



Potentialités des associations de variétés pour limiter la progression épidémique de la septoriose du blé : rôle des mécanismes de dispersion des spores par la pluie dans un couvert végétal hétérogène

Christophe Gigot

► To cite this version:

Christophe Gigot. Potentialités des associations de variétés pour limiter la progression épidémique de la septoriose du blé : rôle des mécanismes de dispersion des spores par la pluie dans un couvert végétal hétérogène. Sciences du Vivant [q-bio]. AgroParisTech, 2013. Français. NNT : . tel-02810656

HAL Id: tel-02810656

<https://hal.inrae.fr/tel-02810656>

Submitted on 6 Jun 2020

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

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

Doctorat ParisTech

THÈSE

pour l'obtention du grade de docteur délivré par :
**L'Institut des Sciences et Industries
du Vivant et de l'Environnement
(AgroParisTech)**

Spécialité : **Sciences agronomiques et écologiques**

Présentée et soutenue publiquement par :

Christophe Gigot

Le 28 février 2013

**Potentialités des associations de variétés pour
limiter la progression épidémique de la septoriose
du blé :
rôle des mécanismes de dispersion des spores par
la pluie dans un couvert végétal hétérogène**

Directeur de thèse : **M. Laurent Huber**
Co-directeurs de thèse : **M^{me} Claude de Vallavieille-Pope**
M. Sébastien Saint-Jean

Jury :

M. Didier Andrivon , Directeur de Recherche, INRA – UMR IGEPP	Rapporteur
Mr Bruce Fitt , Professor, University of Hertfordshire (UK)	Rapporteur
M. Bertrand Ney , Professeur, AgroParisTech – UMR EGC	Examineur
M. Philippe Gate , Directeur scientifique, ARVALIS – Institut du végétal	Examineur
M. Laurent Huber , Directeur de recherche, INRA – UMR EGC	Directeur de thèse
M^{me} Claude de Vallavieille-Pope , Directeur de recherche, INRA – UR Bioger	Co-directeur
M. Sébastien Saint-Jean , Maître de conférences, AgroParisTech – UMR EGC	Co-directeur

AgroParisTech – Institut National de la Recherche Agronomique
Unité Environnement et Grandes Cultures
78850 Thiverval-Grignon, FRANCE

À mon frère
À mes parents

Merci !

Tout d'abord, je tiens à remercier très chaleureusement Sébastien Saint-Jean qui a toujours su se rendre disponible pour encadrer ces travaux de recherches, malgré son emploi du temps bien chargé. Ses compétences, en particulier dans la physique du transfert de particules, la modélisation et l'analyse d'images, m'ont été très précieuses. Par ailleurs, je n'oublierai jamais ces moments plus informels passés sous le hall lors de pauses-café, qui ont été l'occasion d'échanges constructifs, aussi bien sur le plan professionnel que personnel.

Merci beaucoup à Claude de Vallavieille-Pope qui a toujours été présente et prompte à répondre à mes sollicitations, que ce soit pour l'éclaircissement d'un concept ou pour la relecture d'un texte. L'éclairage en épidémiologie que Claude a su apporter dans le cadre du co-encadrement de mon travail, et tout particulièrement dans le domaine des associations de variétés, a été un atout indéniable.

Je remercie très sincèrement Laurent Huber d'avoir accepté d'être mon directeur de thèse. Laurent a pu apporter le recul nécessaire sur certains problèmes qui nous semblaient insolubles au premier abord.

Un remerciement tout particulier à Marc Leconte pour ses conseils pratiques et sa participation régulière à nos précieuses réunions hebdomadaires destinées à faire un point régulier sur le travail de thèse.

Je remercie très chaleureusement Brigitte Durand pour son implication dans la mise en place et le suivi de stations météorologiques sur différents sites expérimentaux, sans oublier son accord pour prendre en charge de manière autonome le suivi de ces sites, au cours de ma dernière année de thèse. Je n'oublierai pas non plus toutes nos discussions très enrichissantes ! Merci aussi à Alain Fortineau et Jean-Christophe Gueudet que j'ai sollicités de temps à autre pour l'obtention de données météorologiques.

Un grand merci à toute « l'équipe des notations de Grignon », composée la majeure partie du temps de Laurent Gérard, Marc Leconte et Claude de Vallavieille-Pope. Sans l'organisation rigoureuse qu'il a fallu mettre en place pour assurer le suivi hebdomadaire de la progression de la septoriose sur plusieurs centaines de feuilles par année, il aurait été impossible de mener à bien ce travail. Pour moi, les notations ont toujours été un moment agréable qui me permettait de faire du travail de terrain, en très bonne compagnie ! Je remercie aussi Christophe Montagnier, André Larue et Éric Pichot, ainsi que Marc Bidon et Emmanuel Fovart qui ont veillé au bon déroulement et au suivi agronomique

des expérimentations au champ pendant les cinq années d'études exploitées dans cette thèse.

Je suis très reconnaissant à Olivier Maury pour son aide dans la conception et la maintenance de l'outil informatique de gestion de données qui nous a permis à la fois de gagner un temps précieux et de limiter les erreurs de saisie, lors de notre suivi hebdomadaire de maladie.

Un grand merci à toute l'équipe constituée principalement de Brigitte, Jean-Christophe et Sylvie Masson pour leur aide lors des mesures architecturales de tiges de blé, une activité particulièrement exigeante à réaliser sur un laps de temps restreint. Je remercie sincèrement Nathalie Galet et Laurent Gérard, sans oublier Jean-Christophe, pour tout ce qui a été du ressort de l'analyse d'échantillons de grains. Je suis reconnaissant à Pascal Duprix pour son aide lors de la conception et la fabrication des pièges à spores.

Merci beaucoup à toute l'équipe informatique, en particulier Arnaud Goulut pour l'installation sans encombre d'un système tout neuf un mois avant de rendre mon mémoire, et Daniel Poudroux pour la gestion très réactive du cluster.

Merci aux stagiaires que j'ai eu l'occasion de co-encadrer et grâce à qui nous avons pu approfondir certains points ou commencer à explorer de nouveaux axes de recherches : Priscilla Arfaoui, Pierre Garraud, Guillaume Girardin, Laura Juignet, Valérian Lebon et Cécile Thomas.

Bien sûr, je n'oublie pas mes collègues d'ARVALIS – Institut du végétal : Philippe du Cheyron, Gilles Couleaud et Claude Maumené. Je les remercie sincèrement pour les échanges réguliers que nous avons eus, notamment par l'intermédiaire de plusieurs comités techniques au cours de la thèse. Pour leur accueil et pour leur implication sur le suivi d'essais dans tout le nord-ouest de la France (dans le cadre d'une collaboration entre ARVALIS, l'INRA et la Chambre d'Agriculture du Calvados; résultats non présentés dans ce mémoire), merci à : Benjamin Baron, Vincent Bouetel, Jean-Éric Chauvin, Virginie Fabre-Louvet, Jérôme Gorichon, Anne-Sophie Hervillard, Olivier Kerouanton, Sandrine Lair, Dominique Millet, Anne Plovie, Stéphane Porrez et Fabrice Rousseau. Un grand merci aussi à Benoît Kerhornou pour les échanges que nous avons pu avoir tout au long de ces travaux de recherches.

Je suis très reconnaissant à Didier Andrivon et Bruce Fitt pour l'intérêt qu'ils ont porté à mon travail et le temps qu'ils ont consacré à son évaluation. Je remercie aussi Philippe Gate et Bertrand Ney d'avoir accepté de participer à mon jury de thèse. Je tiens aussi à remercier tous les membres de mon comité de pilotage pour m'avoir suivi durant ces trois années de thèse : Philippe du Cheyron, Maria Finckh, Laurent Huber, Marie-Hélène Jeuffroy, Christophe Le May, Claude Maumené, Bertrand Ney, Sébastien Saint-Jean, Marc Saudreau, Frédéric Suffert et Claude de Vallavieille-Pope.

Je suis très reconnaissant envers toutes les personnes de l'Unité Mixte de Recherche Environnement et Grandes Cultures qui m'ont accueilli au cours de ces trois années de thèse. Merci notamment à : Jean-Michel Allirand, Bruno Andrieu, Marie-Odile Bancal, Jean-François Castell, Michaël Chelle, Dominique Flura,

Bernard Itier, Nader Katerji, Michel Lauransot, David Montagne, et Corinne Robert pour les discussions ponctuelles, mais néanmoins enrichissantes, que nous avons pu avoir au détour d'un couloir ou au cours d'un repas. Un remerciement tout particulier à Amir & Farid, Arnaud, Camille, Élise, Frédéric, Juliette, Karim, Karine, Marc, Nebila, Nicolas, Olivier, Pietro, Rim, Rym, Sajid, Sohaib, Sylvia, et Wassim, avec qui j'ai eu l'occasion de passer de très bons moments. Merci à tous ceux qui m'ont offert un peu de leur temps, et partagé ce qu'ils avaient appris.

J'ai effectué ma thèse au sein de l'Unité Mixte de Recherche EGC (Environnement et Grandes Cultures) à Grignon (Yvelines, France), qui est affiliée à l'INRA (Institut National de la Recherche Agronomique, France) et à AgroParisTech (Institut des sciences et industries du vivant et de l'environnement). Ces travaux ont été menés en étroite collaboration avec l'Unité de Recherche BIOGER-CPP (BIOlogie et GEstion des Risques en agriculture - Champignons Pathogènes des Plantes).

Gérée par l'ANRT (Association Nationale de la Recherche et de la Technologie), ma bourse de thèse a été cofinancée par ARVALIS – Institut du végétal (Institut technique de recherche appliquée dans le domaine agricole) et le Ministère français de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche. Deux sources complémentaires de financement ont aussi permis de mener à bien cette thèse : le Ministère français de l'Agriculture (contrat CTPS C-03-2010) et la FRB (Fondation pour la Recherche sur la Biodiversité) en partenariat avec la société LU France (« Les Champs de Biodiversité »).

Table des matières

Sigles utilisées et remarques préliminaires	1
Introduction : quelques éléments de contexte	3
I Synthèse bibliographique	7
1 Intérêt des associations de variétés en épidémiologie	9
1.1 Une question d'échelle	9
1.2 Mécanismes impliqués	13
1.3 Grands principes dans la conception d'associations variétales pour lutter contre les maladies	15
1.4 Exemples de déploiements d'associations variétales pour lutter contre les maladies	15
2 Le pathosystème blé tendre-septoriose comme objet d'étude . . .	17
2.1 Plantes hôtes	17
2.2 La septoriose du blé	18
3 Dispersion de spores par éclaboussement	23
3.1 Description de la dispersion de pycnidiospores par éclaboussement	23
3.2 Facteurs influant sur l'éclaboussement	24
4 Modélisation de la dispersion dans un couvert hétérogène	28
4.1 Présentation	29
4.2 Structure	29
5 Problématique de la thèse	31
6 Structuration du mémoire	31
II Protective effects of a wheat cultivar mixture against splash-dispersed septoria tritici blotch epidemics	35
1 Introduction	39
2 Material and methods	41
2.1 Wheat cultivars and field experiments	41
2.2 Assessment of disease severity and statistical analysis . . .	42
3 Results	43
3.1 Detection of a protective effect over the epidemic period .	43
3.2 Progression of disease severity	44
3.3 Quantification of the protective effect of the cultivar mixture	48

4	Discussion	50
5	Acknowledgements	52
III Assessment of splash-dispersed spore flux within wheat fields infected by <i>Mycosphaerella graminicola</i> using automated counting based on image analysis 53		
1	Introduction	57
2	Material and methods	58
2.1	Collection of rain-splashed particles	58
2.2	Automated picture taking of the samples	60
2.3	Automated and visual particle counting	60
2.4	Data analysis	60
3	Results	62
3.1	Incident rain	62
3.2	Splash dispersal	62
4	Discussion	66
5	Acknowledgements	67
IV Analysing the effects of wheat cultivar mixtures on a splash-dispersed fungal disease by modelling pathogen dispersal in a 3D heterogeneous canopy 69		
1	Introduction	73
2	Model description	75
2.1	Spatial location patterns of different cultivars within a canopy	75
2.2	Pathway computation of dispersal units within the canopy	77
2.3	The proportion of leaf surface impacted by dispersal units	77
2.4	Assessment of disease severity progression	79
3	Results	80
3.1	Cultivar proportions and difference between resistance levels	83
3.2	Spatial pattern of resistance within the canopy	87
4	Discussion	88
5	Acknowledgements	94
V Discussion générale 97		
1	Résumé des principaux résultats	99
1.1	Chapitre II : suivi épidémiologique hebdomadaire en conditions naturelles	99
1.2	Chapitre III : quantification du flux de spores dispersées par la pluie	100
1.3	Chapitre IV : modèle de dispersion pluviale dans un couvert hétérogène	100
2	État des lieux sur le modèle <i>PathoSplash</i>	102
2.1	Quelques aspects techniques	102
2.2	Critiques et perspectives	103
3	Réflexion sur la conception d'associations contre la septoriose	105

3.1	Retour sur les tendances observées au champ	105
3.2	Essai de quantification du gain apporté par une association variétale sur la résistance globale de la culture	108
Conclusion		111
Annexes		I
Liste des communications		III
A	Article de revues à comité de lecture	III
B	Présentations de conférences	III
C	Posters de conférences	IV
D	Mémoire	V

Table des figures

I.1	Exemples d'associations de variétés de céréales	11
I.2	Réduction des symptômes de rouille jaune au sein d'une association variétale	11
I.3	Gestion des résistances à différentes échelles	14
I.4	Les trois effets impliqués dans la limitation de la progression d'une maladie au sein d'associations de variétés	14
I.5	Chronologie de l'infection de tissus hôtes de blé par <i>Mycosphaerella graminicola</i> en conditions de laboratoire	19
I.6	Cycle biologique simplifié de <i>Mycosphaerella graminicola</i>	20
I.7	Représentation schématique de la dynamique annuelle des épidémies de septoriose du blé	20
I.8	Symptômes de septoriose du blé et spores de <i>Mycosphaerella graminicola</i>	22
I.9	Impact d'une goutte d'eau sur une feuille de blé avec production de gouttelettes d'éclaboussement	25
I.10	Simulateur de pluie de type « tour à pluie »	26
I.11	Mécanisme d'éclaboussement d'une goutte de pluie sur un substrat végétal	26
I.12	Images de différentes phases de l'infection de tissus hôtes par <i>Mycosphaerella graminicola</i>	27
I.13	Conception actuelle du modèle <i>PathoSplash</i> en trois modules distincts	30
II.1	Major peaks of weekly emergence of sporulating lesions of septoria tritici blotch on the susceptible wheat cultivar (cv. Sogood) in the pure stand and the 1/3 susceptible/resistant cultivar mixture, identified over 4 years	45
II.2	Increase over time of pycnidial leaf area proportion due to septoria tritici blotch on the susceptible wheat cultivar (cv. Sogood) in the pure stand and the 1/3 susceptible/resistant cultivar mixture, for 4 years	47
II.3	Decrease over time of green leaf area proportion on the susceptible wheat cultivar (cv. Sogood) in the pure stand and the 1/3 susceptible/resistant cultivar mixture, for 4 years	48

II.4	Relative differences of area under progress curves (ΔAUPC) for sporulating lesion number, pycnidial leaf area and green leaf area, of the susceptible wheat cultivar (cv. Sogood) between the 1/3 susceptible/resistant cultivar mixture and the pure stand, for 4 years	49
III.1	Sampling setup used to trap pycnidiospores during rainfall events	59
III.2	Example of pictures analysed using automated visual particle counting	61
III.3	Summary of inoculum pressure (assessed as the mean proportion of pycnidial leaf surface on the six upper leaf levels) and density of <i>Mycosphaerella graminicola</i> pycnidiospores, for sampled rain episodes in two years (2009 and 2010)	63
III.4	Pycnidial leaf surface when studied rainfall occurred, and pycnidiospore flux density of <i>Mycosphaerella graminicola</i> in relation to height above the soil for two crops	65
III.5	Pycnidiospore flux density of <i>Mycosphaerella graminicola</i> in relation to rain intensity and mean diameter of raindrops for four sample heights	65
IV.1	3D-view of a virtual plot with two cultivars of wheat-like plants generated for our computer simulations	76
IV.2	Diagram of the directional droplet flow between two leaves (source and sink leaves) during a splash-dispersal event, computed using the modelling approach from Saint-Jean <i>et al.</i> (2004)	78
IV.3	Diagram of the relationships between the covering infection rate $\varphi_{C,i}$ (s^{-1}) and the overlapping infection rate $\varphi_{O,i}$ (s^{-1})	79
IV.4	Simplified diagram of the allo- and auto-contamination exchanges simulated by the model between two cultivars with quantitative resistances	81
IV.5	Increase of disease potential and evolution of the mixture effect over the number of pathogen generations (see text for more details) of two equi-proportional binary host mixtures, differing by their resistance levels	82
IV.6	Maximal mixture effects expected (E_{max}), depending on the proportion of each host cultivar within a simulated binary mixture	84
IV.7	Maximal mixture effects expected E_{max} , depending on the resistance level differences ($\Delta\mathcal{R}_{S:R}$) between host cultivars, and the proportion of the cultivars ($P_{S/R}$) as indicated by different colours	86
IV.8	Relative number of pathogen generations before reaching “no mixture effect” point (N_{mix}), depending on the resistance level differences ($\Delta\mathcal{R}_{S:R}$) between host cultivars, and the proportion of the cultivars as indicated by different colours	87
IV.9	Arrangement of two host genotypes in equi-proportion in simulated epidemics of a splash-dispersed pathogen	88

IV.10	Evolution of the allo- and auto-contamination ratios over successive pathogen generations for the susceptible cultivar (Q_S), the resistant cultivar (Q_R), and both cultivars (Q_T) within a equi-proportional binary mixture with resistance levels of 25% and 75%	90
V.1	Dispositif expérimental utilisé dans le cadre des expérimentations en plein champ, décrit au chapitre II	106
V.2	Différences relatives des aires sous les courbes de progression pour le nombre de lésions sporulantes, la surface foliaire pycnidiale et la surface foliaire verte de la variété de blé sensible entre l'association variétale (ratio de une plante sensible pour trois résistantes) et la culture monovariétale, pour cinq années classées par ordre croissant de pression en septoriose au printemps	107
V.3	Nombre de variétés de blé tendre inscrites au catalogue officiel et classées en fonction de leurs note de résistance aux quatre principales maladies foliaires, attribuées par le CTPS et ARVALIS, en France	109

Liste des tableaux

I.1	Exemples de niveaux de réduction de maladie permis par l'utilisation d'associations de variétés	12
II.1	Average contribution of each leaf level to the total leaf area of the three upper leaf levels over 4 years	43
II.2	Absolute and relative differences ($\pm$ standard errors) of final values reached for sporulating lesion number and pycnidial leaf area between the 1/3 susceptible/resistant cultivar mixture and the pure stand, for the susceptible wheat cultivar (cv. Sogood), on the six upper leaf levels and for 4 years	46
III.1	Summary of characteristics of rainfall events sampled in two years (2009 and 2010)	62
III.2	Probability values (significance levels) from analysis of covariance used to determine the effects of crop, sampler height, and log of incident rain intensity (IRI) or log of mean incident raindrop diameter (D_m) on log of spore flux density (SFD) of <i>Mycosphaerella graminicola</i>	64
III.3	Estimated intercepts and slopes ($\pm$ standard error) for relationships between log of incident rain intensity (IRI) and log of pycnidiospore flux density (SFD) of <i>Mycosphaerella graminicola</i> , and log of mean raindrop diameter (D_m) and log of spore flux density (SFD)	64
IV.1	Susceptible/resistant cultivar proportions ($P_{S/R}$, on a 1–10 scale) at which the maximal mixture effect expected E_{max} is recorded, depending on difference between quantitative resistance levels of the two cultivars mixed together ($\Delta\mathcal{R}_{S:R}$)	85
IV.2	Proportion of the maximal mixture effect expected $E_{max,opt}$ for different component proportions ($P_{S/R}$) of a binary cultivar mixture with given resistance levels of 25% and 75%	85
IV.3	Mixture effect efficiency for different spatial host arrangements	88
IV.4	Proportion of the maximal mixture effect expected $E_{max,opt}$ for different component proportions ($P_{S/R}$) of a binary cultivar mixture, computed from Jeger <i>et al.</i> (1981a)	92
IV.5	List of the parameters of the model <i>PathoSplash</i>	95

V.1	Quelques caractéristiques pluviométriques des cinq années étudiées en relation avec les épidémies de septoriose du blé	106
-----	---	-----

Sigles utilisés et remarques préliminaires

ARVALIS	: Institut technique de recherche appliquée dans le domaine agricole (nom complet : ARVALIS – Institut du végétal)
CTPS	: Comité Technique Permanent de la Sélection
GS	: Stade de développement (<i>Growth Stage</i>) défini par Zadoks et al. (1974)
GUA	: Zone d'unité génotypique (<i>Genotype Unit Area</i>)
INRA	: Institut National de la Recherche Agronomique
<i>PathoSplash</i>	: Nom du modèle développé dans le cadre de cette thèse et présenté au chapitre IV
STB	: Septoriose du blé due au pathogène fongique <i>Mycosphaerella graminicola</i> (<i>Septoria Tritici Blotch</i>)

Pour des raisons de commodité, les deux variétés (ou composantes) des associations bi-variétales (ou binaires) abordées dans ce mémoire sont qualifiées de « sensible » ou « résistante » pour désigner respectivement la plus sensible ou la plus résistante d'entre elles. Cela ne signifie pas nécessairement que la variété qualifiée de « résistante » est totalement résistante (ou immune), mais uniquement qu'il s'agit de la plus résistante de l'association considérée. Pour préciser les proportions des deux variétés (également appelé ratio entre chaque variété) au sein d'une association binaire, la typographie « sensible/résistant » est utilisée. Quant aux niveaux de résistance des deux variétés, ils sont spécifiés sous la forme « sensible:résistant ».

Nous attirons votre attention sur le fait que, compte tenu des spécificités de chaque chapitre, le calcul de l'effet protecteur ou de l'effet association peuvent légèrement varier d'un chapitre à l'autre. Quoi qu'il en soit, leur définition est toujours précisée.

Introduction : quelques éléments de contexte

L'avènement de la « révolution verte » a été possible grâce au recours aux programmes modernes de sélection variétale, à l'irrigation, aux engrais et aux pesticides de synthèse — pour contrôler respectivement la fertilité des sols et les organismes pathogènes. Combinés, ces différents éléments ont permis de quasiment tripler la production alimentaire mondiale en l'espace d'une quarantaine d'années (Hazell & Wood, 2008). Néanmoins, la sécurité alimentaire n'en demeure pas moins un sujet d'actualité brûlant comme nous l'ont récemment rappelé la flambée des prix de 2007–2008 (p. ex., Mitchell, 2008), et les émeutes de la faim qui l'ont suivie dans plusieurs pays, tels que l'Égypte, Haïti ou l'Indonésie. Cette nécessaire sécurité alimentaire pour un nombre croissant d'individus (environ 75 millions de personnes en plus chaque année¹) est menacée par de nombreux facteurs. Nous pouvons mentionner : (i) la diminution des surfaces agricoles en lien avec la concurrence entre les différents usages des sols (alimentation, énergie, urbanisation), (ii) les politiques gouvernementales (notamment le stockage des denrées alimentaires) et la spéculation sur les ressources alimentaires — en partie responsables de la volatilité actuelle des prix agricoles —, (iii) la demande croissante en énergie et en eau, (iv) les impacts environnementaux des activités humaines, et (v) le changement climatique (Beddington, 2010).

Le défi de l'agriculture d'aujourd'hui est donc de continuer à accroître la production par unité de surface tout en tenant compte des ressources de plus en plus limitées et de contraintes croissantes. Pour le blé, le riz et le maïs — fournissant à eux seuls environ deux tiers des calories nécessaires à l'humanité —, il y aurait selon Cassman (1999) davantage à attendre d'un contrôle plus efficace des stress (biotiques et abiotiques) que d'espérer encore d'importants progrès au niveau génétique en termes de potentiels de rendement. Sur la période 2001–2003, les pertes potentielles (c.-à-d. sans recours à des méthodes de protection des cultures) dues aux adventices, ravageurs et autres organismes pathogènes, s'élevaient à 49,8 %, 77,0 %, 68,5 %, respectivement pour le blé, le riz et le

¹ Estimation de la population mondiale selon le *US Census Bureau*
http://www.census.gov/population/international/data/worldpop/table_population.php
consulté le 07/09/2012

maïs. Les pertes réelles, quant à elles, étaient de l'ordre de 28,2 %, 37,4 % et 31,2 %, respectivement pour les mêmes cultures, et ce malgré le recours à des méthodes de protection des cultures (Oerke, 2006). Par ailleurs, un autre élément intéressant qui ressort de l'étude d'Oerke (2006), est que les pertes réelles dues aux maladies ont progressé sur certaines cultures entre 1964 et 2003, passant par exemple de 9,1 % à 12,6 % pour le blé, et de 9,4 % à 11,2 % pour le maïs, et ce, malgré les nombreux travaux réalisés depuis plus de deux siècles par les phytopathologistes (voir Rapilly, 2001 sur les origines de la phytopathologie) pour réduire les impacts des organismes pathogènes sur les cultures dites majeures. Pour expliquer cette évolution, plusieurs hypothèses ont été proposées : (i) le recours croissant à des variétés élités², à haut potentiel de rendement mais non sélectionnées pour être adaptées aux contraintes environnementales locales et souvent relativement sensibles aux pathogènes ; (ii) la culture à grande échelle de plantes génétiquement uniformes, offrant des conditions idéales pour la propagation rapide de ravageurs ou maladies ; (iii) et la diffusion d'organismes pathogènes, potentiellement invasifs, dans de nouveaux territoires où les contraintes de leur région d'origine (p. ex., climat et/ou prédateurs naturels) ne sont pas (ou peu) présentes.

Différentes approches se proposent d'apporter des solutions aux multiples exigences de quantité et de qualité auxquelles l'agriculture doit faire face. L'accent est en particulier mis sur l'amélioration de techniques et technologies modernes ou émergentes, telles que le développement de produits phytosanitaires plus performants, l'ingénierie génomique au sens large, voire les nanotechnologies. Par exemple, la sélection assistée par marqueurs (Collard & Mackill, 2008) ou le recours à des bibliothèques de gènes (Zamir, 2001) peuvent accélérer la sélection de variétés résistantes à la sécheresse, aux hautes températures ou à la salinité (p. ex., Møller *et al.*, 2009). Une partie de ces approches a déjà fait ses preuves. Ainsi, grâce à l'irrigation, aux intrants de synthèse (fertilisants et pesticides), et à de nouvelles variétés plus productives, la production alimentaire dans les pays en développement d'Asie a plus que triplé entre 1961 et 2000 (Evenson & Gollin, 2003). Les produits phytosanitaires conventionnels font partie intégrante de la protection d'une proportion importante des cultures dans le monde. Sans eux, les pertes seraient beaucoup plus élevées (Oerke, 2006). Néanmoins, les effets indésirables — potentiels ou réels — sur la santé humaine et l'environnement imposent un usage raisonné de ceux-ci. Par ailleurs, il existe des opportunités pour d'autres produits de protection, tels que des stimulateurs de défenses des plantes, ou des substances sémiachimiques³ pour dissuader des ravageurs d'attaquer une plante (p. ex., Pickett *et al.*, 2007; Hassanali *et al.*, 2008). Là où les exploitations sont déjà mécanisées, se développe l'agriculture de précision qui permet d'ajuster finement les taux d'application des engrais et d'autres

² Également appelées « variétés modernes », résultats des programmes officiels de sélection variétale.

³ Les substances sémiachimiques comprennent les phéromones et les allomones, qui permettent la communication entre des individus de la même espèce dans le premier cas, ou d'espèces différentes dans le second cas.

intrants en fonction des besoins réels de la plante, ce qui augmente l'efficacité des apports et diminue les effets néfastes sur l'environnement (Tilman, 1998). Ce nouveau type de conduite des cultures se base sur des systèmes de gestion de l'information et de la communication, ainsi que des processus automatisés de contrôle et de surveillance (télédétection et positionnement par GPS — *Global Positioning Systems*). De manière bien plus anecdotique, les nanotechnologies ont déjà permis d'optimiser l'utilisation de certains pesticides via l'encapsulation des matières actives qui permet de protéger cette dernière jusqu'à sa libération au moment du contact avec une feuille ou le système digestif d'un insecte (Green & Beestman, 2007).

En parallèle à ces approches, certains scientifiques comme Altieri (1999) préconisent des démarches plus holistiques en restaurant une certaine biodiversité dans le paysage agricole. En effet, leur constat est que la simplification de la diversité biologique — en ayant recours à des cultures monovariétales ou monoclonales — à des fins agricoles a conduit à un système artificiel qui requière une intervention humaine permanente pour se maintenir. Les systèmes agricoles modernes ont pu devenir très productifs, mais uniquement sous la condition d'une forte dépendance d'intrants extérieurs. Or la durabilité à long terme de tels systèmes de production alimentaire est de plus en plus questionné (p. ex., Tilman, 1998). Si correctement agencée dans l'espace et le temps, une biodiversité dite fonctionnelle (McCann, 2000) accomplit des services écosystémiques (Cheatham *et al.*, 2009) en permettant aux agroécosystèmes de maintenir la fertilité de leur sol, ainsi que la protection et la productivité des cultures (p. ex., Leigh & Johnston, 1994; Drinkwater *et al.*, 1998). Selon Altieri (1995), le principe général est qu'une « biodiversification » adaptée permet entre autres une régulation des agents pathogènes via l'action de leur prédateurs naturels, un recyclage optimal des substances nutritives et une conservation des sols via l'activation du biome tellurique. Tous ces facteurs mènent à une stabilisation des rendements, une conservation relativement importante de l'énergie du système et une moindre dépendance vis-à-vis des intrants extérieurs (voir p. ex., Malézieux *et al.*, 2009). Au final, l'ambition de l'agroécologie est d'améliorer la durabilité économique et écologique d'un agrosystème, en proposant des systèmes de gestion spécifiquement adaptés à la biodiversité localement disponible et en tenant compte des conditions socioéconomiques et environnementales existantes. La recherche de méthodes et techniques s'appuyant la notion de services écosystémiques afin de promouvoir des agrosystèmes plus stables et durables est une thématique d'actualité (p. ex., Atkinson & McKinlay, 1997; Walters, 2009; Médiène *et al.*, 2011). Nous pouvons notamment mentionner l'emploi de variétés régionales (parfois qualifiées de « rustiques ») adaptées aux conditions environnementales locales (Newton *et al.*, 2010), ou le recours à des bactériophages pour lutter contre certaines maladies d'origine bactérienne (Balogh *et al.*, 2009). Ces derniers sont d'ailleurs déjà utilisés en Floride dans le cadre d'un programme de lutte intégrée contre *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*, responsable de la gale de la tomate (Momol *et al.*, 2002). Les variétés régionales, contrairement aux variétés élités (adaptées à une agriculture

à haut niveau d'intrants), sont issues d'un pool génétique riche et complexe, ce qui offre d'importantes capacités de résilience⁴ grâce à la variabilité des réponses possibles face aux stress, qu'ils soient biotiques ou abiotiques. La mise au point de méthodes de culture offrant des capacités d'adaptation aux phénomènes que le changement climatique contribue à accentuer — tels que sécheresse, inondations, températures extrêmes, et modifications des cohortes de pathogènes (p. ex., [Fitt et al., 2011](#); [Pautasso et al., 2012](#)) — doit être un axe majeur de recherche, comme cela a été établi dans de récents rapports internationaux comme celui de l'[IAASTD \(2008\)](#). Les associations de variétés, qui s'inscrivent clairement dans cette tendance et dont une des facettes est explorée dans ce mémoire, constituent un compromis entre le système conventionnel de l'agriculture mécanisée occidentale — avec recours exclusif aux variétés élites en situation monovariétale — et les associations d'espèces — plus difficiles à mécaniser, mais pouvant présenter de nombreux atouts ([Malézieux et al., 2009](#)).

Néanmoins, alors que de nombreux scientifiques et experts les recommandent (notamment dans le cadre du plan « Écophyto 2018 » en France), les approches plus holistiques et agroécologiques de l'agriculture peinent à se développer en comparaison à d'autres innovations agricoles, telles que les cultures transgéniques ([Vanloqueren & Baret, 2009](#)). [Vanloqueren & Baret \(2008\)](#) proposent un cas d'étude où ils se demandent pourquoi l'adoption des variétés de blé multi-résistantes n'est pas systématique en Belgique. De nombreux facteurs de blocage ont été identifiés, que ce soit au niveau de l'agriculteur, du marché, de la recherche fondamentale et appliquée, des régulations publiques, et de la politique agricole passée.

Les différentes approches qui ont été abordées ici ne sont en général pas incompatibles. Au contraire, leur utilisation conjointe offre à l'agriculteur un plus large panel d'outils pour lutter contre ravageurs et organismes pathogènes des cultures. Tout l'enjeu est alors d'y puiser les méthodes et technologies les mieux adaptés pour une situation donnée. Tout comme les antibiotiques dans le domaine médical, dont l'utilisation raisonnée est aujourd'hui préconisée afin de retarder les contournement de résistance des organismes pathogènes, et ainsi, les pertes d'efficacité de ces molécules, la problématique est la même pour les matières actives des produits phytosanitaires. La diversification, aussi bien au niveau des molécules en tant que telles ([Leroux et al., 2007](#)) qu'au niveau des méthodes de lutte ([Finckh & Wolfe, 2006](#)), permettrait de conserver des molécules actives plus longtemps.

⁴La résilience caractérise l'adaptation à un environnement changeant.

I | Synthèse bibliographique

Sommaire

1	Intérêt des associations de variétés en épidémiologie	9
1.1	Une question d'échelle	9
1.2	Mécanismes impliqués	13
1.3	Grands principes dans la conception d'associations variétales pour lutter contre les maladies	15
1.4	Exemples de déploiements d'associations variétales pour lutter contre les maladies	15
2	Le pathosystème blé tendre–septoriose comme ob- jet d'étude	17
2.1	Plantes hôtes	17
2.2	La septoriose du blé	18
3	Dispersion de spores par éclaboussement	23
3.1	Description de la dispersion de pycnidiospores par éclaboussement	23
3.2	Facteurs influant sur l'éclaboussement	24
4	Modélisation de la dispersion dans un couvert hé- térologue	28
4.1	Présentation	29
4.2	Structure	29
5	Problématique de la thèse	31
6	Structuration du mémoire	31

1 Intérêt des associations de variétés en épidémiologie

Par définition, une association de variétés (ou association variétale, Fig. I.1) est la culture de plus d'une variété d'une même espèce de plante d'intérêt agronomique, au même endroit et en même temps (Andrews & Kassam, 1976). Newton (2009) a résumé le principe général sous-jacent au déploiement d'associations bénéfiques de variétés (parfois qualifiées d'associations « fonctionnelles ») : la culture conjointe de plusieurs variétés judicieusement choisies offre l'opportunité d'exploiter le meilleur de chacune d'entre elles, tout en essayant de compenser spécifiquement leurs faiblesses relatives. Les avantages supplémentaires découlent simplement du renforcement des effets de résilience liés à l'hétérogénéité de la culture. Toutefois, toutes les associations ne sont pas nécessairement bénéfiques ; il existe des phénomènes de concurrence et d'incompatibilité qui conduisent à des interactions néfastes entre les variétés (p. ex., Jeger *et al.*, 1981a). Bien que pouvant présenter des intérêts tels que la stabilisation des rendements ou la limitation des impacts des stress biotiques et abiotiques (p. ex., Wolfe, 1985; Mundt, 2002; Cox *et al.*, 2004; Garrett & Cox, 2006), le recours à cette pratique culturale est souvent considérée comme incompatible avec l'agriculture mécanisée moderne (Finckh, 2008).

Le recours aux associations de variétés nécessite une meilleure compréhension de l'écologie des cultures dans un système plus complexe que celui de nombreux agrosystèmes modernes, très simplifiés au niveau botanique. Dans leurs expériences, Finckh & Mundt (1992a) ont montré qu'entre 52 % et 58 % de la variation du rendement était attribuable à la sévérité de la maladie pour les cultures monovariétales, alors que ces valeurs descendaient à 10–31 % dans le cas des associations variétales, illustrant par là-même les potentiels d'interaction entre les différentes plantes. Pour les écologues, les épidémies demeurent des exceptions dans les écosystèmes complexes naturels ou semi-naturels, car un équilibre basé sur les interactions entre hôtes et pathogènes s'est instauré (Newton, 2009; Brown & Tellier, 2011). Dans les agrosystèmes modernes, beaucoup des facteurs permettant cet équilibre ont été perdus, menant à une « course à l'armement » à la fois pour les défenses des hôtes et les effecteurs des parasites (Brown & Tellier, 2011). Les épidémies y seraient bien plus fréquentes sans produits phytosanitaires très efficaces et sans l'introduction régulière sur le marché de variétés avec de nouveaux gènes de résistance. Ces pratiques sont généralement profitables lorsque les prix des matières premières sont élevées, mais elles sont coûteuses aussi bien en termes de durabilité qu'au niveau environnemental (Newton, 2009).

1.1 Une question d'échelle

Pour ralentir les épidémies, les associations de variétés — portant des résistances partielles et totales — ont déjà montré leurs potentiels dans le cas

de maladies fongiques à dispersion éolienne telles que les rouilles (Fig. I.2) ou l'oïdium des céréales (p. ex., Burdon, 1987; Mundt *et al.*, 1995b; Finckh *et al.*, 2000; de Vallavieille-Pope, 2004, et Tableau I.1). Toutefois, relativement peu de données sont actuellement disponibles sur l'intérêt de ce genre de pratiques culturales pour lutter contre des champignons parasites dispersés par la pluie. Selon Jeger *et al.* (1981b), les associations variétales disposant de résistances quantitatives semblent ralentir les épidémies dues à *Rhynchosporium secalis* sur orge et *Phaeosphaeria nodorum* sur blé de printemps. Par ailleurs, bien que les effets soient considérés comme variables (Cowger & Mundt, 2002), des réductions significatives de la sévérité de la septoriose du blé ont pu être mises en évidence dans le cas d'associations de variétés en petites (Mundt *et al.*, 1995b; Mille *et al.*, 2006), et en grandes parcelles (Belhaj Fraj *et al.*, 2003).

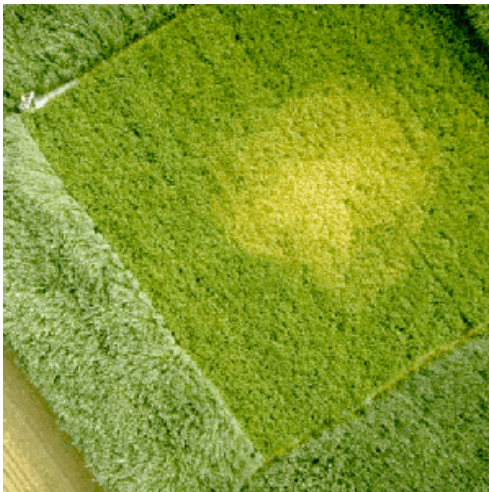


Association variétale de riz en Chine. Des rangs de grandes variétés traditionnelles sont régulièrement intercalées au sein d'un champ de variétés hybrides à hauts potentiels de rendement (Finckh, 2008)

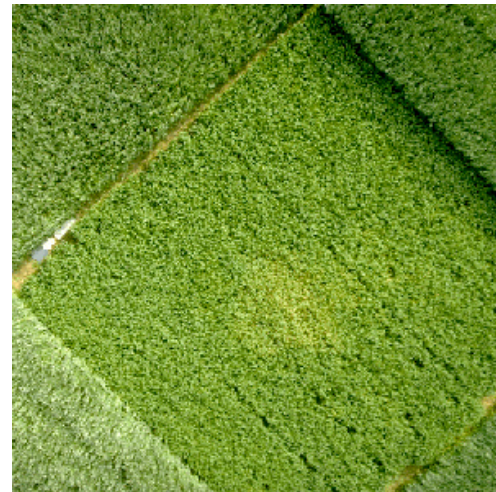


Association de deux variétés de blé, l'une avec épis aristés (ou barbus) et l'autre sans (C. Gigot, INRA-ARVALIS, 2010)

Fig. I.1: Exemples d'associations de variétés de céréales.



Développement important d'un foyer de rouille jaune après inoculation au centre d'une parcelle de lignée pure de blé.



Développement limité d'un foyer de rouille jaune après inoculation au centre d'une parcelle d'association de variétés de blé avec différents gènes de résistance.

Fig. I.2: Réduction des symptômes de rouille jaune au sein d'une association variétale par rapport à la culture monovariétale sensible (C. de Vallavieille-Pope & H. Goyeau, INRA, 1997).

Tab. I.1: Exemples de niveaux de réduction de maladie permis par l'utilisation d'associations de variétés (d'après [Castro, 2001](#)).

Hôte	Pathogène (maladie)	Facteur mesuré	Réduction de maladie	Référence
<i>Zea mays</i> (Maïs)	<i>Puccinia sorghi</i> (Rouille)	Pustules par plante	50 %	Mundt & Leonard (1986b)
<i>Phaseolus vulgaris</i> (Haricot)	<i>Uromyces phaseoli</i> (Rouille)	AUDPC ^a	30–60 %	Mundt & Leonard (1986b)
<i>Triticum aestivum</i> (Blé tendre)	<i>Puccinia striiformis</i> f.sp. <i>tritici</i> (Rouille jaune)	sévérité	14–64 %	Mundt (1994)
<i>Triticum aestivum</i> (Blé tendre)	<i>Puccinia triticina</i> (Rouille brune)	sévérité	45 %	Mundt (1994)
<i>Hordeum vulgare</i> (Orge)	<i>Rhynchosporium secalis</i> (Rhynchosporiose)	sévérité	12 %	Mundt et al. (1994)
<i>Hordeum vulgare</i> (Orge)	<i>Rhynchosporium secalis</i> (Rhynchosporiose)	sévérité	11–50 %	Newton et al. (1997)
<i>Hordeum vulgare</i> (Orge)	<i>Blumeria graminis</i> f.sp. <i>hordei</i> (Oïdium)	sévérité	0–20 %	Newton et al. (1997)
<i>Triticum aestivum</i> (Blé tendre)	<i>Mycosphaerella graminicola</i> (Septoriose)	AUDPC ^a	3–35 %	Gigot et al. (2013) (Chapitre II)

^a Aire sous la courbe de progression de la sévérité de la maladie (*Area Under Disease Progress Curve*).

En fait, le potentiel de contrôle des maladies par des associations variétales est dépendant de nombreux paramètres (Garrett & Mundt, 1999), dont un des principaux est le mode de dispersion de l'agent pathogène. Dans le cas d'une dispersion éolienne sur de longues distances, des systèmes de gestion des maladies à l'échelle du paysage peuvent se montrer efficaces (p. ex., Papaix *et al.*, 2011; Fabre *et al.*, 2012). Néanmoins, pour des pathogènes qui se propagent sur de plus courtes distances, des approches à des échelles plus locales semblent davantage appropriées. Par ailleurs, il ne faut pas sous-estimer le rôle de la zone d'unité génotypique (ou *Genotype Unit Area*, GUA) de l'hôte qui fut défini par Mundt & Browning (1985) comme étant « la surface au sol occupée par une unité indépendante de la population d'hôte qui est génétiquement homogène ». Il est généralement considéré que plus la GUA est réduite, et plus la maladie est effectivement limitée par l'association. Nous reviendrons ultérieurement sur cette notion de GUA (notamment dans la discussion du chapitre IV et la discussion générale).

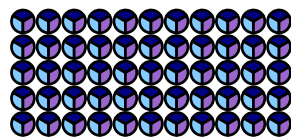
Ce concept d'échelle nous renvoie directement à une notion complémentaire de celle de lutte contre les parasites, à savoir la gestion des traits de résistance sélectionnés chez les hôtes, que ce soient des gènes majeurs ou des QTLs¹ de résistance (Fig. I.3). En associant différents facteurs de résistance au niveau du génome de la plante, il est possible d'attendre davantage d'interactions — supposées bénéfiques — de leur part. Cependant, leur introgression dans une lignée végétale est un processus long et coûteux que l'on ait recours ou non à la transgénèse. À l'échelle du paysage, l'utilisation conjointe de variétés présentant des traits de résistance différents est relativement aisée à mettre en place — sous condition d'entente entre les différents acteurs impliqués —, mais elles n'est pas forcément adaptée à toutes les situations. En effet comme précédemment évoqué, pour des pathogènes dispersés sur de faibles distances, une gestion directement au niveau de la parcelle — notamment par l'intermédiaire d'associations de variétés — est supposée être plus efficace.

1.2 Mécanismes impliqués

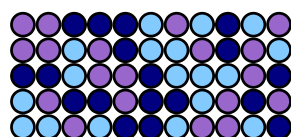
Différents mécanismes sont impliqués dans la limitation de la propagation d'agents pathogènes au sein d'une association variétale, à savoir : (i) l'effet dilution, (ii) l'effet barrière et (iii) l'effet prémunition (Fig. I.4). L'effet dilution consiste simplement en la diminution de la concentration des plantes d'une même variété sensible. L'effet barrière renvoie à l'idée que chaque plante d'une variété A représente un obstacle potentiel sur le trajet qu'un agent pathogène plus adapté à une variété B devra parcourir pour passer d'un hôte à l'autre. Enfin, l'effet prémunition désigne le fait qu'un agent pathogène provenant d'une variété A ne va pas nécessairement contaminer une variété B, mais il va tout de même permettre d'activer certains mécanismes de défenses (Calonnec *et al.*, 1996), à l'image des vaccins dans le domaine médical.

¹*Quantitative Traits Loci*

La plante : une variété avec plusieurs traits de résistance différents



La parcelle : une association de plusieurs variétés, chacune avec un trait de résistance différent



Le paysage : une mosaïque de parcelles de plusieurs variétés, chacune avec un trait de résistance différent

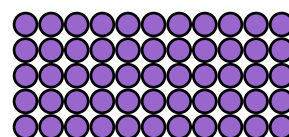
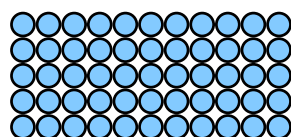
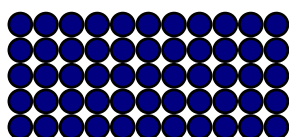


Fig. I.3: Gestion des résistances à différentes échelles. Chaque disque correspond à une plante. Un trait de résistance, symbolisé par une couleur, se rapporte à un gène ou un QTL de résistance.

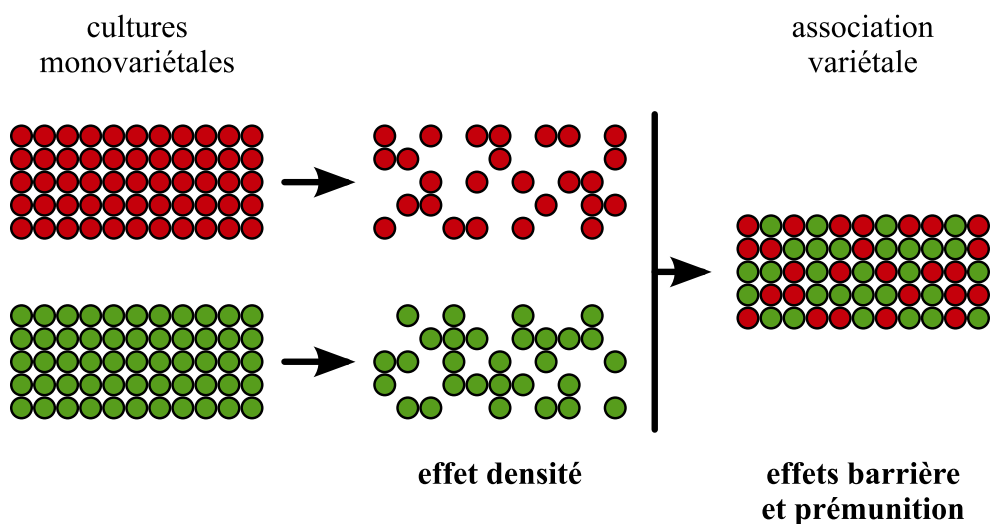


Fig. I.4: Les trois effets impliqués dans la limitation de la progression d'une maladie au sein d'associations de variétés (se référer au texte pour la description de ces effets). Chaque disque de couleur correspond à une plante d'une variété déterminée.

1.3 Grands principes dans la conception d'associations variétales pour lutter contre les maladies

Les principes énoncés ci-après sont soit expérimentalement démontrés, soit simplement admis.

Nombre, proportions et niveaux de résistance des différentes variétés à associer

Nombre, proportions et niveaux de résistance des variétés sont des éléments à considérer avec attention pour pouvoir concevoir une association performante. Par exemple, en associant deux variétés sans niveaux de résistance contrastées en proportions équivalentes, Cowger & Mundt (2002) n'ont pas pu mettre en évidence de protection significative contre la septoriose du blé au sein des associations. En général, le risque épidémique diminue avec le nombre de variétés associées (Mundt, 1994; Newton *et al.*, 1997). Dans la pratique, l'association de 3 à 5 variétés est préconisée, ce qui représente un bon compromis entre diversité et faisabilité (Wolfe, 1985). Au niveau des proportions, il est admis qu'un quart à un tiers de plantes sensibles est efficacement protégé par des plantes résistantes (de Vallavieille-Pope *et al.*, 2006). L'importance du choix de variétés avec des niveaux de résistance contrastées a été démontrée (Jeger *et al.*, 1981b; Mundt *et al.*, 1995a). Pour pouvoir affiner ces recommandations, il faudrait caractériser les facteurs de résistance de chaque variété afin d'être sûr de diversifier les gènes ou QTLs de résistance au sein des associations (cf. Fig. 1.3).

Concordance agronomique

Contrairement à certaines associations d'espèces, telles que les associations à étages qui se rencontrent plutôt en régions tropicales ou sub-tropicales (p. ex., Ratnadass *et al.*, 2012), il est nécessaire dans le cas des associations variétales en grandes cultures de rechercher des variétés présentant une certaine homogénéité au niveau de leur développement, afin de faciliter la conduite des cultures. Les variétés associées doivent partager des hauteurs et précocités comparables, pour respectivement limiter les phénomènes de compétition et permettre la récolte de l'ensemble de la culture à la même date (Saulas, 1993). Il est également souhaitable que les variétés aient les mêmes qualités agronomiques et techniques pour ne pas compliquer la gestion de la récolte par la suite.

1.4 Exemples de déploiements d'associations variétales pour lutter contre les maladies

Dans la pratique, les associations de variétés de céréales ont déjà été utilisées à de plusieurs reprises, par exemple dans les cas de lutte contre la pyriculariose du riz en Chine (Zhu *et al.*, 2003; XueQian & HuaMing, 2006; HaiYong *et al.*, 2008; Revilla-Molina, 2009), les rouilles du blé aux États-Unis et l'oïdium de l'orge au Danemark (Stølen *et al.*, 1987; Wolfe *et al.*, 1997). Dans

le cadre d'un des plus grands suivis menés sur les associations — sur plusieurs centaines d'hectares dans la province du Yunnan en Chine —, [Zhu et al. \(2000\)](#) ont mis en évidence une réduction de la sévérité de la pyriculariose du riz (causée par *Magnaporthe grisea*) de l'ordre de 94 %, accompagnée d'une augmentation des rendements de 89 %, dans les associations (Fig. [I.1a](#)) par rapport aux cultures monovariétales. Dans l'ancienne République Démocratique d'Allemagne, jusqu'à 92 % des cultures d'orge de printemps étaient cultivées en associations ([Wolfe, 1997](#)). La sévérité des attaques de l'oïdium de l'orge passait alors de plus de 50 % à moins de 10 %, ce qui réduisait de façon substantielle le besoin en fongicides. D'autres exemples notables de déploiements réussis d'associations variétales peuvent être mentionnés, comme en Pologne, où plus de 90 000 ha d'associations de céréales ont été signalés par [Gacek \(1997\)](#), ou pour le blé tendre, notamment dans les états de l'Oregon et du Kansas aux États-Unis ([Mundt, 2002](#); [Bowden et al., 2001](#)). L'association de différentes variétés de céréales est également une pratique commune dans bon nombre de pays en voie de développement. Les raisons mentionnées de l'adoption de ce type de pratiques sont principalement : une plus grande stabilité des rendements et des rendements globaux plus importants, une meilleure qualité de la nourriture et une résistance accrue aux pathogènes sur la durée, tout cela, par rapport aux cultures monovariétales ([Smithson & Lenne, 1996](#); [Woldeamlak, 2001](#)). À une moindre échelle, des essais ont été menés avec des associations d'avoine, afin d'évaluer leur impact sur quelques maladies. Dans le cas de la jaunisse nanissante de l'orge, une maladie virale présente sur avoine, l'efficacité en terme de rendement s'est avérée très variable en fonction des variétés choisies ([Helland & Holland, 2001](#)). [Mundt & Browning \(1985\)](#) ont noté d'importantes réductions des infections de rouille couronnée de l'orge (causée par *Puccinia coronata*) dans des associations multi-lignées isogéniques d'avoine, mais ces résultats ont été modulés en fonction de l'agencement spatial des variétés ([Mundt & Leonard, 1985a](#)). [Pfahler & Linskens \(1979\)](#) ont souligné que, même en cas d'absence de gain en rendement, la stabilité des rendements a toujours tendance à être bénéfique.

Des études ont aussi été réalisées sur d'autres pathosystèmes d'intérêt agronomique dans lesquels l'hôte n'est pas une céréale, comme par exemple la pomme de terre et *Phytophthora infestans* (p. ex., [Garrett & Mundt, 2000](#); [Andriveau et al., 2003](#); [Phillips et al., 2005](#)), ainsi que la luzerne et *Phytophthora medicaginis* ou *Colletotrichum medicaginis* ([Mackie & Irwin, 1998](#)). Nous pouvons également citer des associations de haricot pour lutter contre *Collectrichum lindemuthianum* ([Ntahimpera et al., 1996](#)), des associations de sorgho contre *Exserohilum turcicum* ([Sifuentes Barrera & Frederiksen, 1994](#)), et des associations de caféier contre la rouille orangée ([Moreno-Ruiz et al., 1990](#)). Il existe des cas d'associations d'arbres, des saules (*Salix* spp.) en l'occurrence, pour lutter contre des épidémies de rouille ([McCracken et al., 2001](#); [Hunter et al., 2002](#)) ou des dommages d'insectes ([Peacock et al., 2001](#)).

2 Le pathosystème blé tendre–septoriose comme objet d'étude

Les champignons phytopathogènes responsables des septorioses² du blé sont : *Mycosphaerella graminicola* (Fuckel) Schröter [anamorphe : *Septoria tritici* Roberge] et *Phaeosphaeria nodorum* (Müller) Hedjaroude [anamorphe : *Stagonospora nodorum* (Berk.) Castellani & Germano]. La sous-espèce *Phaeosphaeria avenaria* f.sp. *tritici* Shoemaker & Babc [anamorphe : *Stagonospora avenae* (Frank) Bissett] est également mentionnée (Cunfer & Ueng, 1999).

Bien que *P. nodorum* ait été pendant longtemps l'espèce prédominante en France, *M. graminicola* l'a aujourd'hui remplacé. Auparavant, ce dernier était considéré comme inféodé aux régions méditerranéennes alors que *P. nodorum* se rencontrait aux latitudes plus élevées (Leath *et al.*, 1993). L'utilisation à grande échelle de variétés de blé sensibles, les semis précoces, l'augmentation de la pluviosité estivale et une réponse différentielle à certains fongicides pourraient expliquer ces changements (Sache, 2007). Par ailleurs, une corrélation sur le long terme a été mise en évidence entre l'abondance relative de ces deux champignons pathogènes et le taux atmosphérique de dioxyde de soufre (Beauchell *et al.*, 2005; Shaw *et al.*, 2008). Dans la suite du mémoire, nous nous concentrons uniquement sur *M. graminicola*.

2.1 Plantes hôtes

En plus des céréales cultivées que sont le blé tendre (*Triticum aestivum* L.), le blé dur (*Triticum turgidum* L.), le seigle (*Secale cereale* L.) et le triticales (× *Triticosecale* Wittmark), la gamme d'hôtes considérés de *M. graminicola* s'étend à de nombreuses autres poacées. À ce sujet, Eyal (1999) mentionne *Agropyron* spp., *Agrostis* spp., *Brachypodium* spp., *Bromus* spp., *Dactylis* spp., *Festuca* spp., *Hordeum* spp., *Glyceria* spp. et *Poa* spp. Parmi ces dernières, se trouvent de nombreuses adventices courantes des cultures de blé, de seigle ou de triticales, qui peuvent jouer le rôle de réservoirs pour le champignon pathogène en maintenant un inoculum à proximité immédiate des céréales cultivées.

Dans la suite de ce document, nous ne considérons plus que le *T. aestivum* comme plante hôte de *M. graminicola*. Avec 5 millions d'hectares cultivés pour la campagne 2010–2011 (source Agreste, 30/07/2012³), le blé tendre est une céréale de premier plan économique en France. Par ailleurs pour les scientifiques, *T. aestivum* joue souvent le rôle de « plante pilote », tant pour la conception de modèles écophysiologiques que pour le raisonnement sur les techniques culturales utilisées (p. ex., Meynard & Sebillote, 1994; Doré *et al.*, 2006).

²*septo-* (du latin *septum*, cloison) en référence aux cloisons — les septations — séparant les cellules adjacentes des spores, et le suffixe *-ose* pour désigner une maladie fongique ou bactérienne.

³<http://agreste.agriculture.gouv.fr/IMG/pdf/saa2012T2-2.pdf>

2.2 La septoriose du blé

De récentes études génétiques ont montré que le groupe des *Mycosphaerella* est en fait poly- et para-phylétique, car il rassemble différentes familles et genres (Quaedvlieg *et al.*, 2011). Un nouveau nom de genre ayant été proposé pour l'occasion, le pathogène que nous étudions ici s'appelle désormais *Zymoseptoria tritici*⁴. Cependant, pour des raisons d'homogénéité entre les chapitres, nous conserverons la dénomination de *M. graminicola* tout au long du mémoire.

Mycosphaerella graminicola, champignon parasite ascomycète, est de type hémibiotrophe car, bien que dans un premier temps, l'infection se déroule sans détérioration des tissus hôtes, ces derniers commencent à mourir juste avant la phase reproductive de l'agent pathogène (Fig. I.5). En fonction des conditions environnementales, la reproduction de *Mycosphaerella graminicola* est de nature sexuée (production d'ascospores) ou asexuée (production de pycnidiospores, Fig. I.8d). Dans le premier cas, les ascospores, disséminées par le vent sur de longues distances — supérieures au kilomètre —, participent notamment à la survie du champignon en l'absence de plante hôte et est considéré comme la source principale d'inoculum primaire pour initier la maladie (Sanderson & Hampton, 1978; Shaw & Royle, 1989; Suffert *et al.*, 2011). Les pycnidiospores, quant à eux, sont en majorité produites durant la phase épidémique de la maladie au cours de plusieurs cycles infectieux successifs (Shaw & Royle, 1993), d'où l'emploi du terme « polycyclique » pour caractériser la septoriose du blé. Ces spores sont dispersées sur de courtes distances — inférieures au mètre — par l'action de l'éclaboussement des gouttes de pluie (Fitt *et al.*, 1989; Saint-Jean *et al.*, 2004).

Cycle biologique de *M. graminicola*

Le cycle biologique de *M. graminicola* (Fig. I.6) peut être divisé en quatre phases, détaillées ci-dessous dans le cas de la reproduction asexuée :

1. **L'infection.** Si les conditions environnementales sont favorables (en contact avec une feuille, températures élevées, présence d'eau libre et humidité relative à saturation), une spore va pouvoir germer (Magboul *et al.*, 1992). Le tube germinatif pénètre dans les tissus hôtes via les ostioles des stomates (Kema *et al.*, 1996; Duncan & Howard, 2000).
2. **La période de latence.** Durant cette phase, séparant l'infection initiale de la formation des premières structures sporulantes visibles, la progression des hyphes mycéliens s'effectue d'abord lentement et de façon peu destructrice dans les espaces intercellulaires (phase biotrophe). Néanmoins, lors de la mise en place des appareils reproducteurs (pycnides) au niveau des stomates, le développement du champignon s'intensifie et conduit à la destruction des parois cellulaires (phase nécrotrophe). Au champ, la durée

⁴*zymo*- (du grec ancien ζύμη, levain, ferment) en référence à une croissance similaire à celle des levures.

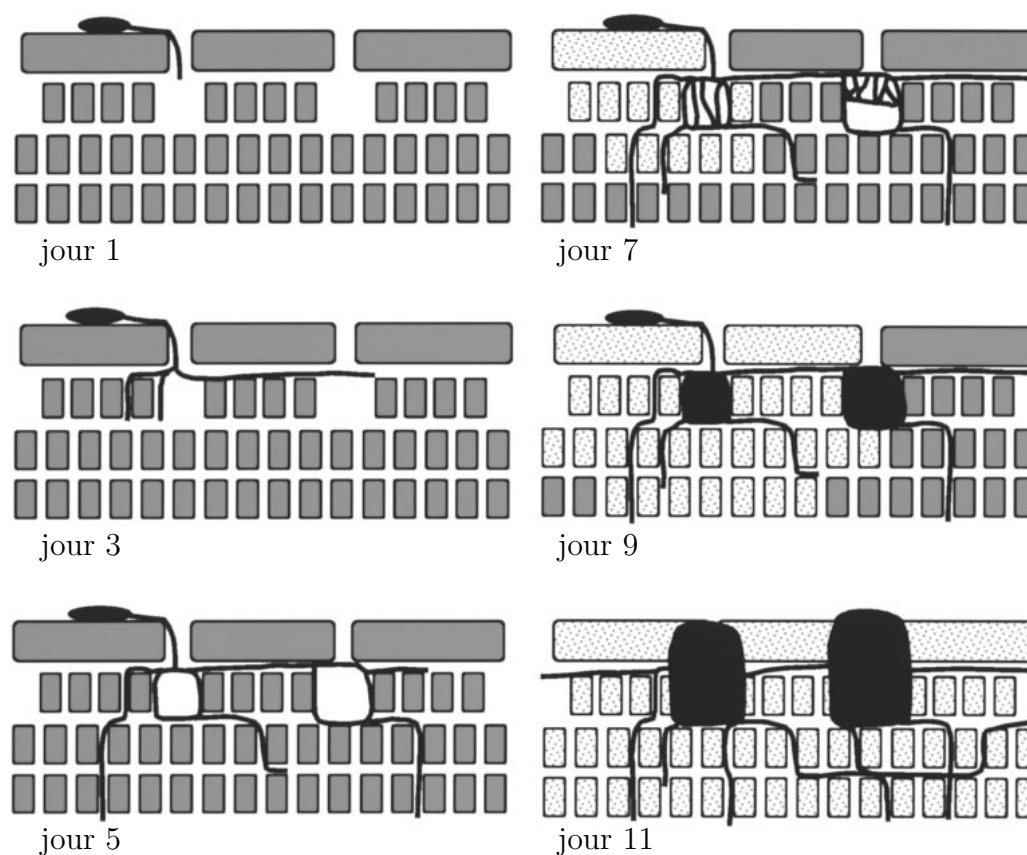


Fig. 1.5: Chronologie de l'infection de tissus hôtes de blé par *Mycosphaerella graminicola* en conditions de laboratoire (Duncan & Howard, 2000). Chaque vignette correspond à la coupe transversale d'une portion de feuille de blé où sont visibles cellules épidermiques, cellules du mésophylle, ostioles de stomates et chambres sous-stomatiques. **Jour 1.** Une pycnidiospore de *M. graminicola* germe, et le tube germinatif en croissance pénètre dans une chambre sous-stomatique en passant par l'ostiole. **Jour 3.** Les hyphes mycéliens débutent la colonisation de la chambre sous-stomatique en circonscrivant son périmètre, et se répandent dans les tissus adjacents par invasion intercellulaire. **Jour 5.** Les hyphes poursuivent leur croissance intercellulaire à la fois latéralement et en profondeur au sein des tissus foliaires. La contamination d'un seul site peut ainsi conduire à la colonisation de chambres sous-stomatiques adjacentes. **Jour 7.** La formation de ramifications densifie le réseau d'hyphes mycéliens sur le pourtour des chambres sous-stomatiques colonisées. La chlorose et la nécrose des premières cellules hôtes (remplies de points dans la figure) correspondent à la fois au début de la phase nécrotrophe du pathogène et à l'apparition des premiers symptômes macroscopiques. **Jour 9.** Les amas d'hyphes tapissant les chambres sous-stomatiques continuent de se densifier et les pycnides commencent à se former. Les symptômes macroscopiques s'accroissent avec la poursuite de la chlorose et de la nécrose du tissu hôte. **Jour 11.** Entourées de cellules hôtes nécrosées et maintenant pleinement arrivées à maturité, les pycnides sont visibles à l'œil nu, et peuvent exsuder de la cirrhe lorsqu'elles sont placées dans un environnement humide. Les hyphes mycéliens continuent à se propager dans le tissu foliaire.

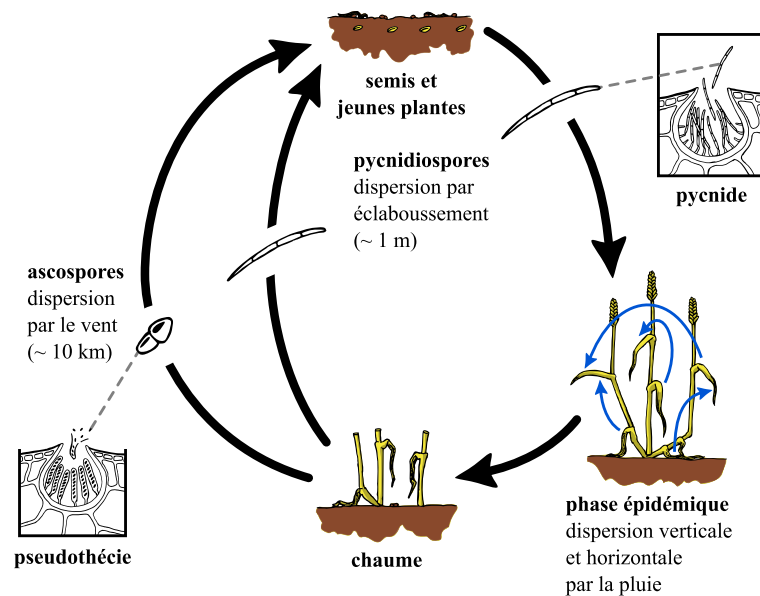


Fig. I.6: Cycle biologique simplifié de *Mycosphaerella graminicola* (d'après [Agrios, 2005](#)). Les ascospores (ou pynidiospores) issues de la reproduction sexuée (ou asexuée) sont produites dans des cavités sous-stomatiques transformées, nommées pseudothécies (ou pynides).

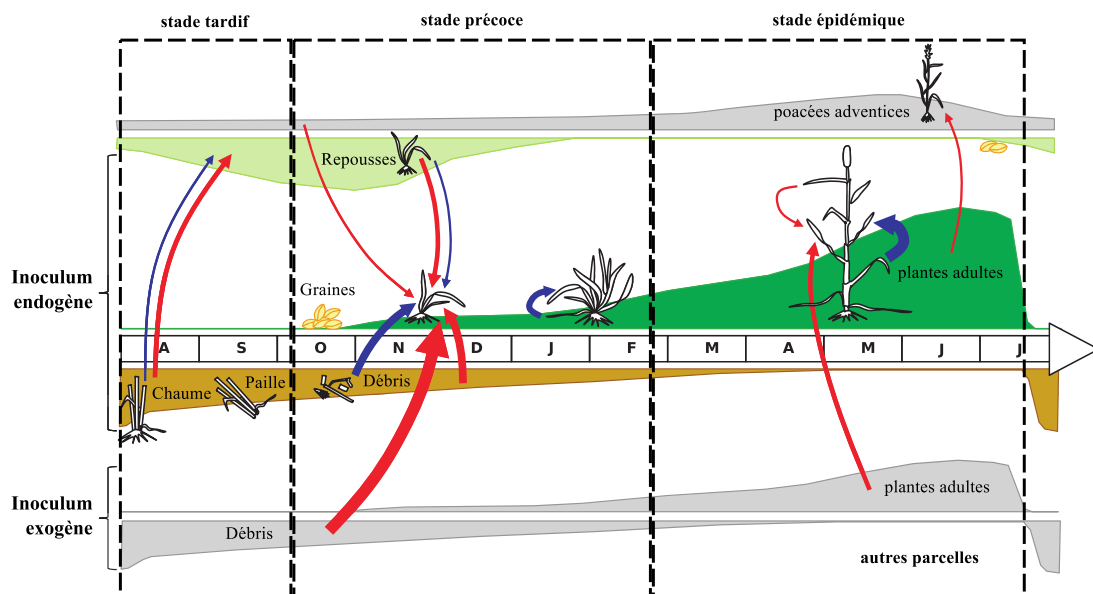


Fig. I.7: Représentation schématique de la dynamique annuelle des épidémies de septoriose du blé (dues à *Mycosphaerella graminicola*), en mettant l'accent sur les sources et la nature des différents inoculums (figure adaptée de [Suffert et al., 2011](#)). Flèches rouges : ascospores ; flèches bleues : pynidiospores. L'épaisseur des flèches sont proportionnelles à l'importance attendue du mécanisme considéré.

de la période de latence a été estimée (avec une température de base fixée à 0 °C) à 270–500 °C.j (Lovell *et al.*, 2004a).

3. **La sporulation.** Elle correspond à l'émission de pycnidiospores, des spores filiformes (schématisées sur la Fig. I.6) de 30–80 μm de long et de 1,5–2 μm de large (Sivanesan, 1990). Certains auteurs font la différence entre des macropycnidiospores (35–98 $\times$ 1–3 μm) avec 3–5 septations et des micropycnidiospores (8–10,5 $\times$ 0,8–1 μm) sans septation, mais qui peuvent tous deux aussi bien infecter le blé (Shipton *et al.*, 1971; Eyal, 1987). Ces spores, produites dans les pycnides, sont couvertes d'une gelée protectrice — le cirrhe — constituée de sucres et de protéines hydrophiles (Fournet, 1969). En conditions de forte humidité, ce mucilage sporifère est exsudé et se dissout dans le film d'eau tapissant la feuille, permettant ainsi la dissémination des spores sur la surface foliaire (Fitt *et al.*, 1989).
4. **La dispersion.** Pour les pycnidiospores de *M. graminicola*, elle est permise via l'éclaboussement de gouttes de pluie qui est abordé en détail dans la section 3.

Effets sur la plante hôte

Au niveau des symptômes macroscopiques, la septoriose engendrée par *Mycosphaerella graminicola* se manifeste, après la période de latence, par l'apparition de taches (ou lésions) sur les feuilles. Chacune d'entre elles correspond à un ensemble de cellules nécrosées — de couleur brune —, entourée d'un halo de cellules chlorosées — de couleur jaunâtre (Fig. I.8a et I.8b). Lorsque les lésions sont arrivées à maturité, les fructifications du champignon (pycnides et/ou pseudothécies) deviennent visibles sous la forme de petits points noirs à la surface des feuilles (Fig. I.8c). Nous employons par la suite l'expression « lésion sporulante » (ou *sporulating lesion* en anglais) pour faire référence à ce type de lésion. Le développement de la maladie se traduit par la coalescence des lésions et l'accélération de la sénescence des tissus infectés (Robert, 2003). Au niveau physiologique, l'activité photosynthétique et la transpiration foliaire sont fortement diminuées (Cornish *et al.*, 1990; Zuckerman *et al.*, 1997).

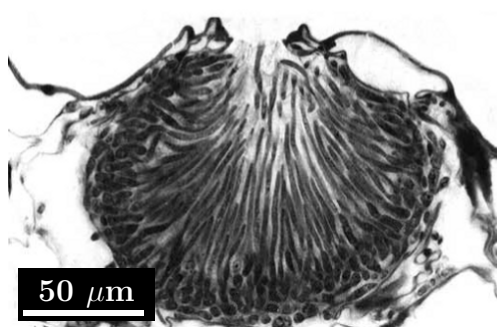
La baisse des rendements potentiels est d'autant plus importante que les dernières feuilles sous l'épi, notamment les trois dernières, impliquées dans le remplissage des grains sont sévèrement touchées par la maladie (Thomas *et al.*, 1989). D'après les travaux d'Oste *et al.* (2000) menés sur la campagne culturale française de 1998–1999, la perte de rendement imputable à la septoriose a été évaluée à 1–2 t.ha⁻¹ en moyenne, avec des cas allant jusqu'à 3–3,5 t.ha⁻¹ — ce qui représente une diminution de 40 % des rendements en considérant des potentiels de 8 t.ha⁻¹.



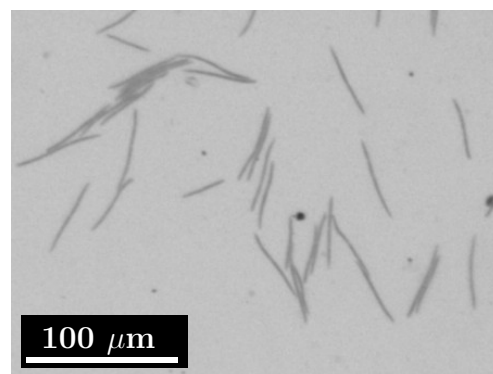
Feuille drapeau (juste sous l'épi) de blé présentant des lésions de septoriose (© Gigot, INRA-ARVALIS)



Lésions sporulantes à la surface d'une feuille de blé (C. Gigot, INRA-ARVALIS)



Pycnide (fructification issue de la reproduction asexuée) vue en coupe au microscope optique (Kema et al., 1996)



Pycnidiospores vus au microscope optique (C. Gigot, INRA-ARVALIS)

Fig. I.8: Symptômes de septoriose du blé et spores de *Mycosphaerella graminicola*.

3 Dispersion de spores par éclaboussement

L'éclaboussement (ou *splashing* en anglais) est le phénomène de fragmentation de gouttes en gouttelettes suite à l'impact sur un obstacle physique. Au niveau phytopathologique, l'éclaboussement de gouttes d'eau (pluie ou irrigation par des dispositifs d'aspersion) est un mécanisme majeur de transport de spores fongiques (Fitt *et al.*, 1989), constituant même le second agent de dispersion de ce type de particules après le vent (Madden, 1992).

Bien que nous ne traiterons que de la dispersion de propagules fongiques par l'intermédiaire des gouttelettes d'éclaboussement (figure I.9), d'autres processus de dispersion de pathogènes de plantes en relation avec les événements pluvieux existent (Fitt *et al.*, 1989; McCartney *et al.*, 2006; Huber *et al.*, 2006). Pour les spores présentes au sein d'un mucilage à la surface d'organes contaminés et qui ne peuvent être dispersées par le vent, l'égouttage et le ruissellement suffisent à propager la maladie sur les tissus des étages inférieurs. Lovell *et al.* (2004b) ont même démontré que, via ces processus de dispersion, la contamination des feuilles apparaissant à la fin de la période de croissance du blé peut se produire si celles-ci émergent sous des feuilles déjà malades. Quant aux spores dispersées par le vent, elles peuvent être « lavées » de l'atmosphère par la pluie, ou être délogées « à sec » de la surface de feuilles suite aux impacts de gouttes sur ces organes (Geagea *et al.*, 2000) ; ce dernier phénomène est nommé *puffing* en anglais.

Les premières preuves de la propagation de maladies fongiques par l'intermédiaire de la pluie ont été apportées par Stepanov (1935) et Gregory (1961). À partir des années 80, l'étude expérimentale — principalement au laboratoire — sur différents organismes fongiques a permis de caractériser les facteurs affectant la dispersion de spores par éclaboussement de gouttes d'eau (Fitt *et al.*, 1988, 1989; Yang *et al.*, 1990; Yang & Madden, 1993; Madden *et al.*, 1996). Les modifications des propriétés des gouttes d'eau (masse, diamètre et vitesse) lors de l'impact, le taux de couverture du sol, la structure du couvert végétal et la nature de la source de spores, permettent de déterminer l'influence relative de ces facteurs sur la dispersion de spores. Différents dispositifs de simulation de pluie, tel que celui présenté sur la Fig. I.10, ont été développés avec pour objectif d'être aussi proche que possible des événements pluvieux en conditions naturelles (Fitt *et al.*, 1986; Reynolds *et al.*, 1987; Geagea *et al.*, 1999, 2000).

3.1 Description de la dispersion de pycnidiospores par éclaboussement

Pour qu'il y ait dispersion, il est avant tout nécessaire que des pycnidiospores de *M. graminicola* soient présentes au sein d'un film d'eau à la surface d'une feuille, comme précédemment évoqué. La dispersion proprement dite peut alors être divisée en trois phases (Sache, 2007) :

1. **La libération.** Au cours d'un événement pluvieux, lorsqu'une goutte de

pluie impacte la pellicule d'eau, cela cause — en fonction de la tension de surface et l'énergie cinétique impliquée — l'éclatement localisé de l'ensemble goutte et film d'eau en gouttelettes. Une partie des pycnidiospores, auparavant en suspension dans la pellicule d'eau, est incorporée dans des gouttelettes (figure I.11).

2. **Le transport.** En air calme, les trajectoires des gouttelettes sont proches de paraboles (Allen, 1988) et les distances parcourues sont de l'ordre de 0–20 cm, avec une plus forte concentration autour de 2–7 cm (Yang *et al.*, 1991b). Ces trajectoires et distances peuvent toutefois être modifiées par les vents qui accompagnent souvent les épisodes pluvieux (Fitt & McCartney, 1986b).
3. **Le dépôt.** Contrairement aux spores à dispersion éolienne qui peuvent demeurer longtemps en suspension dans l'atmosphère, les pycnidiospores — de par leur moyen de dissémination — se déposent rapidement, à proximité immédiate de leur lieu d'émission et éventuellement sur des tissus végétaux à infecter.

3.2 Facteurs influant sur l'éclaboussement

Différents facteurs, en particulier l'énergie cinétique (prise en compte de la masse et la vitesse) au moment de l'impact de la goutte, influent directement sur le phénomène d'éclaboussement. Plusieurs auteurs ont caractérisé les conditions nécessaires pour qu'un éclaboussement puisse se produire (Fitt & McCartney, 1986b; Madden, 1992; Huber *et al.*, 1996). Seules les gouttes de pluie ayant un diamètre compris entre 0,5 et 4 mm environ sont susceptibles de produire des gouttelettes par éclaboussement. Au dessus de cet intervalle, les gouttes se fragmentent au cours de leur chute en plus petites gouttes, et en dessous, elles rebondissent ou s'étalent, voire s'évaporent avant l'impact si leur diamètre est inférieur à 0,2 mm. Le nombre de Weber, comparant forces d'inertie et tension superficielle de l'interface eau–air, permet de déterminer facilement les seuils de formation de gouttelettes suite à un impact de goutte (Saint-Jean *et al.*, 2006). D'autres facteurs, tels que les propriétés de la surface d'impact, interviennent dans la formation de gouttelettes d'éclaboussement (Huber *et al.*, 1997).

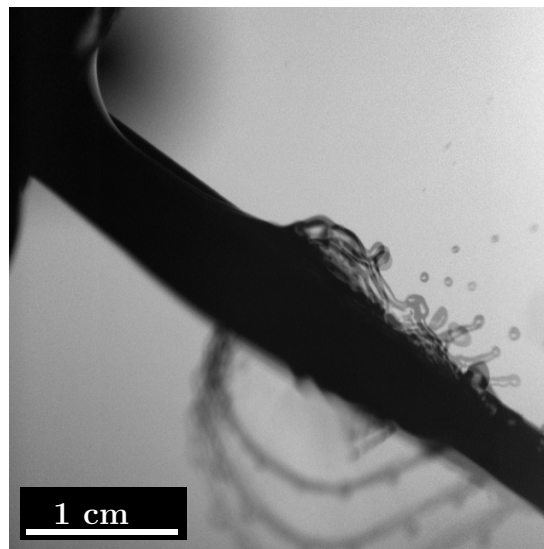


Fig. I.9: *Impact d'une goutte d'eau sur une feuille de blé avec production de gouttelettes d'éclaboussement. Photographie réalisée à l'aide d'une caméra ultra-rapide permettant de surexposer trois prises de vue successives, espacées de 500 μ s et avec un temps d'ouverture de 50 μ s chacune (Saint-Jean, 2003).*



Fig. I.10: Simulateur de pluie de type « tour à pluie », localisé au laboratoire INRA–AgroParisTech Environnement et Grandes Cultures (Grignon, France). En tombant de 11 m de haut (Saint-Jean, 2003), les gouttes d’eau produites au sommet de la tour ont quasiment atteint leur vitesse terminale lorsqu’elles impactent le sol (Fitt et al., 1986).

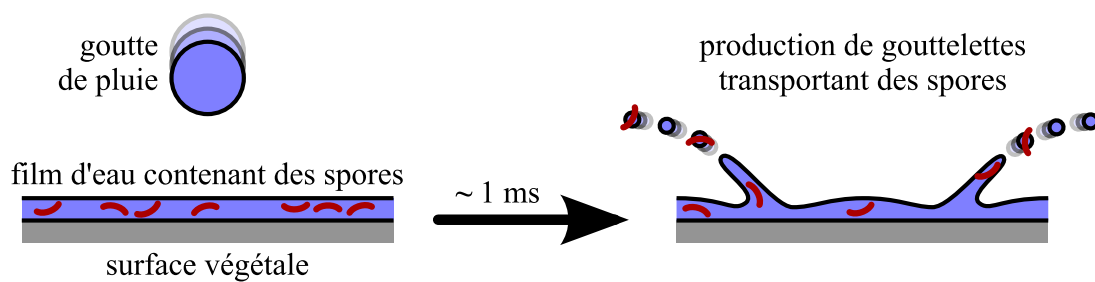


Fig. I.11: Mécanisme d’éclaboussement d’une goutte de pluie sur un substrat végétal (d’après Fitt & McCartney, 1986b). Une partie des particules (ici, des pycnidiospores) prisonnières du film d’eau en contact avec le substrat végétal peuvent s’en extraire via leur incorporation au sein de gouttelettes d’éclaboussement.

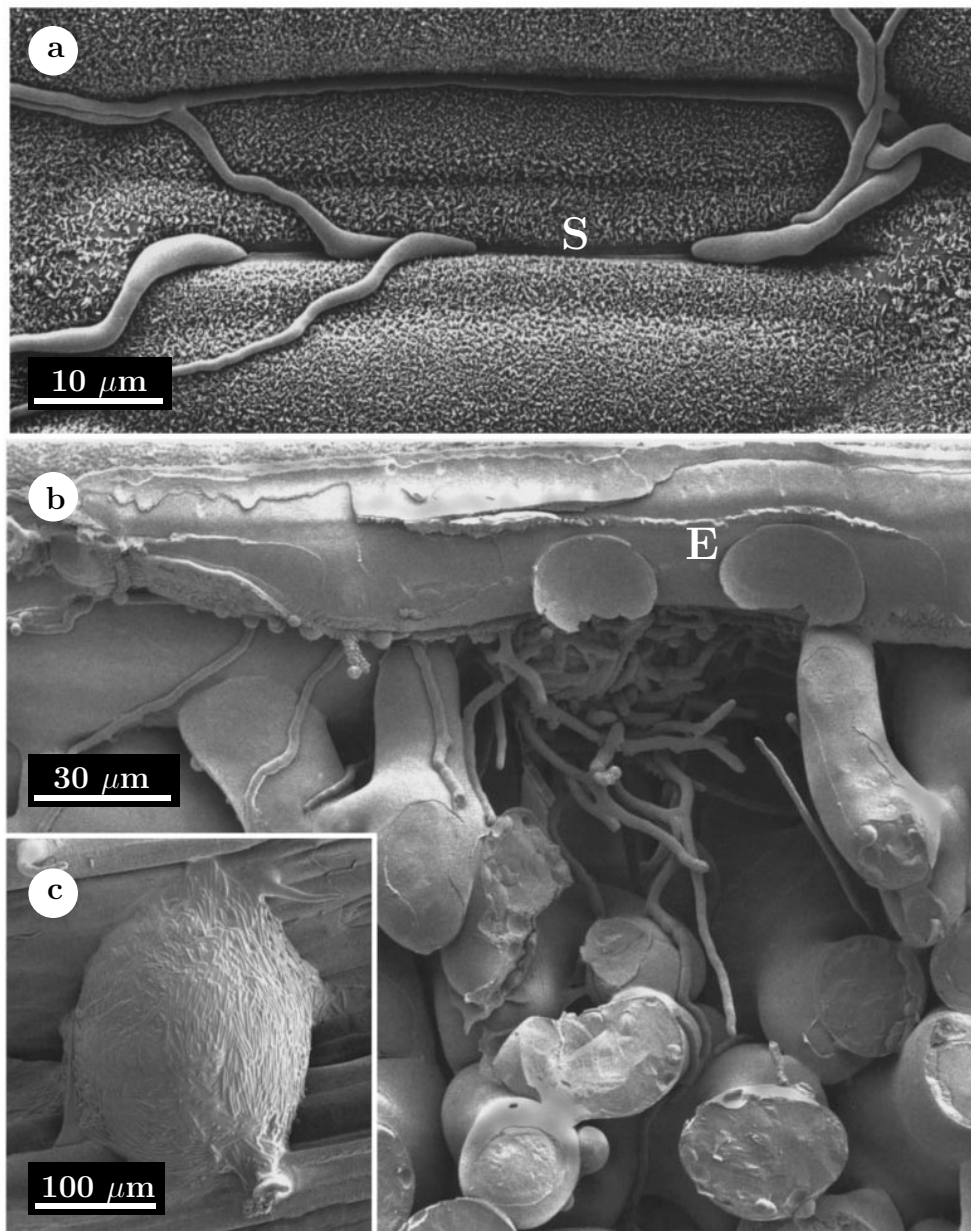


Fig. I.12: Différentes phases de l'infection de tissus hôtes par *Mycosphaerella graminicola* (Duncan & Howard, 2000). Images obtenues par la technique de la cryo-microscopie électronique à balayage (cryo-SEM pour cryo-scanning electron microscopy). (a) Tubes de germination de *M. graminicola* après 24 heures d'inoculation à la surface de feuilles de blé. Cinq tubes de germination ont « trouvé » l'ouverture en forme de fente (ostiole) d'un stomate (lettre **S**). (b) Feuille de blé colonisée par *M. graminicola*, cryo-fracturée 10 jours après inoculation. Une pycnide naissante peut être vue comme un amas d'hyphes mycéliens intercellulaires au sein de la chambre sous-stomatique. Notez la propagation intercellulaire des hyphes hors du site initial de pénétration, dans le mésophylle environnant. (lettre **E**) Couche de cellules épidermiques. (c) Une cirrhe de *M. graminicola* — conidies liés ensemble au sein d'une matrice mucilagineuse et exsuder à travers l'ostiole d'une pycnide mature — visible sur la surface d'une feuille.

4 Modélisation de la dispersion par éclaboussement de propagules fongiques dans un couvert hétérogène

La modélisation des épidémies de maladies de plantes n'est autre qu'une technique d'étude de la dynamique spatio-temporelle de ces maladies ([van Maanen & Xu, 2003](#)). Elle a pour ambition, dans un premier temps, d'offrir un moyen de compréhension des phénomènes épidémiques, et par la suite, de permettre de proposer des pistes d'amélioration des pratiques de gestion des maladies dans les agrosystèmes ([Jeger, 2004](#)).

Dans le cas de la septoriose du blé (due à *M. graminicola* ou *P. nodorum* suivant les cas), différentes approches ont été proposées afin de simuler son développement. Historiquement, [Rapilly & Jolivet \(1976\)](#) développèrent le premier modèle de simulation de la dynamique d'épidémie de la maladie en fonction des conditions climatiques. D'autres approches ont pour but d'établir une relation statistique entre sévérité de la maladie et données climatiques ([Coakley et al., 1985](#); [Murray et al., 1990](#)). Il existe également d'autres modèles — dont certains sont encore activement développés — qui ont pour vocation d'aider à choisir un traitement fongicide plus adapté. Parmi ces outils d'aide à la décision, nous pouvons recenser *Proculture* ([Moreau & Maraite, 1999](#)), le modèle d'[Audsley et al. \(2005\)](#) et *Septo-LIS* ([Gouache & Couleaud, 2009](#)). Aujourd'hui avec l'augmentation de la puissance de calcul des ordinateurs, l'utilisation de représentations de plantes en trois dimensions — comme le suggéraient [Room et al. \(1996\)](#) dans le milieu des années 90 —, est fréquent dans le cadre de simulations numériques, notamment en épidémiologie végétale (p. ex., [Robert et al., 2008](#)). Nous pouvons par exemple citer *ADEL-maize* pour la représentation de maïs ([Fournier & Andrieu, 1999](#)), *ADEL-Wheat* pour le blé ([Fournier et al., 2003](#)), *L-Pea* pour le pois ([Barillot, 2012](#)) ou *pyDrop* pour pour l'écoulement d'eau sur des feuilles de palmier ([Dufour-kowalski et al., 2007](#)). Les milieux turbides ont également été explorés comme moyens de simplification de couverts végétaux complexes (p. ex., [Chelle & Andrieu, 1998](#); [Barillot et al., 2011](#)).

Comme le signalaient [Pielaat & Van Den Bosch \(1998\)](#) et [Jeger \(1999\)](#), les mécanismes de dispersion des agents pathogènes demeurent encore pas ou trop peu pris en compte dans de nombreux modèles épidémiologiques, alors qu'ils sont déterminants notamment pour adapter les moyens de lutte en conditions naturelles. Le développement d'un nouveau modèle — auquel nous donnons un nom, *PathoSplash*, afin d'éviter toute ambiguïté par la suite — s'est avéré nécessaire afin d'explorer les mécanismes physiques impliqués dans la propagation d'un champignon phytopathogène à dispersion pluviale, au sein du couvert végétal hétérogène d'une association de variétés.

4.1 Présentation

Nous souhaitons spécifiquement étudier les phénomènes de dispersion d'un agent pathogène non spécialisé (non race-spécifique) par éclaboussement de gouttes de pluies, au sein un couvert monospécifique hétérogène vis-à-vis de la résistance au pathogène. L'approche que nous avons choisie se propose de répondre aux mêmes types de questions que celles que se posaient [Jeger et al. \(1981a\)](#), mais en intégrant spécifiquement et de manière explicite l'aspect dispersion du parasite. Comme l'hétérogénéité du couvert prise en compte était aussi bien verticale que horizontale, l'hypothèse communément utilisée de dispersion homogène horizontale a dû être rejetée. Nous avons donc eu recours à une modélisation tridimensionnelle des plantes hôtes qui se justifiait d'autant plus que l'échelle de dispersion du pathogène considéré et la distance entre organes sont du même ordre de grandeur. Le modèle *PathoSplash* nous a permis d'étudier en particulier l'influence des effets barrière (*shelter effect*) et dilution qui interviennent au sein d'une association de plusieurs variétés, et permettent de limiter la progression de maladies.

4.2 Structure

Dans sa conception actuelle, le modèle *PathoSplash* se subdivise en trois modules (Fig. [I.13](#)) :

1. **Organisation spatiale des résistances quantitatives au pathogène.** Ce module permet d'agencer des plantes avec différents niveaux de résistance au sein d'une parcelle, en se basant sur plusieurs types d'organisation spatiale définis par l'opérateur (p. ex., en damier, en rang ou aléatoire).
2. **Architecture du couvert et trajectoires des gouttes et gouttelettes.** Étant particulièrement consommateur en temps de calcul, ce module intègre les calculs de trajectoires de gouttelettes telles que décrites et validées par [Saint-Jean et al. \(2004\)](#).
3. **Progression du potentiel épidémique.** Les sorties des deux modules précédemment présentés sont les entrées de ce module. Pour chaque feuille au sein de la micro-parcelle simulée, la progression d'un potentiel de maladie est calculée en prenant en compte tous les facteurs à notre disponibilité. Ces derniers sont : les facultés d'infection et de sporulation du pathogène sur les différents cultivars présents, le taux de surfaces impactées par les gouttelettes, la surface saine (considérée comme pouvant être infectée), la surface contaminée (considérée comme pouvant infecter), et le nombre de gouttelettes ayant effectué le trajet entre feuille infectante (feuille « source ») et feuille infectée (feuille « puits »). Cette approche est plus largement détaillée dans le chapitre [IV](#).

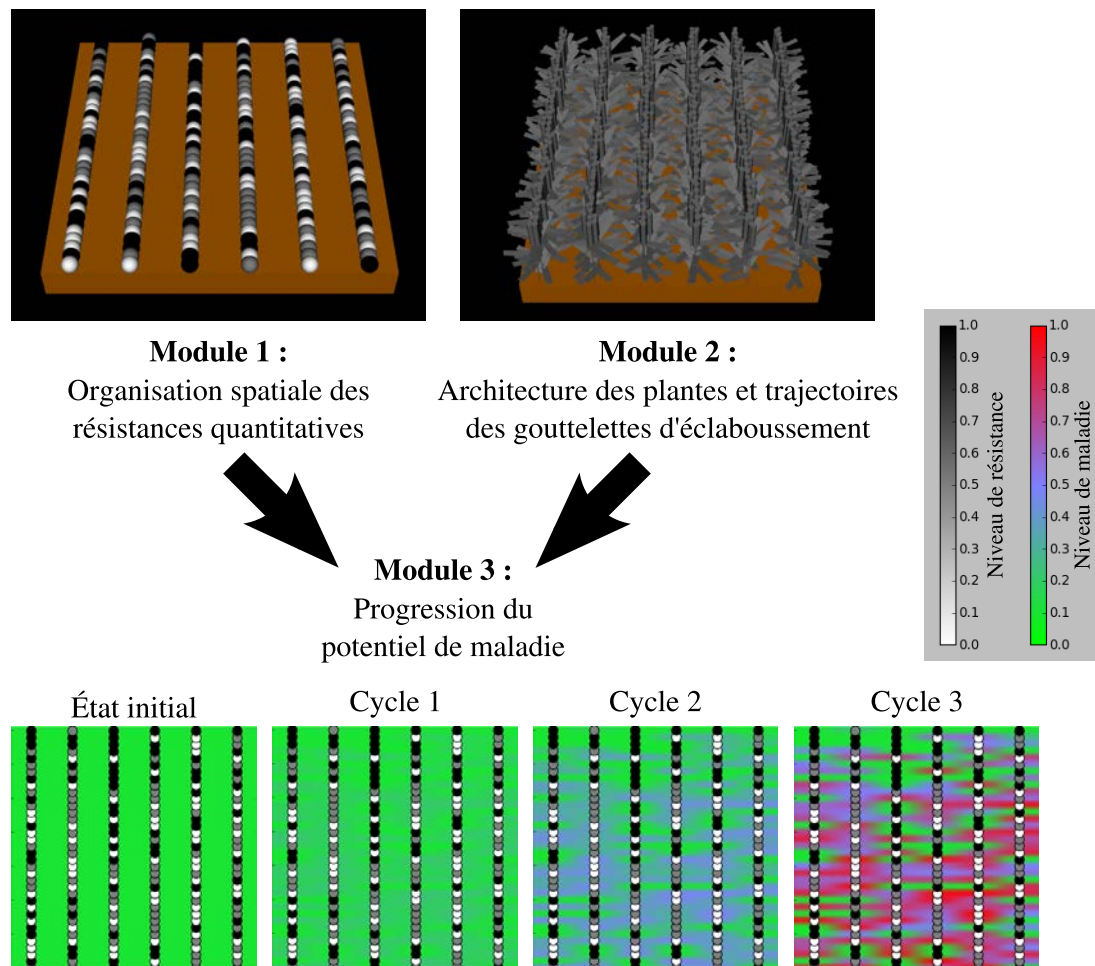


Fig. I.13: Conception actuelle du modèle PathoSplash en trois modules distincts, illustrée par des sorties graphiques dans le cas d'une association de trois variétés en équi-proportions. (1) Chaque boule représente une plante (constituée de plusieurs tiges, feuilles et épis) dont la couleur caractérise une variété donnée. (2) Représentation de l'architecture du couvert. (3) Visualisation de la progression de la maladie au cours de plusieurs cycles.

5 Problématique de la thèse

Par rapport aux autres mécanismes de transport de particules biotiques, le transfert d'eau par éclaboussement de gouttes de pluie joue un rôle prépondérant dans la dispersion des spores issues de la reproduction asexuée de *M. graminicola*, champignon responsable de la septoriose du blé. Ce type de reproduction est celui qui intervient majoritairement durant la phase épidémique *stricto sensu* de la maladie. Une meilleure compréhension du rôle de la diversité intra-parcellaire, en terme de niveau de résistance à la maladie, sur la propagation du champignon est essentielle afin de pouvoir préciser les potentialités des associations de variétés de blé dans la ralentissement de la progression épidémique de la septoriose.

Les objectifs de cette thèse ont été (i) de caractériser l'influence de l'hétérogénéité d'un peuplement d'hôtes sur la progression épidémique de la septoriose du blé et, (ii) de modéliser les mécanismes de dispersion pluviale des particules fongiques au sein d'un couvert végétal hétérogène.

Nous avons manié différentes approches afin de proposer des réponses à notre problématique. Des suivis hebdomadaires précis des épidémies naturelles de septoriose ont été réalisés dans le cadre d'expérimentations au champ menées sur plusieurs années consécutives. Par ailleurs, une méthodologie innovante a été mise en place pour évaluer l'intensité des flux de spores au sein du couvert de blé soumis à différents événements pluvieux en conditions naturelles. En parallèle à ces expérimentations, une approche originale de modélisation a été développée afin de comparer l'efficacité relative attendue de différentes associations de variétés. Dans cette démarche théorique, l'effort a été tout particulièrement porté sur la prise en compte du mode de dispersion de l'agent pathogène, via des gouttelettes de pluie, au sein d'un couvert végétal virtuel en trois dimensions.

Dans le cadre de cette thèse, l'existence éventuelle d'un effet prémunition — qui a notamment été mis en évidence pour l'oïdium de l'orge ([Chin et al., 1984](#)) et la rouille jaune du blé ([Calonnec et al., 1996](#)) — n'a pas été considéré. De plus, nous nous sommes concentrés sur la période de post-épiaison, durant laquelle le blé a terminé sa phase de croissance. C'est à ce moment-là en effet que d'une part, du point de vue de la sévérité de la septoriose, les différences potentielles entre associations et cultures monovariétales sont les plus importantes ([Gigot, 2009](#)) et que d'autre part, au niveau agronomique, les principales feuilles impliquées dans le remplissage des grains sont présentes.

6 Structuration du mémoire

Ce mémoire s'articule autour de plusieurs chapitres en français (**FR**) ou en anglais (**EN**), dont certains sont rédigés sous forme d'articles scientifiques.

FR Chapitre I : synthèse bibliographique

Cette section introductive présente le contexte général dans lequel s'inscrit la thèse. La problématique ainsi que les hypothèses de travail y sont également énoncées.

EN Chapitre II : suivi épidémiologique hebdomadaire en conditions naturelles

Le suivi de la progression de la sévérité de la septoriose du blé mené de 2008 à 2011 sur le site de Grignon (Yvelines, France) est présenté dans cette partie. Chaque printemps, des notations visuelles hebdomadaires des surfaces foliaires vertes et des surfaces foliaires pycnidiales (c.-à-d. sur lesquelles des pycnides étaient visibles) ont été réalisées pour différentes cultures monovariétales ou en association. Grâce au suivi de la pluviométrie et au dénombrement des nouvelles lésions sporulantes, il a été possible d'identifier des événements pluvieux majeurs dans la dispersion de pycnidiospores en conditions naturelles. Les résultats de cette expérimentation sont présentés et discutés dans ce chapitre.

EN Chapitre III : quantification du flux de spores dispersées par la pluie

Afin d'évaluer l'impact des associations de variétés de blé sur les flux de pycnidiospores au sein du couvert, ces derniers ont été quantifiés pour différents épisodes pluvieux qui ont eu lieu au cours de l'expérimentation présentée au chapitre précédent. Cette étude a été l'occasion de développer une méthode de dénombrement de spores basée sur l'analyse par ordinateur d'une mosaïque de photos prises par l'intermédiaire d'un dispositif microscopique automatisé. Des échantillons prélevés en conditions naturelles, à plusieurs hauteurs dans le couvert et suite à différentes conditions pluviométriques, ont permis de tester cette approche.

EN Chapitre IV : modèle de dispersion pluviale dans un couvert hétérogène

Cette section s'attache à décrire la conception du nouveau modèle *PathoSplash*, basé sur des approches déterministes et stochastiques. Ce modèle — qui se veut généraliste — a été spécialement développé pour explorer l'influence de l'hétérogénéité d'un couvert sur la dispersion pluviale d'un agent pathogène. Les résultats, obtenus avec la simulation de différents types d'associations variétales de blé et pour un parasite non spécialisé, sont présentés et discutés.

FR Chapitre V : discussion générale

Dans ce chapitre, l'ensemble des principaux résultats de cette thèse sont résumés et accompagnés d'une évaluation critique. Des perspectives, notamment en termes d'améliorations ou d'applications futures du modèle *PathoSplash*, sont également proposées.

II | Protective effects of a wheat cultivar mixture against splash-dispersed septoria tritici blotch epidemics

This chapter is based on an article published in Plant Pathology by Christophe Gigot, Sébastien Saint-Jean, Laurent Huber, Claude Maumené, Marc Leconte, Benoît Kerhornou and Claude de Vallavieille-Pope.

DOI: [10.1111/ppa.12012](https://doi.org/10.1111/ppa.12012)

Contents

1	Introduction	39
2	Material and methods	41
2.1	Wheat cultivars and field experiments	41
2.2	Assessment of disease severity and statistical analysis	42
3	Results	43
3.1	Detection of a protective effect over the epidemic period	43
3.2	Progression of disease severity	44
3.3	Quantification of the protective effect of the cultivar mixture	48
4	Discussion	50
5	Acknowledgements	52

EN Abstract

The use of cultivar mixtures to control foliar fungal diseases is well documented for windborne diseases, but remains controversial for splash-dispersed diseases. To try to improve this strategy, we designed a cultivar mixture consisting of two wheat cultivars with contrasted resistance to *Mycosphaerella graminicola*, responsible for the rainborne disease septoria tritici blotch (STB), in a 1/3 susceptible/resistant ratio, rather than the 1/1 ratio, commonly used in previous studies. The impact of natural STB epidemics in this cultivar mixture was studied in field experiments over four years. Weekly assessments of the number of sporulating lesions, pycnidial leaf area, and green leaf area were carried out on the susceptible cultivar. In years with sufficient STB pressure, disease impacts on the susceptible cultivar in the mixture were always significantly lower than in the pure stand (*e.g.*, 42% reduction of pycnidial leaf area for the three upper leaves in 2008 and 41% in 2009). In years with low STB pressure (2010 and 2011), a reduction of disease impacts was also shown but was not always significant. After major rainfall events, the number of sporulating lesions observed on the susceptible cultivar after one latent period was reduced on average by 45% in the mixture compared to the pure stand. All the measurements showed that a susceptible cultivar was consistently protected, at least moderately, in a mixture under low to moderate STB pressure. Therefore, the results prove that the design of an efficient cultivar mixture can include the control of STB among other foliar diseases.

Keywords: Cultivar mixtures, disease resistance, splash dispersal, *Mycosphaerella graminicola*, septoria tritici blotch, wheat

FR Résumé

Le recours aux associations variétales afin de contrôler des maladies foliaires fongiques est bien documenté dans le cas des maladies à dispersion éolienne, mais demeure controversé pour le cas des maladies à dispersion pluviale. Afin d'essayer d'optimiser cette stratégie, nous avons mis au point une association constituée de deux variétés de blé ayant des niveaux contrastés de résistance à *Mycosphaerella graminicola*, pathogène responsable de la septoriose du blé (STB pour *septoria tritici blotch*), une maladie à dispersion pluviale. Le ratio sensible/résistant utilisé dans cette association était de 1/3, à la place du ratio de 1/1, communément utilisé dans de précédentes études. Les impacts des épidémies naturelles de STB dans cette association de variétés ont été étudiés dans le cadre d'expérimentations au champ durant quatre années. Des évaluations hebdomadaires du nombre de lésions sporulantes, de la surface foliaire pycnidiale, et de la surface foliaire verte ont été menées sur la variété sensible. Pour les années avec une pression suffisante de STB, les impacts de la maladie sur la variété sensible dans l'association ont toujours été significativement plus bas que pour la culture monovariétale (p. ex., une réduction de 42 % de la surface foliaire pycnidiale pour les trois dernières feuilles en 2008 et 41 % en 2009). Pour les années avec une faible pression en STB (2010 et 2011), une réduction des impacts de la maladie a également été mise en évidence, mais n'a pas toujours été significative. Après les principaux événements pluvieux, le nombre de lésions sporulantes observées sur la variété sensible après une période de latence a été réduit en moyenne de 45 % dans l'association par rapport à la culture monovariétale. Toutes les mesures ont montré qu'une variété sensible a pu être protégée de manière constante au cours des années étudiées, au moins modérément, dans l'association sous des pressions faible à modérée de STB. Ainsi, les résultats obtenus montrent que la conception d'une association variétale efficace peut prendre en compte la gestion de STB parmi les autres maladies foliaires.

Mots clés : Association de variétés, résistance aux maladies, dispersion par éclaboussement, *Mycosphaerella graminicola*, septoriose du blé, blé

1 Introduction

Septoria tritici blotch (STB) is one of the foliar diseases with the greatest economic impact on wheat worldwide, especially in temperate humid regions where it may lead to substantial yield losses. For example, during the 1998–1999 cropping season in France, yield losses of 1–2 t.ha⁻¹, and sometimes 3–3.5 t.ha⁻¹, were attributed to STB (Oste *et al.*, 2000). Commonly used methods to control *Mycosphaerella graminicola* (anamorph *Septoria tritici*), the causal agent responsible for this disease, are based on fungicide spraying and resistant cultivar breeding. In the case of the former, it was observed that the effectiveness of fungicide use declined over the years due to intensive pathogen strain selection (Leroux *et al.*, 2007). Indeed, the emergence since the early 2000s of *M. graminicola* resistance to QoI, one of the major groups of fungicides represented mainly by the strobilurin family, has been widely documented (*e.g.*, Torriani *et al.*, 2009). More recently, a loss of triazole fungicide efficacy has been noticed in the field (Cools & Fraaije, 2008; Leroux & Walker, 2011). With regard to plant breeding, the classic way to select resistant cultivars consists in using genetic markers for introgressing a major resistance gene into a new line. So far, 13 major genes in wheat for resistance to STB have been identified and mapped (Orton *et al.*, 2011). Nevertheless, with major race-specific resistance genes, loss of efficacy may rapidly occur under field conditions because of the unidirectional selection pressure exerted on the pathogen population (McDonald & Linde, 2002).

In addition to the previously mentioned methods, complementary approaches that enlarge our current range of STB management solutions should be developed. Cultivar diversity within crops is one such solution. Finckh & Wolfe (2006) reported that “genetic diversity within and among species appears to be a concomitant of survival and of stability in communities”. Several studies have proved that mixing cultivars together provides effective control against some pathogen agents (*e.g.*, Wolfe, 1985; McCann, 2000; Mundt, 2002; de Vallavieille-Pope *et al.*, 2006). Moreover, this strategy provides additional potential benefits such as yield stability (Pfahler & Linskens, 1979).

The two main dispersal processes for cereal diseases are wind and rain. For windborne cereal diseases such as rusts and powdery mildew, cultivar mixtures present interesting protective effects against pathogen populations (Finckh *et al.*, 2000; Mundt, 2002; de Vallavieille-Pope, 2004; Huang *et al.*, 2012) and are effectively used commercially in different countries. For example, barley mixtures have been cultivated in Danish fields since the 1980s to limit the severity of powdery mildew (*Blumeria graminis* f.sp. *hordei*; Finckh *et al.*, 2000) and wheat cultivar mixtures are sown in the United States to reduce epidemics of yellow (stripe) rust (*Puccinia striiformis* f.sp. *tritici*), brown (leaf) rust (*Puccinia triticina*), and powdery mildew (Finckh & Wolfe, 2006). The control efficiency of rainborne diseases such as STB using cultivar mixtures varies according to pathosystems, climatic conditions, and biology and the proportion of each component of the mixtures. Significant (Jeger *et al.*, 1981b; Mille & Jouan,

1997; Mundt *et al.*, 1995a) or non-significant (Cowger & Mundt, 2002) benefits have already been demonstrated. Newton *et al.* (1997) and Mille *et al.* (2006) showed, for example, that cultivar mixtures with more than two components act better than two-component mixtures on two typically splash-dispersed fungi, *Rhynchosporium secalis* on barley and *M. graminicola* on wheat.

Wheat and other cereals are considered as crops that benefit from using cultivar mixtures to control foliar diseases because of their small host genotype unit area (defined by Mundt & Leonard, 1985a). However, according to Garrett & Mundt (1999), *M. graminicola* possesses biological traits unfavourable for the efficiency of this agricultural practice: large lesion size (compared to brown rust, for example), long pathogen generation time (average latent period of around 270–500 degree-days in field conditions, Lovell *et al.*, 2004a), absence of strong host specialization, and steep dispersal gradient. This last feature is directly related to the splash dispersal mechanism. Splash-dispersed pycnidiospores of *M. graminicola* are carried over very short horizontal and vertical distances, up to 1 m (Fitt *et al.*, 1989; Saint-Jean *et al.*, 2004), compared to distances of several hundred kilometres for windborne cereal rust uredospores (Brown & Hovmøller, 2002).

Although the protective effects are expected to be less effective than with other pathosystems, the increasing concern for sustainable pest management (*e.g.* Savary *et al.*, 2012) and the impacts of climate change on plant diseases (Pautasso *et al.*, 2012) prompted a revisit to the question of cultivar mixtures in the case of the wheat–STB pathosystem. In this context, the use of cultivar mixtures, considered as a preventive measure (Pautasso *et al.*, 2012), should not be ignored. Combined with other STB management methods, it makes it possible to create one more obstacle to disease progression. Compared to windborne diseases, for which extensive literature is available, the utility of cultivar mixtures to control splash-dispersed diseases remains controversial, and more experimental data are needed to assess the epidemiological and dispersal processes involved in disease progression. In particular, there is a need to investigate how the temporal disease development is affected within a cultivar mixture, and whether the effect of a cultivar mixture on disease development can be consistent over several host growing seasons.

This study creates intrafield diversity by mixing two cultivars, a very susceptible one and a quite resistant one, in a ratio of 1/3. It is known that this ratio is more relevant than the usually studied 1/1 ratio to control windborne disease epidemics (de Vallavieille-Pope, 2004). The use of a cultivar mixture as a means of contributing to the control of STB is demonstrated here by decreasing the disease severity on the most susceptible cultivar. The objectives were to: (i) determine when and how the cultivar mixture affects the STB epidemics; and (ii) quantify the effect of the mixture on the progression of natural STB epidemics over four host growing seasons.

2 Material and methods

2.1 Wheat cultivars and field experiments

Experiments were conducted over four consecutive wheat-growing seasons, from 2007–2008 to 2010–2011. For convenience, growing seasons are referred to by the harvest year only. Experimental fields were located at the INRA-Grignon Research Station (48°50' N, 1°56' E, 583 mm mean annual rainfall from 1992 to 2011), approximately 30 km west of Paris, where STB epidemics regularly occur. Commercial winter bread wheat cultivars were chosen based on their contrasted scores of resistance to *M. graminicola* and intermediate to high resistance levels to the other main pathogenic foliar fungi, and also, for similar earliness and plant height. The two-way cultivar mixtures studied were cv. Koreli – cv. Sogood in 2008 and cv. Maxwell – cv. Sogood in 2009, 2010 and 2011. Cvs Koreli and Maxwell were among the most resistant wheat cultivars commercially available (score 7 on a 1–9 scale, with 1 corresponding to highly susceptible and 9 fully resistant), and cv. Sogood was very susceptible (score 4) to *M. graminicola* (Anonymous, 2009). For convenience, cv. Koreli or cv. Maxwell are referred to as the resistant component, and cv. Sogood as the susceptible component of the cultivar mixture. To allow for early identification of mixture components, the seeds of the resistant and susceptible cultivars were coloured differently before sowing, using two contrasted colouring agents from the seed industry. In addition, a criterion based on presence (for the resistant cultivar) or absence (for the susceptible cultivar) of ear awns made it possible to unambiguously distinguish mixture components after heading. Both cultivars were mixed together in the seed drill in seed number proportions of 75% for the resistant cultivar and 25% for the susceptible one. The seed number proportions in cultivar mixtures were adjusted by weighing, taking the 1000-kernel weight difference of each cultivar into account.

For each cropping season, the experimental plan was a randomized block design with four replicates for each modality, namely the two pure stands and the mixture previously described. Plots were 3.5 m wide (18 rows spaced 17.5 cm apart) and 10–14 m long. To limit cross-contamination, triticale ($\times$ *Triticosecale* cv. Maximal, non-host for *M. graminicola*) borders at least 3.5 m wide were sown between plots. The experimental design was fungicide-free. Wheat crops were sown at a density of 220 seeds per m², which is comparable to common practices in the region, on 11 October 2007, 29 October 2008, 27 October 2009 and 26 October 2010.

Nitrogen fertilization was adjusted according to the balance-sheet method (Rémy & Hébert, 1977). Two applications took place between Growth Stage (GS) 30 and GS 69 (Zadoks *et al.*, 1974) for a target grain yield of 5.5–6.0 t.ha⁻¹ (Meynard *et al.*, 1997). Herbicide treatments were applied in early spring on all the experimental plots.

A meteorological data logger (Campbell Scientific Ltd., Loughborough, UK) was set up near the experimental plots to record the amount of rain and

air temperature at 2 m above ground level, in order to compute thermal time from the sowing day. The base temperature, equal to 0°C for wheat, refers to the temperature below which plant development is considered null (Gate, 1995). For comparing years to each other, wheat thermal time from sowing in degree-days was used to take wheat development into account (Lovell *et al.*, 2004c).

2.2 Assessment of disease severity and statistical analysis

At the beginning of stem elongation (GS 30), five main stems per replicate and cultivar were randomly selected, avoiding plot borders and using the difference in the seed colour for the mixture. They were identified with a plastic coloured ring, to follow STB severity on them until ripening (GS 90). This allowed non-destructive visual scoring to be carried out for about 3 months on the same stems. For each of the six upper leaf levels, the number of sporulating lesions due to infection by *M. graminicola*, the percentage of leaf area covered by pycnidia (or pycnidial leaf area), and the percentage of green leaf area were assessed on a weekly basis, as long as the green area was present.

An approach based on areas under progress curves (AUPCs) was used. For a period ranging from the dates 0 to N , an AUPC was calculated according to the following formula:

$$\sum_{d=0}^{N-1} \frac{(S_{d+1} + S_d)(T_{d+1} - T_d)}{2} \quad (\text{II.1})$$

where S_d and T_d refer to the scoring value and the wheat thermal time on day d , respectively. Differences between the mixture and the pure stand for the susceptible cultivar were computed for the number of sporulating lesions (ΔAUPC for lesion number), the pycnidial leaf area (ΔAUPC for pycnidial area) and the green leaf area (ΔAUPC for green area).

Differences in median thermal times, corresponding to the thermal times for which 50% of the final values was reached, were also calculated for the pycnidial leaf area (ΔTT_{50} for pycnidial area) and the green leaf area (ΔTT_{50} for green area) for the three upper leaf levels. Median thermal times were assessed with logit adjustments, using the method of maximum likelihood for model fittings of the R statistical software (R Development Core Team, 2010).

As upper leaves are the most important for explaining potential yield loss (*e.g.* Thomas *et al.*, 1989), part of the analysis was focused on the three upper leaf levels during the post-heading period (from GS 55 to GS 90). Data from the three upper leaves were aggregated taking into account their relative mean area measured after heading, when wheat growth is considered complete. Destructive samplings of all consecutive plants over 50 cm in two adjacent rows were made in each of the replicates of the mixture and the pure stand. Leaf scans of the susceptible cultivar made it possible to assess the mean lamina area of each of the three upper leaves (Table II.1).

To compare the number of sporulating lesions, the pycnidial leaf area and the green leaf area of the susceptible component in the cultivar mixture and in the

Table II.1: *Average contribution of each leaf level to the total leaf area of the three upper leaf levels over 4 years.*

Year	Average leaf area contribution (%) ^a		
	Leaf level 1 (flag leaf)	Leaf level 2	Leaf level 3
2008	39	37	24
2009	30	41	29
2010	21	39	40
2011	21	37	42

^a *Leaf areas were measured using destructive sampling between 1650 and 1850 degree-days from sowing (1744 degree-days in 2008, 1772 degree-days in 2009, 1809 degree-days in 2010 and 1651 degree-days in 2011), at the end of inflorescence emergence (from GS 57 to GS 59).*

pure stand, Student's t-test procedure was used with the R software. Up to three significance levels were used (1, 5 and 10%) to highlight significant differences in spite of the great variability inherent in most field experiments. Twenty stems per modality and per year were tested, taking into account the three or the six upper leaf levels according to the indicators considered. The mixture protective effect corresponds to the relative difference for the susceptible cultivar between the mixture and the pure stand.

3 Results

May and April rainfalls are known to be predictive of overall STB severity (Shaner & Finney, 1976; Thomas *et al.*, 1989). Using meteorological data recorded at Grignon over a 20-year period (from 1992 to 2011), 2010 and 2011 were among the three driest years in terms of cumulative rainfall in April and May, with 42 and 37 mm, respectively. 2008 and 2009 were about average in terms of cumulative rainfall during April and May, with 126 and 82 mm, respectively. These figures show that the springs of 2008 and 2009 were favourable for moderate epidemics, whereas rainfall events for the springs of 2010 and 2011 were not conducive to STB epidemics.

3.1 Detection of a protective effect over the epidemic period

Each year, one or two major peaks of weekly emergence of sporulating lesions were identified and related to major rainfall events that occurred about one latent period earlier (Fig. II.1). Major rainfall events mean rain of at least 10 mm in 1 day (Thomas *et al.*, 1989). Six major peaks of lesion emergence were identified: two in 2008 (at 1279 and 2024 degree-days), one in 2009 (at 1637 degree-days), one in 2010 (at 2035 degree-days), and two in 2011 (at 1293 and 1716 degree-days). For these peaks, reductions of 36, 8, 68, 25, 58, and

75% were observed, respectively, in the number of STB sporulating lesions newly emerged after 1 week on the susceptible cultivar in the mixture, compared to the pure stand. Among these reductions, half were significant (at $P < 0.01$). There was no obvious correlation between (i) the quantity of rain during the major daily rainfall event, (ii) the peak amplitude of the number of sporulating lesions and (iii) the reduction of the number of sporulating lesions within the mixture compared to the pure stand.

For each of the six upper leaf levels, assessments were made of the differences in two STB impact indicators (the total number of sporulating lesions and the final pycnidial leaf area due to *M. graminicola*) between the cultivar mixture and the pure stand for the susceptible cultivar (Table II.2). All the significant differences (at $P < 0.1$) indicate protective effects within the mixture. These significant values ranged from -30 to -89% with a mean of -49% for the total number of sporulating lesions, and from -33 to -88% with a mean of -56% for the final pycnidial leaf area. The significant protective effects of the mixture (globally observed on upper leaves in 2008, 2009 and 2010, and on lower leaves in 2011) appeared at different leaf levels, depending on the year.

3.2 Progression of disease severity

The next steps focused the analysis on the three upper leaf levels during the post-heading period, taking into account their relative mean area (Table II.1) to aggregate the data.

Concerning the increase of pycnidial leaf areas on the susceptible cultivar (Fig. II.2) in 2008, a significant difference in modality was observed between the susceptible cultivar in the mixture and in the pure stand ($t = 3.67$, $P = 0.001$). At the last scoring carried out at 2024 degree-days, the proportion of pycnidial area over the total leaf area (for the three upper leaves) reached 26 and 38% for the mixture and the pure stand, respectively, which corresponded to a reduction of more than 30% of the leaf pycnidial area within the mixture. For 2009, a significant difference was observed between the modalities ($t = 3.72$, $P < 0.001$). For the last scoring, at 2166 degree-days, the pycnidial leaf area proportion of the susceptible cultivar reached 23% in the mixture and 34% in the pure stand, which corresponded to a reduction of more than 30% of the leaf pycnidial area within the mixture. In 2010, no significant difference was reported between the two modalities ($t = 1.28$, $P = 0.21$). For the last scoring, at 2344 degree-days, the pycnidial leaf area proportion of the susceptible cultivar reached 10% in the mixture and 12% in the pure stand. Finally, for 2011, despite the very low STB pressure (less than 2% of pycnidial leaf area in the susceptible pure stand at ripening stage), a significant difference was observed between the two modalities ($t = 3.38$, $P = 0.002$). For the last scoring, at 2289 degree-days, the pycnidial leaf area proportion of the susceptible cultivar reached 0.4% in the mixture and 1.6% in the pure stand. The differences of pycnidial leaf areas on the susceptible cultivar between the mixture and the pure stand at ripening were all negative: -33% in 2008, -31% in 2009, -19% in 2010, and -78% in 2011.

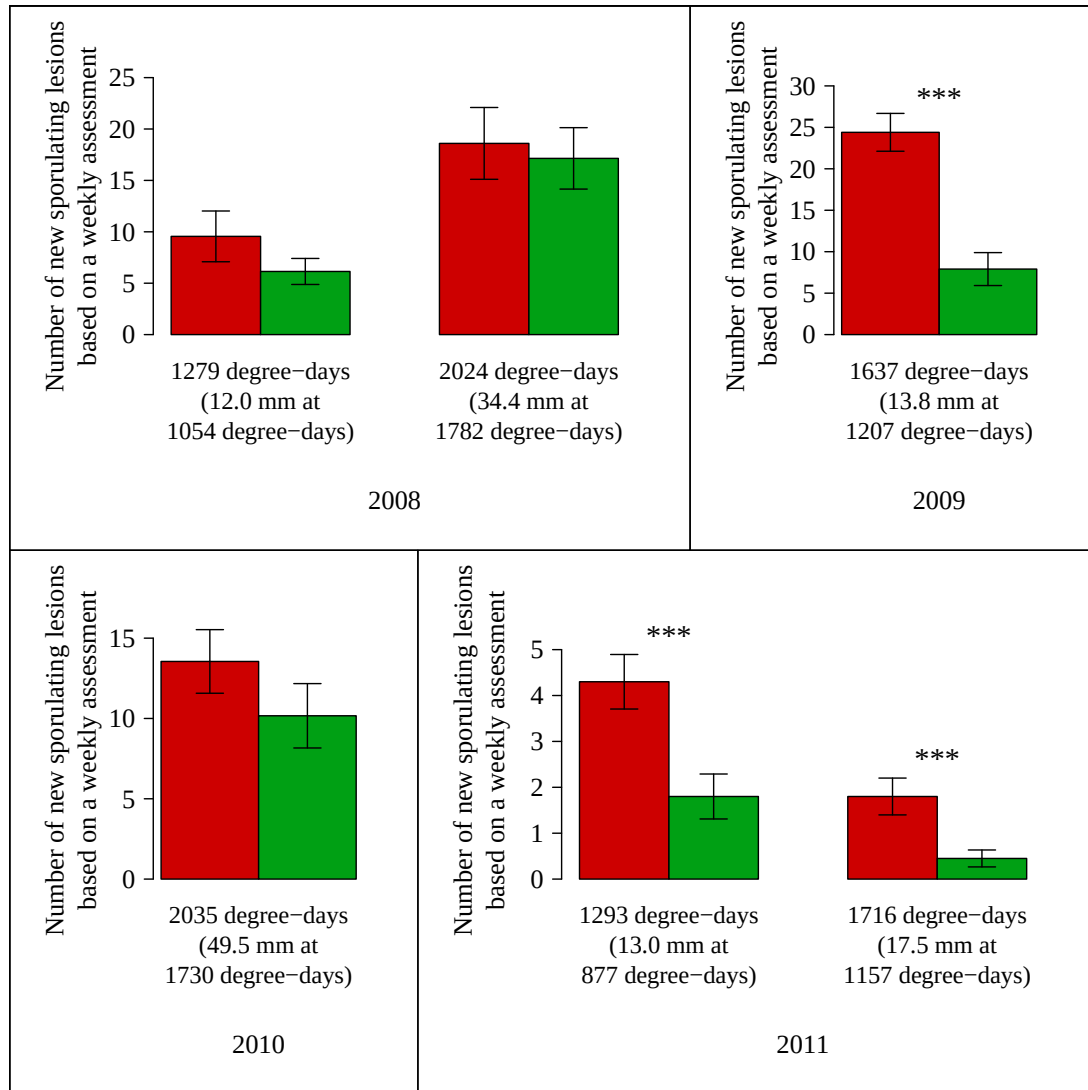


Figure II.1: Major peaks of weekly emergence of sporulating lesions of *septoria tritici* blotch on the susceptible wheat cultivar (cv. Sogood) in the pure stand (red) and the 1/3 susceptible/resistant cultivar mixture (green), identified over 4 years. The date (in degree-days from sowing) when the peak was observed and major daily rainfall occurring about one latent period earlier is given. Data are means of four plot replicates per modality. For each peak, ***data differ significantly at the 1% level, using Student's *t*-test.

Table II.2: Absolute and relative differences ($\pm$ standard errors) of final values reached for sporulating lesion number and pycnidial leaf area between the 1/3 susceptible/resistant cultivar mixture and the pure stand, for the susceptible wheat cultivar (cv. Sogood), on the six upper leaf levels and for 4 years.

Year	Leaf level	Difference in number of sporulating lesions			Difference in pycnidial leaf area		
		Absolute	Relative (%)	Sign.	Absolute	Relative (%)	Sign.
2008	1	-8.02 ($\pm$ 4.49)	-41 ($\pm$ 19)	*	-7.69 ($\pm$ 1.88)	-72 ($\pm$ 10)	***
	2	-3.44 ($\pm$ 3.21)	-20 ($\pm$ 17)	-	-30.12 ($\pm$ 9.15)	-50 ($\pm$ 11)	***
	3	2.54 ($\pm$ 2.17)	23 ($\pm$ 23)	-	-6.31 ($\pm$ 10.15)	-11 ($\pm$ 17)	-
	4	-4.15 ($\pm$ 2.10)	-39 ($\pm$ 16)	*	4.15 ($\pm$ 9.48)	8 ($\pm$ 18)	-
	5	-3.58 ($\pm$ 2.71)	-26 ($\pm$ 17)	-	11.15 ($\pm$ 10.26)	22 ($\pm$ 23)	-
	6	-1.15 ($\pm$ 1.27)	-20 ($\pm$ 20)	-	-1.25 ($\pm$ 11.08)	-3 ($\pm$ 26)	-
2009	1	-7.35 ($\pm$ 2.37)	-49 ($\pm$ 11)	***	-9.55 ($\pm$ 6.00)	-32 ($\pm$ 18)	-
	2	-4.80 ($\pm$ 2.52)	-33 ($\pm$ 16)	*	-8.95 ($\pm$ 5.46)	-29 ($\pm$ 15)	-
	3	-3.50 ($\pm$ 1.43)	-30 ($\pm$ 10)	**	-13.75 ($\pm$ 4.72)	-33 ($\pm$ 10)	***
	4	-0.70 ($\pm$ 1.05)	-12 ($\pm$ 17)	-	-1.75 ($\pm$ 6.38)	-7 ($\pm$ 27)	-
	5	0.30 ($\pm$ 1.24)	7 ($\pm$ 30)	-	5.41 ($\pm$ 5.54)	29 ($\pm$ 32)	-
	6	-0.85 ($\pm$ 0.50)	-46 ($\pm$ 23)	-	-7.50 ($\pm$ 2.68)	-55 ($\pm$ 14)	***
2010	1	-2.18 ($\pm$ 0.94)	-45 ($\pm$ 14)	**	-2.18 ($\pm$ 1.01)	-41 ($\pm$ 14)	**
	2	-4.03 ($\pm$ 2.42)	-26 ($\pm$ 13)	-	-2.17 ($\pm$ 2.43)	-14 ($\pm$ 14)	-
	3	-3.70 ($\pm$ 1.92)	-33 ($\pm$ 14)	*	-2.49 ($\pm$ 2.51)	-19 ($\pm$ 17)	-
	4	0.06 ($\pm$ 1.18)	2 ($\pm$ 38)	-	-1.39 ($\pm$ 3.16)	-17 ($\pm$ 40)	-
	5	-0.47 ($\pm$ 0.77)	-21 ($\pm$ 35)	-	-0.76 ($\pm$ 2.32)	-11 ($\pm$ 35)	-
	6	-0.40 ($\pm$ 0.71)	-21 ($\pm$ 38)	-	-0.73 ($\pm$ 1.88)	-13 ($\pm$ 38)	-
2011	1	NA	NA	-	NA	NA	-
	2	0.03 ($\pm$ 0.33)	11 ($\pm$ 261)	-	-0.61 ($\pm$ 1.09)	-55 ($\pm$ 416)	-
	3	-1.64 ($\pm$ 0.44)	-89 ($\pm$ 6)	***	-2.49 ($\pm$ 0.58)	-88 ($\pm$ 7)	***
	4	-1.02 ($\pm$ 0.39)	-72 ($\pm$ 14)	**	-1.59 ($\pm$ 0.71)	-58 ($\pm$ 18)	**
	5	-2.98 ($\pm$ 1.06)	-53 ($\pm$ 14)	***	-5.80 ($\pm$ 1.93)	-49 ($\pm$ 13)	***
	6	-1.86 ($\pm$ 1.08)	-60 ($\pm$ 25)	*	-2.82 ($\pm$ 1.88)	-52 ($\pm$ 28)	-

The significance (Sign.) of each absolute difference is assessed by a Student's t-test. Leaf level number 1 corresponds to the flag leaf.

*Significant at the 10% level

**Significant at the 5% level

***Significant at the 1% level

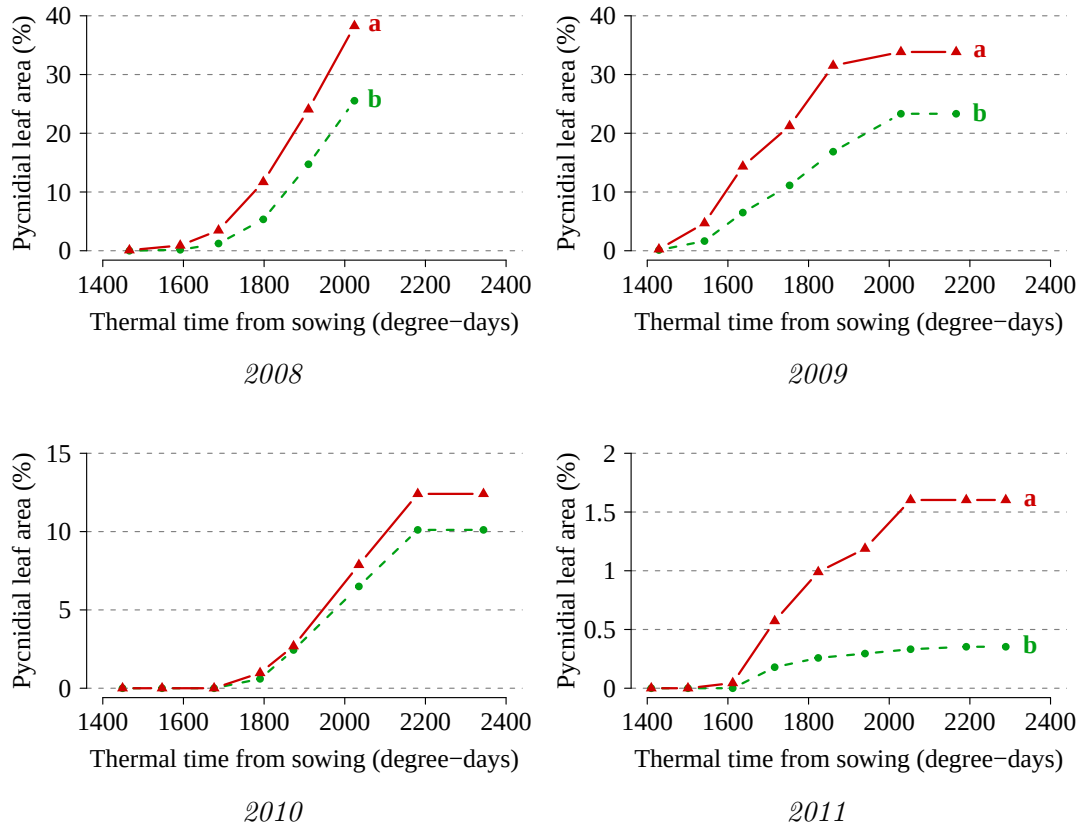


Figure II.2: Increase over time of pycnidial leaf area proportion due to *septoria tritici* blotch on the susceptible wheat cultivar (cv. Sogood) in the pure stand ($\blacktriangle$) and the 1/3 susceptible/resistant cultivar mixture ($\bullet$), for 4 years. Data are means of the three upper leaf levels (weighted according to Table II.1) of four plot replicates per modality. Different letters next to curves for the same year indicate that areas under progress curves differ significantly at the 5% level, using Student's *t*-test.

Three of these differences were significant, *i.e.* 2008 ($t = 3.12$, $P = 0.004$), 2009 ($t = 3.20$, $P = 0.003$), and 2011 ($t = 2.87$, $P = 0.009$). The disease severity on the susceptible cultivar, assessed with final values of pycnidial leaf area, was significantly lower in most cases in the mixture than in the pure stand.

With regard to the decrease in green leaf areas for the susceptible cultivar over the post-heading period (Fig. II.3), in 2008, a significant difference was revealed between the modalities of the mixture and the pure stand ($t = 4.01$, $P < 0.001$). For the date corresponding to the maximal difference between each modality (*i.e.* 2024 degree-days), the green leaf area proportion for the susceptible cultivar reached 63% in the cultivar mixture and 42% in the pure stand, and the difference was significant ($t = 4.82$, $P < 0.001$). In 2009, there was also a significant difference between the two modalities ($t = 4.46$, $P < 0.001$). At the date of maximum difference between the modalities (1861 degree-days), the green leaf area proportion of the susceptible cultivar reached 64% in the mixture and 34% in the pure stand, and the difference was significant ($t = 4.46$,

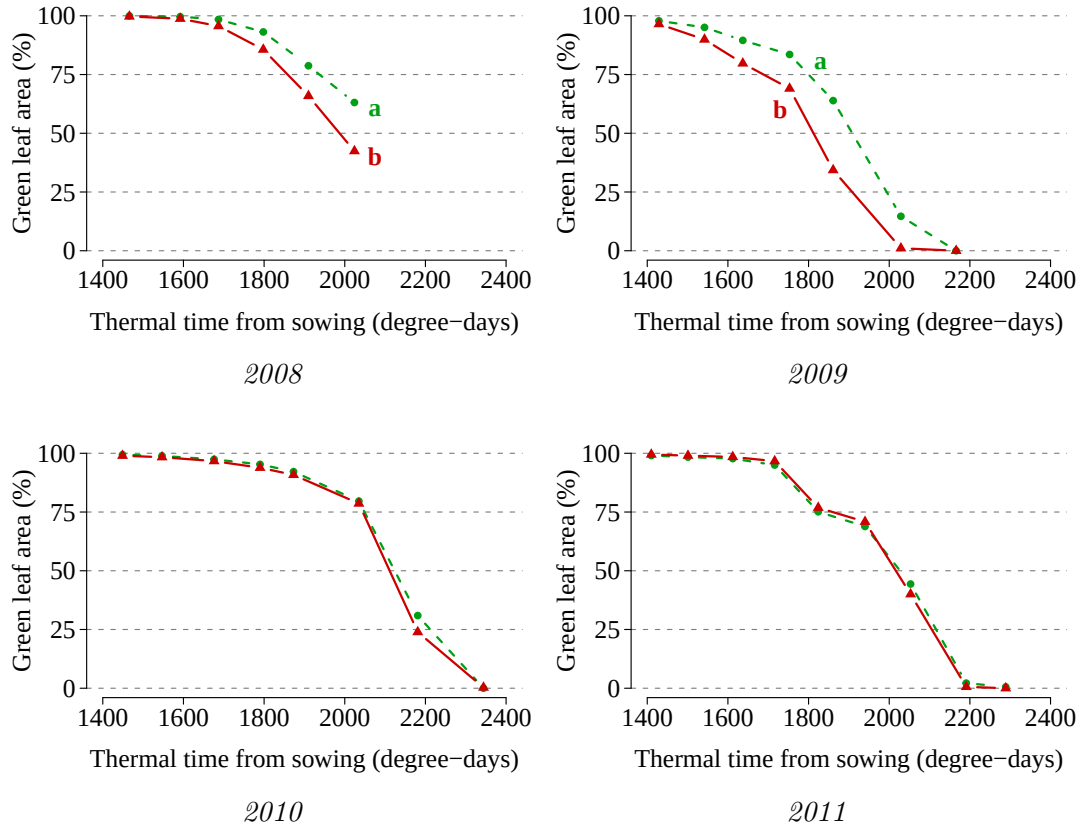


Figure II.3: Decrease over time of green leaf area proportion on the susceptible wheat cultivar (*cv. Sogood*) in the pure stand ($\blacktriangle$) and the 1/3 susceptible/resistant cultivar mixture ($\bullet$), for 4 years. Data are means of the three upper leaf levels (weighted according to Table II.1) of four plot replicates per modality. Different letters next to curves for the same year indicate that areas under progress curves differ significantly at the 5% level, using Student's *t*-test.

$P < 0.001$). Finally, in 2010 and 2011, no significant difference was observed ($t = 1.03$, $P = 0.31$ and $t = 5.10^{-4}$, $P \approx 1$; respectively).

3.3 Quantification of the protective effect of the cultivar mixture

Differences for the susceptible cultivar between the mixture and the pure stand for the number of sporulating lesions, the pycnidial leaf area, and the green leaf area were computed, based on AUPC over the entire post-heading period (Δ AUPC; Fig. II.4). For the 4 years, the Δ AUPC for the sporulating lesion number was significant ($t = 3.18$, $P = 0.003$ for 2008; $t = 3.92$, $P < 0.001$ for 2009; $t = 2.77$, $P = 0.009$ for 2010; and $t = 3.01$, $P = 0.006$ for 2011), and ranged from -74% in 2011 to -30% in 2008. The Δ AUPC for the pycnidial leaf area was significant ($t = 3.67$, $P = 0.001$ for 2008; $t = 3.72$, $P < 0.001$ for 2009;

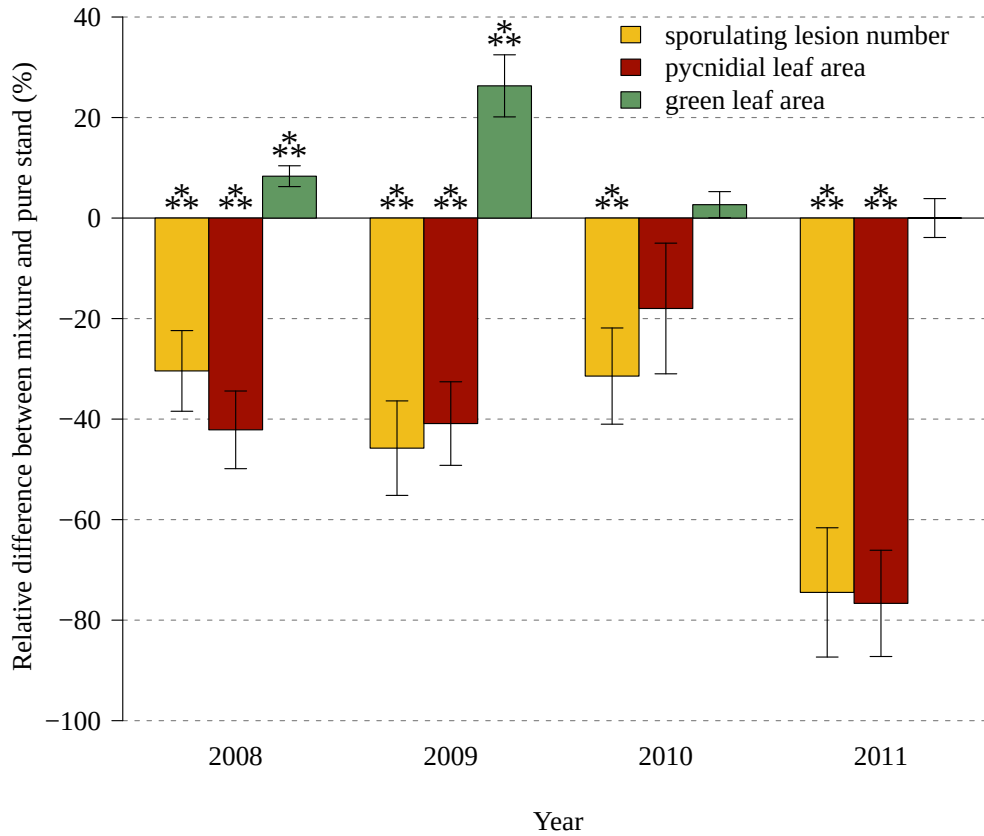


Figure II.4: Relative differences of area under progress curves ($\Delta AUPC$) for sporulating lesion number, pycnidial leaf area and green leaf area, of the susceptible wheat cultivar (cv. Sogood) between the 1/3 susceptible/resistant cultivar mixture and the pure stand, for 4 years. Data are means ($\pm$ standard errors) of the three upper leaf levels (weighted according to Table II.1) of four plot replicates per modality. The significance of each value is assessed by a Student's *t*-test. ***Significant at the 1% level.

and $t = 3.38$, $P = 0.002$ for 2011) except for 2010 ($t = 1.28$, $P = 0.21$), ranging from -77% in 2011 to -18% in 2010. The $\Delta AUPC$ for the green leaf area, always positive (or null for 2011), was only significant for 2008 ($t = 4.01$, $P < 0.001$) and 2009 ($t = 4.46$, $P < 0.001$), with values of 8 and 26%, respectively.

The difference in median thermal time for the susceptible cultivar between the mixture and the pure stand (ΔTT_{50}) was assessed for pycnidial and green leaf areas. The ΔTT_{50} was calculated for all the years except 2011, for which the disease pressure was too low to obtain relevant logit adjustments. The ΔTT_{50} for pycnidial leaf area, significant in both 2008 ($t = 1.93$, $P = 0.07$) and 2009 ($t = 2.76$, $P = 0.02$), ranged from 14 degree-days in 2010 to 80 degree-days in 2009. The ΔTT_{50} for the green area was only significant in 2009 ($t = 4.48$, $P < 0.001$), and ranged from -12 degree-days in 2008 to -98 degree-days in 2009.

4 Discussion

Temporal variations in the protective effect of the cultivar mixture on the susceptible component were investigated in relation to pathogen dispersal events by means of weekly field assessments of STB progression. Although modulated by microclimatic conditions during the latent period, especially temperature and wetness (Magboul *et al.*, 1992), the number of newly emerged sporulating lesions after one week is a relevant indicator of the intensity of pycnidiospore dispersal. Over the 4 years, the major dispersal events responsible for substantial spreading of pycnidiospores were identified (Fig. II.1). All of these dispersal events have led to fewer sporulating lesions on the susceptible cultivar within the mixture than in the pure stand. This reduction was calculated to be 45% on average for the 4 years. Although Garrett & Mundt (1999) mentioned that the steep splash dispersal gradient is not favourable for slowing down epidemics with the use of cultivar mixtures, experimental conditions here showed that the mixture prevented STB development on the susceptible cultivar through the limitation of spore dispersal.

This study also showed that the protective effect of the cultivar mixture on the susceptible cultivar could appear on each of the six upper leaf levels (Table II.2) depending on the occurrence of rainfall when a given leaf level was present. Nevertheless, a link between the intensity of rainfall events and the level of protective effect was not shown. For example, although the highest daily rainfall recorded during spring occurred in 2010 (49.5 mm at 1730 degree-days), no significant reduction in the number of sporulating lesions was observed one latent period later on the susceptible cultivar in the mixture (Fig. II.1). Inoculum present in the field when dispersal events occurred (Suffert & Sache, 2011), microclimatic conditions (Magboul *et al.*, 1992) and precise characterization of rain properties such as raindrop energy (Saint-Jean *et al.*, 2006) need to be taken into account in order to further understand the correlation between rainfall events and protective effects of cultivar mixtures against STB epidemics.

On average over the 4 years, on the three upper leaf levels, -45% of sporulating lesions, -45% of pycnidial leaf area, and 9% of green leaf area were observed on the susceptible cultivar within the mixture when compared to the pure stand (Fig. II.2, II.3, II.4). The host compensation due to various abiotic and biotic stresses (*e.g.* drought, phytophagous insects) and wheat developmental plasticity could explain the relatively low protective effect for the green leaf area, which was only significant for the years with sufficient disease pressure (2008 and 2009). The differences in median thermal time for both pycnidial and green leaf area provide evidence that the photosynthetically active period for the three upper leaves of the susceptible cultivar was longer within the mixture than within the pure stand in the presence of STB. Indeed, these differences could reach up to about 90 degree-days in absolute value (in 2009), which is comparable to one phyllochron (Gate, 1995), corresponding to the establishment of one leaf level.

Previous experiments on equiproportional two-component mixtures of

cultivars with no contrasting STB resistance levels have shown inconsistent protective effects (Cowger & Mundt, 2002). The present study used a cultivar mixture with contrasted resistance levels and a susceptible/resistant ratio of 1/3, basing the choices on assembly criteria known to provide significant control of windborne diseases (de Vallavieille-Pope, 2004). The importance of contrasted resistance scores for cultivar mixture components has already been experimentally demonstrated for the control of rainborne diseases (Jeger *et al.*, 1981b; Mundt *et al.*, 1995a). Though there were variations, some level of consistency was showed over the years. Under low to moderate disease pressure, the susceptible component within the cultivar mixture was always less impacted by STB than in the pure stand. In such a cultivar mixture, the resistant component experienced an increased inoculum load in comparison to being grown in pure stand because of higher disease pressure caused by the presence of the diseased susceptible component (Garrett & Mundt, 1999). After analyses similar to those presented for the susceptible cultivar, it was shown that, in these experimental conditions, the resistant cultivar (cv. Koreli or cv. Maxwell, depending on the year) in the mixture was not significantly more affected by STB than in pure stand, whether for the number of sporulating lesions, the pycnidial leaf area, or the green leaf area for the different years studied (data not shown). Although no decrease in efficacy of the resistant cultivar was noted during the experimental period, it is recommended that successively different resistant components are introduced within a mixture over the cropping seasons to minimize this risk (Mundt, 2002).

In these experimental conditions, the mixture effect, defined as the relative difference between the mixture and the mean of the pure stands, was computed based on pycnidial leaf area data and ranged from 3% in 2010 to 35% in 2008. Although, as expected, the mixture effect was low in comparison to mixture effects of 60–70% observed in the cases of windborne diseases (Burdon, 1987; Wolfe, 1985; Kølster *et al.*, 1989), it was consistently positive over the years. Furthermore, the average yield of the whole cultivar mixture for the 2008–2011 period was 0.4 t.ha^{-1} greater than for the mean of pure stands in the same 1/3 cultivar ratio (data not shown). No significant effects were observed for yield within a cropping season, which concurs with some observations of Mille *et al.* (2006). In their field experiments with several cultivar mixtures, there were no correlations between mixture efficiencies for grain yield and disease severity reduction. Moreover, estimation of grain yield mixture efficiency is more appropriate in larger fields (Garrett & Mundt, 1999).

Although not mainly concerned with controlling STB epidemics (Garrett & Mundt, 1999), this study provides evidence that with contrasted resistance levels and a 1/3 susceptible/resistant ratio, a two-component cultivar mixture could provide a consistent protective effect on the most susceptible component over several years, rainfalls and leaf levels, despite different disease pressures. Under these experimental conditions, similar behaviours were observed with the two different resistant cultivars for years with similar disease pressure (2008 and 2009). Nevertheless, it is usually impossible to predict the efficiency of a

given cultivar mixture before planting, notably because of genotype–environment interactions and competition degree between mixture components (*e.g.* [Finckh & Mundt, 1992b](#); [Mundt *et al.*, 1995a](#)). Instead of the integrative STB resistance score currently available for each wheat cultivar, precise knowledge of the factors underlying host resistance, such as infection efficiency, sporulation rate, and latent period, should substantially help to design cultivar mixtures with greater control of STB. Indeed, models from [Jeger *et al.* \(1981a\)](#) on non-specialised fungal pathogens, such as *M. graminicola*, predicted that the use of quantitative resistances in a cultivar mixture may decrease, increase, or have no effect on disease severity, depending on the differences in infection frequencies and sporulation rates between mixture components.

5 Acknowledgements

The authors are grateful to Laurent Gérard, Brigitte Durand and Olivier Maury for their invaluable technical assistance, and Christophe Montagnier and his team (INRA Experimental Unit, Thiverval-Grignon) for crop management. This experimental study received financial support from the French Ministry of Agriculture (contract CTPS C-03-2010). Managed by the ANRT (Association Nationale de la Recherche Technique), the PhD grant of Christophe Gigot was co-financed by ARVALIS – Institut du végétal and the French Ministry of Research and Education. The authors thank the anonymous reviewers for both general and specific comments on the manuscript.

III | Assessment of splash-dispersed spore flux within wheat fields infected by *Mycosphaerella graminicola* using automated counting based on image analysis

This chapter is based on an article project by Christophe Gigot, Brigitte Durand, Claude de Vallavieille-Pope and Sébastien Saint-Jean.

Contents

1	Introduction	57
2	Material and methods	58
2.1	Collection of rain-splashed particles	58
2.2	Automated picture taking of the samples	60
2.3	Automated and visual particle counting	60
2.4	Data analysis	60
3	Results	62
3.1	Incident rain	62
3.2	Splash dispersal	62
4	Discussion	66
5	Acknowledgements	67

EN Abstract

A semi-automated methodology based on picture analysis was implemented to assess the flux of splash-dispersed pycnidiospores of *Mycosphaerella graminicola*, the causal agent of septoria tritici blotch on wheat. Separate rainfall events occurring at the end of the host-growing season were investigated in field studies in 2009 and 2010. Spore traps placed at 20, 40, 60 and 80 cm above the soil were used to collect splashed pycnidiospores within wheat canopy, consisting of a relatively susceptible pure stand and a two-component cultivar mixture. This mixture was designed using contrasted resistance to *M. graminicola* in a 1/3 susceptible/resistant ratio. The pycnidiospore density ranged from 10.8 to 412.1 cm⁻², and the highly variable spore flux density ranged from 1.1 to 179.0 cm⁻².h⁻¹. Using linear mixed model approach, we showed that spore flux density was positively correlated to incident rain intensity, mean diameter of raindrops, inoculum pressure within the canopy and sampling height. Although non significant, the average spore flux density within the susceptible pure stand tended to be globally higher than in the mixture. Thus our results show that pycnidiospores of *M. graminicola* were consistently splash dispersed within wheat canopies in relation to rainfall characteristics and vertical distribution of infected leaf surfaces. The methodology developed for this study is generalisable and offers opportunities for further investigations on quantification of varied bioaerosols.

Keywords: image analysis, splash dispersal, pycnidiospore, *Mycosphaerella graminicola*, septoria tritici blotch

FR Résumé

Une méthodologie semi-automatisée basée sur l'analyse d'images a été développée afin d'évaluer le flux des particules à dispersion pluviale que sont les pycnidiospores de *Mycosphaerella graminicola*, l'agent pathogène responsable de la septoriose du blé. Des événements pluviaux distincts ayant eu lieu à la fin de la période de croissance du blé ont été étudiés dans le cadre d'expérimentations au champ, en 2009 et 2010. Des pièges à spores placés à 20, 40, 60 et 80 cm au-dessus du sol ont été utilisés afin d'échantillonner des pycnidiospores au sein du couvert de blé, ce dernier étant soit une culture monovariétale relativement sensible à la maladie, soit une association variétale binaire. Cette association était constituée de variétés présentant des niveaux de résistance contrastés à *M. graminicola* et associée avec un rapport sensible/résistant de 1/3. La densité de pycnidiospores variait de 10,8 à 412,1 cm⁻², et la densité de flux de spores variait dans des proportions importantes, de 1,1 à 179,0 cm⁻². En ayant recours à un modèle linéaire mixte, nous avons montré que la densité de flux de spores était positivement corrélée à l'intensité de pluie, au diamètre moyen des gouttes de pluie, à la pression en inoculum au sein du couvert et à la hauteur d'échantillonnage. Bien que cela n'était pas significatif, la densité moyenne de flux de spores au sein de la culture monovariétale sensible tendait à être globalement plus élevée que dans l'association. Nos résultats ont ainsi montré que les pycnidiospores de *M. graminicola* étaient dispersées en fonction des caractéristiques pluviales et de la distribution verticale des surfaces foliaires infectées. La méthodologie mise au point pour cette étude est généralisable et offre de nombreuses opportunités pour de futures recherches sur la quantification de diverses particules atmosphériques.

Mots clés : Analyse d'images, dispersion par éclaboussement, pycnidiospore, *Mycosphaerella graminicola*, septoriose du blé

1 Introduction

Atmospheric dispersal of particles of agricultural origin, such as fungal spores and pollen grains, is an effective process in biological contamination of ecosystems in the context of crop protection. In order to understand this process, amount, fluxes of such particles are needed to be assessed. For the bioaerosol dispersal modelling purposes, localisation sampling and particle shape are key parameters (Marceau *et al.*, 2012) because they account in their aerodynamic behaviour (McCartney *et al.*, 1997). Therefore, sampling bioaerosol is quite an old problematic Gregory (1961) but still remains relevant because we have to deal with the problem not fully overcome of counting and identifying small objects in a diluted and polluted environment. Bioaerosols fall under two major categories: the ones carried by the wind (windborne particles), and the ones transported by rain splash droplets (splashborne particles). Splashing corresponds to the fragmentation phenomenon of drops into droplets following the impact on a physical obstacle. At the phytopathological level, drop splashing (rain or irrigation) is a major dispersal mechanism of fungal spores (Fitt *et al.*, 1989), it is even the second one after wind (Madden, 1992).

For airborne bioaerosols, several manufactured and commercial devices exist such as the volumetric spore sampler of Hirst (1952), the Burkard volumetric particle sampling device (Burkard Manufacturing Co. Ltd., Rickmansworth, UK) or the Rotorod sampler (Solomon *et al.*, 1980; McCartney *et al.*, 1997). These tools are widely used to analyse fluxes of wind-dispersed particles such as some plant pathogen pathogens (*e.g.* Suffert *et al.*, 2011) or pollen grains (*e.g.* Marceau *et al.*, 2011). Regarding splash-dispersed particles, several sampling setups have been developed and described in the literature. However, they mostly remain research or laboratory devices. For example, horizontal (microscope slides) or container (tubes or cups) samplers were used to study dispersal of some plant pathogens, such as *Rhynchosporium secalis* (Oudem.) Davis, the causal agent of barley scald (Fitt *et al.*, 1988), *Gibberella zeae* (Schwein.) Petch which causes fusarium head blight (Paul *et al.*, 2004), and *Mycosphaerella graminicola* (Fuckel) Schröter, responsible of septoria tritici blotch on wheat (Bannon & Cooke, 1998).

Once windborne or splashborne particles are trapped, they number has to be assessed. Usually, this assessment relies on a visual (and also fastidious) counting under an optical microscope (Morris, 1995). Particle identification remains widely based on the expertise of an operator and requires intensive training (Lacey & West, 2006). Even if in some situations a sub-sampling can be performed, this methodology is time-consuming for the operator. With modern technology, alternative approaches based for instance on computer vision abilities can be considered. Fitt *et al.* (1982) and Saint-Jean *et al.* (2005) used image processing techniques to assess spore number in the case of experiments conducted under laboratory and controlled conditions. Assessing bioaerosols quantity by means of image processing under field conditions is more challenging, because of the need to face low concentrations and pollution by other particles.

In this paper, the particles of interest are pycnidiospores of *M. graminicola*. This form of fungal spore, initially located within an internal host leaf structure called pycnidium, is released within a mucilage on the surface of the infected leaf when atmospheric relative humidity is high. Under wet conditions, the mucilage dissolves to release a suspension of spores in a thin water film on the host leaf surface (Fitt *et al.*, 1989). When a raindrop falls on this suspension, splash droplets are generated which allows to carry spores at short distances of few tens of centimeters on average (Gregory *et al.*, 1959), in order to infect new host tissues. Pycnidiospores of *M. graminicola* have a very specific filiform shape, gradually tapered from an obtuse base to an acute apex and its infra-millimeter size of $30\text{--}80\text{ }\mu\text{m} \times 1.5\text{--}2\text{ }\mu\text{m}$ (Sivanesan, 1990) requires the use of microscope. Using the example of these pycnidiospores, we report here a methodology that enables the automated assessment of the number of infra-millimeter splash-dispersed particles sampled in natural conditions under different environmental conditions provided that these particles have a discriminant shape or color.

The objectives were to (i) implement a method to count splash-dispersed spores, minimizing sample handling and time consumption, and (ii) compare the influence of different environmental parameters (height within the host canopy, host diversity, inoculum pressure and rainfall characteristics) in modulation of flux of *M. graminicola* pycnidiospores during natural STB epidemics over two host growing seasons.

2 Material and methods

2.1 Collection of rain-splashed particles

Rain-splashed pycnidiospores were collected during rainfall events in 2009 and 2010, in experimental wheat fields located at the INRA-Grignon Research Station, located at approximately 30 km West of Paris, France. Eight rainfall periods were investigated: five in late spring 2009 and three in late spring 2010. A meteorological data logger (Campbell Scientific Ltd., Loughborough, UK) located near the experimental plots recorded incident rainfall depth very precisely. Indeed, in addition to the usual hourly rainfall depth, each moment at which a movement of the tipping bucket mechanism of the pluviometer occurred (corresponding to 0.2 mm of rain) was also recorded. This allowed to compute relevant rainfall intensity. Mean diameters of raindrops (D_m , only available for 2009) were measured from rain radar detection (HYDRIX[®] device located at Trappes, with a radius range of 60 km) supplied by Novimet (78140 Vélizy Villacoublay, France). An experimental design aiming at comparing pure stands and cultivar mixtures described in Gigot *et al.* (2013) (chapter II) was used in the present study. The two wheat cultivars used were cv. Maxwell and cv. Sogood. Cv. Maxwell was among the most resistant wheat cultivars commercially available (score 7 on a 1–9 scale, with 1 corresponding to highly susceptible and 9 fully resistant), and cv. Sogood was very susceptible (score 4) to *M. graminicola* (Anonymous, 2009). For convenience, we refer to cv. Maxwell

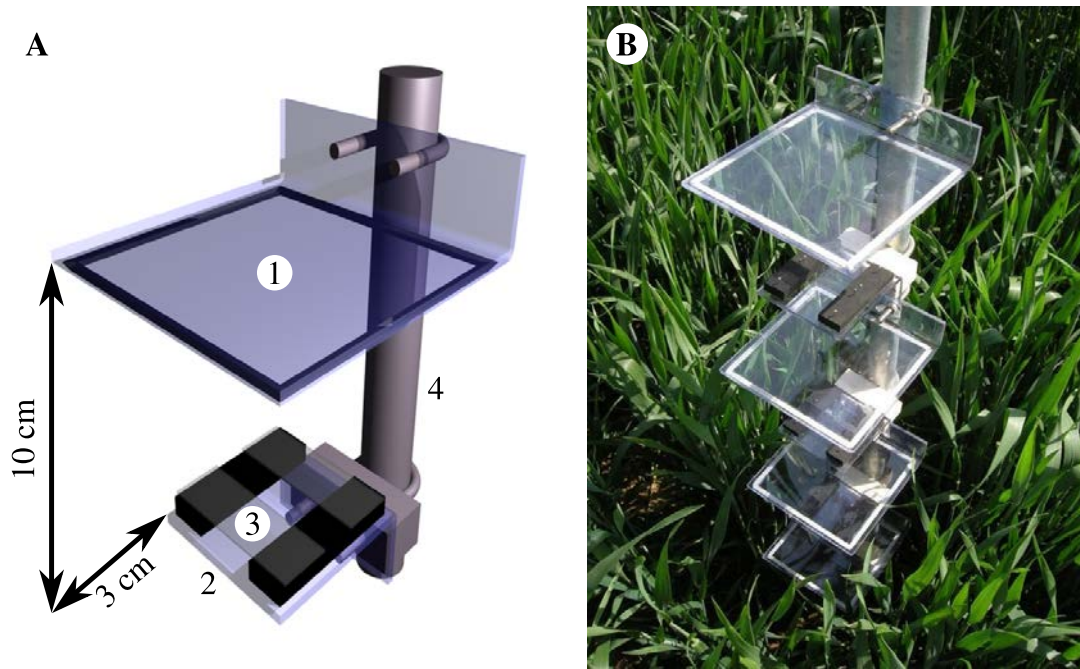


Figure III.1: Sampling setup used to trap pycnidiospores during rainfall events. (A) A sheltered sampler unit, with (1) a roof to avoid spore wash-off due to incident rain, (2) slide support, (3) microscope slide and (4) sampler support. (B) Four sheltered sampler unit located at different heights above the soil surface (20, 40, 60 and 80 cm) within wheat canopy.

as being the resistant cultivar, and cv. Sogood as being the susceptible cultivar. Two kinds of crop were considered here: (i) a mixture composed of the two previously mentioned cultivars in a 1/3 susceptible/resistant ratio and (ii), the susceptible pure stand.

Sampling setups were placed within the canopy, instead of a plant previously removed. Four of them, two per crop, were used in 2009 and in 2010. A trapping device consisted of a tube support on which four sampler units (Fig. III.1) — each one containing two microscope slides (75×25 mm) to collect splashed spores — were fixed at different heights above the soil surface. Thus, sampling slides were located at 20, 40, 60 and 80 cm above the soil. In order to collect mostly splash droplets and not incident raindrops, a 10-by-10-cm roof was mounted at 10 cm above the location of the slides.

Just before a rainfall event, slides were laid on the four sampler units. After the dispersal event when the splashed droplets had dried, slides were removed and prepared if not immediately examined. The pycnidiospores collected on slides were stained with cotton blue in lactophenol and large cover slips (60×24 mm) were laid on them. This solution allowed to avoid germination of spores during the storage period.

2.2 Automated picture taking of the samples

For each microscope slide, about 10 cm^2 within the zone delimited by the cover slip were totally photographed at a magnification of $\times 100$ by using an optical microscope with an automated stage, combined with a digital camera. Although the automation of the picture taking was achieved by the use of the dedicated Power Mosaic software (Leica Microsystems, Wetzlar, Germany), it was necessary to check the autofocus realized by the system. For a sampling slide, the whole procedure — of a duration of twenty minutes — allowed to take about 1600 pictures, with a definition of 1376×1024 pixels each one. This very important resolution of about $1.5 \times 10^4 \text{ pixels.cm}^{-1}$ was needed given the small size of particles of interest.

2.3 Automated and visual particle counting

To analyse all the pictures acquired, we used the software ImageJ, dedicated to image analysis (Rasband, 2011; Abramoff *et al.*, 2004), with an updated script from Saint-Jean *et al.* (2005) and specially designed to our needs. At each iteration of the analysis process, a picture and its nearest neighbouring pictures were loaded by the script to take into account all pycnidiospores, included the ones on the edges of the central picture. In order to remove the dark background due to the blue cotton dye while keeping spores, we used the « rolling ball » algorithm from Sternberg (1983), modified into a « sliding paraboloid » algorithm. This algorithm provided pictures with improved visibility of pycnidiospores (but also dusts and other irrelevant particles). The software assessed automatically the shape and the area of each spot. Then, dusts and irrelevant particles were excluded using specific parameters in order to keep only pycnidiospores (Fig. III.2). These parameters were previously determined with a sub-sample of pictures for which the number of spores (around 200 in total) was visually assessed.

We can report that although it exists two kinds of pycnidiospores which are equally able to infect wheat (Shipton *et al.*, 1971), only macro-pycnidiospores of a size of $30\text{--}100 \times 1\text{--}3 \mu\text{m}$ (Eyal *et al.*, 1987; Sivanesan, 1990) were considered for the automated or visual counting.

2.4 Data analysis

Given high variability in data sets, which is inherent to this kind of study (Paul *et al.*, 2004), spore flux density (SFD), IRI and D_m were log-transformed to stabilize variances and obtain linear scales for relationships between variables. Similarly to Paul *et al.* (2004), we used a linear mixed model approach to determine effects of a rainfall characteristic — logs of incident rain intensity (IRI) or mean diameter of incident raindrops (D_m) —, height of samplers, crop (cultivar mixture or pure stand), and inoculum pressure. Height, crop, and inoculum pressure were considered as fixed effects in the model, and year and plot were considered as random effects. Analyses were done using package nlme

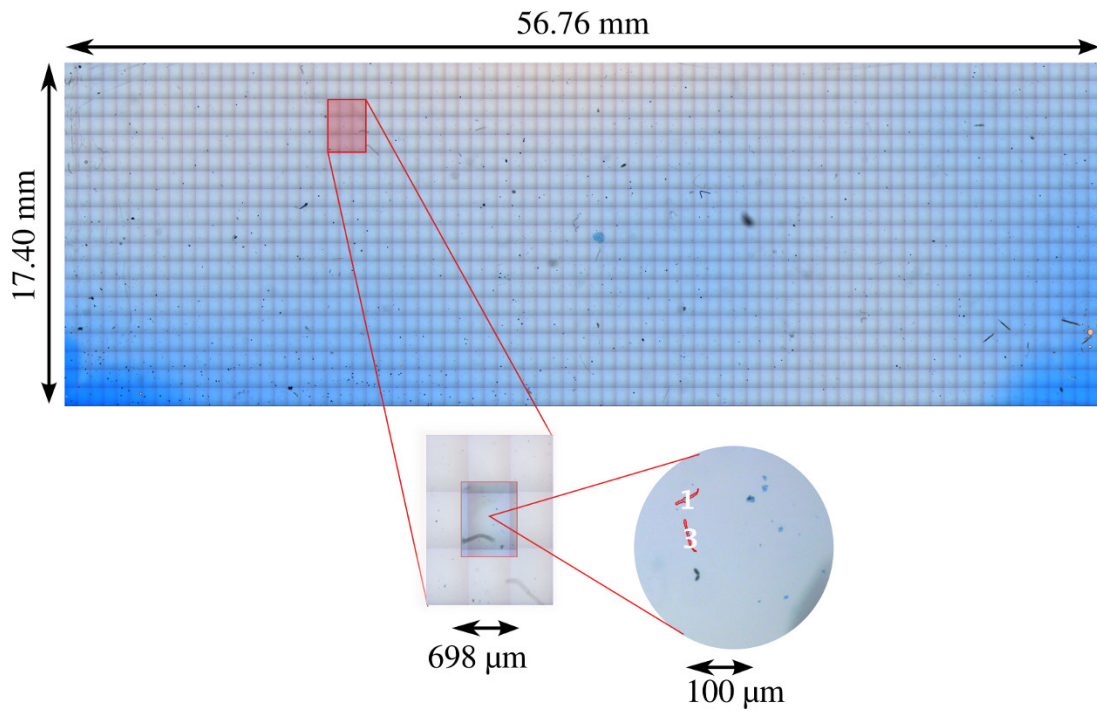


Figure III.2: Example of pictures analysed using automated visual particle counting. (A) Mosaic of about 1600 pictures of a single sample microscope slide. The definition of each picture is 1376×1024 pixels. (B) At each iteration of the analysis process, a picture and its nearest neighboring pictures are loaded. (C) Focus on a part of a picture where dusts and two pycnidiospores can be seen.

Table III.1: *Summary of characteristics of rainfall events sampled in two years (2009 and 2010).*

Year	Day of year	Rain depth (mm)	Rain duration (min)	Rain intensity (mm.h ⁻¹)	Mean diameter of raindrops (mm)
2009	142–146	10.1	200	3.0	1.31
2009	149–159	19.8	380	3.1	1.34
2009	160–163	19.8	310	3.8	1.32
2009	163–168	14.8	380	2.3	1.50
2009	168–190	25.3	225	6.7	1.96
2010	145–148	10.2	155	3.9	-
2010	151–154	3.0	75	2.4	-
2010	176–180	7.2	100	4.3	-

(Pineiro *et al.*, 2013) of statistical R software (R Development Core Team, 2010). The relatively low amount of rain periods sampled did not allow to test interaction between all these parameters

3 Results

3.1 Incident rain

Over the two years studied, 2009 had the highest investigated precipitations, with rain events of longer duration than in 2010 (Tab. III.1). Sampled rain depths ranged from 10.1 to 25.3 mm in 2009, and 3.0 to 10.2 mm in 2010. Duration of rainfall ranged from 3h20 to 6h20 in 2009, and from 1h15 to 2h35 in 2010. Average rainfall intensity ranged from 2.3 to 6.7 mm.h⁻¹ in 2009, and from 2.4 to 4.3 mm.h⁻¹ in 2010. D_m , only available for 2009, ranged from 1.31 to 1.96 mm (Tab. III.1).

3.2 Splash dispersal

Based on an automated counting, direct number of pycnidiospores trapped on slides within samplers during rainfall events were obtained for both crops and at all heights. Total pycnidiospores on the slides per rain episode, called pycnidiospore density, averaged across the four heights, ranged from 10.8 to 412.1 cm⁻² in 2009, and from 42.8 to 106.1 cm⁻² in 2010 (Fig. III.3). Sometimes, spots of numerous pycnidiospores were observed on slides. In general, peaks in pycnidiospore density coincided with peaks in IRI. SFD per rainfall period, averaged over the four heights, ranged from 3.2 to 109.2 cm⁻².h⁻¹ in 2009, and 16.6 to 81.3 cm⁻².h⁻¹ in 2010.

Both height above the soil and inoculum pressure had significant effects on log(SFD) for models 1 and 2 (Tab. III.2). No significant effect was detected for the crop modality. Nevertheless, we observed a slightly lower amount of

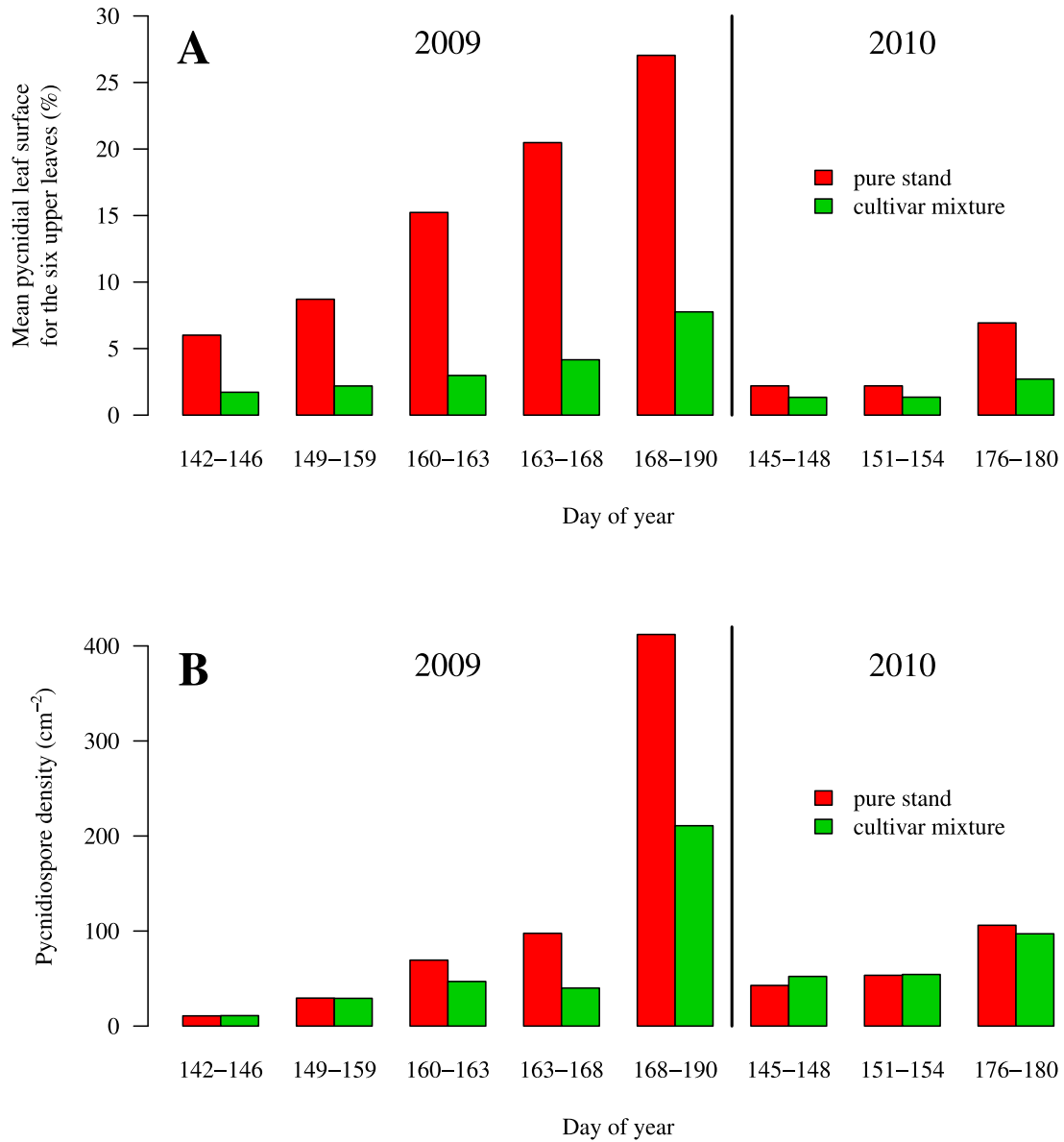


Figure III.3: Summary of (A) inoculum pressure (assessed as the mean proportion of pycnidial leaf surface on the six upper leaf levels) and (B) density of *Mycosphaerella graminicola* pycnidiospores, for sampled rain episodes in two years (2009 and 2010). Inoculum pressure is assessed as the mean proportion of pycnidial leaf surface on the six upper leaf levels. Data are averaged across all four sampler heights (0, 20, 40 and 80 cm) and four replications.

Table III.2: Probability values (significance levels) from analysis of covariance used to determine the effects of crop, sampler height, and log of incident rain intensity (IRI) or log of mean incident raindrop diameter (D_m) on log of spore flux density (SFD) of *Mycosphaerella graminicola*.

Covariable ^b	Dependent variable ^c	
	log(SFD)	
	upon log(IRI)	upon log(D_m)
log(IRI)	< 0.001	-
log(D_m)	-	< 0.001
Height	0.033	< 0.001
Crop	0.899	0.146
Inoculum	< 0.001	< 0.001

^a Probability values based on F tests.

^b IRI = mm.h⁻¹; D_m = mm; Height = height of pycnidiospore sampler within wheat canopy and above the soil surface (20, 40, 60, 80 cm); Crop = either a susceptible pure stand or a cultivar mixture with a 1/3 susceptible/resistant ratio; Inoculum = mean proportion of pycnidial leaf surface on the six upper leaf levels.

^c SFD = cm⁻².h⁻¹.

Table III.3: Estimated intercepts and slopes ($\pm$ standard error) for relationships between log of incident rain intensity (IRI) and log of pycnidiospore flux density (SFD) of *Mycosphaerella graminicola*, and log of mean raindrop diameter (D_m) and log of spore flux density (SFD).

Height (cm)	Intercept	
	log(SFD)/log(IRI)	log(SFD)/log(D_m)
80	-0.274 ($\pm$ 0.146)	-6.663 ($\pm$ 0.105)
60	-0.143 ($\pm$ 0.126)	-6.330 ($\pm$ 0.111)
40	-0.101 ($\pm$ 0.119)	-6.192 ($\pm$ 0.087)
20	-0.059 ($\pm$ 0.123)	-6.168 ($\pm$ 0.096)
slope	1.950 ($\pm$ 0.288)	9.603 ($\pm$ 0.684)

pycnidiospores at the upper height (80 cm) than at the lower ones (20, 40 and 60 cm) (Fig. III.4 and Fig. III.5).

In our analyses, log(SFD) was found to be significantly related to log(IRI) and log(D_m) (Tab. III.2). Models for SFD can be expressed as: $\log(\text{SFD}) = a_{1,ij} + b_1 \cdot \log(\text{IRI})$ (equation 1) and $\log(\text{SFD}) = a_{2,ij} + b_2 \cdot \log(D_m)$ (equation 2). b_1 and b_2 are the common slopes for crops and heights, and $a_{1,ij}$ and $a_{2,ij}$ are the intercepts for the four heights ($i = 20, 40, 60$ and 80 cm) and the two crops (j refers to the pure stand or the cultivar mixture). The slope ($\pm$ standard error) in equation 1 was assessed as 1.950 ± 0.288 and the slope in equation 2 as 9.603 ± 0.684 . Estimated intercepts are given in Table III.3. Similar SFD values for heights of 20, 40 and 60 cm are indicated by very similar intercept values.

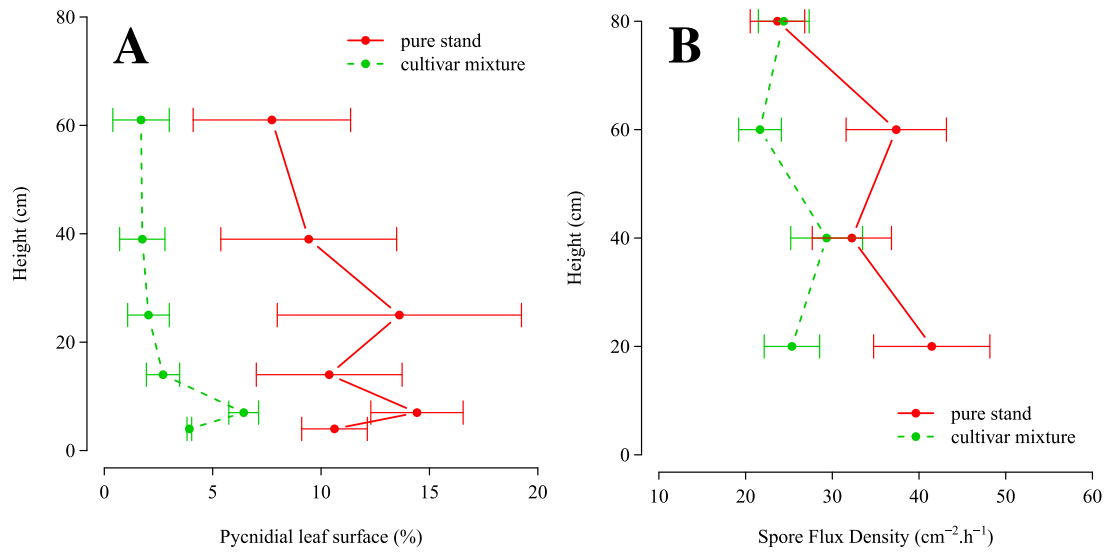


Figure III.4: (A) Pycnidial leaf surface when studied rainfall occurred, and (B) pycnidiospore flux density of *Mycosphaerella graminicola* in relation to height above the soil for two crops. Sheltered splashed spores samplers were located at 20, 40, 60 and 80 cm. For rainfall events studied (during post heading period), mean height of the six upper leaves were 4, 7, 14, 25, 39 and 61 cm. Each point is the mean across all rainfall events and four replications. Horizontal bars are standard errors.

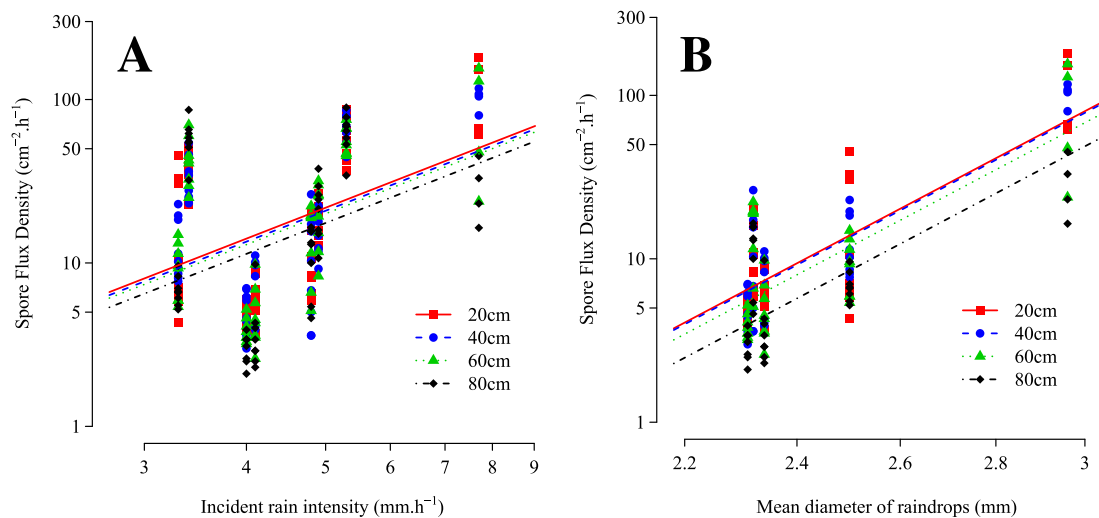


Figure III.5: Pycnidiospore flux density of *Mycosphaerella graminicola* in relation to rain intensity (A) and mean diameter of raindrops (B) for four sample heights. Each point is the mean of four replications for each crop, height, and rain episode. Lines are based on significant terms of a linear mixed model covariance analysis (Tab. III.2).

4 Discussion

There is very few documented reports on quantitative relationship between rainfall events and dispersal of fungal pathogen agents under outdoor conditions. At our knowledge, it is the first study of this kind regarding *M. graminicola*. Using the same statistical analysis approach as Paul *et al.* (2004), based on a covariate analysis of linear mixed models, we were able to demonstrate a consistent relationship between rainfall characteristics, inoculum pressure, height within the canopy and corresponding dissemination of *M. graminicola* pycnidiospores.

Pycnidiospore flux density (SFD) was positively correlated with incident rain intensity (IRI), as well as with mean diameter of incident raindrops (D_m). This result is not surprising. Firstly, we know that it exists a strong relationship between mass, diameter, and kinetic energy of drops (Uijlenhoet & Stricker, 1999; Testud *et al.*, 2001), and incident raindrops must have sufficient kinetic energy so that splash droplets are produced, and spores dispersed (Madden, 1997). When rainfall intensity increases, the mean diameter of raindrops also increases (Ulbrich, 1983; Madden, 1992, 1997). Consequently, more splash droplets are generated when impacting an inoculum-bearing surface and more spores are dispersed (Fitt *et al.*, 1989; Yang *et al.*, 1991b). The positive relationships between SFD and IRI, and SFD and D_m on *M. graminicola* are consistent with studies on other splash-dispersed pathogenic fungi, such as *Colletotrichum acutatum* (Madden *et al.*, 1996) and *Gibberella zeae* (Paul *et al.*, 2004).

Sampling height had a significant effect on SFD. Pycnidiospores were collected at 80 cm, but at a lower extent than at 20, 40 and 60 cm, which is consistent with the vertical distribution of inoculum pressure (assessed using proportions of pycnidial leaf areas) when rainfall events occurred. Sporulating lesions present on the very upper leaf levels during studied periods were the youngest ones and so the most functional ones in epidemiological terms. We mean they could release more pycnidiospores than lesions present on lower leaves that were partially empty due to previous dispersal events. So all samplers within the canopy (at 20, 40, and 60 cm) could trap spores coming from upper leaves. However, to reach samplers located at 80 cm (*i.e.* around 20 cm above the canopy), droplets containing spores on upper leaves had to have sufficient initial kinetic energy, which is possible but not the general rule (Walklate *et al.*, 1989). That could explain why SFD was globally lower at 80 cm than at other heights sampled.

We identified a strong positive correlation between inoculum pressure and SFD. Unfortunately, we could not observe evolution of infected leaf surfaces in relation to the SFD measured. Indeed, visible symptoms of septoria tritici blotch only appear after one latent period of 270–500 degree-days (Lovell *et al.*, 2004a), *i.e.* more or less three weeks during late spring, and as leaves in outdoor conditions evolved a lot during all this time (senescence, impacts of other diseases,...), it was too difficult to link symptoms of interest with flux of pycnidiospores occurred one latent before. Perhaps due to high variability and

limited quantity of data analyzed until now, no significant correlation between SFD and crop was showed. According to Fig. III.4, there was however a trend to observe a lower SFD within the cultivar than in the susceptible pure stand. This is consistent with the fact that, for one rainfall event, the difference is expected to be rather low between the two crops, but it should increase more and more across successive dispersal events (chapter IV).

This study was the opportunity to implement an original methodology based on automated counting of pycnidiospores present on pictures of samples from the field. Except at the beginning of the experiment, when the sampler was set up in place of a plant, our approach is not destructive and minimizes sample handling. In addition, it makes it possible to monitor the same location over time. With automated counting, a better reproducibility of results — in comparison with manual counting — is possible, and only coding particle identification procedures is really time consuming. This methodology was found to be relatively efficient under both diluted and polluted (dusts, pollen grains, . . .) situations. It is also easily generalisable to other particles sampling approaches, such as with biotic particles trapped using Burkard samplers.

Quantification of the relative weight of splash- and rain-dispersed inoculum of septoria tritici blotch over the year is a challenge that epidemiologists and agronomists have to solve in order to improve knowledge and control methods against this fungal pathogen. Indeed, both wind and rain are decisive dispersal agents in the case of this disease. In addition to pycnidiospores — resulting from asexual multiplication —, wind-dispersed ascospores are produced through sexual reproduction all over the host growing season, but mainly during autumn and winter Suffert *et al.* (2011). Using a selective and non-destructive methodology (such as the one described in this paper) to count pycnidiospores, in conjunction with another more usual approach (such as culture on selective medium (*e.g.* Paul *et al.*, 2004), or quantitative PCR) to assess the number of all spores should allow to carry out investigation on this issue.

5 Acknowledgements

The authors are grateful to Matthieu Moles for invaluable technical assistance. The experimental work received financial support from the French Ministry of Agriculture (contract CTPS C-03-2010) and from Fondation pour la Recherche sur la Biodiversité-LU (“Les Champs de Biodiversité”). Managed by the ANRT (Association Nationale de la Recherche Technique), the PhD grant of Christophe Gigot was cofinanced by the applied research institute ARVALIS – Institut du Végétal and the French Ministry of Research and Education.

IV | Analysing the effects of wheat cultivar mixtures on a splash-dispersed fungal disease by modelling pathogen dispersal in a 3D heterogeneous canopy

This chapter is based on an article project by Christophe Gigot, Laurent Huber, Claude de Vallavieille-Pope and Sébastien Saint-Jean.

Contents

1	Introduction	73
2	Model description	75
2.1	Spatial location patterns of different cultivars within a canopy	75
2.2	Pathway computation of dispersal units within the canopy	77
2.3	The proportion of leaf surface impacted by dispersal units	77
2.4	Assessment of disease severity progression	79
3	Results	80
3.1	Cultivar proportions and difference between resistance levels	83
3.2	Spatial pattern of resistance within the canopy	87
4	Discussion	88
5	Acknowledgements	94

EN Abstract

New requirements in plant disease management led to a renewed interest in strategies consisting in increasing functional host diversity. Host diversification at the local intra-field level seems to be relevant for fungal pathogens splash-dispersed at short distances. We propose to focus on physical mechanisms involved in splash dispersal of an unspecialised (race-nonspecific) pathogen within heterogeneous canopy of cultivar mixtures. For this purpose, we developed a mechanistic and stochastic model taking into account splash droplet dispersal and host quantitative resistance in a three-dimensional canopy. We investigated different spatial organizations, proportions and resistance levels of the cultivars of two-component mixtures. Increasing both the difference between resistance levels and the proportion of the most resistant cultivar resulted generally in a higher expected protective effect against the pathogen. Nevertheless, this rule was not observed for very high proportions of the most resistant cultivar, when its resistance level was relatively low. Our results illustrate that (i) mixture efficiency against a splash-dispersed fungus may evolve differently across the successive pathogen generations, and (ii) optimal cultivar proportions can be established depending on differences between resistance levels. Proportions and resistance levels of mixture components have therefore to be carefully considered when designing intra-field diversity to control an unspecialised splash-dispersed pathogen.

Keywords: intra-field diversity, heterogeneous canopy, cultivar mixture, splash-dispersed pathogen, mechanistic modelling, wheat.

FR Résumé

Les nouvelles exigences en terme de gestion des maladies des plantes ont conduit à un regain d'intérêt pour les stratégies visant à augmenter la diversité fonctionnelle au sein des cultures. La diversification des hôtes à l'échelle intra-parcellaire semble être la plus pertinente pour les pathogènes fongiques dispersés sur de courtes distances. Nous proposons ici de nous focaliser sur les mécanismes physiques impliqués dans la dispersion par éclaboussement d'un pathogène non spécialisé (ou non race-spécifique) au sein du couvert hétérogène d'associations variétales. À cette fin, nous avons développé un modèle mécaniste et stochastique prenant en compte la dispersion des gouttelettes d'éclaboussement et une résistance hôte quantitative au sein d'un couvert décrit en trois dimensions. Nous avons testé plusieurs organisations spatiales, proportions et niveaux de résistance des composants d'associations bi-variétales. En augmentant à la fois la différence entre les niveaux de résistance et la proportion de la plus résistante des variétés, l'effet protecteur attendu contre le pathogène était généralement plus important. Toutefois, ce principe n'a pas été observé pour de très fortes proportions de la variété la plus résistante, lorsque son niveau de résistance était relativement peu élevé. Nos résultats montrent que (i) l'efficacité des associations contre un champignon à dispersion pluviale peut évoluer différemment au cours des générations successives du pathogène, et que (ii) les proportions optimales des variétés peuvent être ajustées en fonction des différences entre niveaux de résistance. Les proportions et niveaux de résistance des variétés doivent donc être soigneusement évalués lors de la conception d'une association variétale destinée à lutter contre un pathogène non spécialisé à dispersion pluviale.

Mots clés : Diversité intra-parcellaire, couvert hétérogène, association de variétés, pathogène à dispersion par éclaboussement, modélisation mécaniste, blé

1 Introduction

In industrialized agrosystems, the deployment of genetically homogeneous crops at large scales, from field to landscape, is promoted with the aim of simplifying crop and harvest management. Nevertheless in such conditions, many factors favouring stability in host–parasite interactions have been lost, leading to imbalance situations (*e.g.* Brown & Tellier, 2011). Although the management of functional diversity is not trivial (McCann, 2000), the use of such diversity could allow to slow down the spread of epidemics (Wolfe, 1985; Mundt, 2002; Gigot *et al.*, 2013). Moreover in our changing climate conditions, expected to impact plant diseases (Fitt *et al.*, 2011; Pautasso *et al.*, 2012), intra-field host diversity could provide the ability for agroecosystems to buffer disturbances, through phenomena such as resilience or resistance. Mixing cultivars with complementary resistance genes to foliar diseases could be a way to promote durable resistance, which was defined by Johnson (1979) as “resistance remaining effective in a cultivar for a long period of time during its widespread cultivation”.

Disease management can be regarded at different spatial scales depending on the pathosystem considered. There is an interest for control strategies at the landscape scale against pathogens that disperse over long distances, such as for wheat rusts (*e.g.* Papaïx *et al.*, 2011). However for other pathogens, which spread mainly over short distances in their epidemiological stage — as for epidemics of septoria tritici blotch on wheat —, a landscape management seems to be of limited efficiency because of steep dispersal gradients (Garrett & Mundt, 1999). In such cases, disease management strategies at the smaller scale of the intra-field, through the use of cultivar or species mixtures, appear to be worth testing.

To investigate these notions of scales in connection with the spreading characteristics of crop diseases, different modelling approaches have been used. Recent modellings of host resistance management have been proposed taking into account host–pathogen interactions at the landscape scale (Papaïx *et al.*, 2011; Fabre *et al.*, 2012). However, most models dealing with host resistance diversity consider the intra-field scale. For example, the EPIMUL simulator model (Kampmeijer & Zadoks, 1977) was widely used and modified to address various topics, such as the effects of the spatial arrangement of resistant hosts (Mundt *et al.*, 1986; Mundt & Leonard, 1986a), lesion growth rates (Lannou *et al.*, 1994) and induced resistance (Lannou *et al.*, 1995) on the progress of epidemics within mixtures of susceptible and resistant host plants. Other simulation approaches were developed to investigate the effects of different biological and physical factors on the efficacy of spatially heterogeneous host mixtures in reducing fungal disease severity. There were notably the discrete and differential equation approaches from Jeger *et al.* (1981a), a discrete model of the nearest neighbour type (Goleniewski & Newton, 1994), purely stochastic simulations (Xu & Ridout, 2000), and a spatiotemporal/integro-difference equation model (Skelsey *et al.*, 2005). A multi-scale model integrating three organizational scales of host plant population (*i.e.* sites, leaves and plants) was also implemented to study the relative influence of auto-deposition, allo-leaf-deposition and allo-plant-

deposition of inoculum on disease progression (Willoquet & Savary, 2004).

Dispersal of fungal plant pathogens by rain-splash droplets is the second most important dispersal mechanism, after wind, for above-ground pathogens (Madden, 1992). Many modelling approaches have been proposed to deal with understanding or forecasting the epidemic progression of rain-borne plant diseases. Basically, quantitative models of plant pathogen dispersal are either empirical or physical ones (McCartney & Fitt, 1985; Fitt & McCartney, 1986a). Empirical models are based on mathematical or statistical relations from experimental data, but are not designed to put forward physical processes underlying spore dispersal. Physical models, taking into account the laws of physics, are more interpretable and offer more accurate insights into the mechanisms of spore dispersal and deposition. Such models have been proposed to describe splash dispersal using different ways. Most of them make analogies between spore dispersal between different plants in a homogeneous field. For example, Yang *et al.* (1991a) proposed a model with a diffusion equation to estimate parameters describing the overall process of spore dispersal in space and time. Then, another one-dimensional model, from Pielaat & Van Den Bosch (1998), directly took the splash dispersal of pathogen particles to assess disease progression. With their numerical analysis, they showed that the diffusion approximation only appears to be valid when time tends to infinity and when no spores are removed from the process, *e.g.* when spores are trapped under a leaf or on the ground (Yang *et al.*, 1990). Anyway, most of the models showed the importance of canopy characteristics, such as porosity and homogeneity. Being dispersed at short distances, the distances travelled by spores varied from 0 to 20 cm, but most of them travelled in the range of 2–7 cm (Yang *et al.*, 1991b), physical characteristics require focusing on a spatial scale of few centimetres, *i.e.* the plant organ scale.

To unravel the influence of dispersal processes of a splash-dispersed pathogen on the host mixture efficiency in reducing epidemics, we extended an existing mechanistic model previously dealing with dispersal of rain-splash droplets within a virtual scene (Saint-Jean *et al.*, 2004). Three-dimensional wheat-like mock-ups — with spatially explicit description and identification of plant organs (*i.e.* stems, leaves and ears) — were generated in order to simulate the heterogeneous canopy of a cultivar mixture, with plants expressing different resistance levels against a splash-dispersed and non-specialised (race-nonspecific) pathogen. Virtual three-dimensional plants have been widely used for light interception computations (*e.g.* Chelle & Andrieu, 1998; Barillot *et al.*, 2011) and begin to be used in case of models investigating disease epidemics (*e.g.* Calonnec *et al.*, 2008; Robert *et al.*, 2008). However, their intrinsic potentialities in pathogen dispersal assessments remain currently underexploited. Basically in our model, the approach consisted in computing the raindrop interceptions with plant organs, and then, the trajectories of splash droplets issued from raindrops and carrying pathogen propagules within the canopy. Host resistance levels were taken into account in order to assess disease severity progression. In the present computer simulation study, the model was used to investigate the influence of

cultivar proportions, of differences between cultivar partial resistances and of the spatial arrangements of plants in reducing the propagation of a non-specialized pathogen within binary host mixtures.

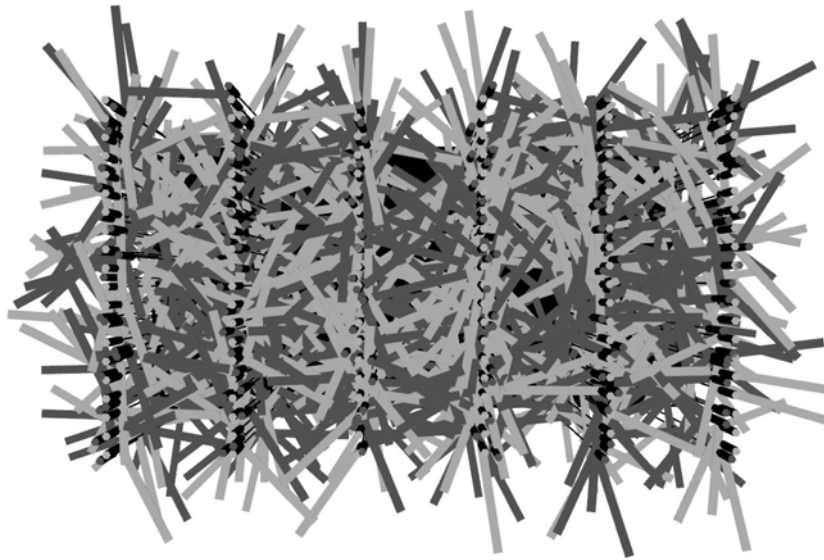
2 Model description

Dynamic disease progression within a host mixture relies on a network of complex processes, including epidemiological and physical ones. In the present model, we focused on the dispersal phase of a splashborne pathogen, considering trajectories of rain-splash droplets between infected and uninfected leaf tissues within a three-dimensional virtual canopy of different cultivar mixtures. We developed a framework consisting of the coupling of different mechanistic and stochastic modelling approaches. The four modelling units we used were: (i) the design of spatial location patterns of at least two cultivars within a complex canopy, (ii) the pathway computation of rain-splash droplets within this canopy, (iii) the assessment of leaf surface proportion impacted by dispersal units (or infectious units, defined hereinafter), and (iv) the assessment of the progression of disease severity potential after one dispersal event. Successive dispersal events were simulated.

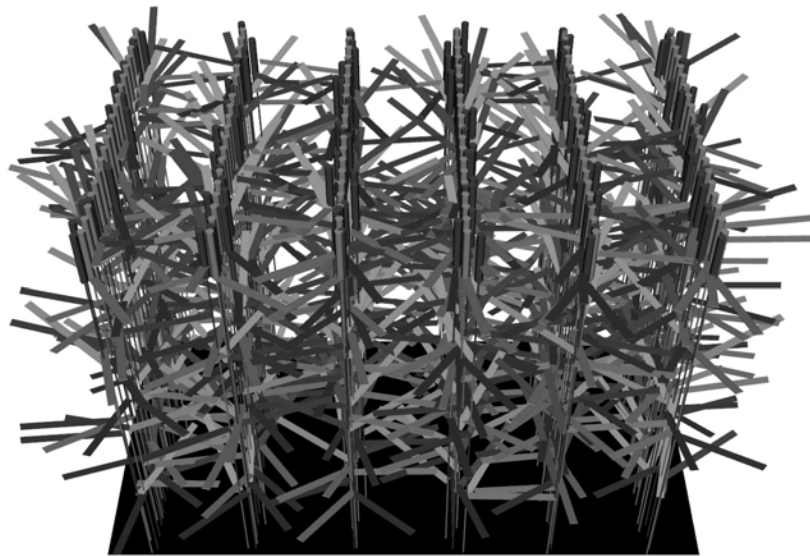
2.1 Spatial location patterns of different cultivars within a canopy

Crop architecture has previously been recognised as being an important factor in epidemics of splashborne pathogens (*e.g.* Lovell *et al.*, 1997). Using elementary polygons, all stems, leaves and ears of wheat-like plants were represented within a three-dimensional virtual plot. For a period of four years (from 2009 to 2012), architectural data were recorded after wheat heading in field experiments located at Grignon (30 km west of Paris, France, Gigot *et al.*, 2013) in order to build a relevant virtual plot. The following mean values obtained with wheat cultivar Sogood were used: a leaf area of 20 cm², a distance between two consecutive leaves of 17 cm, a plant with two stems with ear, four green leaves per stem, a distance of 17.5 cm between two adjacent rows, a density of about 220 plants per m² and a GLAI (Green Leaf Area Index) of about 3.57. Using these data, a virtual plot of 0.545 m² (1.050 m × 0.519 m) containing 6 rows, with 20 plants per row, was generated (Fig IV.1). Infinite canopy was simulated to avoid border effects. Concretely, droplets that reached a virtual plot border were relocated on the opposite side. In the same way, plants from which at least an organ crossed a plot border were duplicated on the opposite side.

Different spatial patterns of two cultivars constituting the virtual plot were finely set up, using a two-dimensional grid to represent the xy-coordinates of each plant.



View from above



View at 45°

Figure IV.1: *3D-view of a virtual plot with two cultivars (in light or dark grey) of wheat-like plants generated for our computer simulations. The ground is symbolised by the black rectangle partially apparent below the virtual plants. The virtual plot ($1.050\text{ m} \times 0.519\text{ m}$) contains 6 rows, with 20 plants per row, but infinite canopy is simulated (see text for more details).*

2.2 Pathway computation of dispersal units within the canopy

When a raindrop impacts a plant organ, droplets can be produced. Number, diameter distribution, and velocity distribution of the droplets are parameterisable depending on the kinetic energy of the raindrop, and the nature of the surface impacted (Yang *et al.*, 1991b). Droplets travel within the canopy until they strike either another plant organ or the soil. If the element impacted by the raindrop is an infected leaf, droplets could carry pathogen propagules up to uninfected leaf tissue. We assume that (i) only leaves can be infected, (ii) each droplet can be assimilated to a dispersal unit (DU), also called infection unit (Rapilly, 1991), and (iii) each DU can be responsible of one disease lesion at the most.

By means of Monte Carlo integration, the physical approach of Saint-Jean *et al.* (2004) makes it possible to compute water transfer by rain-splashing in still air within a spatially explicit described canopy architecture. This approach, validated in controlled experiments using a rain simulator and a scene containing plastic tubes as obstacles, is based on explicit parameterisations of mechanisms such as raindrop interception, production and transport of splash droplets and their interception by canopy elements. The following assumptions were made: (i) rainfall events and splash droplet production were stationary, (ii) raindrops were considered as the only source of splash droplets, (iii) splash droplets were produced only by direct raindrop impacts, and (iv) droplet transport took place under still air conditions. From the general formula of water transfer by splash in a partially obstructed space presented in the paper by Saint-Jean *et al.* (2004), we can assess the flow of droplets — which is directly related to the number of DUs per time unit — produced on leaf j and landing on leaf i per time unit, $n_{d,ji}$ (s^{-1} , Fig. IV.2).

2.3 The proportion of leaf surface impacted by dispersal units

We did not consider the exact impact location of a DU on a leaf. Nevertheless, we have to take into account the fact that disease lesions can overlap — at least partially —, due to close DU impacts. The more DUs impact a leaf, the more overlapping can occur. To address this point, we used a stochastic approach closely akin to the one from Ma *et al.* (2008), who studied splash erosion processes.

For leaf i , we defined the total potential infection rate $\varphi_{T,i}$ (s^{-1}) as being the sum of areas of all disease lesions resulting from all the DUs impacting the leaf divided by the leaf area, per time unit. $\varphi_{T,i}$ can be written as:

$$\varphi_{T,i} = \frac{n_{d,i} \cdot \ell}{\mathcal{A}_i} \quad (\text{IV.1})$$

where $n_{d,i}$ (s^{-1}) is the number of droplets striking leaf i per time unit, $\mathcal{A}_i$ is the

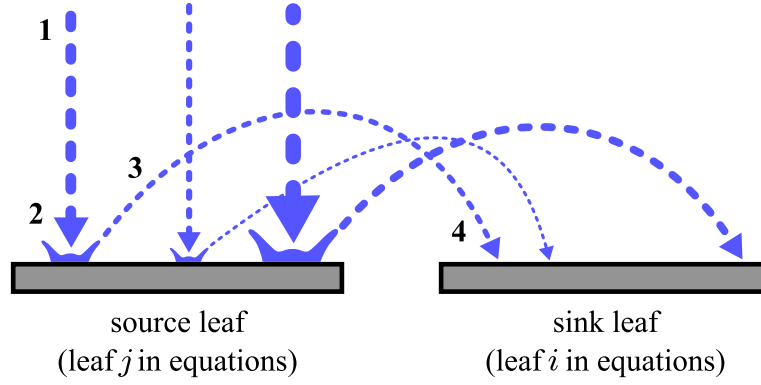


Figure IV.2: Diagram of the directional droplet flow between two leaves (source and sink leaves) during a splash-dispersal event, computed using the modelling approach from [Saint-Jean et al. \(2004\)](#). Size examples of raindrops and droplets are symbolized using different pathway widths. The trajectory of only one droplet per raindrop splash is represented here. For one raindrop, one iteration step is described: (1) random sampling of a raindrop; (2) interception of the raindrop by the source leaf j , followed by production of splash droplets and random sampling of their characteristics; (3) calculation of the curvilinear trajectories of each droplet; (4) interception of droplets by the sink leaf i .

total area of leaf i (m^2), and ℓ (m^2) is the average disease lesion surface fixed at 3.10^{-4} m^2 ([Robert et al., 2008](#)). In this paper, we consider $n_{d,i}$ as being constant during a given rainfall event. We introduced two new variables: the covering infection rate $\varphi_{C,i}$ (s^{-1}) ($0 \leq \varphi_{C,i} \leq 1$) and the overlapping infection rate $\varphi_{O,i}$ (s^{-1}) ($\varphi_{O,i} \geq 0$). The relationship between these variables can be expressed as:

$$\varphi_{T,i} = \varphi_{C,i} + \varphi_{O,i} \quad (\text{IV.2})$$

In order to compute $\varphi_{C,i}$, we used a spatial geometric probability derived from the Poisson function. Suppose k_i ($\text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$) ($1 \leq k_i \leq n_{d,i}$) as being the expected number of disease lesions that have overlapped parts of other disease lesions. The probability density function $p_i(u)$ (s^{-1}) to estimate the probability of occurrence of overlapping can be expressed as:

$$p_i(u) = \sum_{k_i=1}^{n_{d,i} \times u} \frac{\lambda_i^{k_i}(u)}{k_i!} e^{-\lambda_i(u)} \quad (\text{IV.3})$$

where $\lambda_i(u)$, the ratio of the sum of areas of all infected lesions on the leaf i surface, for the leaf unit surface u , is expressed as:

$$\lambda_i(u) = \varphi_{T,i} \cdot u \quad (\text{IV.4})$$

When $n_i \rightarrow +\infty$, the equation IV.3 can be rewritten using the Taylor series as:

$$p_i(u) = e^{-\lambda_i(u)} \left[\lambda_i(u) + \frac{\lambda_i^2(u)}{2!} + \frac{\lambda_i^3(u)}{3!} + \dots + \frac{\lambda_i^{n_{d,i}}(u)}{(n_{d,i} \cdot u)!} \right] = 1 - e^{-\lambda_i(u)} \quad (\text{IV.5})$$

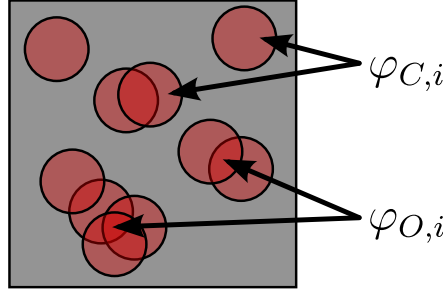


Figure IV.3: Diagram of the relationships between the covering infection rate $\varphi_{C,i}$ (s^{-1}) and the overlapping infection rate $\varphi_{O,i}$ (s^{-1}). The square corresponds to the boundary of a leaf area unit. Each disc represents a potential disease lesion due to the impact of a dispersal unit (DU). Overlapped parts (darker parts) are taken into account only once in computing disease progression. The problem here is similar to the one consisting in assessing the proportion of painted surface when one throws paint drops on a blank surface.

Hence, the proportion of overlapping O_i was expressed as:

$$\begin{aligned} O_i &= \int_0^1 p_i(u) du \\ &= 1 - \frac{1 - e^{-\varphi_{T,i}}}{\varphi_{T,i}} \end{aligned} \quad (IV.6)$$

This equation provided the probability estimation for $\varphi_{O,i}$ and indicated that the overlapping proportion can be enhanced significantly as the number of DUs increases. In addition, $\varphi_{O,i}$ can be obtain using the following equation:

$$\varphi_{O,i} = O_i \cdot \varphi_{T,i} \quad (IV.7)$$

The computation of $\varphi_{C,i}$ can be achieved by combination of equations IV.1, IV.2, IV.6 and IV.7.

$$\begin{aligned} \varphi_{C,i} &= (1 - O_i) \cdot \varphi_{T,i} \\ &= 1 - e^{-(n_{d,i} \cdot \ell) / A_i} \end{aligned} \quad (IV.8)$$

2.4 Assessment of disease severity progression

To compare different modalities for potential disease progression after successive dispersal events, we did the following assumptions: (i) natural senescence of the host and latent period of the pathogen do not differ between host cultivars, and (ii) only one non-specialised pathogen strain is considered.

For leaves i and j , let us define two rates: (1) the reception rate r_i , which takes into account the infection abilities of the pathogen strain on a given host cultivar ($0 \leq r_i \leq 1$), and (2) the emission rate e_j , which corresponds

to the sporulation abilities on a given host cultivar ($0 \leq e_j \leq 1$). For the numerical investigations presented here, the relationship between these two rates was assumed to be: $e_i = r_i$ and $e_i \times r_i = 1 - \mathcal{R}_i$. $\mathcal{R}_i$ is the resistance score of a given host cultivar against a rain-splash dispersed disease on a 0–1 scale (0 being totally susceptible and 1 totally resistant). For a leaf i and a specified dispersal event, we consider the potential increase of infected surface per leaf surface unit $\Delta I_{pot,i}$ (s^{-1}) ($0 \leq \Delta I_{pot,i} \leq 1$) defined as:

$$\Delta I_{pot,i} = r_i \cdot \varphi_{C,i} \cdot (1 - I_{in,i}) \cdot \sum_{j=1}^{n_L} \left[e_j \cdot \frac{\mathcal{A}_j}{\mathcal{A}_i} \cdot n_{d,ji} \cdot I_{in,j} \right] \quad (IV.9)$$

where $I_{in,i}$ and $I_{in,j}$ are the infected surface proportions of leaves i and j , respectively. n_L represents the total number of leaves in the virtual field. $\mathcal{A}_j / \mathcal{A}_i$ is the ratio of the leaf area j on leaf area i . As previously defined, $\varphi_{C,i}$ and $n_{d,ij}$ are the covering infection rate and the number of DUs coming from leaf j and striking leaf i , respectively.

As natural senescence is not taken into account, the infected surface rate expected after a dispersal event, called $I_{out,i}$, depends only on the new rate of infected surface:

$$I_{out,i} = \begin{cases} I_{in,i} + \Delta I_{pot,i} & \text{if } \Delta I_{pot,i} \leq 1 - I_{in,i} \\ 1 & \text{otherwise.} \end{cases} \quad (IV.10)$$

The global evolution of disease potentials for two host cultivars is summarised on Fig. IV.4.

3 Results

We aimed at making comparisons between modalities of two-component cultivar mixtures to rank them according to several criteria. So, in addition to the assumptions stated in the previous section, we chose to simulate a succession of identical rainfall events to assess how different mixtures performed under the same polycyclic situation (see Fig. IV.5 for examples). Raindrop flows were chosen to allow only small representative disease potential progression — up to 5% of the surface of the three upper leaves — between two dispersal events (called “pathogen generation” Fig. IV.5). Thus, precise comparisons between modalities were possible. To allow accurate calculations to be made on droplet fluxes within the whole canopy (a virtual plot of 0.545 m^2), the number of iterations of Monte Carlo integration was set at one million. In this case, relative error reached 5.6%.

The same field architecture was used, and plants differed only by their quantitative resistance level to the splash-dispersed pathogen. To simulate a non-focal disease, only the fourth (by starting from the top) leaf of each main stem of each plant had a proportion of 10% of diseased surface at the outset; no diseased surface at all was present on the other leaves. The reference mixture chosen to analyse our results was a binary equi-proportional mixture

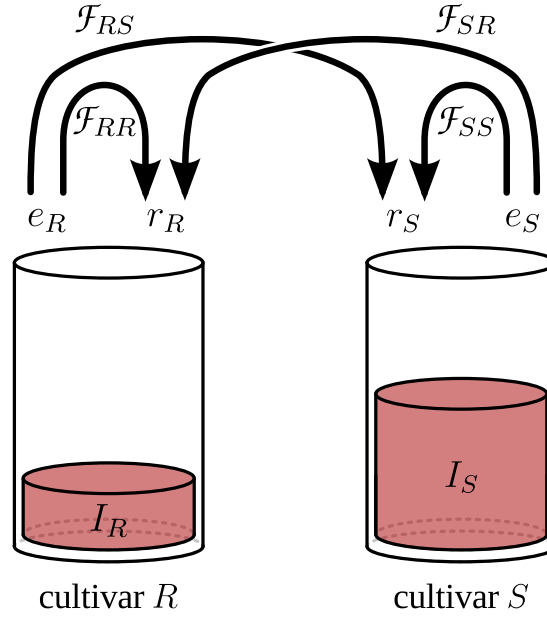


Figure IV.4: Simplified diagram of the allo- and auto-contamination exchanges simulated by the model between two cultivars with quantitative resistances. Here, auto- and allo-contamination flows are to be understood as exchanges within the same cultivar pool or between different cultivar pools, respectively (Mundt, 2009). Each container represents the maximum of disease potential that can be held by a cultivar (R being the most resistant one, and S, the most susceptible one), and the liquid inside is its current disease potential rate. The disease potential rates (I_R and I_S) progress according to several flows ($\mathcal{F}_{RR}$, $\mathcal{F}_{SS}$, $\mathcal{F}_{RS}$ and $\mathcal{F}_{SR}$), together with different reception (r_R , r_S) and emission (e_R , e_S) factors. $\mathcal{F}_{RR}$ and $\mathcal{F}_{SS}$ represent auto-contamination exchanges, and $\mathcal{F}_{RS}$ and $\mathcal{F}_{SR}$, allo-contamination exchanges.

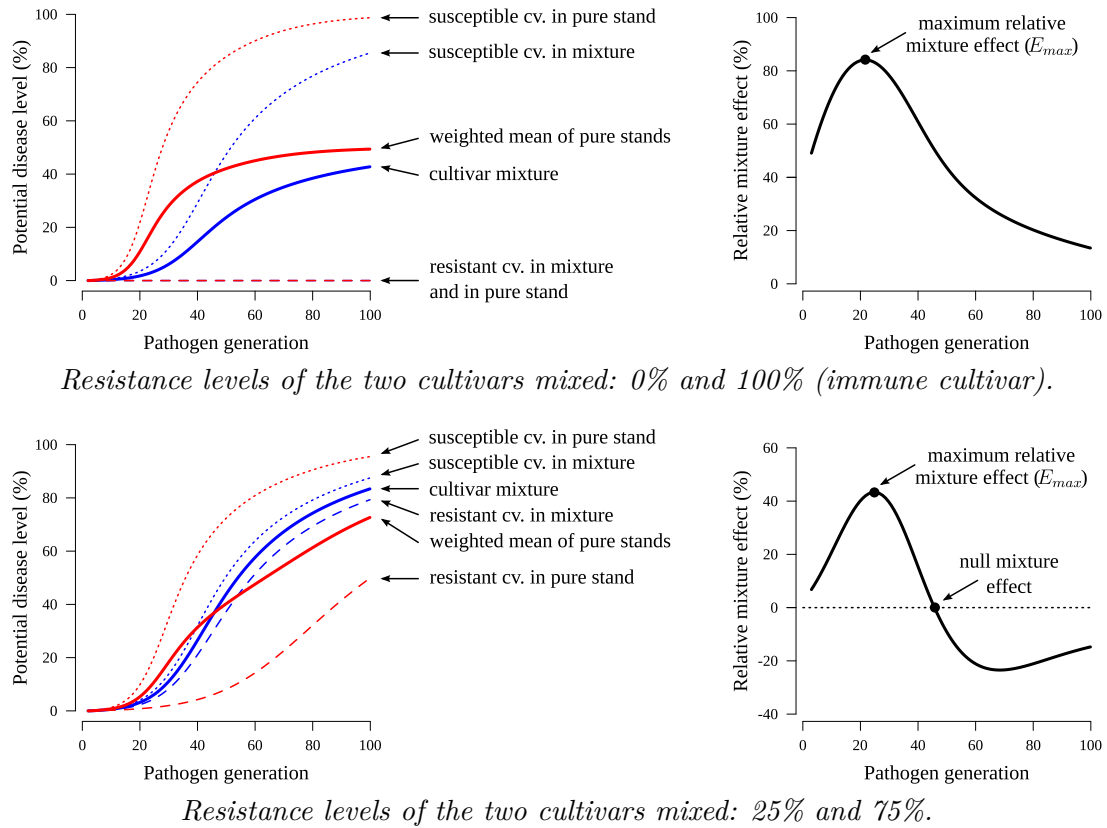


Figure IV.5: Increase of disease potential (on the left) and evolution of the mixture effect (on the right) over the number of pathogen generations (see text for more details) of two equi-proportional binary host mixtures, differing by their resistance levels. When available, the two points of interest to compare mixtures are specified: (i) the maximal mixture effect expected (E_{max}), given the initial conditions, and (ii) the point with a “no mixture effect”, which is the point corresponding to the reversal of the mixture effect from positive to negative.

with rather susceptible and resistant components, for which resistance levels were of 25% and 75%, respectively. This mixture was arranged according to the “chessboard” pattern (see Fig. IV.9). For convenience, we refer to the most resistant component of a binary mixture as being the resistant component (even if it is not immune), and the most susceptible one as being the susceptible component. About the nomenclature, the susceptible/resistant proportions within the mixture and the difference in resistance levels for the two cultivars were specified as $P_{S/R}$ and $\Delta\mathcal{R}_{S:R}$, respectively.

Comparisons between modalities were made through the calculation of the maximal cultivar mixture effects expected over pathogen generations, E_{max} , based on disease severity on the three upper leaves of all the stems, and expressed as:

$$E_{max} = \max \left(\frac{I_{pure} - I_{mix}}{I_{pure}} \right) \quad (\text{IV.11})$$

where I_{mix} is the mean proportion of infected leaf surfaces in the host mixture, and I_{pure} , the mean proportion of infected leaf surfaces for the pure stands weighted according to the component mixture proportions. The maximal E_{max} for a given $P_{S/R}$ or a given $\Delta\mathcal{R}_{S:R}$, depending on what it is specified in the text, is named $E_{max,opt}$. In addition, whenever possible, another factor — called N_{mix} — was also computed. N_{mix} is the ratio between the number of pathogen generations elapsed before reaching the “no mixing effect” point (see Fig. IV.5) for the mixture considered and the reference mixture, respectively. The existence of a “no mixture effect” point, corresponding to the potential moment at which a sign reversal of the mixture effect occurred, is addressed in the discussion section.

3.1 Cultivar proportions and difference between resistance levels

In Fig. IV.6, we see that, for a given $P_{S/R}$, the greater $\Delta\mathcal{R}_{S:R}$, the higher E_{max} . For example in equi-proportion, E_{max} was 61.5% for the $\Delta\mathcal{R}_{S:R}$ of 90% (resistance levels of 5% and 95%) and 2.3% for the $\Delta\mathcal{R}_{S:R}$ of 10% (resistance levels of 45% and 55%). It may be specified that by definition, the mixture effect is null when we deal with a pure stand, this is why E_{max} was null for a $P_{S/R}$ of 0/10 (resistant pure stand) and a $P_{S/R}$ of 10/0 (susceptible pure stand). Globally, whatever the resistance level difference between host cultivars, E_{max} tended to be higher when the proportion of the susceptible component decreased, at least for $P_{S/R}$ ranging from 3/7 to 9/1 (with a relatively high proportion of the susceptible component). For example, for a $\Delta\mathcal{R}_{S:R}$ of 50% (resistance levels of 25% and 75%), E_{max} was 7.5% and 42.7%, for $P_{S/R}$ of 9/1 and 2/8, respectively. In addition for this particular $\Delta\mathcal{R}_{S:R}$, the E_{max} of 42.7% was the maximal one computed (*i.e.* it was the $E_{max,opt}$ for the $\Delta\mathcal{R}_{S:R}$ of 50%), and so, it was not encountered for the $P_{S/R}$ of 1/9, *i.e.* when the $P_{S/R}$ was the most in favour of the resistant component. The optimal $P_{S/R}$, *i.e.* the $P_{S/R}$ for which an $E_{max,opt}$ was detected, depended on the $\Delta\mathcal{R}_{S:R}$ considered (Table IV.1). For example, for the $\Delta\mathcal{R}_{S:R}$ of 90% (resistance levels of 5% and 95%), the $E_{max,opt}$ (89.2%)

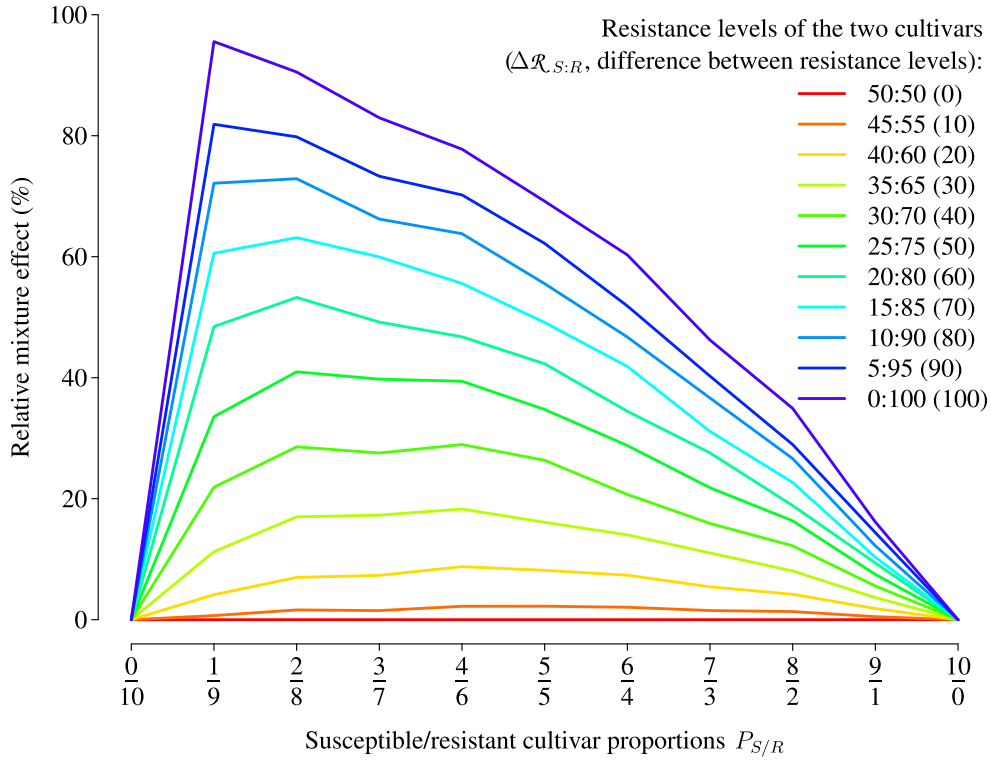


Figure IV.6: Maximal mixture effects expected (E_{max}), depending on the proportion of each host cultivar within a simulated binary mixture. Each curve corresponds to a given difference between resistance levels of the two cultivars (noted $\Delta\mathcal{R}_{S:R}$).

was computed for the $P_{S/R}$ of 1/9, whereas, for the $\Delta\mathcal{R}_{S:R}$ of 30% (resistance levels of 35% and 65%), the $E_{max,opt}$ (18.5%) was encountered for the $P_{S/R}$ of 4/6. Nevertheless, for all cases tested here, the $E_{max,opt}$ was always found for $P_{S/R}$ ranging from 1/9 to 4/6, *i.e.* when there were more resistant plants than susceptible ones within the mixture.

In Fig. IV.7, we focused the analysis on $\Delta\mathcal{R}_{S:R}$. This figure confirms what was previously noticed, namely that E_{max} was higher, for a given $P_{S/R}$, when $\Delta\mathcal{R}_{S:R}$ was high. For all the curves, minimal E_{max} were recorded for $\Delta\mathcal{R}_{S:R}$ near to 0% (resistance levels of 50% and 50%), and maximal E_{max} , when $\Delta\mathcal{R}_{S:R}$ were close to 100% (resistance levels of 0% and 100%). We can point out that for a $\Delta\mathcal{R}_{S:R}$ of 0, the model considered that it was a pure stand situation, so the mixture effect was null. An interesting element that is strikingly noticeable on this figure, is that for $P_{S/R}$ ranging from 9/1 to 4/6, when the proportion of the susceptible component within the binary mixture decreased, E_{max} increased whatever the $\Delta\mathcal{R}_{S:R}$. However, for the $P_{S/R}$ of 1/9 — and the $P_{S/R}$ of 2/8 to a weaker extent — this was not so trivial. The $P_{S/R}$ of 1/9 allowed to maximize E_{max} (*i.e.* to get $E_{max,opt}$) among all the $P_{S/R}$ tested, but only for $\Delta\mathcal{R}_{S:R}$ of

Table IV.1: *Susceptible/resistant cultivar proportions ($P_{S/R}$, on a 1–10 scale) at which the maximal mixture effect expected E_{max} is recorded, depending on difference between quantitative resistance levels of the two cultivars mixed together ($\Delta\mathcal{R}_{S:R}$).*

$P_{S/R}$	$\Delta\mathcal{R}_{S:R}$ (%)	E_{max} (%)
-	0 (50:50)	0.0
4/6	10 (45:55)	2.4
4/6	20 (40:60)	9.1
4/6	30 (35:65)	18.5
2/8	40 (30:70)	29.5
2/8	50 (25:75)	42.7
2/8	60 (20:80)	54.0
2/8	70 (15:85)	64.4
1/9	80 (10:80)	77.6
1/9	90 (5:95)	89.2
1/9	100 (0:100)	99.1

Table IV.2: *Proportion of the maximal mixture effect expected $E_{max,opt}$ for different component proportions ($P_{S/R}$) of a binary cultivar mixture with given resistance levels of 25% and 75%. Among all E_{max} , the maximal one, $E_{max,opt}$ (42.7%), was recorded for a $P_{S/R}$ of 2/8.*

$P_{S/R}$	$E_{max}/E_{max,opt}$ (%)
1/9	82.8
2/8	100.0
3/7	94.3
4/6	92.3
5/5	80.9
6/4	68.6
7/3	51.5
8/2	37.6
9/1	17.6

100% (resistance levels of 0% and 100%) and 90% (resistance levels of 5% and 95%). In the case of the $P_{S/R}$ of 2/8, we observed the maximisation of E_{max} for $\Delta\mathcal{R}_{S:R}$ of 80% (resistance levels of 10% and 90%), 70% (resistance levels of 15% and 85%), 60% (resistance levels of 20% and 80%) and 50% (resistance levels of 25% and 75%). In all the other cases, the $E_{max,opt}$ were recorded for $P_{S/R}$ of 4/6 (Table IV.1). In the case of the $\Delta\mathcal{R}_{S:R}$ of 50% (resistance levels of 25% and 75%) taken as an example (Table IV.2), the E_{max} of 82.8% recorded for the $P_{S/R}$ of 1/9 was very close to one assessed for the equi-proportional mixture ($P_{S/R}$ of 5/5) for which the value was 80.9%.

For all the modalities studied, N_{mix} ranged from 0.85 to 2.36 (Fig. IV.8). This means that the number of successive pathogen generations before reaching the “no mixture effect” point was between 0.85 to 2.36 times what was observed for the reference. The higher the resistant cultivar proportion and the $\Delta\mathcal{R}_{S:R}$,

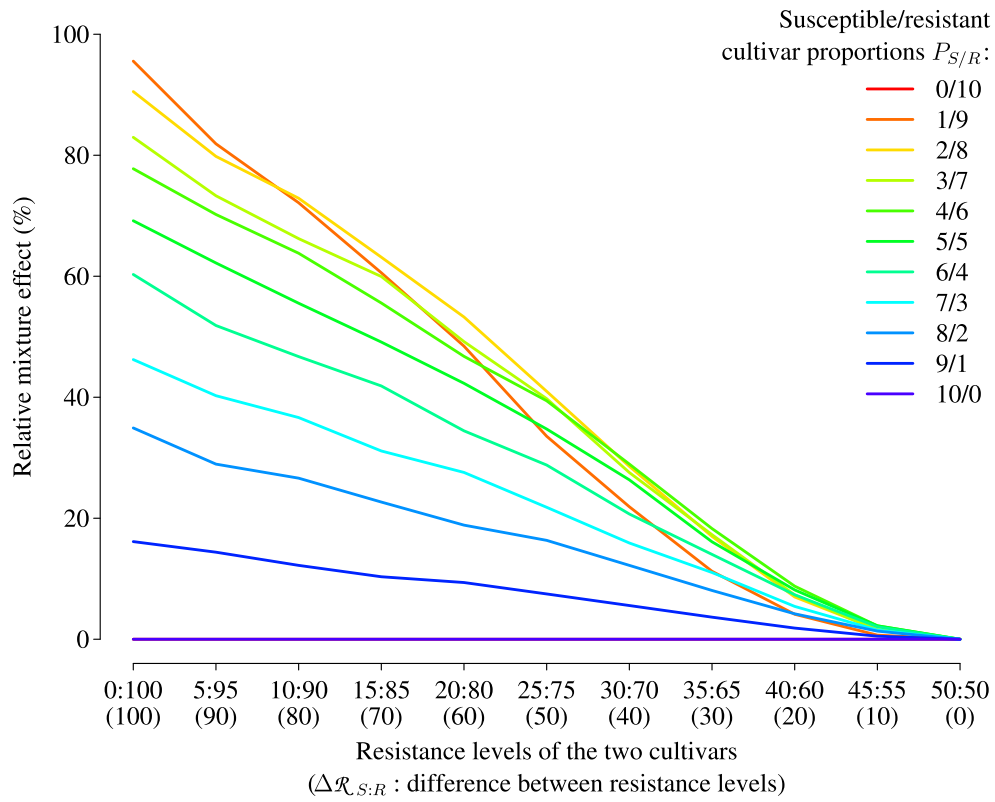


Figure IV.7: Maximal mixture effects expected E_{max} , depending on the resistance level differences ($\Delta \mathcal{R}_{S:R}$) between host cultivars, and the proportion of the cultivars ($P_{S/R}$) as indicated by different colours.

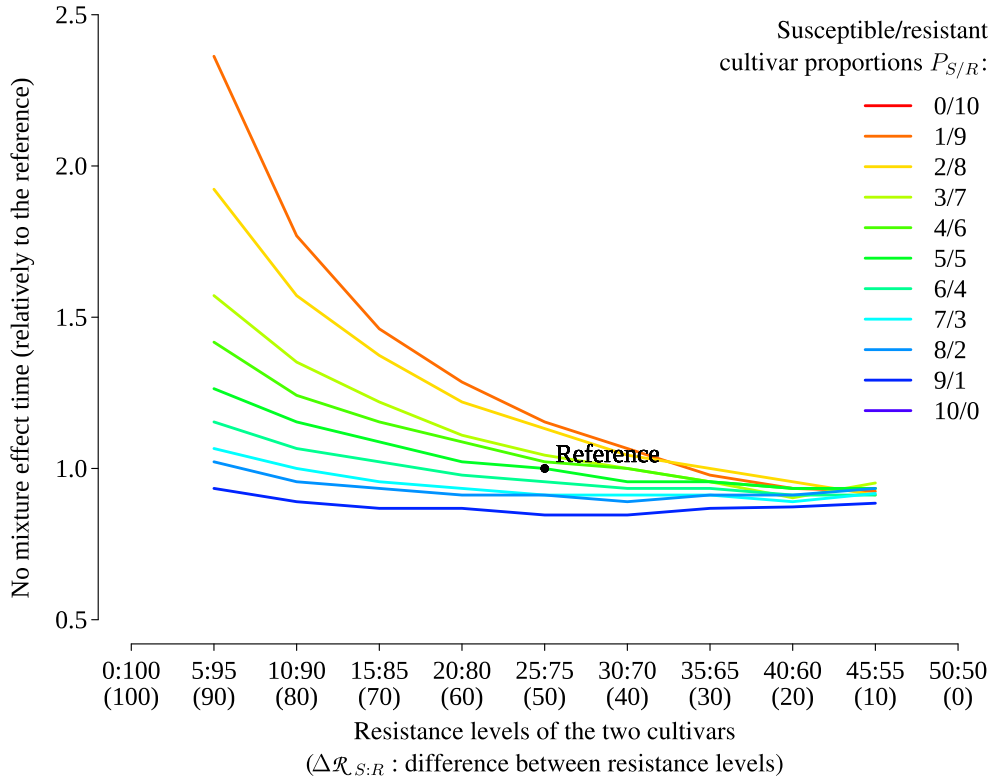


Figure IV.8: Relative number of pathogen generations before reaching “no mixture effect” point (N_{mix}), depending on the resistance level differences ($\Delta\mathcal{R}_{S:R}$) between host cultivars, and the proportion of the cultivars as indicated by different colours. The reference is the binary equi-proportional cultivar mixture with resistance levels of 25% and 75% and arranged according to the “chessboard” pattern.

the greater the N_{mix} . The simulated situation with the highest N_{mix} (*i.e.* 2.36) was obtained combining a $P_{S/R}$ of 1/9 with a $\Delta\mathcal{R}_{S:R}$ of 90% (resistance levels of 5% and 95%).

3.2 Spatial pattern of resistance within the canopy

To assess the influence of spatial organization of the different cultivars within a binary mixture, the same relative proportions (equi-proportion) and the same resistance levels (25% and 75%) were used. Among the different patterns tested (Fig. IV.9), the more efficient patterns were, in decreasing order of maximal mixture effect E_{max} , the “chessboard” pattern (**A**, which corresponds to our reference), the “alternated rows” pattern (**B**) and the “two blocks” pattern (**C**) (Table IV.3). The “alternated rows” and “two blocks” patterns represented 91.1% and 57.8% of the $E_{max,opt}$, that was computed in the case of the “chessboard” pattern, the optimal one in our case. These important relative

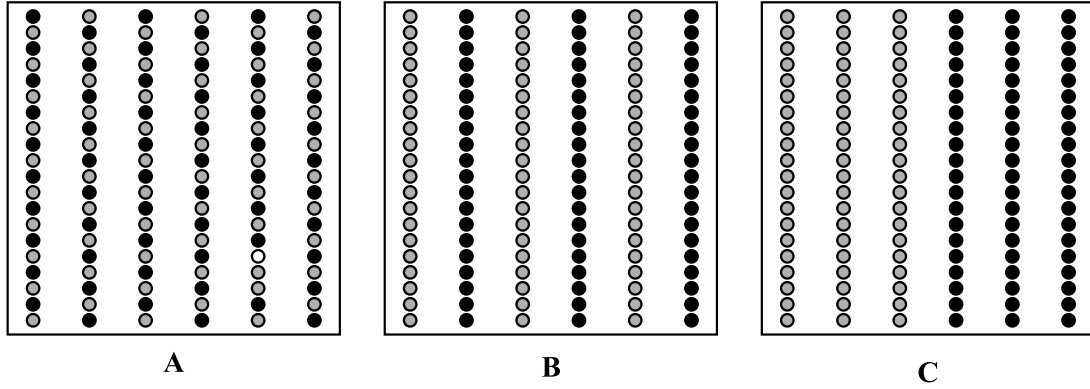


Figure IV.9: Arrangement of two host genotypes in equi-proportion in simulated epidemics of a splash-dispersed pathogen. Each square figure corresponds to one simulated plot ($1.050 \text{ m} \times 0.519 \text{ m}$) of 120 wheat plants. The length–width ratio is not respected on these diagrams. Each empty and filled disc represents one susceptible and one resistant plant, respectively. **A**, “chessboard” pattern — genotype unit area = 0.0045 m^2 . **B**, “alternate rows” pattern — genotype unit area = 0.0908 m^2 . **C**, “two blocks” pattern — genotype unit area = 0.2725 m^2 .

Table IV.3: Mixture effect efficiency for different spatial host arrangements. $E_{\max, \text{opt}}$ is obtained with the “chessboard” pattern. The allo-/auto-contamination rate is assessed based on the number of droplets coming from the same cultivar, or from another one.

Pattern	$E_{\max} / E_{\max, \text{opt}}$ (%)	allo-/auto- contamination rate (%)
A (“chessboard”)	100.0	100.0
B (“alternated rows”)	91.1	99.7
C (“two blocks”)	57.8	98.5

differences were only due to small imbalances in favour of autocontamination, expressed in terms of number of droplets, at each pathogen generation (0.3% and 1.5% respectively, Table IV.3).

4 Discussion

We proposed here a model to compare potential disease progressions under different conditions, taking into account spatial fungal pathogen dispersal within a heterogeneous three-dimensional canopy. The model was based on the computation of droplet pathways, assimilated to dispersal units of a splashborne pathogen whose contamination abilities depended on the resistance levels of host plants and the proportion of diseased surface of leaves. In this article, we studied what happens in case of splash-dispersed non-specialized (race-nonspecific) pathogens. In such situation, it is admitted that host resistance diversity is less effective in reducing disease than for specialized (race-specific)

pathogens (Garrett & Mundt, 1999; Xu & Ridout, 2000).

Focusing on the evolution of allo- and auto-contaminations — considered as contaminations between cultivar pools and within a cultivar pool, respectively (Mundt, 2009, and Fig. IV.4) — in the reference binary cultivar mixture, three ratios have been defined:

$$Q_S = \frac{\mathcal{F}_{RS}}{\mathcal{F}_{SS}}, Q_R = \frac{\mathcal{F}_{SR}}{\mathcal{F}_{RR}} \text{ and } Q_T = \frac{\mathcal{F}_{SR} + \mathcal{F}_{RS}}{\mathcal{F}_{RR} + \mathcal{F}_{SS}} \quad (\text{IV.12})$$

for the susceptible cultivar (Q_S), the resistant cultivar (Q_R), and both cultivars (Q_T), respectively. On Fig. IV.10 concerning the reference mixture, three stages can be roughly identified. Stage (1) corresponds simultaneously to an important part of allocontamination for the resistant component and a high rate of autocontamination for the susceptible one. Indeed, the susceptible cultivar is the prevailing contaminant element at that time. During the stage (2), the resistant component — in a quantity three times greater than the susceptible one — becomes now sufficiently infected to significantly influence disease progression. Finally during the stage (3), the saturation of contaminated leaf surfaces predominates. Globally over several pathogen generations, autocontamination is prevailing at the beginning, and becomes less important thereafter. This means that the use of such a mixture allows, at least in a first step, to provide some isolation of each compartment.

Mundt & Browning (1985) defined the genotype unit areas (GUAs) as “the ground area occupied by an individual, independent unit of the host population that is genetically homogeneous” to achieve their numerical investigations. By means of tests with three different spatial patterns, we showed that the smaller genotype unit area (GUA) is, the greater mixture efficiency is. In the case of the “two blocks pattern” with the higher GUA (0.2725 m²), the mixture efficiency was almost halved (-42.2%) in comparison to what was computed for our reference, the “chessboard pattern”, with the lower GUA (0.0045 m²). Without taking explicit dispersal mechanisms into account, other numerical studies using different modelling approaches for the spread of unspecialised fungal pathogens within cultivar mixtures reached similar conclusions (Goleniewski & Newton, 1994; Xu & Ridout, 2000). This rule was also globally observed in the field, but not in all cases (Mundt & Browning, 1985; Mundt & Leonard, 1985b, 1986b; Brophy & Mundt, 1991; Huang *et al.*, 1994; Newton & Guy, 2009). As Newton (2009) said, “differences between conclusions of these experimental studies may be due to particular pathogen dispersal conditions, and model generally do not take into account the dispersal mechanisms of the pathogen”. In our case, in addition to taking into account dispersal mechanisms of the pathogen, the use of three-dimensional plant mock-ups makes it possible to simulate the entanglement of leaves of different stems or plants (Fig IV.1). The complex shape of a GUA was more comparable to what may be observed into the fields, even if only simple polygons were used. The important influence of GUA underlined through the results of the model is due to two effects: the dilution effect and the barrier effect. The dilution effect implies that a dispersal unit travels on average a

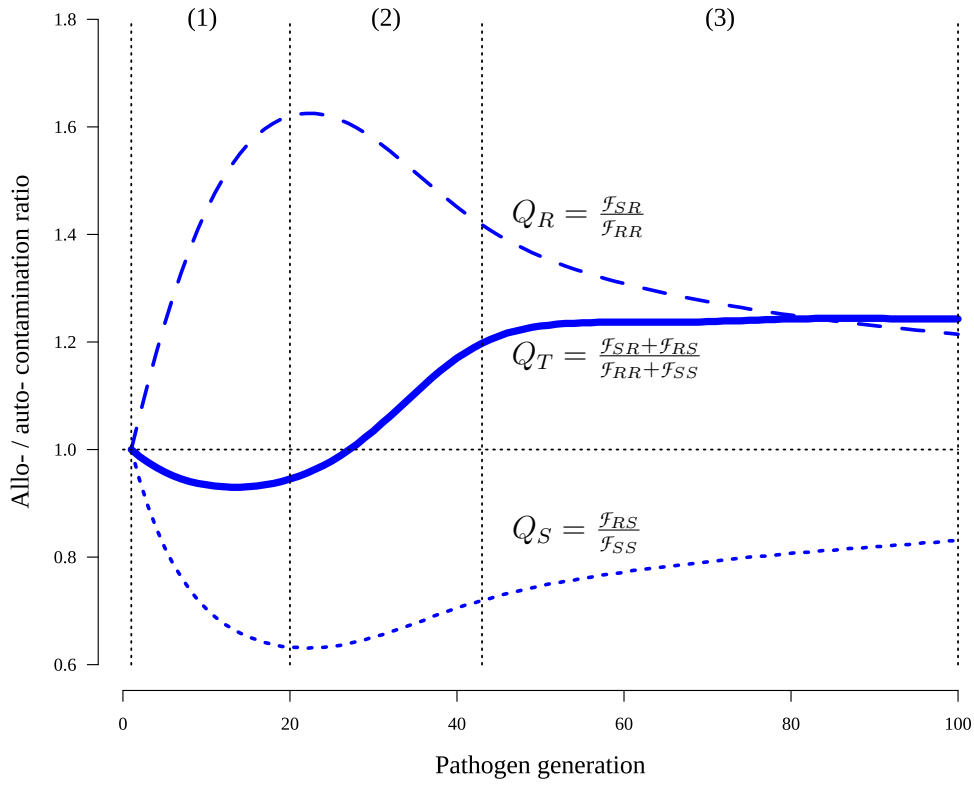


Figure IV.10: Evolution of the allo- and auto-contamination ratios over successive pathogen generations for the susceptible cultivar (Q_S), the resistant cultivar (Q_R), and both cultivars (Q_T) within a equi-proportional binary mixture with resistance levels of 25% and 75%. All starting ratios (after the first pathogen generation) have been artificially set to 1. As described on Fig. IV.4, $\mathcal{F}_{RR}$ and $\mathcal{F}_{SS}$ correspond to auto-contamination exchanges, and $\mathcal{F}_{RS}$ and $\mathcal{F}_{SR}$, allo-contamination exchanges. See text for description of stages (1), (2) and (3).

greater distance between two plants of the same cultivar. Regarding the barrier effect, the probability of encountering a more resistant cultivar is, on average, greater when GUA decreases.

Studying relative influences of susceptible/resistant proportions ($P_{S/R}$) and of differences in resistance levels ($\Delta\mathcal{R}_{S:R}$), it was the opportunity to underline relevant — and sometimes no trivial — points. Xu & Ridout (2000) showed that, for race-nonspecific pathogens and with a set of five $P_{S/R}$ (1/1, 1/2, 1/3, 2/1 and 3/1), increasing the number of susceptible plants reduced the mixture efficacy. There are also similarities between our results and those from numerical investigations carried out by Jeger *et al.* (1981a) on non-specialised pathogen progression within binary mixtures, in case of the infection rate and the sporulation rate of a cultivar are both lower than those of the other cultivar. The authors simulated progression of disease (in terms of number of lesions) after two or five dispersal events. We computed relative mixture effect for these two situations (Fig. IV.4) in order to express their results in the same manner as ours. Although the modelling approaches were fundamentally different, the $E_{max,opt}$ were detected for similar susceptible/resistant proportions ($P_{S/R}$): 4/6 and 2/8 depending on the number of dispersal events for Jeger *et al.* (1981a) (Fig. IV.4), and between 1/9 and 4/6 in the present study (Fig. IV.1) according to the differences in resistance levels ($\Delta\mathcal{R}_{S:R}$). This means that in all cases, the $E_{max,opt}$ were obtained when (i) more resistant than susceptible plants were present within the mixture, but (ii) not necessarily for the $P_{S/R}$ of 1/9, which corresponds to the tested situation with the fewest possible susceptible plants. In other words, there is a compromise to be found, depending on the resistance levels of the cultivars to mix together. These considerations are globally consistent with what is empirically recommended to design an efficient cultivar mixture in the field to control both windborne and splashborne diseases (de Vallavieille-Pope, 2004; Gigot *et al.*, 2013, Belhaj Fraj, unpublished data), *i.e.* mix susceptible and resistant components in a 1:3 susceptible/resistant ratio instead of in equi-proportion. In addition, the greater the differences in resistance levels between the two cultivars, the higher the expected mixture effect. This importance of the choice of contrasted resistance levels is consistent with what was already experimentally demonstrated for the control of numerous diseases using cultivar mixtures (*e.g.* Mille *et al.*, 2006).

A striking result, noticeable in Fig. IV.6 and IV.7, is that in some situations a mixture for which we may expect an *a priori* good mixture effect is actually disappointed. For example, compared to mixtures with a $\Delta\mathcal{R}_{S:R}$ of 50% (resistance levels of 25% and 75%) and $P_{S/R}$ of 2/8, 3/7 or even 4/6, the mixture with the same $\Delta\mathcal{R}_{S:R}$ and a $P_{S/R}$ of 1/9 is in such a situation. This host binary mixture presents the two following characteristics: (i) a resistant cultivar not totally resistant (not immune), *i.e.* that can be infected and infect, and (ii) a $P_{S/R}$ strongly in favour of the resistant component (here, 10% and 90% of the susceptible component and the resistant component, respectively). As we could expect, the susceptible component is less quickly contaminated by a non-specialised pathogen in the mixture than in the pure stand (see curves

Table IV.4: Proportion of the maximal mixture effect expected $E_{max,opt}$ for different component proportions ($P_{S/R}$) of a binary cultivar mixture, computed from Jeger et al. (1981a, Fig. 3). The binary cultivar mixture from Jeger et al. (1981a) used here is the one having the closest characteristics to our mixtures, i.e. greatest sporulation and infection capabilities are both shared by the same cultivar.

$P_{S/R}$	$E_{max} / E_{max,opt}$	
	Event 2	Event 5
1/9	67.6	95.2
2/8	91.5	100.0
3/7	96.6	97.1
4/6	100.0	91.3
5/5	95.3	83.6
6/4	84.3	73.2
7/3	69.0	61.7
8/2	60.0	45.6
9/1	31.1	24.7

with short dots on Fig. IV.5). Indeed in the susceptible pure stand, only auto-contamination (i.e. contamination between plants belonging to the same cultivar), occurs, and in the mixture, allo-contamination has lower contamination abilities than auto-contamination due to the lower emission rate (or sporulation abilities) of the resistant cultivar. For the resistant cultivar, it is the contrary. The presence of the susceptible component within the mixture — even in a reduced proportion — is sufficient to contaminate the resistant cultivar a little more quickly compared to the pure stand (see curves with long dots on Fig. IV.5). From the point of view of the resistant cultivar, as emission rate of the susceptible component is more important than for the resistant one, the “contaminant power” of allo-contamination is greater than for auto-contamination. The quicker contamination of the resistant cultivar within the mixture, in comparison with the pure stand, occurred in each tested mixture provided that the resistant cultivar was not immune (case with horizontal axis value of 0:100 in Fig. IV.7). When the $P_{S/R}$ was strongly in favour of the resistant component, as for a mixture with a $P_{S/R}$ of 1/9, the weighted mean of the potential disease (necessary to assess the mixture effect E_{max}) gave more importance to the potential disease computed for the resistant component than for the susceptible one.

The conditions for which there was a “no mixture effect”, mathematically corresponding to the moment at which a sign change of the mixture effect occurred. For the different modalities tested, the mixture effect computed was always positive after the first pathogen generation, but after several pathogen generations, it could become negative (Fig. IV.5). This means that, in addition to change over time as Xu & Ridout (2000) also demonstrated it, the relative efficiency of a mixture to control a splashborne non-specialised pathogen may switch from positive to negative. The sign reversal could appear provided: (i) no immune cultivar is used within the binary mixture, and (ii) the number

of pathogen generations was sufficiently high. The mechanisms involved are the same as those previously described. The relative duration necessary to observe the sign reversal of the mixture effect (N_{mix}) can be interpreted as a weakness indicator of the cultivar mixture. The greater this relative duration, the more robust the cultivar mixture could be considered to be. The numerical simulations conducted for binary mixtures showed that the more resistant plant proportion and the higher difference between their resistance levels, the more delayed the “no mixture effect” point (data not shown). This means that, except for mixtures with a high proportion of a resistant component which was only slightly resistant, there was no need to find a compromise: for a given $\Delta\mathcal{R}_{S:R}$, the cultivar mixture with the $E_{max,opt}$ was also the one with the longest relative duration before the sign reversal N_{mix} . Although useful to theoretically classify mixtures according to their relative robustness over epidemiological cycles, the computation of the reversal sign of the mixture effect we made here is probably far from what can be observed under natural conditions, and it should not be directly transposed into the field. Indeed for the simulations, we did not take into account several aspects, such as growth dynamics of plants (natural senescence, size increasing, . . .), spore depletion over the time for each disease lesion and run-off of water on leaves (responsible of loss of spores), latent period and patterns of rainfall events. To give a concrete example, under natural conditions, the latent period of septoria tritici blotch ranges from 270 to 500 degree-days (Lovell *et al.*, 2004a), and the number of complete pathogen generations during the epidemic period (roughly from late March to late June) is expected to be of about ten at the most, which is very far from N_{mix} values we obtained (Fig. IV.5, for example).

Although for the numerical investigations achieved here and focused on the dispersal of a splashborne non-specialised pathogen within a cultivar mixture, the more important mechanisms involved in splash dispersal were incorporated into the model, some improvements could be considered — in order to extend the possibilities of the model. For example, the use of particles (simulating fungal spores) inside droplets, instead of dispersal units (DUs), could make it possible to take into account both (i) removal of spores from the source organs, and (ii) wash-off of spores from potential infection sites on the sink organs — elements already studied under controlled conditions (Madden *et al.*, 1996). The incorporation of host growth to study its influence on disease severity progression should be also of interest (Pielaat *et al.*, 2002). The study of race-specific pathogens and the influence of epidemiological factors not yet included into the model, such as latency period, are under consideration. The modelling approach developed here gave us insights and guidelines to optimize the deployment of host resistances in the case of a splashborne non-specialised pathogen. Subsequent field experiments are necessary to test our findings and refine the model.

5 Acknowledgements

The authors are grateful to Priscilla Arfaoui, Marc Bidon, Brigitte Durand, Laurent Gérard, Jean-Christophe Gueudet, Laura Juignet, Valérian Lebon, Marc Leconte and Sylvie Masson for their invaluable technical assistance for architectural data acquisition during the four years of measurement. These numerical investigations received financial support from the French Ministry of Agriculture (contract CTPS C-03-2010) and from Fondation pour la Recherche sur la Biodiversité-LU (“Les Champs de Biodiversité”). Managed by the ANRT (Association Nationale de la Recherche Technique), the PhD grant of Christophe Gigot was co-financed by ARVALIS – Institut du végétal and the French Ministry of Research and Education.

Table IV.5: *List of the parameters of the model PathoSplash.*

Symbol	Unit	Designation
$I_{in,i}$ and $I_{out,i}$	s^{-1}	Infectious rate before and after an infecting flow, respectively
$\Delta I_{pot,i}$	s^{-1}	Potential increase of the diseased rate
$\Delta \mathcal{R}_{S:R}$	%	Difference in resistance levels between the susceptible and resistant cultivars of a binary cultivar mixture
$P_{S/R}$	None	Susceptible/resistant cultivar proportions within a binary cultivar mixture
r_i	None	Reception rate (taking into account the infection abilities on a given host)
e_i	None	Emission rate (taking into account the sporulation abilities on a given host)
$n_{d,ji}$	s^{-1}	The number of droplets coming from leaf j and striking leaf i per time unit
$n_{d,i}$	s^{-1}	The number of droplets striking leaf i per time unit
$\mathcal{R}_i$	None	Resistance rate of a cultivar (on a 0–1 scale)
$\mathcal{A}_i$	m^{-2}	Area of leaf i
n_L	None	Number of leaves for which there is at least one droplet performing the path leaf j to leaf i
ℓ	m^{-2}	Maximal disease lesion size (value of $3.10^{-4} m^2$ from Robert et al., 2008)
$\varphi_{T,i}$	$m^{-2}.s^{-1}$	Total potential lesion rate
$\varphi_{O,i}$	$m^{-2}.s^{-1}$	Overlapping infection rate
$\varphi_{C,i}$	$m^{-2}.s^{-1}$	Covering infection rate
$\lambda_i(u)$	$m^2.s^{-1}$	The ratio of the sum of areas of all infected lesions on the leaf i surface, for the surface unit u
k_i	$m^{-2}.s^{-1}$	The expected number of disease lesions with overlapping zones
$p_i(u)$	s^{-1}	Probability density function to estimate the probability of occurrence of disease lesions overlapped
E_{max}	None	Maximal mixture effect expected over pathogen generations for a given binary cultivar mixture ($P_{S/R}$ and $\Delta \mathcal{R}_{S:R}$ fixed)
$E_{max,opt}$	None	The highest (optimal) E_{max} for a given $P_{S/R}$, or a given $\Delta \mathcal{R}_{S:R}$ (specified in the text)
N_{mix}	None	Number of pathogen generations before the sign reversal of the mixture effect
Q_S , Q_R and Q_T	None	Allo-/auto- contamination rates, for the susceptible cultivar, the resistant cultivar and both cultivars, respectively
$\mathcal{F}_{SS}$ and $\mathcal{F}_{RR}$	None	Auto-contamination exchanges
$\mathcal{F}_{SR}$ and $\mathcal{F}_{RS}$	None	Allo-contamination exchanges

V | Discussion générale

Sommaire

1	Résumé des principaux résultats	99
1.1	Chapitre II : suivi épidémiologique hebdomadaire en conditions naturelles	99
1.2	Chapitre III : quantification du flux de spores dispersées par la pluie	100
1.3	Chapitre IV : modèle de dispersion pluviale dans un couvert hétérogène	100
2	État des lieux sur le modèle <i>PathoSplash</i>	102
2.1	Quelques aspects techniques	102
2.2	Critiques et perspectives	103
3	Réflexion sur la conception d'associations contre la septoriose	105
3.1	Retour sur les tendances observées au champ	105
3.2	Essai de quantification du gain apporté par une association variétale sur la résistance globale de la culture	108

1 Résumé des principaux résultats

Les travaux présentés dans ce mémoire abordent l'exemple du développement épidémique de la septoriose du blé au sein d'associations de variétés ; ceci afin de mettre en évidence des éléments qui permettent de freiner la propagation d'un pathogène à dispersion pluviale au sein de ce type de couvert végétal hétérogène. Les différentes évolutions de l'infection des feuilles par la septoriose de blé, telles que mesurées en conditions naturelles au chapitre II, sont en grande partie dépendantes de (i) la dilution de l'inoculum et (ii) l'instauration de barrières à la propagation des spores. Ces deux effets, qui opèrent dans les associations variétales, impactent directement les flux de spores dispersées au sein du couvert végétal par éclaboussement (chapitre III). La conception et le développement d'un modèle mécaniste, décrit au chapitre IV, ont permis de simuler les processus impliqués dans la dispersion par éclaboussement d'un pathogène fongique. Nous résumons ci-après les principaux résultats de chaque chapitre.

1.1 Chapitre II : suivi épidémiologique hebdomadaire en conditions naturelles

Au cours des quatre années d'étude présentées (de 2008 à 2011), l'évaluation hebdomadaire du nombre de nouvelles lésions sporulantes — considéré comme un indicateur de l'intensité du flux de spores — a permis d'identifier plusieurs épisodes pluvieux majeurs en termes de dispersion de *M. graminicola*. Avec en moyenne 45 % de lésions en moins sur la variété sensible dans l'association variétale étudiée (avec un ratio d'une plante sensible pour trois résistantes) par rapport à une culture monovariétale de la même variété, nous avons montré, qu'au moins en ce qui concerne les principaux événements de dispersion, une association de variété peut effectivement limiter le développement épidémique de la maladie.

Toujours pour la variété sensible, nous avons observé en moyenne, sur les trois feuilles les plus élevées, moins 45 % de surface foliaire pycnidiale et plus 9 % de surface foliaire verte au sein de l'association par rapport à la culture monovariétale. Cela conduit notamment à une période photosynthétiquement active plus longue au sein de l'association pour les étages foliaires considérés. Dans nos conditions expérimentales, bien que devant subir une pression en inoculum plus importante au sein de l'association de variétés qu'en culture monovariétale, la variété la plus résistante n'était pas significativement plus affectée par la septoriose dans l'association.

Pour la sévérité de la maladie (assimilée à la surface pycnidiale moyenne des trois dernières feuilles), l'effet association, défini comme la différence relative entre l'association et la moyenne pondérée des cultures monovariétales, a varié de 3 % à 35 % suivant les années. Enfin, nous avons mis en évidence une tendance à un rendement moyen plus important dans l'association, en comparaison à la moyenne pondérée des cultures monovariétales.

Nous avons donc démontré qu’au sein d’une association binaire (*a priori* moins performante que des associations avec davantage de variétés, d’après [Newton et al., 1997](#) et [Mille et al., 2006](#)), avec des niveaux de résistance contrastés et avec un ratio de une plante plutôt sensible pour trois plutôt résistantes (tel que conseillé pour lutter contre des maladies à dispersion éoliennes; [de Vallavieille-Pope, 2004](#)), l’impact d’une maladie à dispersion pluviale peut être significativement réduite. Cette protection semble même relativement robuste puisque qu’au cours de l’ensemble des années étudiées, nous n’avons pas observé de situation avec une sévérité globalement plus importante dans l’association en comparaison à la moyenne des cultures monovariétales — contrairement à ce qu’avaient constaté [Cowger & Mundt \(2002\)](#) avec différentes associations de deux variétés en équi-proportions et sans résistances contrastées.

1.2 Chapitre III : quantification du flux de spores dispersées par la pluie

La méthodologie originale que nous avons mis au point, afin de dénombrer spécifiquement et de manière semi-automatisée des pycnidiospores sur lames de verre, se base sur la reconnaissance de formes par ordinateur. Elle a permis de quantifier le flux de spores dispersées par éclaboussement durant plusieurs épisodes pluvieux intervenus au cours de deux années, avec une pression faible (2010) ou modérée (2009) de septoriose du blé.

Bien que non statistiquement significatif, nous avons montré que la quantité de pycnidiospores dispersées par unité de temps était globalement plus importante d’une part, au sein du couvert qu’en son sommet, et d’autre part, dans la culture monovariétale de blé sensible que dans l’association variétale étudiée. Nous avons également déterminé que, dans nos conditions expérimentales, les facteurs impactant significativement l’intensité du flux de pycnidiospores étaient : (i) les caractéristiques pluviométriques (diamètre moyen des gouttes et intensité moyenne de pluie), et (ii) la proportion de surfaces foliaires malade au moment des pluies. Plus le diamètre des gouttes, l’intensité de la pluie et la quantité d’inoculum présent sur les feuilles sont élevés, et plus le flux de spores est important.

À notre connaissance, il s’agit de la première étude de ce type sur *M. graminicola* en conditions naturelles. Bien que [Paul et al. \(2004\)](#) aient mis en évidence des influences similaires des caractéristiques pluviales sur le flux de spores de *Gibberella zeae* (un pathogène fongique à dispersion pluviale partielle), nous avons pu identifier un impact significatif de la quantité d’inoculum au sein du couvert sur le flux mesuré de pycnidiospores.

1.3 Chapitre IV : modèle de dispersion pluviale dans un couvert hétérogène

La dispersion spatiale par gouttelettes d’éclaboussement d’un pathogène fongique (supposé non race-spécifique), au sein d’un couvert virtuel composé de

maquettes de blé en trois dimensions, a été modélisée de manière explicite. Des simulations de la progression de la sévérité du potentiel de maladie ont été menées sur des associations bi-variétales pour lesquelles plusieurs facteurs variaient : (i) les proportions, (ii) les niveaux de résistance et (iii) l'agencement spatial des deux composantes.

Pour des niveaux donnés de résistance des deux variétés, le modèle prévoit des effets association élevés lorsque la variété la plus résistante est en proportion majoritaire dans l'association, tout comme le suggèrent d'autres études (p. ex., Jeger *et al.*, 1981a; Xu & Ridout, 2000). Néanmoins, l'effet maximal n'est pas nécessairement observé pour des proportions importantes de la variété résistante. Autrement dit, *PathoSplash* met en évidence l'existence d'un compromis à trouver pour établir la proportion optimale de chacune des deux variétés associées, ce compromis étant dépendant des niveaux de résistance. Par exemple, dans le cas d'une association avec un différentiel de résistance de 50 % (niveaux de résistance de 25 % et 75 %) et un ratio sensible/résistant de 1/9, l'effet association prévu est inférieur à ceux calculés pour la même association avec des ratios de 2/8, 3/7 ou même 4/6. Cette association binaire avec un ratio de 1/9 présente deux caractéristiques importantes qui permettent d'expliquer ces résultats : la variété résistante (i) est loin d'être totalement résistante (elle n'est pas immune), et (ii) elle est en forte proportion dans l'association. Dans l'association, c.-à-d. dans un environnement avec un inoculum relativement important — de par la présence de la variété sensible —, la variété résistante a tendance à y être plus affectée par le pathogène que dans une culture monovariétale. La forte proportion d'une variété résistante plus malade dans une association binaire réduit l'effet association attendu.

Bien que l'effet association ait toujours été positif (c.-à-d. que la sévérité de la maladie était moins importante au sein de l'association que pour la moyenne pondérée des cultures monovariétales) suite à la première génération du pathogène, il est possible d'observer, si (i) la variété résistante n'est pas immune et si (ii) le nombre de générations est suffisant, un effet association devenant négatif. Nous avons interprété le nombre de générations nécessaire avant d'observer cette inversion de signe comme un indicateur de robustesse de l'association : plus ce nombre est élevé, et plus l'association variétale peut être considérée comme robuste. Les simulations ont montré que l'inversion de l'effet association est d'autant plus retardée que la proportion de la variété résistante et le différentiel de résistance sont importants. Cela signifie que, sauf pour les situations où la variété résistante est plutôt peu résistante et en proportion importante (comme pour l'exemple précédemment utilisé), une association avec un effet association maximal élevé sera aussi robuste dans le temps. Notons tout de même que l'inversion de l'effet association n'est pas transposable au champ en tant que telle. En effet, son existence est soumise à des hypothèses fortes (la sénescence naturelle du blé et l'épuisement des lésions sporulantes n'ont par exemple pas été pris en compte). D'autre part, le nombre de générations successives du pathogène nécessaire avant d'atteindre cette inversion est très important en comparaison à ce qui est observable au champ pour *M. graminicola*,

compte tenu de sa période de latence et des occurrences de pluies nécessaires à sa propagation.

Tout comme de précédentes études de simulations numériques l'ont démontré en utilisant d'autres approches (p. ex., [Goleniewski & Newton, 1994](#); [Xu & Ridout, 2000](#)), le modèle *PathoSplash* prédit une augmentation de l'effet association lors de la diminution des surfaces d'unité génotypique (ou GUA). En effet, plus les GUA sont faibles et plus les effets barrière et dilution se manifestent au sein des associations. Enfin, l'effet association attendu est d'autant plus important que la différence entre niveaux de résistance est marquée.

2 État des lieux sur le modèle *PathoSplash*

2.1 Quelques aspects techniques

Le cœur de *PathoSplash* actuel est constitué d'environ 10 000 lignes de code C++. Le langage de programmation retenu pour l'implémentation du modèle offre quelques atouts mentionnés ci-après. S'agissant d'un langage compilé, il permet en principe de produire des programmes plus rapides à l'exécution qu'avec d'autres formes de langages. Son utilisation est par ailleurs largement répandue au sein de la communauté scientifique, et de nombreuses bibliothèques de codes sont disponibles pour simplifier la vie du programmeur.

Tout comme pour le *framework* ADEL ([Fournier et al., 2003](#)), nous manipulons des plantes virtuelles. Ces dernières sont constituées de plusieurs tiges (avec ou sans épi), elles-mêmes subdivisées en phytomères, ceux-ci étant composés de feuilles et d'entre-feuilles. À un plus haut niveau d'organisation, un regroupement de plantes dans l'espace correspond à une parcelle virtuelle. Au cours d'une simulation, de l'information est enregistrée à différents niveaux ; par exemple, un taux de résistance (entre 0 et 100 %) pour chaque plante et un taux de maladie (entre 0 et 100 %) pour chaque feuille. Un historique de l'évolution du potentiel de maladie doit également être conservé. Étant donné le type d'informations que nous manipulons, choisir un langage basé sur la programmation objet, tel que le C++, était tout à fait adapté à nos besoins, afin de simplifier le codage et permettre sa maintenance.

Un effort particulier a déjà été apporté à l'optimisation du code afin de réduire les temps de calcul qui sont assez conséquents, notamment du fait de l'utilisation d'une approche de type Monte Carlo pour échantillonner une population de gouttes de pluie. Le recours au parallélisme des *threads* (ou *multi-threading*) en utilisant la bibliothèque OpenMP¹ a permis d'exploiter les possibilités des processeurs multi-cœurs modernes afin de réduire substantiellement les temps de calcul. Ainsi, l'ensemble des résultats présentés dans le chapitre IV a nécessité « seulement » 6 jours de calcul sur un ordinateur équipé d'un processeur à 8 cœurs, cadencés à 1,5 GHz chacun, alors que sans *multi-threading*, ces calculs auraient facilement requis quatre fois plus de temps. Dans la même optique,

¹<http://openmp.org>

la simplification de la représentation tridimensionnelle des plantes a permis de raccourcir les temps de simulation, car pour déterminer le point d'impact de chaque goutte ou gouttelette, le modèle parcourt l'ensemble des polygones constitutifs de la parcelle virtuelle. Pour information, une modélisation des plantes basée sur l'approche ADEL (Fournier *et al.*, 2003) aurait nécessité environ huit fois plus de polygones que pour celle que nous avons utilisée.

2.2 Critiques et perspectives

En développant ce modèle, nous voulions comprendre l'influence des mécanismes de dispersion pluviale d'un agent pathogène non spécialisé, tel que *M. graminicola*², sur le développement d'une maladie fongique. À l'heure actuelle, *PathoSplash* est utile pour la classification théorique des associations en fonction de leurs potentiel et robustesse intrinsèques, et nous fournit des lignes directrices afin d'optimiser le déploiement au sein d'une parcelle des résistances hôtes. De par sa conception, que nous avons voulu évolutive, les potentialités de ce modèle restent nombreuses.

Quoi qu'il en soit, certaines hypothèses restent pour le moment *a priori* assez éloignées de la réalité. Les sorties de *PathoSplash* devraient être confrontées à des données de terrain. Nous pensons notamment aux essais d'instituts techniques et de coopératives agricoles qui offriraient l'opportunité d'obtenir un grand nombre de données pour plusieurs lieux et années.

Architecture des plantes

Concernant l'architecture du couvert végétal virtuel, il est envisageable d'accroître la précision de sa représentation tridimensionnelle, en ayant recours à des travaux existants (p. ex., Fournier *et al.*, 2003). Néanmoins, dans le cadre de notre étude, le gain que cela apporterait par rapport au surcoût du temps de calcul (même si des optimisations sont encore possibles sur ce point) n'est pas garanti. En effet, Louarn *et al.* (2012) ont montré qu'en ce qui concerne le partitionnement de la lumière au sein de couverts végétaux, il était possible d'obtenir des résultats très proches en utilisant des architectures simplifiées ou complexes du même couvert.

La dynamique de croissance des plantes n'est actuellement pas prise en compte au sein de *PathoSplash*, mais mériterait d'y être intégrée dans le futur. Effectivement, comme le précise Lovell *et al.* (1997), « la structure du couvert végétal et la localisation des sources d'inoculum en son sein changent constamment au cours de la période de croissance. Ainsi, le risque d'infection de feuilles émergentes change également, et le risque de progression de la maladie est dynamiquement complexe et spécifique au couvert végétal de chaque culture ». Ce rôle prépondérant de la croissance des plantes hôtes sur l'évolution potentielle de la sévérité des maladies a été mise en évidence par plusieurs modèles (p. ex., Pielaat *et al.*, 2002; Robert *et al.*, 2008).

²même si la non spécialisation totale de ce dernier est à nuancer (Orton *et al.*, 2011)

En plus de permettre l'étude de processus épidémiques dans des couverts hétérogènes, recourir à une représentation tridimensionnelle des plantes pour étudier les interactions entre hôtes et pathogènes ouvre la voie à la reconsidération de certains concepts utilisés en phytopathologie. Par exemple, à la place d'une zone d'unité génotypique (ou GUA) qui se limite par définition à deux dimensions (Mundt & Browning, 1985), nous pourrions envisager un « volume d'unité génotypique », voire un « volume d'unité génotypique dynamique » si le temps est pris en compte.

De plus, affiner l'architecture des plantes peut aussi passer par la prise en compte des compétitions inter- et intra-spécifiques. Des phénomènes allélopathiques peuvent en effet conduire à des modifications architecturales — parfois relativement impressionnantes, comme dans le cas de la « timidité des houppiers » (ou *crown shyness*) chez certains arbres (Long & Smith, 1992; Goudie *et al.*, 2009) — et ainsi, influencer la dispersion et le développement d'organismes pathogènes.

Épidémiologie

Bien que prenant en compte de manière assez pointue les aspects physiques de la dispersion par éclaboussement de spores de pathogènes fongiques, plus de paramètres épidémiologiques pourraient être intégrés à *PathoSplash*. Par exemple, nous considérons des résistances quantitatives impactant les phases de sporulation et d'infection, mais ni la période de latence, ni l'épuisement des lésions sporulantes n'ont été considérés. La prise en compte de la période de latence permettrait de développer l'aspect temporel du modèle, qui reste pour le moment assez frustrant. De plus, les facteurs de résistance e_i et r_i définis au chapitre IV mériteraient d'être caractérisés et quantifiés grâce à des expérimentations en conditions contrôlées. Il serait également possible de prendre en compte l'épidémiologie à l'échelle de l'organe, où le développement du pathogène est soumis à l'état physiologique de l'organe en question (sénescence naturelle, statut azoté, ...) et les conditions micro-climatiques comme la température (Bernard, 2012) et l'hygrométrie (Magboul *et al.*, 1992). Par ailleurs, nous pourrions aussi envisager d'autres phénomènes de dispersion, comme le lessivage des spores (par la rosée ou des précipitations abondantes) responsable de la perte des particules fongiques sur le sol ou de la contamination de tissus sains situés sous des tissus infectés (Lovell *et al.*, 1997).

Le vent, en tant qu'autre agent de dispersion particulièrement important dans le cycle de la septoriose du blé, mériterait d'être intégré au modèle. En parallèle à la dispersion pluviale, l'implémentation des mécanismes physiques régissant la dispersion éolienne de particules fongiques au sein de *PathoSplash* pourrait offrir la possibilité de comparer ces deux types de dispersion, à longue et courte distances. Durant sa phase épidémique (Fig. I.6), la gestion de la septoriose du blé à l'échelle supra-parcellaire ne nous semblait pas la plus pertinente car la progression de la maladie est dominée par la dispersion à courte distance de pycnidiospores (Fig. I.7). Néanmoins sur l'ensemble du cycle du champignon, la

gestion de la septoriose à l'échelle du paysage pourrait être envisagée en raison de l'importante production d'ascospores (surtout en automne et en hiver) dispersées à longue distance. Un modèle considérant conjointement ces deux modes de dispersion de spores permettrait d'explorer la question.

Pour finir, *PathoSplash* pourrait être le support d'autres études, en envisageant par exemple des résistances hôtes spécifiques, un effet prémunition, ainsi que plusieurs souches (ou races) de l'agent pathogène dont les proportions respectives évolueraient différemment au cours des générations.

3 Quelques axes de réflexion sur la conception d'associations de variétés pour lutter contre la septoriose du blé

3.1 Retour sur les tendances observées au champ

En complément des quatre années étudiées au chapitre II (2008, 2009, 2010 et 2011), une année supplémentaire (2012) a pu être suivie dans le cadre de notre étude sur la progression de la sévérité de la septoriose du blé au champ sur le site de Grignon (Fig. V.1). Ceci nous a permis d'évaluer l'impact épidémique de *M. graminicola* au sein de notre association variétale binaire (composée de trois plantes plutôt résistantes pour une plutôt sensible) au cours d'un printemps avec des précipitations beaucoup plus importantes que les années précédentes. Bien que la notion de « pression en septoriose » soit difficile à quantifier, il est coutume de mesurer les précipitations printanières, en particulier avril et mai (Shaner & Finney, 1976; Thomas *et al.*, 1989; Tyldesley & Thompson, 1980), pour l'appréhender. Différentes approches empiriques, présentées dans le tableau V.1 pour les années que nous avons suivies, ont été proposées. Que ce soit du point de vue de la pluviométrie mensuelle en avril-mai ou du nombre de jours de pluie entre le 11 mai et le 14 juin, l'année 2012 peut être considérée comme la plus pluvieuse des cinq dernières.

La figure V.2 correspond à la figure II.4 (chapitre II) complétée avec les données de l'année 2012, et réorganisée en fonction de la pression en septoriose de chaque année. Il est intéressant de noter que globalement, la différence relative entre association et culture monovariétale pour la variété sensible est plus faible en 2012 que pour les autres années, alors que pour ces dernières, la pression fongique était considérée comme faible ou modérée. Cette observation va dans le même sens que ce qu'ont montré Raboin *et al.* (2012) pour la pyriculariose du riz, Newton *et al.* (2002) pour l'oïdium sur orge, ainsi que Phillips *et al.* (2005) et Pilet *et al.* (2006) pour le mildiou de la pomme de terre. Dans tous les cas, l'efficacité des associations variétales dans la réduction de la sévérité de la maladie est fortement réduite, voire nulle, lorsque l'inoculum est important.

L'expérimentation au champ menée sur plusieurs années montre donc que la protection relative apportée à la variété la plus sensible au sein de l'association étudiée était d'autant plus importante que la pression en septoriose était faible



Fig. V.1: Dispositif expérimental utilisé dans le cadre des expérimentations en plein champ, décrit au chapitre II (V. Lebon, INRA, 2012). Chaque micro-parcelle ($10\text{--}14 \times 3,5\text{ m}$) est séparée des autres par au moins 1,5 m de triticale (plus haut que les variétés de blé utilisées et résistant notamment à la septoriose), limitant ainsi les éventuels transferts d'agents pathogènes entre modalités.

Tab. V.1: Quelques caractéristiques pluviométriques des cinq années étudiées en relation avec les épidémies de septoriose du blé. Pour la pluviométrie mensuelle, le rang parmi les 20 années allant de 1993 à 2012 est donné entre parenthèses, 1 étant le plus pluvieux et 20 le plus sec.

Année	Pluviométrie mensuelle (mm)		Nombre de jours avec $\geq 5\text{ mm}$ de précipitations ^a		Jours de pluie ^b 11 mai–14 juin
	avril	mai	avril	mai	
2008	53.6 (9)	72.4 (6)	6	3	13
2009	40.8 (12)	41.6 (14)	5	2	18
2010	16.0 (17)	29.0 (17)	1	1	12
2011	32.5 (13)	3.5 (20)	2	0	10
2012	62.5 (6)	72.5 (5)	2	2	43

^a 5 mm est considéré comme un seuil à partir duquel une quantité substantielle de pycnidiospores est transportée d'un étage foliaire à l'autre (Thomas et al., 1989).

^b Basé sur l'étude de Shaner & Finney (1976), chaque jour où il a plu (sans distinction sur la quantité) est comptabilisé.

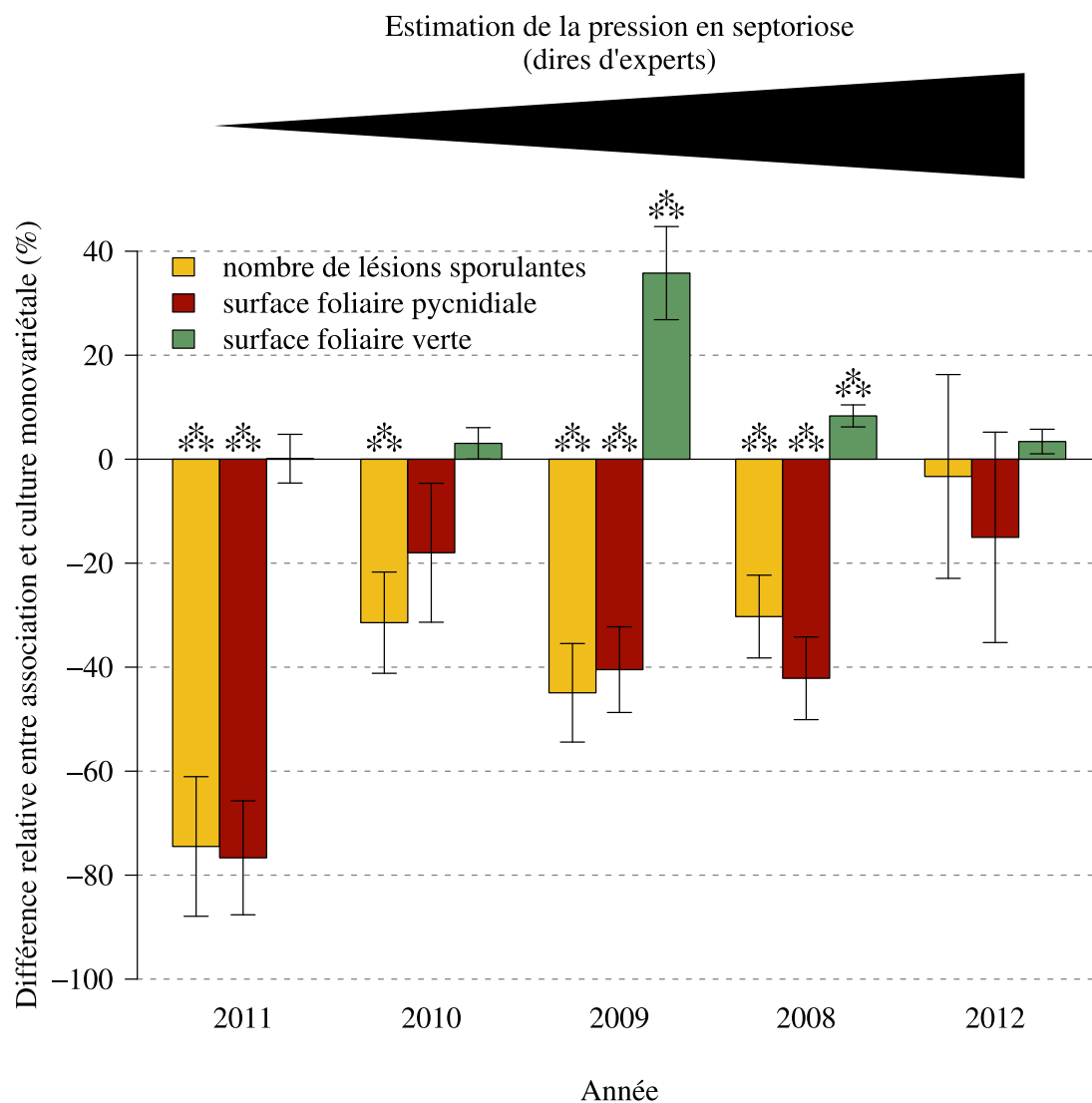


Fig. V.2: Différences relatives des aires sous les courbes de progression pour le nombre de lésions sporulantes, la surface foliaire pycnidiale et la surface foliaire verte de la variété de blé sensible entre l'association variétale (ratio de une plante sensible pour trois résistantes) et la culture monovariétale, pour cinq années classées par ordre croissant de pression en septoriose au printemps. Les valeurs présentées sont les moyennes ($\pm$ les erreurs standards) des trois dernières feuilles, avec quatre répétitions par modalité. Le seuil de significativité de chaque valeur est évaluée par un test de Student (***) : seuil à 1 %).

(Fig. V.2). En effet à fortes pressions, bien que le flux de pycnidiospores était toujours plus faible au sein de l'association (voir chapitre III), ce flux était bien moins limitant que la quantité de surface foliaire saine — contrairement aux années avec moins de septoriose. Par ailleurs, comme à faibles pressions, l'impact de la maladie était trop limité pour observer des répercussions significatives sur la culture, le potentiel maximal de protection de l'association s'exprimait pour des pressions intermédiaires de septoriose. Quoi qu'il en soit, nous n'avons pas constaté durant cette étude conduite sur cinq années d'effet délétère de l'association par rapport aux cultures monovariétales : soit il y avait un effet association positif visible, soit rien de visible, mais jamais d'effet négatif (contrairement à certaines situations de l'étude de Cowger & Mundt (2002), mentionnée à la section 1.1 de ce chapitre).

3.2 Essai de quantification du gain apporté par une association variétale sur la résistance globale de la culture

Approche théorique simple

À partir d'une approche simplifiée, nous proposons ici d'estimer le gain en équivalent de points de résistance que représenterait l'utilisation d'une association mise en place pour lutter spécifiquement contre la septoriose du blé. Nous considérons la note dédiée à l'évaluation de la résistance à la septoriose en France (allant de 1 à 9, 1 étant très sensible et 9 très résistant), et attribuée à chaque variété de blé par le CTPS et ARVALIS.

Nous savons qu'à chaque point de résistance en plus correspond une diminution des symptômes sur feuilles d'en moyenne 30 % (P. du Cheyron, comm. pers.). Supposons que nous obtenions 15 % de sévérité de la maladie en moins dans une association donnée par rapport à la moyenne pondérée des cultures monovariétales, ce qui est de l'ordre de grandeur des valeurs mesurées dans nos conditions expérimentales (chapitre II). Dans ce cas, nous pouvons nous attendre à un gain de $15/30 = 0,5$, soit l'équivalent d'un demi-point de résistance en plus, tout simplement en cultivant les variétés en association au lieu de les planter dans des parcelles séparées. Rappelons qu'en plus de l'accroissement potentiel de la note de résistance équivalente, nous pouvons nous attendre à une stabilisation de la résistance globale de l'association sur le long terme (p. ex., Wolfe, 1985; Mundt, 2002).

Réhabiliter certaines variétés de blé ?

La gamme des notes de résistance à la septoriose, s'étalant de 4 à 7 pour l'ensemble des variétés de blé inscrites au catalogue officiel, est relativement limitée, surtout en comparaison avec les notes de résistance disponibles contre d'autres maladies (Fig. V.3). Contre la rouille brune et la rouille jaune, les notes des variétés balayent l'ensemble de l'échelle des résistances, c.-à-d. de

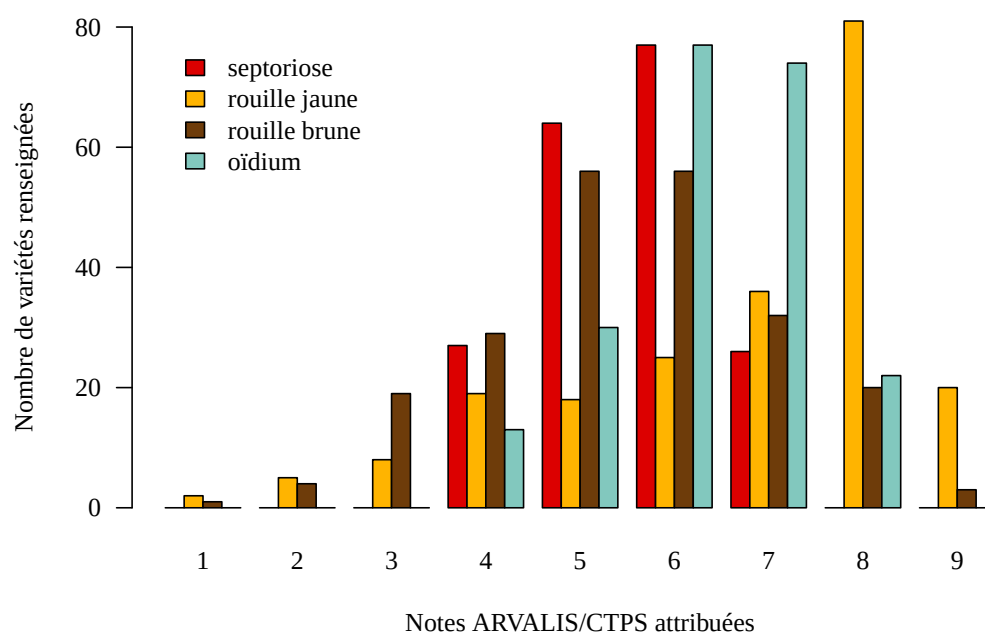


Fig. V.3: Nombre de variétés de blé tendre inscrites au catalogue officiel et classées en fonction de leurs note de résistance aux quatre principales maladies foliaires, attribuées par le CTPS et ARVALIS, en France. Ce graphique correspond à la compilation des données des 237 fiches variétés de blé tendre disponibles à l'adresse www.fiches.arvalis-infos.fr (site consulté le 15 décembre 2012). Les notes non entières (4,5; 5,5;...) ont été comptabilisées avec les notes entières de la classe inférieure (4; 5; ...).

de 1 (totalement sensible) à 9 (totalement résistant). Un blé présentant une trop forte sensibilité à la septoriose est éliminé lors de la phase de sélection variétale. D'autres variétés de blé ont pu être abandonnées si leur résistance s'est trop altérée au cours du temps. Le recours aux associations de variétés pourrait permettre de réhabiliter des variétés non utilisées à cause d'une trop forte sensibilité à la septoriose, mais présentant des potentiels intéressants (en termes de rendement ou de qualité, par exemple). En effet, comme nous venons de l'aborder précédemment, associer plusieurs variétés dans la même parcelle permettrait d'améliorer la note de résistance moyenne.

Limites de cette approche

L'état de nos connaissances actuelles ne permet pas de prédire de prédire l'efficacité réelle d'une association variétale sur un paramètre donné avant l'implantation, notamment à cause d'interactions génotype-environnement et de phénomènes de compétition à différents niveaux entre les variétés (p. ex., [Finckh](#)

& Mundt, 1992b; Mundt *et al.*, 1995a). Par ailleurs, dans le cas des maladies fongiques, et notamment la septoriose du blé, les notes de résistance disponibles pour choisir les composantes d'une association sont très intégratives et ne permettent aucunement d'appréhender les complémentarités ou inadéquations possibles entre variétés. Une connaissance fine des facteurs génétiques sous-tendant la résistance hôte — tels que ceux influençant l'efficacité d'infection, le taux de sporulation ou la période de latence — devrait permettre d'améliorer substantivement la conception d'associations de variétés. En effet, les modèles développés par Jeger *et al.* (1981a) pour des pathogènes fongiques non spécialisés prédisent que l'utilisation de résistances quantitatives dans une association binaire peut diminuer, augmenter ou ne pas avoir d'effet sur la sévérité de la maladie, uniquement en fonction des différences au niveau des taux d'infection et de sporulation de chacune des deux composantes.

Quoi qu'il en soit en première approche, Newton (2009) précise que même si une association binaire peut significativement réduire la sévérité d'une ou plusieurs maladies, l'efficacité d'une association vis-à-vis de la lutte contre les pathogènes fongiques a tendance à d'autant plus s'améliorer que le nombre de composantes est élevé.

Conclusion

La transition vers une agriculture « écologiquement intensive » nécessite le recours à différentes approches fonctionnelles reposant sur des concepts agro-écologiques, notamment dans le domaine de la gestion des maladies des cultures (Walters, 2009). La diversification des résistances variétales, à différentes échelles suivant les caractéristiques de dispersion des pathogènes fongiques considérés, est prometteuse pour limiter la progression épidémique de ces organismes.

Bien qu’habituellement considéré comme ayant un intérêt limité dans le cadre de la lutte contre la septoriose du blé (p. ex., Garrett & Mundt, 1999), nous avons démontré qu’une association peut permettre une réduction substantielle de la sévérité de cette maladie propagée par la pluie (de l’ordre de 3–35 %, chapitre II). La diminution de l’impact de la septoriose était plus marquée les années avec une pression modérée de la maladie. À forte ou faible pression, cet effet était moindre, soit (i) parce que le flux de spores — plus faible au sein de l’association (chapitre III) — n’était plus le facteur limitant, soit (ii) parce que l’impact global de la maladie était trop limité. Toutefois, cet effet ne s’est jamais avéré négatif dans nos expérimentations.

Bien que l’association de variétés ait tout à fait sa place dans le contexte de réduction des intrants, elle peut s’avérer relativement complexe à mettre en œuvre dans l’état de nos connaissances actuelles et requiert la mise en place de nouveaux outils adaptés. En effet, la prise en compte de nombreux facteurs — tels que la présence de différents pathogènes en interaction ou la concurrence entre variétés — font que cette pratique doit être bien raisonnée, notamment en termes de proportions ou de complémentarité entre résistances variétales (chapitre IV ; Jeger *et al.*, 1981a), au risque de se retrouver en situation d’échec. Dans le travail présenté dans ce mémoire, nous nous sommes concentrés uniquement sur l’intérêt des associations variétales d’un point de vue phytopathologique. Cependant, pour que ce type de pratique soit adopté durablement, il est bien entendu nécessaire de prendre en compte des critères environnementaux, sociaux et économiques.

Bibliographie

- Abramoff, M. D., Magalhaes, P. J. & Ram, S. J. (2004). Image processing with imagej. *Biophotonics International*, 11(7):36–42.
- Agrios, G. N. (2005). *Plant Pathology*. Elsevier Academic Press, Burlington (MA), USA, 5 édition.
- Allen, R. F. (1988). The mechanics of splashing. *Journal of Colloid and Interface Science*, 124(1):309–316.
- Altieri, M. A. (1995). *Agroecology : the science of sustainable agriculture*. Westview Press, Boulder (CO), USA, 2 édition.
- Altieri, M. A. (1999). The ecological role of biodiversity in agroecosystems. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 74(1):19–31.
- Andrews, D. J. & Kassam, A. H. (1976). The importance of multiple cropping in increasing world food supplies. *ASA Special Publication*, 27:1–10.
- Andrison, D., Lucas, J. M. & Elliseseche, D. (2003). Development of natural late blight epidemics in pure and mixed plots of potato cultivars with different levels of partial resistance. *Plant Pathology*, 52(5):586–594.
- Anonymous (2009). *Variétés de blé tendre : choisir ses variétés*. Arvalis - Institut du végétal, Paris, France.
- Atkinson, D. & McKinlay, R. G. (1997). Crop protection and its integration within sustainable farming systems. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 64(2):87–93.
- Audsley, E., Milne, A. & Paveley, N. (2005). A foliar disease model for use in wheat disease management decision support systems. *Annals of Applied Biology*, 147(2):161–172.
- Balogh, B., Momol, T., Obradovic, A. & Jones, J. (2009). Bacteriophages as agents for the control of plant pathogenic bacteria. In Walters, D., éditeur : *Disease control in crops : Biological and environmentally friendly approaches*, pages 246–256. Wiley-Blackwell, Chichester, UK.
- Bannon, F. J. & Cooke, B. M. (1998). Studies on dispersal of *Septoria tritici* pycnidiospores in wheat–clover intercrops. *Plant Pathology*, 47(1):49–56.

- Barillot, R. (2012). *Modélisation du partage de la lumière dans l'association de culture blé-pois (Triticum aestivum L. – Pisum sativum L.). Une approche de type plante virtuelle*. Thèse de doctorat, Université d'Angers, Angers.
- Barillot, R., Louarn, G., Escobar-Gutierrez, A. J., Huynh, P. & Combes, D. (2011). How good is the turbid medium-based approach for accounting for light partitioning in contrasted grass-legume intercropping systems? *Annals of Botany*, 108(6):1013–1024.
- Bearechell, S. J., Fraaije, B. A., Shaw, M. W. & Fitt, B. D. L. (2005). Wheat archive links long-term fungal pathogen population dynamics to air pollution. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 102(15):5438–5442.
- Beddington, J. (2010). Food security : contributions from science to a new and greener revolution. *Philosophical Transactions of the Royal Society B : Biological Sciences*, 365(1537):61–71.
- Belhaj Fraj, M., Falentin-Guyomarc'h, H., Monod, H. & Vallavieille-Pope, C. (2003). The use of microsatellite markers to determine the relative proportions of grain produced by cultivars and the frequency of hybridization in bread wheat mixtures. *Plant breeding*, 122(5):385–391.
- Bernard, F. (2012). *Le développement des champignons pathogènes foliaires répond à la température, mais à quelle température?* Thèse de doctorat, ABIES, AgroParisTech, Paris.
- Bowden, R., Shoyer, J., Roozeboom, K., Claasen, M., Evans, P., Gordon, B., Heer, B., Janssen, K., Long, J., Martin, J., Schlegel, A., Sears, R. & Witt, M. (2001). Performance of wheat variety blends in kansas. *Kansas State University Agricultural Extension Bulletin*, 128.
- Brophy, L. S. & Mundt, C. C. (1991). Influence of plant spatial patterns on disease dynamics, plant competition and grain yield in genetically diverse wheat populations. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 35(1):1–12.
- Brown, J. K. & Tellier, A. (2011). Plant-parasite coevolution : bridging the gap between genetics and ecology. *Annual Review of Phytopathology*, 49(1):345–367.
- Brown, J. K. M. & Hovmøller, M. S. (2002). Aerial dispersal of pathogens on the global and continental scales and its impact on plant disease. *Science*, 297(5581):537–541.
- Burdon, J. J. (1987). *Diseases and plant population biology*. Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom.
- Calonnec, A., Cartolaro, P., Naulin, J. M., Bailey, D. & Langlais, M. (2008). A host-pathogen simulation model : powdery mildew of grapevine. *Plant Pathology*, 57(3):493–508.

- Calonnec, A., Goyeau, H. & de Vallavieille-Pope, C. (1996). Effects of induced resistance on infection efficiency and sporulation of *Puccinia striiformis* on seedlings in varietal mixtures and on field epidemics in pure stands. *European Journal of Plant Pathology*, 102:733–741.
- Cassman, K. G. (1999). Ecological intensification of cereal production systems : Yield potential, soil quality, and precision agriculture. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 96(11):5952–5959.
- Castro, A. (2001). Cultivar mixtures. *The Plant Health Instructor*.
- Cheatham, M. R., Rouse, M. N., Esker, P. D., Ignacio, S., Pradel, W., Raymundo, R., Sparks, A. H., Forbes, G. A., Gordon, T. R. & Garrett, K. A. (2009). Beyond yield : plant disease in the context of ecosystem services. *Phytopathology*, 99(11):1228–1236.
- Chelle, M. & Andrieu, B. (1998). The nested radiosity model for the distribution of light within plant canopies. *Ecological Modelling*, 111(1):75–91.
- Chin, K. M., Wolfe, M. S. & Minchin, P. N. (1984). Host-mediated interactions between pathogen genotypes. *Plant Pathology*, 33(2):161–171.
- Coakley, S. M., Mc Daniel, L. R. & Shaner, G. (1985). Model for predicting severity of septoria tritici blotch on winter wheat. *Phytopathology*, 75(11):1245–1251.
- Collard, B. C. Y. & Mackill, D. J. (2008). Marker-assisted selection : an approach for precision plant breeding in the twenty-first century. *Philosophical Transactions of the Royal Society B : Biological Sciences*, 363(1491):557–572.
- Cools, H. J. & Fraaije, B. A. (2008). Are azole fungicides losing ground against septoria wheat disease? resistance mechanisms in *Mycosphaerella graminicola*. *Pest Management Science*, 64(7):681–684.
- Cornish, P. S., Baker, G. R. & Murray, G. M. (1990). Physiological responses of wheat (*Triticum aestivum*) to infection with *Mycosphaerella graminicola* causing septoria tritici blotch. *Australian Journal of Agricultural Research*, 41(2):317–327.
- Cowger, C. & Mundt, C. C. (2002). Effects of wheat cultivar mixtures on epidemic progression of septoria tritici blotch and pathogenicity of *Mycosphaerella graminicola*. *Phytopathology*, 92(6):617–623.
- Cox, C. M., Garrett, K. A., Bowden, R. L., Fritz, A. K., Dendy, S. P. & Heer, W. F. (2004). Cultivar mixtures for the simultaneous management of multiple diseases : Tan spot and leaf rust of wheat. *Phytopathology*, 94(9):961–969.

- Cunfer, B. M. & Ueng, P. P. (1999). Taxonomy and identification of septoria and stagonospora species on small-grain cereals. *Annual Review of Phytopathology*, 37(1):267–284.
- Doré, T., Le Bail, M., Martin, P., Ney, B., Roger-Estrade, J. & Sebillotte, M. (2006). *L'agronomie aujourd'hui*. Quae.
- Drinkwater, L. E., Wagoner, P. & Sarrantonio, M. (1998). Legume-based cropping systems have reduced carbon and nitrogen losses. *Nature*, 396(6708): 262–265.
- Dufour-kowalski, S., Bassette, C. & Bussière, F. (2007). A software for the simulation of rainfall distribution on 3d plant architecture : Pydrop. In Prusinkiewicz, P., Hanan, J. & Lane, B., éditeurs : *5th International Workshop on Functional Structural Plant Models*, pages 125–127, Napier, NZ.
- Duncan, K. E. & Howard, R. J. (2000). Cytological analysis of wheat infection by the leaf blotch pathogen *Mycosphaerella graminicola*. *Mycological Research*, 104(9):1074–1082.
- Evenson, R. E. & Gollin, D. (2003). Assessing the impact of the green revolution, 1960 to 2000. *Science*, 300(5620):758–762.
- Eyal, Z. (1987). *The Septoria diseases of wheat : concepts and methods of disease management*. CIMMYT.
- Eyal, Z. (1999). Septoria and stagonospora diseases of cereals : a comparative perspective. In Lucas, J. A., Bowyer, P. & Anderson, H. M., éditeurs : *Septoria on cereals : a study of pathosystems*, pages 1–25. CABI Publishing, Oxon, UK.
- Eyal, Z., Scharen, A. L., Prescott, J. M. & van Ginkel, M. (1987). *The septoria diseases of wheat : Concepts and methods of disease management*. CIMMYT.
- Fabre, F., Rousseau, E., Mailleret, L. & Moury, B. (2012). Durable strategies to deploy plant resistance in agricultural landscapes. *New Phytologist*, 193(4): 1064–1075.
- Finckh, M. R. (2008). Integration of breeding and technology into diversification strategies for disease control in modern agriculture. *European Journal of Plant Pathology*, 121(3):399–409.
- Finckh, M. R., Gacek, E. S., Goyeau, H., Lannou, C., Merz, U., Mundt, C. C., Munk, L., Nadziak, J., Newton, A. C., de Vallavieille-Pope, C. & Wolfe, M. S. (2000). Cereal variety and species mixtures in practice, with emphasis on disease resistance. *Agronomie*, 20(7):813–837.
- Finckh, M. R. & Mundt, C. C. (1992a). Plant competition and disease in genetically diverse wheat populations. *Oecologia*, 91(1):82–92.

- Finckh, M. R. & Mundt, C. C. (1992b). Stripe rust, yield, and plant competition in wheat cultivar mixtures. *Phytopathology*, 82(9):905–913.
- Finckh, M. R. & Wolfe, M. S. (2006). Diversification strategies. In Cooke, B. M., Jones, D. G. & Kaye, B., éditeurs : *The Epidemiology of Plant Diseases*, pages 269–307, Dordrecht, Netherlands. Springer Netherlands.
- Fitt, B. D. L., Fraaije, B. A., Chandramohan, P. & Shaw, M. W. (2011). Impacts of changing air composition on severity of arable crop disease epidemics. *Plant Pathology*, 60(1):44–53.
- Fitt, B. D. L., Lysandrou, M. & Turner, R. H. (1982). Measurement of spore-carrying splash droplets using photographic film and image-analysing computer. *Plant Pathology*, 31:19–24.
- Fitt, B. D. L. & McCartney, H. A. (1986a). Spore dispersal in relation to epidemic models. In Leonard, K. J. & Fry, W. E., éditeurs : *Plant Disease Epidemiology : Population Dynamics and Management*, volume 1, pages 311–345. Macmillan, New York.
- Fitt, B. D. L. & McCartney, H. A. (1986b). Spore dispersal in splash droplets. In Ayres, P. G. & Boddy, L., éditeurs : *Water, Fungi and Plants*, pages 87–104. Cambridge University Press.
- 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. *Annals of Applied Biology*, 112(1):49–59.
- Fitt, B. D. L., McCartney, H. A. & Walklate, P. J. (1989). The role of rain in dispersal of pathogen inoculum. *Annual Review of Phytopathology*, 27(1):241–270.
- Fitt, B. D. L., Walklate, P. J., McCartney, H. A., Bainbridge, A., Creighton, N. F., Hirst, J. M., Lacey, M. E. & Legg, B. J. (1986). A rain tower and wind tunnel for studying the dispersal of plant pathogens by rain and wind. *Annals of Applied Biology*, 109(3):661–671.
- Fournet, J. (1969). Propriétés et rôle du cirrhe du *Septoria nodorum* berk. *Annales de Phytopathologie*, 1:87–94.
- Fournier, C. & Andrieu, B. (1999). ADEL-maize : an L-system based model for the integration of growth processes from the organ to the canopy. application to regulation of morphogenesis by light availability. *Agronomie*, 19(3-4):313–327.
- Fournier, C., Andrieu, B., Ljutovac, S. & Saint-Jean, S. (2003). ADEL-wheat : a 3D architectural model of wheat development. In *International Symposium on Plant Growth Modeling, Simulation, Visualization and their Applications*, Beijing, China.

- Gacek, E. (1997). Summarized variety mixture information given to polish farmers. In Wolfe, M. S., éditeur : *Variety Mixtures in theory and practice*, Grignon, France. Cost Action 817, INRA.
- Garrett, K. A. & Cox, C. M. (2006). Applied biodiversity science : managing emerging diseases in agriculture and linked natural systems using ecological principles. In Ostfeld, R., Keesing, F. & Eviner, V., éditeurs : *Cary conference XI : infectious disease ecology : the effects of ecosystems on disease and of disease on ecosystems*, Princeton, New Jersey. Princeton University Press.
- Garrett, K. A. & Mundt, C. C. (1999). Epidemiology in mixed host populations. *Phytopathology*, 89(11):984–990.
- Garrett, K. A. & Mundt, C. C. (2000). Host diversity can reduce potato late blight severity for focal and general patterns of primary inoculum. *Phytopathology*, 90(12):1307–1312.
- Gate, P. (1995). *Écophysiologie du blé*. Lavoisier, Paris, France.
- Geagea, L., Huber, L. & Sache, I. (1999). Dry-dispersal and rain-splash of brown (*Puccinia recondita* f. sp. *tritici*) and yellow (*P. striiformis*) rust spores from infected wheat leaves exposed to simulated raindrops. *Plant Pathology*, 48(4): 472–482.
- Geagea, L., Huber, L., Sache, I., Flura, D., McCartney, H. A. & Fitt, B. D. L. (2000). Influence of simulated rain on dispersal of rust spores from infected wheat seedlings. *Agricultural and Forest Meteorology*, 101(1):53–66.
- Gigot, C. (2009). Progression de la septoriose du blé au sein d'associations culturales sous l'action de la pluie. Mémoire de D.E.A., Montpellier SupAgro, Montpellier.
- Gigot, C., Saint-Jean, S., Huber, L., Maumené, C., Leconte, M., Kerhornou, B. & de Vallavieille-Pope, C. (2013). Protective effects of a wheat cultivar mixture against splash-dispersed septoria tritici blotch epidemics. *Plant Pathology*.
- Goleniewski, G. & Newton, A. C. (1994). Modelling the spread of fungal diseases using a nearest neighbour approach : effect of geometrical arrangement. *Plant Pathology*, 43(4):631–643.
- Gouache, D. & Couleaud, G. (2009). Timing of fungicide treatments against Septoria : stakes and potential of the "SeptoLIS" model. In *Association Française de Protection des Plantes, 9^{ème} conférence internationale sur les maladies des plantes, Tours, France, 8 et 9 décembre 2009.*, pages 455–463. Association Française de Protection des Plantes (AFPP).
- Goudie, J. W., Polsson, K. R. & Ott, P. K. (2009). An empirical model of crown shyness for lodgepole pine (*Pinus contorta* var. *latifolia* [engl.] critch.) in British Columbia. *Forest Ecology and Management*, 257(1):321–331.

- Green, J. M. & Beestman, G. B. (2007). Recently patented and commercialized formulation and adjuvant technology. *Crop Protection*, 26(3):320–327.
- Gregory, P. H. (1961). The microbiology of the atmosphere. *Plant Science Monographs*, 5.
- Gregory, P. H., Guthrie, E. J. & Bunce, M. E. (1959). Experiments on splash dispersal of fungus spores. *Journal of General Microbiology*, 20(2):328–354.
- HaiYong, H., XiaoJun, C., ShiPing, W., XueHui, Y., Jian, J., XueSong, F., Xia, L. & Jie, Y. (2008). Effects of intercropping between hybrid indica rice varieties and local glutinous varieties on rice blast and lodge resistance of local glutinous varieties. *Guizhou Agricultural Sciences*, 4:97–98.
- Hassanali, A., Herren, H., Khan, Z. R., Pickett, J. A. & Woodcock, C. M. (2008). Integrated pest management : the push–pull approach for controlling insect pests and weeds of cereals, and its potential for other agricultural systems including animal husbandry. *Philosophical Transactions of the Royal Society B : Biological Sciences*, 363(1491):611–621.
- Hazell, P. & Wood, S. (2008). Drivers of change in global agriculture. *Philosophical Transactions of the Royal Society B : Biological Sciences*, 363(1491):495–515.
- Helland, S. J. & Holland, J. B. (2001). Blend response and stability and cultivar blending ability in oat. *Crop Science*, 41(6):1689–1696.
- Hirst, J. M. (1952). An automatic volumetric spore trap. *Annals of Applied Biology*, 39(2):257–265.
- Huang, C., Sun, Z., Wang, H., Luo, Y. & Ma, Z. (2012). Effects of wheat cultivar mixtures on stripe rust : A meta-analysis on field trials. *Crop Protection*, 33:52–58.
- Huang, R., Kranz, J. & Welz, H. G. (1994). Selection of pathotypes of *Erysiphe graminis* f. sp. *hordei* in pure and mixed stands of spring barley. *Plant Pathology*, 43(3):458–470.
- Huber, L., Fitt, B. D. L. & McCartney, H. A. (1996). The incorporation of pathogen spores into rain-splash droplets : a modelling approach. *Plant Pathology*, 45(3):506–517.
- Huber, L., Madden, L. V. & Fitt, B. D. L. (2006). Environmental biophysics applied to the dispersal of fungal spores by rain-splash. In Cooke, B. M., Jones, D. G. & Kaye, B., éditeurs : *The Epidemiology of Plant Diseases*, pages 417–444. Kluwer Academic Publishers.
- Huber, L., McCartney, H. A. & Fitt, B. D. L. (1997). Influence of target characteristics on the amount of water splashed by impacting drops. *Agricultural and Forest Meteorology*, 87(2):201–211.

- Hunter, T., Peacock, L., Turner, H. & Brain, P. (2002). Effect of plantation design on stem-infecting form of rust in willow biomass coppice. *Forest Pathology*, 32(2):87–97.
- IAASTD (2008). Executive summary of the synthesis report of the international assessment of agricultural knowledge, science and technology for development (IAASTD). Rapport technique, IAASTD. Disponible à : <http://www.agassessment.org>.
- Jeger, M. J. (1999). Improved understanding of dispersal in crop pest and disease management : current status and future directions. *Agricultural and Forest Meteorology*, 97(4):331–349.
- Jeger, M. J. (2004). Analysis of disease progress as a basis for evaluating disease management practices. *Annual Review of Phytopathology*, 42(1):61–82.
- Jeger, M. J., Griffiths, E. & Jones, D. G. (1981a). Disease progress of non-specialised fungal pathogens in intraspecific mixed stands of cereal cultivars. I. Models. *Annals of Applied Biology*, 98(2):187–198.
- Jeger, M. J., Jones, D. G. & Griffiths, E. (1981b). Disease progress of non-specialised fungal pathogens in intraspecific mixed stands of cereal cultivars. II. Field experiments. *Annals of Applied Biology*, 98(2):199–210.
- Johnson, R. (1979). The concept of durable resistance. *Phytopathology*, 69:198–199.
- Kampmeijer, P. & Zadoks, J. C. (1977). *EPIMUL, a simulator of foci and epidemics in mixtures of resistant and susceptible plants, mosaics and multilines*. Centre for Agricultural Publishing and Documentation, Wageningen, Netherlands.
- Kema, G. H. J., Yu, D., Rijkenberg, F. H. J., Shaw, M. W. & Baayen, R. P. (1996). Histology of the pathogenesis of *Mycosphaerella graminicola* in wheat. *Phytopathology*, 86(7):777–786.
- Kølster, P., Munk, L. & Stølen, O. (1989). Disease severity and grain yield in barley multilines with resistance to powdery mildew. *Crop Science*, 29(6):1459–1463.
- Lacey, M. E. & West, J. S. (2006). *The Air Spora : A Manual for Catching and Identifying Airborne Biological Particles*. Springer.
- Lannou, C., de Vallavieille-Pope, C. & Goyeau, H. (1994). Host mixture efficacy in disease control : Effects of lesion growth analyzed through computer-simulated epidemics. *Plant Pathology*, 43(4):651–662.
- Lannou, C., de Vallavieille-Pope, C. & Goyeau, H. (1995). Induced resistance in host mixtures and its effect on disease control in computer-simulated epidemics. *Plant Pathology*, 44(3):478–489.

- Leath, S., Scharen, A. L., Lund, R. E. & Dietz-Holmes, M. E. (1993). Factors associated with global occurrences of septoria nodorum blotch and septoria tritici blotch of wheat. *Plant Disease*, 77(12):1266–1270.
- Leigh, R. A. & Johnston, A. E. (1994). *Long-term experiments in agricultural and ecological sciences; proceedings of a conference to celebrate the 150th Anniversary of Rothamsted Experimental Station, held at Rothamsted, 14-17 July 1993*. CAB International, Wallingford (UK).
- Leroux, P. & Walker, A. S. (2011). Multiple mechanisms account for resistance to sterol 14 α -demethylation inhibitors in field isolates of *Mycosphaerella graminicola*. *Pest Management Science*, 67(1):44–59.
- Leroux, P., Walker, A. S., Couleaud, G., Maumené, C. & Le Henaff, G. (2007). Field strategies to manage fungicide resistance in *Mycosphaerella graminicola*, the causal agent of wheat leaf blotch. In Dehne, H. W., Deising, H. B., Gisi, U., Kuck, K. H., Russell, P. E. & Lyr, H., éditeurs : *15th International Reinhardtsbrunn Symposium on Modern Fungicides and Antifungal Compounds*, pages 143–149.
- Long, J. N. & Smith, F. W. (1992). Volume increment in *Pinus contorta* var. *latifolia* : the influence of stand development and crown dynamics. *Forest Ecology and Management*, 53(1-4):53–64.
- Louarn, G., Da Silva, D., Godin, C. & Combes, D. (2012). Simple envelope-based reconstruction methods can infer light partitioning among individual plants in sparse and dense herbaceous canopies. *Agricultural and Forest Meteorology*, 166:98–112.
- Lovell, D. J., Hunter, T., Powers, S. J., Parker, S. R. & Van den Bosch, F. (2004a). Effect of temperature on latent period of septoria leaf blotch on winter wheat under outdoor conditions. *Plant Pathology*, 53(2):170–181.
- Lovell, D. J., Parker, S. R., Hunter, T., Royle, D. J. & Coker, R. R. (1997). Influence of crop growth and structure on the risk of epidemics by *Mycosphaerella graminicola* (*Septoria tritici*) in winter wheat. *Plant Pathology*, 46(1):126–138.
- Lovell, D. J., Parker, S. R., Hunter, T., Welham, S. J. & Nichols, A. R. (2004b). Position of inoculum in the canopy affects the risk of septoria tritici blotch epidemics in winter wheat. *Plant Pathology*, 53(1):11–21.
- Lovell, D. J., Powers, S. J., Welham, S. J. & Parker, S. R. (2004c). A perspective on the measurement of time in plant disease epidemiology. *Plant Pathology*, 53(6):705–712.
- Ma, T., Zhou, C., Zhu, T. & Cai, Q. (2008). Modelling raindrop impact and splash erosion processes within a spatial cell : a stochastic approach. *Earth Surface Processes and Landforms*, 33(5):712–723.

- van Maanen, A. & Xu, X. M. (2003). Modelling plant disease epidemics. *European Journal of Plant Pathology*, 109(7):669–682.
- Mackie, J. M. & Irwin, J. A. G. (1998). The proportion of individual lucerne plants resistant to *Phytophthora medicaginis* and *Colletotrichum trifolii* in australian cultivars. *Australian Journal of Experimental Agriculture*, 38(1):41–44.
- Madden, L. V. (1992). Rainfall and the dispersal of fungal spores. *Advanced Plant Pathology*, 8:39–79.
- Madden, L. V. (1997). Effects of rain on splash dispersal of fungal pathogens. *Canadian Journal of Plant Pathology*, 19(2):225–230.
- Madden, L. V., Yang, X. & Wilson, L. L. (1996). Effects of rain intensity on splash dispersal of *Colletotrichum acutatum*. *Phytopathology*, 86(8):864–874.
- Magboul, A. M., Geng, S., Gilchrist, D. G. & Jackson, L. F. (1992). Environmental influence on the infection of wheat by *Mycosphaerella graminicola*. *Phytopathology*, 82(12):1407–1413.
- Malézieux, E., Crozat, Y., Dupraz, C., Laurans, M., Makowski, D., Ozier-Lafontaine, H., Rapidel, B., De Tourdonnet, S. & Valantin-Morison, M. (2009). Mixing plant species in cropping systems : concepts, tools and models. a review. *Agronomy for Sustainable Development*, 29(1):43–62.
- Marceau, A., Loubet, B., Andrieu, B., Durand, B., Foueillassar, X. & Huber, L. (2011). Modelling diurnal and seasonal patterns of maize pollen emission in relation to meteorological factors. *Agricultural and Forest Meteorology*, 151(1): 11–21.
- Marceau, A., Saint-Jean, S., Loubet, B., Foueillassar, X. & Huber, L. (2012). Biophysical characteristics of maize pollen : Variability during emission and consequences on cross-pollination risks. *Field Crops Research*, 127(0):51–63.
- McCann, K. S. (2000). The diversity-stability debate. *Nature*, 405(6783):228–233.
- McCartney, H. A. & Fitt, B. D. L. (1985). Construction of dispersal models. In Gilligan, C. A., éditeur : *Advances in Plant Pathology : Mathematical Modeling of Crop Diseases*, volume 3, pages 107–143. Academic Press, London.
- McCartney, H. A., Fitt, B. D. L. & Schmechel, D. (1997). Sampling bioaerols in plant pathology. *Journal of Aerosol Science*, 28(3).
- McCartney, H. A., Fitt, B. D. L. & West, J. S. (2006). Dispersal of foliar plant pathogens : mechanisms, gradients and spatial patterns. In Cooke, B. M., Gareth Jones, D. & Kaye, B., éditeurs : *The epidemiology of plant diseases*, pages 159–192. Springer, 2 édition.

- McCracken, A. R., Dawson, W. M. & Bowden, G. (2001). Yield responses of willow (*Salix*) grown in mixtures in short rotation coppice (src). *Biomass and Bioenergy*, 21(5):311–319.
- McDonald, B. A. & Linde, C. (2002). Pathogen population genetics, evolutionary potential, and durable resistance. *Annual Review of Phytopathology*, 40:349–379.
- Médiène, S., Valantin-Morison, M., Sarthou, J. P., de Tourdonnet, S., Gosme, M., Bertrand, M., Roger-Estrade, J., Aubertot, J. N., Rusch, A., Motisi, N., Pelosi, C. & Doré, T. (2011). Agroecosystem management and biotic interactions : a review. *Agronomy For Sustainable Development*, 31(3):491–514.
- Meynard, J. M., Justes, E., Machet, J. M. & Recous, S. (1997). Fertilisation azotée des cultures annuelles de plein champ. *Colloques-INRA*, pages 183–200.
- Meynard, J. M. & Sebillote, M. (1994). L'élaboration du rendement du blé, base pour l'étude des autres céréales à talles. In Combe, L. & Picard, D., éditeurs : *Élaboration du rendement des principes cultures annuelles*, pages 31–51. INRA Éditions.
- Mille, B., Belhaj Fraj, M., Monod, H. & de Vallavieille-Pope, C. (2006). Assessing four-way mixtures of winter wheat cultivars from the performances of their two-way and individual components. *European Journal of Plant Pathology*, 114(2):163–173.
- Mille, B. & Jouan, B. (1997). Influence of varietal associations on the development of leaf and glume blotch and brown leaf rust in winter bread wheat. *Agronomie*, 17(4):247–251.
- Mitchell, D. (2008). A note on rising food prices. *World Bank Policy Research Working Paper*, 4682.
- Møller, I. S., Gilliam, M., Jha, J., Mayo, G. M., Roy, S. J., Coates, J. C., Haseloff, J. & Tester, M. (2009). Shoot Na^+ exclusion and increased salinity tolerance engineered by cell type-specific alteration of Na^+ transport in Arabidopsis. *The Plant Cell*, 21(7):2163–2178.
- Momol, M. T., Jones, J. B., Olson, S. M., Obradovic, A., Balogh, B. & King, P. (2002). Integrated management of bacterial spot on tomato in Florida. *Online : EDIS, Institute of Food and Agricultural Sciences, University of Florida*.
- Moreau, J. M. & Maraite, H. (1999). Integration of knowledge on wheat phenology and septoria tritici epidemiology into a disease risk simulation model validated in Belgium. *Aspects of Applied Biology*, 55:1–6.
- Moreno-Ruiz, G., Castillo-Zapata, J., Sifuentes, J. & Browning, J. A. (1990). The variety colombia : a variety of coffee with resistance to rust (*Hemileia vastatrix* berk. & br.). *Technical Bulletin*, 9.

- Morris, K. J. (1995). Modern microscopic methods of bioaerosols analysis. *In* Cox, C. S. & Wathes, C. M., éditeurs : *Bioaerosols handbook*, pages 285–316. Lewis Publishers.
- Mundt, C. & Browning, J. (1985). Development of crown rust epidemics in genetically diverse oat populations : Effect of genotype unit area. *Phytopathology*, 75(5):607–610.
- Mundt, C. C. (1994). Use of host genetic diversity to control cereal diseases : implications for rice blast. *In* Zeigler, R. S., Leong, S. A. & Teng, P. S., éditeurs : *Rice Blast Disease*, pages 293–308. CAB International, London, UK.
- Mundt, C. C. (2002). Use of multiline cultivars and cultivar mixtures for disease management. *Annual Review of Phytopathology*, 40:381–410.
- Mundt, C. C. (2009). Importance of autoinfection to the epidemiology of polycyclic foliar disease. *Phytopathology*, 99(10):1116–1120.
- Mundt, C. C., Brophy, L. S. & Schmitt, M. S. (1995a). Choosing crop cultivars and cultivar mixtures under low versus high disease pressure : A case study with wheat. *Crop Protection*, 14(6):509–515.
- Mundt, C. C., Brophy, L. S. & Schmitt, M. S. (1995b). Disease severity and yield of pure-line wheat cultivars and mixtures in the presence of eyespot, yellow rust, and their combination. *Plant Pathology*, 44(1):173–182.
- Mundt, C. C., Hayes, P. M. & Schön, C. C. (1994). Influence of barley variety mixtures on severity of scald and net blotch and on yield. *Plant Pathology*, 43(2):356–361.
- Mundt, C. C. & Leonard, K. J. (1985a). 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(10):1141–1145.
- Mundt, C. C. & Leonard, K. J. (1985b). 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(10):1141–1145.
- Mundt, C. C. & Leonard, K. J. (1986a). Analysis of factors affecting disease increase and spread in mixtures in immune and susceptible plants in computer-simulated epidemics. *Phytopathology*, 76(8):832–840.
- Mundt, C. C. & Leonard, K. J. (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(9):895–900.

- 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(6):590–598.
- Murray, G. M., Martin, R. H. & Cullis, B. R. (1990). Relationship of the severity of septoria tritici blotch of wheat to sowing time, rainfall at heading and average susceptibility of wheat cultivars in the area. *Australian Journal of Agricultural Research*, 41(2):307–315.
- Newton, A. C. (2009). Plant disease control through the use of variety mixtures. In Walters, D., éditeur : *Disease control in crops : Biological and environmentally friendly approaches*, pages 162–171. Wiley-Blackwell, Chichester, UK.
- Newton, A. C., Akar, T., Baresel, J. P., Bebeli, P. J., Bettencourt, E., Bladenopoulos, K. V., Czembor, J. H., Fasoula, D. A., Katsiotis, A., Koutis, K. *et al.* (2010). Cereal landraces for sustainable agriculture. a review. *Agronomy for Sustainable Development*, 30(2):237–269.
- Newton, A. C., Ellis, R. P., Hackett, C. A. & Guy, D. C. (1997). The effect of component number on *Rhynchosporium secalis* infection and yield in mixtures of winter barley cultivars. *Plant Pathology*, 46(6):930–938.
- Newton, A. C. & Guy, D. C. (2009). The effects of uneven, patchy cultivar mixtures on disease control and yield in winter barley. *Field Crops Research*, 110(3):225–228.
- Newton, A. C., Guy, D. C., Nadziak, J. & Gacek, E. S. (2002). The effect of inoculum pressure, germplasm selection and environment on spring barley cultivar mixtures efficacy. *Euphytica*, 125(3):325–335.
- Ntahimpera, N., Dillard, H., Cobb, A. & Seem, R. (1996). Anthracnose development in mixtures of resistant and susceptible dry bean cultivars. *Phytopathology*, 86(6):668–673.
- Oerke, E. (2006). Crop losses to pests. *The Journal of Agricultural Science*, 144(01):31–43.
- Orton, E. S., Deller, S. & Brown, J. K. M. (2011). *Mycosphaerella graminicola* : from genomics to disease control. *Molecular Plant Pathology*, 12(5):413–424.
- Oste, B., Huguerot, G., Delos, M., Freydier, M., Henaff, G., Gatellet, J., Pillon, O., Feurprier, B. & Vergnaud, A. (2000). Bilan phyto-sanitaire de la campagne 1998/99. *Phytoma — la défense des végétaux*, 523:12–16.
- Papaïx, J., Goyeau, H., du Cheyron, P., Monod, H. & Lannou, C. (2011). Influence of cultivated landscape composition on variety resistance : an assessment based on wheat leaf rust epidemics. *New Phytologist*, 191(4):1095–1107.

- Paul, P. A., El-Allaf, S. M., Lipps, P. E. & Madden, L. V. (2004). Rain splash dispersal of *Gibberella zeae* within wheat canopies in Ohio. *Phytopathology*, 94:1342–1349.
- Pautasso, M., Döring, T. F., Garbelotto, M., Pellis, L. & Jeger, M. J. (2012). Impacts of climate change on plant diseases—opinions and trends. *European Journal of Plant Pathology*, 133:295–313.
- Peacock, L., Hunter, T., Turner, H. & Brain, P. (2001). Does host genotype diversity affect the distribution of insect and disease damage in willow cropping systems? *Journal of applied ecology*, 38(5):1070–1081.
- Pfahler, P. L. & Linskens, H. F. (1979). Yield stability and population diversity in oats (*Avena* sp.). *Theoretical and Applied Genetics*, 54(1):1–5.
- Phillips, S. L., Shaw, M. W. & Wolfe, M. S. (2005). The effect of potato variety mixtures on epidemics of late blight in relation to plot size and level of resistance. *Annals of Applied Biology*, 147(3):245–252.
- Pickett, J. A., Birkett, M. A., Moraes, M. C., Bruce, T. J. A., Chamberlain, K., Gordon-Weeks, R., Matthes, M. C., Napier, J. A., Smart, L. E., Wadhams, L. J. & Woodcock, C. M. (2007). cis-jasmone as allelopathic agent in inducing plant defence. *Allelopathy Journal*, 19(1):109–118.
- Pielaat, A. & Van Den Bosch, F. (1998). A model for dispersal of plant pathogens by rainsplash. *IMA Journal of Mathematics Applied in Medicine and Biology*, 15(2):117–134.
- Pielaat, A., Van Den Bosch, F., Fitt, B. D. L. & Jeger, M. J. (2002). Simulation of vertical spread of plant diseases in a crop canopy by stem extension and splash dispersal. *Ecological Modelling*, 151(2):195–212.
- Pilet, F., Chacon, G., Forbes, G. A. & Andrivon, D. (2006). Protection of susceptible potato cultivars against late blight in mixtures increases with decreasing disease pressure. *Phytopathology*, 96(7):777–783.
- Pinheiro, J., Bates, D., DebRoy, S., Sarkar, D. & R Core Team (2013). *nlme : Linear and Nonlinear Mixed Effects Models*. R package version 3.1-107.
- Quaedvlieg, W., Kema, G. H. J., Groenewald, J. Z., Verkley, G. J. M., Seifbarghi, S., Razavi, M., Gohari, A. M., Mehrabi, R. & Crous, P. W. (2011). *Zymoseptoria* gen. nov. : a new genus to accommodate septoria-like species occurring on graminicolous hosts. *Persoonia*, 26:57–69.
- R Development Core Team (2010). *R : A language and environment for statistical computing*. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0.

- Raboin, L. M., Ramanantsoanirina, A., Dusserre, J., Razasolofonahary, F., Tharreau, D., Lannou, C. & Sester, M. (2012). Two-component cultivar mixtures reduce rice blast epidemics in an upland agrosystem. *Plant Pathology*, 61(6):1103–1111.
- Rapilly, F. (1991). *L'épidémiologie en pathologie végétale : mycoses aériennes*. INRA, Paris, France.
- Rapilly, F. (2001). Champignons des plantes : les premiers agents pathogènes reconnus dans l'histoire des sciences. *Comptes Rendus de l'Académie des Sciences-Series III-Sciences de la Vie*, 324(10):893–898.
- Rapilly, F. & Jolivet, E. (1976). Construction d'un modèle (EPISEPT) permettant la simulation d'une épidémie de *Septoria nodorum* berk. sur blé. *Revue de Statistique Appliquée*, 24:31–60.
- Rasband, W. S. (1997–2011). *ImageJ*. U.S. National Institutes of Health, Bethesda, Maryland, USA.
- Ratnadass, A., Fernandes, P., Avelino, J. & Habib, R. (2012). Plant species diversity for sustainable management of crop pests and diseases in agroecosystems : a review. *Agronomy for Sustainable Development*, 32(1):273–303.
- Revilla-Molina, I. M. (2009). *Genetic diversity for sustainable rice blast management in China : adoption and impact*. Thèse de doctorat, Wageningen University, Wageningen, Netherlands.
- Reynolds, K. M., Bulger, M. A., Madden, L. V. & Ellis, M. A. (1987). New methods using simulated rain to study the splash dispersal of plant pathogens. *Phytopathology*, 77(6):921–926.
- Robert, C. (2003). *Étude et modélisation du fonctionnement d'un couvert de blé attaqué par le complexe parasitaire Puccinia triticina - Mycosphaerella graminicola*. Thèse de doctorat, Institut National Agronomique Paris-Grignon.
- Robert, C., Fournier, C., Andrieu, B. & Ney, B. (2008). Coupling a 3D virtual wheat (*Triticum aestivum*) plant model with a *Septoria tritici* epidemic model (Septo3D) : a new approach to investigate plant–pathogen interactions linked to canopy architecture. *Functional Plant Biology*, 35(10):997–1013.
- Room, P., Hanan, J. & Prusinkiewicz, P. (1996). Virtual plants : new perspectives for ecologists, pathologists and agricultural scientists. *Trends in Plant Science*, 1(1):33–38.
- Rémy, J. C. & Hébert, J. (1977). Le devenir des engrais azotés dans le sol. *CR Académie Agriculture France*, 63:700–710.
- Sache, Y. (2007). L'épidémiologie. In Lepoivre, P., éditeur : *Phytopathologie*, pages 193–213. De Boeck Université.

- Saint-Jean, S. (2003). *Étude expérimentale et numérique du mécanisme de transfert d'eau par éclaboussement de gouttes de pluie dans une structure tridimensionnelle — Application au cas d'une structure végétale en vue de l'analyse de processus de contamination à courte distance*. Thèse de doctorat, Université Paris-Sud XI, Paris.
- Saint-Jean, S., Chelle, M. & Huber, L. (2004). Modelling water transfer by rain-splash in a 3D canopy using Monte Carlo integration. *Agricultural and Forest Meteorology*, 121(3-4):183–196.
- Saint-Jean, S., Testa, A., Kamoun, S. & Madden, L. V. (2005). Use of a green fluorescent protein marker for studying splash dispersal of sporangia of *Phytophthora infestans*. *European Journal of Plant Pathology*, 112(4):391–394.
- Saint-Jean, S., Testa, A., Madden, L. V. & Huber, L. (2006). Relationship between pathogen splash dispersal gradient and Weber number of impacting drops. *Agricultural and Forest Meteorology*, 141(2-4):257–262.
- Sanderson, F. R. & Hampton, J. G. (1978). Role of the perfect states in the epidemiology of the common septoria diseases of wheat. *New Zealand Journal of Agricultural Research*, 21(2):277–281.
- Saulas, P. (1993). Mise au point de la technique de mélange de variétés, pour une conduite du blé d'hiver à faible niveau d'intrants. Mémoire de D.E.A., ENSAM - École Nationale Supérieure d'Agronomie de Montpellier.
- Savary, S., Horgan, F., Willocquet, L. & Heong, K. L. (2012). A review of principles for sustainable pest management in rice. *Crop Protection*, 32:54–63.
- Shaner, G. & Finney, R. E. (1976). Weather and epidemics of septoria leaf blotch of wheat. *Phytopathology*, 66:781–785.
- Shaw, M. W., Bearchell, S. J., Fitt, B. D. L. & Fraaije, B. A. (2008). Long-term relationships between environment and abundance in wheat of *Phaeosphaeria nodorum* and *Mycosphaerella graminicola*. *New Phytologist*, 177(1):229–238.
- Shaw, M. W. & Royle, D. J. (1989). Airborne inoculum as a major source of *Septoria tritici* (*Mycosphaerella graminicola*) infections in winter wheat crops in the UK. *Plant Pathology*, 38(1):35–43.
- Shaw, M. W. & Royle, D. J. (1993). Factors determining the severity of epidemics of *Mycosphaerella graminicola* (*Septoria tritici*) on winter wheat in the uk. *Plant Pathology*, 42(6):882–899.
- Shipton, W. A., Boyd, W. R. J., Rosielle, A. A. & Shearer, B. I. (1971). The common septoria diseases of wheat. *The Botanical Review*, 37(2):231–262.
- Sifuentes Barrera, J. A. & Frederiksen, R. A. (1994). Evaluation of sorghum hybrid mixtures for controlling sorghum leaf blight. *Plant Disease*, 78(5):499–503.

- Sivanesan, A. (1990). *Mycosphaerella graminicola*. *CMI descriptions of pathogenic fungi and bacteria*, 986:51–52.
- Skelsey, P., Rossing, W. A. H., Kessel, G. J. T., Powell, J. & van der Werf, W. (2005). Influence of host diversity on development of epidemics : An evaluation and elaboration of mixture theory. *Phytopathology*, 95(4):328–338.
- Smithson, J. B. & Lenne, J. M. (1996). Varietal mixtures : a viable strategy for sustainable productivity in subsistence agriculture. *Annals of Applied Biology*, 128(1):127–158.
- Solomon, W. R., Burge, H. A., Boise, J. R. & Becker, M. (1980). Comparative particle recoveries by the retracting rotorod, rotoslide and Burkard spore trap sampling in a compact array. *International Journal of Biometeorology*, 24(2):107–116.
- Stepanov, K. M. (1935). Dissemination of infective diseases of plants by air currents. *Phytopathology*, 8:1–68.
- Sternberg, S. R. (1983). Biomedical image processing. *Computer*, 16(1):22–34.
- Stølen, O., Kølste, P. & Munk, L. (1987). Multilines and mixtures of cultivars in barley. In *Barley Genetics V*, pages 601–606.
- Suffert, F. & Satche, I. (2011). Relative importance of different types of inoculum to the establishment of *Mycosphaerella graminicola* in wheat crops in north-west europe. *Plant Pathology*, 60(5):878–889.
- Suffert, F., Satche, I. & Lannou, C. (2011). Early stages of septoria tritici blotch epidemics of winter wheat : build-up, overseasoning, and release of primary inoculum. *Plant Pathology*, 60(2):166–177.
- Testud, J., Oury, S., Black, R. A., Amayenc, P. & Dou, X. (2001). The concept of "normalized" distribution to describe raindrop spectra : A tool for cloud physics and cloud remote sensing. *Journal of Applied Meteorology*, 40(6):1118–1140.
- Thomas, M. R., Cook, R. J. & King, J. E. (1989). Factors affecting development of *Septoria tritici* in winter wheat and its effect on yield. *Plant Pathology*, 38(2):246–257.
- Tilman, D. (1998). The greening of the green revolution. *Nature*, 396(6708):211–212.
- Torriani, S. F. F., Brunner, P. C., McDonald, B. A. & Sierotzki, H. (2009). QoI resistance emerged independently at least 4 times in european populations of *Mycosphaerella graminicola*. *Pest Management Science*, 65(2):155–162.
- Tyldesley, J. B. & Thompson, N. (1980). Forecasting *Septoria nodorum* on winter wheat in England and Wales. *Plant Pathology*, 29(1):9–20.

- Uijlenhoet, R. & Stricker, J. N. M. (1999). A consistent rainfall parameterization based on the exponential raindrop size distribution. *Journal of Hydrology*, 218(3):101–127.
- Ulbrich, C. W. (1983). Natural variations in the analytical form of the raindrop size distribution. *Journal of Applied Meteorology*, 22(10):1764–1775.
- de Vallavieille-Pope, C. (2004). Management of disease resistance diversity of cultivars of a species in single fields : controlling epidemics. *Comptes Rendus Biologies*, 327(7):611–620.
- de Vallavieille-Pope, C., Belhaj Fraj, M., Mille, B. & Meynard, J. M. (2006). Les associations de variétés : accroître la biodiversité pour mieux maîtriser les maladies. *Les Dossiers de l'environnement de l'INRA*, 30:101–109.
- Vanloqueren, G. & Baret, P. V. (2008). Why are ecological, low-input, multi-resistant wheat cultivars slow to develop commercially ? a Belgian agricultural 'lock-in' case study. *Ecological Economics*, 66(2-3):436–446.
- Vanloqueren, G. & Baret, P. V. (2009). How agricultural research systems shape a technological regime that develops genetic engineering but locks out agroecological innovations. *Research Policy*, 38(6):971–983.
- Walklate, P. J., McCartney, H. A. & Fitt, B. D. L. (1989). Vertical dispersal of plant pathogens by splashing. II : Experimental study of the relationship between raindrop size and the maximum splash height. *Plant pathology*, 38(1):64–70.
- Walters, D. (2009). *Disease control in crops : biological and environmentally friendly approaches*. Wiley-Blackwell, Oxford, UK.
- Wilocquet, L. & Savary, S. (2004). An epidemiological simulation model with three scales of spatial hierarchy. *Phytopathology*, 94(8):883–891.
- Woldeamlak, A. (2001). *Mixed cropping of barley (*Hordeum vulgare*) and wheat (*Triticum aestivum*) landraces in the central highlands of Eritrea*. Thèse de doctorat, University of Asmara, Eritrea. Landbouwniversiteit Wageningen (Wageningen Agricultural University), Wageningen, Netherlands.
- Wolfe, M. S. (1985). The current status and prospects of multiline cultivars and variety mixtures for disease resistance. *Annual Review of Phytopathology*, 23(1):251–273.
- Wolfe, M. S. (1997). Variety mixtures : concept and value. In Wolfe, M. S., éditeur : *Variety mixtures in theory and practice*, Grignon, France. Cost Action 817, INRA.

- Wolfe, M. S., de Vallavieille-Pope, C., Lannou, C., Goyeau, H., Finckh, M. R., Munk, L., Merz, U., Valenghi, D. & Gacek, E. (1997). Mélanges variétaux de blés ou d'orges : Théorie, pratique et exemples. *Phytoma — la défense des végétaux*, 497:28–31.
- Xu, X. M. & Ridout, M. S. (2000). Stochastic simulation of the spread of race-specific and race-nonspecific aerial fungal pathogens in cultivar mixtures. *Plant Pathology*, 49(2):207–218.
- XueQian, Z. & HuaMing, L. (2006). Intercrop for rice blast management in sichuan province. *Southwest China Journal of Agricultural Sciences*, 19(3):418–422.
- Yang, X. & Madden, L. V. (1993). Effect of ground cover, rain intensity and strawberry plants on splash of simulated raindrops. *Agricultural and Forest Meteorology*, 65(1):1–20.
- Yang, X., Madden, L. V. & Brazee, R. D. (1991a). Application of the diffusion equation for modelling splash dispersal of point-source pathogens. *New phytologist*, 118(2):295–301.
- Yang, X., Madden, L. V., Reichard, D. L., Fox, R. D. & Ellis, M. A. (1991b). Motion analysis of drop impaction on a strawberry surface. *Agricultural and Forest Meteorology*, 56(1):67–92.
- Yang, X., Madden, L. V., Wilson, L. L. & Ellis, M. A. (1990). Effects of surface topography and rain intensity on splash dispersal of *Colletotrichum acutatum*. *Phytopathology*, 80(10):1115–1120.
- Zadoks, J. C., Chang, T. T. & Konzak, C. F. (1974). A decimal code for the growth stages of cereals. *Weed Research*, 14(6):415–421.
- Zamir, D. (2001). Improving plant breeding with exotic genetic libraries. *Nature Reviews Genetics*, 2(12):983–989.
- Zhu, Y., Chen, H., Fan, J., Wang, Y., Li, Y., Chen, J., Fan, J., Yang, S., Hu, L., Leung, H., Mew, T. W., Teng, P. S., Wang, Z. & Mundt, C. C. (2000). Genetic diversity and disease control in rice. *Nature*, 406(6797):718–722.
- Zhu, Y. Y., Chen, H. R., Fan, J. H., Wang, Y. Y., Li, Y., Fan, J. X., Yang, S. S., Ma, G. L., Chen, J. B., Li, Z. S. & Lu, B. R. (2003). The use of rice varietal diversity for rice blast control. *Agricultural Sciences in China*, 2(4):400–408.
- Zuckerman, E., Eshel, A. & Eyal, Z. (1997). Physiological aspects related to tolerance of spring wheat cultivars to septoria tritici blotch. *Phytopathology*, 87(1):60–65.

Annexes

Liste des communications

A Article de revues à comité de lecture

1. **Gigot, C.**, Saint-Jean, S., Huber, L., Maumené, C., Leconte, M., Kerhornou, B. & de Vallavieille-Pope, C. (2013). Protective effects of a wheat cultivar mixture against splash-dispersed septoria tritici blotch epidemics. *Plant Pathology* (sous presse). DOI : [10.1111/ppa.12012](https://doi.org/10.1111/ppa.12012).

B Présentations de conférences

1. Chelle, M., Pincebourde, S., Sache, I., Saudreau, M., Saint-Jean, S., Busière, F., Huber, L., Bernard, F., Leca, A., Caillon, R. & **Gigot, C.** (2012). Climate and plant pest dynamics : scales matter! *International Conference on Plant and Canopy Architecture Impact on Disease Epidemiology and Pest Development* :24. Rennes, France.

2. Girardin, G., **Gigot, C.**, Robert, C., de Vallavieille-Pope, C., Suffert, F. & Saint-Jean, S. (2012). Effect of wheat canopy architecture and rain characteristics on septoria tritici splash borne spores. *International Conference on Plant and Canopy Architecture Impact on Disease Epidemiology and Pest Development* :25. Rennes, France.

3. **Gigot, C.**, Saint-Jean, S., Huber, L., Leconte, M., Maumené, C. & de Vallavieille-Pope, C. (2012). Using wheat cultivar mixtures to reduce severity of septoria tritici blotch, a rain borne disease. *International Conference on Plant and Canopy Architecture Impact on Disease Epidemiology and Pest Development* :58. Rennes, France.

4. **Gigot, C.**, Saint-Jean, S., Huber, L., Leconte, M., Maumené, C., & de Vallavieille-Pope, C. (2012). Towards a better understanding of rain-borne septoria tritici blotch epidemics within wheat cultivar mixtures. *8^{ème} colloque de la Société Française de Phytopathologie* :22. Paris, France.

5. **Gigot, C.**, Huber, L., Maumené, C., de Vallavieille-Pope, C. & Saint-Jean, S. (2012). Potentialités des associations de variétés de blé pour freiner

la progression épidémique de la septoriose. *Journées ABIES : Risques sanitaires et environnementaux*. Paris, France.

6. Saint-Jean, S., **Gigot, C.**, Durand, B., Gueudet, J. C., de Vallavieille-Pope, C., *et al.* (2011). Valoriser la biodiversité spécifique et variétale à l'échelle de la parcelle agricole pour limiter l'utilisation des intrants chimiques et leurs impacts. *Les ressources génétiques face aux nouveaux enjeux environnementaux, économiques et sociétaux* :75–76. Montpellier, France.

7. **Gigot, C.**, de Vallavieille-Pope, C., Saint-Jean, S., Maumené, C., Leconte, M., Kerhornou, B. & Huber, L. (2011). Expansion of green leaf area in relation to reduction of septoria leaf blotch severity : comparison between bread wheat cultivar mixtures and pure stands. *8th International Symposium on Mycosphaerella and Stagonospora Diseases of Cereals* :37. Mexico, Mexique.

8. de Vallavieille-Pope, C., Belhaj Fraj, M., Mille, B., Meynard, J. M., **Gigot, C.** & Saint-Jean, S. (2011). Gestion des résistances génétiques : impacts sur l'élaboration des variétés et de leur utilisation agricole. *Les Rendez-Vous d'Herbalia*. Chemillé, France.

9. **Gigot, C.**, Saint-Jean, S., Huber, L., Kerhornou, B., Maumené, C., Leconte, M. & de Vallavieille-Pope, C. (2010). Decrease of wheat leaf blotch epidemic severity within a cultivar mixture. *Agro2010 – the XIth ESA Congress* :527–528. Montpellier, France.

C Posters de conférences

1. Robert, C., Abichou, M., Andrieu, B., Bancal, M. O., ..., **Gigot, C.**, *et al.* (2012). The ECHAP project : Reducing fungicide use by associating optimal treatment strategies and canopies promoting disease escape. *International Conference on Plant and Canopy Architecture Impact on Disease Epidemiology and Pest Development* :41. Rennes, France.

2. Lebon, V., **Gigot, C.**, Leconte, M., Pelzer, É., de Vallavieille-Pope, C. & Saint-Jean, S. (2012). Cultivar and species mixture effect on wheat septoria tritici blotch spreading. *International Conference on Plant and Canopy Architecture Impact on Disease Epidemiology and Pest Development* :44. Rennes, France.

3. **Gigot, C.**, Saint-Jean, S., Huber, L., Leconte, M., Gérard, L., Maumené, C. & de Vallavieille-Pope, C. (2012). Réduction de la sévérité de la septoriose du blé au sein d'une association variétale. *9^{èmes} Rencontres de Phytopathologie–Mycologie* :103. Aussois, France.

4. Girardin, G., **Gigot, C.**, Robert, C., de Vallavieille-Pope, C., Suffert, F. & Saint-Jean, S. (2011). Effect of wheat canopy architecture and rain characteristics

in splash dispersal of *Mycosphaerella graminicola* pycnidiospores. *8th International Symposium on Mycosphaerella and Stagonospora Diseases of Cereals* :87. Mexico, Mexique.

5. Gigot, C., du Cheyron, P., Durand, B., Gérard, L., Huber, L., Kerhornou, B., Leconte, M., Maumené, C., Saint-Jean, S. & de Vallavieille-Pope, C. (2011). Recours aux associations variétales pour diminuer la sévérité de la septoriose du blé. *4^{ème} Conférence Internationale sur les Méthodes Alternatives en Protection des Cultures* :175–182. Lille, France.

6. Gigot, C., Saint-Jean, S., Huber, L., de Vallavieille-Pope, C., Durand, B., Leconte, M., Kerhornou, B., Maumené, C. & du Cheyron, P. (2010). Associations variétales et contrôle de la septoriose du blé. *Rencontre au champ*. Frénouville, France.

7. Gigot, C., Saint-Jean, S., Huber, L., Leconte, M., Gérard, L. & de Vallavieille-Pope, C. (2010). Progression de l'épidémie de septoriose du blé au sein d'une association variétale. *8^{èmes} Rencontres de Phytopathologie–Mycologie* :56. Aussois, France.

8. Gigot, C., Saint-Jean, S., Huber, L., Leconte, M., Gérard, L. & de Vallavieille-Pope, C. (2009). Progression de la septoriose du blé au sein de différents types de cultures sous l'action de la pluie. *9^{ème} Conférence Internationale sur les Maladies des Plantes* :362–368. Tours, France.

D Mémoire

1. Gigot, C. (2009). Progression de la septoriose du blé au sein d'associations culturales sous l'action de la pluie. Mémoire de fin d'études d'ingénieur. Montpellier SupAgro, Montpellier, France.

EN Abstract

Increasing plant diversity within a crop by the use of cultivar mixtures is a strategy which allows to reduce severity of windborne diseases. Potentialities of this cropping practice have still to be precisely characterized in the case of rain-borne diseases, such as septoria tritici blotch during its spring epidemiological stage. This disease, due to the pathogen fungus *Mycosphaerella graminicola*, is prevalent on wheat crops and it may be result in substantial yield losses, up to -40%.

Field experiments were carried out during five years, from 2008 to 2012, at the Grignon location (Yvelines, France), with a mixture consisting of two wheat cultivars with contrasted resistance to *M. graminicola* in a 1/3 susceptible/resistant ratio. In comparison with their pure stands, we observed a severity decrease of septoria tritici blotch for the most susceptible cultivar (on average, less 45% of pycnidial leaf surface on the three upper leaf levels), without significantly affect the more resistant cultivar. An original semi-automated methodology was developed to quantify the splash-dispersed spore flux in outdoor conditions. Experimental measurements allowed to correlate intensity of several rainfall events with spore dispersal within different canopies including a cultivar mixture.

A mechanistic and stochastic model was implemented in order to describe disease potential progression within a heterogeneous three-dimensional plant canopy. This theoretical approach combines physics and epidemiology in order to, on one hand, (i) compute interception of raindrops with plant organs and the pathway of splash droplets within the canopy and, on the other hand, (ii) take into account cultivar resistance levels and the polycyclism of epidemics. From this model, we highlighted for two-component cultivar mixtures that the proportions and the difference between resistance levels of cultivars to mix together could be optimized in order to reduce disease severity. Furthermore, this modelling approach makes it possible to assess and identify the cultivar spatial distributions the most favourable to a decrease of progression of a splash-dispersed disease.

Previous studies about potentialities of cultivar mixtures to control splash-dispersed pathogen agents, led in some cases to conclusions with inconsistent and not in favour of this cropping practice. We showed here that it was possible under certain cultivar designing conditions (proportions, spatial arrangement, difference between resistance levels) and rainfall properties to obtain a consistent significant effect in terms of disease reduction.

Keywords : cultivar mixture, splash dispersal, *Mycosphaerella graminicola*, septoria tritici blotch, modelling

FR Résumé

Accroître la diversité végétale au sein d'une culture par l'utilisation d'associations variétales est une stratégie qui permet de limiter la sévérité des maladies à dispersion éolienne. Les potentialités de cette pratique culturale restent à être caractérisées de manière précise dans le cas des maladies à dispersion pluviale, telle que la septoriose du blé durant sa phase épidémique. Cette maladie foliaire, due au champignon pathogène *Mycosphaerella graminicola*, est prédominante sur blé et est capable de causer des pertes substantielles de rendement, allant jusqu'à -40 %.

Des expérimentations au champ ont été menées durant cinq années, de 2008 à 2012, sur le site INRA de Grignon (Yvelines, France), avec une association constituée de deux variétés de blé ayant des niveaux contrastés de résistance à *M. graminicola*, et dont les proportions étaient de une plante très sensible pour trois assez résistantes. Par rapport à leur culture monovariétale respective, nous avons observé une diminution de la sévérité de la septoriose sur la plus sensible des variétés (en moyenne, 45 % de surface pycnidiale foliaire en moins sur les trois dernières feuilles), sans affecter significativement la variété plus résistante. Une méthodologie originale semi-automatisée a été développée pour quantifier le flux de spores dispersées par la pluie en conditions naturelles. Les mesures expérimentales ont permis de corrélérer l'intensité de plusieurs épisodes pluvieux avec la dispersion de spores au sein de différents couverts incluant une association variétale.

Un modèle mécaniste et stochastique a été développé afin de décrire la progression du potentiel de maladie au sein d'un couvert végétal hétérogène en trois dimensions. Cette approche théorique combine physique et épidémiologie, d'une part, (i) pour calculer l'interception des gouttes de pluie avec les organes végétaux et la trajectoire des gouttelettes d'éclaboussement au sein du couvert et, d'autre part, (ii) pour prendre en compte les niveaux de résistance variétale et la nature polycyclique de l'épidémie. À partir de ce modèle, il a été mis en évidence pour des associations de deux variétés que les proportions, ainsi que le différentiel de résistance entre les variétés à associer, pouvaient être optimisés pour réduire la sévérité de la maladie. Par ailleurs, ce modèle permet d'évaluer et d'identifier les distributions spatiales des variétés les plus propices à une réduction de la progression d'une maladie à dispersion pluviale.

Parmi les précédents travaux traitant des potentialités des associations de variétés pour lutter contre des pathogènes dispersés par l'action mécanique de la pluie, certains avançaient des conclusions parfois contradictoires et peu en faveur de cette pratique. Nous avons montré ici qu'il est possible, sous certaines conditions d'association (proportions, agencement spatial, différentiel de résistance globale) et de pluviométrie, d'obtenir un effet significatif en termes de réduction de la maladie.

Mots clés : association de variétés, dispersion par éclaboussement, *Mycosphaerella graminicola*, septoriose du blé, modélisation