

Végéphy – 12^e CONFÉRENCE INTERNATIONALE SUR LES MALADIES DES PLANTES
TOURS – 11 ET 12 DÉCEMBRE 2018

VALIDATION DU MODELE AVIZIO™ PAR QUANTIFICATIONS MOLECULAIRES (QPCR) DE
SPORES DE SEPTORIA TRITICI, PUCCINIA RECONDITA ET DE PUCCINIA STRIIFORMIS
PIEGEES DANS L'AIR DANS DES CULTURES DE BLES ENTRE 2015-2017

T. VARRAILLON ⁽¹⁾, F. BLANC ⁽¹⁾, E. CARON ⁽¹⁾, J. RENARD ⁽¹⁾ & A. MARIN ⁽¹⁾

⁽¹⁾ Syngenta S.A.S., 1 avenue des près, 78286 Cedex Guyancourt thierry.varraillon@syngenta.com

RÉSUMÉ

Le raisonnement des applications fongicides pour lutter contre les maladies des feuilles des céréales consiste à déterminer très précocement l'infection des différents étages foliaires. En effet, lorsque les symptômes apparaissent, il est bien souvent trop tard pour lutter efficacement avec des fongicides curatifs. La détection des premières contaminations est une information plus pertinente pour gérer durablement le risque avec l'utilisation de fongicides préventifs. Cependant, l'état de contamination est en général difficile à définir (sauf par des méthodes contraignantes de prélèvements et d'analyses moléculaires), puisque invisible.

Afin d'aider à prévoir l'état de contamination des cultures de blés et de produire une alerte via le nouveau service AVIZIO™ mis au point par Syngenta en 2015, la société a suivi pendant 3 ans sur 5 essais (445 jours au total), les émissions de spores dans l'air à l'origine des infections en parallèle des observations des symptômes par étage foliaires. Les périodes d'émission significatives de spores observées durant ces 3 années d'analyses ont bien été détectées par AVIZIO™ ce qui nous permet de valider que les alertes fournies aux agriculteurs sont justifiées pour anticiper et positionner les traitements de manière raisonnée.

Mots-clés : OAD, spores, qPCR, céréales, septoriose, rouilles.

ABSTRACT

VALIDATION OF THE AVIZIO™ MODEL BY MOLECULAR QUANTIFICATION (QPCR) OF SPORES OF SEPTORIA TRITICI, PUCCINIA RECONDITA AND PUCCINIA STRIIFORMIS TRAPPED IN AIR IN BLUE CULTURES BETWEEN 2015-2017

The reasoning of fungicidal applications for the control of diseases of the leaves of cereals is to determine very early the infection of the different leaf stages. Indeed, when the symptoms appear, it is often too late to fight effectively with curative fungicides. The detection of the first contaminations is more relevant information to manage the risk durably with the use of preventive fungicides. However, the state of contamination is generally difficult to be defined (except by binding methods of sampling and molecular analyzes), since it is invisible.

In order to help forecast the contamination status of wheat crops and to produce an alert via the new AVIZIO™ service developed by Syngenta in 2015, the company followed for 3 years on 5 trials (445 days in total), the spore emissions in the air causing the infections in parallel with the observation of the symptoms by foliar stage. The significant emission periods of spores observed during these 3 years of analyzes have been detected by AVIZIO™, which allows us to validate that the alerts provided to farmers are justified in order to anticipate and position treatments in a reasoned manner.

Keywords: DSS, spores, qPCR, cereals, septoria, rust.

INTRODUCTION

Les maladies du feuillage des céréales peuvent être responsables, suivant les années, de pertes de rendements pouvant aller jusqu'à 70 q/ha. Dans le cadre d'une lutte raisonnée et pour viser l'efficacité maximum des protections fongicides, le positionnement des fongicides doit tenir compte de l'état de présence du/des maladies. La détection de l'état d'incubation d'un champignon (après les libérations de spores et avant l'apparition des symptômes) est utile pour lutter efficacement, l'application de produit de protection en préventif pendant la phase d'incubation des maladies étant en générale plus efficace qu'en curatif.

Dans ce but, Syngenta a construit un outil d'aide à la décision (OAD) nommé AVIZIO™ qui permet d'alerter sur l'état infectieux (incubation ou symptômes) des différents étages foliaires des blés. Cet OAD reproduit le cycle de développement végétatif des principales maladies foliaires : SET-septoriose : *Septoria tritici*, PUR-rouille brune : *Puccinia recondita* et PUS-rouille jaune : *Puccinia striiformis*. L'outil, historiquement calibré sur un large jeu de données de symptômes, alerte les utilisateurs sur la contamination en estimant journalièrement des projections de spores qui germent à la surface des feuilles présentes suivant les conditions hydriques et thermiques. La libération et le transport de l'inoculum en général assuré par le vent (PUR et PUS) et/ou les gouttelettes (SET), conditionnent la vitesse et l'extension d'une épidémie. Ces transferts qui s'effectuent par rapport à l'horizontale ou la verticale (Sache et al., 2000 ; Caron, 2000 ; Cordo et al., 1999 ; Rapilly, 1991) sont reproduits dans AVIZIO™.

Afin de valider si les fonctions de calcul de l'inoculum projeté dans l'atmosphère, simulé par notre modèle étaient en cohérence avec la réalité, nous avons mis en place 5 essais dans 3 régions en France entre 2015 et 2017. Ces essais ont consisté à capturer les spores dans l'air avec des pièges à aspiration dynamique (Burkard manufacturing). Les captures ont été réalisées quotidiennement sur des cultures de blés à partir de la reprise de végétation. Une méthode de quantification moléculaire (dosage de l'ADN par qPCR) des pathogènes a été mise au point tout particulièrement avec la collaboration du laboratoire BIOtransfer.

MATERIEL ET MÉTHODE

SITES EXPERIMENTAUX ET OBSERVATIONS REALISEES :

Les renseignements sur les essais sont présentés dans le tableau I. Les essais ont été semés en automne : 3 dans les Hauts-De-France (HDF), 1 en Pays-De-Loire (PDL) sur des cultures de blés d'hiver lignées ou hybrides et 1 en Occitanie (OCC) blés durs. Les pièges étaient positionnés au moment de la reprise de végétation.

En 2015 (Essai CA719-2015), les captures ont été réalisées pendant 11 semaines. L'essai était situé dans les HDF (80250, Grivesnes) avec la variété TRAPEZ, sensible à PUS et SET.

L'expérimentation a été reproduite en 2016 sur les HDF CA825-2016 (80380, Villers le Bretonneux) pendant 16 semaines sur blé ALLEZ Y peu sensible et dans les PDL (72270, Arthézé) pendant 13 semaines sur blé hybride HYXTRA très sensible à PUS.

En 2017, nous avons suivi 2 autres essais. Un essai CA916-2017 dans les HDF (80250, Malpart) avec un blé hybride HYFI pendant 12 semaines. Un autre essai MA938-2017 en OCC (82170, Grisolles) avec du blé dur MIRADOUX assez sensible à PUR pendant 14 semaines.

Les essais comportaient 4 répétitions avec 2 modalités témoins et traitées (Cherokee 1.5 l/ha avant dernière feuille étalée (BBCH 39) et/ou d'un Elatus plus 0,6 l/ha après BBCH 39). Ils ont été récoltés sauf CA916-2017 dans lequel le manque de maladie a stoppé l'essai.

PUS a été observée sur les 5 essais, SET sur 4 essais (sauf sur CA916-2017) et PUR seulement en 2017 sur MA938-2017 (Tab. I). La nuisibilité a été forte en 2015 avec 55 q/ha de pertes (majoritairement imputable à PUS > SET), moyenne en 2016 de l'ordre de 33-36 q/ha (majoritairement imputable à SET > PUS) et faible en 2017 de 20 q/ha (majoritairement imputable à PUR).

Tableau I : Caractéristiques des essais et de la sensibilité des variétés aux maladies.
Table I : Characteristics of trials and susceptibility of varieties to diseases.

Essai	Variété	Sensibilité *			Date semis	Date épi 1 cm	Nuisibilité q/ha (Présence des maladies)
		SET	PUR	PUS			
CA719-2015 (HDF)	TRAPEZ	4	6	3	23/10/2014	07/04/2015	55 (PUS > SET)
CA825-2016 (HDF)	ALLEZ Y	5.5	5	5	12/10/2015	09/03/2016	33 (SET > PUS)
JR812-2016 (PDL)	HYXTRA ^(h)	7	6	3	15/10/2015	23/02/2016	36 (SET > PUS)
CA916-2017 (HDF)	HYFI ^(h)	6.5	7	5	14/10/2016	03/04/2017	- (>>PUS)
MA938-2017 (OCC)	MIRADOUX ^(d)	6	4.5	5	05/11/2016	18/03/2017	20 (PUR >>SET=PUS)

* Note du GEVES de sensibilité aux maladies (1- très sensible à 9- très résistant), (d) : blé dur, (h) : blé hybride

GEVES index of disease susceptibility (1 – very susceptible to 9 – very resistant), (d): durum wheat, (h): hybrid wheat.

Afin de caractériser le potentiel en inoculum de chaque maladie sur les sites, les captures étaient complétées par une évaluation de la présence des maladies l'année précédente (N-1) ainsi qu'une autre entre le semis au début de la reprise de végétation (N). Les essais étaient en HDF contaminées artificiellement avec des débris végétaux au moment des semis afin d'augmenter l'inoculum primaire en PUS.

Ces observations permettent de fixer les conditions initiales en inoculum primaire au modèle AVIZIO™.

DISPOSITIFS DE CAPTURE ET DE QUANTIFICATION DES SPORES :

Les 66 semaines de captures (445 jours) ont été réalisées entre fin tallage et épiaison afin de couvrir l'historique des contaminations sur les différents étages foliaires de F5 (feuille la plus basse sur la tige) à F1 (dernière feuille ou feuille drapeau).

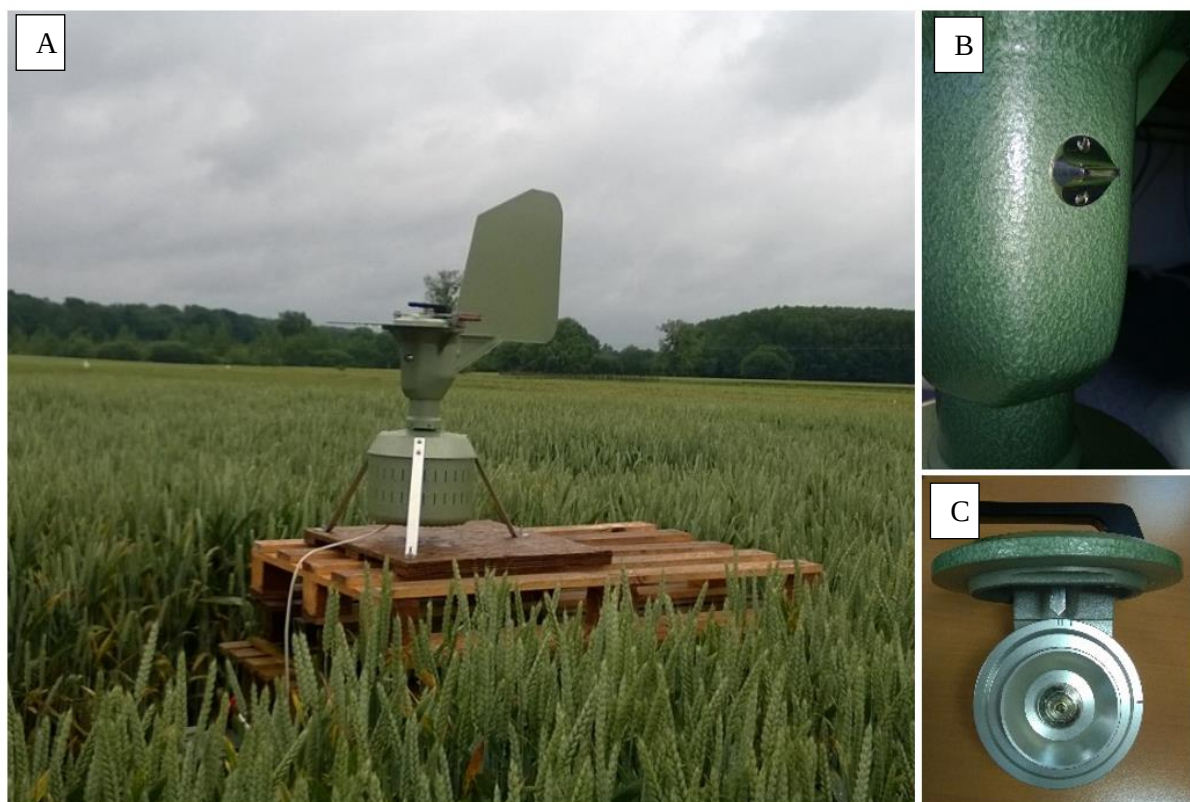
Pour capturer les spores nous avons utilisé un piège à aspiration dynamique: Burkard, 7 days recording volumetric spore trap 12V (Fig.1). L'appareil était positionné au centre de l'essai, à 1 mètre au-dessus de la canopée dans le but de privilégier les captures de spores de rouilles PUS (Fig. 1A). L'air est aspiré (14.4 m³/jours) par une pompe par la fente d'aspiration (Fig. 1B) qui s'orientait dans le sens des vents dominants grâce à une girouette.

Les spores aspirées étaient capturées sur un tambour (Fig. 1C) recouvert d'un ruban de cellophane enduit de vaseline qui effectuait une rotation en 7 jours. Les rubans étaient ensuite découpés par segments journalier. L'ADN était décroché, purifié, puis quantifié par analyse moléculaire (qPCR) grâce à une méthodologie spécialement mise au point pour Syngenta par BIOtransfer.

A partir de la quantité d'ADN, on en déduisait le nombre de spores, par rapport à des gammes étalons de pycnidiospores (forme asexuée de SET) et d'urédiniospores (forme asexuée de PUS et PUR). On a exprimé ensuite cette quantité de spores par volume d'air par jour.

En l'absence de maladie (Tab. I) et pour des raisons d'optimisation des ressources, les analyses qPCR n'ont pas été réalisées sur SET pour l'essai CA916-2017. Pour les mêmes raisons, les analyses n'ont pas été réalisées sur PUR pour les essais CA719-2015 et CA916-2017.

Figures 1 : A- Vue du piège à spore, B-Fente d'aspiration, C-Tambour à rubans.
 Figures 1 : A- View of the Spore, Trap B-Suction Slot, C-Tape Drum.



DESCRIPTION DU MODELE AVIZIO™ :

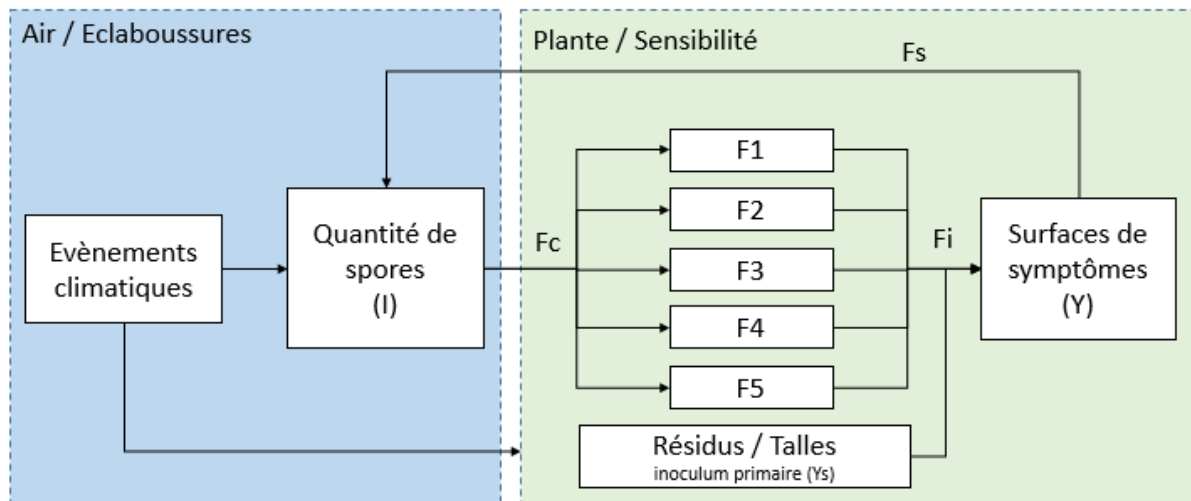
AVIZIO™ est un modèle agro-climatique mécanistique mis au point par Syngenta en 2015. Il simule jour après jour la croissance de la culture du semis à la récolte et la progression des maladies en fonction du profil génétiques des variétés blés (caractéristiques physiologiques et sensibilité aux maladies). Le modèle s'appuie sur les données climatiques journalières (pluviométrie, températures, humidités relatives et vents) qui sont collectées auprès de la station METEO FRANCE dans un rayon de 10 km autour de l'essai.

Le modèle physiologique utilise les phyllochrones pour simuler l'apparition et la croissance surfaces foliaires de F5 à F1 en fonction des conditions température et de photopériode de la parcelle (Gate, 1995).

Les modèles épidémiologiques (Rapilly, 1991) s'appuient sur des fonctions de transfert (Fig. 2) de contamination, d'incubation et de sporulation (F_c , F_i , F_s) qui reproduisent le cycle infectieux de propagation et d'évolution des principales maladies foliaires (SET, PUR et PUS). En fonction des événements climatiques une quantité de spores (I) est simulée journalièrement par le modèle en fonction des surfaces de symptômes (Y) pour les 3 maladies simultanément. En colonisant les surfaces vertes foliaires de F5 à F1, les maladies sont ainsi mises en compétition.

Les conditions initiales du modèle de contamination des étages foliaires sont déterminées au stade épi 1 cm par une quantité d'inoculum primaire (Y_s) portée sur les résidus de cultures ou les talles proportionnelle à la présence des différentes maladies avant la montaison (cf. paragraphe sites expérimentaux et observations réalisées). L'OAD selon différents modèles simule jour après jour la croissance de la culture du semis à la récolte et la progression des maladies en fonction du profil génétique des variétés de blés (caractéristiques physiologiques et sensibilité aux maladies).

Figure 2: Description simplifiée d'une séquence journalière de calcul du modèle AVIZIO™.
Figure 2: Simplified description of a daily calculation sequence of the AVIZIO™ model.



Légendes : Fc fonction de contamination, Fi fonction d'incubation, Fs : fonction de sporulation.
Caption: Fc contamination function, Fi incubation function, Fs sporulation function.

RESULTATS

Les analyses qPCR journalières (SET : 326 jours / 4 essais, PUR : 249 jours / 3 essais et PUS : 445 jours sur les 5 essais) sont résumées dans le tableau II.

La fréquence de pics journaliers où les analyses qPCR > 0 sont de 17% pour SET de 48% pour PUS et de 1 jour / 249 pour PUR. Les quantités par pic émisent journellement sont en moyenne 3 fois plus importantes avec SET qu'avec PUS avec des maximums respectivement de 12×10^3 et 6×10^3 spores/m³/j.

Les seuils de 180 et 50 spores/m³/j respectivement sur SET et PUS proche de la moyenne journalière (Tab. II) seront considérés par la suite comme quantités significatives produisant des pics d'émission significatifs.

Tableau II : Caractéristiques des quantités journalières de spores mesurées par qPCR.
Table II : Characteristics of daily amounts of spores measured by qPCR.

Maladie	qPCR (i)	qPCR > 0		
		Nbr. (j) (% du total)	Moyenne (spores/m³/j)	Maximum (spores/m³/j)
SET	326	55 (17 %)	183	12 502
PUR	249	1	< 1	< 1
PUS	445	210 (48 %)	52	6 283

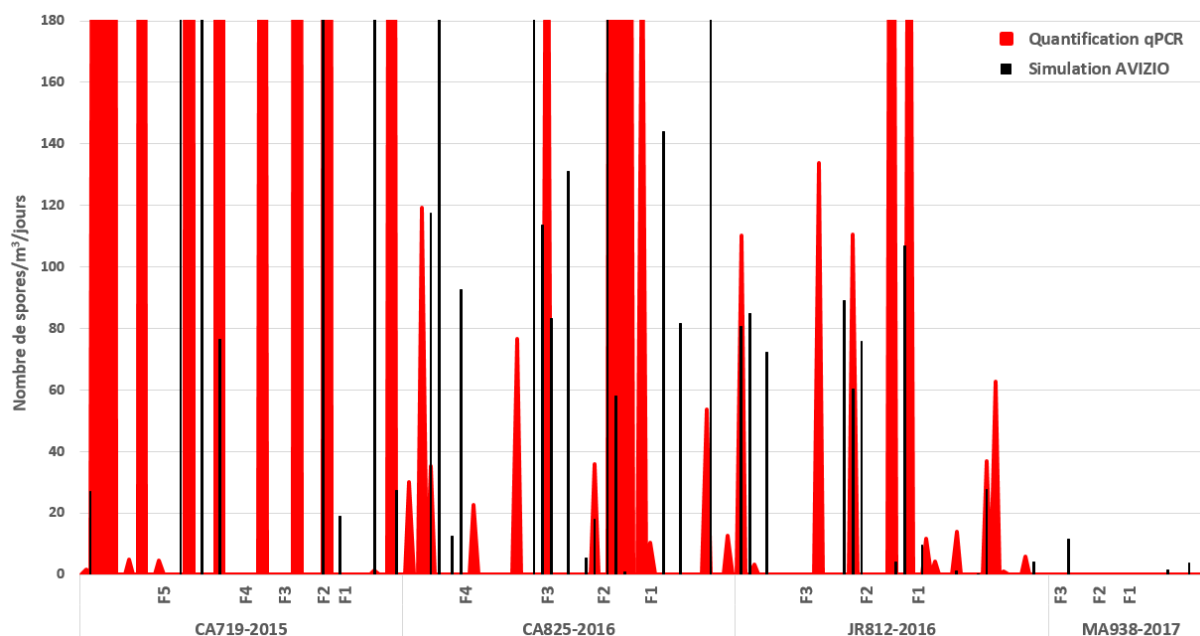
Afin de comparer les estimations des projections de spores obtenues par analyse quantitative moléculaire qPCR et celles simulées par AVIZIO™ (valeur I, Fig. 2), les essais sont regroupés par maladie et présentés en fonction de la chronologie d'apparition des feuilles par AVIZIO™ valeur I (Fig. 2). Les segments de surface de couleur sur les figures 3 à 5 présentent les analyses quantitatives qPCR (spores/m³/jours). Les barres noires décrivent quant à elles les calculs Fs obtenus avec AVIZIO™ (Fig. 2).

SET-SEPTORIOSE:

La figure 3 présentant les pics de spores de SET estimés par qPCR (en rouge) montre il y a eu 8 pics significatifs (> 180 spores/m³/jours) sur l'ensemble de la montaison (F5 à F1) en 2015. Il y en a eu 3 en 2016. Un sur CA825-2016 et 2 sur JR812-2016 détectés sur la période fin de montaison ($> F2$).

Figure 3 : Estimation des pics de libération journalière de spores de *Septoria tritici* par quantification qPCR et par simulation AVIZIO™ sur 4 sites en France entre 2015 et 2017.

Figure 3 : Estimate of the daily release peaks of *Septoria tritici* spores by qPCR quantification and AVIZIO™ simulation at 4 sites in France between 2015 and 2017.



Dans 78.6% des cas (33/42), les pics simulés par AVIZIO™ (en noir), se positionnent le jour ou autour du jour (j-1 ou j+1) des pics détectés par analyses qPCR (en rouge). La corrélation entre le nombre de spores simulé par AVIZIO™ et celui analysé par qPCR est faible ($r=0,1094$).

Sur l'ensemble des 13 pics significatifs, 3 seulement ne sont pas détectés par AVIZIO™ en 2015 sur CA719-2015 avant F5, sur F4 et F3.

Bien que la corrélation en quantification ne soit pas forte les périodes d'émissions de spores mesurées par analyse qPCR sont correctement encadrées par celles simulées par AVIZIO™.

En 2017, où la présence de la maladie SET était très faible (Tab. I), aucun pic n'a été détecté par qPCR. Les 4 pics sont simulés par AVIZIO™ pour cet essai, mais ils ne dépassent pas 20 spores/m³/jour.

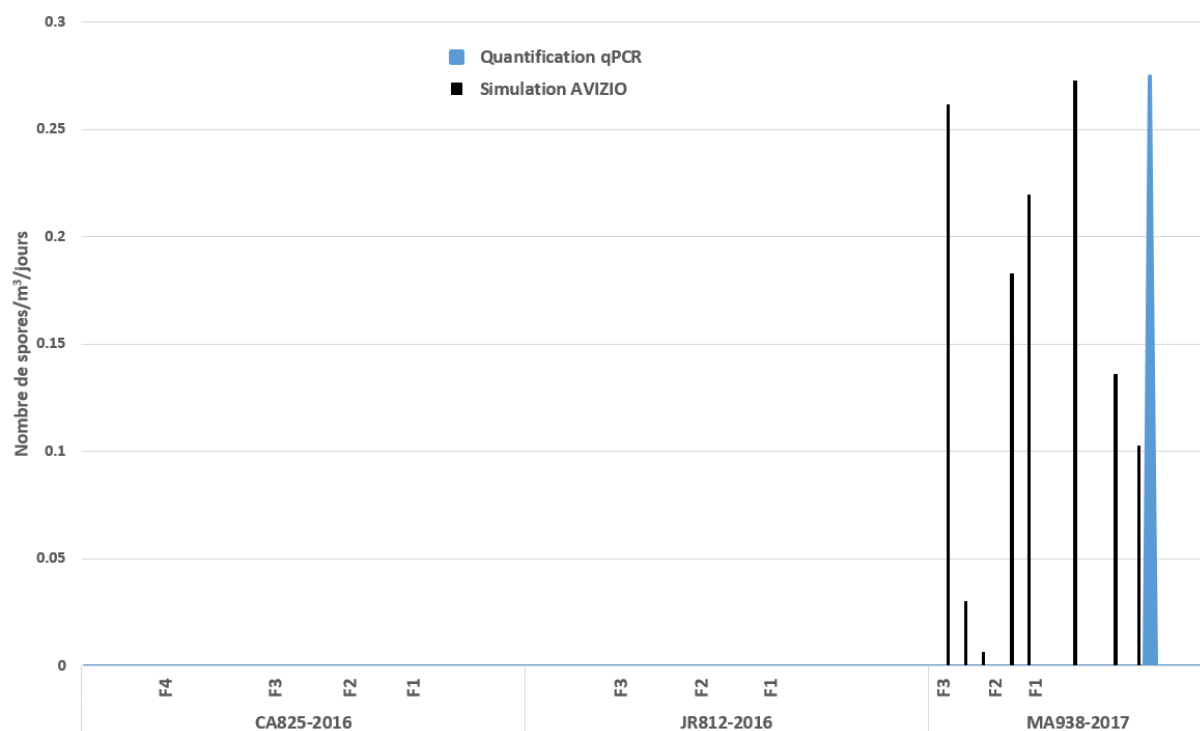
PUR-ROUILLE BRUNE :

La présence de PUR a été observée uniquement en 2017 (Tab. I). Les analyses qPCR (en bleu, Fig. 4) montrent un seul pic très tardif (>F1) et très faible (< 1 spores/m³/jour). Les simulations réalisées avec AVIZIO™ (en noir), simulent 7 pics d'émissions en 2017.

En 2016 on n'a pas observé de PUR. Dans ces 2 essais ni les analyses qPCR ni les simulations AVIZIO™ ne mettent en évidence de pics (Fig. 4).

Figure 4 : Estimation des pics de libération journalière de spores de *Puccinia recondina* par quantification qPCR et par simulation AVIZIO™ sur 3 sites en France entre 2015 et 2017.

Figure 4 : Estimate of the daily release peaks of *Puccinia recondina* spores by qPCR quantification and AVIZIO™ simulation at 3 sites in France between 2015 and 2017.



PUS-ROUILLE JAUNE :

Les analyses qPCR sur PUS sur les 5 essais (en vert, Fig. 5), montrent d'une manière générale que les émissions de spores sont très fréquentes et augmentent en intensité au cours de la montaison.

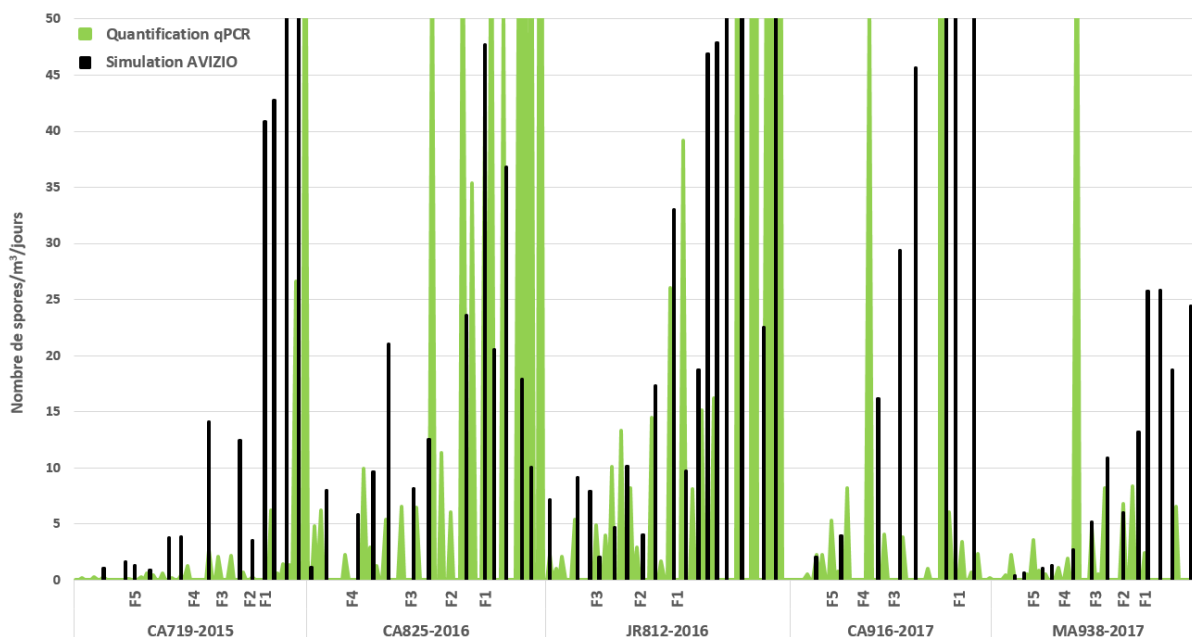
Dans la région des HDF, où ont été mis en place des essais les 3 années, nous observons qu'en 2015 (CA719-2015) 1 pic d'émissions significatif (> 50 spores/m³/jour) est atteint après F1. Dans cette même région l'année suivante, 6 pics émissions significatifs de F3 à F1 (CA825-2015) sont mis en évidence par qPCR. En 2017, 2 pics significatifs de F4 à F2 (CA938-2017) sont observés.

Sur les 2 autres essais où la présence de symptômes visuels de PUS était faible à très faible (Tab. I), on observe 3 pics significatifs très tardifs sur JR812-2016 et 1 pic isolé sur F4 sur l'essai MA938-2017. On remarque qu'en 2017 la quantité de libération de spores plus faibles que les autres années est en lien avec les faibles attaques (Tab. I). Par contre ce n'est pas le cas des mesures réalisées en 2016 où nous avons observé un niveau d'attaque faible et malgré de nombreuses captures de spores.

Lorsque l'on compare les simulations AVIZIO™ (en noir) aux 13 pics significatifs (> 50 spores/m³/jour) en vert, on constate que dans 12 situations le modèle produit des pics autour ($j-1$ à $j+1$). Dans 76.6% des cas (49/64), les pics simulés par AVIZIO™ (en noir) se situent proches des pics quantifiés par qPCR. La corrélation entre quantité de spores simulées par AVIZIO™ et analysées par qPCR est moyenne ($r= 0,5163$) mais meilleure que sur SET.

Figure 5 : Estimation des pics de libération journalière de spores de *Puccinia striiformis* par quantification qPCR et par simulation AVIZIO™ sur 5 sites en France entre 2015 et 2017.

Figure 5 : Estimate of the daily release peaks of *Puccinia striiformis* spores by qPCR quantification and AVIZIO™ simulation at 5 sites in France between 2015 and 2017.



DISCUSSION

L'utilisation de piège à aspiration est une aide pour détecter précisément les émissions quotidiennes des spores des 3 maladies. Cependant, ces dispositifs demandent beaucoup de maintenance (recharge des batteries, approvisionnement en rubans de capture, nettoyage des fentes d'aspiration, contrôle débit d'aspiration, etc...).

De plus l'identification et la quantification des spores nécessitent un temps et une expertise supplémentaire qui ne permet pas d'utiliser ces pièges en routine comme des outils d'aide à la décision directement aux champs. Ils sont par contre intéressants pour mesurer et comprendre à postériori les événements de sporulation et les quantifier. Dans notre cas, ils permettent de valider et d'optimiser les paramètres qui définissent la fonction de sporulation F_s (Fig. 2) d'AVIZIO™.

La qualité de la détection et la quantification sont des points cruciaux (Roose-Amsaleg, 2008). Les résultats obtenus sur PUR nous ont montré que le niveau de sensibilité de la méthode d'analyse pour cette maladie est faible (1 seul pic avec < 1 spore/ m^3/j) vis-à-vis de la présence de la maladie et de la nuisibilité de 20 q/ha en 2017. Le choix des amorces et la technique de décrochage et d'amplification pourraient être améliorées sur PUR.

Concernant les 2 autres maladies SET et PUS, la méthode qPCR mise au point semble plus sensible et mieux calée vis-à-vis des observations d'apparition des symptômes aux champs.

Les dynamiques de libération des spores sont différentes entre SET et PUS. Elles sont peu fréquentes et très intenses pour SET. A l'inverse elles sont très fréquentes avec une intensité croissante au cours de la montaison pour PUS.

Ceci peut s'expliquer par la nature très différente de transport des spores. Dans le cas des spores de rouilles (urédospores de PUR : $\approx 23 \times 26 \mu m$, PUS : $\approx 19 \times 24 \mu m$, Anikster et al., 2005), le transport est pris en charge par les courants aériens est diffus (Haun et al., 2006). Concernant SET, les pycniospores spores sont libérées sur de plus plus faibles hauteurs et sur de faibles distances. Le transport des pycnidiospores ($\approx 24 \times 26 \mu m$), alourdies par les cirrhes, est principalement assuré par les éclaboussures au moment des épisodes pluvieux et parfois portées par des vents forts (Rapilly, 1991). Le protocole de capture des spores à 1 mètre au dessus de la canopée initialement calé pour capturer des spores de PUS et PUR diminue la sensibilité de piégeage des pycnidiospores de SET (gradient de

projection vertical diminuant rapidement). Un dispositif placé plus bas dans la végétation serait peut-être plus adapté.

De plus on ne peut pas exclure qu'une partie des spores de SET capturées soient des ascospores (forme sexuée de SET, $\approx 12 \times 3 \mu\text{m}$), responsables principalement des contaminations primaires (Caron, 2000). La méthode qPCR, ne permettant pas de distinguer les 2 types de spores., Une analyse au microscope pourrait être utile pour expliquer les biais dans la relation entre les pics de spores observés et ceux de pycnidiospores simulés par AVISIO™.

La relation entre la quantité de spores libérées et la présence de symptômes n'est pas clairement établie, puisque les conditions climatiques qui interviennent lors de la période d'émissions des spores peuvent empêcher les sporulations (Geagea et al., 2000). C'est ce qui semblerait expliquer que les spores de PUS capturées dans l'atmosphère en 2016 n'aient pas germées sur les feuilles et n'aient pas entraîné de fortes attaques. Cette année-là, des conditions très pluvieuses (2 fois plus qu'une année normale) au moment de la montaison ont probablement lessivées les spores (cumul des pluviométries avril-mai sur HDF, PDL et OCC : 95-115 mm en 2015, 175-200 mm en 2016 et 75-110 mm en 2017).

Cependant nous avons remarqué que les quantités de spores étaient faibles (PUS : 2017) voir nulles (SET : 2017 et PUR : 2016) à chaque fois que nous n'observons pas de maladie. Ne pas piéger de spore est donc cohérent avec l'absence de maladie aux champs.

La définition de pics significatifs de sporulation ou de seuil minimum de spores journalier pour que la contamination soit efficace peut être discutée. Des chercheurs Anglais (Rogers et al., 2009) ont montré, sur des études de piégeage et d'analyse qPCR similaires mais portant sur le sclérotinia, qu'un taux 5.5 % de plantes malades était associé à un pic de 12 ascospores/ m^3/j et qu'un taux inférieur à 4 ascospores/ m^3/j avaient entraîné des niveaux de maladie négligeable (< 0.1 % de plantes attaquées). Dans cette étude nous avons proposé d'approcher ces seuils à partir de la moyenne des quantités journalières des pics. Cela pourrait faire l'objet à l'avenir d'expérimentations plus précises.

Notre activité de recherche chez Syngenta, fait que chaque année nous disposons de données de symptômes Y (Fig. 2) des témoins dans nos essais. Nous aurions pu partir sur un traitement statistique boîte noire de masse (même si ce n'est pas exclu) basée sur du big-data (régression multivariée, réseaux de neurones, etc.). La demande était d'avoir une approche pédagogique dans notre outil, l'orientation mécanistique en introduisant des formalismes pour décrire le cycle des maladies à davantage été développé.

Au travers de cette expérimentation qui change des analyses que nous effectuons classiquement dans nos essais, nous avons pu contrôler que les valeurs d'émission journalière de spores I (Fig. 2) simulées par notre modèle par la fonction de sporulation F_s réagissaient en cohérence avec des mesures au terrain.

Nous avons vu que le passage des spores de l'air dans les feuilles (germination et pénétration), dépend des conditions climatiques qui sont reproduites par notre modèle avec la fonction de contamination F_c et d'incubation F_i (Fig. 2). La connaissance de l'état infectieux des feuilles, par prélèvement et analyse qPCR pourraient à l'avenir nous permettre d'avoir un troisième point de contrôle et de valider complètement la chaîne de calcul.

CONCLUSION

L'utilisation de piège pour capturer les spores de SET, PUS et PUR dans l'air durant 3 années dans 3 régions Françaises nous a permis de valider une partie des fonctions de calculs utilisées dans AVISIO™.

Les périodes de libération journalière d'urédo-spores de PUR et PUS et des pycnidiospores de SET à 1 mètre au-dessus de la canopée de cultures de blés sont détectées dans 75% des situations.

Nous avons observé des dynamiques d'émissions différentes entre SET et PUS, qui sont reproduites par le modèle. Les libérations de SET étant libérées par paquets > 180 spores/ m^3/j en moyenne au moment des pluies et celles de PUS continuellement en quantité croissante au fur et à mesure que les tiges s'allongent pour dépasser 50 spores/ m^3/j en moyenne.

Dans plus de 75% des cas les pics d'émissions de spores sont détectées par le modèle à ± 1 jour. La corrélation entre l'amplitude des pics d'émissions mesurés par qPCR et simulés est cependant assez faible et varie de 0.1 à 0.5.

Si la quantification de libération de spores permet difficilement de présumer des niveaux l'attaque des maladies, l'absence de détection de pics de sporulation est en accord avec l'absence de maladie observée aux champs.

En complément des notations de symptômes ayant servies à calibrer AVIZIO™ par le passé, ces nouvelles observations permettant de comparer l'apparition des pics sporulations aux calculs sous-jacents d'AVIZIO™ viennent renforcer le niveau confiance des alertes sur la phase d'incubation que génère notre modèle.

REMERCIEMENTS

Je souhaite remercier particulièrement mes collègues évaluateurs et Marion Becuwe pour leurs observations aux champs et le suivi des pièges à spores. Merci aux laboratoires BIOtransfert et plus particulièrement à Anne Le Douarec pour la mise au point des amorces et la réalisation des qPCR.

BIBLIOGRAPHIE

Anikster Y., Eilam T., Busnell W.R. & Kosman E., 2005. - Spore dimensions of *Puccinia* species of cereal hosts as determined by image analysis. *Mycologia* 92, 474-484.

Burkard Manufacturing Co Ltd, Seven-day recording volumetric spore trap. Operating instructions. 14pp.

Caron. D., 2000. - Les maladies des blés et des orges. *Eds ITCF*. 87pp.

Cordo C.A., Simon R., Perello A.E. and Alippi H.E., 1999. - Spore dispersal of leaf blotch pathogens of wheat (*Mycosphaerella graminicola* and *Septoria tritici*) A Compilation of Global Research. *Proceedings of International Workshop, 5. Mexico, D.F. (Mexico); 20-24 Sep 1999*.

Gate P., 1995. - Ecophysiologie du blé. *Eds ITCF*. 430 pp.

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, 53-66.

Haun B. & De Vallavielle-Pope C., 2006. - Wind dispersed diseases. in: *Cooke B., Jones D. & Kaye B. - The epidemiology of plant diseases. Springer*, 387-416.

Sache I. & De Vallavielle-Pope C., 2000. - Short-distance dispersal of wheat rust spores by wind and rain. *Agronomie*. 20, 757-767.

Rapilly F., 1991, - L'épidémiologie en pathologie végétale. Mycoses aériennes. *Inra* 317 pp.

Rogers S.L., Atkins S.D. & West J.S., 2009. - Detection and quantification of airborne inoculum of *Sclerotinia sclerotiorum* using quantitative PCR. *Plant Pathology* 58: 324-331.

Roose-Amsaleg C., de Vallavielle-Pope C., Brygoo Y., 2008. - Characterisation of a length polymorphism in the two intergenic spacers of ribosomal RNA in *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici*, the causal agent of wheat yellow rust. *Mycol Res.* 2002;106(8):918-924.