.

Aucune spore n'est libérée pour des vitesses de vent inférieures à 5 m.s⁻¹. Un seuil de vitesse de vent de 5 m.s⁻¹ est donc observé, à partir duquel les spores sont libérées. Pour des vitesses de vent plus élevées, les pourcentages cumulés de spores libérées sont numériquement supérieurs dans le cas de la première expérience effectuée. Ces différences s'accroissent avec

la vitesse de vent, les différences étant significatives pour les vitesses de vent de 15 et 17 m.s⁻¹ (F = 11.6, P = 0.02 et F = 18.6, P < 0.01, respectivement).

3.2. Effet de la vibration des feuilles

La figure 2 montre les pourcentages de spores libérées à partir des stocks initiaux de spores en conditions de vibrations ou non de l'échantillon foliaire.

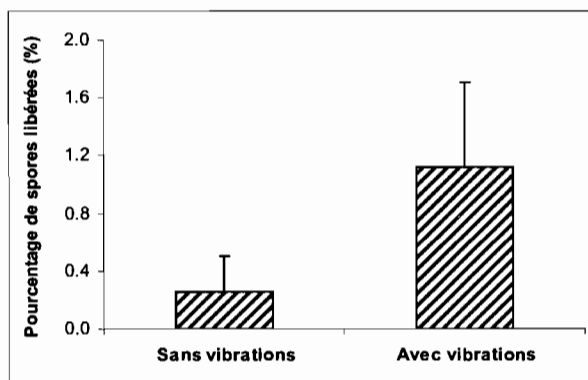


Figure 2. Libération des spores de *P.griseola* avec ou sans vibrations de l'échantillon foliaire à une vitesse de vent de 2m.s⁻¹.

Chaque rectangle hachuré correspond à la moyenne de huit répétitions, les barres d'erreur correspondent à l'écart type.

Un pourcentage significativement plus important de spores est libéré lorsque l'échantillon est soumis à une vibration (F = 28.8, P<0.01). Même si le pourcentage est faible (0.20%), les spores sont libérées sans vibration à une vitesse de vent de 2 m.s⁻¹.

4. Discussion

Ces expériences montrent que les spores de *P. griseola* sont libérées par le vent, comme l'avaient montré Cardona-Alvarez et Walker (1956). Des différences de libération des spores ont été observées entre la première expérience et sa répétition, qui sont attribuables aux différences quantitatives entre les stocks de spores initiaux (trois fois plus de spores sur les échantillons de la première expérience que sur ceux de la répétition). Ces résultats suggèrent d'une part que les lésions échantillonnées ne produisent pas toutes les mêmes quantités de

spores et d'autre part que la libération des spores est liée à la quantité de spores présente sur les lésions.

Le seuil de vitesse de vent pour lequel les spores sont dispersées donne une information de l'effet que pourrait avoir le vent dans les conditions du champ, si l'on connaît la vitesse moyenne à l'intérieur et à l'extérieur du couvert végétal. Un seuil de vitesse de vent a été démontré pour la libération des spores chez *Botrytis* spp., *Erysiphe graminis*, *Helminthosporium maydis*, *Phytophthora infestans* et plusieurs autres champignons (Harrison et Lowe, 1987; Aylor, 1990; Willocquet et al., 1998; Aylor et al., 2001). Cette vitesse de vent seuil varie d'un champignon à l'autre (Meredith, 1973; Aylor, 1990). Pour l'oïdium de la vigne, ce seuil est de 2 m.s^{-1} , mais il est fonction de l'âge des colonies (Willocquet et al., 1998). Dans le cas de la première expérimentation réalisée, le seuil de vitesse de vent est de 5 m.s^{-1} . Néanmoins, des spores ont été capturées à une vitesse de vent de 2 m.s^{-1} sans vibrations des échantillons foliaires dans la deuxième expérimentation. Ceci peut être attribuable à la variation de production de spores dans les populations de lésions échantillonnées. Le seuil de vitesse de vent pour lequel les spores de *P. griseola* sont dispersées se situe entre 2 et 5 m.s^{-1} . Ces vitesses sont fortes par rapport aux vitesses rapportées au champ (Willocquet, données non publiées). Les vitesses maximales de vent à 1m au dessus d'un couvert de *Vicia faba* sont de l'ordre de 2 à 5 m.s^{-1} , alors que les vitesses maximales de vent en dessous du couvert sont inférieures à 1 m.s^{-1} (Harrison et Lowe, 1987). Ainsi, la dissémination des spores de *P. griseola* par le vent dans un couvert de haricot devrait être réduite.

Le vent peut aussi induire la libération des spores par vibration des feuilles d'un couvert végétal (Bainbridge et Legg, 1976 ; Willocquet et al., 1998). Une libération accrue des spores de *P. griseola* en présence de vibrations des échantillons foliaires a été mise évidence lors de ces expériences. Willocquet et al. (1998) rapportent que la vibration des échantillons foliaires est initiée entre 2 et 3 m.s^{-1} , et Harrison et Lowe (1987) montre qu'une feuille de *Vicia faba* commence à vibrer légèrement à 0.6 m.s^{-1} et vibre fortement à 5 m.s^{-1} . Des turbulences amenant à ces ordres de vitesses de vent peuvent survenir dans un couvert végétal, et amener à une libération des spores accrue.

En conclusion, les spores de *P. griseola* sont libérées à partir de vitesses de vent comprises entre 2 et 5 m.s^{-1} . Cette libération des spores est d'autant plus grande que les stocks initiaux de spores sont élevés et que les feuilles sont soumises à des vibrations.

C. Auto- et alloinfection

Synopsis en français du manuscrit 3

Autoinfection et alloinfection de la tache angulaire du haricot commun étudiées sous simulations de pluie

Introduction

Dans des pays où les associations interspécifiques ou intraspécifiques (associations variétales) sont souvent utilisées, spécialement sous les tropiques (Zadoks et Schein, 1979), incorporer de nouvelles variétés résistantes dans des associations déjà existantes peut contribuer au contrôle de la tache angulaire du haricot commun. Des réductions significatives des épidémies de cette maladie ont été obtenues en Afrique en utilisant ce type d'approche (Pyndji et Trutmann, 1992; Trutmann et Pyndji, 1994). Un paramètre important, influant sur l'efficacité des associations variétales à contrôler les épidémies, est le ratio alloinfection sur autoinfection (Mundt et al., 1986). Dans le cas où l'unité végétale considérée est la plante individuelle dans un couvert, l'autoinfection peut être définie comme la proportion de nouvelles infections induites par des spores provenant de la même plante hôte et l'alloinfection comme la proportion de nouvelles infections induites par des spores provenant d'autres plantes hôtes (Garrett et Mundt, 1999). Cependant, d'autres définitions sont possibles selon l'échelle végétale considérée (Willoquet et Savary, 2004). L'efficacité des associations variétales augmente avec le ratio alloinfection sur autoinfection (Mundt et Brophy, 1988; Lannou et al., 1994).

Les proportions d'autoinfection et d'alloinfection sont des attributs importants influençant le développement spatio-temporel des épidémies (Barrett, 1980; Garrett et Mundt, 1999; Willocquet et Savary, 2004). L'autoinfection génère une intensification locale de la maladie (à l'échelle d'une unité hôte, comme une plante ou une feuille), tandis que l'alloinfection (entre les plantes) contribue à la dispersion de la maladie sur de plus grandes échelles. Van der Plank (1975) parle de stratégie de dispersion duale, qui a été numériquement analysée à l'aide de modèles de simulation (Zawolek et Zadoks, 1992).

L'étude présentée ci après porte sur la quantification des ratios d'autoinfection et d'alloinfection, à différentes échelles. L'autoinfection est considérée à l'échelle d'une feuille infectée et deux types d'alloinfection sont considérés, une alloinfection intraplante à l'échelle

d'une même plante et une alloinfection interplante à l'échelle de plusieurs plantes (figure 1). Considérer ces différentes échelles amène à mieux comprendre la spatialisation et l'agrégation de la maladie (Turechek et Madden, 2000; Turechek et Madden, 2001; Turechek et Madden, 2003). La mesure expérimentale de ces proportions d'autoinfection et d'alloinfection est très difficile à mettre en œuvre et peu de données sont rapportées (Robert, 2003).

Les objectifs de nos expériences étaient 1) de mesurer expérimentalement les proportions d'autoinfection, d'alloinfection intraplante et d'alloinfection interplante, pour la tache angulaire sous conditions de dissémination des spores par la pluie et 2) d'étudier l'effet de la durée de pluie sur ces proportions d'infection. Les ratios ont été mesurés à partir de deux expériences, où des micro-parcelles de haricot (70 × 70cm) ont été exposées à des simulations de pluie à l'aide d'un mini-simulateur de pluie modèle ORSTOM (Asseline et Valentin, 1978) avec des intensités de pluie de 30mm.h⁻¹ et des durées variables (5, 10 et 30 minutes). Dans une première expérience A, la source d'inoculum, constituée par quatre plantes en pots dont la première feuille apparue est artificiellement infectée, a été intégrée dans le couvert végétal des micro-parcelles (figure 2). Les observations concernant l'autoinfection ont été effectuées sur la feuille infectée de chaque plante source et les observations concernant l'alloinfection intraplante ont été effectuées sur l'autre feuille immédiatement supérieure de chaque plante source. Dans une deuxième expérience B, la source d'inoculum, constituée d'une plante en pot dont la première feuille apparue est artificiellement infectée, a été intégrée au centre du couvert végétal des micro-parcelles (figure 2). Les observations concernant l'alloinfection intraplante ont été effectuées sur la feuille saine de la plante source et les observations concernant l'alloinfection interplante ont été effectuées sur les autres plantes.

Principaux résultats

Des facteurs de multiplication ont été calculés à partir des nombres de lésions observées sur les plantes, divisés par le nombre total de lésions initialement présentes sur les plantes sources. Les facteurs de multiplication pour l'autoinfection (sur la feuille infectée, environ 0.5) sont plus importants que les facteurs de multiplication pour l'alloinfection intra plante (sur l'autre feuille de la plante source, entre 0.03 et 0.2) et l'alloinfection interplante (sur les autres plantes de la micro-parcelle, entre 0.08 et 0.3), quelle que soit la durée de pluie. Les facteurs de multiplication pour l'alloinfection intraplante et l'alloinfection interplante sont du

même ordre. L'effet de la durée de pluie sur ces facteurs de multiplication n'est significatif que pour le facteur de multiplication lié à l'aloinfection intraplante dans l'expérience A ($P < 0.01$). Les ratios d'aloinfection sur l'autoinfection à l'échelle de la même plante (variable X) et les ratios d'aloinfection entre plantes sur l'aloinfection à l'échelle de la même plante (variable Y) décroissent avec la durée de pluie (de 0.5 à 0.1 pour X, et de 1.2 à 0.6 pour Y), mais ces différences ne sont pas significatives ($P > 0.1$). Les proportions d'autoinfection et d'aloinfections calculées à partir de ces variables sont de 0.69 pour l'autoinfection, 0.17 pour l'aloinfection intraplante et 0.14 pour l'aloinfection interplante.

Discussion et conclusion

Les résultats montrent que la majorité des spores disséminées et efficaces génèrent des infections sur la plante où elles sont produites (86%), par le biais de l'autoinfection (69%) et de l'aloinfection intraplante (17%). Dans l'hypothèse où l'efficacité d'infection est la même pour toutes les infections, ces proportions d'infection peuvent être considérées comme des proportions de spores déposées. Ainsi, seulement 14% des spores libérées ont été déposées sur d'autres plantes environnant la plante source d'où proviennent ces spores.

L'effet de la durée de pluie sur la dissémination des spores a relativement peu été étudié. La dissémination des spores chez des espèces de *Colletotrichum* et chez *Rhynchosporium secalis* est réduite après 10 à 15 minutes de pluies simulées (Fitt et al., 1986; Madden et al., 1996; Ntahimpera et al., 1999). Nos résultats montrent que les ratios d'aloinfection sur l'autoinfection à l'échelle de la même plante (variable X) et les ratios d'aloinfection entre plantes sur l'aloinfection à l'échelle de la même plante (variable Y) décroissent avec la durée de pluie, mais ces différences ne sont pas significatives en raison de variances très élevées.

Les modèles de simulation incorporant les proportions d'autoinfection et d'aloinfection utilisent une large gamme de valeurs (de 0 à 100%; Mundt et Brophy, 1988; Lannou, 2001). Nos expériences apportent des mesures expérimentales de ces proportions dans le cas de la dispersion par la pluie de la tache angulaire. Chez la rouille brune du blé, la contribution de l'autoinfection à la multiplication de la maladie (sur une feuille infectée) est de 44%, et celle de l'aloinfection (sur les feuilles avoisinantes) de 56% (Robert, 2003). Comparativement, nos résultats montrent que la contribution de l'autoinfection à la multiplication de la maladie est de 69% et celle de l'aloinfection de 31% (aloinfections intraplante et interplante cumulées).

La contribution de l'autoinfection à la multiplication de la maladie semble donc supérieure pour la tache angulaire du haricot que pour la rouille brune du blé.

Avec des proportions d'infections de cet ordre, l'efficacité des associations variétales de haricot pourrait être réduite. Cependant une proportion d'aloinfection interplante de 14% n'est pas négligeable et peut agir sur la vitesse des épidémies. De plus, les résultats ont été obtenus dans le cas d'une dissémination des spores par la pluie. Le ratio d'aloinfection sur l'autoinfection pourrait être plus élevé dans des conditions de dissémination des spores par le vent. Malheureusement, la contribution du vent sur la dissémination des spores de *P. griseola* est encore mal connue.

Le concept de dissémination duale d'un pathogène (Van der Plank, 1975; Zawolek et Zadoks, 1992; Zadoks et Van den Bosch, 1994) peut être considéré dans le cadre de nos expériences. La dissémination à courte distance correspondrait à la dissémination des spores à l'intérieure d'une plante, et la dissémination à longue distance correspondrait à la dissémination des spores d'une plante à l'autre. Zawolek et Zadoks (1992) estime une valeur optimale de 0.8 pour la proportion de spores disséminée à courte distance, amenant à une intensification et une extensification maximales des épidémies. Selon nos résultats, les proportions de spores autodisséminées et allodisséminées au niveau de la même plante sont de cet ordre (0.86). Même si d'autres expériences sont nécessaires, nos résultats suggèrent qu'il pourrait y avoir une intensification et une extensification maximales des épidémies de tache angulaire même si la proportion d'aloinfection est faible.

En conclusion, nos résultats montrent que la proportion d'autoinfection est numériquement prépondérante dans le cas de la dispersion par la pluie de la tache angulaire. Les conséquences pourraient être une intensification locale de la maladie sur les plantes sensibles au sein d'un couvert génétiquement hétérogène et de ce fait une efficacité modérée des associations variétales pour contrôler cette maladie. Cependant, d'autres facteurs influant sur les proportions d'autoinfection et d'aloinfection devraient être étudiés, tels que la densité du couvert végétal ou la position des sources d'inoculum à l'intérieur de ce couvert.

Manuscrit 3

Autoinfection and alloinfection in angular leaf spot of bean under simulated rainfalls ²

Allorent D, Willocquet L, Janeau JL and Savary S

1. Abstract

Autoinfection, alloinfection within plant, and alloinfection between plants were assessed for the *Phaseolus vulgaris* - *Phaeoisariopsis griseola* pathosystem in rainfall simulation experiments. Rainfall simulations were conducted with a rain simulator that mimics actual rainfalls in range of drops sizes and kinetic energy. Bean micro-plots were exposed to simulated rainfalls with an intensity of 30 mm.h⁻¹, and with durations of 5, 10 and 30 minutes. Multiple infection transformation and fraction of tissue available for infection were accounted for in the calculation of the different infection ratios. There was no effect of rainfall duration on progeny-to-parent ratios. Autoinfection contributed 69% to new infections, whereas intraplant alloinfection contributed 17%, and interplant alloinfection 14% to new infections. Ranges of values obtained for autoinfection and alloinfection ratios are discussed in terms of disease control.

Additional keywords: disease spread, epidemiology, progeny to parent ratio, spore dispersal.

2. Introduction

Angular leaf spot (ALS), caused by the imperfect fungus *Phaeoisariopsis griseola* (Sacc.) Ferraris, is a major disease in tropical and subtropical bean production areas of the world (Saettler and Correa, 1984). The pathogen causes lesions on leaves, pods, branches, and petioles and may cause severe defoliation. In the absence of control, yield reductions of up to 45% in Brazil (Sartorato and Rava, 1992) and 80% in Colombia (Schwartz et al., 1981) have been reported. In countries where intercrop associations or varietal mixtures are often used, especially in the tropics (Zadoks and Schein, 1979), supplementing farmer's mixtures with new varieties that are resistant to angular leaf spot can contribute to manage this disease. A

² Manuscrit en préparation en vue d'une soumission à Agriculture and Forest Meteorology

significant decrease in ALS was for instance obtained in Africa by such progressive replacement (Pyndji and Trutmann, 1992; Trutmann and Pyndji, 1994). An important parameter for the efficiency of mixtures to control epidemics is the ratio of alloinfection to autoinfection (Mundt et al., 1986), where autoinfection is the proportion of pathogen inoculum retained on the same host plant on which it was produced (Garrett and Mundt, 1999). The greater the ratio alloinfection to autoinfection, the greater the potential for host mixtures to control diseases (Mundt and Brophy, 1988; Lannou et al., 1994).

Proportions of autoinfection and alloinfection are important biological attributes for the spatio-temporal development of epidemics (Barrett, 1980; Garrett and Mundt, 1999; Willocquet and Savary, 2004). Autoinfection generates local (within host unit, e.g., leaf) disease intensification, whereas alloinfection (between host units, e.g., plants) allows disease spread over larger scales. This is the dual dispersal strategy discussed by Van der Plank in 1975 and numerically supported by the simulation model of Zawolek and Zadoks in 1992. Van der Plank considered that any pathogen needed at least two dispersal mechanisms to survive, one to multiply up to the point of self-eradication, and one to find new hosts and fresh food (Van der Plank, 1975). Consideration of alloinfection not only between different plants, but also between leaves within the same plant, allows understanding disease spatialization at a finer scale. In the same way, consideration of epidemics as the net results of processes taking place within a spatial hierarchy of leaflets, leaves, and plants, allows to better describe interactions between disease intensity aggregation at different scales (Turechek and Madden, 2000, 2001 and 2003). The alloinfection to autoinfection ratio, however, is very difficult to measure with any accuracy, and few data are reported (Robert, 2003).

The objectives of the present study were 1) to provide an experimental measurement of infection ratios in the case of angular leaf spot of bean during rain dispersal events, 2) to study the effect of rainfall duration on these infection ratios.

3. Material and methods

3.1. Definitions

In this work, autoinfection refers to the infection of a leaf by propagules originating from the same leaf. Two types of alloinfection are considered: intraplant alloinfection refers to infection of a leaf by propagules originating from a different leaf of the same plant, and

interplant alloinfection refers to infection of a plant by propagules originating from another plant (Figure 1). Distinguishing the two alloinfection types allows considering spore dispersal at different scales (within plant and between plants).

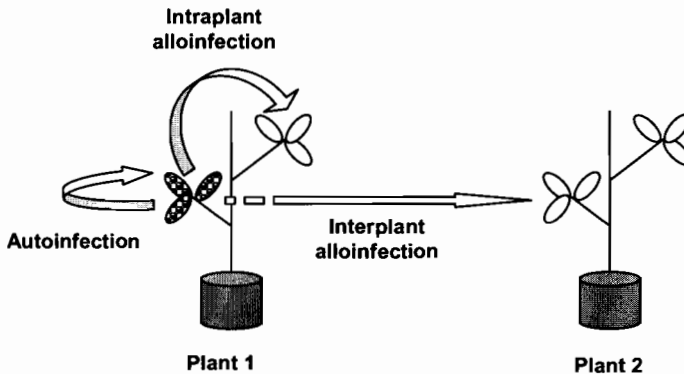


Figure 1. Schematic representation of spore flows leading to autoinfection, intraplant alloinfection and interplant alloinfection.

3.2. Experimental set-up

Two rainfall simulation experiments were conducted: a first experiment (A) to measure autoinfection and intraplant alloinfection ratios, and a second experiment (B) to measure intraplant and interplant alloinfection ratios. Seeds of the bean cultivar Negro huasteco were sown in 11-cm-diameter plastic pots containing 650g of a mixture of soil-sand (1:5), with one seed per pot for source plants and two seeds per pot for non source plants. Non source plants were placed in a 0.49 m² wooden frame (micro-plot) with a 10 × 10-cm spacing (Figure 2). Pots containing these non source plants were immersed into a mixture of soil-sand (1:5). In experiment A, four source plants were placed in the micro-plot. It was assumed that no cross-contamination occurred between these plants, since dispersal gradients measured in a separate field experiment were shown to be extremely steep (unpublished data). In experiment B, one source plant was placed at the center of the micro-plots (Figure 2).

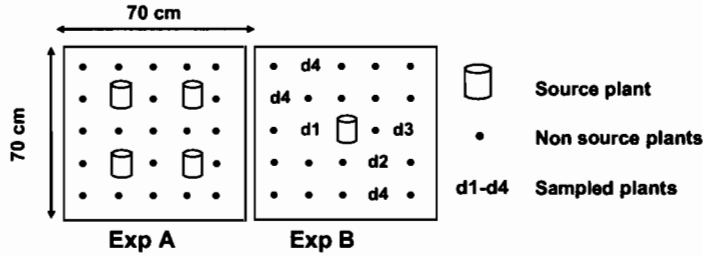


Figure 2. Experimental design for experiments A and B.

In experiment B, twelve plants were observed at distances d_1 (10 cm), d_2 (14 cm), d_3 (20 cm) and d_4 (22 cm) from the source plant.

In this experiment, a sample of twelve non source plants (six pots with two plants each) were observed at four distances from the source plant (d_1 : 10 cm (2 plants); d_2 : 14 cm (2 plants); d_3 : 20 cm (2 plants); d_4 : 22 cm (6 plants; Figure 2).

3.3. Production of inoculum and artificial inoculations

The *P. griseola* strain P. Turri used for artificial infections was isolated in Turrialba, Costa Rica, in 2001. This isolate was maintained by successive inoculations on two-week-old plants of the Negro huasteco cultivar. Plants were inoculated using a hand sprayer containing a $5 \text{ spores} \cdot \mu\text{l}^{-1}$ spore suspension (Tween 80 at 0.01%). Plants were incubated for three nights in the water-saturated atmosphere of polyethylene cages in order to achieve a large relative humidity for infection.

Artificial inoculation of the source plants were performed fifteen days before the rain simulations. The first expanded leaf of the two-week-old source plants was inoculated using the same procedure as for production of inoculum. To avoid excessive lesion densities on the inoculated leaf in experiment A (measurement of autoinfection), concentration of the spore suspension was $2 \text{ spores} \cdot \mu\text{l}^{-1}$. In experiment B, concentration of the spore suspension was $5 \text{ spores} \cdot \mu\text{l}^{-1}$. Mean temperatures during plant incubation varied between 19 and 43°C in experiment A and between 16 and 39°C in experiment B. Production of spores on the infected leaves was induced by incubating the plants three nights before the rainfall simulations in the water-saturated atmosphere of polyethylene cages. Mean temperatures during plant incubation varied between 19 and 41°C in experiment A and between 18 and 32°C in experiment B.

3.4. Rain simulations

Rain simulations were conducted with a rain simulator model ORSTOM (Asseline and Valentin, 1978). The rain simulator consists of a telescopic tower on which one single nozzle is mounted. Moved by an adapted windscreen wiper electric waterproof motor, the nozzle oscillates across the plot at height of 3.5 m. The angle of oscillation is programmed in a computer linked to the motor. The rain intensity corresponding to the angle of oscillation is calculated measuring the quantity of water which falls onto a surface of 1m^2 during a specified time duration. Possible rain intensities range from 30 to $140\text{mm}\cdot\text{h}^{-1}$. This rain simulator producing a range of droplets sizes, instead of single-sized drops, provides a realistic approach of field conditions (Savary and Janeau, 1986). The kinetic energy of the artificial rain drops approximates that of natural rain (Asseline and Valentin, 1978). There were three replications of three rain simulations with the same intensity but different durations ($30\text{mm}\cdot\text{h}^{-1}$, during 5, 10 and 30 minutes). This intensity is commonly found in tropical regions (Casenave and Valentin, 1988; Mauchamp and Janeau, 1993). Immediately after rainfall simulations, plants were incubated for three nights in the water-saturated atmosphere of polyethylene cages. Mean temperatures during plant incubation varied between 19 and 41°C in experiment A and between 18 and 38°C in experiment B.

3.5. Observations

Mother lesions are defined as infected sites on an artificially infected leaf, which generate daughter lesions (Zadoks and Schein, 1979), either on the same leaf, or plant, or on a different plant. The different variables used are listed in Table 1. Before rainfall simulations were started, the number of mother lesions on the inoculated leaf of each source plant, N0, was assessed.

Table 1. List of variables

Variable	Signification
N_0	Number of mother lesions on the infected leaf of the source plant
N_1	Number of daughter lesions on the infected leaf of the source plant (originating from autoinfection)
N_2	Number of daughter lesions on the healthy leaf of the source plant (originating from intraplant alloinfection)
N_3	Number of daughter lesions on the healthy non source plants (originating from interplant alloinfection)
X	Ratio of alloinfection to autoinfection at the within plant level
Y	Ratio of alloinfection between plants to alloinfection between leaves of the same plant
AUTO	Autoinfection ratio = $N_1 / (N_1 + N_2 + N_3)$
ALLOintra	Intraplant alloinfection ratio = $N_2 / (N_1 + N_2 + N_3)$
ALLOinter	Interplant alloinfection ratio = $N_3 / (N_1 + N_2 + N_3)$
ESD	Efficient spore dispersal away from the infected source plant

The number of daughter lesions observed on the same infected leaf, N_1 , was counted in experiment A, after 15 days of incubation following rainfall simulation. N_1 represents the number of lesions originating from autoinfection. On the (non inoculated) leaf immediately above the inoculated leaf of the source plant, the number of daughter lesions, N_2 , was counted after 15 days of incubation. N_2 represents the number of lesions originating from intraplant alloinfection.

The number of daughter lesions on the non source plants, N_3 , was assessed in each micro-plot after 15 days of incubation in experiment B. N_3 represents the number of lesions originating from interplant alloinfection.

Experiment B (Figure 2) also provided an opportunity to assess efficient spore dispersal (ESD) at four distances from an infected plant source (d_1 : 10 cm, d_2 : 14 cm, d_3 : 20 cm, and d_4 : 22 cm). Twelve non source plants sampled at these four distances from the source plant were observed after 15 days of incubation. ESD was calculated as the ratio of lesions observed on the sampled plants positioned at each distance, relative to the number of lesions at the source (N_0).

3.6. Calculation of number of daughter lesions and infection ratios

Two spores can be deposited on the same site and lead to one single lesion (Gregory, 1948; Zadoks and Schein, 1979). To estimate the potential lesion numbers (N_{jc}), the multiple-infection transformation (Gregory, 1948) was used to correct all daughter lesion numbers (N_j , with $j = 1-3$):

$$N_{jc} = -K \ln (1 - (N_j/K)) \quad (1)$$

Where K is the maximum lesion number per leaf. K had previously been estimated at 350 lesions per leaf for this Negro huasteco - P. Turri, cultivar - isolate interaction.

The presence of mother lesions on a host unit limits the number of new infections and thus the further formation of daughter lesions on this unit. The daughter lesion numbers on the infected leaf (N_1) was corrected (N_{1c}) to account for the reduction in autoinfection caused by the presence of mother lesions.

$$N_{1c} = N_1 / (1 - (N_0/K)) \quad (2)$$

Combining equations 1 and 2, the number of daughter lesions originating from autoinfection (N_{1c}) becomes:

$$N_{1c} = -K \ln (1 - (N_1/K)) / (1 - (N_0/K)) \quad (3)$$

The multiplication factors were defined as the number of daughter lesions produced per mother lesion. The multiplication factors for autoinfection, intraplant alloinfection and interplant alloinfection were computed as N_{1c} / N_0 , N_{2c} / N_0 and N_{3c} / N_0 , respectively.

We defined two ratios X and Y :

$$X = (ALLO_{intra} / AUTO) = N_2 / N_1 \quad \text{in experiment A}$$

$$\text{and } Y = (ALLO_{inter} / ALLO_{intra}) = N_3 / N_2 \quad \text{in experiment B,}$$

where X is the ratio of alloinfection to autoinfection at the within plant level, and Y is the ratio of alloinfection between plants to alloinfection between leaves of the same plant.

This approach allows estimating the three infection ratios, which can be written as:

$$AUTO = N_1 / (N_1 + N_2 + N_3),$$

$$ALLO_{intra} = N_2 / (N_1 + N_2 + N_3), \text{ and}$$

$$ALLO_{inter} = N_3 / (N_1 + N_2 + N_3).$$

3.7. Statistical analyses

Analyses of variance were performed with the PROC GLM procedure of SAS (SAS Institute, Cary, NC, version 8, 1999-2001). The effect of rainfall duration (5, 10 or 30

minutes) on the multiplication factors, and on the ratios X and Y was analyzed using a one-way analysis of variance (Gomez and Gomez, 1984). The effect of distance from the source plant on the square root of the (progeny-to-parent ratio on the sampled plants + 0.5) was analyzed using a one-way analysis of variance (Gomez and Gomez, 1984).

4. Results

4.1. Experiment A

Numbers of lesions observed on the source plants are shown in Table 2. Numbers of daughter lesions observed on the infected leaf (N1) were about twice less than numbers of mother lesions observed on this same infected leaf (N0). Numbers of daughter lesions observed on the other leaf immediately above the inoculated leaf of the source plant (N2) were more than ten times less than N0 values.

Multiplication factors for autoinfection ($N1/N0$) and intraplant alloinfection ($N2/N0$), and ratios of alloinfection to autoinfection at the within plant level (X) are shown in Table 3 with respect to rainfall durations.

Multiplication factors for autoinfection ($N1/N0$) were larger than for intraplant alloinfection ($N2/N0$). These multiplication factors numerically decreased with rainfall duration. These differences were not significant for multiplication factors for autoinfection ($F = 0.28$, $P = 0.77$), but significant for multiplication factors for intraplant alloinfection ($F = 14.4$, $P < 0.01$). Ratios X also decreased numerically with rainfall duration, but these differences were not significant ($F = 1.32$, $P = 0.33$).

4.2. Experiment B

Numbers of lesions observed on the source plants and on the neighboring plants are shown in Table 4.

Table 2. Numbers of lesions observed on the source plants according to rainfall duration in experiment A ^a

Rain duration (minutes)	N_0^b	N_1^c	N_2^d
5	15.6 ± 3.4	7.2 ± 4.7	1.8 ± 0.9
10	14.9 ± 1.9	7.2 ± 1.9	0.8 ± 0.4
30	17.6 ± 3.4	7.0 ± 1.5	0.6 ± 0.4

^a Values are means ± standard deviation over three replicates

^b N_0 : number of mother lesions on the infected leaf of the source plant

^c N_1 : number of daughter lesions on the infected leaf of the source plant

^d N_2 : number of daughter lesions on the other leaf of the source plant

Table 3. Multiplication factors for autoinfection and intraplant alloinfection, and ratios X according to rainfall duration in experiment A ^a

Rain duration (minutes)	N_1 / N_0^b	N_2 / N_0^c	$X = N_2 / N_1^d$
5	0.64 ± 0.49	0.14 ± 0.02	0.52 ± 0.63
10	0.51 ± 0.15	0.06 ± 0.04	0.10 ± 0.04
30	0.45 ± 0.23	0.03 ± 0.01	0.09 ± 0.06

^a Values are means ± standard deviation over three replicates

^b N_1 / N_0 : multiplication factor for autoinfection, with N_0 : number of mother lesions on the infected leaf of the source plant and N_1 : number of daughter lesions on the infected leaf of the source plant

^c N_2 / N_0 : multiplication factor for intraplant alloinfection, with N_0 : number of mother lesions on the infected leaf of the source plant and N_1 : N_2 : number of daughter lesions on the other leaf of the source plant

^d X: Ratio of alloinfection to autoinfection at the within plant level

Table 4. Numbers of lesions observed on the source plants and on the neighboring plants according to rainfall duration in experiment B ^a

Rain duration (minutes)	N_0^b	N_2^c	N_3^d
5	84.3 ± 31.9	8.8 ± 6.9	8.1 ± 2.7
10	73.7 ± 16.6	6.4 ± 4.3	6.3 ± 6.1
30	84.7 ± 19.5	15.5 ± 12.6	19.9 ± 17.3

^a Values are means ± standard deviation over three replicates

^b N_0 : Number of mother lesions on the infected leaf of the source plant

^c N_2 : Number of daughter lesions on the other leaf of the source plant

^d N_3 : Number of daughter lesions on the neighboring plants

Numbers of daughter lesions observed on the other leaf immediately above the inoculated leaf of the source plant (N_2) were about ten times less than numbers of mother lesions observed on this same infected leaf (N_0). Numbers of daughter lesions observed on the neighboring plants (N_3) were in the same order than N_2 values.

Multiplication factors for intraplant (N_2/N_0) and interplant alloinfection (N_3/N_0), and ratios of alloinfection between plants to alloinfection between leaves of the same plant (Y) are shown in Table 5 with respect to rainfall durations.

Table 5. Multiplication factors for intraplant and interplant alloinfection, and ratios Y according to rainfall duration in experiment B ^a

Rain duration (minutes)	N_2 / N_0 ^b	N_3 / N_0 ^c	$Y = N_3 / N_2$ ^d
5	0.09 ± 0.04	0.10 ± 0.01	1.20 ± 0.56
10	0.08 ± 0.04	0.08 ± 0.07	0.81 ± 0.71
30	0.19 ± 0.18	0.27 ± 0.24	0.57 ± 0.57

^a Values are means ± standard deviation over three replicates

^b N_2 / N_0 : multiplication factor for intraplant alloinfection, with N_0 : number of mother lesions on the infected leaf of the source plant and N_2 : number of daughter lesions on the other leaf of the source plant

^c N_3 / N_0 : multiplication factor for interplant alloinfection, with N_0 : number of mother lesions on the infected leaf of the source plant and N_3 : Number of daughter lesions on the neighboring plants

^d Y : Ratio of alloinfection between plants to alloinfection between leaves of the same plant

Multiplication factors for intraplant alloinfection (N_2/N_0) ranged between 0.08 and 0.19 (Table 5), and were close to values obtained from experiment A (Table 3). Multiplication factors for intraplant alloinfection (N_2/N_0) were in the same order than for interplant alloinfection (N_3/N_0). These multiplication factors numerically increased with rainfall duration of 30 minutes. These differences were not significant ($F = 0.89$, $P = 0.46$, for multiplication factor for intraplant alloinfection; and $F = 1.71$, $P = 0.26$, for multiplication factor for interplant alloinfection). Ratios Y decreased numerically with rainfall duration, but these differences were not significant ($F = 0.79$, $P = 0.49$).

The variation in efficiency of spore dispersal (ESD) with respect to distance from the source plant in experiment B is shown in Table 6.

Table 6. Efficiency of spore dispersal (ESD) according to the distance from the source plant in experiment B ^a

Distance (cm)	ESD
10	0.013 ± 0.019
14	0.009 ± 0.013
20	0.006 ± 0.013
22	0.004 ± 0.011

^a Values are means ± standard deviation of nine replicates (nine rainfall simulations)

ESD decreased with distance from the source plant. However, there was no significant effect of the distance from the source plant ($F = 1.08$, $P = 0.37$), due to very large variances.

5. Discussion

The results obtained from experiments A and B allow computing the autoinfection and alloinfection ratios. By definition, the sum of the three ratios, autoinfection ($AUTO = N1 / (N1 + N2 + N3)$), intraplant alloinfection ($ALLOintra = N2 / (N1 + N2 + N3)$) and interplant alloinfection ($ALLOinter = N3 / (N1 + N2 + N3)$) equals 1. The following equation system (see variable list in Table 1) can be written:

$$\begin{cases} AUTO + ALLOintra + ALLOinter = 1 & (4) \\ AUTO = (1/X) \times ALLOintra & (5) \\ ALLOinter = Y \times ALLOintra & (6) \end{cases}$$

Replacing AUTO and ALLOinter in equation 4 by equations 5 and 6 gives:

$$ALLOintra = 1 / ((1/X) + 1 + Y) \quad (7)$$

The ratios AUTO and ALLOinter were calculated using equations 5 and 6. Autoinfection ratio ($N1 / (N1 + N2 + N3)$) was 0.69, intraplant alloinfection ratio ($N2 / (N1 + N2 + N3)$) was 0.17, and interplant alloinfection ratio ($N3 / (N1 + N2 + N3)$) was 0.14. A majority (86%) of the efficient dispersed spores generated infections on the same plant, either through autoinfection, or through intraplant alloinfection (i.e., $(N1 + N2) / (N1 + N2 + N3)$). Assuming that the infection efficiency was the same at all scales of infection in each experiment, the infection proportions (AUTO, ALLOintra, ALLOinter) estimated from this study can also be seen as deposition ratios. Only 14% of the spores are thus deposited on plants others than those where the spores were produced.

The effect of rainfall duration on spore dispersal has been comparatively little studied (Fitt et al., 1986; Madden et al., 1996; Ntahimpera et al., 1999). In rainfall simulations on *Colletotrichum* species, spore dispersal increased with rainfall duration and then decreased after 10 to 15 minutes, because of the depletion of spore sources by a longer rainfall (Madden et al., 1996; Ntahimpera et al., 1999). The number of conidia of *Rhynchosporium secalis* dispersed decreased with rainfall duration at intensities of 6.5 and 12 mm.h⁻¹ (Fitt et al., 1986). According to our results, ratios of alloinfection to autoinfection at the within plant level (X) and ratios of alloinfection between plants to alloinfection between leaves of the same plant (Y) numerically decreased with rainfall duration, but these differences were not significant, due to large variances.

Models which incorporate autoinfection and alloinfection ratios (Barrett, 1980) use a very wide range of values (0 to 100%) (Mundt and Brophy, 1988; Lannou, 2001). The experiments reported here provide an experimental measurement of these ratios in the case of rain-induced spread of ALS. In the case of brown rust of wheat, the contribution of autoinfection to the multiplication (on one infected leaf) was 44% and that of alloinfection (on leaves around the infected one) was 56% (Robert, 2003). According to our results, the contribution of autoinfection to the multiplication was 69%. The contribution of alloinfection on surrounding leaves was 31% (accumulated allointraplant and allointerplant infection ratios). Our results in ALS indicate a stronger contribution of autoinfection than that of brown rust. Therefore autoinfection on the infected plant for ALS (86%) was much larger than reported for oat stem rust by Leonard (from 5 to 10%) in 1969.

A large alloinfection / autoinfection ratio allows for effective disease control in genetically diverse host populations (Barrett, 1980; Mundt and Brophy, 1988; Garrett and Mundt, 1999). These experiments on angular leaf spot of bean lead to ratio estimate of 14/86. These values of allo to autoinfection may seem low, and thus do not suggest that varietal mixtures might have a very strong disease suppressing effect. Nevertheless, 14 efficient spores out of 100 that are allodispersed, and which are confronted to the adverse environment that a managed host diversity may create, might impact on epidemic speed at the field level. Modelling and experimental work on this disease is required to assess the impact of such values. Furthermore, these experiments dealt only with rain-induced disease spread. It may be that the allo to autoinfection ratio in wind-induced disease spread is much larger. The

contribution of wind-induced spread to angular leaf spot epidemics, however, is essentially unknown.

In spite of the fact that this experimental work only addressed a small scale, the concept of dual dispersal of a pathogen can be considered (Van der Plank, 1975; Zawolek and Zadoks, 1992; Zadoks and Van den Bosch, 1994). The 'short dispersal' would here refer to the spore dispersal within the source plant, and the 'long dispersal' to dispersal between plants. Zawolek and Zadoks (1992) found an optimal value of 0.8 for spore proportion due to short dispersal for maximal intensification and maximal extensification of epidemics. In our experiments, the sum of autoinfection and intraplant alloinfection (0.86) approximatively corresponds to the theoretical optimum predicted by Zawolek and Zadoks (1992). Even though further experimental work is needed, our results suggest that angular leaf spot has the attributes to develop strong epidemics, and that alloinfection would not represent a handicap for it.

In conclusion, our results suggest that autoinfection is numerically preponderant in the case of rain-induced spread of angular leaf spot of bean. The consequences could be a focalization of the disease in susceptible plants and a moderate efficacy of varietal mixtures in terms of disease control. However, there are many factors which can modify these ratios. Further investigations should focus on the different factors which may influence them.

6. Acknowledgments

This work was supported by the INCO project ALS-RESIST contract number ICA4-CT-2000-30004. We thank C. Nuñez and A. Sanchez for technical assistance.

7. References

- Asseline, J., Valentin, C. 1978. Construction et mise au point d'un infiltromètre à aspersion (ou mini-simulateur de pluie). Cah. Orstom sér. Hydrol. 15, 321-349.
- Barrett, J.A. 1980. Pathogen evolution in multilines and variety mixtures. Z. Pflanzenkr. Pflanzenschutz 87, 383-396.
- Casenave, A., Valentin, C. 1988. Les états de surface de la zone sahélienne. Influence sur l'infiltration. Orstom, collection Didactiques, 242 pp.

- Fitt, B.D.L., Creighton, N.F., Lacey, M.E., McCartney, H.A. 1986. Effects of rainfall intensity and duration on dispersal of *Rhynchosporium secalis* conidia from infected barley leaves. Trans. Br. Mycol. Soc. 86, 611-618.
- Garrett, K.A., Mundt, C.C. 1999. Epidemiology in mixed host populations. Phytopathology 89, 984-990.
- Gomez, K.A., Gomez, A.A. 1984. Statistical Procedures for Agricultural Research. 2nd ed. John Wiley and Sons, New York, 680 pp.
- Gregory, P.H. 1948. The multiple-infection transformation. Ann. Appl. Biol. 35, 412-417.
- Lannou, C. 2001. Intrapathotype diversity for aggressiveness and pathogen evolution in cultivar mixtures. Phytopathology 91, 500-510.
- Lannou, C., de Vallavieille-Pope, C., Biass, C., Goyeau, H. 1994. The efficacy of mixtures of susceptible and resistant hosts to two wheat rusts of different lesion size: controlled condition experiments and computerized simulations. J. Phytopathol. 140, 227-237.
- Madden, L.V., Yang, X., Wilson, L.L. 1996. Effects of rain intensity on splash dispersal of *Colletotrichum acutatum*. Phytopathology 86, 864-874.
- Mauchamp, A., Janeau, J.L. 1993. Water funnelling by the crown of *Flourensia cernua*, a Chihuahuan desert shrub. J. Arid Environ. 25, 299-306.
- Mundt, C.C., Brophy, L.S. 1988. Influence of number of host genotype units on the effectiveness of host mixtures for disease control: a modeling approach. Phytopathology 78, 1087-1094.
- Mundt, C.C., Leonard, K.J., Thal, W.M., Fulton, J.H. 1986. Computerized simulation of crown rust epidemics in mixtures of immune and susceptible oat plants with different genotype unit areas and spatial distributions of initial disease. Phytopathology 76, 590-598.
- Ntahimpera, N., Wilson, L.L., Ellis, M.A., Madden, L.V. 1999. Comparison of rain effects on splash dispersal of three *Colletotrichum* species infecting strawberry. Phytopathology 89, 555-563.
- Pyndji, M.M., Trutmann, P. 1992. Managing angular leaf spot on common bean in Africa by supplementing farmer mixtures with resistant varieties. Plant Dis. 76, 1144-1147.
- Robert, C. 2003. Etude et modélisation du fonctionnement d'un couvert de blé attaqué par le complexe parasitaire *Puccinia triticina*-*Mycosphaerella graminicola*. PhD dissertation, INA-PG, France.

- Saettler, A.W., Correa, F.J. 1984. Angular leaf spot (*Isariopsis griseola*) in seed fields of Michigan red kidney beans. Ann. Rep. Bean Imp. Coop. 27, 29-30.
- Sartorato, A., Rava, C.A. 1992. Influência da cultivar e do número de inoculações na severidade da mancha angular (*Isariopsis griseola*) e nas perdas na produção do feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris*). Fitopatol. Bras. 17, 247-251.
- Savary, S., Janeau, J.L. 1986. Rain-induced dispersal in *Puccinia arachidis*, studied by means of a rainfall simulator. Neth. J. Plant Pathol. 92, 163-174.
- Schwartz, H.F., Correa V, F., Pineda D, P.A., Otoya, M.M., Katherman, M.J. 1981. Dry bean yield losses caused by *Ascochyta*, angular, and white leaf spots in Colombia. Plant Dis. 65, 494-496.
- Trutmann, P., Pyndji, M.M. 1994. Partial replacement of local common bean mixtures by high yielding angular leaf spot resistant varieties to conserve local genetic diversity while increasing yield. Ann. Appl. Biol. 125, 45-52.
- Turechek, W.W., Madden, L.V. 2000. Analysis of the association between the incidence of two spatially aggregated foliar diseases of strawberry. Phytopathology 90, 157-170.
- Turechek, W.W., Madden, L.V. 2001. Effect of scale on plant disease incidence and heterogeneity in a spatial hierarchy. Ecol. Mod. 144, 77-95.
- Turechek, W.W., Madden, L.V. 2003. A generalized linear modeling approach for characterizing disease incidence in a spatial hierarchy. Phytopathology 93, 458-466.
- Van der Plank, J.E. 1975. Principles of Plant Infection. Academic Press, New York, 210 pp.
- Willoquet, L., Savary, S. 2004. An epidemiological simulation model with three scales of spatial hierarchy. Phytopathology 94, 883-891.
- Zadoks, J.C., Van den Bosch, F. 1994. On the spread of plant disease: a theory on foci. Annu. Rev. Phytopathol. 32, 503-521.
- Zadoks, J.C., Schein, R.D. 1979. Epidemiology and Plant Disease Management. Oxford University Press, New York, 427 pp.
- Zawolek, M.W., Zadoks, J.C. 1992. Studies in focus development: an optimum for the dual dispersal of plant pathogens. Phytopathology 82, 1288-1297.

D. Mobilisation de l'inoculum

Synopsis en français du manuscrit 4

Quantification et modélisation de la mobilisation de l'inoculum à partir de tissus infectés dans le couvert et défoliés au sol dans des épidémies de tache angulaire du haricot commun

Introduction

La défoliation des plantes hôtes, induite par de nombreux pathogènes foliaires, a suscité beaucoup d'études (Kushalappa et Ludwig, 1982; Waggoner et Berger, 1987; Johnson, 1987; Thal et Campbell, 1988; Bergamin Filho et al., 1997; Carneiro et al., 2000) par ses conséquences sur les épidémies des maladies. Au delà de sa contribution aux pertes de rendement des cultures, la défoliation des tissus malades peut avoir un effet sur la disponibilité des tissus sains, sur les conditions environnementales à l'intérieur du couvert et sur la croissance des tissus végétaux. La défoliation des tissus malades affecte aussi la quantité de maladie qui peut être observée dans le couvert (Kushalappa et Ludwig, 1982; Thal et Campbell, 1988; Nelson et Campbell, 1993), ce qui a amené certains auteurs à la prendre en compte dans les modèles ajustant les courbes de progression de maladies.

Alors que la défoliation des tissus malades chez des pathogènes biotrophes conduit à leur élimination du cycle d'infection, les tissus malades défoliés chez des pathogènes nécrotrophes ou hémi-nécrotrophes peuvent représenter une source d'inoculum additionnelle (Thal et Campbell, 1988; Duthie et Campbell, 1991). Les feuilles du couvert peuvent alors être infectées par une double source d'inoculum : des spores produites par des lésions situées sur les feuilles du couvert et des spores produites par des lésions situées sur les feuilles tombées au sol. Les effets de la mobilisation de ces deux sources d'inoculum sur les épidémies ont été peu étudiés, même s'ils abordent une question de recherche intéressante. Ces effets peuvent être étudiés en quantifiant les facteurs quotidiens de multiplication, c'est-à-dire le nombre de lésions filles produites par lésion mère et par unité de temps (Zadoks, 1971), pour des lésions situées sur des feuilles dans le couvert ou au sol.

Les objectifs de cette étude étaient 1) d'apporter des mesures expérimentales des facteurs quotidiens de multiplication de lésions infectieuses situées sur des tissus attachés ou détachés du couvert pour le pathosystème *Phaseolus vulgaris* - *Phaeoisariopsis griseola* et 2) de simuler les dynamiques d'épidémies dans un couvert de haricot, où les deux sources d'inoculum existent, dans le but de comparer les contributions relatives de ces deux sources

d'inoculum aux infections et d'analyser les épidémies simulées à l'aide des facteurs quotidiens de multiplication mesurés expérimentalement.

Une expérimentation a été répétée quatre fois à la station expérimentale de l'EMBRAPA (Brésil) dans le but de mesurer expérimentalement les facteurs quotidiens de multiplication de lésions infectieuses situées sur des tissus attachés ou détachés du couvert. Des plantes de la variété Rosinha-G2 ont été disposées dans des micro-parcelles de 40 × 40 cm, avec un espacement de 10 cm (16 plantes au total par micro-parcelle). Trois traitements (T1, T2 et T3) ont été mis en place correspondant à trois sources d'inoculum différentes : des plantes infectées en pots ont été disposées dans le couvert végétal d'une micro-parcelle (T1, inoculum localisé dans le couvert), des feuilles infectées coupées au préalable ont été disposées au sol, à la base des plantes d'une seconde micro-parcelle (T2, inoculum localisé au sol) et la combinaison des deux sources d'inoculum représentant les conditions naturelles où des spores peuvent provenir du couvert ou des feuilles tombées au sol dans une troisième micro-parcelle (T3, inoculum localisé dans le couvert et au sol). Une quatrième micro-parcelle a été mise en place, sans apport d'inoculum, pour estimer l'inoculum qui pourrait provenir de l'extérieur. La durée d'exposition des sources d'inoculum dans les parcelles placées en conditions extérieures a été de quatre jours. Des données météorologiques étaient disponibles pour cette période. Les observations ont été effectuées sur les plantes des micro-parcelles, après incubation des plantes (voir manuscrit 4), dans trois couches foliaires du couvert végétal (en bas, 0-20cm, au milieu, 20-40cm, et en haut, >40cm du couvert). A partir des observations effectuées pour les traitements T1 et T2, les facteurs quotidiens de multiplication de lésions infectieuses situées sur des tissus attachés (DMFRc) et détachés (DMFRd) du couvert ont été calculés (voir manuscrit 4).

Un modèle de simulation dérivant de la structure du modèle synthétique élaboré dans le premier chapitre a été construit afin d'étudier les effets de ces deux facteurs quotidiens de multiplication mesurés expérimentalement sur les épidémies de tache angulaire. Ce modèle a été construit sur la base du modèle-système développé par Zadoks (1971), avec l'incorporation de la croissance et de la défoliation des tissus hôtes. Le manuscrit décrit les étapes de vérification et d'analyse de sensibilité du modèle. Ce modèle est ensuite utilisé pour comparer les épidémies simulées à l'aide des mesures expérimentales des facteurs quotidiens de multiplication (DMFRc et DMFRd).

Principaux résultats

Les quatre répétitions ont été conduites dans des conditions climatiques différentes. Notamment, des événements pluvieux n'ont eu lieu que dans les deux premières répétitions.

L'inoculum extérieur a été négligeable, en effet celui-ci représente de 0 à 5% des nombres de lésions observées sur les plantes des micro-parcelles comportant une source d'inoculum.

Les densités de lésions observées pour les différentes couches foliaires sont de l'ordre de dix fois supérieures dans les deux premières répétitions. Des densités de lésions significativement différentes sont observées entre les différentes couches foliaires (bas, milieu et haut du couvert) et entre les différents traitements. L'interaction entre traitement et couche foliaire est aussi significative ($p=0.04$). Les densités de lésion sont plus importantes pour les traitements T3, la source d'inoculum ayant été supérieure en nombre de lésions sources (inoculum situé sur des feuilles du couvert et au sol); puis pour les traitements T1 par rapport à T2. La source d'inoculum située au niveau des feuilles du couvert génère un plus grand nombre de nouvelles lésions dans le couvert que l'inoculum situé au sol. Pour les deux premières répétitions, des densités de lésion plus importantes sont observées dans les couches foliaires du milieu et du haut du couvert (de 0.3 à 0.8), qu'en bas du couvert (de 0.2 à 0.5), dans le cas des traitements T1 et T3. Dans le cas des traitements T2, les densités de lésion décroissent avec la hauteur du couvert. Peu d'infections ont été établies dans les couverts des deux dernières répétitions.

Les facteurs quotidiens de multiplication varient d'une répétition à l'autre, étant beaucoup plus élevés dans les deux premières répétitions. Les facteurs quotidiens de multiplication des lésions infectieuses situées sur des tissus attachés (DMFRc) sont plus élevés que les facteurs quotidiens de multiplication des lésions infectieuses situées sur des tissus détachés du couvert (DMFRd). Les valeurs de DMFRc sont plus élevées dans les couches foliaires du milieu du couvert (de 0.04 à 0.5) que dans celles du bas (de 0 à 0.3) et du haut du couvert (de 0 à 0.2). Pour les deux premières répétitions, ces valeurs sont de l'ordre de 0.8 à 1 pour des lésions situées dans un couvert entier (trois couches foliaires considérées). Les valeurs de DMFRd sont plus élevées dans les couches foliaires inférieures (de l'ordre de 0.2) par rapport à celles du haut du couvert (de l'ordre de 0.01). Les valeurs de DMFRd sont très faibles dans le cas des deux dernières répétitions, rendant difficile une comparaison entre couches foliaires. Ces résultats montrent une très forte réduction de la mobilisation de l'inoculum provenant du sol dans les conditions environnementales ayant eu lieu dans les dernières répétitions. De plus,

ces résultats donnent une gamme assez large de valeurs de DMFRc et DMFRd, reliées aux conditions environnementales, avec des cas intéressants où DMFRc et DMFRd sont soit élevés ensemble ou faibles ensemble, soit élevé et faible, soit faible et élevé.

La vérification du modèle montre que le modèle aboutit à des simulations attendues et que la structure du modèle est valide. L'analyse de sensibilité du modèle met en évidence un effet plus important du facteur quotidien de multiplication des lésions infectieuses situées sur des tissus attachés (DMFRc) sur les épidémies par rapport à l'effet du facteur quotidien de multiplication des lésions infectieuses situées sur des tissus détachés du couvert (DMFRd). Par ailleurs, l'effet de la période infectieuse des lésions situées dans le couvert (ic) est plus important que celui de la période infectieuse des lésions situées au niveau du sol (id). L'écart des effets de ic et id est d'autant plus important que le DMFRc est élevé.

Les épidémies simulées pour les différentes couches foliaires et pour le couvert entier, en incorporant les valeurs des DMFR mesurées expérimentalement, sont plus importantes dans les deux premières répétitions. Les aires sous les courbes de progression de la sévérité (AUSPC) décroissent avec la hauteur du couvert, les épidémies étant plus importantes dans les couches foliaires inférieures. Les AUSPC sont largement supérieures, pour des épidémies simulées dans un couvert entier, à la somme des AUSPC dans les trois couches foliaires.

Discussion et conclusion

Cette étude apporte des estimations quantitatives des facteurs quotidiens de multiplication de deux sources d'inoculum, l'une située dans le couvert et l'autre sur les feuilles tombées au sol, et des épidémies simulées à l'aide de ces facteurs. Très peu de mesures expérimentales des facteurs quotidiens de multiplication sont disponibles dans la littérature, malgré leur importance conceptuelle dans le modèle classique en épidémiologie élaboré par Van der Plank (1963) et dans le modèle de simulation élaboré par Zadoks (1971).

Nos résultats montrent que la source d'inoculum située dans le couvert induit plus de nouvelles lésions dans ce même couvert que celle située au sol, peut être à cause d'une mobilisation réduite des spores situées sur les lésions au sol et à une plus faible accessibilité du couvert à ces spores. Les différences de DMFR observées entre les répétitions de l'expérimentation peuvent être expliquées par l'absence de pluies lors des deux dernières répétitions. Nos résultats indiquent que les deux sources d'inoculum contribuent aux infections, principalement en conditions de pluie.

Le ratio du nombre de lésions filles par lésion mère (Van der Plank, 1963, Zadoks et Schein, 1979) est défini, dans le cas de ce modèle incluant une double source d'inoculum, comme étant la somme : $(DMFRc \cdot ic) + (DMFRd \cdot id)$. Dans le cas de périodes infectieuses (ic et id) de 20 jours, le seuil pour lequel une épidémie peut avoir lieu (ratio supérieur à 1), n'est pas atteint pour la troisième répétition (pour aucune couche foliaire, ni pour le couvert entier), ni pour les couches foliaires du bas et du haut du couvert de la quatrième répétition. Les aires sous les courbes de progression de la sévérité pour ces différents cas sont très faibles. La théorie du seuil (Zadoks et Schein, 1979), discutée récemment dans le cas d'épidémies ayant une double source d'infections (primaires et secondaires; Gubbins et al., 2000; Gilligan, 2002), suggère que des épidémies peuvent avoir lieu même si le seuil n'est pas franchi séparément pour les deux sources d'inoculum. Une conclusion similaire peut être envisagée dans le cas de la tache angulaire : des épidémies peuvent avoir lieu même si le seuil n'est pas atteint pour l'une ou l'autre des sources d'inoculum.

Plusieurs éléments suggèrent que malgré la simplicité du modèle, son fonctionnement polycyclique à partir des données monocycliques pour obtenir des épidémies simulées a un sens. D'une part, la vérification du modèle a en effet montré que le modèle se comporte correctement par rapport aux augmentations de sévérité et aux variations des variables d'état. D'autre part, les sévérités terminales obtenues à partir des simulations réalisées à l'aide des données expérimentales des DMFR (de l'ordre de 11%) sont de l'ordre des sévérités observées au champ (de 5 à 29%; Mora et al., 1985; Buruchara et al., 1988; Bergamin-Filho et al., 1997; Carneiro et al., 1997; Silva et al., 1998; de Jesus Junior et al., 2001 et 2003). Ces sévérités terminales assez faibles sont dues aux effets opposés de la croissance et de la défoliation des feuilles du couvert (induite par la maladie), comme c'est le cas pour des maladies foliaires du trèfle (Nelson et Campbell, 1991 et 1993) et de la luzerne (Thal et Campbell, 1988). Ces interactions entre croissance et défoliation des tissus s'ajoutent aux interactions existantes entre les DMRC et DMFRd et les périodes infectieuses ic et id , et amènent à des fluctuations de la sévérité, montrant l'importance de l'effet de la maladie sur la quantité de tissus sains à travers la défoliation et l'infection.

La structure du modèle présenté dans ce manuscrit nous apparaît donc utile dans une perspective d'études d'autres attributs du pathosystème *Phaseolus vulgaris* - *Phaeoisariopsis griseola*, comme pour d'autres pathosystèmes de ce type.

Manuscrit 4

Quantifying and modelling the mobilisation of inoculum from diseased leaves and defoliated tissues in epidemics of angular leaf spot of bean³

Allorent D, Willocquet L, Sartorato A and Savary S

1. Abstract

Daily multiplication factor values were experimentally measured in four replications of a monocyclic experiment on angular leaf spot of bean, where sources of inoculum were artificially established within a bean canopy, on the ground (defoliated infected leaves), or both. Daily multiplication factor of lesions in the canopy (DMFRc) was higher than that of infectious, defoliated tissues (DMFRd) in all replications. Both DMFRc and DMFRd were strongly reduced under dry compared to rainy conditions for spore dispersal. Under rainy conditions for spore dispersal DMFRd was about two to three times smaller than DMFRc, which may render the defoliated leaves a significant source of infection depending on the amount of infectious tissues it contains. Mother lesions within the canopy generated more daughter lesions in the medium (or lower) layers of the canopy than at its upper level (DMFRc higher at the medium and lower layers of a canopy), whereas DMFRd values seemed to decrease with height in the canopy. A mechanistic simulation model that combines host growth and disease-induced defoliation was designed to simulate the respective contributions of the two components of the dual inoculum source of a diseased canopy (infected foliage and defoliated infectious tissues), and varying infectious periods in both sources. Simulations suggest that higher DMFRc values have a large polycyclic effect on epidemics whereas that of DMFRd is small, and that large effects of the infectious period of lesions in the canopy are found when DMFRc is high. Simulated outcomes of experimentally measured DMFRc and DMFRd values indicated much stronger epidemics in rainy compared to dry conditions for spore dispersal, but disease persistence in the latter. The implications of considering a dual source of inoculum in the course of a polycyclic process are discussed with respect to epidemic thresholds.

Key words: progeny/parent ratio, defoliation, daily multiplication factor, corrected basic rate of infection, epidemic threshold, *Phaeoisariopsis griseola*.

³ **Manuscrit soumis à European Journal of Plant Pathology**

2. Introduction

Host plant defoliation, which is caused by a number of foliar pathogens, has attracted a long standing interest among botanical epidemiologists (Kushalappa and Ludwig, 1982; Waggoner and Berger, 1987; Johnson, 1987; Thal and Campbell, 1988; Bergamin Filho et al., 1997; Carneiro et al., 2000). This is because disease-induced defoliation, while being one important injury mechanism leading to yield loss, may also strongly affect the course of an epidemic via a number of factors and feed-backs, including the availability of healthy tissues, changes in the physical environment of disease, and host growth itself. Disease-induced defoliation also has a direct effect on disease measurements themselves, as it affects the amount of disease that can be observed on the canopy (Kushalappa and Ludwig, 1982; Thal and Campbell, 1988; Nelson and Campbell, 1993), and this has led to several attempts to correct, or account, for defoliation.

While defoliated, infected, tissues are removed from the epidemiological process when biotrophic pathogens are involved, it is not so however in many necrotrophic, or heminecrotrophic foliar pathogens (Thal and Campbell, 1988; Duthie and Campbell, 1991). In diseases caused by such pathogens, defoliated, infected, and infectious tissues then may become another source of inoculum. Plant stands that are affected by diseases caused by such defoliating pathogens are thus exposed to a dual source of inoculum: propagules that are produced on lesions on the standing canopy and those produced by defoliated tissues. The processes by which this dual source influences the course of an epidemic then becomes an interesting research issue of its own, which may be addressed by considering the respective mobilisation of the two types of propagules, and by quantifying the progeny of lesions on attached or detached leaves, i.e., the daily multiplication factors (Zadoks, 1971) that refer to the two kinds of sources.

The purpose of this work is twofold: 1) to generate experimental measurements of daily multiplication factors of infectious lesions on attached and detached tissues in the bean-*Phaeoisariopsis griseola* pathosystem, and 2) to simulate the dynamics of an infected canopy where a dual source of inoculum exists, to compare the respective contributions of the two sources, and analyse the epidemiological outcomes of empirical measurements of daily multiplication factors in this pathosystem.

3. Material and methods

3.1. Experimental design

An experiment was designed in order to measure the daily multiplication factors of inoculum (represented by sporulating ALS lesions) located either on attached or defoliated bean leaves. The experiment was replicated four times (REP1, REP2, REP3 and REP4) from April to June 2004, at the EMBRAPA Centre Arroz e Feijão, Goiania, Brazil (Lat. 16°28'0", long. 49°17'0", elevation 823 m).

Experimental micro-plots consisted of plastic trays (40 × 40cm) which contained 15cm of soil from the EMBRAPA Centre experimental fields. Plants of the cultivar Rosinha-G2 were seeded with 10-cm spacing (four rows of four hills, with one seed per hill). There were three treatments corresponding to three categories of inoculum sources, and a control where no source was established to quantify external inflows of inoculum. The first treatment consisted in establishing infected plants in pots at the centre of the micro-plots to mimic infected leaves in the canopy (Treatment 1, T1). The second treatment consisted in placing infected leaves on the ground to mimic infected defoliated leaves (Treatment 2, T2). The last treatment consisted in both establishing potted infected plants at the centre of the micro-plots and placing infected leaves on the ground (Treatment 3, T3). This last treatment corresponds to actual conditions, where infected leaves both in the canopy and defoliated are present in a diseased bean stand.

3.2. Observations before establishment of the inoculum sources

Three leaf layers were considered in the micro-plots, bottom (BT), mid-height (MH), and upper (UP) layers of the canopy (Plaut and Berger, 1980). These leaf layers corresponded to three classes of height: BT, 0-20cm; MH, 20-40cm; UP, >40cm. Each leaf of each plant was tagged with three different colours corresponding to the three leaf layers.

Immediately before establishing the inoculum sources, the number of leaves per leaf layer (BT, MH and UP) was counted in each micro-plot, and the leaf area of each layer was estimated from a sample of four plants per micro-plot. The length and width of the central leaflet of each leaf were measured, and leaf areas were estimated using the relationship $y = 1.52x - 4.54$, where x is the product length × width of the central leaflet and y the leaf area of the leaf. This equation was derived from regression analysis ($r^2 = 0.97$), on an independent

data set of 33 leaves. No leaf layer of upper canopy (UP) was observed in treatment T3 of the replication REP4.

3.3. Establishment of the inoculum sources

The isolate of *Phaeoisariopsis griseola* used for the inoculation of the sources was isolate '410.5' collected on cultivar LM932044323 at the EMBRAPA Centre. Inoculation procedure followed Sartorato (2004). The first trifoliolate leaf of each potted plants was inoculated fifteen days after sowing, with a spore suspension of 20×10^4 spores.ml⁻¹ concentration. Inoculated plants were incubated for 40 hours in a humid chamber (RH > 95%) at $25 \pm 2^\circ\text{C}$, with a 12h photoperiod. Plants were transferred to greenhouse benches after incubation.

Plants of the experimental micro-plots were transferred to outdoor conditions one month after sowing, on the ground, with 5-meter spacing, prior to establishing the different inoculum sources. Number of lesions, severity (Godoy et al., 1997), and leaf area of the infected source plants were assessed prior to their establishment in the experimental micro-plots. Total number of lesions per source plant ranged from 674 to 946 for treatments T1 and T2, and 1538 to 1645 for treatments T3 of the different replications. After 24h of incubation into the humid chamber to favour sporulation, the inoculum sources were established into the micro-plots for four consecutive days. Two pots containing two infected plants each were placed in treatments T1 and T3 (four infected leaves). Infected leaves were located in the leaf layer MH (20–40 cm). In treatments T2 and T3, leaves of four infected plants were cut and placed on the ground (i.e., four infected leaves per micro-plot). After the four days period, all inoculum sources were removed from all micro-plots, which were transferred into humid chamber for 32h to favour infection. The micro-plots were then transferred to greenhouse benches.

The number of lesions per leaflet was assessed on each leaf of each micro-plot plants 12 days later. The total number of lesions per plot was corrected by subtracting the number of lesions observed in the control plot (without source inoculum). Numbers of lesions corrected for the control were converted to lesion densities (number of lesions per leaf cm²). Data were analysed using a split plot linear mixed model using the procedure PROC MIXED of SAS (Garrett et al., 2004). Treatment (T1, T2, or T3) was considered as fixed effect, main unit, leaf layer (BT, MH, or UP) as fixed effect, sub-unit, and replication (REP1, REP2, REP3, or REP4) as random effect. Square-root transformation was used to stabilise variances (Gomez and Gomez, 1984).

Weather data (rainfall, wind speed, relative humidity and radiation) during the four days of plant source exposition were recorded at the meteorological station of the EMBRAPA Centre.

3.4. Calculation of the daily multiplication factors from experimental data

The daily multiplication factor (DMFR) of a lesion is defined as the number of daughter lesions per mother lesion per day (dimension: $[N_{\text{lesion}} \cdot N_{\text{lesion}}^{-1} \cdot \text{day}^{-1}]$; Zadoks, 1971; Zadoks and Schein, 1979). Both lesions located on attached leaves and on defoliated leaves may contribute to new infection of healthy sites. The daily multiplication factor may thus be considered in two terms, DMFRc and DMFRd, which refer to lesions attached to the canopy, and to defoliated leaves, respectively. These parameters can be calculated from the experimental data for the different leaf layers as

$$\text{DMFRc} = (\text{LN} / \text{LNC}) / \tau$$

$$\text{DMFRd} = (\text{LN} / \text{LNd}) / \tau$$

where LN is the lesion number observed on each leaf layer (BT, MH, or UP); LNC and LNd, are the lesion numbers present on the inoculum sources located on attached leaves (treatment T1) and located on defoliated leaves (treatment T2), respectively, and τ is the duration of exposition of healthy sites to the inoculum source(s), i.e., four days. Daily multiplication factors DMFRc and DMFRd were also calculated for the entire canopy by accumulating the numbers of lesions observed in each leaf layer, BT, MH, and UP, and dividing by the number of lesion in the inoculum source(s) and by duration τ .

3.5. Model structure

The system under study is a 1m^2 bean crop infected by angular leaf spot. The model we used elaborates on the mechanistic systems model by Zadoks (1971), with a one-day time step for integration. Two processes were added to this initial structure, host growth and defoliation (Figure 1).

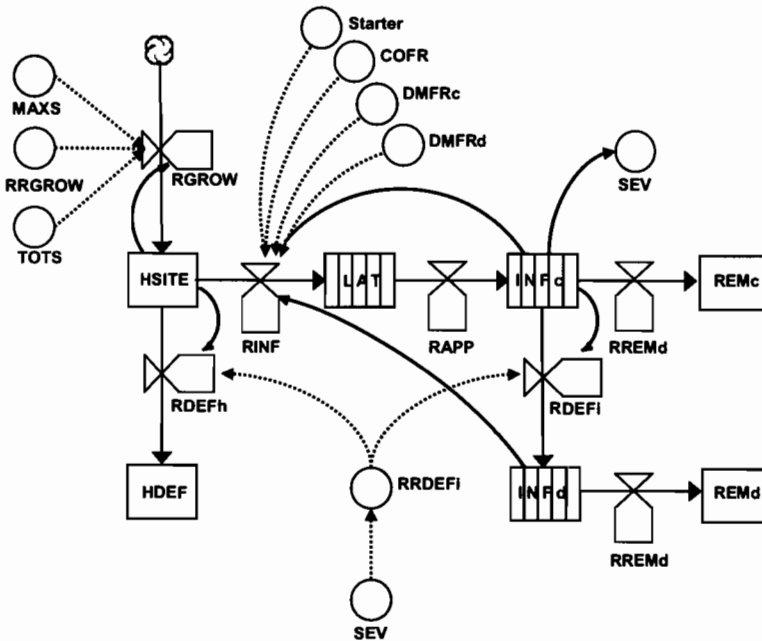


Figure 1. Model structure integrating the defoliation of the infectious sites located on diseased canopy leaves.

Symbols of state variables, rates and driving variables are listed in Table 1.

State variables are sites which represent a canopy surface unit, which may be vacant, latent, infectious, or removed from the epidemiological process. Propagules can be deposited on the canopy and infect vacant (healthy) sites. The model also includes state variables accounting for defoliated, infectious, and defoliated, removed, sites. Two kinds of state variables are distinguished, depending on whether these are attached to a given residence time (latency and infectious periods), or not. If a residence time is to be considered, these are modelled as box-car trains. This model structure was implemented for dynamic simulation using the STELLA® Research Version 6 for PC and the STELLA® II Version 4 for Macintosh (High Performance Systems, 1996). Table 1 lists the different state variables, rates and driving variables of the model.

Table 1. List of state variables, rates and driving variables

	Meaning of symbol	Dimension
<i>State variables</i>		
HSITE	Number of healthy sites	$[N_{\text{sites}}]$
HDEF	Number of healthy sites on defoliated leaves	$[N_{\text{sites}}]$
INFc	Number of infectious sites on canopy leaves	$[N_{\text{sites}}]$
INFd	Number of infectious sites on defoliated leaves	$[N_{\text{sites}}]$
LAT	Number of latent sites	$[N_{\text{sites}}]$
REMc	Number of removed infectious sites on canopy leaves	$[N_{\text{sites}}]$
REMd	Number of removed infectious sites on defoliated leaves	$[N_{\text{sites}}]$
<i>Rates</i>		
RAPP	Rate of appearance of infectious sites on canopy leaves	$[N_{\text{sites}} \cdot \text{day}^{-1}]$
RDEF	Rate of defoliation of healthy sites	$[N_{\text{sites}} \cdot \text{day}^{-1}]$
RDEFi	Rate of defoliation of infectious sites	$[N_{\text{sites}} \cdot \text{day}^{-1}]$
RGROW	Rate of growth of healthy sites	$[N_{\text{sites}} \cdot \text{day}^{-1}]$
RINF	Rate of infection of healthy sites	$[N_{\text{sites}} \cdot \text{day}^{-1}]$
RRDEFi	Relative rate of defoliation of infectious sites	$[N_{\text{sites}} \cdot N_{\text{site}}^{-1} \cdot \text{day}^{-1}]$
RREMc	Rate of removal of infectious sites on canopy leaves	$[N_{\text{sites}} \cdot \text{day}^{-1}]$
RREMd	Rate of removal of infectious sites on defoliated leaves	$[N_{\text{sites}} \cdot \text{day}^{-1}]$
RRGROW	Relative rate of growth of healthy sites	$[N_{\text{sites}} \cdot N_{\text{site}}^{-1} \cdot \text{day}^{-1}]$
<i>Driving variables</i>		
COFR	Correction factor	$[N_{\text{sites}} \cdot N_{\text{site}}^{-1}]$
DMFRc	Daily multiplication factor of infectious sites on canopy leaves	$[N_{\text{sites}} \cdot N_{\text{site}}^{-1} \cdot \text{day}^{-1}]$
DMFRd	Daily multiplication factor of infectious sites on defoliated leaves	$[N_{\text{sites}} \cdot N_{\text{site}}^{-1} \cdot \text{day}^{-1}]$
MAXS	Maximal number of sites	$[N_{\text{sites}}]$
SEV	Severity	$[-]$
Starter	Starter of the incoming of primary inoculum	$[-]$
TOTS	Total number of sites	$[N_{\text{sites}}]$

3.6. State variables and flows

There are seven categories of sites that change state over time (Table 1). Healthy sites (HSITE) on a bean canopy increase in number with a rate of growth (RGROW). When infected by a spore, they become latent (LAT), with a rate of infection (RINF). Latent sites (LAT) become infectious (INFc) with a rate of appearance (RAPP) that is determined by the latent period (p). The latent period is defined as the delay between host infection by a spore and the beginning of sporulation (Zadoks and Schein, 1979). Infectious sites located on canopy leaves (INFc) may undergo a defoliation process caused by the disease, with a rate of defoliation (RDEFi), and become infectious sites on defoliated leaves (INFd). Defoliation of infectious sites simultaneously leads to defoliation of healthy sites (HSITE) with a rate of defoliation (RDEFh), and become healthy defoliated sites (HDEF). The structure of the model

leads to consider two infectious periods, either on canopy leaves, i_c , or on defoliated leaves, i_d . The infectious period is defined as the delay between the beginning and the end of sporulation (Zadoks and Schein, 1979). After this time delay, the infectious sites on canopy leaves (INF_c) and on defoliated leaves (INF_d) are removed (REMc and REM_d) with a rate of removal (RREMc and RREMd). These rates are function to the infectious periods, i_c and i_d . Following Zadoks (1971), passage of sites through these periods (p , i_c and i_d) is simulated using boxcar trains.

3.7. Equation for canopy growth

The rate of healthy site growth (RGROW) for the different leaf layers and for the entire bean canopy can be described according to a logistic growth (Campbell and Madden, 1990):

$$RGROW = RRGROW \times HSITE \times (1 - (TOTS/MAXS))$$

where RRGROW is the relative rate of growth, HSITE is the number of healthy sites, TOTS is the total number of sites of the system, and MAXS is the maximum, accumulated number of sites which can be produced, i.e. a carrying capacity. Table 2 lists the values for RRGROW and MAXS.

Table 2. Parameters values used for simulations performed for different leaf layers and an entire bean canopy

Leaf layer ^a	HSITE ^b	PINOC ^c	HGROWI ^d	RRGROW ^e	MAXS ^f
BT	1000	200	1	0.35	2x10 ⁵
MH	1000	71	15	0.35	2.5x10 ⁵
UP	1000	4	25	0.35	0.5x10 ⁵
Overall	1000	300	1	0.25	5x10 ⁵

^a BT, bottom, MH, mid-height, and UP, upper leaf layers; OV, overall (refers to estimates on the entire canopy: leaf layers BT, MH, and UP)

^b Initial number of healthy sites [N_{sites}]

^c Initial primary inoculum [N_{sites}]

^d Host growth initiation in days after sowing [days]

^e Relative rate of growth of healthy sites during host growth [$N_{sites} \cdot N_{site}^{-1} \cdot day^{-1}$]

^f Maximal number of sites [N_{sites}]

The maximum leaf area index (LAI) of the entire canopy was estimated at 5 approximately 55 days after sowing (for cultivar Rosinha, Bergamin Filho et al., 1997). The size of the sites was set to 10⁻⁵ m², which represents the average size of an ALS lesion (Bergamin Filho et al., 1997; Allorent, unpublished data). MAXS for the entire canopy was thus set to a value of 5 ×

10^5 sites (Table 2). The maximum LAI is estimated at 2, 2.5 and 0.5 for the leaf layer BT, MH, and UP respectively, corresponding to MAXS values of 2×10^5 , 2.5×10^5 , and 0.5×10^5 (Table 2). Growth of the different leaf layers was shifted over time (Lieth and Reynolds, 1988). The dates of initiation of growth for the different leaf layers and entire bean canopy are listed in Table 2. These initiation dates and maximum LAI values correspond to simulating a progressive growth halting at approximately at 30, 45, and 55 days after sowing , respectively, for leaf layers BT, MH, and UP.

3.8. Equation for canopy infection

The rate of infection of healthy sites (RINF) can be written as

$$RINF = COFR \times ((DMFRc \times INFc) + (DMFRd \times INFd)) + \text{starter}$$

where COFR is the correction factor (Zadoks, 1971) corresponding to the term (1-x) in Van der Plank's equations (1963) for disease increase; and DMFRc and DMFRd are the daily multiplication factors for infectious sites on canopy (INFc) or defoliated leaves (INFd). The 'starter' term initiates epidemics by incorporating an initial primary inoculum. Epidemics of angular leaf spot of bean are usually observed relatively late in the crop cycle (Saettler, 1991; Allen et al., 1998; Alloreant and Savary, 200-). 'Starter' was thus assumed to initiate epidemics at $t = 30$ days after sowing (das). The different values of primary inoculum (PINOC) according to the leaf layers BT, MH, and UP, and entire canopy are listed in Table 2. They are calculated as a proportion of 1 initial site for 1000 healthy sites at time 30 das. This proportion corresponds to 1 initial site per leaf (with a maximal leaf area of 100cm^2 for cultivar Carioca; Carneiro et al., 2000). At time 31 das, 1/1000 healthy sites become latent. The correction factor is calculated as the proportion of healthy sites on the total number of sites located on the canopy, and can be written as

$$COFR = \text{HSITE} / (\text{HSITE} + \text{LAT} + \text{INFc} + \text{REMc})$$

3.9. Equation for defoliation

The defoliation of infectious sites leads to the removal of healthy sites, as both infectious and healthy sites may belong to the same diseased leaves (Savary and Servat, 1991).

The rate of defoliation of infectious sites on canopy leaves (RDEFi) is a function of a relative rate of defoliation (RRDEFi), which itself depends on disease severity (SEV). A

negative exponential model was fitted to data ($r^2 = 0.96$) using data from Willocquet et al. (2004) to relate these two later parameters as

$$RRDEFi = 0.2205 \times [1 - \exp(-18.56 \times SEV)]$$

where severity is the ratio of infectious to the total number of sites located on canopy:

$$SEV = INFc / (HSITE + LAT + INFc + REMc)$$

The rate of defoliation of infectious sites (RDEFi) is the product of the relative rate of defoliation (RRDEFi) by the number infectious sites (INFc). Conversely, the rate of defoliation of healthy sites (RDEFh) is the product of the relative rate of defoliation (RRDEFi) by the number of healthy sites (HSITE).

3.10. Underlying hypotheses

This model therefore entails nine important hypotheses:

1. Infectious defoliated sites contribute to new infections.
2. DMFRc and DMFRd are held constant during simulation runs.
3. No defoliation is incurred by physiological leaf senescence.
4. Defoliation is triggered only by disease severity, which determines a relative rate of defoliation of both healthy and infectious sites.
5. Defoliation acts on infectious and healthy sites in the canopy, but not on latent sites.
6. Healthy sites cannot be infected when defoliated.
7. There are two infectious periods, i_c and i_d , corresponding to infectious sites in the canopy and infectious sites on defoliated tissues, respectively.
8. No lesion expansion is considered.
9. No disease aggregation is considered.

3.11. Model verification and sensitivity analysis

Model verification aims at checking that hypotheses and underlying assumptions of the model are properly handled by the simulation program (Teng, 1981). As the structure of the model derives from an already tested, earlier systems model (Zadoks, 1971), and which had been used in several other simulation models (e.g. Zadoks and Kampmeijer 1977; Savary et al., 1990), model verification concentrated on the specific new features of the model. These features are: 1) the existence of two infection sources (lesions within an infected canopy, and infectious tissues on defoliated leaves on the ground), and 2) the existence of leaf tissues that

are still infectious after their shedding on the ground, for a given infectious period, which may numerically interact with the infectious period of attached (non defoliated) lesions. Verification of the model therefore concentrated on these two groups of characteristics, by varying DMFRc and DMFRd simultaneously and independently (proper accounting of the two sources of inoculum), and by varying the infectious periods of attached and shed tissues. Three values of DMFRc and DMFRd (0.05, 0.25, 0.5), along with two values of ic and id (10 and 20 days) were used in combinations. Variations of number of sites and severity were studied as responses to these different combinations. Model verification runs were conducted with an epidemic onset (input of a proportion of 1 latent site per 1000 healthy sites) at 30 days after sowing, with values of the parameters estimated for the entire canopy (Table 2), and with a fixed latency period of 15 days. A series of 81 simulations were conducted with variations of DMFRc, DMFRd, ic, and id, permuting three values for each four variables, to assess the sensitivity of the model's output expressed as area under ALS severity progress curve.

3.12. Simulated ALS epidemics using experimentally measured DMFRc and DMFRd values

The effects of values for DMFRc and DMFRd that were calculated from experimental data on ALS epidemics were studied using the simulation model. Variations of area under severity progress curve (AUSPC) were studied as responses to the different combinations of daily multiplication factors DMFRc and DMFRd. DMFR values for leaf layers BT, MH, UP, and for the entire canopy, of each of the four replications were used to perform 16 simulations. Simulated epidemics were performed using values of the parameters listed in Table 2. Infectious periods (ic and id) of 20 days and a latent period duration of 15 days were used for all simulations.

4. Results

4.1. Outdoor measurements of disease conduciveness

There were important changes in weather pattern (Table 3) while the four replications of the experiment were conducted.

Table 3. Weather data during the four days of source exposition for each replication of the experiment

Replication	Month	Tmax ^a	Tmin ^a	RHmax ^b	RHmin ^b	WSmax ^c	Ptot ^d	RADtot ^e
REP1	April	28.4	18.9	98.2	58.2	6.3	5.6	14.4
REP2	May	28.9	17.8	93.2	46.4	6.7	2.3	16.4
REP3	June	26.4	12.6	86.2	38.6	4.2	0.0	17.7
REP4	June	27.5	15.3	78.8	33.4	7.2	0.0	18.3

Entries are means over the four days of source exposition.

^a Tmax and Tmin, maximal and minimal temperature (°C), respectively

^b RHmax and RHmin, maximal and minimal relative humidity (%), respectively

^c WSmax: maximal wind speed (m.s⁻¹)

^d Ptot: total precipitation (mm)

^e RADtot: total solar radiation (MJ.m⁻².day⁻¹)

These included an overall decrease in temperatures (daily maximum and minimum averages), a strong reduction in relative humidity (daily maximum and minimum averages), and an increase in global radiation. There were also differences in rainfall, the two first replications having been exposed to some rainfall (5.6 and 2.3 mm), while the two last replications were not exposed to any rainfall during the four-day exposure period. Conducting the experiment during four time periods therefore led to very contrasting environments where disease conduciveness could be probed.

Numbers of lesions observed on plants of the control micro-plots (without inoculum source) were 5, 88, 0 and 0 lesions for replication 1, replication 2, replication 3 and replication 4, respectively. External inoculum was negligible compared to numbers of lesions observed on plants of the T1, T2, and T3 micro-plots (from 0 to 5%).

Lesion densities measured at different leaf layers are reported in Figure 2.

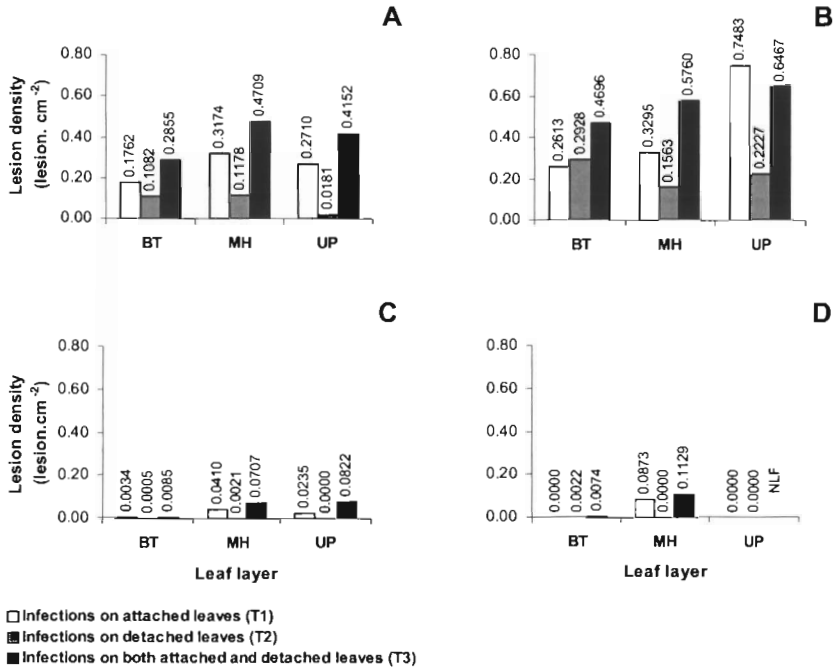


Figure 2. Lesion densities on the different leaf layers of the micro-plots according to the inoculum localisation.

A, B, C and D correspond to replications REP1, REP2, REP3 and REP4, respectively. BT, MH, UP correspond to bottom, mid-height, and upper leaf layers, respectively. Each bar corresponds to one observation twelve days after source exposition in one replication. NLF, no leaf layer UP for treatment T3 in replication REP4 (D).

Replication 1 (T1, lesions in the canopy, Figure 2A) indicates large lesion densities at all three leaf layers when the inoculum source was located within the canopy. Lesion densities appear smaller when the source of inoculum was located on the ground (T2, infected defoliated leaves, Figure 2A), and seemed to decline with increasing height in the canopy. When both sources of inoculum were combined (T3, lesions in the canopy and infected defoliated leaves, Figure 2A), higher lesion densities were observed, compared to individual (canopy or ground) sources. The pattern in lesion densities was similar in the second replication (Figure 2B), with seemingly higher values. In the third and fourth replications (Figure 2C and 2D), however, the observed lesion densities were approximately ten times lower than in the first two

replications. Analysis of variance using a mixed model indicates a significant ($P < 0.01$) inoculum positioning treatment effect and a significant ($P = 0.03$) leaf layer effect. A significant ($P = 0.04$) leaf layer by inoculum treatment interaction is also found, indicating that leaf layers do not respond to inoculum positioning in the same way. The significant inoculum treatment effect can be explained in two ways: first, the amount of mother lesions in T3 (canopy and ground) was generally higher than that in treatments T1 (canopy) or T2 (ground); and second, mother lesions in T1 appear to be more efficient in generating daughter lesions than T2. The significant leaf layer effect derives from a higher density of daughter lesions generally appearing in the upper (Figure 2, UP) and middle (Figure 2, MH) layer of the canopy, compared to the bottom layer (BT). There were differences among treatment regarding this overall pattern, however: while there were higher lesion densities in the middle height (MH) and upper (UP) layers in treatments 1 and 3, there was a regular decrease in densities from the bottom (BT), to the middle (MH) and to the upper (UP) layers in treatment 2 (inoculum on the ground) for replications 1 and 2 (Figure 2A and 2B). These differences in responses of leaf layers to inoculum positioning are reflected in the leaf layer by inoculum treatment interaction. It is important to note that few infections in treatment 2 were found in replications 3 and 4 (Fig 2C and 2D).

4.2. Experimental estimates of daily multiplication factor values

The outdoor experiments on disease conduciveness led to very different daily multiplication values (Table 4). Estimates of the daily multiplication factor at the canopy level (DMFRc, Table 1) were twice to sixty times higher than estimates of the daily multiplication factor from ground inoculum (DMFRd). DMFRc was higher in the middle (MH) layer than in the upper (UP) or lower (BT) layers. There also was an overall decrease in values of DMFRc over the successive experiments, as indicated by the overall estimates (entire canopy) shifting from 0.829, to 0.989, to 0.045, and to 0.055. Overall, therefore, the environment was decreasingly conducive to disease establishment over the four experiments with respect to inoculum available in the canopy. Experimental estimates of DMFRd differed strongly from those of DMFRc. In the first two replications, DMFRd values were highest in BT and MD layers, and lowest in UP layer (with an at least ten times reduction). DMFRd estimates in replications 3 and 4 were reduced by a factor of about 10^2 , leading to very low values, and rendering comparisons across layers difficult.

Table 4. Daily multiplication factors (DMFRc and DMFRd) of the infectious sites calculated from experimental data (T1 and T2, respectively), and used for simulations performed for different leaf layers and an entire bean canopy

Replication	Leaf layer ^a	Experimental parameter values		Simulated epidemics ^d
		DMFRc ^b	DMFRd ^c	
REP1	UP	0.076	0.003	UP Replication 1
	MH	0.497	0.110	MH Replication 1
	BT	0.256	0.167	BT Replication 1
	Overall ^a	0.829	0.280	OV Replication 1
REP2	UP	0.176	0.028	UP Replication 2
	MH	0.542	0.346	MH Replication 2
	BT	0.271	0.116	BT Replication 2
	Overall ^a	0.989	0.490	OV Replication 2
REP3	UP	0.001	0.000	UP Replication 3
	MH	0.042	0.001	MH Replication 3
	BT	0.002	0.001	BT Replication 3
	Overall ^a	0.045	0.002	OV Replication 3
REP4	UP	0.000	0.000	UP Replication 4
	MH	0.055	0.000	MH Replication 4
	BT	0.000	0.001	BT Replication 4
	Overall ^a	0.055	0.001	OV Replication 4

^a BT, bottom, MH, mid-height, and UP, upper leaf layers; OV, overall (refers to estimates on the entire canopy: leaf layers BT, MH, and UP)

^b DMFRc, daily multiplication factor of infectious sites of canopy leaves

^c DMFRd, daily multiplication factor of infectious sites of defoliated leaves

^d See simulated outputs, Figure 6

The results nevertheless indicate a very strong reduction of conduciveness with respect to ground-located inoculum (DMFRd) in the environmental conditions that prevailed in the third and fourth replications. Table 4 therefore generates a wide array of experimentally measured values of the both parameters, DMFRc and DMFRd, and with contrasting variation of the two parameters (i.e., both being high, DMFRc high and DMFRd low, DMFRc low and DMFRd null, and both parameters low), which are reflections of variation of the environment where spore dispersal prevailed. These represent a useful set of environment-related parameter estimates to simulate epidemics.

4.3. Model verification

Figures 3 and 4 summarise the behaviour of the model in terms of responses to varying values of DMFRc, DMFRd, i_c and i_d . The response of the model is shown for a few sets of parameters combinations only, but for a number of simulated outputs: numbers of sites

(infectious in the canopy, infectious and defoliated, removed in the canopy, removed and defoliated, and latent in the canopy, Figure 3), and number of healthy sites, number of defoliated sites, angular leaf spot severity (Figure 4).

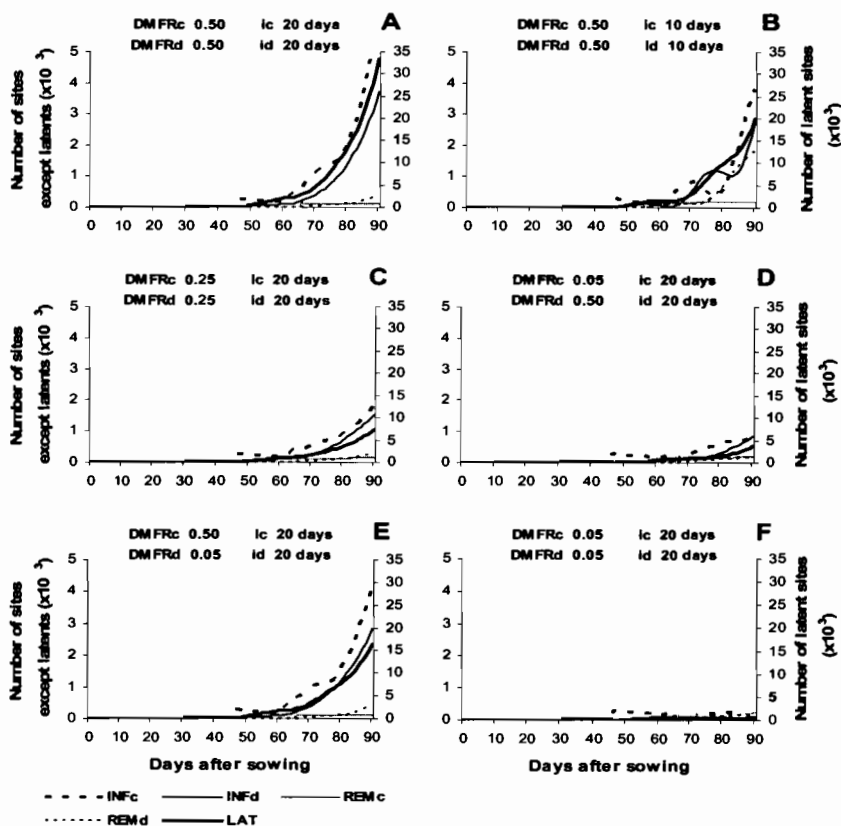


Figure 3. Simulations of variation in the numbers of sites in a diseased bean crop (in the canopy or on defoliated leaves): latent, infectious and removed sites, at different parameter values.

DMFRc, daily multiplication factors of infectious sites on canopy leaves (Table 1), and DMFRd, daily multiplication factors of infectious sites on defoliated leaves; ic, infectious periods of infectious sites on canopy leaves, and id, infectious periods of infectious sites on defoliated leaves; LAT, latent sites, INFc, infectious sites on canopy leaves, INFd, infectious sites on defoliated leaves, REMc, removed sites on canopy leaves, REMd, removed sites on defoliated leaves. Numbers of initial healthy sites were 1000; a proportion of 1 latent site per 1000 healthy sites was introduced in the system at 30 days after sowing.

A joint reduction in values of DMFRc and DMFRd from 0.50 to 0.25, and 0.05 does result in a strong reduction of disease, as shown in Figure 3A, 3C, and 3F. A reduction (20 vs. 10 days) of the infectious periods i_c and i_d (Figure 3A and 3B) results in a reduction of running numbers of infectious sites (INFc and INFd), and in an increase in numbers of removed lesions (REMc and REMd) as sites remain infectious for a shorter period of time. A decrease in the running numbers of latents (LAT) is also simulated, as a result of each infectious lesion having a smaller progeny during its shortened infectious period. Reduction of DMFRc from 0.5 to 0.05 results in a reduction of latent and infectious (INFd and INFc) which is extremely strong (compare Figure 3A and 3D), whereas the same reduction in DMFRd has a much slighter impact on the numbers of infected (LAT, INFc, INFd) sites (compare Figure 3A and 3E). In all simulations, a larger running number of latent sites is simulated, compared to the numbers of infected (LAT, INFc, INFd) and post-infectious (REMc and REMd); on average, there are seven times more latents than any other categories. This is reflecting the relatively long latency period duration used in all runs (15 days).

Figure 4 shows the progressive decline in healthy sites as severity increases; it also indicates the increase in defoliated tissues with severity. A reduction in both DMFRc and DMFRd values (Figure 4A, 4C, 4F) lead to very strong reduction in disease severity, and a strong reduction in defoliation; the latter reduction is not as strong as the former, which is a reflection of the calculation of the rate of defoliation used in the model. As i_c and i_d are reduced from 20 to 10 days (Figure 4A and 4B), a reduction in severity is observed, leading to increased running numbers of healthy sites (HSITE), and decreased defoliation. This also leads to fluctuating severity values, reflecting the counter-acting effects of plant growth (site production, which depends on HSITE) and defoliation. Reduction of DMFRc from 0.5 to 0.05 results in a very strong increase in healthy sites, and very strongly reduced defoliation and severity (compare Figure 4A and 4D), whereas the same reduction in DMFRd also results in increased HSITE, decreased HDEF, and decreased SEV, but to a much lesser extent (compare Figure 4A and 4E).

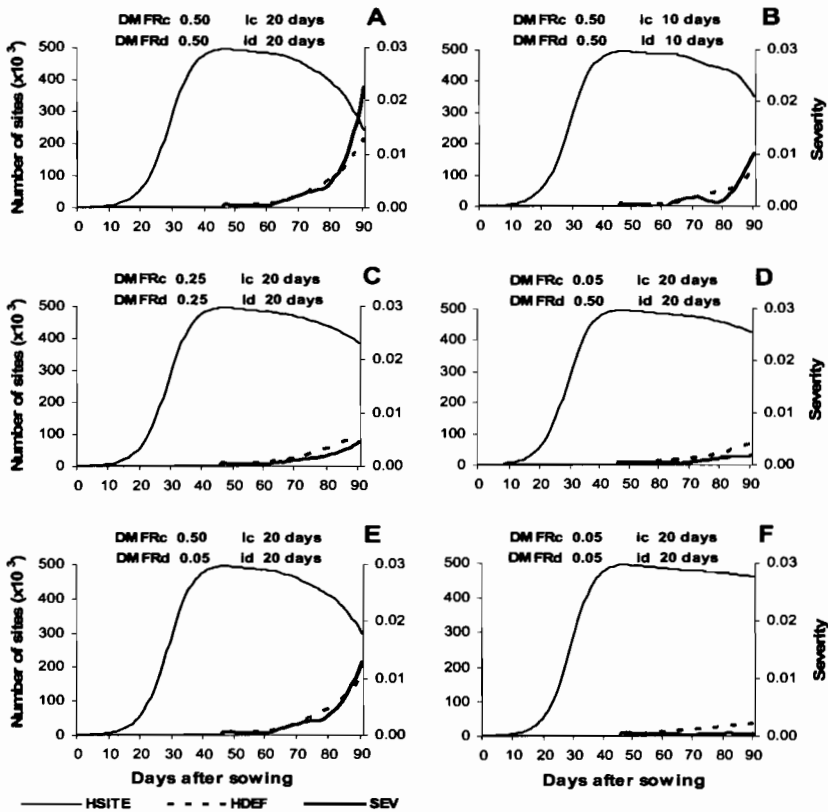


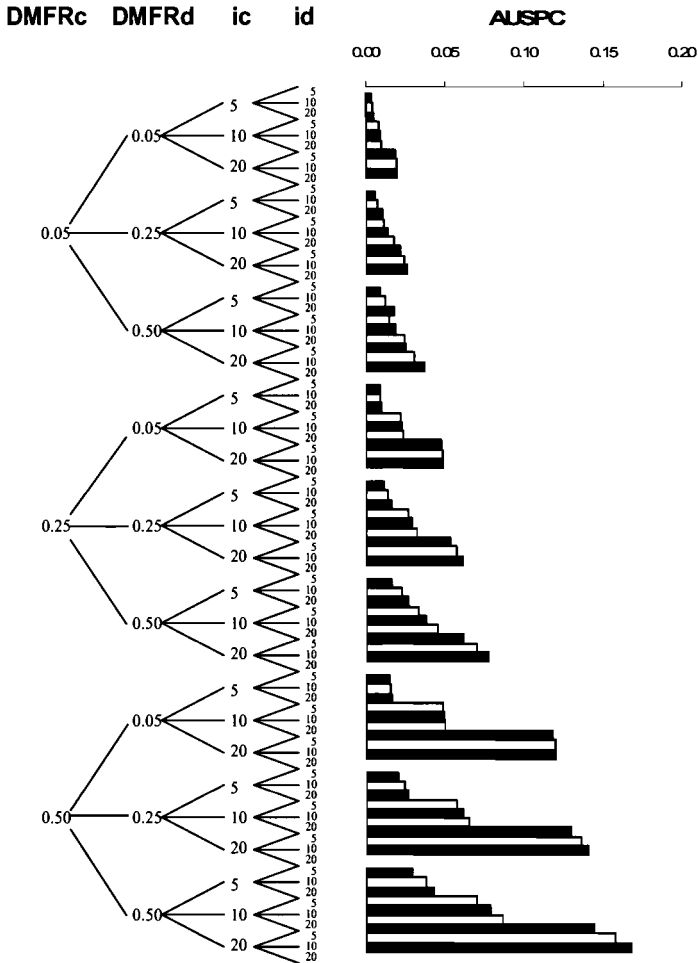
Figure 4. Simulations of variation in the numbers of healthy sites in a diseased bean crop (in the canopy or on defoliated leaves), and of severity, at different parameter values.

DMFRc, daily multiplication factors of infectious sites on canopy leaves (Table 1), and *DMFRd*, daily multiplication factors of infectious sites on defoliated leaves; *ic*, infectious periods of infectious sites on canopy leaves, and *id*, infectious periods of infectious sites on defoliated leaves; *HSITE*, healthy sites on canopy leaves, *HDEF*, healthy sites on defoliated leaves, *SEV*, severity on canopy leaves. Numbers of initial healthy sites were 1000; a proportion of 1 latent site per 1000 healthy sites was introduced in the system at 30 days after sowing.

In simulation run A, it is worth noting that with $DMFRc = DMFRd = 0.50$; $ic = id = 20$ days (and a latency period of 15 days), that is a set of parameters that represent very favourable conditions for the epidemic throughout the season (except perhaps for the latency period), a maximum (terminal) severity of only 2% is simulated.

4.4. Sensitivity analysis

Simulated areas under ALS severity progress curves (AUSPC) corresponding to 81 combinations of three values of four parameters (ic, id, DMFRc, DMFRd) are displayed in Figure 5.



.Figure 5. Simulated area under severity progress curves (AUSPC) according to the combination of the daily multiplication factors and the infectious periods.

DMFRc and DMFRd, daily multiplication factors of infectious sites of canopy leaves and defoliated leaves respectively, ic and id, infectious periods of infectious sites of canopy leaves and defoliated leaves respectively.

An overall increase of AUSPC with increasing ic and id is indicated. Increase in AUSPC with id is larger at high ic ; and the effect of high ic is larger than that of id . The increase in AUSPC is even stronger with high DMFRd and DMFRc. The latter parameter has by far the strongest effect of all four parameters. While the effect of increasing ic is small at low DMFRc, it is much stronger at high DMFRc, indicating a substantial interaction between the two parameters.

4.5. Simulated ALS epidemics using experimentally measured DMFRc and DMFRd values

Simulated areas under ALS severity progress curves using experimental DMFRc and DMFRd values are shown in Figure 6, where each replication is represented by simulated outputs at the bottom (BT), mid-height (MH), and upper part (UP) of the canopy, and for the overall canopy (OV).

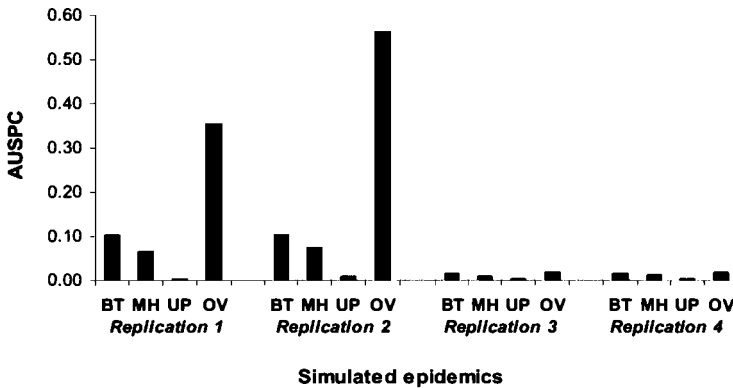


Figure 6. Area under severity progress curves (AUSPC) according to the simulated epidemics.

BT, bottom, MH, mid-height, and UP, upper leaf layers; OV, overall, refers to estimates on the entire canopy (leaf layers BT, MH, and UP); see Table 4 for experimental values of daily multiplication factors, DMFRc and DMFRd.

AUSPC values are larger in the lower part of the canopy and decrease with height. Simulated AUSPC for the entire canopy (OV) are largest, and are larger than the accumulation of layer-based AUSPC values. AUSPC values are also the largest where DMFRc and DMFRd measurements were the largest, i.e., in the two first replications. Even when measured values

for DMFRc and DMFRd were null (UP layer in replication 4), AUSPC is non-null, as simulations were initiated with an inflow of latent lesions at $t=30$ days after sowing.

5. Discussion

This work provides quantitative experimental estimates of daily multiplication factors involving two sources of inoculum in a pathosystem, and numerical outcomes of these DMFR values in simulated epidemics. Very little, if any, experimentally measures of DMFR exist in the literature, in spite of their conceptual importance since the ‘classical’ theory for botanical epidemiology developed by Van der Plank (1963) and the companion simulation approach developed by Zadoks (1971). One important question this work raises is whether the empirical measures we derived result in viable epidemics, and how these values compare with those that have been used in the literature for the past 40 years.

In this work, our approach was to conduct a simple monocyclic experiment with replications under varying environmental conditions with the aim of measuring a range of DMFRc and DMFRd values; and to assess the polycyclic consequences of these measurements in simulated epidemics using a mechanistic model. One important point is that our experimental approach addresses only one of the two components of DMFR, since: $DMFR = Rc = N \times E$ (Van der Plank, 1963; Zadoks, 1971; Zadoks and Schein, 1979), where N is the amount of (effective) propagules produced per mother lesion per unit time (dimension: $[N_{spore} \cdot N_{lesion}^{-1} \cdot T^{-1}]$), and E is infection efficiency ($[N_{lesion} \cdot N_{spore}^{-1}]$). Our experiments did not address variation in E , as incubation was standardised under semi-controlled conditions, and therefore was identical for all leaf layers and treatments. The experiment reported here focused on the other component, N , which not only represents the amount of propagules produced per lesion per time unit, but also the efficiency by which propagules are transferred from mother lesions to new sites where they possibly can infect if the site is vacant (i.e., has not been infected already), with efficiency E . Infection efficiency, especially for aerial pathogens, is a well-defined concept, that has operational definitions that have been implemented with relative ease for a long time. In the case of angular leaf spot of bean, E ranges from 0 to 0.5 (Willoquet et al., 2004). E can only vary between 0 and 1, whereas N has an open upper range of variation. We thus focused on N , a very important

factor in the particular case of ALS, but also a central monocyclic parameter to analyse and understand DMFR effects on disease epidemics.

Sun and Zeng (1994) derived a method to estimate DMFR values. Their method strongly differs from the approach described in the present work in two main ways. First, the approach used by Sun and Zeng is grounded on Van der Plank's equations (1963; 1965), and therefore addresses an entire epidemic; here we quantified the outcome of one wave of dispersing propagules from a quantified inoculum source for a substantial, but limited, period of time (four days). Second, the work by Sun and Zeng is based on the assumption of a single source of inoculum ensuring disease progress, whereas the present work considers two different sources in a diseased canopy. Interestingly, Sun and Zeng's estimates of DMFR range from 1 to 80, an extremely high value, which suggests that an analytical approach to address this question, and which encompasses an entire epidemic, might generate parameters that reflect numerical trends only. The maximum DMFR values experimentally measured in this work are approximately 1 (DMFRc) and $0.5 \text{ lesion} \cdot \text{lesion}^{-1} \cdot \text{day}^{-1}$ (DMFRd). These values are smaller than those that have commonly been used in mechanistic simulation models, e.g., 8 and 16 (Zadoks, 1971; in a generic mechanistic epidemiological model), 10 (Mundt et al., 1986; Mundt and Brophy, 1988, in a mechanistic model for wheat stem rust and oat crown rust), 2-35 (Lannou et al., 1994, in a mechanistic model for wheat yellow rust). DMFR values have also been indirectly estimated from simulated output themselves by Savary et al. (1990): 0-6 under dry and 1-72 under rainy conditions for groundnut rust. The values generated from the experiments reported in the present work therefore appear small compared to those commonly used. While Figure 4 suggests that such values translate into terminal (maximum) severities that do not exceed 2% (and a maximum severity of about 11% using experimentally measured parameters; simulation outputs not shown) these DMFR values may however correspond to very large defoliation fractions (of up to 30%, Figure 4) which are well in the range of observed epidemics.

Our results indicate that comparisons between DMFRc and DMFRd amount to consider that canopy-borne inoculum contribute more new lesions than inoculum generated on defoliated infectious tissues. Several reasons may explain the difference, including (i) a lesser mobilisation of inoculum on the ground (at least under dry conditions), (ii) a lesser accessibility of healthy sites to propagules emitted from lesions on the ground compared to propagules produced by lesions in the canopy, (iii) a buffering effect of the lower layers of the

canopy to propagules that are emitted by the ground source. Large differences in DMFR values were found between replications 1 and 2, and replications 3 and 4. This may be attributed to the occurrence of rainfall events during the first two replications, which (i) contributed to canopy-borne inoculum (Savary et al., 2004) and (ii) enabled dispersal of spores from lesions on the ground. In the latter case, rainfalls may disperse spores up to 40 cm vertically within the canopy. Dry conditions (replications 3 and 4) do not appear to favour dry spore dispersal within the canopy (low DMFRc values), and prevent spore dispersal from lesions on the ground (DMFRd values equal or close to 0). Our results show that inoculum generated on defoliated infectious tissues, as well as canopy-borne inoculum, contribute to new infections in the canopy especially during rainfall events.

The progeny per parent ratio (Van der Plank, 1963, Zadoks and Schein, 1979) can be calculated in the case of this model with a dual source of inoculum as:

$$(DMFRc \cdot ic) + (DMFRd \cdot id)$$

Assuming infectious periods (ic and id) of 20 days, the threshold beyond which an epidemic may take place, i.e., when the progeny per parent ratio exceeds unity, is not passed in replication 3 (in any layer or for the overall canopy), nor for layers BT and UP of replication 4. This is in agreement with simulation results at the polycyclic scale (Fig. 6), where areas under severity progress curves remain low for simulations using parameters derived from experiments 3 and 4. The threshold theory has been largely explored in human and animal epidemiology (e.g., Anderson and May, 1979), and synthesised as $R_0 > 1$ where R_0 is the average number of new infections produced when an infectious individual is introduced into a susceptible population. R_0 is the equivalent of $R_{c,i}$ introduced by Van der Plank (1963) and used later-on by Zadoks and Schein (1979) and Jeger (1986) to address threshold criteria in plant disease epidemics. Expression for threshold criteria have recently been proposed in the case of botanical epidemics with dual sources of infection (primary and secondary; Gubbins et al., 2000; Gilligan, 2002). One conclusion of this latter work is that epidemics can develop even if the pathogen cannot invade from primary or secondary infection alone. A similar conclusion may be derived in the case of ALS, where epidemics can occur even if thresholds are not reached for both the two sources of inoculum (lesions on attached and defoliated leaves).

The mechanistic simulation model developed here enables projecting the effects of DMFR values throughout a polycyclic process, and comparing the effects of two inoculum

sources, lesions in the canopy, and lesions on defoliated leaves. Among the many hypotheses underlying our simulation model, one is the absence of mortality (defoliation) of latent sites. It is logical to consider that a single leaflet can bear a number of healthy, latent, infectious, and removed sites; all four categories should therefore be exposed to defoliation when it occurs. The model developed here only considers two, coupled, defoliation processes: on the infectious and on the healthy sites. The first lesions to develop on an infected leaflet are latent sites. Omitting a defoliation process on the latents amounts to consider they cannot cause defoliation affecting themselves or neighbouring healthy sites, or conversely, that it takes a latency period for these lesions to cause leaf tissues to be shed. The model therefore implicitly assumes that presence of infectious lesions is required to cause defoliation, which simultaneously affects neighbouring healthy tissues. This hypothesis also reflects the fact that severity, i.e. the proportion of visibly infected tissues, is the basis for computing defoliation. Another interpretation of the structure we chose for this model is that we intentionally prevent latents to die (be shed): implicitly, one may assume that a majority of latent lesions are established on tissues that were previously healthy (leaflets), i.e., that latents act as colonisers. This other interpretation amounts to consider two main categories of tissues in a diseased canopy: a healthy group of tissues, where only latents may establish, and where no defoliation occurs, and a diseased group of tissues where infectious sites are responsible for a defoliation that also affects healthy sites. This kind of stratification corresponds to a reality in this type of diseases (Plaut and Berger, 1980; Savary et al. 1990), where a vertical disease gradient is commonly observed.

Several elements suggest that, in spite of its simplicity, the model used here do extrapolate monocyclic data to polycyclic outcomes has value. First, several runs indicate that the model behaves adequately with respect to severity increase, variation in healthy sites, and evolution of infected sites (latent, infectious-attached, infectious-detached, removed-attached, and removed-detached sites). Second, the simulated terminal severities that were obtained using experimentally-derived parameters (with a maximum of about 11%) are within the range of reported figures in the literature, 5 to 29% (Mora, 1985; Buruchara et al. 1988; Bergamin-Filho et al., 1997; Carneiro et al., 1997; Silva et al 1998; de Jesus Junior et al., 2001 and 2003). Such comparatively low severities are resulting from the opposite effects of host growth and (disease induced) defoliation, as in the case of clover leaf spot (Nelson and Campbell, 1993), several leaf spot disease of alfalfa (Thal and Campbell, 1988) or white

clover (Nelson and Campbell, 1991; 1993), which our simulated outputs do not show; severity progress in Figure 4B, however, exhibits fluctuations, as a result of interacting parameters: crop growth, defoliation, (high) DMFRc and DMFRd values and (low) ic and id values. Such fluctuations are likely to occur in a system where the disease influences the amount of healthy sites in another way than infection itself. We therefore believe this model structure to be useful to address other features of the bean- *P. griseola* pathosystem, as a representative of many pathosystems of its kind.

7. References

- Allen DJ, Buruchara RA and Smithson JB (1998) Diseases of common bean. In: Allen DJ and Lenné JM (ed.) The pathology of food and pasture legumes (pp.179-265) Wallingford, CABI, UK
- Allorent D and Savary S (200-) A systems analysis of the epidemiological characteristics of angular leaf spot of bean, submitted to European Journal of Plant Pathology
- Anderson RM and May RM (1979) Population biology of infectious diseases – part 1. Nature 280: 361-367
- Bergamin Filho AB, Carneiro SMTPG, Godoy CV, Amorim L, Berger RD and Hau B (1997) Angular leaf spot of *Phaseolus* beans: relationships between disease, healthy leaf area, and yield. Phytopathology 87: 506-515
- Buruchara RA, Gathuru EM and Mukunya DM (1988) Disease progress of angular leaf spot caused by *Isariopsis griseola* Sacc. and its implications on resistance of some bean (*Phaseolus vulgaris* L.) cultivars. Acta Horticulturae 218: 321-328
- Campbell CL and Madden LV (1990) Introduction to Plant Disease Epidemiology. John Wiley and Sons, New York
- Carneiro SMTPG, Amorim L and Bergamin Filho A (1997) Angular leaf spot damage assessment on beans: relationship between disease severity, leaf area, and yield components. Fitopatologia Brasileira 22: 427-431
- Carneiro SMTPG, Amorim L, Bergamin Filho A, Hau B and Bianchini A (2000) Leaf area dynamic, defoliation, and healthy leaf area variables on common beans with single and multiple infections of *Phaeoisariopsis griseola* and *Colletotrichum lindemuthianum*. Summa Phytopathologica 26: 406-412

- Duthie JA and Campbell CL (1991) Effects of plant debris on intensity of leaf spot diseases, incidence of pathogens, and growth of alfalfa. *Phytopathology* 81: 511-517
- Garrett KA, Madden LV, Hughes G and Pfender WF (2004) New applications of statistical tools in plant pathology. *Phytopathology* 94: 999-1003
- Gilligan CA (2002) An epidemiological framework for disease management. *Advances in Botanical Research* 38: 1-64
- Godoy CV, Carneiro SMTPG, Iamauti MT, Pria MD, Amorim L, Berger RD and Filho AB (1997) Diagrammatic scales for bean diseases: development and validation. *Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz* 104: 336-345
- Gomez KA and Gomez AA (1984) *Statistical procedures for Agricultural Research*. 2nd Ed. John Wiley and Sons, New York, USA
- Gubbins S, Gilligan CA and Kleczkowski A (2000) Population dynamics of plant-parasite interactions: thresholds for invasion. *Theoretical Population Biology* 57: 219-233
- High Performance Systems (1996) Stella II version 4.0 Technical Documentation. Loose-leafed. Hanover, NH, USA
- Jeger MJ (1986) Asymptotic behaviour and threshold criteria in model plant disease epidemics. *Plant Pathology* 35: 355-361
- de Jesus Junior WC, Vale FXR, Coelho RR, Hau B, Zambolim L, Costa LC and Bergamin Filho A (2001) Effects of angular leaf spot and rust on yield loss of *Phaseolus vulgaris*. *Phytopathology* 91: 1045-1053
- de Jesus Junior WC, Vale FXR, Coelho RR, Paul PA, Hau B, Bergamin Filho A, Zambolim L and Berger RD (2003) Relationships between angular leaf spot, healthy leaf area, effective leaf area and yield of *Phaseolus vulgaris*. *European Journal of Plant Pathology* 109: 625-632
- Johnson KB (1987) Defoliation, disease, and growth: a reply. *Phytopathology* 77: 1495-1497
- Kushalappa AC and Ludwig A (1982) Calculation of apparent infection rate in plant diseases: development of a method to correct for host growth. *Phytopathology* 72: 1373-1377
- Lannou C, de Vallavieille-Pope C and Goyeau H (1994) Host mixture efficacy in disease control: effects of lesion growth analyzed through computer-simulated epidemics. *Plant Pathology* 43: 651-662

- Lieth JH and Reynolds JF (1988) A plant growth model for controlled-environment conditions incorporating canopy structure and development: application to snap bean. *Photosynthetica* 22: 190-204
- Mora B, Pastor Corrales M, Zambolim L, Viera C and Chaves G (1985) Determining yield losses in French bean from angular leaf spot (*Isariopsis griseola* Sacc.). *Phytopathology* 75: 1178 (abstr.)
- Mundt CC, Leonard KJ, Thal WM and Fulton JH (1986) Computerized simulation of crown rust epidemics in mixtures of immune and susceptible oat plants with different genotype unit areas and spatial distributions of initial disease. *Phytopathology* 76: 590-598
- Mundt CC and Brophy LS (1988) Influence of number of host genotype units on the effectiveness of host mixtures for disease control: a modeling approach. *Phytopathology* 78: 1087-1094
- Nelson SC and Campbell CL (1991) Effects of host growth and defoliation on progress of leaf spot epidemics on white clover. *Phytopathology* 81: 813 (abstr.)
- Nelson SC and Campbell CL (1993) Disease progress, defoliation, and spatial pattern in a multiple-pathogen disease complex on white clover. *Phytopathology* 83: 419-429
- Plaut JL and Berger RD (1980) Development of *Cercosporidium personatum* in three peanut (*Arachis hypogaea* cultivar Florunner) canopy layers. *Peanut Science* 7: 46-49
- Saettler AW (1991) Angular leaf spot. In: Hall R (ed.) *Compendium of bean diseases* (pp.15-16) APS Press, St Paul, MN
- Sartorato A (2004) Pathogenic variability and genetic diversity of *Phaeoisariopsis griseola* isolates from two counties in the state of Goias, Brazil. *Journal of Phytopathology* 152: 385-390
- Savary S and Servat E (1991) Un modèle simplifié de simulation des épidémies de rouille et de cercosporioses de l'arachide. In: ORSTOM et Karthala (ed.) *Approches de la Pathologie des Cultures Tropicales* (pp.129-155), Paris
- Savary S, de Jong PD, Rabbinge R and Zadoks JC (1990) Dynamic simulation of groundnut rust, a preliminary model. *Agricultural Systems* 32: 113-141
- Savary S, Janeau JL, Alloreut D, Escalante M, Avelino J and Willocquet L (2004) Effects of simulated rainfall events on spore dispersal and spore stocks in three tropical pathosystems. *Phytopathology* 94: S92 (abstr.)

- Silva MB, Vale FXR, Zambolim L and Hau B (1998) Effects of bean rust, anthracnosis and angular leaf spot on dry bean leaf area. *Fitopatologia Brasileira* 23: 442-447
- Sun P and Zeng S (1994) On the measurement of the corrected basic infection rate. *Journal of Plant Diseases and Protection* 101: 297-302
- Teng PS (1981) Validation of computer models of plant disease epidemics: a review of philosophy and methodology. *Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz* 88: 49-63
- Thal WM and Campbell CL (1988) Analysis of progress of alfalfa leaf spot epidemics. *Phytopathology* 78: 389-395
- Van der Plank JE (1963) *Plant Diseases- Epidemics and Control*. Academic Press, New York
- Van der Plank JE (1965) Dynamics of epidemics in plant disease. *Science* 147:120-124
- Waggoner PE and Berger RD (1987) Defoliation, disease, and growth. *Phytopathology* 77: 393-398
- Willoquet L, Alloreut D and Savary S (2004) Quantitative analysis of two important epidemiological features in the common bean - *Phaeoisariopsis griseola* pathosystem. *Fitopatologia Brasileira* 29: 676-679
- Zadoks JC (1971) Systems analysis and the dynamics of epidemics. *Phytopathology* 61: 600-610 .
- Zadoks JC and Kampmeijer P (1977) The role of crop populations and their deployment, illustrated by means of a simulator, EPIMUL 76. *Annals of the New York Academy of Sciences* 287: 164-190.
- Zadoks JC and Schein RD (1979) *Epidemiology and plant disease management*. Oxford University Press Inc, New York

E. Sporulation des lésions situées sur des tissus infectés dans le couvert et défoliés au sol

1. Introduction

La tache angulaire induit une défoliation des tissus infectés d'un couvert de haricot commun. Une question importante dans la compréhension de la dynamique des épidémies concerne l'infection des tissus hôtes situés dans le couvert par l'inoculum localisé soit sur les tissus infectés dans le couvert, soit sur les tissus défoliés tombés au sol. L'infection des tissus hôtes est fonction du nombre de spores produites sur les tissus infectés, qui sont transportées et déposées sur les tissus, et de l'efficacité d'infection de ces spores. La sporulation des lésions situées sur les tissus infectés du couvert et sur les tissus infectés défoliés au sol n'a pas, à notre connaissance, été quantifiée chez *P. griseola*.

L'objectif de ces expériences était donc de quantifier la sporulation des lésions de ces deux sources d'inoculum.

2. Matériel et méthodes

La sporulation des lésions de ces deux sources d'inoculum a été quantifiée dans le cadre d'une expérimentation qui a été réalisée deux fois.

2.1. Matériel végétal

La variété de haricot commun utilisée est Negro Huasteco, à port buissonnant et sensible à la souche P.Turri de *P. griseola*. Des plantes ont été semées dans des pots de 15 cm de diamètre (deux plantes par pot).

2.2. Infections artificielles

Des infections artificielles de la souche P.Turri ont été réalisées sur la première feuille trifoliée ouverte présente sur les plantes âgées de 17 jours. Une suspension de spores à 5 spores/ μ l d'une solution de Tween (80) à 0.01% v/v dans de l'eau distillée est pulvérisée sur chaque foliole de chacune des feuilles à l'aide d'un pulvérisateur manuel (trois pulvérisations par foliole qui représentent un volume de 300 μ l). Les plantes ont été disposées dans une chambre climatique dont la photopériode a été réglée à 12h et la température à 24°C. Les plantes ont été copieusement arrosées puis incubées pendant 48 h en les entourant d'un sac en

polyéthylène préalablement humidifié à l'aide d'un pulvérisateur. Durant toute la période des expériences, les températures ont variées de 21 à 27°C, et les humidités relatives de 50 (de 6h à 18h) à 85% (de 18h à 6h).

2.3. Induction de la sporulation des feuilles inoculées

La sporulation des feuilles infectées est induite à partir du quinzième jour après inoculation. Une période minimale de 48h d'humectation du couvert est nécessaire pour une sporulation abondante (Cardona-Alvarez et Walker, 1956). Les plantes ont donc été entourées d'un sac en polyéthylène préalablement humidifié à l'aide d'un pulvérisateur durant 16h, de 17h à 9h du matin. Cette opération est renouvelée le seizième jour, puis tous les deux jours, soit juste avant les observations.

2.4. Observations

Les observations ont été effectuées tous les deux jours à partir du quinzième jour après infection artificielle. A chaque observation, six folioles infectées attachées aux plantes inoculées et six folioles infectées tombées dans les pots ont été échantillonnées au hasard et les observations suivantes ont été effectuées :

- *nombre et taille des lésions par foliole*

La taille des lésions est évaluée à l'aide d'une échelle à cinq classes (figure 1).



Figure 1. Echelle de la taille des lésions de *P. griseola* sur des feuilles de haricot commun.

Classe de taille 1 (1 mm²), 2 (4 mm²), 3 (9 mm²), 4 (16 mm²), et 5 (25 mm²).

Celle-ci a été établie à partir de l'estimation de la taille des lésions de vingt feuilles d'âges différents, provenant de plantes d'âges différents. Les cinq classes correspondent à des tailles de lésions de 1 à 25 mm².

- *sévérité de chaque foliole*

La sévérité de maladie sur chaque foliole est estimée à l'aide d'une échelle constituée de 10 classes (Godoy et al., 1997). Ces 10 classes correspondent à 10 pourcentages de surface malade allant de 0 à 30.4 %.

- intensité de sporulation

L'intensité de sporulation est estimée en apposant un morceau de ruban adhésif transparent sur cinq lésions choisies au hasard sur chacune des folioles. La taille de ces lésions est estimée à l'aide de l'échelle de la figure 1. Une goutte de bleu coton est versée sur une lame, et un morceau de ruban adhésif transparent est apposé sur celle-ci. Le nombre de spores pour chacune de ces lésions est dénombré à l'aide d'un microscope au grossissement $\times 10$.

2.5. Analyses des résultats

Les données du nombre total de lésions, du nombre de lésions appartenant aux classes de taille 4 (16 mm^2) et 5 (25 mm^2) et de la sévérité ont été analysées pour chacune des dates d'observation par une analyse du type modèle linéaire mixte (Garrett et al., 2004) à l'aide de la procédure MIXED du logiciel SAS (SAS Institute, Cary, NC, version 8, 1999-2001). Le facteur principal fixe considéré a été la localisation des folioles (attachées aux plantes ou tombées) et le facteur aléatoire, l'appartenance à une foliole choisie au hasard. Les données de nombre de lésions ont été préalablement transformées en logarithme népérien et les données de sévérité en racine carrée, dans le but de stabiliser les variances (Gomez et Gomez, 1984).

Les données du nombre de spores par lésion ont été analysées pour chacune des dates d'observation par une analyse du type modèle linéaire mixte (Garrett et al., 2004) à l'aide de la procédure MIXED du logiciel SAS (SAS Institute, Cary, NC, version 8, 1999-2001). Le facteur principal fixe considéré a été la localisation des folioles (attachées aux plantes ou tombées) et les facteurs aléatoires l'appartenance à une lésion et à une foliole choisies au hasard. Les données de nombre de spores par lésion ont été préalablement transformées en logarithme népérien, dans le but de stabiliser les variances (Gomez et Gomez, 1984).

3. Résultats

L'évolution du nombre total de lésions par foliole au cours du temps, pour des folioles attachées aux plantes ou tombées, est représentée dans la figure 2.

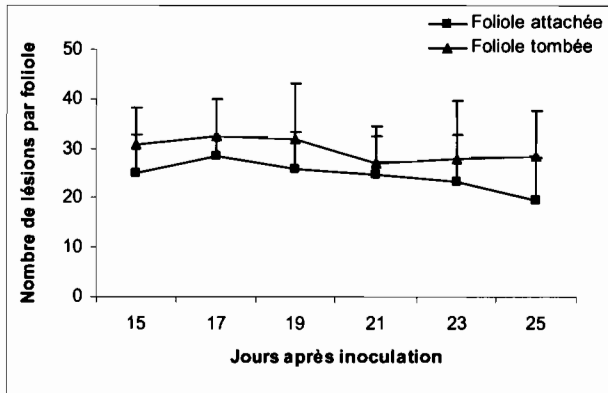


Figure 2. Evolution du nombre de lésions par foliole attachée aux plantes ou tombée au cours du temps.

Les valeurs sont des moyennes sur six folioles, les barres représentent les écarts-types.

Le nombre total de lésions par foliole reste constant du quinzième au vingt-cinquième jour après inoculation. Ce nombre est numériquement supérieur pour des folioles tombées pour toutes les dates d'observation mais ces différences ne sont pas significatives (tableau 1).

Tableau 1. Valeurs des Fisher et des probabilités associés aux analyses linéaires mixtes pour chacune des variables considérées aux différentes dates d'observation

Variable	15 JAI ^e		17 JAI		19 JAI		21 JAI		23 JAI		25 JAI	
	F	P	F	P	F	P	F	P	F	P	F	P
NL ^a	4.81	0.08	2.28	0.19	5.35	0.07	0.76	0.42	1.22	0.32	3.18	0.13
NL _{4,5} ^b	0.76	0.42	0.20	0.67	0.17	0.70	0.09	0.78	0.01	0.91	0.96	0.37
SEV ^c	1.88	0.23	0.07	0.80	1.46	0.28	1.68	0.25	4.48	0.09	8.07	0.04
SP ^d	0.52	0.47	0.99	0.33	4.28	0.05	0.18	0.67	6.88	0.01	0.92	0.34

^a Nombre total de lésions par foliole attachée aux plantes ou tombée [N]

^b Nombre de lésions des classes de taille 4 et 5 par foliole attachée aux plantes ou tombée [N]

^c Sévérité de maladie par foliole attachée aux plantes ou tombée [-]

^d Nombre de spores par lésion présente sur une foliole attachée aux plantes ou tombée [N]

^e Date d'observation [Jours après inoculation]

L'évolution du nombre de lésions des classes de taille 4 (16 mm²) et 5 (25 mm², figure 1) par foliole au cours du temps, pour des folioles attachées aux plantes ou tombées, est représentée dans la figure 3.

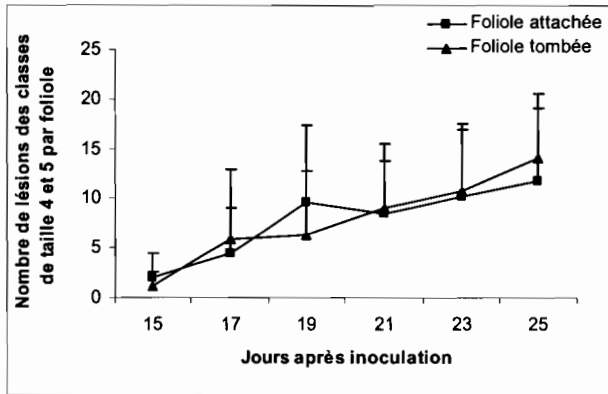


Figure 3. Evolution du nombre de lésions des classes de taille 4 (16 mm^2) et 5 (25 mm^2) par foliole attachée aux plantes ou tombée au cours du temps.

Les valeurs sont des moyennes sur six folioles, les barres représentent les écart-types.

Le nombre de lésions des classes de taille 4 et 5 par foliole augmente au cours du temps. Aucune différence significative n'est mise en évidence entre les deux localisations des lésions (sur foliole attachée ou tombée) pour chacune des dates d'observation (tableau 1). Le nombre total de lésions est constant au cours des observations mais les lésions s'étendent.

La figure 4 montre l'évolution de la sévérité par foliole au cours du temps pour des folioles attachées aux plantes ou tombées.

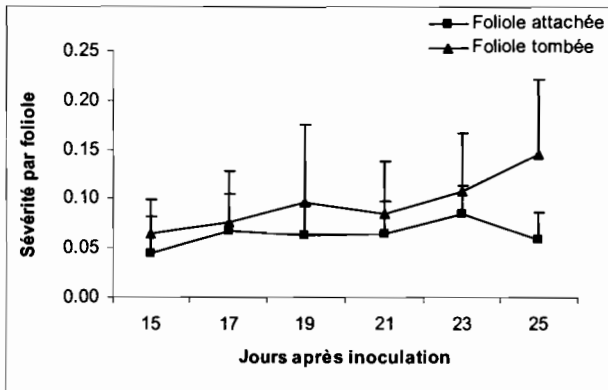


Figure 4. Evolution de la sévérité par foliole attachée aux plantes ou tombée au cours du temps.

Les valeurs sont des moyennes sur six folioles, les barres représentent les écart-types

La sévérité est numériquement supérieure pour des folioles tombées pour toutes les dates d'observation mais ces différences ne sont significatives que pour la dernière date d'observation ($P = 0.03$, tableau 1).

L'intensité de sporulation au cours du temps, pour des lésions présentes sur des folioles attachées aux plantes ou tombées, est représentée dans la figure 5.

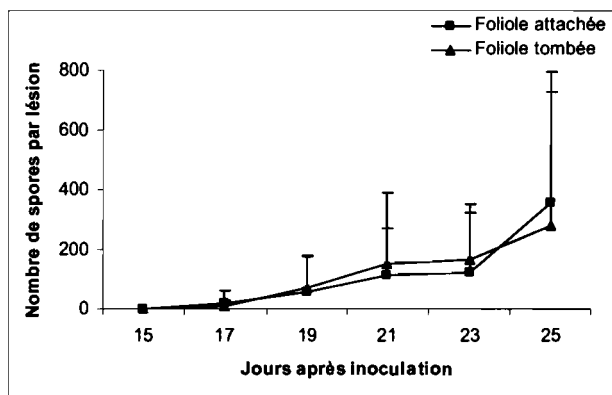


Figure 5. Evolution de l'intensité de sporulation des lésions situées sur des folioles attachées aux plantes ou tombées au cours du temps.

Les valeurs sont des moyennes sur les trente lésions totales des six folioles, les barres représentent les écarts-types.

Des différences significatives ne sont mises en évidence entre les deux localisations des lésions (sur foliole attachée ou tombée) que pour les dates d'observation du dix-neuvième et vingt-troisième jour après inoculation ($P = 0.05$ et $P = 0.01$, respectivement, tableau 1). A ces dates d'observation, la sporulation est plus importante pour des lésions localisées sur des folioles tombées (19 jours après inoculation : 58 et 72 spores par lésion pour des lésions situées sur des tissus infectés dans le couvert ou tombés, respectivement; 23 jours après inoculation : 125 et 169 spores par lésion pour des lésions situées sur des tissus infectés dans le couvert ou tombés, respectivement).

La figure 6 montre la relation existante entre l'intensité de sporulation des lésions et la taille de ces dernières, pour l'ensemble des observations effectuées. La production de spores par lésion semble augmenter avec la taille de la lésion. Une augmentation de la variance de l'intensité de sporulation est observée au fur et à mesure de l'augmentation de la taille des lésions.

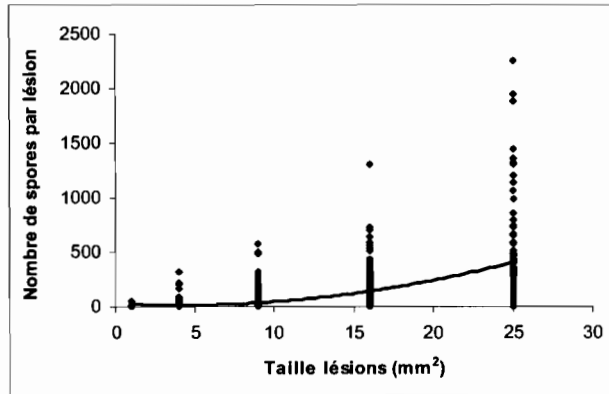


Figure 6. Relation entre l'intensité de sporulation et la taille des lésions pour l'ensemble des observations.

La courbe de tendance correspond à une courbe du type polynomial d'équation $y = 0.887x^2 - 7.091x + 29.033$ ($R^2 = 0.32$).

4. Discussion

La localisation des lésions sur des folioles attachées ou tombées n'apparaît pas influencer le nombre de lésions, la sévérité, ni la sporulation de ces lésions. Comme l'ont démontré Willocquet et al. (2004), la défoliation du haricot commun est corrélée à la sévérité due à *P. griseola*. Les folioles tombées des plantes des expériences rapportées dans cette section ont une sévérité et un nombre de lésions numériquement plus élevés mais ces différences ne sont pas significatives, peut-être en partie à cause d'une grande variation observée entre les folioles.

Des différences en terme d'intensité de sporulation entre des lésions situées sur des folioles attachées aux plantes ou tombées n'ont pas été mises en évidence dans le cadre des ces expériences. Ceci est dû aux larges variations du nombre de spores par lésion. De telles variations sont couramment observées lors de l'estimation des nombres de spores par lésion ou par unité de surface (Rotem et al., 1978; Zadoks et Schein, 1979). Les observations ont été effectuées sur une population de lésions qui n'ont pas le même âge à chacune des observations, d'où la variation observée.

Ces expériences ont été réalisées en conditions contrôlées et il apparaît peu probable qu'il y ait eu des différences de microclimat entre le haut des plantes et leur base. L'humidité

relative pouvant augmenter du sommet à la base du couvert au champ (Zadoks et Schein, 1979), on pourrait s'attendre à ce que cette différence de microclimat au niveau du sol entraîne une sporulation plus intense. Ainsi, une sporulation plus importante a été observée sur des feuilles détachées, ou au moins sénescentes, pour des maladies de taches foliaires dues à *Leptosphaerulina briosiana* (Thal et Campbell, 1988) et pour la cercosporiose de l'arachide (Ricker et al., 1985). Ces derniers auteurs ont montré que la production de spores accrue sur des tissus défoliés varie selon le génotype d'arachide et suggèrent que la durée de la période infectieuse des lésions situées sur ces tissus défoliés devrait dépendre de la vitesse de sénescence des tissus. La durée de la période infectieuse des lésions situées sur ces tissus défoliés reste encore à être déterminée.

III. Synthèse

Les résultats des expériences réalisées dans ce chapitre améliorent nos connaissances concernant le fonctionnement de quelques étapes importantes du processus monocyclique de la tache angulaire du haricot commun. Ces étapes avaient été identifiées dans le chapitre 1.

La pluie génère des processus probablement très efficaces en terme de mobilisation de l'inoculum, que celui-ci soit localisé dans le couvert ou au sol sur des tissus défoliés. Les mécanismes d'éclaboussures (splash), de 'tap and puff' et de lessivage ont été mis en évidence dans le cas de la libération et du transport des spores de *P. griseola* par la pluie à partir des stocks en spores localisés dans le couvert et au sol.

La dissémination des spores par la pluie à partir de l'inoculum primaire situé sur une feuille infectée se fait à courte distance à l'échelle de la plante infectée, l'autoinfection et l'aloinfection intraplante étant majoritaires (86%). Ces résultats suggèrent une efficacité des associations variétales réduite lors d'événements pluvieux, le ratio aloinfection sur autoinfection étant faible (14/86).

La dissémination des spores par le vent s'observe à des vitesses élevées ($\geq 2 \text{ m.s}^{-1}$), vitesses qui sont peu fréquentes à l'intérieur du couvert. Néanmoins, la vibration des feuilles par le vent entraîne une dissémination accrue des spores. On peut imaginer que le frottement des feuilles les unes entre elles soit un élément moteur de la dissémination des spores de feuilles à feuilles. De plus, le vent peut avoir un rôle dans le transport à longue distance des spores libérées au dessus du couvert par le mécanisme de 'tap and puff' et des spores contenues dans les microgouttelettes libérées par éclaboussures.

Les facteurs quotidiens de multiplication (DMFRc et DMFRd) ont été mesurés expérimentalement pour les deux sources d'inoculum localisées dans le couvert et au sol. Par rapport aux spores produites par des lésions présentes dans le couvert, les spores localisées sur les tissus infectés défoliés au sol contribuent moins à l'infection du couvert. Ceci peut être attribuable à un lessivage par la pluie plus important des stocks de spores situés sur les tissus défoliés. Les spores sont disséminées à partir du couvert principalement par éclaboussures et sont déposées majoritairement sur les couches foliaires inférieures du couvert. Peu ou pas de spores sont disséminées à partir des feuilles infectées au sol lorsqu'il n'y a pas d'événement pluvieux. Cependant, les spores localisées sur les tissus infectés du couvert sont disséminées par le vent dans les couches supérieures de ce même couvert, même s'il n'y a pas d'événement pluvieux. La survie des spores pendant les phases de dissémination et de dépôt

des spores est un processus important dans les épidémies. Ce processus n'a pas encore été documenté dans le cas de la tache angulaire. Le développement d'un modèle de simulation, qui inclut la défoliation des tissus infectés et la mobilisation des spores des deux sources d'inoculum permet d'étudier l'effet sur les épidémies simulées des facteurs quotidiens de multiplication, DMFRc et DMFRd, mesurés expérimentalement. Les résultats indiquent que même si l'inoculum situé sur les tissus défoliés au sol contribue moins aux infections dans le couvert que l'inoculum situé dans ce même couvert, celui-ci peut jouer un rôle important qui détermine la mise en place des épidémies dans des conditions défavorables. Ainsi, des épidémies peuvent avoir lieu même lorsque le DMFRc de l'inoculum situé dans le couvert est faible, l'inoculum situé sur le sol ajoutant sa contribution aux infections.

Nos résultats indiquent que la sporulation des lésions n'est pas différente pour des lésions localisées sur les tissus infectés dans le couvert ou défoliés au sol. Des quantifications de la production de spores des lésions situées sur les feuilles du couvert et sur les feuilles tombées au sol de parcelles au champ pourraient être envisagées. L'utilisation de la modélisation pourrait permettre d'analyser les conséquences d'une différence de sporulation entre les deux sources d'inoculum à l'échelle d'un couvert végétal entier. Le sous-modèle D (sporulation des lésions) de la structure de modèle synthétique présentée dans le chapitre 1 pourrait être intégré dans le modèle élaboré dans le présent chapitre, pour étudier l'effet d'une différence de sporulation entre les deux sources d'inoculum sur les épidémies de tache angulaire.

Chapitre 3

Effets épidémiologiques de la résistance partielle, de l'âge des plantes et de l'âge des feuilles

I. Problématique

L'utilisation de la résistance génétique est depuis longtemps utilisée dans les systèmes de gestion des maladies, de par son efficacité et son coût réduit par rapport à d'autres moyens de contrôle tels que les intrants de produits phytosanitaires. Ces derniers ont un impact important sur l'environnement et des résistances des pathogènes et ravageurs aux produits chimiques apparaissent. Plus de 150 espèces de champignons ou de bactéries, 500 espèces d'arthropodes et près de 270 espèces de mauvaises herbes ont été rapportées être résistantes à un ou plusieurs pesticides chimiques (Jacobsen, 1997).

Jusque dans les années 1970, les programmes de sélection des variétés résistantes étaient exclusivement axés sur la résistance complète, basée sur le modèle gène pour gène. L'utilisation de ce type de résistance a donné des résultats satisfaisants dans de nombreux cas, mais rapidement des contournements de la résistance par les populations pathogènes ont été rapportées (Johnson, 1984). Aussi, les programmes de sélection de variétés résistantes se sont progressivement tournés vers la résistance incomplète (partielle), qui était considérée comme plus durable (Johnson, 1984) de par la diversité des gènes de résistance confrontée aux gènes de virulence des pathogènes. Néanmoins, des contournements de cette résistance peuvent être observés dans certains cas, rendant difficile le développement de programmes de sélection. En effet, l'étude de Parlevliet et Zadoks (1977) a montré que la résistance partielle peut avoir une base génétique à la fois monogénique et polygénique.

L'utilisation de la résistance partielle, comme les autres pratiques utilisées dans les systèmes de gestion des maladies, a un impact sur les épidémies. En effet, la résistance partielle entraîne une réduction des épidémies, en réduisant la vitesse des épidémies (réduction de r , taux apparent d'infection sensu Van der Plank, 1963) et en induisant un retard dans l'initiation des épidémies (réduction de x_0 , quantité de maladie présente au début des épidémies) (Parlevliet, 1979). Comprendre les mécanismes inhérents aux méthodes de lutte qui aboutissent à un ralentissement des épidémies est indispensable pour proposer des systèmes de gestion des maladies durables. Les programmes de sélection pour une résistance partielle pourraient être rendus plus performants si les caractéristiques épidémiologiques les plus importantes des pathosystèmes étaient mieux connues. Mettre en évidence ces caractéristiques épidémiologiques et étudier l'effet de la résistance partielle sur celles-ci est une étape importante dans le développement des programmes de sélection (Rapilly et al.,

1977). De plus, d'autres facteurs influençant la résistance des plantes tels que l'âge des tissus et les facteurs environnementaux, peuvent être étudiés.

Dans le cas de la tache angulaire du haricot, l'objectif spécifique était ici d'étudier les effets de la résistance partielle, de l'âge des plantes et de l'âge des feuilles sur les épidémies. Dans un premier temps, les caractéristiques épidémiologiques les plus importantes, décrivant le plus complètement possible le cycle de *P. griseola*, ont été déterminées en vue des conclusions rapportées dans les chapitres précédents. Les effets de ces différents facteurs ont été évalués ensuite sur ces caractéristiques épidémiologiques estimées à l'aide de méthodes et de définitions opérationnelles spécifiques. L'utilisation du modèle élaboré dans le chapitre précédent nous permet notamment de dépasser la dimension monocyclique pour accéder à une dimension polycyclique et d'étudier ainsi les effets de ces facteurs sur les épidémies dans leur entièreté.

II. Revue de bibliographie

A. La résistance partielle, l'âge des plantes et l'âge des feuilles, et leurs conséquences épidémiologiques

La résistance de l'hôte à un pathogène est définie comme la capacité de l'hôte à réduire la croissance et/ou le développement de ce pathogène (Robinson, 1969). Le terme de résistance complète est utilisé lorsque la multiplication du pathogène est annulée, c'est-à-dire lorsque la progéniture d'une lésion (sensu Van der Plank, 1963) est nulle, et notamment la production de spores (Parlevliet, 1979). Le terme de résistance incomplète réfère à toute résistance amenant à une réduction, et non pas une annulation, de la progéniture d'une lésion (notamment une production de spores non nulle; Parlevliet, 1979). Pour un pathogène génétiquement variable, la sélection pour des hauts niveaux de résistance partielle peut être une alternative à la sélection pour une résistance spécifique, au moins quand la résistance partielle n'est pas spécifique de la race et/ou monogénique (Turkensteen, 1973). En effet, la résistance partielle peut être de type horizontale et verticale (Parlevliet et Zadoks, 1977). La sélection pour la résistance partielle peut s'avérer difficile en raison des efforts importants d'expériences qu'elle nécessite et en raison de son expression qui varie en fonction des conditions environnementales (Zadoks et Schein, 1979).

La résistance partielle peut être exprimée à différentes phases durant le cycle de vie d'un pathogène (Zadoks et Schein, 1979). Elle peut être divisée en résistance à l'infection, résistance à la colonisation et résistance à la reproduction (Parlevliet, 1979). En termes épidémiologiques, la résistance partielle n'amène pas seulement à une réduction de la vitesse des épidémies (réduction de r , taux apparent d'infection sensu Van der Plank, 1963), mais aussi à un retard dans l'initiation des épidémies (réduction de x_0 , quantité de maladie présente au début des épidémies) (Parlevliet, 1979). Le retard dans l'initiation des épidémies est dû à une fréquence des infections plus faible et la réduction de la vitesse des épidémies est due à l'effet combiné d'une fréquence des infections plus faible, d'une période de latence plus longue et d'une sporulation réduite.

L'étude de la résistance partielle fait appel à des méthodes quantitatives telles que l'analyse des composantes de résistance (Zadoks, 1972). Cette dernière est fondée sur une description détaillée du cycle du parasite que l'on décompose en étapes (Zadoks et Schein,

Chapitre 3 - Effets épidémiologiques de la résistance partielle, l'âge des plantes et l'âge des feuille

1979). A chaque étape du cycle, la résistance de la plante peut être plus ou moins effective pour contrer le développement du pathogène. Les composantes de résistance sont représentées par des valeurs relatives comprises entre 0 (résistance minimale) et 1 (résistance maximale), qui fournissent une mesure du freinage exercé par la plante sur la progression du parasite au cours du cycle parasitaire (Zadoks, 1972). Ces composantes de résistance sont calculées à partir des mesures de caractéristiques épidémiologiques décrivant le cycle du pathogène.

Les caractéristiques épidémiologiques les plus rapportées dans la littérature sont l'efficacité d'infection, la période de latence, la taille des lésions, la capacité de sporulation et la période infectieuse (Zadoks, 1972; Rapilly et al., 1977; Parlevliet, 1979; Savary et Zadoks, 1989a; Savary et Zadoks, 1989b; Habtu et Zadoks, 1995; Luo et Zeng, 1995; Díaz-Lago et al., 2003). La résistance partielle est maximale pour des résistances relatives élevées pour chacune des caractéristiques épidémiologiques, s'exprimant phénotypiquement par une fréquence d'infection faible, une période de latence plus longue, une sporulation, une durée de la période infectieuse (Parlevliet, 1979) et une extension des lésions (Rapilly et al., 1977; Luo et Zeng, 1995) réduites. Ces composantes de résistance partielle ne sont pas toujours toutes corrélées. De plus, les niveaux des résistances partielles sont variables selon le génotype hôte et selon son stade de développement.

En effet, la résistance de l'hôte à un pathogène peut varier selon le stade de développement des plantes et des feuilles (Parlevliet, 1979). Les plantes peuvent être sensibles à un stade de développement et résistantes à un autre, ou différents organes (ou différents stades d'un même organe) peuvent avoir des niveaux de résistance différents. Notamment la résistance des tissus âgés a été souvent rapportée (Parlevliet, 1975; Parlevliet, 1979; Pretorius et al., 1988). Cette résistance des tissus âgés peut aussi être exprimée à différentes phases du cycle du pathogène. Notamment une réduction de l'efficacité d'infection (Schein, 1965; Aust et al., 1980; Savary, 1987; Melching et al., 1988; Jennings, 1990) et un allongement de la durée de la période de latence (Parlevliet, 1975; Parlevliet, 1979; Tomerlin et al., 1983; Savary, 1987; Jennings, 1990) ont été observées pour des tissus âgés. Les effets épidémiologiques de l'âge des plantes et des feuilles peuvent avoir les mêmes conséquences sur les épidémies que la résistance partielle, c'est-à-dire un retard dans l'initiation des épidémies et une réduction de la vitesse de ces épidémies.

Pour déterminer les contributions relatives des composantes de résistance au freinage exercé par la plante sur la progression des épidémies, deux approches au moins peuvent être

Chapitre 3 - Effets épidémiologiques de la résistance partielle, l'âge des plantes et l'âge des feuille

utilisées. Une première approche réside dans la détermination expérimentale de corrélations entre chacune des composantes de résistance et le taux apparent d'infection. Une deuxième approche consiste à développer des modèles de simulation et à étudier l'effet de variations de chacune des composantes de résistance sur les épidémies à l'aide d'analyses de sensibilité de ces modèles.

La résistance relative pour la période de latence est une composante déterminante de r pour un pathogène effectuant un nombre important de cycles d'infection durant le cycle de développement de l'hôte, comme *Puccinia hordei* et *Phytophthora infestans* (Zadoks, 1971; Parlevliet, 1979). Lorsqu'un pathogène effectue peu de cycles d'infection, la fréquence d'infection et la sporulation sont généralement considérées comme déterminantes (Parlevliet, 1979; Rappilly et al., 1977).

B. Cas du pathosystème *Phaseolus vulgaris* - *Phaeoisariopsis griseola*

La sensibilité des plantes en fonction de leur âge et de celui des feuilles a été peu étudiée chez *Phaeoisariopsis griseola*. Alvarez-Ayala et Schwartz (1979) rapportent que les deuxième et troisième feuilles trifoliées apparues après émergence et inoculées sont plus sensibles à *P. griseola*.

La résistance des variétés de haricot commun à *Phaeoisariopsis griseola* est censée être conférée par un ou plusieurs gènes récessifs ou dominants (Barros et al., 1957; Cardona-Alvarez, 1958; Zaumeyer et Meiners, 1975; Santos Filho et al., 1976b; Singh et Saini, 1980; Sartorato et al., 1999; Ferreira et al., 2000; Nietsche et al., 2000). Les études effectuées par Buruchara (1983), Correa-Victoria (1987) et Sartorato (1989) ont montré qu'il existe différentes interactions variété-isolat amenant à des expressions variées de résistance. Le haricot commun présente les deux types de résistance à *Phaeoisariopsis griseola*, complète et incomplète (partielle). Cette résistance partielle a été décomposée en résistance incomplète horizontale, c'est-à-dire race-non spécifique et en résistance incomplète verticale, c'est-à-dire race-spécifique (Sartorato, 1989; Sartorato et al., 1989; Sartorato et al., 1991). Une réduction du taux apparent d'infection r et un retard dans l'initiation des épidémies (par réduction de la quantité de maladie présente au début des épidémies, x_0) ont été démontrées par des expérimentations au champ réalisées avec 14 variétés de haricot artificiellement infectées avec un seul isolat de *P. griseola* (Buruchara et al., 1988).

Chapitre 3 - Effets épidémiologiques de la résistance partielle, l'âge des plantes et l'âge des feuille

L'utilisation de la résistance partielle du haricot commun vis-à-vis de *P. griseola* est difficile à mettre en œuvre du fait de l'extrême variabilité génétique du pathogène. Ainsi, des variétés résistantes à de nombreux isolats en serre, montrent une sensibilité à la maladie quand elles sont testées aux champs. Des variétés considérées comme résistantes à *P. griseola* dans divers pays ont montré des réactions sensibles par la suite dans le même pays ou dans un pays différent (Alvarez-Ayala et Schwartz, 1979; Srivastava et al., 1995; Liebenberg et Pretorius, 1997). Une érosion de la résistance partielle peut intervenir au champ, comme c'est le cas chez la pomme de terre infectée par *Phytophthora infestans* (Flier et al., 2003). Cette érosion pourrait être attribuée à l'existence d'une résistance partielle de type race-spécifique qui est instable et qui peut être contournée rapidement par les populations pathogènes (Parlevliet et Zadoks, 1977; Parlevliet, 1979).

III. Expérimentations

A. Effets de l'âge des plantes et des feuilles sur différentes caractéristiques épidémiologiques de la maladie

1. Introduction

La résistance des plantes à un pathogène peut varier selon le stade de développement des plantes et des feuilles (Parlevliet, 1979). La sensibilité des plantes en fonction de leur âge et de celui des feuilles a été peu étudiée chez *Phaeoisariopsis griseola* (Alvarez-Ayala et Schwartz, 1979).

Les objectifs de cette expérience étaient 1) de proposer des caractéristiques épidémiologiques représentatives des principaux processus intervenant dans le cycle de *P. griseola* et 2) d'étudier les effets de l'âge des plantes et des feuilles sur ces caractéristiques épidémiologiques.

2. Matériel et méthodes

2.1. Caractéristiques épidémiologiques à quantifier

Le cycle de *Phaeoisariopsis griseola* peut être résumé comme la succession des étapes suivantes : libération des spores, dépôt de celles-ci, germination des spores, infection de l'hôte, apparition et extension des lésions et sporulation. Pour obtenir une vision générale de l'interaction entre l'hôte et le pathogène, plusieurs composantes du cycle peuvent être étudiées. Dans cette expérimentation, les effets de l'âge des plantes (A), de l'âge des feuilles (a) et de l'interaction des ces deux variables (A × a) ont été étudiés sur six caractéristiques épidémiologiques. Les définitions théoriques de ces caractéristiques peuvent être formulées comme (Van der Plank, 1963; Zadoks et Schein, 1979; Campbell et Madden, 1990; Rapilly, 1991) :

- la période d'incubation: délai séparant le dépôt des propagules et l'apparition des premières lésions visibles,
- l'efficacité d'infection : proportion de propagules efficaces produisant une lésion,
- l'extension des lésions : augmentation de taille des lésions en fonction du temps,
- la défoliation : chute de tissus foliaires considérée comme résultant de la maladie,

Chapitre 3 - Effets épidémiologiques de la résistance partielle, l'âge des plantes et l'âge des feuille

- la période de latence : délai séparant le contact des propagules avec l'hôte et l'apparition des lésions produisant de nouvelles propagules,
- l'intensité de la sporulation : quantité de propagules produites par lésion.

Ces caractéristiques épidémiologiques sont représentatives des principaux processus intervenant dans le cycle de la maladie (chapitre 1). En particulier, la défoliation est considérée ici comme une caractéristique épidémiologique importante des épidémies de tache angulaire comme on l'a vu dans les chapitres précédents.

2.2. Matériel végétal

La variété utilisée est Negro Huasteco, à port buissonnant et sensible à la souche P.Turri de *P. griseola*. Quatre âges de plantes (A) ont été considérés, qui correspondent à des nombres de jours après semis au moment des infections artificielles. Des graines de cette variété ont donc été semées dans des pots de 11 cm de diamètre (deux graines par pot), 38 jours (âge 1), 45 jours (âge 2), 52 jours (âge 3), et 63 jours (âge 4) avant les infections artificielles.

2.3. Infections artificielles

Des infections artificielles de la souche P.Turri ont été réalisées sur les feuilles trifoliées ouvertes présentes. Trois âges de feuilles (a) ont été considérés, qui correspondent à la position des feuilles sur la tige principale des plantes au moment des infections artificielles. Deux feuilles ont été inoculées pour l'âge de plante 1 (deux feuilles présentes) et trois feuilles pour les âges de plante 2, 3 et 4 (première, deuxième et dernière feuille, en partant du haut). Une suspension de spores à 5 spores par μl d'une solution de Tween (80) à 0.01% v/v dans de l'eau distillée a été pulvérisée sur chaque foliole de chacune des feuilles à l'aide d'un pulvérisateur manuel (deux pulvérisations par foliole représentant un volume de 840 μl par feuille). Les plantes ont été incubées en les plaçant trois nuits successives dans une cage hermétique en polyéthylène dont les parois ont été humidifiées à l'aide d'un pulvérisateur. Les plantes ont été disposées dans une serre dont les températures moyennes durant ces trois jours ont varié de 18 à 36°C.

2.4. Induction de la sporulation des lésions des feuilles infectées

Une période minimale de 48h d'humectation du couvert est nécessaire pour une sporulation abondante (Cardona-Alvarez et Walker, 1956). Les plantes ont donc été incubées

Chapitre 3 - Effets épidémiologiques de la résistance partielle, l'âge des plantes et l'âge des feuilles

dans des cages, dans les mêmes conditions que précédemment, toutes les nuits dès l'apparition des premières lésions pour tous les âges de plantes et pendant toute la durée des observations. Les plantes ont été disposées dans une serre dont les températures moyennes durant cette période ont varié de 17 à 40°C.

2.5. Observations

Pour chaque âge considéré, deux lots de plantes sont constitués de six plantes dans un cas et 14 plantes dans l'autre. Le premier lot a servi à effectuer des observations non destructives concernant la période d'incubation, l'efficacité d'infection, l'extension des lésions et la défoliation. L'autre lot a servi à effectuer des observations destructives concernant l'intensité de sporulation et la période de latence.

- Observations sur le premier lot de six plantes, définitions opérationnelles

Période d'incubation (PINC)

La période d'incubation est opérationnellement définie (Zadoks, 1972) comme étant le délai séparant le dépôt des spores sur l'hôte et l'apparition des premières lésions visibles. Le nombre de lésions a été dénombré tous les jours à partir de l'infection, jusqu'à l'apparition des premières lésions sur chacune des feuilles des différents âges de plantes.

Efficacité d'infection (EI)

L'efficacité d'infection est opérationnellement définie (Zadoks, 1972) comme étant le rapport de la densité de lésions apparues sur la densité de spores déposées (Schein, 1964; Zadoks et Schein, 1979). Elle est estimée par :

$$EI = dl / ds$$

où dl représente la densité finale de lésions et ds la densité de spores déposées lors des infections artificielles. Le nombre de spores déposées par cm² est calculé en pulvérisant deux pulvérisations de la suspension de spores ayant servi à infecter les plantes sur une boîte de Pétri contenant de l'agar. Les boîtes de Pétri ont été déposées dans un incubateur à 24°C à l'obscurité pendant une nuit. Le lendemain, une goutte de bleu coton a été déposée à trois endroits de la boîte de Pétri et une lamelle a été disposée par dessus. Le nombre de spores dénombré par lamelle a ensuite été divisé par la surface de la lamelle (4cm²) pour obtenir un nombre de spores déposé par cm².

Le nombre de lésions a été dénombré tous les trois jours à partir des infections artificielles. La longueur et la largeur des folioles centrales des feuilles infectées ont été déterminées avant les infections artificielles. La surface des feuilles a été déterminée à partir de la droite de régression d'équation $y = 1.52x + 0.69$ (avec x : produit longueur \times largeur et y : surface totale de la feuille, $r^2 = 0.95$; Willocquet et al., 2004). En divisant le nombre de lésions présentes 21 jours après les infections artificielles par la surface foliaire, la densité de lésions a été calculée.

Extension des lésions

L'extension d'une lésion est opérationnellement définie (Zadoks, 1972) comme le passage d'une lésion appartenant à une classe de taille donnée à la classe de rang immédiatement supérieur. A chaque observation du nombre de lésions présentes, une estimation de la taille de ces lésions a été effectuée. La taille de chaque lésion de chacune des feuilles infectées des six plantes par âge de plante a été estimée à l'aide d'une échelle de la taille des lésions à cinq classes (figure 1, Chapitre 2 III E). Les cinq classes correspondent à des tailles de lésions de 1 à 25 mm². Les données sont sous forme de proportion de lésions (Y) appartenant à une classe de taille x ($1 \leq x \leq 5$) à chaque date d'observation (t) :

$$Y(t) = N_X(t) / N_T(t)$$

où N_X est le nombre de lésions appartenant à une classe de taille x et N_T est le nombre total de lésions.

L'effet des différentes sources de variation (A , a , et $A \times a$) est testé sur la proportion de lésions appartenant aux classes de taille 4 (16 mm²) et 5 (25 mm²) (proportions de grandes lésions) présentes 21 jours après les infections artificielles.

Défoliation

La défoliation est opérationnellement définie (Zadoks, 1972) comme la proportion de folioles infectées tombées des plantes à une date donnée. Ainsi le nombre de folioles tombées est dénombré aux mêmes jours d'observations des deux variables précédentes. Les données sont présentées sous forme de proportion de folioles infectées tombées 27 jours après les infections artificielles.

Chapitre 3 - Effets épidémiologiques de la résistance partielle, l'âge des plantes et l'âge des feuille

- Observations sur le deuxième lot de 14 plantes, définitions opérationnelles

Intensité de sporulation

L'intensité de sporulation est opérationnellement définie (Zadoks, 1972) comme la quantité de spores produites par lésion à une date donnée. A partir de la troisième nuit d'incubation des plantes dans les cages, le nombre de spores présentes par lésion sur cinq folioles choisies au hasard pour chaque âge de plante et de feuille a été dénombré tous les trois jours pendant 15 jours. Toutes les lésions de ces cinq folioles ont été découpées et mises en suspension avec $y \mu\text{l}$ d'une solution de Tween (80) à 0.01% v/v dans de l'eau distillée pour x lésions par foliole :

- pour $x \leq 10$ lésions : $y = 500\mu\text{l}$
- pour $10 < x \leq 20$ lésions : $y = 1000\mu\text{l}$
- pour $20 < x \leq 35$ lésions : $y = 2000\mu\text{l}$
- pour $35 < x \leq 60$ lésions : $y = 3000\mu\text{l}$
- pour $x \geq 60$: $y = 4000\mu\text{l}$

La concentration des solutions a été estimée par huit comptages successifs à l'hématimètre. Le nombre moyen de spores par lésion a alors été calculé en multipliant cette concentration par le volume de suspension ajouté et en divisant par le nombre de lésions découpées par foliole. Les données concernant les nombres de spores produites par lésion qui ont été utilisées pour les analyses sont celles obtenues 25 jours après les infections artificielles.

Période de latence

La période de latence est opérationnellement définie (Zadoks, 1972) comme étant le délai séparant le dépôt des spores sur l'hôte et l'apparition des premières lésions sporulantes. Des régressions linéaires ont été réalisées à partir des données concernant les nombres moyens de spores produites par lésion en fonction du temps. La valeur de l'abscisse (en nombre de jours après infection) correspondant à une ordonnée égale à 1 (première spore apparue) donne une estimation du nombre de jours après infection nécessaires à la production de la première spore par lésion, c'est à dire la période de latence.

2.6. Analyses des résultats

Les résultats ont été soumis à deux analyses de variance avec un dispositif split plot (Gomez et Gomez, 1984) à l'aide de la procédure GLM du logiciel SAS (SAS Institute, Cary,

NC, version 8, 1999-2001). Le facteur principal considéré a été l'âge des plantes (A) et le facteur secondaire considéré a été l'âge des feuilles (a). Six répétitions ont été considérées pour la période d'incubation, l'efficacité d'infection, l'extension des lésions et la défoliation; et cinq répétitions pour l'intensité de sporulation. Le fait que les plantes d'âge 1 (38 jours à l'infection) n'aient que deux feuilles induit un déséquilibre du dispositif statistique pour traiter l'ensemble des données en une seule analyse. Deux dispositifs statistiques ont alors été considérés : l'un avec les données des premières, deuxièmes et dernières feuilles des plantes d'âges 2, 3 et 4 (45, 52 et 63 jours) et l'autre avec les données des premières et deuxièmes feuilles des plantes d'âges 1, 2, 3 et 4 (38, 45, 52 et 63 jours).

3. Résultats

3.1. Effets de l'âge des plantes et des feuilles sur la période d'incubation

La période d'incubation varie de 9 à 12 jours selon l'âge des plantes (A) et l'âge des feuilles (a) (figure 1).

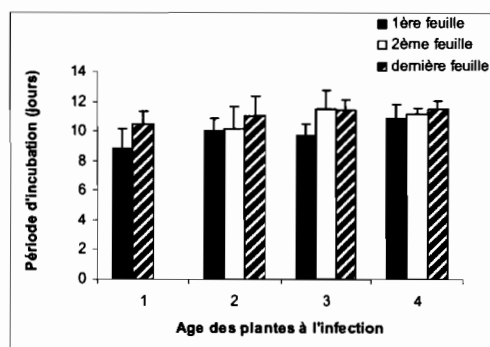


Figure 1. Périodes d'incubation selon l'âge des plantes et des feuilles.

Les valeurs sont les moyennes sur six plantes artificiellement infectées, les barres représentent les écart-types. Les âges des plantes 1, 2, 3, 4 correspondent à des infections artificielles effectuées 38, 45, 52 et 63 jours après semis, respectivement. Pour les plantes d'âge 1, la deuxième feuille est également la dernière.

Elle augmente avec l'âge des feuilles et des plantes. Les analyses de variance montrent un effet significatif de l'âge des feuilles (tableau 1 et tableau 2). L'effet de l'âge des plantes n'est significatif que lorsque l'on prend en compte l'âge des plantes les plus jeunes (âge 1, tableau 2). L'interaction entre les deux facteurs ($A \times a$) n'est pas significative selon les deux analyses de variance.

Chapitre 3 - Effets épidémiologiques de la résistance partielle, l'âge des plantes et l'âge des feuilles

Tableau 1. Analyses de variance avec un dispositif en split plot effectuées sur les données des premières, deuxième et dernières feuilles des plantes d'âges 2, 3 et 4

Source de variation	dl	PINC ^a		EI ^b		EXTL ^c		DEF ^d		SP ^e	
		F	P	F	P	F	P	F	P	F	P
Age des plantes (A)	2	1.95	0.19	0.67	0.53	11.0	<0.01	8.28	<0.01	9.64	0.02
Age des feuilles (a)	2	7.01	<0.01	7.46	<0.01	13.5	<0.01	7.05	<0.01	0.03	0.97
Interaction (A × a)	4	1.62	0.20	1.52	0.25	2.13	0.10	2.74	0.05	2.34	0.15

^a période infectieuse exprimée en nombre de jours [N]

^b Efficacité d'infection [-]

^c Extension des lésions exprimée en proportion de lésions de classes de taille 4 et 5, 21 jours après infection [-]

^d Défoliation exprimée en proportion de folioles détachées 27 jours après infection [-]

^e Sporulation exprimée en nombre de spores produites par lésion 25 jours après infection [$N_{spore} \cdot N_{lesion}^{-1}$]

Tableau 2. Analyses de variance avec un dispositif en split plot effectuées sur les données des premières et deuxième feuilles des plantes d'âges 1, 2, 3 et 4

Source de variation	dl	PINC ^a		EI ^b		EXTL ^c		DEF ^d		SP ^e	
		F	P	F	P	F	P	F	P	F	P
Age des plantes (A)	3	4.83	0.01	0.04	0.98	17.4	<0.01	3.03	0.06	33.7	<0.01
Age des feuilles (a)	1	9.17	<0.01	7.31	0.02	7.52	0.01	2.76	0.11	1.00	0.37
Interaction (A × a)	3	1.74	0.19	1.97	0.16	2.15	0.13	0.96	0.43	2.65	0.18

^a période infectieuse exprimée en nombre de jours [N]

^b Efficacité d'infection [-]

^c Extension des lésions exprimée en proportion de lésions de classes de taille 4 et 5, 21 jours après infection [-]

^d Défoliation exprimée en proportion de folioles détachées 27 jours après infection [-]

^e Sporulation exprimée en nombre de spores produites par lésion 25 jours après infection [$N_{spore} \cdot N_{lesion}^{-1}$]

3.2. Effets de l'âge des plantes et des feuilles sur l'efficacité d'infection

L'efficacité d'infection varie de 0.20 à 0.50 (figure 2).

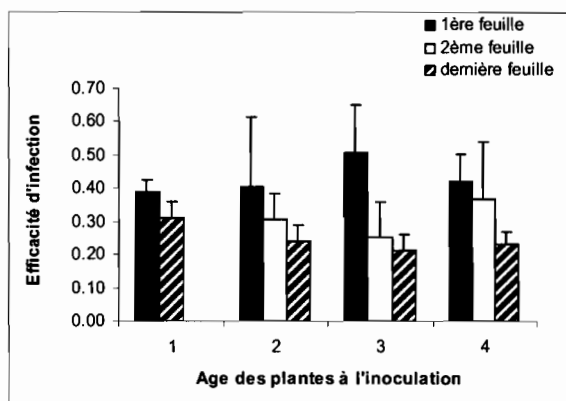


Figure 2. Efficacités d'infection selon l'âge des plantes et des feuilles.

Les valeurs sont les moyennes sur six plantes artificiellement infectées, les barres représentent les écart-types. Les âges des plantes 1, 2, 3, 4 correspondent à des infections artificielles effectuées 38, 45, 52 et 63 jours après semis, respectivement. Pour les plantes d'âge 1, la deuxième feuille est également la dernière.

Elle diminue avec l'âge des feuilles et ces différences sont significatives selon les deux analyses de variance (tableau 1 et tableau 2). L'effet de l'âge des plantes n'est pas significatif, ni l'interaction entre les deux facteurs selon les deux analyses de variance (tableau 1 et tableau 2).

3.3. Effets de l'âge des plantes et des feuilles sur l'extension des lésions

La proportion de lésions de classe de taille 4 (16 mm^2) et 5 (25 mm^2) varie de 0.04 à 0.29 (figure 3).

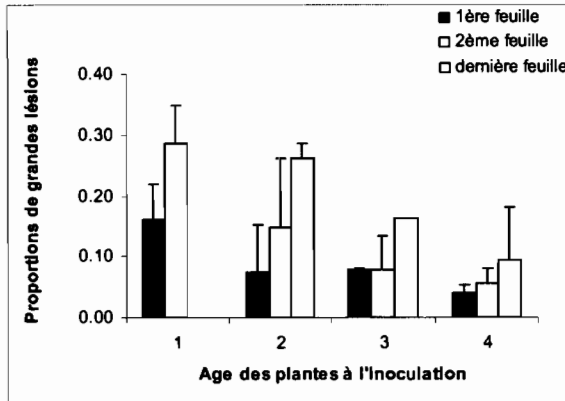


Figure 3. Proportions de grandes lésions (classes de taille 4 et 5) selon l'âge des plantes et des feuilles.

Les valeurs sont les moyennes sur six plantes artificiellement infectées, les barres représentent les écart-types. Les âges des plantes 1, 2, 3, 4 correspondent à des infections artificielles effectuées 38, 45, 52 et 63 jours après semis, respectivement. Pour les plantes d'âge 1, la deuxième feuille est également la dernière.

Elle diminue avec l'âge des plantes et augmente avec l'âge des feuilles. Ces différences sont significatives selon les deux analyses de variance (tableau 1 et tableau 2). L'interaction entre les deux facteurs n'est pas significative selon les deux analyses de variance (tableau 1 et tableau 2).

La figure 4 montre la distribution des lésions selon leur taille au cours du temps. Les proportions de petites lésions (de 1 à 9 mm²) sont réduites au cours des observations, au profit des proportions de grandes lésions (16 et 25 mm²). Cette accumulation de grandes lésions augmente avec l'âge des feuilles (supérieure pour les dernières feuilles, DF) et diminue avec l'âge des plantes (supérieure pour les plantes les plus jeunes). A partir du vingt quatrième jour après infection, une défoliation importante des folioles infectées est observée pour les plantes d'âge 4 (A = 63 jours) et aucune observation n'a pu être effectuée (figure 4). La défoliation est observée trois jours plus tard pour les âges de plantes 1 et 2 (27 jours après infection pour A = 38 et A = 45) et semble plus importante pour les plantes d'âge 1 (A = 38).

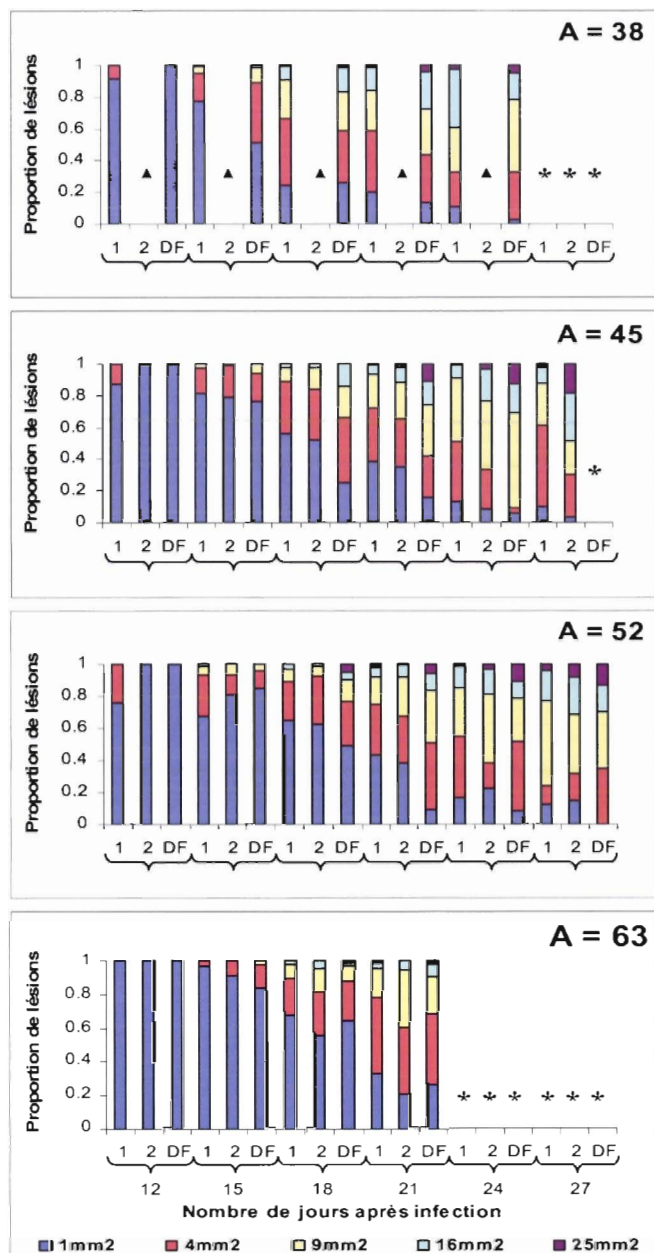


Figure 4. Distribution des lésions selon leur taille (mm^2) et selon l'âge des plantes (A) et des feuilles au cours du temps.

1, première feuille, 2, deuxième feuille, DF, dernière feuille; ▲ la deuxième feuille est également la dernière; * aucune observation disponible due à la défoliation des tissus infectés.

3.4. Effets de l'âge des plantes et des feuilles sur la défoliation des folioles infectées

La proportion de folioles détachées varie de 0.25 à 1 (figure 5).

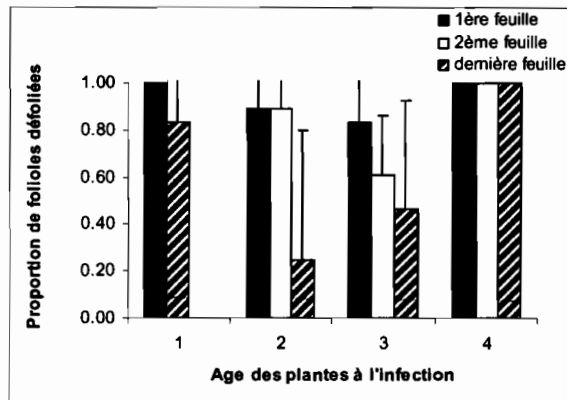


Figure 5. Proportions de folioles détachées selon l'âge des plantes et des feuilles.

Les valeurs sont les moyennes sur six plantes artificiellement infectées, les barres représentent les écart-types. Les âges des plantes 1, 2, 3, 4 correspondent à des infections artificielles effectuées 38, 45, 52 et 63 jours après semis, respectivement. Pour les plantes d'âge 1, la deuxième feuille est également la dernière.

Les variations de proportion de folioles détachées sont très importantes et ne permettent pas de détecter d'effets significatifs de l'âge des plantes, de l'âge des feuilles, ni de l'interaction lorsque l'on considère le dispositif qui inclut les quatre âges de plantes (tableau 2). Par contre, lorsque l'on ne considère que les plantes d'âge 2, 3 et 4, l'analyse de variance montre des effets significatifs des facteurs et de l'interaction (tableau 1). Numériquement, la défoliation semble toucher principalement les plantes les plus âgées et les plus jeunes.

3.5. Effets de l'âge des plantes et des feuilles sur l'intensité de sporulation

L'intensité de sporulation varie de 300 à 7000 spores par lésion (figure 6). Elle diminue fortement avec l'âge des plantes et ces différences sont significatives selon les deux analyses de variance (tableau 1 et tableau 2). L'effet de l'âge des feuilles n'est pas significatif, ni l'interaction entre les deux facteurs selon les deux analyses de variance (tableau 1 et tableau 2).

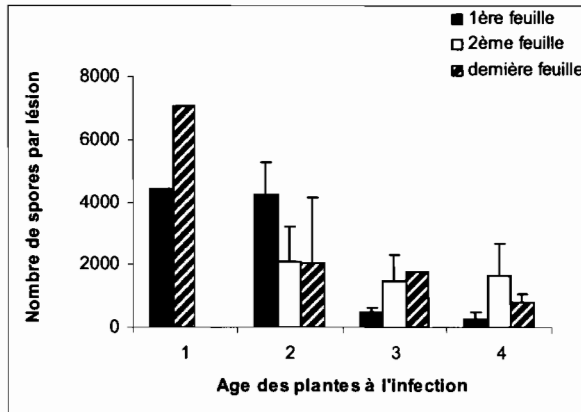


Figure 6. Intensités de sporulation des lésions selon l'âge des plantes et des feuilles.

Les valeurs sont les moyennes sur cinq folioles artificiellement infectées, les barres représentent les écart-types. Les âges des plantes 1, 2, 3, 4 correspondent à des infections artificielles effectuées 38, 45, 52 et 63 jours après semis, respectivement. Pour les plantes d'âge 1, la deuxième feuille est également la dernière.

3.6. Effets de l'âge des plantes et des feuilles sur la période de latence

La période de latence varie de 11 à 15 jours (figure 7). Elle tend à être numériquement plus élevée pour des feuilles plus âgées, essentiellement pour des plantes d'âges 3 et 4 (Pour A = 52, la période de latence moyenne est de 10.8 (F1), 14.6 (F2) et 15.4 jours (DF); Pour A = 63, elle est de 12.2 (F1), 14.5 (F2) et 14.2 jours (DF)). Ces données sont des estimations à partir des droites de régressions du nombre de spores par lésion en fonction du temps. Aussi, elles n'ont pas été analysées statistiquement puisqu'elles ne correspondent qu'à une seule observation.

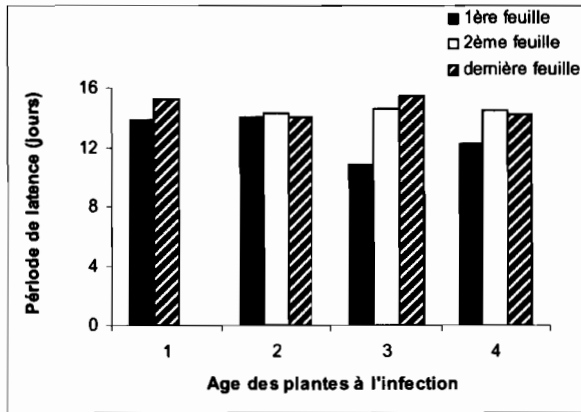


Figure 7. Périodes de latence selon l'âge des plantes et des feuilles.

Les valeurs correspondent à l'estimation de la période de latence à partir des droites de régressions du nombre de spores par lésion en fonction du temps. Les âges des plantes 1, 2, 3, 4 correspondent à des infections artificielles effectuées 38, 45, 52 et 63 jours après semis, respectivement. Pour les plantes d'âge 1, la deuxième feuille est également la dernière.

4. Discussion

Les effets de l'âge des plantes et des feuilles sur les caractéristiques épidémiologiques considérées dans cette étude sont complexes. Une feuille âgée présente généralement moins de lésions qui apparaissent moins vite. Ces lésions semblent s'étendre plus mais sporulent moins rapidement. Une plante âgée présente en général des lésions qui apparaissent moins vite, s'étendent moins et produisent moins de spores. Les résultats de cette expérimentation suggèrent une résistance des tissus âgés du haricot commun à *P. griseola*. Cette expérience nécessite une répétition puisqu'elle n'a été réalisée qu'une seule fois. Néanmoins, les résultats corroborent les observations de Alvarez-Ayala et Schwartz (1979) qui rapportent que les deuxièmes et troisièmes feuilles trifoliées apparues après émergence et inoculées sont plus sensibles à *P. griseola*.

Cette résistance des tissus âgés a été rapportée pour d'autres pathosystèmes incluant principalement des pathogènes biotrophes. Une réduction de l'efficacité des infections avec l'âge des plantes et des feuilles est observée chez *Uromyces phaseoli* (Schein, 1965), *Erysiphe graminis* f. sp. *hordei* (Aust et al., 1980), *Puccinia arachidis* (Savary, 1987), *Phakopsora*

Chapitre 3 - Effets épidémiologiques de la résistance partielle, l'âge des plantes et l'âge des feuilles

pachyrhizi (Melching et al., 1988) et *Puccinia allii* (Jennings et al., 1990). Néanmoins, Parlevliet (1979) et Parlevliet et Kuiper (1977) rapportent des fréquences d'infection plus importantes sur des feuilles âgées chez *Puccinia hordei* et *Erysiphe graminis* f. sp. *avenae*. Pour des tissus âgés, la période de latence est quant à elle reportée plus longue chez *Puccinia hordei* et *Puccinia recondita* f. sp. *recondita* (Parlevliet, 1975; Parlevliet, 1979; Tomerlin et al., 1983), *Puccinia arachidis* (Savary, 1987) et *Puccinia allii* (Jennings et al., 1990).

Quelques exemples d'études de l'effet de l'âge des plantes et des feuilles sur les densités de lésion sont disponibles pour des pathogènes proches de *Phaeosariopsis griseola*. Dans le cas de la cercosporiose de l'arachide due à *Cercosporidium personatum*, la densité de lésions a été rapportée plus élevée sur des feuilles âgées de variétés résistantes (Cook, 1981). Cependant, pour des variétés sensibles la densité de lésions a été rapportée plus faible sur les feuilles les plus âgées et les plus jeunes, cette densité de lésions étant fonction de la surface foliaire qui est plus faible pour ces feuilles (Cook, 1981). Les feuilles âgées des plantes de tomate sont plus sensibles à *Septoria lycopersici* que les feuilles jeunes, mais ces différences ne sont observables que pour des densités d'inoculum (nombre de spores déposées sur les plantes à l'infection) élevées (Elmer et Ferrandino, 1995). La densité de lésions de *Mycosphaerella fragariae* a été rapportée plus élevée sur des feuilles jeunes de fraisiers (Carisse et al., 2000). Ces résultats suggèrent que les effets de l'âge des tissus hôtes sur les niveaux de maladie sont complexes et variables selon le pathosystème étudié. Une perspective de recherche serait d'utiliser le modèle élaboré dans le chapitre 2 pour étudier les interactions complexes existantes entre l'âge des plantes et l'âge des feuilles et leurs effets sur les épidémies.

Cette expérience suggère plusieurs caractéristiques épidémiologiques importantes pour la tache angulaire. Elle amène à deux conclusions utiles pour l'étude des effets des composantes de résistance partielle sur les épidémies de *P. griseola*. D'une part, la défoliation des tissus hôtes due à la maladie semble être variable d'une feuille à l'autre et d'une plante à l'autre, rendant difficile la mise en évidence d'effets significatifs des facteurs. La défoliation des tissus infectés peut compliquer la quantification des caractéristiques épidémiologiques telles que la durée de la période infectieuse par exemple. D'autre part, une autre définition opérationnelle pour la période de latence doit être envisagée pour être en mesure d'estimer les variations autour de la moyenne.

B. Composantes de résistance partielle

1. Introduction

L'analyse des composantes de résistance est fondée sur une description détaillée du cycle du parasite que l'on décompose en étapes. A chaque étape du cycle, la résistance de la plante peut être plus ou moins efficace pour contrer le développement ou la multiplication du pathogène (Zadoks, 1972; Parlevliet, 1979; Zadoks et Schein, 1979). Les composantes de résistance sont calculées à partir des mesures de caractéristiques épidémiologiques décrivant le cycle du pathogène. Ces composantes de résistance peuvent être ensuite combinée en une variable unique représentant la performance, en terme de multiplication du pathogène, du processus monocyclique pour un couple variété/isolat considéré (Savary et Zadoks, 1989a).

Les composantes de résistance sont généralement estimées en réalisant des expérimentations d'infections artificielles monocycliques en serre. Le développement de la maladie en serre ou en conditions contrôlées diffère des épidémies polycycliques au champ puisque les conditions environnementales y sont suboptimales. Cependant, le contrôle accru des sources de variation et de l'erreur expérimentale permet l'étude d'un seul cycle d'infection en détails (Diaz-Lago et al., 2003).

Les objectifs de cette expérience étaient :

- 1) de définir des caractéristiques épidémiologiques représentatives des principaux processus intervenant dans le cycle de *P. griseola*
- 2) d'établir des définitions opérationnelles permettant de mesurer ces caractéristiques épidémiologiques
- 3) de calculer les résistances relatives pour ces caractéristiques épidémiologiques
- 4) d'étudier les effets de ces composantes de résistance sur les épidémies de tache angulaire à l'aide de la modélisation.

2. Matériel et méthodes

2.1. Quantification des composantes de résistance partielle

2.1.1. Caractéristiques épidémiologiques à quantifier

Chapitre 3 - Effets épidémiologiques de la résistance partielle, l'âge des plantes et l'âge des feuilles

Les résultats obtenus dans la section précédente (IIIA) permettent de choisir les caractéristiques épidémiologiques suivantes pour étudier l'effet de l'interaction entre la variété de haricot et l'isolat de *P. griseola* :

- l'efficacité d'infection : proportion de propagules efficaces produisant une lésion,
- l'extension des lésions : augmentation de la taille des lésions en fonction du temps,
- la période de latence 50 (PL₅₀) : délai séparant le dépôt des propagules sur l'hôte et la présence de 50% de lésions produisant de nouvelles propagules,
- l'intensité de la sporulation : quantité de propagules produites par lésion.

Chacune de ces caractéristiques épidémiologiques peut être traduite par une résistance relative au développement ou à la multiplication du pathogène. La résistance partielle pour la période infectieuse n'a pas été mesurée dans cette expérimentation car cette caractéristique épidémiologique est très difficile à quantifier dans le cas d'une maladie impliquant une défoliation des tissus infectés.

2.1.2. Choix des isolats, des variétés hôtes et des doses d'inoculum

Les interactions entre quatre isolats de *P. griseola* et quatre variétés de haricot commun ont été étudiées. Les quatre isolats choisis doivent être d'agressivité différente selon la variété, et les variétés hôtes doivent être de sensibilité différente selon l'isolat inoculé pour pouvoir mettre en évidence différents niveaux de résistance partielle. Les quatre variétés utilisées étaient BAT332, Flor de Mayo, Mexico54 et G11796. Elles font partie de la gamme de douze variétés différentielles recommandées par le CIAT et acceptée à l'atelier international sur la tache angulaire en 1995 (ALS International Workshop). Les variétés BAT332 et Flor de Mayo (petits grains) et Mexico54 (grains moyens) font partie du pool génétique Méso-américain. La variété G11796 (grands grains) fait partie du pool génétique Andin. Les isolats ont été choisis à partir des résultats de symptômes obtenus pour douze isolats provenant du Costa Rica (CR) inoculés sur ces quatre variétés (Busogoro JP, données non publiées). Ces isolats étaient : CR7, CR8, CR19, CR57.

2.1.3. Matériel végétal

Pour chaque combinaison variété/ isolat, deux lots de plantes ont été considérés. Le premier lot, composé de huit plantes, a servi à effectuer des observations non destructives

Chapitre 3 - Effets épidémiologiques de la résistance partielle, l'âge des plantes et l'âge des feuilles

concernant l'efficacité d'infection et l'extension des lésions. Le deuxième lot, composé de 12 plantes, a servi à effectuer des observations destructives concernant l'intensité de sporulation et la période de latence. Les plantes ont été semées dans des pots de 15 cm de diamètre, avec deux plantes par pot.

2.1.4. Infections artificielles

Des infections artificielles des quatre isolats ont été réalisées sur les deux premières feuilles trifoliées ouvertes de chacune des plantes des quatre variétés âgées de 23 jours. Une suspension de spores à 25 spores par μl d'eau distillée a été pulvérisée à l'aide d'un pulvérisateur sous pression (Modèle SJ Transformer : the aerograph - De Vilbisc Company LTD, pression : 2.8 kg/cm^2) sur chaque foliole de chacune des feuilles, pour chaque combinaison isolat/variété. Les plantes ont été placées dans des cages hermétiques en polyéthylène tout au long des expériences. L'incubation des plantes a été réalisée en saturant d'eau la vermiculite durant trois jours successifs. Les différentes combinaisons variété/ isolat ont été séparées dans la mesure du possible pour éviter les contaminations intercombinaisons.

2.1.5. Induction de la sporulation des lésions des feuilles inoculées

Une période minimale de 48h d'humectation du couvert est nécessaire pour une sporulation abondante (Cardona-Alvarez et Walker, 1956). Les plantes ont donc été incubées dans les cages mentionnées précédemment, en saturant d'eau la vermiculite, dès l'apparition de lésions sur au moins six folioles d'une combinaison et ce pendant toute la durée des observations.

2.1.6. Observations

- Observations sur le premier lot de huit plantes, définitions opérationnelles

Efficacité d'infection (EI)

L'efficacité d'infection est opérationnellement définie (Zadoks, 1972) comme étant le rapport de la densité de lésions observées sur la densité de spores déposées (Schein, 1964; Zadoks et Schein, 1979).

Elle est estimée par :

$$EI = dl / ds$$

Chapitre 3 - Effets épidémiologiques de la résistance partielle, l'âge des plantes et l'âge des feuilles

où d_l représente la densité finale de lésions et d_s la densité de spores déposées lors de l'infection artificielle. Le nombre de spores déposées par cm^2 a été calculé en pulvérisant deux pulvérisations de la suspension de spores ayant servi à infecter les plantes sur une boîte de Pétri contenant de l'agar, pour chacune des combinaisons. Les boîtes de Pétri ont été ensuite déposées dans un incubateur à 24°C , à l'obscurité durant une nuit. Le lendemain, une goutte de bleu coton a été déposée à trois endroits de la boîte de Pétri et une lamelle a été disposée par dessus. Le nombre de spores dénombré par lamelle a ensuite été divisé par la surface de la lamelle pour obtenir un nombre de spores déposé par cm^2 .

Le nombre de lésions a été dénombré tous les trois jours à partir des infections artificielles. De plus, la longueur et la largeur des folioles centrales des feuilles inoculées ont été déterminées avant infection. A partir d'une droite de régression d'équation $y = a x + b$ (avec x : produit longueur \times largeur du foliole central et y : surface totale de la feuille), la surface des feuilles a été déterminée pour chaque variété. Les droites de régression ont été calculées à partir des données obtenues pour 10 feuilles échantillonnées au hasard par variété. Les contours de ces feuilles ont été dessinés sur des feuilles de papier puis découpés et pesés. La longueur et la largeur de la foliole centrale de ces feuilles ont été mesurées dans le même temps. Trois carrés de surfaces de 9, 16 et 25 cm^2 ont été découpés dans le même type de feuilles de papier (même grain) et pesés. Une gamme étalon est alors constituée par ces trois carrés de papier, reliant le poids à la surface de ces carrés. Les surfaces des contours de papier mimant les feuilles échantillonnées ont été calculées à partir de leurs poids et à l'aide de la gamme étalon. Les équations par variété sont les suivantes :

- BAT332 : $y = 1.55x - 2.19$ ($r^2 = 0.99$; $n=10$)

- G11796 : $y = 1.44x + 0.45$ ($r^2 = 0.99$; $n=10$)

- Mexico54 : $y = 1.55x - 5.06$ ($r^2 = 0.99$; $n=10$)

- Flor de Mayo : $y = 1.57x - 0.84$ ($r^2 = 0.99$; $n=10$)

En divisant le nombre de lésions observées 22 jours après infection par la surface foliaire, la densité de lésions a été calculée.

Extension des lésions (EXTL)

L'extension d'une lésion est opérationnellement définie comme le passage d'une lésion appartenant à une classe de taille donnée à la classe de rang immédiatement supérieur. A

Chapitre 3 - Effets épidémiologiques de la résistance partielle, l'âge des plantes et l'âge des feuilles

chaque observation du nombre de lésions présentes, une estimation de la taille de ces lésions a été effectuée. La taille de chaque lésion de chacune des feuilles infectées des quatre variétés a été estimée à l'aide d'une échelle de la taille des lésions à cinq classes (figure 1, Chapitre 2 III E). Les cinq classes correspondent à des carrés de surface de 1 à 25 mm². L'effet des différents facteurs a été testé sur la proportion de lésions ayant une taille de 9, 16 et 25 mm² (proportions de grandes lésions) présentes, 22 jours après l'infection artificielle.

- Observations sur le deuxième lot de 12 plantes, définition opérationnelle

Période de latence 50 (PL₅₀)

La période de latence 50 est opérationnellement définie comme le délai nécessaire pour que 50% des lésions sporulent (Shaw, 1990). Les observations ont commencé dès que six folioles ont montré des lésions (au moins deux lésions), et ce jusqu'à ce que en moyenne 50% des lésions produisent des spores. La quantification de la période de latence 50 a été effectuée à l'aide d'un ruban adhésif transparent apposé sur un échantillon de 2 à maximum 10 lésions présentes sur six demi folioles par observation et par combinaison. Le ruban adhésif a été apposé sur une lame sur laquelle une goutte de bleu coton a été préalablement déposée. Le nombre de lésions sporulantes (définie comme présentant au minimum une spore) a été rapporté au nombre total de lésions présentes. Les données de la période de latence 50 ont été préalablement converties en inverse de PL₅₀ (1/PL₅₀). Pour les valeurs de PL₅₀ indéterminées, la valeur 0 a arbitrairement été attribuée à la variable 1/PL₅₀.

Intensité de sporulation (SP)

L'intensité de sporulation est opérationnellement définie comme la quantité de spores produites par lésion à une date donnée. Elle a été quantifiée cinq jours après la fin de la période de latence 50 sur six folioles pour chacune des combinaisons. Toutes les lésions de ces six folioles ont été découpées et mises en suspension avec 100µl par lésion d'une solution de Tween (80) à 0.01% v/v dans de l'eau distillée. La concentration des solutions a été estimée par cinq comptages successifs à l'hématimètre. Le nombre moyen de spores par lésion a été calculé en multipliant cette concentration par le volume de suspension utilisé et en divisant par le nombre de lésions découpées par foliole.

2.1.7. Calcul des composantes de résistance

Les composantes de résistance sont représentées par des valeurs relatives comprises entre 0 (résistance minimale) et 1 (résistance maximale), qui fournissent une mesure du freinage exercé par la plante sur la progression du parasite au cours du cycle parasitaire (Zadoks, 1972). Ces valeurs relatives sont fondées sur une comparaison de la combinaison variété/ isolat considérée avec la référence de sensibilité maximale pour chacune des caractéristiques épidémiologiques prises en compte.

Les résistances relatives pour l'infection (RR_{EI}), pour l'extension des lésions (RR_{EXTL}), pour la période de latence (RR_{PL}), pour la sporulation (RR_{SP}) et pour la durée de la période infectieuse (RR_{PI}) constituent un système fermé de cinq composantes de résistance couvrant l'ensemble du cycle de *P. griseola*.

Les valeurs de RR_{EI} , RR_{EXTL} , RR_{SP} , RR_{PL} et RR_{PI} peuvent être calculées comme suit (Zadoks, 1972) :

$$RR = 1 - X_X/X_T$$

où X_X est la caractéristique épidémiologique (EI, EXTL, SP, 1/PL₅₀ ou PI) de la combinaison variété/ isolat considérée et X_T la caractéristique épidémiologique la plus élevée enregistrée au cours de l'expérience (référence de sensibilité maximale).

Une résistance relative combinée (RR_c) peut être alors calculée, qui incorpore l'ensemble des variations des composantes de résistance (RR_i) considérées. RR_c est calculée selon la formule élaborée par Savary et Zadoks (1989a) :

$$RR_c = (1/(2^p - 1)) \cdot [[\prod_{i=1}^p (RR_i + 1)] - 1]$$

où p représente le nombre de caractéristiques épidémiologiques considérées.

Dans le cas de la tache angulaire, on a :

$$RR_c = (1/15) \cdot [(RR_{EI} + 1) \cdot (RR_{EXTL} + 1) \cdot (RR_{PL} + 1) \cdot (RR_{SP} + 1) \cdot (RR_{PI} + 1)] - 1$$

La période infectieuse n'ayant pas été mesurée dans cette expérience, une valeur de 0 a été arbitrairement donnée à RR_{PI} .

RR_c a alors été estimée par :

$$RR_c = (1/15) \cdot [(RR_{EI} + 1) \cdot (RR_{EXTL} + 1) \cdot (RR_{PL} + 1) \cdot (RR_{SP} + 1)] - 1$$

2.1.8. Analyse des résultats

Pour chacune des caractéristiques épidémiologiques (EI, EXTL, PL₅₀, et SP), des analyses de variance à deux facteurs (variété et isolat) ont été réalisées (Gomez et Gomez, 1984) à l'aide de la procédure GLM du logiciel SAS (SAS Institute, Cary, NC, version 8, 1999-2001). Les données de l'efficacité d'infection (EI) ont été transformées en racine carrée pour stabiliser les variances (Gomez et Gomez, 1984). Pour chacune des caractéristiques épidémiologiques (EI, EXTL, PL₅₀, et SP), une comparaison des moyennes des différentes combinaisons variété/ isolat a été effectuée avec la méthode de la plus petite différence significative (LSD).

2.2. Etude de l'effet des composantes de résistance partielle sur les épidémies à l'aide de la modélisation

L'étude de l'effet des composantes de résistance partielle sur les épidémies peut être envisagée en incorporant les mesures des composantes de résistance dans un modèle dynamique permettant de simuler les épidémies (par exemple : Zadoks, 1971; Zadoks, 1977; Rappilly et al., 1977). On passe ainsi d'une dimension monocyclique (avec des mesures des processus monocycliques les plus importants) à une dimension polycyclique (des épidémies simulées). De plus, en utilisant un modèle de simulation, l'effet de ces composantes de résistance sur les épidémies peut être étudié en interaction avec d'autres facteurs, tels que les facteurs environnementaux, la croissance de l'hôte, ou la défoliation des tissus malades, qui nous intéresse plus particulièrement.

Le modèle élaboré dans le chapitre 2, qui incorpore la défoliation des tissus infectés et la mobilisation de l'inoculum à partir de ces tissus défoliés, a été utilisé dans le but d'étudier l'effet des composantes de résistance partielle sur les épidémies de tache angulaire. Les valeurs des paramètres sont celles utilisées pour les épidémies simulées pour le couvert entier de la répétition 2 du chapitre 2 II D. Les valeurs des facteurs de multiplication quotidiens quantifiés expérimentalement et des périodes infectieuses sont maximales (DMFRc = 0.989 et DMFRd = 0.490; ic = id = 20 jours).

Les valeurs de résistances relatives (RR_i) pour l'infection (RR_{EI}), pour la période de latence (RR_{PL}), et pour la sporulation (RR_{SP}) ont été incorporées dans le modèle sous forme

Chapitre 3 - Effets épidémiologiques de la résistance partielle, l'âge des plantes et l'âge des feuilles

de coefficient de résistance variétale (CV, Savary et al., 1990). CV pour l'infection et la sporulation est calculé comme :

$$CV_i = 1 - RR_i$$

Pour la période de latence, CV est calculé comme :

$$CV = 1 + RR_{PL}$$

Les coefficients de résistance variétale pour l'infection (CV_{EI}) et la sporulation (CV_{SP}) interviennent dans le calcul du taux d'infection :

$$RINF = COFR \times ((DMFRc \times INFc \times CV_{SPc}) + (DMFRd \times INFd \times CV_{SPd})) \times CV_{EI}$$

Où COFR est le facteur de correction correspondant au terme $(1-x)$ de l'équation de Van der Plank (1963), DMFRc et DMFRd sont les facteurs quotidiens de multiplication des sites infectieux situés dans le couvert (INFc) et sur les tissus défoliés (INFd), respectivement. CV_{EI} est le coefficient de résistance variétale pour l'infection. Deux coefficients de résistance variétale pour la sporulation sont considérés, CV_{SPc} et CV_{SPd} , pour la sporulation des sites infectieux situés dans le couvert et sur les tissus défoliés, respectivement. CV_{SPd} a été fixé égal à 1, c'est-à-dire pour une RR_{SPd} égale à 0. Cette hypothèse supplémentaire du modèle implique que les sites infectieux des tissus défoliés n'expriment aucune résistance pour la sporulation, quelque soit la variété considérée, produisant autant de spores que la référence de sensibilité maximale. Le coefficient de résistance variétale pour la période de latence (CV_{PL}) est incorporé dans le modèle comme facteur multiplicatif de la durée de transit des sites dans leur état latent simulé sous forme d'une chaîne de boxcar (Rabbinge et al., 1989).

Les valeurs des résistances relatives (RR_i) utilisées étaient de 0, 0.3, 0.6 et 0.9, valeurs représentatives des valeurs obtenues expérimentalement. Une valeur de $RR_i = 0$ correspond à une sensibilité maximale de la variété de haricot à *P. griseola* pour la caractéristique épidémiologique étudiée, tandis qu'une valeur de RR_i proche de 1 correspond à une résistance maximale.

Les aires sous les courbes de progression de la sévérité (AUSPC), obtenues pour chacune des simulations, ont été calculées avec la méthode d'intégration trapézoïdale (Campbell et Madden, 1990). Les AUSPC ont été successivement traitées par des analyses de variance à un facteur pour chacune des résistances relatives (résistance relative, RR_{EI} , RR_{PL} ou RR_{SP} ; Gomez et Gomez, 1984) à l'aide de la procédure GLM du logiciel SAS (SAS Institute, Cary, NC, version 8, 1999-2001). Les données de AUSPC ont été préalablement transformées en

racine carrée pour stabiliser les variances (Gomez et Gomez, 1984). Les rapports de Fisher ont alors été comparés pour juger l'importance des effets des composantes de résistance sur les épidémies (Luo et Zeng, 1995).

3. Résultats

3.1. Quantification des composantes de résistance partielle

3.1.1. Effet de la variété et de l'isolat sur l'efficacité d'infection (EI)

Des différences significatives d'efficacité d'infection sont observées entre les combinaisons variété/ isolat ($p < 0.01$) et une interaction entre la variété et l'isolat est mise en évidence (tableau 1).

Les variations de EI sont considérables (tableau 2), de 0.002 (BAT332/ isolat CR7) à 0.130 lésion par spore déposée (BAT332/ isolat CR57). Le classement des combinaisons variété/ isolat entre elles (LSD à $p < 0.05$) suggère quatre groupes de combinaisons correspondant à des valeurs de EI de l'ordre de 0.10 (groupe 1, a et ab), 0.06 (groupe 2, bc et bcd), 0.03 (groupe 3, cde) et ≤ 0.01 (groupe 4, de et e). Le groupe 4 regroupe principalement les combinaisons incluant les isolats CR7 et CR8. Ceci est indiqué par un rapport de Fisher très important pour la source de variation isolat par rapport à celui de la source de variation variété (tableau 1). Les spores des isolats CR7 et CR8 sont moins efficaces sur l'ensemble des variétés, sauf pour la combinaison G11796/ CR8 incluse dans le groupe 2.

Chapitre 3 - Effets épidémiologiques de la résistance partielle, l'âge des plantes et l'âge des feuilles

Tableau 1. Rapports de Fisher pour les sources de variation cultivar, isolat et interaction variété x isolat selon les analyses de variances conduites sur les données des caractéristiques épidémiologiques

Source de variation	EI ^a	EXTL ^b	1/PL50 ^c	SP ^d
Variété	6.96*	10.2*	16.4*	5.05*
Isolat	23.5*	32.4*	28.7*	37.5*
Variété x isolat	3.29*	15.8*	16.8*	5.78*
CV ^e	76.6	73.0	23.9	74.1

^a Efficacité d'infection [-]

^b Extension des lésions exprimée en proportion de lésions de taille 9, 16 et 25 mm² à 22 jours post infection [-]

^c Inverse de la période de latence [jour⁻¹]

^d Sporulation exprimée en nombre de spores par lésion cinq jours après la fin de la période de latence [$N_{spore} \cdot N_{lésion}^{-1}$]

^e Coefficient de variation (%)

Les valeurs suivies de* sont significatives au seuil $p < 0.01$

Tableau 2. Efficacités d'infection (EI) des spores pour les différentes combinaisons variété / isolat

Variété	Isolat	EI ^a
Flor de Mayo	CR7	0.005 de
	CR8	0.005 de
	CR19	0.028 cde
	CR57	0.023 cde
BAT332	CR7	0.002 e
	CR8	0.003 e
	CR19	0.034 cde
	CR57	0.130 a
G11796	CR7	0.007 de
	CR8	0.066 bc
	CR19	0.116 ab
	CR57	0.061 bcd
Mexico54	CR7	0.003 e
	CR8	0.005 de
	CR19	0.004 de
	CR57	0.098 ab

^a Moyennes sur huit plantes. Les valeurs suivies de lettres différentes sont significativement différentes au seuil $p < 0.05$ selon le test de comparaisons de moyennes de la plus petite différence significative (LSD = 0.057).

Chapitre 3 - Effets épidémiologiques de la résistance partielle, l'âge des plantes et l'âge des feuilles

3.1.2. Effet de la variété et de l'isolat sur l'extension des lésions (EXTL)

Des différences significatives de l'extension des lésions sont observées entre les combinaisons variété/ isolat ($p < 0.01$) et une interaction entre la variété et l'isolat est mise en évidence (tableau 1).

Les variations de EXTL sont considérables (tableau 3), de 0% (Flor de Mayo, BAT332 et Mexico 54/ isolat CR8) à 64% de lésions de taille de 9 à 25 mm² (Flor de Mayo / isolat CR19).

Tableau 3. Extension des lésions (Proportion de lésions de taille 9, 16 et 25mm², PGL) pour les différentes combinaisons variété / isolat

Variété	Isolat	PGL ^a
Flor de Mayo	CR7	0.010 d
	CR8	0.000 d
	CR19	0.636 a
	CR57	0.033 cd
BAT332	CR7	0.556 ab
	CR8	0.000 d
	CR19	0.181 c
	CR57	0.560 ab
G11796	CR7	0.122 cd
	CR8	0.037 cd
	CR19	0.424 b
	CR57	0.454 b
Mexico54	CR7	0.025 cd
	CR8	0.000 d
	CR19	0.063 cd
	CR57	0.404 b

^a Moyennes sur huit plantes. Les valeurs suivies de lettres différentes sont significativement différentes au seuil $p < 0.05$ selon le test de comparaisons de moyennes de la plus petite différence significative (LSD = 0.158).

Le classement des combinaisons variété/ isolat entre elles (LSD à $p < 0.05$) suggère quatre groupes de combinaisons correspondant à des valeurs de EXTL de l'ordre de 50% (groupe 1, a, ab et b), 20% (groupe 2, c), 5% (groupe 3, cd) et 0% (groupe 4, d). L'isolat CR8 a une extension des lésions nulle à faible sur l'ensemble des variétés testées (inclus dans les groupes 3 et 4). Ceci est indiqué par un rapport de Fisher très important pour la source de variation isolat par rapport à celui de la source de variation variété (tableau 1).

3.1.3. Effet de la variété et de l'isolat sur l'inverse de la période de latence 50 (1/PL₅₀)

Des différences significatives de la durée de la période de latence sont observées entre les combinaisons variété/ isolat ($p < 0.01$) et une interaction entre la variété et l'isolat est mise en évidence (tableau 1).

Les variations de 1/LP₅₀ sont importantes (tableau 4), de 0 (Flor de Mayo/ isolat CR8) à 0.08 par jour (G11796/ isolat CR57) qui correspondent à des durées de PL₅₀ d'un nombre indéterminé à 12 jours. Le classement des combinaisons variété/ isolat entre elles (LSD à $p < 0.05$) suggère cinq groupes de combinaisons correspondant à des valeurs de PL₅₀ de l'ordre de 12 à 14 jours (groupe 1, a, ab et abc), 16 jours (groupe 2, bcd et bcde), 20 jours (groupe 3, cdef, cdefg et defg), 25 jours (groupe 4, efg, fgh et gh) et ≥ 25 jours (groupe 5, h, i et j). Ces valeurs de période de latence sont très élevées, pouvant être supérieures à 25 jours. Les isolats CR7 et CR8 sont inclus dans les groupes 3, 4 et 5, caractérisés par des périodes de latence très longue (supérieure à 20 jours). Ces isolats génèrent des lésions qui apparaissent tardivement sur l'ensemble des variétés. Le groupe 1, correspondant à des périodes de latence courte (12-14 jours), regroupe principalement l'isolat CR57. Ceci est indiqué par un rapport de Fisher très important pour la source de variation isolat par rapport à celui de la source de variation variété (tableau 1).

On peut noter que pour des variations de l'inverse de la période de latence 50 assez faibles, on observe des différences significatives entre les combinaisons. La mesure de la période de latence 50 est assez précise, avec un coefficient de variation le plus faible des quatre résistances relatives (CV = 24%, contre 77%, 73% et 74%, pour EI, EXTL et SP, respectivement).

3.1.4. Effet de la variété et de l'isolat sur l'intensité de sporulation (SP)

Des différences significatives de l'intensité de sporulation sont observées entre les combinaisons variété/ isolat ($p < 0.01$) et une interaction entre la variété et l'isolat est mise en évidence (tableau 1).

Les variations de SP sont considérables (tableau 5), de 0 (Flor de Mayo, BAT332 et Mexico54/ isolat CR8, et Mexico54/ isolat CR7) à 3×10^4 spores par lésion (BAT332/ isolat CR57).

Chapitre 3 - Effets épidémiologiques de la résistance partielle, l'âge des plantes et l'âge des feuilles

Tableau 4. Inverse de la période de latence 50 (1/PL₅₀) pour les différentes combinaisons variété / isolat

Variété	Isolat	1/PL ₅₀ ^a
Flor de Mayo	CR7	0.051 defg
	CR8	0.000 j *
	CR19	0.060 bcde
	CR57	0.030 h
BAT332	CR7	0.015 i
	CR8	0.052 cdefg
	CR19	0.066 abc
	CR57	0.068 abc
G11796	CR7	0.047 efg
	CR8	0.043 fgh
	CR19	0.062 bcd
	CR57	0.077 a
Mexico54	CR7	0.053 cdef
	CR8	0.047 efg
	CR19	0.039 gh
	CR57	0.078 a

^a Moyennes sur six échantillons foliaires. Les valeurs suivies de lettres différentes sont significativement différentes au seuil $p < 0.05$ selon le test de comparaisons de moyennes de la plus petite différence significative (LSD = 0.013) ; * Pour les valeurs de PL₅₀ indéterminées, la valeur 0 a été arbitrairement attribuée à la variable 1/PL₅₀.

Tableau 5. Intensité de sporulation (nombre de spores par lésion, SPO) pour les différentes combinaisons variété / isolat

Variété	Isolat	SPO ^a
Flor de Mayo	CR7	10677 def
	CR8	0 g
	CR19	24392 bc
	CR57	11849 de
BAT332	CR7	14884 cd
	CR8	0 g
	CR19	14786 cd
	CR57	36208 a
G11796	CR7	1042 fg
	CR8	4774 efg
	CR19	6510 defg
	CR57	26172 b
Mexico54	CR7	0 g
	CR8	0 g
	CR19	1519 fg
	CR57	28342 ab

^a Moyennes sur six échantillons foliaires. Les valeurs suivies de lettres différentes sont significativement différentes au seuil $p < 0.05$ selon le test de comparaisons de moyennes de la plus petite différence significative (LSD = 9635).

Chapitre 3 - Effets épidémiologiques de la résistance partielle, l'âge des plantes et l'âge des feuilles

Le classement des combinaisons variété/ isolat entre elles (LSD à $p < 0.05$) suggère cinq groupes de combinaisons correspondant à des valeurs de SP de l'ordre de 3×10^4 spores par lésion (groupe 1, a, ab, b et bc), 1×10^4 spores par lésion (groupe 2, cd, de et def), 0.5×10^4 spores par lésion (groupe 3, defg et efg), 0.1×10^4 spores par lésion (groupe 4, fg) et 0 spores par lésion (groupe 5, g). Les groupes 1 et 2 regroupent principalement les combinaisons incluant l'isolat CR57 et le groupe 5 celles incluant l'isolat CR8. Ceci est indiqué par un rapport de Fisher très important pour la source de variation isolat par rapport à celui de la source de variation variété (tableau 1). L'isolat CR8 est le moins efficace en terme d'intensité de sporulation sur l'ensemble des variétés, alors que l'isolat CR57 entraîne une forte sporulation.

3.1.5. Relation entre composantes de résistance

Les coefficients de corrélation entre les différentes caractéristiques épidémiologiques étudiées (EI, EXTL, PL et SP) sont reportés dans le tableau 6.

Tableau 6. Matrice des corrélations entre l'efficacité d'infection (EI), l'extension des lésions (EXTL), la période de latence (PL) et la sporulation (SP)

	SP	PL	EXTL	EI
EI ^a	0.64*	0.58*	0.56*	1
EXTL ^b	0.80*	0.38 ^{ns}	1	
PL ^c	0.54*	1		
SP ^d	1			

^a Efficacité d'infection [-]

^b Extension des lésions exprimée en proportion de lésions de taille 9, 16 et 25 mm² à 22 jours post infection [-]

^c Inverse de période de latence [jour⁻¹]

^d Sporulation exprimée en nombre de spores par lésion cinq jours après la fin de la période de latence [$N_{spore} \cdot N_{lésion}^{-1}$]

Les coefficients suivis de * ou ^{ns} sont significatifs ou non au seuil $p < 0.05$

Les quatre variables sont significativement corrélées entre elles, sauf l'extension des lésions et la période de latence. Le coefficient de corrélation le plus important est celui liant l'extension des lésions et la sporulation (0.80). Les autres coefficients sont relativement faibles.

Chapitre 3 - Effets épidémiologiques de la résistance partielle, l'âge des plantes et l'âge des feuilles

3.1.6. Valeurs relatives des composantes de résistance

Le tableau 7 donne les valeurs relatives des composantes de résistance pour l'infection, l'extension des lésions, la période de latence, la sporulation et la résistance combinée (RR_{EI}, RR_{EXTL}, RR_{PL}, RR_{SP} et RR_c, respectivement).

Tableau 7. Valeurs relatives des composantes de résistance pour l'infection, l'extension des lésions, la période de latence et la sporulation pour les différentes combinaisons variété / isolat

Variété	Isolat	RR _{EI} ^a	RR _{EXTL} ^b	RR _{PL} ^c	RR _{SP} ^d	RR _c ^e
Flor de Mayo	CR7	0.96	0.98	0.35	0.71	0.53
	CR8	0.96	1.00	1.00	1.00	0.98
	CR19	0.78	0.00	0.23	0.33	0.13
	CR57	0.82	0.95	0.62	0.67	0.57
BAT332	CR7	0.98	0.13	0.81	0.59	0.36
	CR8	0.98	1.00	0.33	1.00	0.64
	CR19	0.73	0.71	0.17	0.59	0.30
	CR57	0.00	0.12	0.14	0.00	0.02
G11796	CR7	0.95	0.81	0.40	0.97	0.58
	CR8	0.50	0.94	0.45	0.87	0.46
	CR19	0.11	0.33	0.21	0.82	0.15
	CR57	0.53	0.29	0.01	0.28	0.10
Mexico54	CR7	0.98	0.96	0.32	1.00	0.62
	CR8	0.96	1.00	0.40	1.00	0.66
	CR19	0.97	0.90	0.50	0.96	0.67
	CR57	0.25	0.37	0.00	0.22	0.07

^a Résistance relative pour l'infection

^b Résistance relative pour l'extension des lésions

^c Résistance relative pour la période de latence

^d Résistance relative pour la sporulation

Les résistances relatives sont calculées comme $RR = 1 - X_X / X_T$, où X_X est la caractéristique épidémiologique (EI, EXTL, SP ou 1/PL₅₀) de la combinaison variété / isolat considérée, et X_T la caractéristique épidémiologique la plus élevée enregistrée au cours de l'expérience (référence de sensibilité maximale)

^e Résistance relative combinée calculée comme:

$$RR_c = (1/15) \cdot [(RR_{EI} + 1) \cdot (RR_{EXTL} + 1) \cdot (RR_{PL} + 1) \cdot (RR_{SP} + 1)] - 1]$$

Pour une combinaison variété/ isolat donnée, le freinage de la résistance partielle exercée sur le pathogène ne s'exprime pas à tous les niveaux du cycle du pathogène. Par exemple, pour la combinaison G11796/ isolat CR19, on passe d'une résistance relative faible (≈ 0.2) pour

Chapitre 3 - Effets épidémiologiques de la résistance partielle, l'âge des plantes et l'âge des feuilles

l'efficacité d'infection, l'extension des lésions et la période de latence, à une résistance relative forte (≈ 0.8) pour la sporulation.

L'isolat CR8 est l'isolat associé aux résistances relatives les plus élevées pour toutes les caractéristiques épidémiologiques étudiées. L'isolat CR57 apparaît être le plus agressif, amenant à des résistances relatives les plus faibles de trois variétés sur quatre (à l'exception de la variété Flor de Mayo). En moyenne, les variétés testées sont toutes sensibles aux isolats testés : les résistances relatives combinées n'excèdent pas 0.70, à l'exception de la variété Flor de Mayo qui est très résistante à l'isolat CR8 (RRc proche de 1).

3.2. Etude de l'effet des composantes de résistance partielle sur les épidémies à l'aide de la modélisation

Les aires sous les courbes de progression de la sévérité, obtenues pour chacune des simulations, sont représentées dans la figure 1. L'augmentation des valeurs de résistances relatives pour l'infection, la période de latence et la sporulation (de 0 à 0.9) entraîne des réductions d'AUSPC importantes (tableau 8).

Tableau 8. Valeurs moyennes des aires sous la courbe de progression de la sévérité (AUSPC)

RRi ^a	AUSPC _{EI} ^b	AUSPC _{PL} ^c	AUSPC _{SP} ^d
0	0.086 (0.144) ^e	0.114 (0.145)	0.081 (0.142)
0.3	0.050 (0.065)	0.035 (0.023)	0.050 (0.070)
0.6	0.027 (0.024)	0.019 (0.009)	0.030 (0.030)
0.9	0.014 (0.005)	0.009 (0.0001)	0.017 (0.010)
Réduction (%) ^f	84	92	79

^a RRi, résistance relative pour la caractéristique épidémiologique considérée, avec $0 \leq RRi \leq 1$ ($RRi = 0$ pour une résistance minimale et $RRi = 1$ pour une résistance maximale)

^b Moyenne des seize aires sous la courbe de progression de la sévérité pour la résistance relative pour l'infection (RR_{EI})

^c Moyenne des seize aires sous la courbe de progression de la sévérité pour la résistance relative pour la période de latence (RR_{PL})

^d Moyenne des seize aires sous la courbe de progression de la sévérité pour la résistance relative pour la sporulation (RR_{SP})

^e Les valeurs entre parenthèses correspondent à l'écart type

^f Réduction d'AUSPC suite à une augmentation de RRi de 0 à 0.9

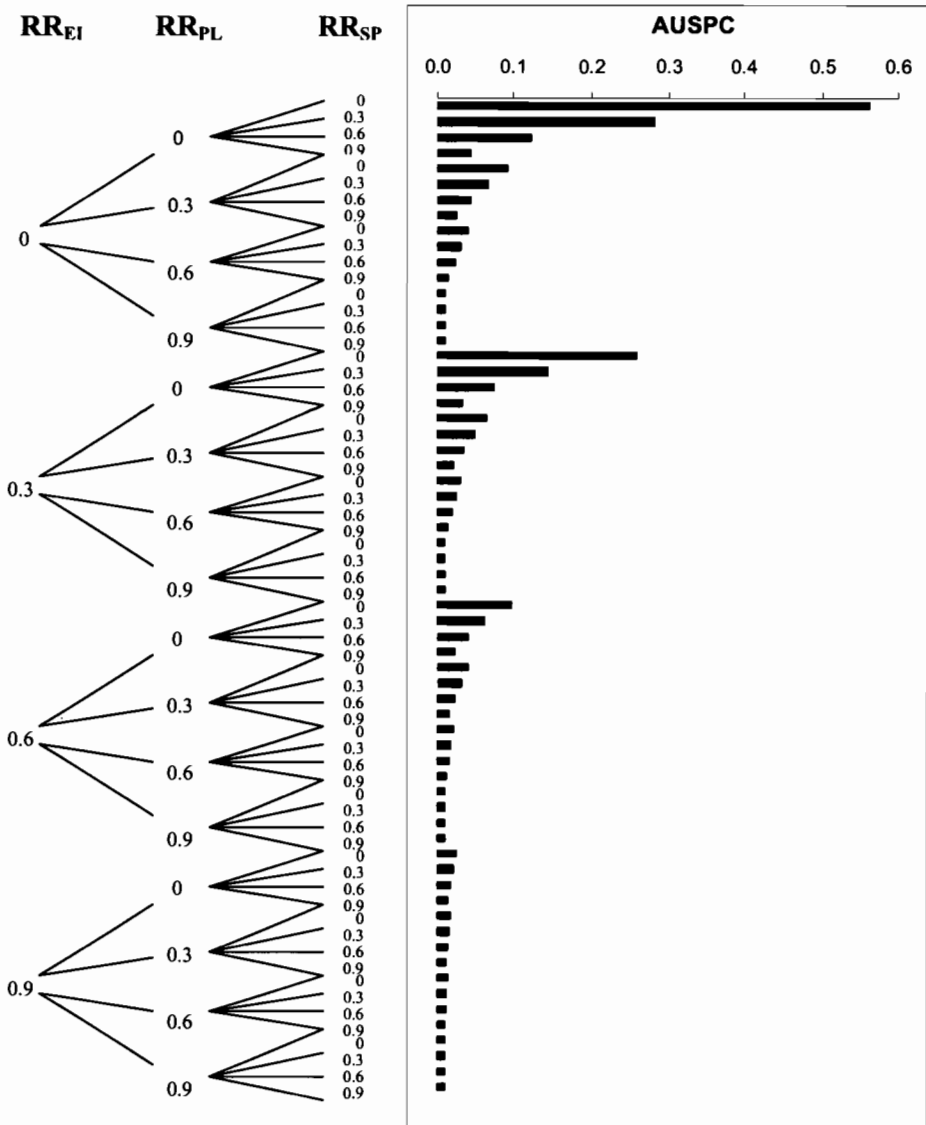


Figure 1. Simulations des effets des composants de résistance sur les épidémies de taches anguleuses du haricot commun.

Les aires sous les courbes de progression de la sévérité (AUSPC) sont simulées pour différents niveaux de résistance relative pour l'infection (RR_{EI}), la période de latence (RR_{PL}), et la sporulation (RR_{SP}): 0, 0.3, 0.6 et 0.9 ($RR_i = 1$ correspondant à une résistance maximale).

Ces réductions d'AUSPC sont plus importantes pour une augmentation de RR_{PL} , de l'ordre de 92%, contre 84 et 79% pour RR_{EI} et RR_{SP} (tableau 8). Les rapports de Fisher des analyses de variance effectuées sur les données d'AUSPC sont de 12.78 ($P < 0.05$) pour la résistance relative pour la période de latence, 3.61 ($P = 0.06$) pour la résistance relative pour l'efficacité d'infection et 2.36 ($P = 0.08$) pour la résistance relative pour la sporulation. Seules les variations de la résistance relative pour la période de latence conduisent à des différences d'AUSPC significatives pour un seuil de 5%. La résistance pour la période de latence a un effet plus important sur les épidémies de tache angulaire.

4. Discussion

Des quatre caractéristiques épidémiologiques étudiées, c'est la durée de la période de latence (PL) qui a été mesurée avec la plus grande précision (tableau 1). Pour chacune des caractéristiques épidémiologiques étudiées, une interaction entre la variété et l'isolat testés a néanmoins été mise en évidence. Les effets des gènes de résistance présents chez les variétés sont dépendants de l'isolat du pathogène. On parle alors de résistance partielle verticale, race-spécifique (Parlevliet et Zadoks, 1977). Ces résultats concordent avec ceux de Sartorato et al. (Sartorato, 1989; Sartorato et al., 1991) qui ont montré que la résistance partielle chez le haricot commun vis-à-vis de *P. griseola* peut être spécifique ou non.

Toute une gamme de valeurs des résistances relatives est obtenue, allant de 0 à 1. Les résistances relatives et combinées calculées pourraient être confrontées à des mesures de l'efficacité de la résistance partielle, telles que les mesures d'intensité de maladie. Des valeurs des composantes de résistance prédictives de l'intensité de maladie mesurées au champ pourraient alors être calculées et comparées (Zadoks, 1977; Savary et Zadoks, 1989a). L'approche que nous avons suivi pour étudier l'effet des composantes de résistance sur les épidémies de tache angulaire est fondée sur un modèle de simulation.

Les simulations des épidémies de *P. griseola*, utilisant le modèle préalablement décrit et incorporant les composantes de résistance sous forme de coefficients de résistance variétale, montrent que la résistance relative pour la période de latence a un effet plus important que les résistances relatives pour l'infection et la sporulation. Ces résultats rejoignent les résultats obtenus par Zadoks (1972), Savary et al. (1988), Savary et Zadoks (1989a et 1989b) et Savary

et al. (1990). Cependant ces études ont portées principalement sur des parasites biotrophes. Dans le cas de la septoriose du blé (*Septoria nodorum*) due à un pathogène hémi-biotrophe assez proche de *P. griseola*, la vitesse d'extension des lésions est le facteur qui affecte le plus la progression des épidémies (Rapilly et al., 1977). Le modèle utilisé n'incorpore pas d'extension des lésions. Une perspective serait de modifier le modèle pour étudier l'effet de la résistance relative pour l'extension des lésions. L'étude d'épidémies simulées de la rouille du blé (*Puccinia striiformis*), incorporant la résistance relative pour l'extension des lésions, a montré que c'est une composante de résistance importante pour ce pathosystème (Luo et Zeng, 1995).

La résistance de l'hôte faisant intervenir une durée de la période de latence élevée est une des stratégies les plus efficaces pour réduire le taux d'accroissement des maladies. Dans ce cas, le pathogène ne peut effectuer qu'un nombre réduit de cycles d'infection, qui se traduit par un ralentissement des épidémies. Les épidémies de tache angulaire apparaissent tardivement au champ (chapitre 1; Alloreant, Willocquet et Savary, données non publiées; Sartorato, communication personnelle), ainsi une stratégie de sélection des variétés résistantes fondée sur une période de latence accrue pourrait être une voie particulièrement efficace.

IV. Synthèse

Les expériences réalisées dans ce chapitre visaient à étudier les effets de la résistance partielle, de l'âge des plantes et de l'âge des feuilles sur les épidémies. Les caractéristiques épidémiologiques qui apparaissent les plus importantes, afin de décrire le cycle de *P. griseola*, ont été déterminées. Ces caractéristiques incluent l'efficacité d'infection des spores, l'extension des lésions, la période de latence et l'intensité de sporulation de ces lésions. Une hypothèse importante dans cette recherche épidémiologique sur *P. griseola* est que la défoliation des tissus malades se traduit par des effets notoires sur le comportement des épidémies. L'intensité de défoliation a donc fait l'objet d'observations spécifiques. La mesure de l'intensité de défoliation est difficile du fait d'une grande variation observée en fonction de l'âge des plantes et de l'âge des feuilles, vraisemblablement en interaction avec la sévérité de maladie.

Les effets de l'âge des plantes et des feuilles sur les caractéristiques épidémiologiques de la maladie paraissent complexes. En résumé : les tissus jeunes des plantes semblent plus sensibles à la maladie, les lésions y apparaissent plus tôt, plus abondamment, en produisant plus de spores et en causant une défoliation plus intense. Les résultats sur ce thème n'ont été cependant obtenus que pour une seule expérimentation mais suggèrent l'existence d'une résistance des tissus âgés. Ces résultats suggèrent donc que la sélection de variétés résistantes peut être influencée par l'âge des tissus testés.

Une quantification des caractéristiques épidémiologiques de la maladie a été obtenue pour 16 combinaisons variété / isolat. Des effets significatifs de la variété, de l'isolat et de l'interaction de ces deux facteurs ont été observés. Ces résultats suggèrent une résistance partielle de type race spécifique. La période de latence est la caractéristique épidémiologique mesurée avec le plus de précision et pour laquelle des effets significatifs des variétés, des isolats et de leur interaction sont mis en évidence. Les composantes de résistance partielle ont pu être calculées à partir des caractéristiques épidémiologiques de la maladie et leurs effets sur les épidémies étudiés par le biais d'un modèle de simulation. Les résultats des simulations montrent que la résistance relative pour la période de latence a un des effets les plus importants sur les épidémies.

Cette étude montre les multiples aspects que l'on peut aborder avec le modèle élaboré dans le chapitre 2. Une des perspectives envisageables grâce à ce type de modèle serait

Chapitre 3 - Effets épidémiologiques de la résistance partielle, l'âge des plantes et l'âge des feuilles

d'incorporer d'autres facteurs biotiques et abiotiques. En effet, la résistance partielle peut varier selon les facteurs environnementaux (Zadoks et Schein, 1979), mais aussi selon le stade de développement des plantes et l'âge des feuilles (Parlevliet, 1979). La résistance relative pour l'extension des lésions n'a pas été abordée dans cette étude. Les implications sur le comportement du modèle liées à cette intégration mériteraient d'être étudiées.

Les résultats obtenus dans ce chapitre suggèrent que la sélection des variétés de haricot résistantes à la tache angulaire devrait être axée sur la résistance pour la période de latence en prenant en compte l'âge des tissus de l'hôte.

Chapitre 4

Effets épidémiologiques de la diversité végétale

I. Problématique

L'influence de l'homme sur les épidémies des maladies de cultures peut être importante, particulièrement en termes de pratiques agricoles (Palti, 1981; Zadoks, 2001). Comprendre les mécanismes de la dynamique des épidémies en réponse à différentes pratiques agricoles permet d'évaluer et de proposer de meilleurs systèmes de gestion des maladies (Palti, 1981; Jeger, 2004). Le tableau 1 synthétise les principaux effets de certaines pratiques agricoles sur différents paramètres des épidémies (d'après Palti, 1981).

Tableau 1. Principaux effets des pratiques agricoles sur les paramètres reliés à la quantité de l'inoculum et au taux d'infection

	Quantité initiale d'inoculum	Durée de la phase sensible de la culture	Durée de la période de latence (p)	Durée de la période infectieuse (i)	Taux apparent d'infection (r)	Facteur quotidien de multiplication (Rc)
Assainissement	+	+				+
Rotation de la culture	+	+				+
Travail du sol	+	+				+
Nutrition de la culture		+	+	+	+	+
Irrigation	+	+		+	+	+
Choix de la saison du semis	+	+	+	+	+	+
Mode de mise en place du peuplement végétal	?	+	+ ^a	+ ^a	+	+
Pratiques de récolte	+					
Proximité des sources d'inoculum	+	+				+

^a effet présent si la température et/ou l'humidité relative sont affectées
D'après Palti J (1981)

La plupart de ces pratiques ont un effet sur la quantité initiale d'inoculum, sur la durée de la phase sensible des cultures et sur le facteur quotidien de multiplication (Rc, Van der Plank, 1963; DMFR, Zadoks, 1971). Les pratiques agricoles qui ont des effets sur la majorité des paramètres des épidémies (quantité d'inoculum et taux d'infection) concernent la nutrition de

la culture, l'irrigation, le choix de la saison du semis et le mode de mise en place du peuplement végétal. En effet, la nutrition azotée de la culture peut dans certains cas influencer les épidémies comme par exemple dans le cas de *Rhizoctonia solani* où l'efficacité d'infection des spores est réduite en présence d'apports élevés d'azote, mais où la dissémination des spores est favorisée par l'augmentation de la fréquence des contacts de feuilles à feuilles (Castilla et al., 1996). L'irrigation peut aussi jouer un rôle dans l'accélération des épidémies en favorisant à la fois la dissémination du pathogène et la présence d'une humectation du couvert végétal favorable aux infections (Palti, 1981). De nombreuses études ont montré l'effet de l'irrigation par sprinkler sur la libération des spores de plusieurs champignons (Meredith, 1973; Palti, 1981) et notamment chez *Cercospora arachidicola* (Porter et al., 1987). Le choix de la saison du semis et le mode de mise en place du peuplement végétal peuvent influencer l'accélération des épidémies lorsque le semis est effectué à une période où la quantité d'inoculum est importante et selon la densité de semis utilisée (Palti, 1981).

Un exemple de pratique agricole qui influence les épidémies est celui de l'utilisation de la diversité végétale que nous avons choisi d'étudier plus particulièrement. Cette diversité végétale se traduit par une diversité de la structure du couvert végétal, qui peut varier par sa densité et par la présence de plusieurs éléments structuraux tels que dans les associations intraspécifiques et interspécifiques (Lenné et al., 1994). Cette diversité végétale peut influencer les épidémies par le biais de plusieurs mécanismes. Ces mécanismes sont l'effet de la densité du couvert végétal, l'effet de dilution de l'inoculum, l'effet de barrière physique, l'effet de prémunition, et l'effet du microclimat (Wolfe, 1985; Finckh et al., 2000) qui seront détaillés par la suite.

Dans le cas de la tache angulaire, l'objectif spécifique était d'étudier les mécanismes de la dynamique des épidémies dans différentes structures d'un couvert végétal de haricot, permettant ainsi d'évaluer l'impact de certaines pratiques agricoles (notamment l'utilisation d'associations intraspécifiques et interspécifiques) sur les épidémies. Des méthodes destinées à aborder cette question ont été élaborées. Les mécanismes de la dynamique des épidémies ont été étudiés en quantifiant notamment les gradients primaires de dissémination des spores à partir de sources d'inoculum apportées dans des parcelles de haricot différant par leur structure physique. Les gradients primaires de dissémination des spores n'ont jamais été quantifiés pour ce pathosystème.

II. Revue de bibliographie

A. La diversité végétale et ses conséquences épidémiologiques

La structure physique d'un couvert végétal peut varier quantitativement, c'est-à-dire peut correspondre à différents stades de croissance ou à différentes densités du peuplement végétal. Elle peut aussi varier qualitativement, c'est-à-dire peut contenir d'autres composants structuraux, tels que dans les associations intraspécifiques et interspécifiques. Les associations intraspécifiques sont définies ici comme des associations de plusieurs variétés d'une même espèce présentant des niveaux de résistance différents vis-à-vis d'un agent pathogène. Les associations interspécifiques sont définies ici comme des peuplements constitués par deux espèces végétales différentes.

Un des intérêts principal d'utiliser ce type d'associations est qu'elles favorisent la protection des cultures contre les stress biotiques et abiotiques. Ainsi, les associations intraspécifiques peuvent montrer une aptitude à réduire les niveaux de différentes maladies (Wolfe, 1985; Mundt, 2002) et à accroître les rendements (Wolfe, 1985; Finckh et al., 2000). Les associations intraspécifiques sont cultivées dans de nombreuses régions du monde et parfois à de grandes échelles en Europe (blé et orge), aux Etats-Unis (blé), en Colombie (café) et en Chine (riz) (Finckh et al., 2000). Les associations interspécifiques sont utilisées depuis très longtemps par les systèmes d'agriculture traditionnelle. Par exemple, dans la région des Grands Lacs africains, le haricot est cultivé en association avec du maïs, des bananiers, de l'igname ou de la patate douce (Ntahimpera et al., 1996). Les bénéfices associés à l'utilisation de ces associations interspécifiques sont multiples : réduction du risque de perte des cultures dans des conditions défavorables par compensation de la perte d'une culture par une autre, optimisation de l'espace disponible, protection contre les stress biotiques et abiotiques, contrôle de l'érosion du sol (Palti, 1981). Un exemple d'associations interspécifiques à grandes échelles est celui des associations céréales et légumineuses en Pologne et en Finlande (Finckh et al., 2000), associations qui favorisent la disponibilité en nitrogène dans le sol par sa fixation accrue par les légumineuses.

1. Effets de la densité du couvert végétal

Les effets de la densité du couvert végétal sur les épidémies peuvent être directs ou indirects à travers des interactions avec l'environnement (Burdon et Chilvers, 1982). Il existe deux effets directs : d'une part un changement dans la quantité de surface hôte disponible pour intercepter l'inoculum transporté dans le temps et dans l'espace, et d'autre part un changement dans l'espacement des plantes du peuplement végétal et ainsi de la distance qu'un pathogène doit parcourir pour se disperser entre plantes. Ces effets ont des conséquences sur la phase dispersive de la maladie. Un couvert végétal dense, représenté par des plantes âgées ou des plantes ayant une densité importante, présente généralement un indice de surface foliaire (LAI) élevé. Il peut donc limiter la dissémination des spores et la dispersion de la maladie à partir d'une source d'inoculum, ralentissant ainsi les épidémies (effet sur le taux apparent d'infection, r). Ainsi les gradients primaires de cercosporiose de l'arachide sont plus forts (pentes plus fortes) dans des cultures âgées ayant un couvert plus dense (Savary et Van Santen, 1992). Les effets de la densité du couvert végétal peuvent varier selon la localisation des sources d'inoculum. En effet, les gradients primaires de l'antrachnose du fraisier peuvent être plus forts dans des couverts plus denses pour des spores provenant de fraises infectées localisées en dessous du couvert, selon la saison et l'année de culture (Madden et Boudreau, 1997). Ces auteurs formulent l'hypothèse que le couvert végétal agit comme une barrière à la dissémination des spores provenant du sol.

Les effets indirects de la densité du couvert sont de plusieurs natures et agissent principalement sur la phase non dispersive de la maladie à travers son interaction avec l'environnement. Le changement de structure physique du couvert peut induire un changement du microclimat à l'intérieur du couvert (Palti, 1981; Burdon et Chilvers, 1982). Un couvert plus dense peut induire une réduction de l'amplitude des fluctuations de température et d'humidité et à une réduction de la vitesse de vent dans le couvert (Monteith, 1972; Palti, 1981). Il a été montré notamment que la proportion de pluie incidente qui pénètre le couvert est réduite à plus forte densité de plantes (Madden et Boudreau, 1997). D'autre part une variation dans la densité du couvert peut induire des changements dans la physiologie des plantes et dans l'allocation des ressources en eau et en éléments nutritifs de par la compétition entre plantes (Finckh et al., 2000).

Les effets de la densité du couvert sur les épidémies sont donc complexes et peuvent varier tant dans leur sens que dans leur intensité selon le pathosystème considéré. En effet, une augmentation de la densité des plantes dans un peuplement végétal peut résulter aussi bien en une augmentation (cercosporiose du céleri, Berger, 1975; oïdium de l'orge, Burdon et Chilvers, 1976) qu'en une réduction des niveaux de maladie (anthracnose du fraisier, Boudreau et Madden, 1995, Madden et Boudreau, 1997; oïdium de l'orge, Finckh et al., 1999). La densité d'un couvert végétal peut avoir un impact ou non sur la dissémination des spores, sur la dispersion de la maladie et sur les niveaux de maladie à l'intérieur d'une parcelle de plantes hôtes.

2. Effets des associations intraspécifiques

Les effets des associations intraspécifiques (associations variétales) sur les épidémies sont sommairement synthétisés dans le tableau 2.

Tableau 2. Mécanismes influençant les épidémies dans des associations par rapport aux épidémies observées dans des monocultures

Mécanisme	Associations		
	intraspcifiques ex : haricot / haricot	interspcifiques	
		homogènes ex : haricot / arachide	hétérogènes ex : haricot / maïs
Effet de dilution	++	++	++
Effet de barrière	+	+	++
Effet de prémunition ^a	+	~	~
Effet microclimat	~	~	++

^a effet de prémunition non identifié chez tous les pathosystèmes

Considérant une association végétale intraspécifique confrontée à une population pathogène génétiquement diverse, trois mécanismes sont impliqués : la dilution de l'inoculum due à la présence des composants résistants de l'association, l'effet barrière des composants résistants vis-à-vis du dépôt de l'inoculum sur les composants sensibles et l'induction de réactions de défense chez les composants sensibles provoquée par les races avirulentes de l'agent pathogène (Wolfe, 1985). L'effet de dilution est un mécanisme très important qui correspond

à la réduction de la densité des composants sensibles dans les associations et qui entraîne ainsi une réduction de la quantité de tissus sensibles sur lesquels un pathogène donné peut se développer. Les composants résistants constituent une barrière physique à la propagation de la maladie. Les spores qui sont déposées sur les tissus résistants ne peuvent pas entraîner d'infections. La prémunition (ou résistance induite) intervient lorsque des spores avirulentes déclenchent une réaction de défense chez les composants sensibles contre des spores virulentes se déposant par la suite (Chin et al., 1984; Lannou, 1995). La prémunition peut induire des freins importants dans plusieurs étapes du cycle d'infection du pathogène virulent, telles que la germination et la pénétration des spores, l'établissement et l'extension des lésions (Calonnec et al., 1996).

Ces trois mécanismes ralentissent les épidémies, en induisant une perte des spores efficaces qui sont libérées et en amenant ainsi une réduction du taux apparent d'infection r . Selon Leonard (1969), la réduction de la maladie dans une association d'une variété sensible et d'une variété résistante initiée par une lésion peut être exprimée comme :

$$x'/x_0 = m^n \cdot x/x_0$$

où x est la proportion de tissu infecté dans la parcelle pure de plantes sensibles, x' est la proportion de tissu infecté dans l'association, x_0 est la proportion de tissu initialement infecté, m est la proportion de plantes sensibles et n le nombre de cycles réalisé par le pathogène. Le modèle de Leonard (1969) prédit que le taux apparent d'infection r décroît de manière logarithmique avec la proportion de plantes sensibles. Cette réduction de r dans des associations intraspécifiques a été démontrée expérimentalement chez la rouille de l'avoine (Leonard, 1969), chez la cercosporiose du céleri (Berger, 1973) et chez l'anthracnose du haricot (Ntahimpera et al., 1996). La vitesse d'expansion d'un foyer augmente linéairement avec le logarithme de la proportion de plantes sensibles (Van den Bosch, 1990; Assefa et al., 1995). Dans le cas d'une résistance non spécifique, l'effet de l'association dépend du taux relatif de maladie sur chacun des composants. L'association n'est efficace que si la réduction de la maladie sur le composant le plus sensible est supérieure à l'augmentation de la maladie sur le composant le plus résistant (Garrett et Mundt; 1999). Jeger et al. (1981) ont modélisé l'effet des associations présentant ce type de résistance, en incorporant l'efficacité des infections et le taux de sporulation. Le modèle prédit une réduction des épidémies lorsque ces deux caractéristiques sont réduites sur chacun des composants de l'association.

L'efficacité des associations variétales à réduire les épidémies est influencée par de nombreux facteurs. Garrett et Mundt (1999) dénombrent cinq facteurs importants :

1. la surface de l'unité génotypique (surface moyenne couverte par des plantes ou des unités végétales contiguës d'un même génotype, Mundt et Browning, 1985);
2. le gradient de dispersion (décroissance de la quantité d'unités infectieuses déposées sur le couvert en fonction de la distance à la source d'émission, Gregory, 1968);
3. la taille des lésions;
4. le temps de génération du pathogène;
5. le niveau de spécialisation des populations pathogènes vis-à-vis de l'hôte.

L'interaction entre la surface de l'unité génotypique et le gradient de dispersion détermine la proportion d'aloinfection par rapport à l'autoinfection (Garrett et Mundt, 1999). Garrett et Mundt (1999) proposent de considérer ces cinq caractéristiques pour évaluer l'efficacité des associations à réduire les épidémies pour un pathosystème donné.

Une efficacité optimale des associations est prédite pour :

1. une surface de l'unité génotypique réduite (Mundt et Browning, 1985; Mundt et Leonard, 1985; Mundt et Leonard, 1986a et 1986b; Mundt et al., 1986);
2. un gradient de dispersion de la maladie faible (Mundt et Leonard, 1986a; Xu et Ridout, 2000);
3. une taille des lésions réduite (Lannou et al., 1994a et 1994b);
4. un temps de génération du pathogène court (Leonard, 1969);
5. une spécialisation forte des populations pathogènes vis-à-vis de l'hôte (Garrett et Mundt, 1999; Xu et Ridout, 2000).

L'efficacité des associations variétales à réduire les épidémies peut être aussi fonction de plusieurs autres facteurs, tels que le nombre de génotypes hôtes présents dans l'association et leur disposition spatiale, la taille de la population hôte, la compétition entre les génotypes hôtes, la quantité d'inoculum extérieur arrivant dans le peuplement végétal (interférence entre parcelles), la distribution spatiale de la quantité initiale de maladie (épidémie générale ou focale, Zadoks et Schein, 1979), ou les conditions environnementales (Garrett et Mundt, 1999).

3. Effets des associations interspécifiques

Les associations interspécifiques peuvent être soit homogènes soit hétérogènes (tableau 2). Une association interspécifique homogène est considérée ici comme une association de deux cultures de taille identique, qui ne modifie pas la structure physique du couvert végétal. Au contraire, une association interspécifique hétérogène est définie ici comme une association de deux cultures de tailles différentes, qui résulte en une structure physique hétérogène du couvert végétal. Très peu d'études ont montré l'importance relative des mécanismes expliquant les effets des associations interspécifiques sur les maladies (Lenné et al., 1994). L'influence des associations interspécifiques sur les épidémies peut être expliquée en envisageant les mécanismes considérés dans le cas des associations intraspécifiques (tableau 2). Pour un pathosystème donné, une association interspécifique homogène présente les mêmes caractéristiques qu'une association intraspécifique (effet dilution très important), puisque le composant non hôte du pathogène peut être envisagé comme un composant résistant (tableau 2). Par contre, l'existence d'une culture de plus grande taille (comme par exemple le maïs dans une association haricot-maïs) peut avoir un impact sur les mécanismes influençant les épidémies. Dans une étude sur les mécanismes réduisant les épidémies de rouille du haricot dans des associations haricot-maïs, Boudreau et Mundt (1992) ont montré que l'effet barrière dû à la présence des plantes de maïs est important dans la réduction du dépôt des spores sur les plantes de haricot. L'effet de compétition entre les deux types de plantes de géométrie et de physiologie différentes est le principal facteur qui induit des gradients de dispersion plus forts. La présence des plantes de maïs se traduit par une réduction de la surface foliaire des plantes de haricot, ce qui entraîne un plus faible dépôt des spores. De plus, un changement du microclimat dû à la présence des plantes de maïs intervient (tableau 2). Une réduction de la vitesse de vent dans le couvert et une augmentation de la durée d'humectation du couvert ont été mises en évidence (Boudreau et Mundt, 1992). Ces modifications du microclimat peuvent avoir un impact sur la phase dispersive de la maladie (dissémination des spores) et sur la phase non dispersive (niveaux de maladie, en augmentant notamment l'efficacité des infections), selon les exigences climatiques d'un pathogène donné.

B. Cas du pathosystème *Phaseolus vulgaris* - *Phaeoisariopsis griseola*

Dans de nombreux pays africains, le haricot commun est cultivé en associations de plusieurs variétés. Avec une surface de l'unité génotypique de l'hôte assez grande, une extension des lésions relativement importante, un temps de génération du pathogène plutôt long (le cycle d'infection se fait en moyenne en 15 jours) et une proportion d'aloinfection par rapport à l'autoinfection faible (voir chapitre 2 III C), le pathosystème *Phaseolus vulgaris* - *Phaeoisariopsis griseola* n'apparaît pas présenter les caractéristiques adéquates pour une bonne efficacité des associations intraspécifiques. Pyndji et Trutmann (1992 et 1994, Zaïre) ont pourtant montré que l'incorporation à hauteur de 25% d'une variété résistante dans une association traditionnelle de variétés de haricot, ayant des niveaux de résistance différents, résulte en une réduction significative des niveaux de maladie. Néanmoins, cette réduction n'a été obtenue que dans trois des quatre saisons pendant lesquelles l'expérimentation a été menée (Pyndji et Trutmann, 1992) et les auteurs n'expliquent pas ces variations.

Dans la région des Grands Lacs africains, le haricot est cultivé en association avec du maïs (Ntahimpera et al., 1996). L'effet des associations haricot-maïs sur les épidémies de tache angulaire est très variable. Ces associations ont été étudiées dans plusieurs régions du monde tropical. Elles peuvent soit favoriser les niveaux de tache angulaire (Mora Eguiguren, 1978, Costa Rica; Van Rheenen et al., 1981, Kenya) soit les réduire (Moreno, 1977, Costa Rica; Msuku et Edge, 1982, Malawi; Sengooba, 1990, Uganda). Les travaux de Boudreau (1993, Kenya) et Lanter (1990, Colombia) expliquent cette variation dans l'efficacité des associations haricot-maïs à limiter les épidémies par l'existence d'interactions complexes entre la variété de haricot utilisée, les pratiques culturales et les conditions environnementales. Des études sont nécessaires afin de comprendre les mécanismes impliqués dans l'intensification et l'extensification des épidémies de tache angulaire dans des associations interspécifiques.

III. Expérimentations

1. Introduction

La structure physique d'un couvert végétal de haricots peut varier quantitativement, c'est-à-dire peut correspondre à différents niveaux de croissance de la plante, ou qualitativement, c'est-à-dire contenir d'autres composants structuraux tels que des plantes de maïs. Le couvert végétal peut aussi varier en termes de structure génétique, avec des associations de variétés de haricot présentant différents niveaux de résistance. Les effets épidémiologiques de cette diversité végétale ne sont pas connus dans le cas de la tache angulaire.

Au cours des expérimentations qui ont été menées, deux sortes d'associations de plantes ont été utilisées : des associations haricot-maïs et des associations haricot-arachide. Des associations intraspécifiques n'ont pas pu être mises en place, la variété de haricot candidate résistante à la plupart des isolats en serre s'étant avérée être très sensible aux autres isolats présents au champ. Ainsi, des plantes d'arachide ayant le même port que les plantes de haricot et non hôtes de la tache angulaire, ont été utilisées pour mimer des plantes de haricot résistant. Ce sont donc des associations interspécifiques homogènes (haricot-arachide, photo 1) et hétérogènes (haricot-maïs, photo 2) qui ont fait l'objet de ces expérimentations.



Photo 1. Association interspécifique homogène de plantes de haricot et d'arachide.



Photo 2. Association interspécifique hétérogène de plantes de haricot et de maïs.

L'objectif de ces expérimentations était d'étudier l'effet de la diversité végétale (âge du couvert et associations) sur les gradients primaires de dissémination des spores et sur les niveaux de tache angulaire. Ces expérimentations ont été réalisées une première fois à la station expérimentale du CATIE (Costa Rica) en 2001 durant la période des pluies, puis ont été répétées à la station expérimentale de l'EMBRAPA 'Arroz e Feijão' (Brésil) en 2004 durant la saison sèche sous irrigation. Les résultats de ces deux expérimentations ont été comparés en tenant compte des conditions environnementales différentes.

2. Matériel et méthodes

Une méthodologie du type stimulus-réponses a été adoptée dans le cadre de ces expérimentations (Zadoks, 1972). Le stimulus correspond à l'établissement de différents types de couvert (différents âges d'un couvert de haricots en monoculture et des associations haricot - maïs et haricot - arachide). Après avoir établi des sources d'inoculum (plantes infectées) dans les différents couverts, les réponses ont été quantifiées en termes de dissémination des spores et de niveaux de maladie.

2.1. Parcelles expérimentales

Quatre types de couvert ont été mis en place avec trois répétitions à la station expérimentale du CATIE et quatre répétitions à la station expérimentale de l'EMBRAPA :

- monocultures de haricots mises en place au premier semis (type de couvert 1, TC1)
- monocultures de haricots semées 15 jours plus tard (type de couvert 2, TC2)
- monocultures de haricots semées 15 jours plus tard (type de couvert 3, TC3)
- associations haricot-maïs semées le même jour que le TC2 (type de couvert 4, TC4)

Un cinquième type de couvert a été semé lors de la répétition de l'expérimentation au Brésil, avec une association haricot-arachide (type de couvert 5, TC5), le même jour que le TC2 et TC4. Lors de l'expérimentation réalisée au Costa Rica, une parcelle supplémentaire a été semée comme parcelle témoin (sans apport de sources d'inoculum) pour les quatre types de couvert. Cette parcelle a servi à estimer la quantité d'inoculum extérieure aux sources d'inoculum artificiellement mises en place. Seule une parcelle témoin pour le type de couvert TC2 a pu être semée lors de l'expérimentation au Brésil.

Les plantes des parcelles de 8 x 12 m (Costa Rica) et 6 x 6 m (Brésil) ont été semées à la main selon un dispositif de blocs aléatoires (RCB). Ces parcelles étaient espacées de 4 m (Costa Rica) et 5 m (Brésil) les unes des autres. La densité des plantes de haricot était de 16 plantes par m², avec un espacement de 25 cm. Dans les parcelles d'associations haricot - maïs, des plantes de maïs ont été incorporées aux peuplements de haricots (densité de 16 plantes par m²), avec une densité de quatre plantes de maïs par m² et un espacement de 50 cm. Dans les parcelles d'associations haricot - arachide, une proportion d'une plante d'arachide pour une plante de haricot a été utilisée, avec un espacement de 25 cm. Les bordures entourant les parcelles ont été semées avec du riz (espacement : 50 cm) lors de l'expérimentation au Brésil. Les plantes manquantes ont été remplacées pour maintenir dans la mesure du possible les densités en plantes initialement prévues. Des fertilisations ont été effectuées au semis (N / P / K : 10 / 30 / 10 au Costa Rica et 4 / 30 / 16 au Brésil) et une deuxième fois 30 jours après semis au Brésil.

Les variétés de haricot utilisées étaient la variété Negro Huasteco (Costa Rica) et la variété Rosinha-G2 (Brésil), sensibles à la tache angulaire. Les variétés de maïs utilisées étaient la variété HS 5 (Costa Rica) et la variété HT-BRS-3150 (Brésil). Les variétés d'arachide et de riz utilisées étaient les variétés CNPA-BR-1 et BRS-CURINGA, respectivement. Aucune irrigation des parcelles n'a été mise en place lors de la saison des

pluies au Costa Rica. Par contre, l'irrigation des parcelles au Brésil a été effectuée à l'aide d'un pivot, trois fois par semaine avant et après l'établissement des plantes sources d'inoculum, et deux fois par jour durant l'exposition des plantes sources d'inoculum (correspondant à une quantité de pluie de 4.5 mm par jour en moyenne).

2.2. Etablissement des plantes sources

Des plantes de la variété Negro Huasteco (Costa Rica) et de la variété Rosinha-G2 (Brésil) en pot, âgées d'un mois, et présentant des symptômes de tache angulaire ont été apportées au centre de chacune des parcelles (figure 1).

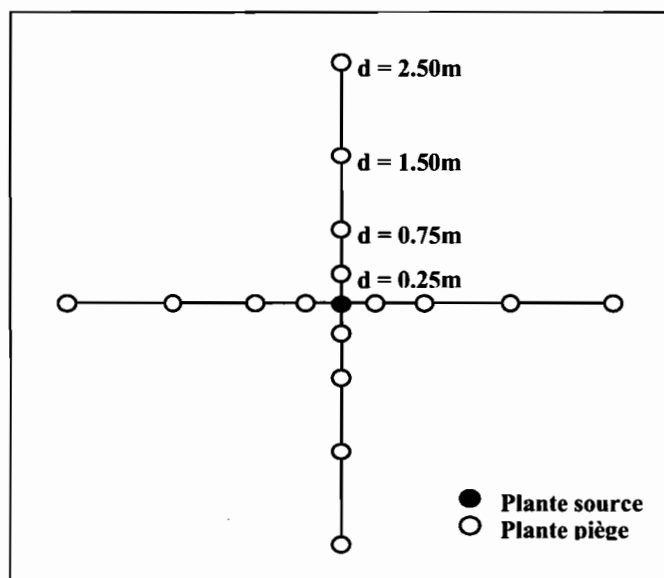


Figure 1. Localisation des plantes sources et plantes pièges dans chacune des parcelles expérimentales.

La plante source est localisée au centre de la parcelle et les plantes pièges dans quatre directions (N, S, E et O), et à trois (0.25, 0.75 et 1.50m, Costa Rica) et quatre (0.25, 0.75, 1.50 et 2.50m, Brésil) distances de la plante source.

Toutes les feuilles trifoliées de ces plantes avaient été préalablement inoculées avec une suspension de spores de concentration égale à 5 (Costa Rica) et 20 (Brésil) spores par μl d'une solution de 0.01% Tween 80 / eau distillée (v/v). A la station expérimentale du CATIE, chaque foliole a reçu deux pulvérisations de la suspension de spores à l'aide d'un

pulvérisateur manuel (volume de 840 µl par feuille). Après l'infection artificielle, les plantes en serre ont été incubées dans des cages en polyéthylène préalablement humidifiées avec de l'eau, durant trois nuits consécutives, de 18h à 8h du matin. A la station expérimentale de l'EMBRAPA, l'infection artificielle a été effectuée à l'aide d'un pulvérisateur sous-pression (Modèle Primatec 131, pression : 1,05 kg/cm²), en appliquant la suspension de spores sur chacune des folioles jusqu'à ce que la foliole soit complètement humidifiée. Les plantes ont ensuite été incubées dans une chambre humide (RH > 95%) durant 40 heures à 25 ± 2°C, et une photopériode de 12h. Après cette période, les plantes ont été transférées dans une serre.

Les plantes sources ont été apportées au champ, un mois après le dernier semis des parcelles expérimentales (type de couvert TC3). Le nombre de lésions sur les plantes sources a été dénombré juste avant leur établissement au centre des parcelles. Ces plantes ont été exposées au champ durant six (Costa Rica) et quatre (Brésil) jours consécutifs.

2.3. Etablissement des plantes pièges

Des plantes saines de la variété Negro Huasteco (Costa Rica) et de la variété Rosinha-G2 (Brésil) en pot ont été disposées dans les parcelles, le même jour que les plantes sources. Elles servent à échantillonner les spores disséminées des plantes sources durant les jours d'exposition de ces dernières, pour quantifier les gradients primaires de dissémination des spores (Savary et Van Santen, 1992). Les plantes pièges ont été disposées dans chacune des parcelles, dans quatre directions (Nord, Sud, Est et Ouest) et à trois distances de la plante source centrale (0.25, 0.75 et 1.50 m; figure 1). Une distance supplémentaire a été ajoutée lors de la répétition de l'expérimentation au Brésil (2.50 m).

Les plantes sources et les plantes pièges en pot n'ont été exposées que quatre jours à l'EMBRAPA puisque les plantes supportaient moins bien les conditions climatiques sèches durant le séjour au champ.

2.4. Observations

- Indices de la surface foliaire des plantes de haricot des parcelles (LAI)

Pour avoir une information quantitative de la structure du couvert végétal au moment du premier gradient de dissémination des spores, les indices de la surface foliaire des plantes de haricot des parcelles ont été estimés. Le nombre total de plantes de haricot par parcelle a été dénombré dans chacune des parcelles. Au Costa Rica, pour chacune des parcelles, la surface

foliaire totale a été estimée en multipliant le nombre total de plantes par parcelle par la surface foliaire moyenne d'une plante, mesurée à l'aide d'un planimètre (leaf area meter CI-203 Laser Area Meter, CID, Inc., Vancouver, USA) sur un échantillon de seize plantes par parcelle. Au Brésil, le nombre moyen de feuilles par plante a été dénombré sur un échantillon de dix plantes par parcelle. Vingt feuilles ont été échantillonnées par parcelle et leur surface foliaire mesurée à l'aide d'un planimètre. La surface foliaire totale par parcelle a été estimée en multipliant le nombre total de plantes par parcelle par le nombre moyen de feuilles par plante et par la surface foliaire moyenne d'une feuille. La LAI est alors estimée en divisant la surface foliaire totale par la surface de sol occupée (Monteith, 1972; Zadoks et Schein, 1979).

- gradients de dissémination des spores

Après la période d'exposition au champ, les plantes pièges et les plantes sources ont été enlevées. Les plantes pièges ont été incubées dans les mêmes conditions que précédemment. La longueur et la largeur de la foliole centrale de toutes les feuilles trifoliées présentes ont été mesurées. La surface foliaire de captage des spores lors de l'exposition est estimée à partir de droites de régression. Ces droites de régression ont été obtenues à partir d'un échantillon de 16 feuilles au CATIE et 45 feuilles à l'EMBRAPA. La longueur et la largeur de la foliole centrale de chacune des feuilles et sa surface foliaire ont été mesurées. Les surfaces foliaires des folioles centrales ont été mesurées à l'aide d'un planimètre. Les équations des droites de régression sont les suivantes :

- variété Negro Huasteco (Costa Rica) : $y = 0.56 x + 0.67$ ($r^2 = 0.96$, $n = 16$)

- variété Rosinha-G2 (Brésil) : $y = 0.58 x + 0.46$ ($r^2 = 0.99$, $n = 45$)

où x représente le produit de la longueur par la largeur de la foliole centrale et y la surface de la foliole centrale. Après douze jours d'incubation, le nombre de lésions apparues sur les folioles centrales de chacune des plantes pièges a été dénombré.

- sévérités observées sur les plantes de haricot des parcelles expérimentales

La sévérité de maladie sur la troisième, cinquième et dernière feuille de l'axe principal de 12 (Costa Rica) et 16 (Brésil) plantes de haricot de chaque parcelle, placées approximativement aux mêmes directions et distances que les plantes pièges, a été déterminée à l'aide d'une échelle constituée de 10 classes (Godoy et al., 1997). Ces 10 classes correspondent à 10 pourcentages de surface malade allant de 0 à 30.4 %. De plus, les nombres

de feuilles attachées et détachées de l'axe principal ont été dénombrés. Ces observations ont été initiées huit jours après l'exposition des plantes sources, à une fréquence d'une (Costa Rica) et deux (Brésil) fois par semaine, pendant 1 mois.

2.5. Données météorologiques

Au Costa Rica, un pluviomètre, un thermohygromètre à 1.5m du sol et un anémomètre à 1.8 m du sol, ont été placés entre les parcelles. Au Brésil, un pluviomètre, un thermomètre et un hygromètre ont été placés entre les parcelles à 2 m du sol. Les données de vitesses de vent ont été obtenues (à 2 m du sol) à la station expérimentale de l'EMBRAPA, située à environ 500 m des expérimentations.

2.6. Analyses statistiques

- gradients de dissémination des spores

Le nombre total de lésions sur les folioles centrales des plantes pièges a été corrigé par la surface foliaire de ces folioles, et par l'intensité de la source, c'est-à-dire le nombre de lésions présentes sur la plante source de la parcelle considérée. Ces données ont été analysées par analyse de variance avec un dispositif en split-split-plot (Gomez et Gomez, 1984), avec comme unité principale le type de couvert (TC1, TC2, TC3, TC4 ou TC5), comme unité secondaire l'orientation des plantes pièges par rapport à plante source (N, S, E, ou O) et comme unité tertiaire la distance à la plante source (0.25, 0.75, 1.50 ou 2.50 m). Les analyses de variance ont été effectuées à l'aide de la procédure GLM du logiciel SAS (SAS Institute, Cary, NC, version 8, 1999-2001).

Un ajustement de deux modèles empiriques (exponentiel et puissance; Fitt et al., 1987) sur les données des gradients primaires de dissémination des spores a été effectué à l'aide de la procédure REG du logiciel SAS (SAS Institute, Cary, NC, version 8, 1999-2001). Les équations de la forme linéarisée de ces deux modèles sont :

- *Modèle exponentiel* (Kiyosawa et Shiyomi, 1972)

$$\ln(y) = a - b(x)$$

- *Modèle puissance* (Gregory, 1968)

$$\ln(y) = a - b \ln(x)$$

où y est la variable décrivant la maladie (ici densité de lésions corrigée pour les sources) et x est la distance à la plante source (0.25, 0.75, 1.50 ou 2.50 m).

Les deux ajustements ont été comparés en recalculant le coefficient de détermination r^2 pour des données non linéarisées, r^{2*} (Campbell et Madden, 1990).

- sévérité des plantes des parcelles expérimentales

Les aires de progression sous la courbe de sévérité ont été calculées avec la méthode d'intégration trapézoïdale (Campbell et Madden, 1990). Les AUSPC ont été analysées par une analyse de variance à un facteur (type de couvert) à l'aide de la procédure GLM du logiciel SAS (SAS Institute, Cary, NC, version 8, 1999-2001), pour comparer l'effet du type de couvert sur les niveaux de maladie.

3. Résultats

3.1. Indices de la surface foliaire (LAI) des plantes de haricot et données météorologiques

Les indices de surface foliaire des plantes de haricot des parcelles expérimentales mises en place au CATIE et à l'EMBRAPA sont donnés dans le tableau 1. Peu de différences sont observées entre les LAI des plantes âgées et d'âge intermédiaire (types de couvert TC1 et TC2), alors que les LAI des plantes jeunes (TC3), des plantes associées à du maïs (TC4) et à de l'arachide (TC5) sont plus faibles. Les LAI des plantes dans l'expérimentation réalisée au CATIE sont plus faibles qu'à l'EMBRAPA.

Les données météorologiques observées durant la période d'exposition des plantes sources au champ sont présentées dans le tableau 2. Il est important de noter que les deux expérimentations ont été mises en place à deux saisons différentes, durant la saison des pluies au Costa Rica et durant la saison sèche au Brésil. Des différences minimales de la température et de l'humidité relative maximales moyennes sont observées entre les deux expériences. Par contre, la température et l'humidité relative minimales moyennes, ainsi que la radiation solaire moyenne ont été plus faibles lors de l'expérimentation au Brésil. La vitesse de vent maximale moyenne a été quant à elle plus élevée au Brésil (tableau 2). Au Costa Rica, deux événements de pluie (de 2.8 et 2.6 mm) ont été observés lors des six jours d'exposition des plantes sources et des plantes pièges. Au Brésil, aucun événement pluvieux n'est survenu, mais l'irrigation des parcelles deux fois par jour correspond à une pluie de 4.5 mm par jour en moyenne.

Tableau 1. Indices de surface foliaire (LAI) des plantes de haricot selon le type de couvert des parcelles mises en place au CATIE et à l'EMBRAPA

Type de couvert ^a	CATIE		EMBRAPA	
	LAI ^b	Ecart-type	LAI ^c	Ecart-type
TC1	3.46	0.02	4.80	0.37
TC2	3.74	0.77	4.98	0.61
TC3	0.71	0.30	1.70	0.22
TC4	2.49	0.30	4.60	0.35
TC5	-	-	2.41	0.07

^a Type de couvert : TC1, haricots purs âgés, TC2, haricots purs d'âge intermédiaire, TC3, haricots purs jeunes, TC4, association haricot-maïs, et TC5, association haricot-arachide

^b Indice de surface foliaire moyenne sur les trois réplifications

^c Indice de surface foliaire moyenne sur les quatre réplifications

Table 2. Données météorologiques durant les jours d'exposition des plantes sources et des plantes pièges, pour les expérimentations réalisées durant la saison des pluies au CATIE (Costa Rica) et durant la saison sèche à l'EMBRAPA (Brésil)

Expérimentation	Tmax ^a	Tmin ^a	HRmax ^b	HRmin ^b	Vmax ^c	Ptot	RADtot ^f
CATIE	28	19	97	68	3.6	2.8 ^d 2.6	17.9
EMBRAPA	29	15	95	40	5.2	4.5 ^e	15.8

^{a, b, c, e} et ^f Données moyennes sur les six (CATIE) et quatre (EMBRAPA) jours d'exposition des plantes sources et des plantes pièges

^a Tmax et Tmin, température maximale et minimale moyenne (°C)

^b HRmax et HRmin, humidité relative maximale et minimale moyenne (%)

^c Vmax, vitesse de vent maximale moyenne (m.s⁻¹)

^d Ptot, précipitation totale (mm.jour⁻¹) pour deux événements pluvieux

^e Ptot, précipitation totale moyenne (mm.jour⁻¹)

^f RADtot, radiation solaire totale moyenne (MJ.m⁻².jour⁻¹)

3.2. Gradients de dissémination des spores

Les gradients de dissémination des spores sont représentés dans la figure 2 pour l'expérimentation réalisée au CATIE. La pente du gradient de dissémination des spores est réduite lorsque l'on passe d'un couvert de plantes de haricot âgées (TC1) à des couverts plus jeunes (TC2 et TC3). Peu de différences sont observées entre les gradients de dissémination des spores dans un couvert de haricots en monoculture (TC2) et dans un couvert de haricots en association avec du maïs (TC4). Le tableau 3 montre la conséquence des deux corrections successives réalisées sur les données brutes des nombres de lésions. L'interaction entre le type de couvert et la distance à la plante source est mise en évidence après ces deux corrections ($P < 0.01$). Aucun effet directionnel n'est observé, suggérant une dissémination isotropique des spores. On observe un effet significatif de la distance à la plante source pour les trois variables considérées ($P < 0.01$). L'interaction significative entre le type de couvert et la distance à la plante source montre que les quantités de spores échantillonnées à la même distance de la plante source varient selon le type de couvert. Ces analyses montrent que des gradients de dissémination des spores sont mis en évidence et qu'ils sont différents selon le type de couvert.

Les gradients de dissémination des spores sont représentés dans la figure 3 pour l'expérimentation réalisée à l'EMBRAPA. Comme pour la première expérimentation au CATIE, la pente du gradient de dissémination des spores est réduite lorsque l'on passe d'un couvert de plantes de haricot âgées (TC1) à des couverts plus jeunes (TC2 et TC3). Ces différences sont néanmoins moins marquées. Le gradient de dissémination des spores apparaît plus fort dans un couvert de haricots en association avec du maïs (TC4) par rapport à un couvert de haricots en monoculture (TC2). Peu de différences sont observées entre les gradients de dissémination des spores dans un couvert de haricots en monoculture (TC2) et dans un couvert de haricots en association avec de l'arachide (TC5). Les deux corrections successives réalisées sur les données brutes des nombres de lésions amènent aux mêmes conclusions (tableau 4). Aucun effet directionnel n'est observé, suggérant là aussi une dissémination isotropique des spores. On observe un effet significatif de la distance à la plante source et de l'interaction entre le type de couvert et la distance à la plante source, pour les trois variables considérées ($P < 0.01$). Comme pour la première expérimentation au CATIE, ces analyses montrent que des gradients de dissémination des spores sont mis en évidence et qu'ils sont différents selon le type de couvert.

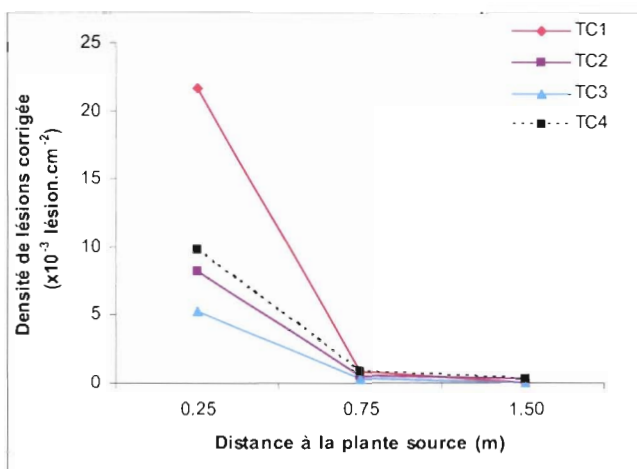


Figure 2. Gradients primaires de dissémination des spores selon le type de couvert (CATIE, Costa Rica, 2001).

TC1, type de couvert 1 (haricots purs âgés), TC2, type de couvert 2 (haricots purs d'âge intermédiaire), TC3, type de couvert 3 (haricots purs jeunes), et TC4, type de couvert 4 (association haricot-maïs). Chaque point représente la moyenne de densité de lésions, corrigée pour la puissance des sources d'inoculum, de 12 plantes pour les trois réplifications et les quatre directions (N, S, E et O).

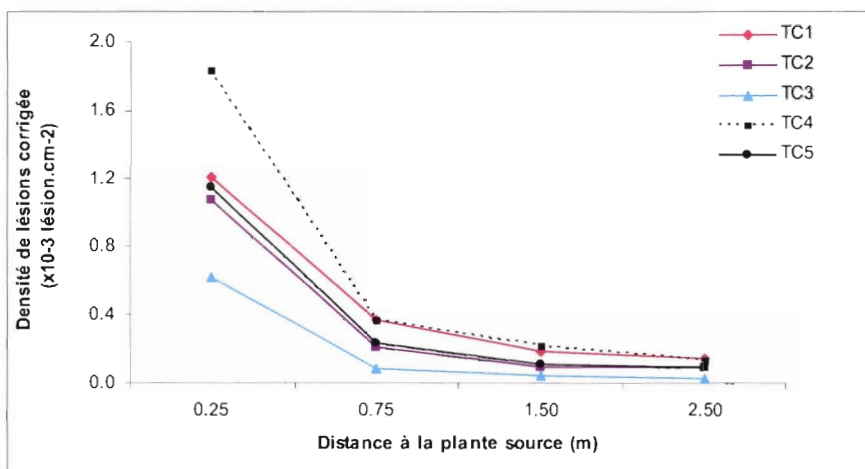


Figure 3. Gradients primaires de dissémination des spores selon le type de couvert (EMBRAPA, Brésil, 2004).

TC1, type de couvert 1 (haricots purs âgés), TC2, type de couvert 2 (haricots purs d'âge intermédiaire), TC3, type de couvert 3 (haricots purs jeunes), TC4, type de couvert 4 (association haricot-maïs), et TC5, type de couvert 5 (association haricot-arachide). Chaque point représente la moyenne de densité de lésion, corrigée pour la puissance des sources d'inoculum, de 16 plantes pour les quatre réplifications et les quatre directions (N, S, E et O).

Tableau 3. Analyse de variance réalisée sur les mesures de dissémination de spores, avec deux corrections successives (CATIE, Costa Rica, 2001)

Source de variation	dl	NL ^a			NLC ^b			NLC2 ^c		
		CM	F	P	CM	F	P	CM	F	P
<i>Unité principale</i>								<i>(10³)</i>		
Réplication	2	60			0.013			0.15		
Type de couvert (A)	3	1553	0.98	0.46	0.061	1.00	0.45	1.95	1.48	0.31
Erreur a	6	1580			0.122			1.32		
<i>Unité secondaire</i>										
Direction (B)	3	704	1.78	0.18	0.023	1.42	0.26	0.53	1.24	0.32
AxB	9	388	0.99	0.48	0.045	0.90	0.54	0.17	0.40	0.92
Erreur b	24	394			0.133			0.43		
<i>Unité tertiaire</i>										
Distance (C)	2	43195	77.11*	<0.01	1.156	69.35*	<0.01	34.1	58.2*	<0.01
AxC	6	1205	2.15	0.06	0.097	1.94	0.08	1.86	3.18*	<0.01
BxC	6	662	1.18	0.33	0.054	1.07	0.38	0.61	1.05	0.40
AxBxC	18	469	0.84	0.65	0.105	0.70	0.80	0.19	0.33	0.99
Erreur c	64	560			0.533			0.58		

^a NL, nombre de lésions observées par plante piège

^b NLC, nombre de lésions observées par plante piège, corrigé par le nombre de lésions présentes sur la plante source

^c NLC2, densité de lésions corrigée, c'est-à-dire NLC corrigé par la surface foliaire

Unité principale: type de couvert (TC1, haricots purs âgés, TC2, haricots purs d'âge intermédiaire, TC3, haricots purs jeunes, ou TC4, association haricot-maïs)

Unité secondaire: direction (N, S, E, ou O)

Unité tertiaire: distance à la plante source (0.25, 0.75, ou 1.50m)

* significatif au seuil de 1%

Tableau 4. Analyse de variance réalisée sur les mesures de dissémination de spores, avec deux corrections successives (EMBRAPA, Brésil, 2004)

Source de variation	dl	NL ^a			NLC ^b			NLC2 ^c		
		CM	F	P	CM	F	P	CM	F	P
<i>Unité principale</i>								<i>(10⁶)</i>		
Réplication	3	612			0.011			2.10		
Type de couvert (A)	4	1502	3.25	0.05	0.009	1.88	0.18	1.78	2.04	0.15
Erreur a	12	463			0.005			0.86		
<i>Unité secondaire</i>										
Direction (B)	3	623	2.72	0.05	0.002	1.59	0.21	0.21	0.71	0.55
AxB	12	257	1.13	0.36	0.002	1.08	0.40	0.33	1.14	0.36
Erreur b	45	229			0.001			0.29		
<i>Unité tertiaire</i>										
Distance (C)	3	28188	126.92*	<0.01	0.119	79.43*	<0.01	21.20	75.39*	<0.01
AxC	12	486	2.19*	0.01	0.003	1.86*	0.04	0.55	1.95*	0.03
BxC	9	269	1.21	0.28	0.001	0.71	0.70	0.08	0.30	0.97
AxBxC	36	189	0.85	0.71	0.001	0.79	0.80	0.19	0.67	0.92
Erreur c	180	222			0.002			0.28		

^a NL, nombre de lésions observées par plante piège

^b NLC, nombre de lésions observées par plante piège corrigé par le nombre de lésions présentes sur la plante source

^c NLC2, densité de lésions corrigée, c'est-à-dire NLC corrigé par la surface foliaire

Unité principale: type de couvert (TC1, haricots purs âgés, TC2, haricots purs d'âge intermédiaire, TC3, haricots purs jeunes, TC4, association haricot-maïs, ou TC5, association haricot-arachide)

Unité secondaire: direction (N, S, E, ou O)

Unité tertiaire: distance à la plante source (0.25, 0.75, 1.50, ou 2.50m)

* significatif au seuil de 1%

Les données de gradients de dissémination des spores se sont mieux ajustées sur le modèle puissance. Néanmoins, les coefficients de détermination sont faibles (de l'ordre de 0.60) et aucune pente des gradients (paramètre b de l'équation du modèle puissance linéarisé) n'est significativement différente des autres.

3.3. Sévérité observées sur les plantes de haricot des parcelles expérimentales

Les observations étaient également destinées à détecter et quantifier des gradients de dispersion de la maladie. Cependant aucun gradient n'a été mis en évidence, vraisemblablement en raison d'un inoculum extérieur important apparu tardivement (sévérité d'environ 7% pour la dernière observation des parcelles témoins d'âge intermédiaire, TC2, pour l'expérimentation réalisée à l'EMBRAPA). De plus, les quantités de maladie peuvent varier entre unités végétales considérées (Wolfe, 1985), réduisant la précision des mesures.

Les courbes de progression de la sévérité en fonction du type de couvert sont données dans la figure 4, pour l'expérimentation réalisée au CATIE.

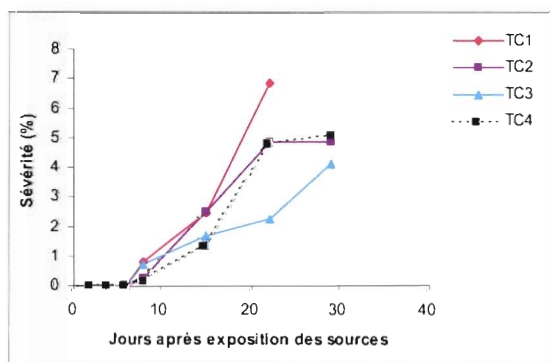


Figure 4. Courbes de progression de maladie (sévérité) selon le type de couvert (CATIE, Costa Rica, 2001).

TC1, type de couvert 1 (haricots purs âgés), TC2, type de couvert 2 (haricots purs d'âge intermédiaire), TC3, type de couvert 3 (haricots purs jeunes), et TC4, type de couvert 4 (association haricot-maïs). Chaque point représente la moyenne du pourcentage de sévérité de 12 plantes pour les trois répétitions et les quatre directions (N, S, E et O).

Une sévérité terminale de l'ordre de 7% est observée pour les plantes de haricot âgées (type de couvert TC1). Les parcelles de haricots plus jeunes montrent des sévérités terminales plus faibles de l'ordre de 4 à 5% (TC2 et TC3). Aucune différence de sévérité terminale n'est observée entre les parcelles de haricots en monoculture (TC2) et en association avec du maïs

(TC4), même si la courbe de progression de la sévérité semble être ralentie en présence de maïs (figure 4). L'effet du type de couvert sur les niveaux de maladie (AUSPC) n'est pas significatif selon l'analyse de variance ($F = 1.51$; $P = 0.28$). Les AUSPC sont de l'ordre de 0.06%-jours (TC1), 0.05%-jours (TC2) et 0.03%-jours (TC3 et TC4).

La progression de la sévérité dans les différentes couches foliaires a été étudiée. La figure 5 montre les courbes de progression de la sévérité pour les différentes feuilles observées (troisième, cinquième et dernière feuilles) en fonction du type de couvert.

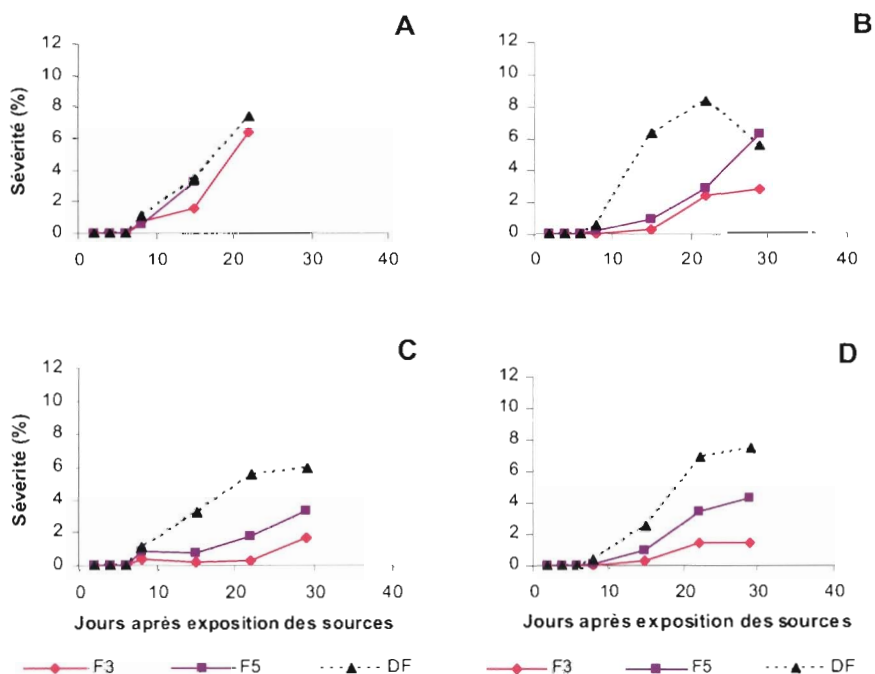


Figure 5. Courbes de progression de maladie (sévérité) observées sur différentes feuilles selon le type de couvert (CATIE, Costa Rica, 2001).

F3, F5, et DF, sont les troisièmes, cinquièmes et dernières feuilles en partant du haut du rameau principal. A, type de couvert 1 (haricots purs âgés), B, type de couvert 2 (haricots purs d'âge intermédiaire), C, type de couvert 3 (haricots purs jeunes) et D, type de couvert 4 (association haricot-maïs). Chaque point représente la moyenne du pourcentage de sévérité de 12 plantes pour les trois réplifications et les quatre directions (N, S, E et O).

Les sévérités sont plus importantes sur les dernières feuilles (DF, à la base du couvert) que sur les feuilles plus hautes (F3 et F5). Ainsi, un gradient de sévérité est observé de la base au

sommet du couvert. La figure 5 montre également que les distributions de sévérité diffèrent selon le type de couvert. Les épidémies sur les troisièmes et cinquièmes feuilles sont plus rapides pour des plantes âgées (TC1, figure 5A) que pour des plantes plus jeunes (TC2 et TC3, figures 5B et 5C).

Les courbes de progression de la sévérité en fonction du type de couvert sont données dans la figure 6, pour l'expérimentation réalisée à l'EMBRAPA.

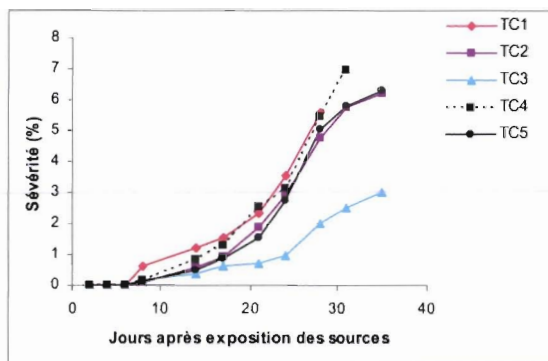


Figure 6. Courbes de progression de maladie (sévérité) selon le type de couvert (EMBRAPA, Brésil, 2004).

TC1, type de couvert 1 (haricots purs âgés), TC2, type de couvert 2 (haricots purs d'âge intermédiaire), TC3, type de couvert 3 (haricots purs jeunes), TC4, type de couvert 4 (association haricot-maïs) et TC5, type de couvert 5 (association haricot-arachide).

Chaque point représente la moyenne du pourcentage de sévérité de 16 plantes pour les quatre réplifications et les quatre directions (N, S, E et O).

Une sévérité terminale de l'ordre de 6% est observée pour les plantes de haricot âgées et d'âge intermédiaire (types de couvert TC1 et TC2). Les parcelles de haricots jeunes montrent des sévérités terminales plus faibles de l'ordre de 3% (TC3). La courbe de progression de la sévérité des parcelles de haricots en association avec du maïs (TC4) semble plus élevée que celle des parcelles de haricots en monoculture (TC2), la sévérité terminale étant de l'ordre de 7%. Aucune différence de courbe de progression de la sévérité n'est observée entre les parcelles de haricots en monoculture (TC2) et en association avec de l'arachide (TC5). L'effet du type de couvert sur les niveaux de maladie (AUSPC) est significatif selon l'analyse de variance ($F = 5.19$; $P = 0.01$). L'AUSPC du type de couvert de haricots jeunes (TC3) est significativement plus faible que celles des autres selon le test de Duncan de comparaison de moyennes. Les AUSPC sont de l'ordre de 0.22%-jours (TC1 et TC4), 0.19%-jours (TC2 et TC5) et 0.08%-jours (TC3). La figure 7 montre les courbes de progression de la sévérité pour

les différentes feuilles observées (troisième, cinquième et dernière feuilles) en fonction du type de couvert. Les mêmes observations que pour l'expérimentation réalisée au CATIE peuvent être faites. Une réduction de la sévérité est observée principalement pour les feuilles situées à la base du couvert (dernières feuilles), du fait de la défoliation.

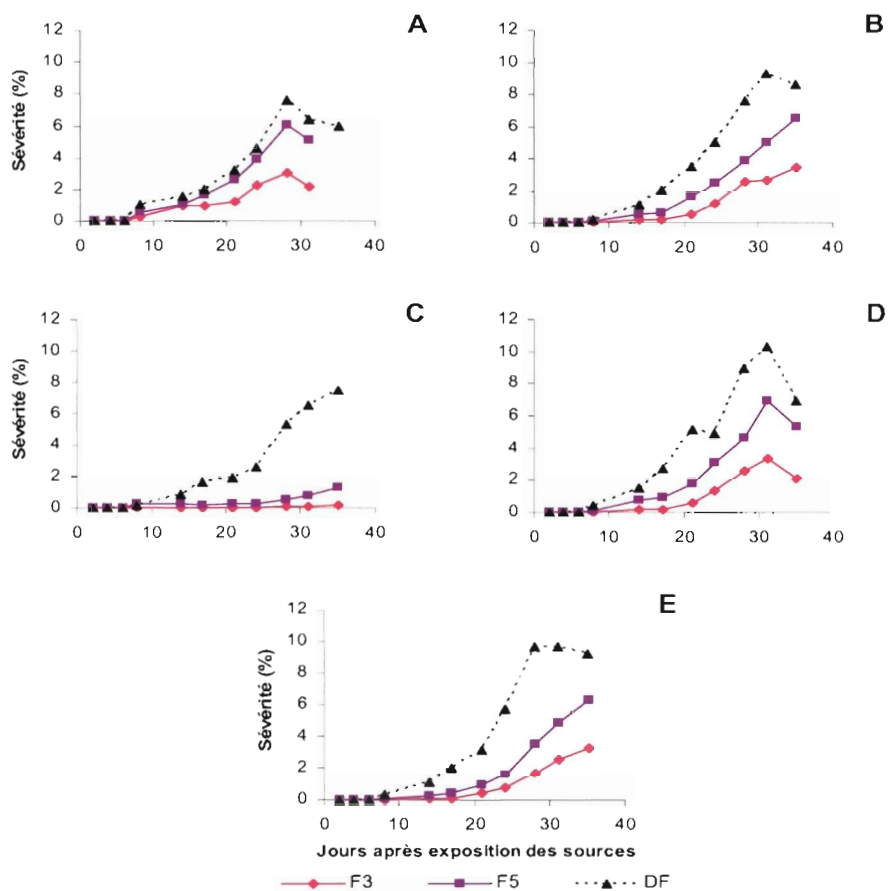


Figure 7. Courbes de progression de maladie (sévérité) observées sur différentes feuilles selon le type de couvert (EMBRAPA, Brésil, 2004).

F3, F5, et DF, sont les troisièmes, cinquièmes et dernières feuilles en partant du haut du rameau principal.

A, type de couvert 1 (haricots purs âgés), B, type de couvert 2 (haricots purs d'âge intermédiaire), C, type de couvert 3 (haricots purs jeunes), D, type de couvert 4 (association haricot-maïs) et E, type de couvert 5 (association haricot-arachide).

Chaque point représente la moyenne du pourcentage de sévérité de 16 plantes pour les quatre réplifications et les quatre directions (N, S, E et O).

3.4. Défoliation des plantes de haricot des parcelles expérimentales

Les figures 8 et 9 montrent les courbes de progression de la défoliation des feuilles pour les différents types de couvert et les deux expérimentations. La défoliation terminale est moins importante dans les parcelles de haricots jeunes (TC3), de l'ordre de 50% au CATIE (figure 8) et 30% à l'EMBRAPA (figure 9). La défoliation terminale est de l'ordre de 80% au CATIE et 60% à l'EMBRAPA pour les autres types de couvert. Les courbes de progression de la défoliation suivent les courbes de progression de la sévérité.

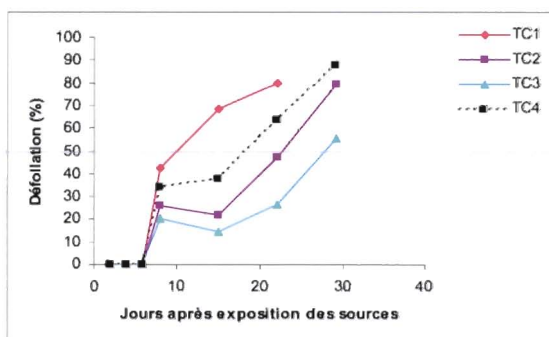


Figure 8. Courbes de progression de défoliation des feuilles selon le type de couvert (CATIE, Costa Rica, 2001).

TC1, type de couvert 1 (haricots purs âgés), TC2, type de couvert 2 (haricots purs d'âge intermédiaire), TC3, type de couvert 3 (haricots purs jeunes), et TC4, type de couvert 4 (association haricot-maïs). Chaque point représente la moyenne du pourcentage de défoliation des feuilles de 12 plantes pour les trois réplifications et les quatre directions (N, S, E et O).

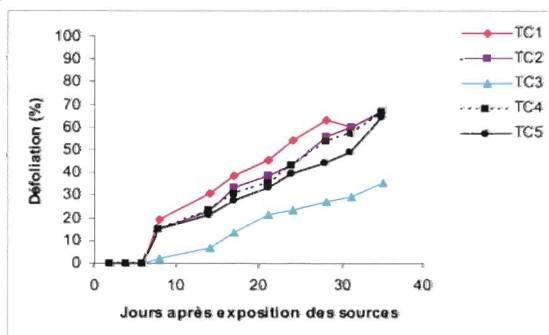


Figure 9. Courbes de progression de défoliation selon le type de couvert (EMBRAPA, Brésil, 2004).

TC1, type de couvert 1 (haricots purs âgés), TC2, type de couvert 2 (haricots purs d'âge intermédiaire), TC3, type de couvert 3 (haricots purs jeunes), TC4, type de couvert 4 (association haricot-maïs) et TC5, type de couvert 5 (association haricot-arachide). Chaque point représente la moyenne du pourcentage de défoliation des feuilles de 16 plantes pour les quatre réplifications et les quatre directions (N, S, E et O).

4. Discussion

Les résultats de ces expérimentations apportent des informations sur les gradients de dissémination des spores pour ce pathosystème. Ces résultats montrent que les gradients de dissémination des spores sont modifiés selon la structure du couvert. On observe des gradients plus forts dans des parcelles de haricots plus âgés, présentant un couvert plus dense (LAI supérieure). Ainsi, les spores sont interceptées par les feuilles du couvert et sont donc disséminées moins loin de la source d'inoculum. Des résultats similaires ont été obtenus pour la cercosporiose de l'arachide (Savary et Van Santen, 1992). Pour des sources d'inoculum situées en dessous du couvert (fraises infectées par *Colletotrichum acutatum*), Madden et Boudreau (1995 et 1997) ont montré que la densité de plantes peut avoir un effet de réduction des gradients de dissémination des spores par la pluie et des gradients de maladie, ainsi que des niveaux d'incidence de la maladie. Cependant ces effets sont complexes et variables selon les dates et les années d'observations. Une des hypothèses que les auteurs proposent est qu'un couvert végétal dense peut réduire la dissémination des spores dans ce couvert puisqu'il réduit la proportion de pluie incidente qui pénètre celui-ci (Madden et Boudreau, 1997).

L'interception des spores par un couvert plus dense corrobore les observations des sévérités qui sont plus élevées dans des parcelles de haricots plus âgés. Une LAI plus importante peut rendre le microclimat plus favorable pour la maladie, notamment en augmentant la durée d'humectation du couvert (Burdon et Chilvers, 1982). Une augmentation des niveaux de sévérité de tache angulaire a été observée sur des plantes de haricot traitées par du phosphate, ce dernier ayant augmenté la surface foliaire de ces plantes par rapport à des plantes non traitées (Boudreau, 1993). La défoliation des feuilles des plantes de haricot âgées est plus élevée que pour les plantes de haricot jeunes. Elle atteint des niveaux de 60 à 80% selon l'expérimentation.

L'effet de l'association de plantes de haricot avec du maïs sur les gradients de dissémination des spores est variable selon l'expérimentation considérée. Alors que dans l'expérimentation réalisée au Costa Rica aucun effet n'est observé, le gradient de dissémination des spores apparaît plus fort dans les parcelles de haricots associés avec du maïs mises en place au Brésil. Ces différences peuvent être expliquées par le fait que la densité en maïs effective a différé d'une expérimentation à l'autre (plus faible au Costa Rica qu'à l'EMBRAPA). La présence de plantes de maïs réduit la vitesse du vent dans le couvert

(Boudreau et Mundt, 1992; Boudreau, 1993), ce qui pourrait réduire la dissémination des spores. Les spores retenues dans le couvert peuvent alors infecter les feuilles de haricot. Ces infections peuvent être favorisées par le changement du microclimat dû à la présence des plantes de maïs, qui augmentent la durée d'humectation du couvert (Boudreau et Mundt, 1992; Boudreau, 1993). Ainsi les sévérités des plantes de haricot associées avec du maïs sont plus élevées que celles des plantes de haricot en monocultures dans l'expérimentation réalisée au Brésil. Cependant ces différences ne sont pas significatives. De plus, dans l'expérimentation réalisée au Costa Rica, les courbes de progression de la sévérité sont identiques pour des haricots en monocultures ou en association avec du maïs. L'effet des associations haricot-maïs sur les épidémies de tache angulaire apparaît complexe. En effet une réduction de la sévérité a été observée sur des plantes de haricot en association avec du maïs (Mora Eguiguren, 1978; Van Rheenen et al., 1981; Lanter, 1990 ; Boudreau, 1993), alors que dans d'autres expérimentations une augmentation de la sévérité est observée (Moreno, 1977; Msuku et Edge, 1982; Lanter, 1990; Sengooba, 1990).

Aucun effet de l'association de plantes de haricot avec de l'arachide sur les gradients de dissémination des spores n'a été mis en évidence. En effet, la dissémination des spores n'est pas altérée dans ce type d'association, car les plantes d'arachide ont la même taille que les plantes de haricot et ne provoquent donc pas de changement de structure physique du couvert. Cependant, un résultat attendu pour ce traitement aurait été une réduction de la sévérité par rapport au témoin (culture pure), la densité en plantes de haricot étant réduite de moitié. Les plantes d'arachide ont été utilisées pour mimer des plantes de haricot résistant. Ce type d'association (une plante hôte et une plante non hôte) n'apparaît pas être efficace en terme de contrôle de la tache angulaire. Cependant, cette expérimentation n'a été réalisée qu'une seule fois et pour une proportion de plante non hôte par plante sensible de 1:1. D'autres proportions plus élevées pourraient être envisagées. Bien que Pyndji et Trutmann (1992 et 1994) aient montré une réduction des niveaux de sévérités de tache angulaire en utilisant des associations variétales de haricot, leur démarche était différente puisqu'elle consistait à intégrer une variété résistante à un mélange de variétés de haricot préexistant, ayant des niveaux de résistance différents. Wolfe (1985) signale que la présence d'infections issues d'un inoculum extérieur aux parcelles expérimentales est un facteur réduisant fortement la puissance de ce type d'expérimentation. L'inoculum extérieur aux parcelles a été probablement important dans les deux expérimentations, ce qui peut expliquer le fait que l'efficacité de ce genre d'association

dans la réduction des niveaux de maladie soit réduite (Wolfe, 1985). Cet inoculum extérieur peut avoir plusieurs origines : il pourrait provenir de certaines graines contaminées car celles-ci n'étaient pas traitées, de champs infectés environnants (parcelles de haricot artificiellement infectées présentes à environ 1 km), ou de spores mélangées à la terre provenant d'une expérimentation réalisée l'année précédente.

Les courbes de progression de la sévérité varient en fonction de la localisation des feuilles du couvert. Des gradients de sévérités sont observés de la base au sommet du couvert. Ces résultats ne vont pas dans le sens des résultats obtenus dans les expérimentations sur les effets de l'âge des plantes et des feuilles, où une résistance des tissus âgés a été mise évidence (chapitre 3 III A). En fait, le facteur le plus important est la durée d'exposition des tissus de l'hôte à la maladie. Les tissus situés en bas du couvert, donc plus âgés, sont présents durant une période de temps plus longue que les tissus jeunes et sont donc en contact plus de temps avec l'inoculum.

Les densités de lésions corrigées pour la puissance des sources observées sur les plantes pièges sont de l'ordre de dix fois plus importantes au CATIE qu'à l'EMBRAPA. Ces différences de densités de lésions pourraient être expliquées par les différences dans les durées d'exposition des plantes sources au champ. A l'EMBRAPA, les plantes sources ont été exposées quatre jours, puisque les plantes en pot supportaient mal les conditions environnementales présentes durant cette période. Ainsi, les spores localisées sur ces plantes sources ont pu être libérées durant quatre jours au lieu de six jours au CATIE. De plus, l'humidité relative moyenne minimale a été plus faible à l'EMBRAPA (40%) qu'au CATIE (68%) pour des températures équivalentes. Cette humidité relative faible a pu réduire la survie des spores déposées sur les plantes pièges, ce qui pourrait expliquer que les densités de lésions observées sur les plantes pièges soient de l'ordre de dix fois plus faibles à l'EMBRAPA. Les caractéristiques (intensités, taille des gouttes) des pluies ayant eu lieu au CATIE et des événements d'irrigation à l'EMBRAPA ne sont pas connues. Cependant nos résultats suggèrent que la pluie, comme l'irrigation des parcelles, associée au vent, a été efficace dans la dissémination des spores et la mise en place des épidémies. Les sévérités maximales observées sur les plantes des parcelles au CATIE et à l'EMBRAPA sont du même ordre (de 3 à 7%) que les sévérités rapportées dans la littérature (Mora et al., 1985; Buruchara et al., 1988; Bergamin-Filho et al., 1997; Carneiro et al., 1997; Silva et al., 1998; de Jesus Junior et al., 2001 et 2003).

Alors que les gradients de dissémination des spores sont relativement faciles à mettre en évidence, ces résultats montrent la difficulté de détecter des écarts significatifs des niveaux de maladie dans différentes structures d'un couvert végétal. Dans le premier cas, l'effet de la structure du couvert sur les gradients de dissémination des spores est dû à des mécanismes physiques. Dans le second cas, l'effet de la structure du couvert sur les niveaux de maladie est dû à différentes interactions complexes existantes entre le peuplement végétal, le pathogène et l'environnement.

IV. Synthèse

Ces expérimentations apportent une première quantification des gradients primaires de dissémination des spores dans le cas du pathosystème *P. vulgaris* - *P. griseola*. L'effet de la structure du couvert végétal sur les épidémies de tache angulaire est mis en évidence seulement pour des structures différentes en terme de surface foliaire (différents stades de croissance des plantes). Des gradients primaires plus forts et des niveaux de maladie plus élevés ont été observés dans les peuplements âgés, ce qui est peut être attribuable à une surface de piégeage des spores, représentée par les feuilles du couvert, plus importante. L'effet des associations de haricots avec du maïs ou de l'arachide sur les épidémies n'a pas été mis en évidence. Ceci pourrait être dû au fait que le haricot est une plante qui présente une surface génotypique relativement grande qui augmente la proportion d'autoinfection. Il a été montré que l'autoinfection est élevée dans le cas de ce pathosystème et pour une dissémination des spores par la pluie (Chapitre 2 II C). De plus, une quantité importante d'inoculum peut provenir de l'extérieur des parcelles et réduire l'efficacité des associations. Dans le cadre de nos expérimentations, l'origine de l'inoculum extérieur est inconnue. Nos résultats n'indiquent donc pas que ce type d'associations interspécifiques soit efficace pour le contrôle de la maladie. Néanmoins, d'autres expérimentations pourraient être envisagées et seront abordées dans la dernière partie liée à la conclusion et aux perspectives de recherche.

Les courbes de progression de la sévérité varient en fonction de la localisation des feuilles du couvert. Des gradients de sévérités sont observés de la base au sommet du couvert. Ces résultats correspondent aux épidémies simulées dans des couches foliaires différentes du couvert à l'aide du modèle de simulation élaboré dans le chapitre 2. Ainsi, ces résultats apportent un argument supplémentaire pour dire que le modèle est réaliste. Les courbes de progression de la défoliation varient selon le type de couvert dans le même sens que les courbes de progression de la sévérité. Ces observations corroborent l'idée que la défoliation soit une fonction directrice de la sévérité (structure du modèle dans le chapitre 2 III D; Willocquet et al., 2004).

Les gradients primaires et les niveaux de maladie apparaissent variables selon les conditions environnementales. Ces résultats montrent la complexité des interactions hôte - pathogène - environnement et soulignent l'importance de considérer l'impact de l'environnement sur les épidémies lors de l'évaluation des systèmes de contrôle des maladies.

Conclusions et perspectives

Les résultats obtenus dans le cadre de cette thèse apportent des éléments conduisant à une meilleure compréhension des interactions existantes entre les quatre éléments du tétraèdre, que sont le pathosystème *Phaseolus vulgaris* - *Phaeoisariopsis griseola*, l'environnement et l'homme par ses pratiques agricoles (figure 1). A partir d'une analyse - système synthétisant les informations disponibles sur les caractéristiques épidémiologiques de la maladie, une structure de modèle a été proposée. Celle-ci a permis de mettre en évidence des axes de recherche importants dans la compréhension de la dynamique des épidémies chez ce pathosystème.

Epidémies tardives et double source d'inoculum

Une hypothèse clé portait sur le phénomène de défoliation des tissus infectés qui peut avoir plusieurs conséquences sur les épidémies causées par ce type de pathogène hémibiotrophe, notamment d'induire une accumulation des tissus infectés sur le sol (figure 1). Ainsi nous avons émis l'hypothèse que l'initiation tardive et l'accélération des épidémies en fin de cycle de l'hôte seraient dues à cette accumulation progressive des tissus infectés, qui représente une seconde source d'inoculum dont la taille s'accroît. Les résultats obtenus montrent que les tissus infectés défoliés contribuent aux infections du couvert végétal, même si cette contribution est moindre par rapport à celle des tissus infectés situés dans ce même couvert. Ainsi, une double source d'inoculum intervient dans le cas de ce pathosystème. Même si les débris végétaux infectés sont souvent décrits comme sources d'inoculum primaire pour de nombreux pathosystèmes (Palti, 1984; Agrios, 1997), ceux-ci ont été rarement décrits dans la littérature comme des sources d'inoculum présentes et actives durant toute la durée des épidémies (Thal et Campbell, 1988; Duthie et Campbell, 1991). Les résultats obtenus dans le cadre de cette thèse démontrent expérimentalement la participation des tissus infectés défoliés à la dynamique des épidémies comme c'est le cas pour des maladies foliaires de la luzerne (Thal et Campbell, 1988; Duthie et Campbell, 1991).

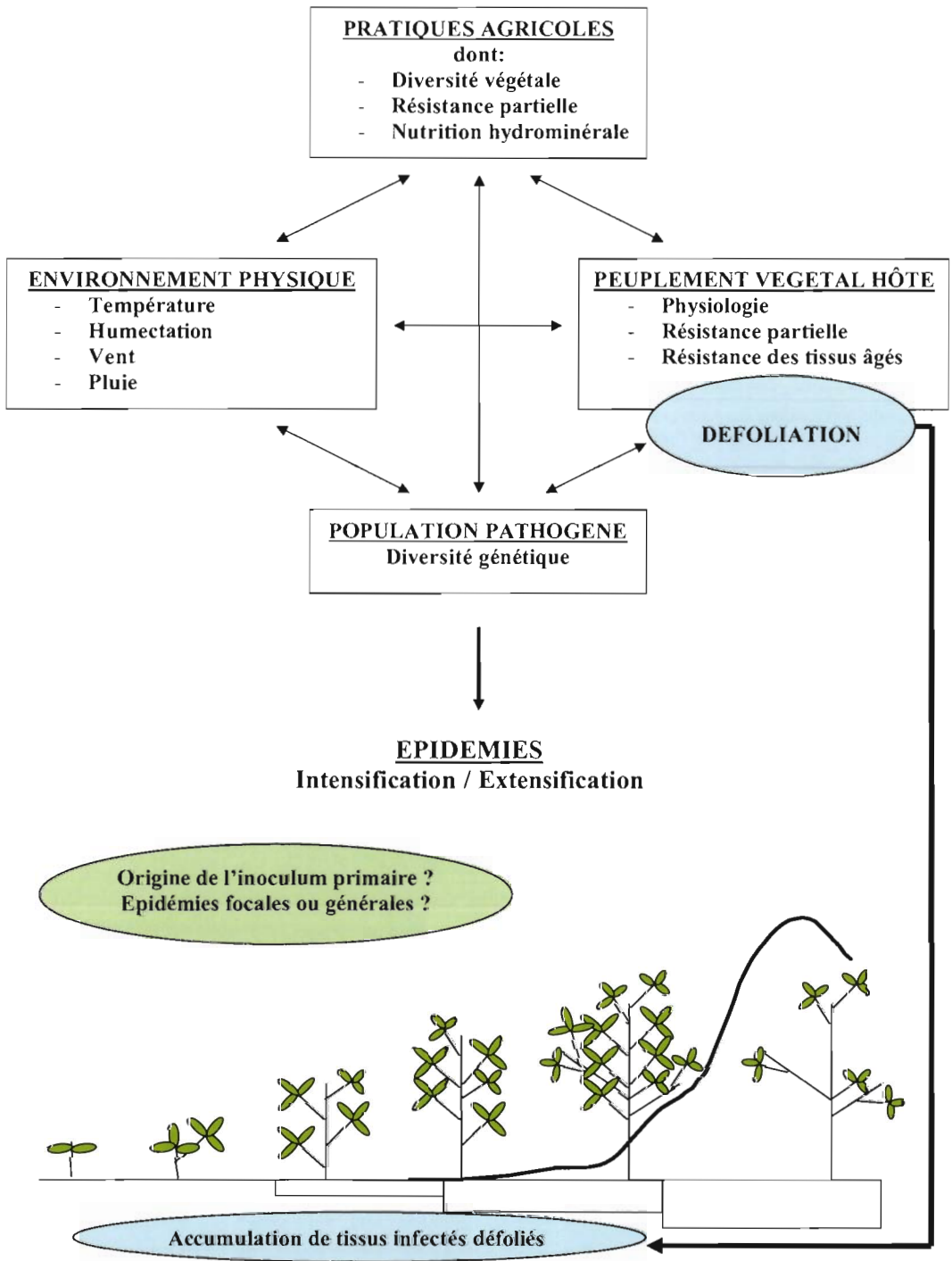


Figure 1. Représentation schématique des interactions entre l'hôte, le pathogène, l'environnement et les pratiques agricoles.

Origine des sources d'inoculum primaires

L'initiation tardive des épidémies de tache angulaire soulève des questions quant à l'origine et l'importance relative des sources d'inoculum. Ces sources potentielles d'inoculum peuvent être des graines, des débris végétaux et des particules de sol infectés, d'autres hôtes (principalement des plantes du genre *Phaseolus*, *Pisum* et *Vigna*) et des plantes de haricot commun cultivées en dehors des saisons de culture. Des études épidémiologiques classiques sur les gradients et les localisations des foyers de maladie par rapport à des sources potentielles pourraient être combinées à des études moléculaires de la distribution spatiale des génotypes du champignon (Milgroom et Peever, 2003). Cette approche a permis par exemple de caractériser les sources d'inoculum dans le cas de *Phytophthora infestans* (Zwankhuizen et al., 1998).

Déclin des épidémies

Une autre caractéristique des épidémies de tache angulaire est la réduction des sévérités en fin d'épidémies, caractéristique retrouvée également chez des maladies foliaires de la luzerne (Thal et Campbell, 1988) et du trèfle (Nelson et Campbell, 1993a). Cette réduction des sévérités terminales est le fait de l'interaction entre la défoliation et la croissance des tissus (Nelson et Campbell, 1993a) mais aussi des changements de physiologie des plantes et du microclimat en interactions (Thal et Campbell, 1988). La défoliation des tissus infectés est donc un composant important des épidémies qui interagit avec le tétraèdre composé du pathosystème hôte-pathogène, de l'environnement et des pratiques agricoles (figure 1).

Structure spatiale des épidémies

Une des conséquences de la défoliation des tissus infectés est la modification de la distribution spatiale qui a été analysée en détails pour un complexe d'espèces pathogènes du trèfle (Nelson et Campbell, 1993b) et qui peut induire par exemple un passage d'un état d'épidémie généralisée à un état agrégé. L'aspect spatial des épidémies de tache angulaire n'a été abordé dans cette thèse que dans le cadre de la dissémination des spores. Les épidémies de tache angulaire sont-elles générales ou focales ? Bien qu'aucune expérimentation spécifique n'ait été à notre connaissance mise en œuvre pour répondre à cette question, des indications

amènent à penser que les épidémies de tache angulaire sont générales (A. Sartorato, communication personnelle) et non pas focales. Ces observations semblent surprenantes compte tenu des résultats obtenus dans le cadre de cette thèse qui ont montré une dissémination des spores assurée principalement par la pluie, une proportion d'autoinfection à l'échelle d'une plante prépondérante et des gradients de dissémination des spores relativement forts. Ces caractéristiques suggèreraient en effet plutôt des épidémies de type focal. Une analyse spatiale des épidémies pourrait être envisagée comme dans le cas du complexe d'espèces pathogènes du trèfle (Nelson et Campbell, 1993b), en prenant en compte les niveaux de défoliation des plantes des parcelles testées et les conditions environnementales qui pourraient être quantifiées à différents sites des parcelles. Ainsi la distribution spatiale de la maladie serait étudiée en interaction avec la défoliation des tissus infectés et les conditions environnementales modifiées par cette défoliation.

Simulations des épidémies

L'élaboration d'un modèle de simulation a permis d'étudier les effets de plusieurs facteurs sur les épidémies. L'originalité de ce modèle réside dans l'incorporation de deux facteurs quotidiens de multiplication, l'un spécifique des sites infectieux situés sur les tissus infectés dans le couvert (DMFRc) et l'autre spécifique des sites infectieux situés sur les tissus infectés défoliés sur le sol (DMFRd). Tout en ayant conscience des limites d'interprétation de ce modèle dues aux hypothèses sous-jacentes, plusieurs conclusions peuvent être avancées. L'analyse de sensibilité montre que DMFRc a un impact plus important que DMFRd sur les épidémies. De même, la période infectieuse des sites infectieux sur les tissus malades dans le couvert (ic) a un impact important pour des valeurs de DMFRc élevées. La durée de la période infectieuse reste à ce jour un paramètre qui n'a jamais été mesuré pour la tache angulaire, en raison de la défoliation des tissus, qui rend difficile ces mesures expérimentales. Néanmoins, des expériences pourraient être envisagées sur des folioles détachées mises en incubation dans une chambre climatique. Les travaux réalisés en conditions extérieures donnent des valeurs expérimentales de l'ordre de 1 pour DMFRc et 0.5 pour DMFRd. Ces valeurs sont faibles par rapport aux valeurs rapportées dans la littérature, mais les épidémies simulées en intégrant ces valeurs dans le modèle semblent assez réalistes, d'après la forme et les sévérités maximales des épidémies observées.

Dissémination et dépôt des spores

La contribution de ces deux sources d'inoculum aux infections est cependant fonction des conditions environnementales, comme il a été montré dans le cadre de ces travaux. Ainsi, la dissémination des spores et le dépôt de celles-ci sur le couvert sont plus importants dans des conditions environnementales faisant intervenir des événements pluvieux et ceci quelque soit la provenance de ces spores (dans le couvert ou au sol). En effet, la pluie entraîne une libération très importante des spores de ces deux sources d'inoculum, par 'tap and puff' et par éclaboussures. A chaque événement pluvieux, deux types de spores peuvent être distinguées, qui n'ont pas les mêmes implications sur la dynamique des épidémies. Le premier type de spores regroupe les spores libérées dans l'air ou redistribuées sur le couvert, qui peuvent participer à l'intensification de la maladie au niveau de la parcelle d'où elles proviennent et à l'extensification de la maladie, en étant transportées par le vent à grande distance. Le deuxième type de spores regroupe les spores lessivées au sol, qui peuvent être éliminées du système si elles sont entraînées dans le sol par les eaux de lessivage. Ce phénomène de lessivage est plus important pour des spores localisées sur les tissus défoliés au sol, ce qui pourrait expliquer une contribution plus faible de ces spores aux infections du couvert. Quelque soit la localisation des sources d'inoculum, des conditions environnementales sèches n'apparaissent pas être efficaces pour la libération, la dissémination et le dépôt des spores. En effet, une vitesse de vent seuil comprise entre 2 et 5m.s^{-1} est nécessaire à la libération des spores de *P. griseola*. Ces vitesses élevées sont peu fréquentes à l'intérieur du couvert, sauf lors de turbulences qui peuvent intervenir. La pluie favorise indirectement les épidémies en assurant une humectation suffisante du couvert végétal pour la germination des spores et la production de nouvelles générations de spores à partir des lésions (Agrios, 1997). La présence d'événements pluvieux semble être un moteur de l'intensification de la maladie à l'intérieur des parcelles de haricot. Le vent pourrait jouer un rôle complémentaire en favorisant l'extensification de la maladie par dissémination des spores libérées.

Echelles de dissémination

Un pathogène requiert une propagation à courte et à longue distance pour survivre. La dissémination des spores à courte distance lui assure une multiplication suffisante sur les tissus sensibles pour éviter son extinction et la dissémination des spores à longue distance lui

permet d'atteindre de nouveaux tissus sains (Van der Plank, 1975). Zawolek et Zadoks (1992) estime une valeur optimale de 0.8 pour la proportion de spores disséminée à courte distance, amenant à une intensification et une extensification maximales des épidémies. Selon nos résultats, les proportions de spores autodisséminées et allodisséminées au niveau de la même plante sont de cet ordre (0.86). Ainsi, même si la proportion d'aloinfection est faible, l'intensification et l'extensification des épidémies de tache angulaire pourraient être maximales.

Résistance partielle et résistances relatives

Le modèle de simulation élaboré dans le cadre de cette thèse nous a permis d'étudier les effets des résistances relatives pour l'efficacité d'infection, la période de latence et la sporulation sur les épidémies de tache angulaire. La résistance relative pour la période de latence semble être celle qui a le plus d'impact sur les épidémies de tache angulaire. Une des hypothèses émise sur la stratégie de survie de ce champignon était qu'une faible intensité de sporulation était compensée par un taux de survie élevé des spores déposées, une efficacité des infections élevée et une extension des lésions importante. Ainsi, on aurait pu penser que la résistance relative pour l'efficacité d'infection ait un effet plus important sur les épidémies. Bassanezi et al. (1997) ont suggéré le rôle important de l'extension des lésions dans les épidémies de tache angulaire, qui est un processus peu sensible aux conditions environnementales et qui conduit à de nouvelles infections directement, sans le délai d'une période de latence. L'effet de la résistance relative pour l'extension des lésions sur les épidémies n'a pas été abordé dans le cadre de nos travaux, mais c'est une des perspectives de recherche qui pourrait être envisagée. Ainsi, l'extension des lésions pourrait être incorporée dans le modèle de simulation et l'effet de cette extension des lésions en interaction avec la défoliation des tissus infectés sur les épidémies pourrait alors être étudié. Berger et al. (1997) mentionnent l'importance de l'extension des lésions dans la dynamique des épidémies de plusieurs maladies, dont notamment la cercosporiose de la luzerne. Ces auteurs proposent de considérer l'extension des lésions comme un sixième élément qui compléterait le quintuplet épidémiologique constitué de x_0 , la quantité initiale de maladie, p , la période de latence, i , la période infectieuse, N , la production quotidienne en spores et E , l'efficacité d'infection de ces spores (Zadoks et Schein, 1979).

Autoinfection, alloinfection et diversité végétale

Les effets de la diversité végétale sur les épidémies de tache angulaire ont été étudiés. Les pratiques agricoles qui la mettent en œuvre influencent à la fois l'intensification et l'extensification des épidémies. D'une part, elles peuvent agir sur les niveaux de maladie par le biais du peuplement végétal (comme par exemple par la résistance des plantes) et indirectement par un changement du microclimat qu'elles peuvent induire. D'autre part, ces pratiques agricoles peuvent modifier la dissémination des spores et la dispersion de la maladie (comme par exemple dans le cas des associations intra- et interspécifiques). Les expérimentations réalisées au champ apportent des éléments polycycliques importants dans l'étude des interactions existantes entre le pathosystème, l'environnement et les pratiques agricoles. Aucun effet des associations interspécifiques utilisées (haricot-maïs et haricot-arachide) n'a été observé sur la dissémination des spores et les niveaux de tache angulaire. Ceci peut être dû aux apports extérieurs d'inoculum qui ont été importants. Les effets attribuables à la diversité végétale dans le fonctionnement de ce pathosystème sont probablement faibles. Au cours des expérimentations, nous n'avons pas toujours pu disposer des moyens nécessaires à des échantillonnages, accroissant la précision des expériences, qui auraient peut être permis de détecter ces effets. En tout état de cause, le pathosystème *Phaseolus vulgaris* - *Phaeoisariopsis griseola* n'apparaît pas avoir les caractéristiques requises pour une efficacité maximale de ce genre d'associations, en raison de la faible proportion d'alloinfection par rapport à l'autoinfection observée dans le cadre de cette thèse. Cette proportion d'alloinfection par rapport à l'autoinfection faible pourrait être due à la surface génotypique de l'hôte qui est assez grande et à une extension des lésions relativement importante. Cependant, même si certaines caractéristiques inhérentes à un pathosystème ne prédisent pas un effet de la diversité végétale sur les épidémies, d'autres caractéristiques comme la spécialisation du pathogène à son hôte peuvent contrebalancer cette prédiction (Garrett et Mundt, 1999). De nouvelles expérimentations pourraient être menées afin de tester l'efficacité des associations variétales sur les épidémies de tache angulaire. Une première étape serait de sélectionner une variété qui présente une résistance à la plupart des populations pathogènes au champ, puis de mettre en place des expérimentations à un endroit où l'inoculum extérieur puisse être faible. L'effet de différentes proportions d'associations simples d'une variété de haricot sensible et d'une variété très résistante pourrait alors être

étudié sur les gradients de dissémination des spores et les épidémies (vitesse, valeur maximale) de tache angulaire.

Contrôle de la maladie

Nos résultats apportent des informations qui peuvent permettre de proposer des recommandations en termes de sélection de variétés pour la résistance et de pratiques agricoles. Une sélection de variétés résistantes pourrait être menée avec comme critère une résistance relative pour la période de latence. Une résistance axée sur la période de latence ralentirait les épidémies qui ne provoqueraient que peu de dégâts. En raison de la mobilisation des spores localisées sur les débris végétaux, une rotation des cultures peut être préconisée pour limiter les épidémies. Lorsque la rotation n'est pas possible, un assainissement du sol pourrait être envisagé en éliminant les débris végétaux infectés en fin de saisons culturales afin de réduire les quantités initiales d'inoculum primaire (Palti, 1984). Néanmoins, cet assainissement pourrait être moins efficace que souhaité, Plaut et Berger (1981) ayant montré que de faibles quantités initiales de maladie pouvaient être compensées par des taux d'accroissement de maladie plus rapides.

Le modèle élaboré dans le cadre de cette thèse nous apparaît utile dans une perspective d'études d'autres attributs du pathosystème *Phaseolus vulgaris* - *Phaeoisariopsis griseola*, comme pour d'autres pathosystèmes de ce type, pour lesquels la défoliation des tissus infectés intervient.

Références bibliographiques

- Agrios GN (1997) Plant pathology. Fourth Edition. Academic Press, San Diego
- Alderman SC, Nutter FW Jr et Labrinis JL (1989) Spatial and temporal analysis of spread of late leaf spot of peanut. *Phytopathology* 79: 837-844
- Allen DJ, Buruchara RA et Smithson JB (1998) Diseases of common bean. In: Allen DJ et Lenné JM (ed.) The pathology of food and pasture legumes (pp.179-265) Wallingford, CABI, UK
- Allorent D et Savary S (200-) A systems analysis of the epidemiological characteristics of angular leaf spot of bean, submitted to *European Journal of Plant Pathology*
- Alvarez-Ayala G et Schwartz HF (1979) Preliminary investigations of pathogenic variability expressed by *Isariopsis griseola*. *Annual Report of the Bean Improvement Cooperative* 22: 86-88
- Anderson RM et May RM (1979) Population biology of infectious diseases – part I. *Nature* 280: 361-367
- Assefa H, Van den Bosch F et Zadoks JC (1995) Focus expansion of bean rust in cultivar mixtures. *Plant Pathology* 44: 503-509
- Asseline J et Valentin C (1978) Construction et mise au point d'un infiltromètre à aspersion (ou mini-simulateur de pluie). *Cahiers Orstom série Hydrologie* 15 : 321-349
- Aust HJ, Bashi E et Rotem J (1980) Flexibility of plant pathogens in exploiting ecological and biotic conditions in the development of epidemics. In: Palti J et Kranz J (ed.) *Comparative epidemiology. A tool for a better disease management* (pp. 46-56) Pudoc, Wageningen
- Aylor DE (1990) The role of intermittent wind in the dispersal of fungal pathogens. *Annual Review of Phytopathology* 28: 73-92
- Aylor DE, Fry WE, Mayton H et Andrade-Piedra JL (2001) Quantifying the rate of release and escape of *Phytophthora infestans* sporangia from a potato canopy. *Phytopathology* 91: 1189-1196
- Bainbridge A et Legg BJ (1976) Release of barley-mildew conidia from shaken leaves. *Transactions of the British Mycological Society* 66: 495-498
- Bannon FJ et Cooke BM (1998) Studies on dispersal of *Septoria tritici* pycnidiospores in wheat-clover intercrops. *Plant Pathology* 47: 49-56
- Barrett JA (1980) Pathogen evolution in multilines and variety mixtures. *Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz* 87: 383-396

- Barros O, Cardenosa R et Skiles RL (1957) The severity and control of angular leaf spot of beans in Colombia. *Phytopathology* 47: 3 (abstr.)
- Barros O, Cardona C, Cardeñosa R et Skiles RL (1958) Angular leaf spot of bean in Columbia. *Plant Disease Reporter* 42: 420-424
- Bassanezi RB, Amorim L, Bergamin Filho A et Godoy CV (1997) Comparative analysis of bean rust and bean angular leaf spot: effect of temperature on monocyclic parameters. *Fitopatologia Brasileira* 22: 432-436
- Bassanezi RB, Amorim L, Filho AB et Hau B (1998) Effects of bean line pattern mosaic virus on the monocyclic components of rust and angular leaf spot of *Phaseolus* bean at different temperatures. *Plant Pathology* 47: 289-298
- Becker CM et Burr TJ (1994) Discontinuous wetting and survival of conidia of *Venturia inaequalis* on apple leaves. *Phytopathology* 84: 372-378
- Bergamin Filho AB, Carneiro SMTPG, Godoy CV, Amorim L, Berger RD et Hau B (1997) Angular leaf spot of *Phaseolus* beans: relationships between disease, healthy leaf area, and yield. *Phytopathology* 87: 506-515
- Berger RD (1973) Infection rates of *Cercospora apii* in mixed populations of susceptible and tolerant celery. *Phytopathology* 63: 535-537
- Berger RD (1975) Disease incidence and infection rates of *Cercospora apii* in plant spacing plots. *Phytopathology* 65: 485-487
- Berger RD, Bergamin Filho A et Amorim L (1997) Lesion expansion as an epidemic component. *Phytopathology* 87: 1005-1013
- Boudreau MA (1993) Effect of intercropping beans with maize on the severity of angular leaf spot of beans in Kenya. *Plant Pathology* 42: 16-25
- Boudreau MA et Mundt CC (1992) Mechanisms of alteration in bean rust epidemiology due to intercropping with maize. *Phytopathology* 82: 729-740
- Boudreau MA et Madden LV (1995) Effect of strawberry density on dispersal of *Colletotrichum acutatum* by simulated rain. *Phytopathology* 85: 934-941
- Brennan RM, Fitt BDL, Taylor GS et Colhoun J (1985a) Dispersal of *Septoria nodorum* pycnidiospores by simulated raindrops in still air. *Phytopathologische Zeitschrift* 112: 281-290
- Brennan RM, Fitt BDL, Taylor GS et Colhoun J (1985b) Dispersal of *Septoria nodorum* pycnidiospores by simulated rain and wind. *Phytopathologische Zeitschrift* 112: 291-297

- Burdon JJ et Chilvers GA (1976) Controlled environment experiments on epidemics of barley mildew in different density host stands. *Oecologia* 26: 61-72
- Burdon JJ et Chilvers GA (1982) Host density as a factor in plant disease ecology. *Annual Review of Phytopathology* 20: 143-165
- Buruchara RA (1983) Determination of pathogenic variation in *Isariopsis griseola* Sacc. and *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola* (Burk., 1926) Young, Dye et Wilkie 1978. PhD dissertation, University of Nairobi, Kenya
- Buruchara RA, Gathuru EM et Mukunya DM (1988) Disease progress of angular leaf spot caused by *Isariopsis griseola* Sacc. and its implications on resistance of some bean (*Phaseolus vulgaris* L.) cultivars. *Acta Horticulturae* 218: 321-328
- Busogoro JP, Jijakli MH et Lepoivre P (1999) Virulence variation and RAPD polymorphism in African isolates of *Phaeoisariopsis griseola* (Sacc.) Ferr., the causal agent of angular leaf spot of common bean. *European Journal of Plant Pathology* 105: 559-569
- Butt DJ et Royle DJ (1980) The importance of terms and definitions for a conceptually unified epidemiology. In: Palti J and Kranz J (ed.) *Comparative epidemiology. A tool for better disease management* (pp 29-45) Pudoc, Wageningen
- Calonnec A, Goyeau H et de Vallavieille-Pope C (1996) Effects of induced resistance on infection efficiency and sporulation of *Puccinia striiformis* on seedlings in variety mixtures and on field epidemics in pure stands. *European Journal of Plant Pathology* 102: 733-741
- Campbell CL et Madden LV (1990) *Introduction to Plant Disease Epidemiology*. John Wiley and Sons, New York
- Campos-Avila J et Fucikovsky Zak L (1980) Study of some characteristics of *Isariopsis griseola* Sacc., the agent which causes angular leaf spot of French bean. *Agrociencia* 39: 41-48
- Cardona-Alvarez C (1958) Herencia de la resistencia a la mancha angular en frijol. *Agricultura Tropical* 18: 330-331
- Cardona-Alvarez C et Walker JC (1956) Angular leaf spot of bean. *Phytopathology* 46: 610-615
- Carisse O, Bourgeois G et Duthie JA (2000) Influence of temperature and leaf wetness duration on infection of strawberry leaves by *Mycosphaerella fragariae*. *Phytopathology* 90: 1120-1125

- Carneiro SMTPG, Amorim L et Bergamin Filho A (1997) Angular leaf spot damage assessment on beans: relationship between disease severity, leaf area, and yield components. *Fitopatologia Brasileira* 22: 427-431
- Carneiro SMTPG, Amorim L, Bergamin Filho A, Hau B et Bianchini A (2000) Leaf area dynamic, defoliation, and healthy leaf area variables on common beans with single and multiple infections of *Phaeoisariopsis griseola* and *Colletotrichum lindemuthianum*. *Summa Phytopathologica* 26: 406-412
- Casenave A et Valentin C (1988) Les états de surface de la zone sahélienne. Influence sur l'infiltration. Orstom, collection Didactiques
- Castilla NP, Leano RM, Elazegui FA, Teng PS et Savary S (1996) Effects of plant contact, inoculation pattern, leaf wetness regime, and nitrogen supply on inoculum efficiency in rice sheath blight. *Journal of Phytopathology* 144: 187-192
- Chacón MI, Jara C, Castellanos G, Posso CE, Buruchara R, Cuasquer JB et Pastor-Corrales MA (1997) Genetic diversity and relation between common bean angular leaf spot fungus isolates from Africa and South America: genetic improvement implications. *Annual Report of the Bean Improvement Cooperative* 40: 122-123
- Chin KM, Wolfe MS et Minchin PN (1984) Host-mediated interactions between pathogen genotypes. *Plant Pathology* 33: 161-171
- Cole H (1966) Angular leaf spot associated with severe defoliation of red kidney beans (*Phaseolus vulgaris*) in Pennsylvania. *Plant Disease Reporter* 50: 494 (abstr.)
- Cooke M (1981) Susceptibility of peanut leaves to *Cercosporidium personatum*. *Phytopathology* 71: 787-791
- Correa-Victoria FJ (1987) Pathogenic variation, production of toxic metabolites, and isoenzyme analysis in *Phaeoisariopsis griseola* (Sacc.) Ferr. PhD dissertation, Michigan State University, USA
- Correa FJ et Saettler AW (1986) Pathogenic variation in *Isariopsis griseola*, cause of angular leaf spot of bean. *Phytopathology* 76: 1141 (abstr.)
- Correa FJ et Saettler AW (1987) Angular leaf spot of red kidney beans in Michigan. *Plant Disease* 71: 915-918
- Correa-Victoria FJ, Pastor-Corrales MA et Saettler AW (1989) Angular leaf spot. In: Schwartz HF et Pastor-Corrales MA (ed.) *Bean production problems in the tropics* (pp 59-75) CIAT, Cali, Colombia

- Deighton FC (1990) Observations on *Phaeoisariopsis*. Mycological Research 94: 1096-1102
- Dhingra OD et Kushalappa AC (1980) No correlation between angular leaf spot intensity and seed infection in bean by *Isariopsis griseola*. Fitopatologia Brasileira 5: 149-152
- Diaz CP, de Armas E et Barrios A (1965) La mancha angular de la caraota producida por *Isariopsis griseola* Sacc. en la cuenca del lago de Valencia. Agronomia Tropical 14: 262-275
- Díaz-Lago JE, Stuthman DD et Leonard KJ (2003) Evaluation of components of partial resistance to oat crown rust using digital image analysis. Plant Disease 87: 667-674
- Duthie JA et Campbell CL (1991) Effects of plant debris on intensity of leaf spot diseases, incidence of pathogens, and growth of alfalfa. Phytopathology 81: 511-517
- Elmer WH et Ferrandino FJ (1995) Influence of spore density, leaf age, temperature, and dew periods on *Septoria* leaf spot of tomato. Plant Disease 79: 287-290
- Evenhuis A, Verdam B et Zadoks JC (1997) Splash dispersal of conidia of *Mycocentrospora acerina* in the field. Plant Pathology 46: 459-469
- Eversmeyer MG et Burleigh JR (1968) Effect of temperature on longevity of *Puccinia recondita* f. sp. *tritici* urediospores on dry wheat foliage. Plant Disease Reporter 52: 86-188
- FAO (2004) FAOSTAT disponibles sur le site <http://apps.fao.org/faostat/>
- Ferreira CF, Borem A, Carvalho GA, Nietsche S, Paula TJ Jr, Barros EG et Moreira MA (2000) Inheritance of angular leaf spot resistance in common bean and identification of a RAPD marker linked to a resistance gene. Crop Science 40: 1130-1133
- Finckh MR, Gacek ES, Czembor HJ et Wolfe MS (1999) Host frequency and density effects on powdery mildew and yield in mixtures of barley cultivars. Plant Pathology 48: 807-816
- Finckh MR, Gacek ES, Goyeau H, Lannou C, Merz U, Mundt CC, Munk L, Nadziak J, Newton AC, de Vallavieille-Pope C et Wolfe MS (2000) Cereal variety and species mixtures in practice, with emphasis on disease resistance. Agronomie 20: 813-837
- Fitt BDL et Bainbridge A (1983) Dispersal of *Pseudocercospora herpotrichoides* spores from infected wheat straw. Phytopathologische Zeitschrift 106: 214-225
- Fitt BDL et Lysandrou M (1984) Studies on mechanisms of splash dispersal of spores, using *Pseudocercospora herpotrichoides* spores. Phytopathologische Zeitschrift 111: 323-331

- Fitt BDL, Creighton NF, Lacey ME et McCartney HA (1986) Effects of rainfall intensity and duration on dispersal of *Rhynchosporium secalis* conidia from infected barley leaves. Transactions of the British Mycological Society 86: 611-618
- Fitt BDL, Gregory PH, Todd AD, McCartney HA et MacDonald OC (1987) Spore dispersal and plant disease gradients: a comparison between two empirical models. Journal of Phytopathology 118: 227-242
- Fitt BDL, McCartney HA, Creighton NF, Lacey ME et Walklate PJ (1988) Dispersal of *Rhynchosporium secalis* conidia from infected barley leaves or straw by simulated rain. Annals of Applied Biology 112: 49-59
- Fitt BDL, McCartney HA et Walklate PJ (1989) The role of rain in dispersal of pathogen inoculum. Annual Review of Phytopathology 27: 241-270
- Flier WG, Van den Bosch GBM et Turkensteen LJ (2003) Stability of partial resistance in potato cultivars exposed to aggressive strains of *Phytophthora infestans*. Plant Pathology 52: 326-337
- Forrester JW (1961) Industrial dynamics. Massachusetts Institute of Technology Press, Cambridge
- Garrett KA et Mundt CC (1999) Epidemiology in mixed host populations. Phytopathology 89: 984-990
- Garrett KA, Madden LV, Hughes G et Pfender WF (2004) New applications of statistical tools in plant pathology. Phytopathology 94: 999-1003
- Gaeumann E (1946) Pflanzliche Infektionslehre. Birkaeuser, Bâle
- Gepts P et Debouck D (1991) Origin, domestication, and evolution of the common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). In: Van Schoonhoven A et Voysest O (ed.) Common bean: research for crop improvement (pp. 7-53) CAB International, Wallingford, UK
- Gilligan CA (2002) An epidemiological framework for disease management. Advances in Botanical Research 38: 1-64
- Godoy CV, Carneiro SMTGP, Iamauti MT, Pria MD, Amorim L, Berger RD et Filho AB (1997) Diagrammatic scales for bean diseases: development and validation. Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz 104: 336-345
- Gomez KA et Gomez AA (1984) Statistical procedures for Agricultural Research. 2nd Ed. John Wiley and Sons, New York, USA

- Gregory PH (1948) The multiple-infection transformation. *Annals of Applied Biology* 35: 412-417
- Gregory PH (1968) Interpreting plant disease dispersal gradients. *Annual Review of Phytopathology* 6: 189-212
- Gregory PH, Guthrie EJ et Bunce ME (1959) Experiments on splash dispersal of fungus spores. *Journal of Genetic Microbiology* 20: 328-354
- Gubbins S, Gilligan CA et Kleczkowski A (2000) Population dynamics of plant-parasite interactions: thresholds for invasion. *Theoretical Population Biology* 57: 219-233
- Gúzman P, Gilbertson RL, Nodari R, Johnson WC, Temple SR, Mandala D, Mkandawire ABC et Gepts P (1995) Characterization of variability in the fungus *Phaeoisariopsis griseola* suggests coevolution with the common bean (*Phaseolus vulgaris*). *Phytopathology* 85: 600-607
- Gúzman P, Gepts P, Temple S, Mkandawire ABC et Gilbertson RL (1999) Detection and differentiation of *Phaeoisariopsis griseola* isolates with the polymerase chain reaction and group-specific primers. *Plant Disease* 83: 37-42
- Habtu A et Zadoks JC (1995) Components of partial resistance in *Phaseolus* beans against an Ethiopian isolate of bean rust. *Euphytica* 83: 95-102
- Harrison JG et Lowe R (1987) Wind dispersal of conidia of *Botrytis* spp. pathogenic to *Vicia faba*. *Plant Pathology* 36: 5-15
- High Performance Systems (1996) Stella II version 4.0 Technical Documentation. Loose-leafed. Hanover, NH, USA
- Hirst JM et Stedman OJ (1963) Dry liberation of fungus spores by raindrops. *Journal of Genetic Microbiology* 33: 335-344
- Hocking D (1967) A new virulent form of *Phaeoisariopsis griseola* causing circular leaf spot of French beans. *Plant Disease Reporter* 51: 276-278
- Hörberg HM (2002) Patterns of splash dispersed conidia of *Fusarium poae* and *Fusarium culmorum*. *European Journal of Plant Pathology* 108: 73-80
- Inglis DA et Hagedorn DJ (1984) Temperature requirements by *Isariopsis griseola* (IG) for infection and disease development on red kidney beans. *Phytopathology* 74: 856
- Inglis DA et Hagedorn DJ (1986) Temperature requirements by *Isariopsis griseola* for infection and disease development on red kidney beans. *Annual Report of the Bean Improvement Cooperative* 29: 35

- Jacobsen BJ (1997) Role of plant pathology in integrated pest management. *Annual Review of Phytopathology* 35: 373-391
- Jeger MJ (1986) Asymptotic behaviour and threshold criteria in model plant disease epidemics. *Plant Pathology* 35: 355-361
- Jeger MJ (2004) Analysis of disease progress as a basis for evaluating disease management practices. *Annual Review of Phytopathology* 42: 61-82
- Jeger MJ, Griffiths E et Jones DG (1981) Disease progress of non-specialised fungal pathogens in intraspecific mixed stands of cereal cultivars. I. Models. *Annals of Applied Biology* 98: 187-198
- Jennings DM, Ford-Lloyd BV et Butler M (1990) Effect of plant age, leaf position and leaf segment on infection of leek by leek rust, *Puccinia allii*. *Plant Pathology* 39: 591-597
- de Jesus Junior WC, Vale FXR, Coelho RR, Hau B, Zambolim L, Costa LC et Bergamin Filho A (2001) Effects of angular leaf spot and rust on yield loss of *Phaseolus vulgaris*. *Phytopathology* 91: 1045-1053
- de Jesus Junior WC, Vale FXR, Coelho RR, Paul PA, Hau B, Bergamin Filho A, Zambolim L et Berger RD (2003) Relationships between angular leaf spot, healthy leaf area, effective leaf area and yield of *Phaseolus vulgaris*. *European Journal of Plant Pathology* 109: 625-632
- Johnson R (1984) A critical analysis of durable resistance. *Annual Review of Phytopathology* 22: 309-330
- Johnson KB (1987) Defoliation, disease, and growth: a reply. *Phytopathology* 77: 1495-1497
- Kaizer WJ et Lukezic FL (1966) Influence of certain environmental factors on spore survival of *Cercospora hayi* from banana. *Phytopathology* 56:1290-1293
- Kiyosawa S et Shiyomi M (1972) A theoretical evaluation of the effect of mixing resistant variety with susceptible variety for controlling plant diseases. *Annals of the Phytopathological Society of Japan* 38: 41-51
- Kranz J (1980) Comparative epidemiology: an evaluation of scope, concepts, and methods. In: Palti J and Kranz J (ed.) *Comparative epidemiology. A tool for better disease management* (pp 18-28) Pudoc, Wageningen
- Kranz J et Hau B (1980) Systems analysis in epidemiology. *Annual Review of Phytopathology* 18: 67-83

- Kushalappa AC et Ludwig A (1982) Calculation of apparent infection rate in plant diseases: development of a method to correct for host growth. *Phytopathology* 72: 1373-1377
- Lannou C (2001) Intrapathotype diversity for aggressiveness and pathogen evolution in cultivar mixtures. *Phytopathology* 91: 500-510
- Lannou C, de Vallavieille-Pope C, Biass C et Goyeau H (1994a) The efficacy of mixtures of susceptible and resistant hosts to two wheat rusts of different lesion size: controlled condition experiments and computerized simulations. *Journal of Phytopathology* 140: 227-237
- Lannou C, de Vallavieille-Pope C et Goyeau H (1994b) Host mixture efficacy in disease control: effects of lesion growth analyzed through computer-simulated epidemics. *Plant Pathology* 43: 651-662
- Lannou C, de Vallavieille-Pope C et Goyeau H (1995) Induced resistance in host mixtures and its effect on disease control in computer-simulated epidemics. *Plant Pathology* 44: 478-489
- Lanter JM (1990) Epidemiology of angular leaf spot of bean in monocultures and in bean-maize intercrops. PhD dissertation, University of Berkeley, California
- Lenné JM, Teverson DM et Jeger MJ (1994) Evaluation of plant pathogens in complex ecosystems. In: Blakeman JP and Williamson B (ed.) *Ecology of plant pathogens* (pp 63-77) CABI, Wallingford
- Leonard KJ (1969) Factors affecting rates of stem rust increase in mixed plantings of susceptible and resistant oat varieties. *Phytopathology* 59: 1845-1850
- Liebenberg MM et Pretorius ZA (1997) A review of angular leaf spot of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *African Plant Protection* 3: 81-106
- Lieth JH et Reynolds JF (1988) A plant growth model for controlled-environment conditions incorporating canopy structure and development: application to snap bean. *Photosynthetica* 22: 190-204
- Llanos CM (1957) Patogenicidad del *Isariopsis griseola* Sacc. en frijol (*Phaseolus vulgaris* L.). *Acta Agronomica* 7: 165-190
- Luo Y et Zeng SM (1995) Simulation studies on epidemics of wheat stripe rust (*Puccinia striiformis*) on slow-rusting cultivars and analysis of effects of resistance components. *Plant Pathology* 44: 340-349

- Madden LV (1992) Rainfall and the dispersal of fungal spores. *Advances in Plant Pathology* 8: 39-79
- Madden LV, Yang X et Wilson LL (1996) Effects of rain intensity on splash dispersal of *Colletotrichum acutatum*. *Phytopathology* 86: 864-874
- Madden LV et Boudreau MA (1997) Effect of strawberry density on the spread of anthracnose caused by *Colletotrichum acutatum*. *Phytopathology* 87: 828-838
- Mahuku GS, Henriquez MA, Munoz J et Buruchara RA (2002a) Molecular markers dispute the existence of the Afro-Andean group of the bean angular leaf spot pathogen, *Phaeoisariopsis griseola*. *Phytopathology* 92: 580-589
- Mahuku GS, Jara C, Cuasquer JB et Castellanos G (2002b) Genetic variability within *Phaeoisariopsis griseola* from Central America and its implications for resistance breeding of common bean. *Plant Pathology* 51: 594-604
- Mauchamp A et Janeau JL (1993) Water funnelling by the crown of *Flourensia cernua*, a Chihuahuan desert shrub. *Journal of Arid Environment* 25: 299-306
- Maya MM, Otoyá MM, Mayer JE et Pastor Corrales M (1995) Marcadores moleculares RAPD confirman la diversidad y evolución de *Phaeoisariopsis griseola* en América Latina. *Fitopatología Colombiana* 19: 1-6
- Melching JS, Dowler WM, Koogle DL et Royer MH (1988) Effect of plant and leaf age on susceptibility of soybean to soybean rust. *Canadian Journal of Plant Pathology* 10: 30-35
- Meredith DS (1973) Significance of spore release and dispersal mechanisms in plant disease epidemiology. *Annual Review of Phytopathology* 11: 313-342
- Milgroom MG et Peever TL (2003) Population biology of plant pathogens. The synthesis of plant disease epidemiology and population genetics. *Plant Disease* 87: 608-617
- Monda EO, Sanders FE et Hick A (2001) Infection and colonization of bean leaf by *Phaeoisariopsis griseola*. *Plant Pathology* 50: 103-110
- Monteith JL (1972) Principles of environmental physics. Edward Arnold, London
- Mora Eguiguren LE (1978) Efecto de labranzas de suelo en la incidencia y severidad de enfermedades foliares del maiz (*Zea mays*, L.) y frijol común (*Phaseolus vulgaris*, L.) en diferentes sistemas de cultivos. M.S. dissertation, University of Costa Rica-CATIE, Turrialba

- Mora B, Pastor Corrales M, Zambolim L, Viera C et Chaves G (1985) Determining yield losses in French bean from angular leaf spot (*Isariopsis griseola* Sacc.). *Phytopathology* 75: 1178 (abstr.)
- Moreno RA (1977) The effect of different cropping systems on the severity of occurrence of angular leaf spot on beans caused by *Isariopsis griseola*. *Agronomia Costarricense* 1: 39-42
- Msuku WAB et Edge OT (1982) Effect of mixed cropping with maize and bean on bean diseases. *Annual Report of the Bean Improvement Cooperative* 25: 16-18
- Mundt CC (2002) Use of multiline cultivars and cultivar mixtures for disease management. *Annual Review of Phytopathology* 40: 381-410
- Mundt CC et Browning JA (1985) Development of crown rust epidemics in genetically diverse oat populations: effect of genotype unit area. *Phytopathology* 75: 607-610
- Mundt CC et Leonard KJ (1985) Effect of host genotype unit area on epidemic development of crown rust following focal and general inoculations of mixtures of immune and susceptible oat plants. *Phytopathology* 75: 1141-1145
- Mundt CC et Leonard KJ (1986a) Analysis of factors affecting disease increase and spread in mixtures of immune and susceptible plants in computer-simulated epidemics. *Phytopathology* 76: 832-840
- Mundt CC et Leonard KJ (1986b) Effect of host genotype unit area on development of focal epidemics of bean rust and common maize rust in mixtures of resistant and susceptible plants. *Phytopathology* 76: 895-900
- Mundt CC, Leonard KJ, Thal WM et Fulton JH (1986) Computerized simulation of crown rust epidemics in mixtures of immune and susceptible oat plants with different genotype unit areas and spatial distributions of initial disease. *Phytopathology* 76: 590-598
- Mundt CC et Brophy LS (1988) Influence of number of host genotype units on the effectiveness of host mixtures for disease control: a modeling approach. *Phytopathology* 78: 1087-1094
- Nelson SC et Campbell CL (1991) Effects of host growth and defoliation on progress of leaf spot epidemics on white clover. *Phytopathology* 81: 813 (abstr.)
- Nelson SC et Campbell CL (1993a) Disease progress, defoliation, and spatial pattern in a multiple-pathogen disease complex on white clover. *Phytopathology* 83: 419-429

- Nelson SC et Campbell CL (1993b) Comparative spatial analysis of foliar epidemics on white clover caused by viruses, fungi, and a bacterium. *Phytopathology* 83: 288-301
- Nietsche S, Borem A, Carvalho GA, Rocha RC, Paula TJ Jr, Barros EG et Moreira MA (2000) RAPD and SCAR markers linked to a gene conferring resistance to angular leaf spot in common bean. *Journal of Phytopathology* 148: 117-121
- Nietsche S, Borem A, de Carvalhos GA, de Paula Junor TJ, Ferreira CF, de Barros EG et Moreira MA (2001) Genetic diversity of *Phaeoisariopsis griseola* in the state of Minas Gerais, Brazil. *Euphytica* 117: 77-84
- Ntahimpera N, Dillard HR, Cobb AC et Seem RC (1996) Anthracnose development in mixtures of resistant and susceptible dry bean cultivars. *Phytopathology* 86: 668-673
- Ntahimpera N, Wilson LL, Ellis MA et Madden LV (1999) Comparison of rain effects on splash dispersal of three *Colletotrichum* species infecting strawberry. *Phytopathology* 89: 555-563
- Orozco-Sarria SH et Cardona-Alvarez C (1959) Evidence of seed transmission of angular leaf spot of bean. *Phytopathology* 49: 159 (abstr.)
- Palti J (1981) Cultural practices and infectious crop diseases. Springer-Verlag (ed.) Berlin
- Parlevliet JE (1975) Partial resistance of barley to leafrust, *Puccinia hordei*. I. Effects of cultivar and development stage on latent period. *Euphytica* 24: 21-27
- Parlevliet JE (1979) Components of resistance that reduce the rate of epidemic development. *Annual Review of Phytopathology* 17: 203-222
- Parlevliet JE et Kuiper HJ (1977) Partial resistance of barley to leafrust, *Puccinia hordei*. IV. Effects of cultivar and development stage on infection frequency. *Euphytica* 26: 249-255
- Parlevliet JE et Zadoks JC (1977) The integrated concept of disease resistance: a new view including horizontal and vertical resistance in plants. *Euphytica* 26: 5-21
- Pastor Corrales MA et Jara CE (1995) Evolution of *Phaeoisariopsis griseola* with common bean in Latin America. *Fitopatologia Colombiana* 19: 15-24
- Pastor-Corrales MA, Jara C et Singh SP (1998) Pathogenic variation in, sources of, and breeding for resistance to *Phaeoisariopsis griseola* causing angular leaf spot in common bean. *Euphytica* 103: 161-171
- Porter DM, Wright FS et Powell NL (1987) Effects of sprinkler irrigation on peanut diseases in Virginia. *Plant Disease* 71: 512-515

- Plaut JL et Berger RD (1980) Development of *Cercosporidium personatum* in three peanut (*Arachis hypogaea* cultivar Florunner) canopy layers. Peanut Science 7: 46-49
- Plaut JL et Berger RD (1981) Infection rates in three pathosystem epidemics initiated with reduced disease severities. Phytopathology 71: 917-921
- Pretorius ZA, Rijkenberg FHJ et Wilcoxson RD (1988) Effects of growth stage, leaf position and temperature on adult-plant resistance of wheat infected by *Puccinia recondita* f. sp. *tritici*. Plant Pathology 37: 36-44
- Pyndji MM et Trutmann P (1992) Managing angular leaf spot on common bean in Africa by supplementing farmer mixtures with resistant varieties. Plant Disease 76: 1144-1147
- Rabbinge R, Ward SA et Van Laar HH (1989) Simulation and Systems Management in Crop Protection. Pudoc, Wageningen
- Rapilly F (1983) Effets de quelques facteurs physiques sur diverses séquences épidémiques. EPPO Bulletin 13: 63-68
- Rapilly F (1991) L'épidémiologie en pathologie végétale. Mycoses aériennes. Versailles, INRA
- Rapilly F, Skajennikoff M, Foucault B et Eschenbrenner P (1977) Recherche des facteurs de résistance à la septoriose du blé (*Septoria nodorum* Berk.). Résultats obtenus par la simulation. Annales de Phytopathologie 9: 1-19
- Ricker MD, Beute MK et Campbell CL (1985) Components of resistance in peanut to *Cercospora arachidicola*. Plant Disease 69: 1059-1064
- Robert C (2003) Etude et modélisation du fonctionnement d'un couvert de blé attaqué par le complexe parasitaire *Puccinia triticina*-*Mycosphaerella graminicola*. PhD dissertation, INA-PG, France
- Robinson RA (1969) Disease resistance terminology. Review of Applied Mycology 48: 593-606
- Rodrigues FD, Fernandes JJ et Martins M (1999) Influence of successive bean plantings on the severity of angular leaf spot and rust and yield losses. Pesquisa Agropecuaria Brasileira 34: 1373-1378
- Rotem E, Cohen Y et Bashi E (1978) Host and environmental influences on sporulation in vivo. Annual Review of Phytopathology 16: 83-101
- Saettler AW (1991) Angular leaf spot. In: Hall R (ed.) Compendium of bean diseases (pp.15-16) APS Press, St Paul, MN

- Saettler AW et Correa FJ (1984) Angular leaf spot (*Isariopsis griseola*) in seed fields of Michigan red kidney beans. Annual Report of the Bean Improvement Cooperative 27: 29-30
- Santos-Filho HP, Ferraz S et Sediyaama CS (1976a) Isolamento e esporulação "in vitro" de *Isariopsis griseola* Sacc. Experimentiae 7: 175-193
- Santos Filho HP, Ferraz S et Vieira C (1976b) Resistancia a mancha angular (*Isariopsis griseola* Sacc.) no feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.). Revista Ceres 23: 226-230
- Sartorato A (1989) Resistência vertical e horizontal do feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris* L.) a *Isariopsis griseola* Sacc. PhD dissertation, ESALQ (Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiróz"), Piracicaba, Brazil
- Sartorato A (2004) Pathogenic variability and genetic diversity of *Phaeoisariopsis griseola* isolates from two counties in the state of Goias, Brazil. Journal of Phytopathology 152: 385-390
- Sartorato A, Menten JOM et Bergamin Filho A (1989) Complete and partial resistance of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) to *Isariopsis griseola*. In: British Society for Plant Pathology (ed.) Prospects for controlling soil-borne diseases (pp.15) Nottingham
- Sartorato A, Rava CA et Menten JOM (1991) Resistencia vertical do feijoeiro comun (*Phaseolus vulgaris* L.) a *Isariopsis griseola* Sacc. Fitopatologia Brasileira 16: 43-46
- Sartorato A et Rava CA (1992) Influência da cultivar e do numero de inoculações na severidade da mancha angular (*Isariopsis griseola*) e nas perdas na produção do feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris*). Fitopatologia Brasileira 17: 247-251
- Sartorato A, Nietzsche S, Barros EG et Moreira MA (1999) Inheritance of angular leaf spot resistance and RAPD markers linked to disease resistance gene in common beans. Annual Report of the Bean Improvement Cooperative 42: 21-22
- SAS Institute (1999-2001) version 8, Cary, NC
- Savary S (1987) Decrease by plant development and leaf age of susceptibility of groundnut to rust (*Puccinia arachidis*) in a susceptible cultivar. Netherlands Journal of Plant Pathology 93: 25-31
- Savary S (1995) Système, modèle, simulation: applications des concepts de l'analyse des systèmes en protection des cultures. In: ORSTOM (ed.) Modélisation en protection des cultures (pp. 141-156) Paris

- Savary S et Janeau JL (1986) Rain-induced dispersal in *Puccinia arachidis*, studied by means of a rainfall simulator. *Netherlands Journal of Plant Pathology* 92: 163-174
- Savary S, Bosc JP, Noirot M et Zadoks JC (1988) Peanut rust in West Africa: a new component in a multiple pathosystem. *Plant Disease* 72: 1001-1009
- Savary S et Zadoks JC (1989a) Analysis of host-parasite interaction components in groundnut rust. I. Definition and measurement of resistance components. *Oleagineux* 44: 163-174
- Savary S et Zadoks JC (1989b) Analysis of components in the host-parasite interaction of groundnut rust. II. Measurement of intermediate resistance using a micro-plot trial. *Oleagineux* 44: 215-224
- Savary S, de Jong PD, Rabbinge R et Zadoks JC (1990) Dynamic simulation of groundnut rust, a preliminary model. *Agricultural Systems* 32: 113-141
- Savary S et Servat E (1991) Un modèle simplifié de simulation des épidémies de rouille et de cercosporioses de l'arachide. In: ORSTOM et Karthala (ed.) *Approches de la Pathologie des Cultures Tropicales* (pp.129-155), Paris
- Savary S et Van Santen G (1992) Effect of crop age on primary gradients of late leaf spot (*Cercosporidium personatum*) on groundnut. *Plant Pathology* 41: 265-273
- Savary S, Janeau JL, Allorement D, Escalante M, Avelino J et Willocquet L (2004) Effects of simulated rainfall events on spore dispersal and spore stocks in three tropical pathosystems. *Phytopathology* 94: S92 (abstr.)
- Schein RD (1964) Design, performance, and use of a quantitative inoculator. *Phytopathology* 54: 509-513
- Schein RD (1965) Age-correlated changes in susceptibility of bean leaves to *Uromyces phaesoli* and tobacco mosaic virus. *Phytopathology* 55: 454-457
- Schwartz HF, Correa V F, Pineda D PA, Otoyá MM et Katherman MJ (1981) Dry bean yield losses caused by *Ascochyta*, angular, and white leaf spots in Colombia. *Plant Disease* 65: 494-496
- Sengooba T (1990) Comparison of disease development in beans in pure stand and maize intercrop. *Annual Report of the Bean Improvement Cooperative* 25: 16-18
- Sengooba T et Mukiibi J (1986) Studies on inoculum sources of angular leaf spot of beans caused by *Phaeoisariopsis griseola* in Uganda. *Tropical Pest Management* 32: 288-291
- Shaw MW (1990) Effects of temperature, leaf wetness and cultivar on the latent period of *Mycosphaerella graminicola* on winter wheat. *Plant Pathology* 39: 255-268

- Silva MB, Vale FXR, Zambolim L et Hau B (1998) Effects of bean rust, anthracnosis and angular leaf spot on dry bean leaf area. *Fitopatologia Brasileira* 23: 442-447
- Sindhan GS et Bose SK (1979) Perpetuation of *Phaeoisariopsis griseola* causing angular leaf spot of French beans. *Indian Phytopathology* 32: 252-254
- Sindhan GS et Bose SK (1980a) Effect of temperature and relative humidity on the development of angular leaf spot of French bean. *Progressive horticulture* 12: 5-14
- Sindhan GS et Bose SK (1980b) Epidemiology of angular leaf spot of French bean caused by *Phaeoisariopsis griseola*. *Indian Phytopathology* 33: 64-68
- Singh AK et Saini SS (1980) Inheritance of resistance to angular leaf spot (*Isariopsis griseola* Sacc.) in French bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Euphytica* 29: 175-176
- Singh SP, Gepts P et Debouck D (1991) Races of common bean (*Phaseolus vulgaris*, Fabaceae). *Economical Botany* 45: 379-396
- Sohi HS et Sharma RD (1974) Mode of survival of *Isariopsis griseola* Sacc., the causal agent of angular leaf spot of beans. *Indian Journal of Horticulture* 31: 110-113
- Srivastava LS, Gupta DK, Dhiman KR et Singh G (1995) Source of resistance in French bean (*Phaseolus vulgaris*) to angular leaf spot (*Phaeoisariopsis griseola*) in Sikkim. *Indian Journal of Agricultural Science* 65: 305-307
- Sun P et Zeng S (1994) On the measurement of the corrected basic infection rate. *Journal of Plant Diseases and Protection* 101: 297-302
- Teng PS (1981) Validation of computer models of plant disease epidemics: a review of philosophy and methodology. *Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz* 88: 49-63
- Teng PS (1985) A comparison of simulation approaches to epidemic modelling. *Annual Review of Phytopathology* 23: 351-379
- Teng PS et Close RC (1978) Effects of temperature and uredinium density on urediniospore production, latent period, and infectious period of *Puccinia hordei* Otth. *New Zealand Journal of Agricultural Research* 21:287-296
- Thal WM et Campbell CL (1988) Analysis of progress of alfalfa leaf spot epidemics. *Phytopathology* 78: 389-395
- Tomerlin JR, Eversmeyer MG, Kramer CL et Browder LE (1983) Temperature and host effects on latent and infectious periods and on urediniospore production of *Puccinia recondita* f. sp. *tritici*. *Phytopathology* 73: 414-419

- Trutmann P et Pyndji MM (1994) Partial replacement of local common bean mixtures by high yielding angular leaf spot resistant varieties to conserve local genetic diversity while increasing yield. *Annals of Applied Biology* 125: 45-52
- Turechek WW et Madden LV (2000) Analysis of the association between the incidence of two spatially aggregated foliar diseases of strawberry. *Phytopathology* 90: 157-170
- Turechek WW et Madden LV (2001) Effect of scale on plant disease incidence and heterogeneity in a spatial hierarchy. *Ecological Modelling* 144: 77-95
- Turechek WW et Madden LV (2003) A generalized linear modeling approach for characterizing disease incidence in a spatial hierarchy. *Phytopathology* 93: 458-466
- Turkensteen LJ (1973) Partial resistance of tomatoes against *Phytophthora infestans*, the late blight fungus. In: *Agricultural Research Reports* (ed.) 810, Wageningen
- Van den Bosch F, Verhaar MA, Buiel AAM, Hoogkamer W et Zadoks JC (1990) Focus expansion in plant disease. IV: Expansion rates in mixtures of resistant and susceptible hosts. *Phytopathology* 80: 598-602
- Van der Plank JE (1963) *Plant Diseases- Epidemics and Control*. Academic Press, New York
- Van der Plank JE (1975) *Principles of Plant Infection*. Academic Press, New York
- Van Hees-Boukema EM et Zadoks JC (1986) Postponed germination of *Puccinia recondita* deposited on wheat seedlings. II. Infectivity of urediospores after postponed germination. *Netherlands Journal of Plant Pathology* 92: 71-80
- Van Rheenen HA, Hasselbach OE et Muigai SGS (1981) The effect of growing beans together with maize on the incidence of bean diseases and pests. *Netherlands Journal of Plant Pathology* 87: 193-199
- Verma BR et Sharma SL (1984) Variability in *Phaeoisariopsis griseola* the cause of angular leaf spot of beans. *Indian Phytopathology* 37: 580-581
- Waggoner PE et Berger RD (1987) Defoliation, disease, and growth. *Phytopathology* 77: 393-398
- Walklate PJ, McCartney HA et Fitt BDL (1989) Vertical dispersal of plant pathogens by splashing. Part II: Experimental study of the relationship between raindrop size and the maximum splash height. *Plant Pathology* 38: 64-70
- Watson GR, Kucharek TA, Shokes FM et Gorbet DW (1986) The relationship between late leafspot severity and defoliation in three peanut cultivars. *Phytopathology* 76: 1081 (abstr.)

- Wilocquet L, Berud F, Raoux L et Clerjeau M (1998) Effects of wind, relative humidity, leaf movement and colony age on dispersal of conidia of *Uncinula necator*, causal agent of grape powdery mildew. *Plant Pathology* 47: 234-242
- Wilocquet L et Savary S (2004) An epidemiological simulation model with three scales of spatial hierarchy. *Phytopathology* 94: 883-891
- Wilocquet L, Allorement D et Savary S (2004) Quantitative analysis of two important epidemiological features in the common bean - *Phaeoisariopsis griseola* pathosystem. *Fitopatologia Brasileira* 29: 676-679
- Wolfe MS (1985) The current status and prospects of multiline cultivars and variety mixtures for disease resistance. *Annual Review of Phytopathology* 23: 251-273
- Xu XM et Ridout MS (2000) Stochastic simulation of the spread of race-specific and race-nonspecific aerial fungal pathogens in cultivar mixtures. *Plant Pathology* 49: 207-218
- Zadoks JC (1971) Systems analysis and the dynamics of epidemics. *Phytopathology* 61: 600-610
- Zadoks JC (1972) Modern concepts of disease resistance in cereals. In: Lupton FGH, Jenkins G et Johnson R (ed.) *The way ahead in plant breeding* (pp. 89-98) Proceedings of the sixth congress of Eucarpia, Cambridge
- Zadoks JC (1977) Simulation models of epidemics and their possible use in the study of disease resistance induced mutations against plant diseases. Proceedings of a symposium on the use of induced mutations for improving disease resistance in crop plants: Session 2. Host/pathogen interactions and concepts of breeding for resistance (pp. 109-118) International Atomic Energy Agency, Vienna, Austria
- Zadoks JC (2001) Plant disease epidemiology in the twentieth century: a picture by means of selected controversies. *Plant Disease* 85: 808-816
- Zadoks JC et Kampmeijer P (1977) The role of crop populations and their deployment, illustrated by means of a simulator, EPIMUL 76. *Annals of the New York Academy of Sciences* 287: 164-190
- Zadoks JC et Schein RD (1979) *Epidemiology and plant disease management*. Oxford University Press Inc., New York
- Zadoks JC et Rabbinge R (1985) Modelling to a purpose. In: Gilligan CA (ed.) *Advances in Plant Pathology. Mathematical Modelling of crop Diseases*. Vol. 3 (pp. 231-244) Academic Press, London

- Zadoks JC et Van den Bosch F (1994) On the spread of plant disease: a theory on foci. Annual Review of Phytopathology 32: 503-521
- Zaumeyer WJ et Meiners JP (1975) Disease resistance in beans. Annual Review of Phytopathology 13: 313-334
- Zawolek MW et Zadoks JC (1992) Studies in focus development: an optimum for the dual dispersal of plant pathogens. Phytopathology 82: 1288-1297
- Zwankhuizen MJ, Govers F et Zadoks JC (1998) Development of potato late blight epidemics: disease foci, disease gradients, and infection sources. Phytopathology 88: 754-763

Valorisation de la thèse

Manuscrits soumis

Allorent D and Savary S (200-) A systems analysis of the epidemiological characteristics of angular leaf spot disease of bean. Soumis à European Journal of Plant Pathology

Allorent D, Willocquet L, Sartorato A and Savary S (200-) Quantifying and modelling the mobilisation of inoculum from diseased leaves and defoliated tissues in epidemics of angular leaf spot of bean. Soumis à European Journal of Plant Pathology

Manuscrits en préparation

Allorent D, Willocquet L, Janeau JL and Savary S (200-) Analysis of rain-induced spore dispersal in a bean stand infected by *Phaeoisariopsis griseola* with two locations of inoculum sources. En préparation en vue d'une soumission à Agriculture and Forest Meteorology

Allorent D, Willocquet L, Janeau JL and Savary S (200-) Autoinfection and alloinfection in angular leaf spot of bean under simulated rainfalls. En préparation en vue d'une soumission à Agriculture and Forest Meteorology

Publications

Savary S, Janeau JL, Allore D, Escalante M, Avelino J and Willocquet L (2004) Effects of simulated rainfall events on spore dispersal and spore stocks in three tropical pathosystems. *Phytopathology* 94: S92 (abstr.)

Willocquet L, Allore D and Savary S (2004) Quantitative analysis of two important epidemiological features in the common bean - *Phaeoisariopsis griseola* pathosystem. *Fitopatologia Brasileira* 29: 676-679

Communication orale

Allorent D, Willocquet L, Janeau JL et Savary S (2004) Mécanismes de dissémination des spores de *Phaeoisariopsis griseola* par la pluie. Communication orale aux journées Jean Chevaugeon 2004, Aussois

Rapports d'activités IRD

dans le cadre du projet INCO ALSRESIST, associant l'Institut de Recherche pour le Développement (IRD, France), l'Université Agronomique de Gembloux (Belgique), l'Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária 'Arroz e Feijão' (EMBRAPA, Brésil) et le Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza (CATIE, Costa Rica)

Allorent D (2004) ALSRESIST - INCO Project. Collaboration IRD – EMBRAPA Arroz e feijão. Study of spread and dispersal of angular leaf spot of common beans

Savary S, Willocquet L and Allorent D (2001-2002) ALSRESIST - INCO Project. Report of partner P2 (IRD) for year 2: Work Package WP3b: Generation of epidemiological knowledge on angular leaf spot of bean

Savary S, Willocquet L and Allorent D (2002-2003) ALSRESIST - INCO Project. Report of partner P2 (IRD) for year 3: Work Package WP3b: Generation of epidemiological knowledge on angular leaf spot of bean

Savary S, Willocquet L and Allorent D (2003-2004) ALSRESIST - INCO Project. Report of partner P2 (IRD) for year 4: Work Package WP3b: Generation of epidemiological knowledge on angular leaf spot of bean

Analyse et modélisation épidémiologique de la tache angulaire du haricot (*Phaseolus vulgaris*) due à *Phaeoisariopsis griseola*

RESUME

La tache angulaire est une maladie majeure du haricot en région tropicale et subtropicale. Cette thèse avait pour objectifs : 1) d'analyser et synthétiser les caractéristiques épidémiologiques dans une structure de modèle; 2) d'analyser quantitativement certains éléments des étapes du processus monocyclique, considérés comme déterminants dans le déroulement des épidémies; 3) d'élaborer un modèle de simulation incorporant la défoliation des tissus infectés de l'hôte; et 4) d'analyser les effets de la résistance partielle, de l'âge des plantes et des feuilles, et de la diversité végétale sur les épidémies. Les épidémies de tache angulaire sont caractérisées par une initiation et un accroissement de la maladie tardifs au cours du cycle cultural. Ces caractéristiques sont attribuées à une accumulation sur le sol de tissus infectés et défoliés. Ces tissus infectés au sol représentent une deuxième source d'inoculum en contribuant aux infections du couvert végétal. Le modèle de simulation élaboré conforte cette hypothèse. La libération des spores est principalement induite par la pluie. Le vent peut libérer les spores, mais à des vitesses élevées. Les tissus jeunes apparaissent plus sensibles. Les composantes de résistance partielle ont été quantifiées et leurs effets sur les épidémies simulés. La résistance relative pour la période de latence apparaît être celle qui a le plus d'effet sur les épidémies. Les associations interspécifiques n'apparaissent pas être efficaces dans le contrôle de la tache angulaire, ce qui est en partie attribuable au fait que l'autoinfection au sein d'une plante est beaucoup plus élevée que l'aloinfection entre plantes.

MOTS-CLES : haricot, *Phaeoisariopsis griseola*, analyse-système, défoliation, simulation numérique, dissémination des spores, résistance partielle, diversité végétale, autoinfection, épidémiologie végétale.

Epidemiological analysis and modelling of angular leaf spot of bean (*Phaseolus vulgaris*) caused by *Phaeoisariopsis griseola*

SUMMARY

Angular leaf spot (ALS) is a major bean disease in the tropics and subtropics. The objectives of this research were to: 1) analyse and synthesise the epidemiological characteristics of the disease using a systems-model structure; 2) quantitatively analyse some phases of the monocyclic process that seem to strongly determine epidemics; 3) develop a simulation model involving disease-induced defoliation; and 4) analyse the effects of partial resistance, plant and leaf age, and plant diversity on epidemics. Late onset and rapid disease increase at a later stage of crop development are typical features of ALS epidemics. This behaviour may partly be attributed to the progressive accumulation of defoliated, infectious tissues at the base of a diseased bean stand. These defoliated, infectious tissues constitute an additional source of inoculum. Simulation modelling work supports this hypothesis. Spore liberation is primarily rain-induced, although strong wind speeds may trigger dry spore liberation. ALS development is favoured on younger plant tissues. Components of partial resistance to ALS were measured, and their epidemiological effects were simulated. The relative resistance for latency period has the strongest effect on epidemics. Interspecific associations do not appear to reduce epidemics rates. This is partly attributable to a large within-plant autoinfection, compared to a small between-plants alloinfection.

KEY WORDS: bean, *Phaeoisariopsis griseola*, systems analysis, defoliation, simulation modelling, spore dispersal, partial resistance, plant diversity, autoinfection, plant disease epidemiology.

INTITULE ET ADRESSE DU LABORATOIRE :

Institut de Recherche pour le Développement, Centre de Biologie et Gestion des Populations CS30016
Campus international de Baillarguet 34988 Montferrier sur Lez