

Libération des ascospores d'*Epichloe typhina*, agent de la quenouille du dactyle. Conséquences pour l'épidémiologie et la lutte

G. Raynal*

Le dactyle (*Dactylis glomerata* L.) est cultivé en France en production fourragère sur environ 60 000 ha de culture pure et 400 000 ha en mélange avec une légumineuse (luzerne principalement). Les semences nécessaires à l'implantation de ces cultures sont produites en France, surtout dans les départements de l'Aube, de la Somme et de la Marne, les surfaces consacrées au dactyle-semence dans ces 3 départements (environ 1 000 ha en 1986-1987) représentant près de 50 % de la surface totale française. **Parmi les maladies attaquant le dactyle porte-graine, la quenouille est la plus spectaculaire et sans doute l'une des plus dommageables, car elle stérilise les inflorescences.** Nous avons montré dans l'Aube sa progression régulière selon les années de culture (FERMAUD, CLINKSPOOR, RAYNAL, 1986). Inexistantes l'année du semis, rares ou absentes la première année de production (A1), les quenouilles atteignent en moyenne 10 % des tiges en deuxième année (A2), 20 % en A3 et plus de 30 % pour les rares champs conservés en A4. Il s'ensuit des

*Avec la collaboration technique de Francine FERRARI et de Michelle MOURET

MOTS CLÉS

Dactyle, *Epichloe typhina*, épidémiologie, prophylaxie, quenouille, sporulation.

KEY-WORDS

Cocksfoot, choke, *Epichloe typhina*, epidemiology, prophylaxy, sporulation.

AUTEUR

I.N.A.P.G.-I.N.R.A., Laboratoire de Pathologie végétale, F-78850 Thiverval-Grignon.

pertes directement proportionnelles soit entre 10 et 20% de la récolte en A2 et A3, représentant de 1 000 à 2 000 F/ha (valeurs de 1987-1988). Cette progression de la maladie, de même que les pertes associées, correspondent à celles notées par LARGE (1954) en Grande-Bretagne et par MAINER-CASADO (1979) dans le nord de l'Espagne.

La maladie est due à l'ascomycète *Epichloe typhina* (Pers. ex Fr.) Tulasne. Le champignon attaque de nombreuses graminées, dont le dactyle, chez lequel il forme en cours de montaison et d'épiaison des manchons, constitués par un stroma sur les tiges, qui emprisonnent les inflorescences et empêchent la constitution des graines. Ces manchons ont plusieurs centimètres de longueur (5 à 7 en moyenne et jusqu'à 15 cm). Les tiges atteintes demeurent alors stériles, sauf rares exceptions, d'où la parfaite correspondance entre la quantité de maladie et l'intensité des pertes, aucun phénomène de compensation, tendant à faire produire d'autres épis par la plante malade, n'ayant été démontré (LARGE, 1954).

Les manchons sont d'abord blancs (forme conidienne *Sphacelia typhina* Sacc. = *Acremonium typhinum* Morgan Jones et Gams) et apparaissent vers fin avril et début mai. Dès la fin mai, ils se transforment progressivement en une "quenouille" orangée qui constitue le stade sexué *E. typhina*, lequel subsiste jusque vers la fin juillet si les tiges ne sont pas fauchées.

Selon WESTERN et CAVETT (1959), seuls auteurs ayant à ce jour étudié la contamination des dactyles, l'unique source d'inoculum chez cette graminée est constituée par les ascospores disséminées par le vent, qui infectent les tiges coupées au moment de la récolte (mi-juillet) ou juste après. Ces résultats, fruits de plusieurs années d'observations et d'expérimentation en Grande-Bretagne, constituaient déjà une base appréciable pour le raisonnement de la lutte. Nos observations préliminaires au champ nous ont cependant révélé qu'ils nécessitaient de nombreuses précisions, voire des remises en question. C'est ainsi qu'aucune indication précise n'était donnée sur la production ni la dispersion des ascospores au champ. Nous avons donc étudié de façon approfondie l'émission des ascospores d'*E. typhina* afin de dégager des conseils pour une lutte prophylactique, les essais de traitements fongicides n'ayant jusque là pas abouti (RAYNAL, CLINKSPOOR, 1988).

Nos premières études sur la sporulation ont eu lieu au champ en juillet 1986 dans l'Aube, par des captures d'ascospores réparties de la mi-juin à la mi-juillet, en utilisant divers moyens de piégeage. Nous avons montré notamment la dispersion éolienne des ascospores, dans les champs et autour des champs (FERMAUD, CLINKSPOOR, RAYNAL, 1987). Nous avons poursuivi les piégeages de façon plus approfondie à Grignon en microparcelles et en chambre climatisée. Nous nous proposons de rapporter ici les résultats de ces études détaillées et d'en tirer des enseignements pour l'épidémiologie et pour les modalités de lutte.

Matériel et méthodes

1. Emission des ascospores dans les conditions naturelles

Vingt touffes de dactyle sauvage, très atteintes par la quenouille, sont prélevées en bordure de chemins à Grignon (Yvelines) le 1^{er} juin 1987 et aussitôt replantées dans des parcelles du Jardin Botanique, avec un espacement d'une cinquantaine de centimètres entre les touffes. Les captures d'ascospores sont pratiquées quotidiennement du 18 juin au 25 juillet de cette même année, puis une fois par semaine ensuite, jusqu'au 28 août. Les ascospores sont piégées à partir de 2 types de quenouilles sur pied ou provenant de tiges coupées. Dans le premier cas, on choisit une touffe de dactyle montrant des quenouilles de taille homogène et en bon état (non parasitées par divers champignons ou par le diptère *Pegomyia dissecta* Meig., spécifique d'*Epichloe*). Les captures sont alors faites au voisinage de 5 quenouilles regroupées par un lien, les autres étant masquées par une plaque légère en matière plastique. Dans le second cas, on prélève des quenouilles en bon état sur l'ensemble des touffes et on capture les ascospores à partir de lots de 10 quenouilles.

Du 18 juin au 8 juillet, les captures sont faites à partir des quenouilles sur pied. Du 9 au 17 juillet, nous avons étudié la sporulation des lots de quenouilles provenant de tiges coupées, placées sur le sol. En effet, dans les zones de production, c'est vers le 10 juillet que débute le processus de récolte. Quelle que soit la technique utilisée, les tiges sont coupées à 15-20 cm de hauteur. De nombreuses quenouilles restent sur pied, mais la plupart sont séparées des plantes par la fauche et tombent, plus ou moins endommagées, sur le sol. Il était donc intéressant de connaître l'aptitude à la sporulation de telles quenouilles, les quelques jours suivant la récolte constituant, ainsi que nous l'avons indiqué, la période de contamination des tiges par les ascospores. Nous avons ensuite repris les captures à partir des quenouilles restées sur pied, pour suivre l'évolution finale de la sporulation (18 juillet au 20 août).

La capture des ascospores est faite à l'aide d'un piège à aspiration, spécialement construit à cet usage par nos soins et utilisé au champ dès 1986 (FERMAUD, CLINKSPOOR, RAYNAL, 1987). L'appareil, que nous avons décrit ailleurs (RAYNAL, 1990) et dont la figure 1 rappelle les principaux éléments, est basé sur le principe de celui de HIRST (1952), repris par d'autres (RAPILLY, 1970).

L'appareil est placé près des quenouilles, de telle sorte que la fente d'aspiration soit située à 5 cm du lot de quenouilles dont on se propose d'étudier la sporulation. Selon que les quenouilles sont sur pied ou portées par des tiges coupées déposées sur le sol, la fente d'aspiration est placée soit verticalement (figure 1), soit horizontalement, le support de l'appareil étant conçu pour assurer ces 2 positions.

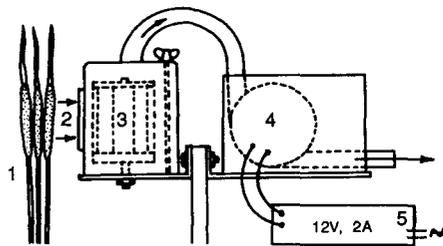


Figure 1

FIGURE 1 : Schéma du capteur d'ascospores. 1 : quenouilles, 2 : fente d'aspiration, 3 : tambour enregistreur portant une bande de plastique lanolinée, effectuant une révolution en 24 heures, 4 : aspirateur (turbine de climatisation de voiture), 5 : transformateur électrique.

FIGURE 1 : *Schema of the vacuum spore trap. 1 : chokes, 2 : aspirating slot, 3 : rotating drum bearing a sticky plastic sheet (1 turn in 24 h), 4 : aspirator (car air-conditioning fan), 5 : electric converter.*

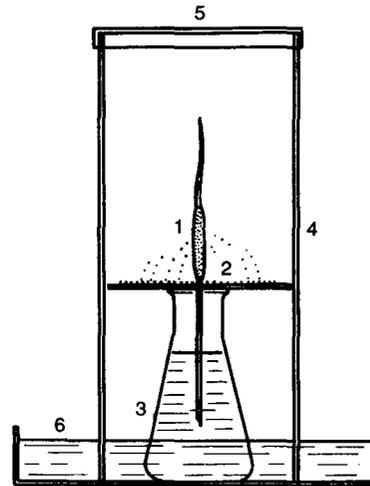


Figure 2

FIGURE 2 : Schéma du dispositif utilisé pour l'étude de la sporulation des quenouilles en chambre climatisée 1 : tige quenouillée, 2 : disque en plastique récoltant les ascospores, 3 : fiole d'Erlenmeyer remplie d'eau, 4 : cylindre en plastique transparent, 5 : couvercle transparent, 6 : soucoupe remplie d'eau

FIGURE 2 : *Scheme of the device used for the study of ascospores discharge in a climatic chamber. 1 : choked stem, 2 : plastic disc gathering the ascospores, 3 : Erlenmeyer vial filled with water, 4 : transparent plastic cylinder, 5 : transparent lid, 6 : saucer filled with water*

Toutes les 24 heures, on change la feuille de plastique et on procède au comptage des ascospores aspirées qui s'y sont collées. Pour cela, on découpe la feuille selon les bandes de 3 heures, puis on immerge ces bandes dans une quantité d'eau connue (10 ml) additionnée de quelques gouttes d'un mouillant (Tween 20). Les ascospores sont rapidement mises en suspension dans l'eau en frottant la surface des bandes avec un pinceau. Contrairement à ce qu'on aurait pu craindre, cette opération ne brise pas les ascospores, filiformes et souples (60-130 microns \times 1-1,5 microns). Une manipulation préliminaire a en effet montré que plus de 90% des ascospores ont une longueur moyenne supérieure à 60 microns après leur récupération. Seules sont comptées à l'hématimètre les

ascospores dont la longueur est supérieure à cette dernière dimension. Les quantités d'ascospores sont rapportées au centimètre de quenouille, la longueur des quenouilles, stable au cours du temps, étant mesurée en fin de manipulation.

On enregistre enfin la température et l'hygrométrie à proximité des quenouilles. Les conditions météorologiques locales sont notées. Les relevés pluviométriques sont ceux de la Station I.N.R.A. de Bioclimatologie, distante de quelques centaines de mètres.

2. Emission des ascospores en chambre climatisée

Le but des manipulations est d'analyser l'effet des principaux facteurs physiques pouvant agir sur la projection des ascospores, afin de mieux expliquer les résultats obtenus dans les conditions naturelles. Pour cela, des tiges quenouillées en bon état sont prélevées vers 18 heures sur les touffes de dactyle, du 9 au 17 juillet. Chaque tige est mise à tremper dans de l'eau permutée contenue dans un Becher de 250 ml. Ce Becher est placé sur une soucoupe contenant de l'eau permutée, et entouré d'un cylindre transparent en Altuglass, de 30 cm de hauteur et de 140 mm de diamètre interne, fermé dans sa partie haute par un couvercle de boîte de Petri de 150 mm de diamètre. On réalise ainsi une cage cylindrique servant de chambre humide, dans laquelle peut sporuler la quenouille. L'ensemble est immédiatement porté en chambre climatisée, réglée aux conditions que l'on désire tester.

Pour éviter d'être gêné par d'éventuels effets résiduels des conditions rencontrées à l'extérieur par les quenouilles, ce n'est que le lendemain, vers 9 heures, que l'on commence la récolte des ascospores projetées. Pour cela, on coiffe les Becher par des disques en plastique transparent de 140 mm de diamètre, percés en leur centre de façon à laisser passer les tiges et à maintenir dressées les quenouilles (figure 2). Les ascospores, projetées en air calme, se déposent sur les disques. On peut alors mesurer leur distance de projection et surtout l'intensité de la sporulation en fonction de divers facteurs. Ainsi, la température de la chambre climatisée est réglée à 15, 20 ou 25 °C (± 1 °C). Les quenouilles sont soumises soit à un éclairage continu sous des tubes fluorescents de type "blanc industrie" délivrant 3 500 lux au niveau des quenouilles, soit à l'obscurité continue, en coupant l'alimentation des tubes. L'humidité relative de l'air mesurée au niveau des quenouilles (à l'aide d'une sonde thermohygrométrique Humicor type IHRT) est de 100 % si on laisse les couvercles de boîtes de Petri en place sur les cylindres. Elle est voisine de 70 % lorsqu'on ôte les couvercles, ce qui correspond au niveau maintenu dans la chambre climatisée par un humidificateur.

Chaque couple de facteurs étudié nécessite 15 quenouilles, dont la projection individuelle d'ascospores est établie sur 24 heures. Pour cela, les ascospores sont récupérées par lavage des disques et dénombrées à l'hématimètre. Là encore, on rapporte la quantité de spores émises au centimètre de quenouille.

Résultats

1. Emission des ascospores en conditions climatiques naturelles

• Capture des ascospores à partir de quenouilles sur pied

La figure 3 indique la quantité quotidienne d'ascospores récoltée par centimètre de quenouille (longueur totale pour les 5 quenouilles : 21,1 cm).

Les résultats sont conformes à ceux établis au champ en 1986 dans l'Aube sur la variété Lutecia dans une parcelle de 2^e année de production où nous avons fait une capture par semaine avec l'aspirateur de spores, du 19 juin au 22 juillet (FERMAUD, CLINKSPOOR, RAYNAL, 1987). On voit en effet que l'émission des ascospores a lieu de la mi-juin à la mi-juillet et qu'elle s'annule vite ensuite.

Du 18 juin au 8 juillet, période de forte sporulation, la quantité d'ascospores récoltées par jour pour 1 cm de quenouille est en moyenne de 885×10^3 (écart type : 447×10^3). En fin de cycle de sporulation, les 31 juillet et 7 août, la récolte ne dépasse pas 5×10^3 ascospores/cm de quenouille. La diminution de l'émission des ascospores est due à plusieurs facteurs agissant simultanément. Le vieillissement des quenouilles intervient en premier lieu, mais aussi le fait qu'elles sont plus ou moins parasitées par des champignons et par le diptère spécifique. Ce parasitisme peut intervenir dès le début du mois de juin certaines années où le printemps est humide et contribuer à la dégradation rapide des quenouilles. En année normale, à la mi-août, les quenouilles restées sur pied sont pratiquement détruites en totalité et sont en voie de dessèchement. En 1987, les quenouilles sont restées en assez bon état jusque vers le 20 juillet, le printemps et le début de l'été ayant été relativement peu humides.

Pendant la période de sporulation active, on voit qu'il est difficile de relier les modifications climatiques, notamment la pluviométrie, aux variations de l'intensité de la sporulation quotidienne. En particulier par temps anticyclonique, très ensoleillé et sans aucun nuage, chaud et accompagné d'un vent sec d'est ou de nord-est la journée, frais et calme la nuit, la sporulation est aussi abondante (sinon plus) qu'en période d'averses ou de temps couvert mais sans pluie caractéristique des flux perturbés de sud à nord-ouest. De même, les pics de sporulation (24, 25, 29 juin) sont obtenus lors de périodes à ciel totalement couvert, relativement fraîches ou au contraire très chaudes et orageuses.

Cette relative constance de la sporulation s'explique aisément par le fait, que nous détaillerons plus loin, que l'éjection des spores, nécessitant une forte humidité, se déroule essentiellement la nuit. Ainsi, même dans des conditions de sécheresse diurne, il y a toujours suffisamment d'humidité nocturne pour assurer la production et la projection des ascospores.

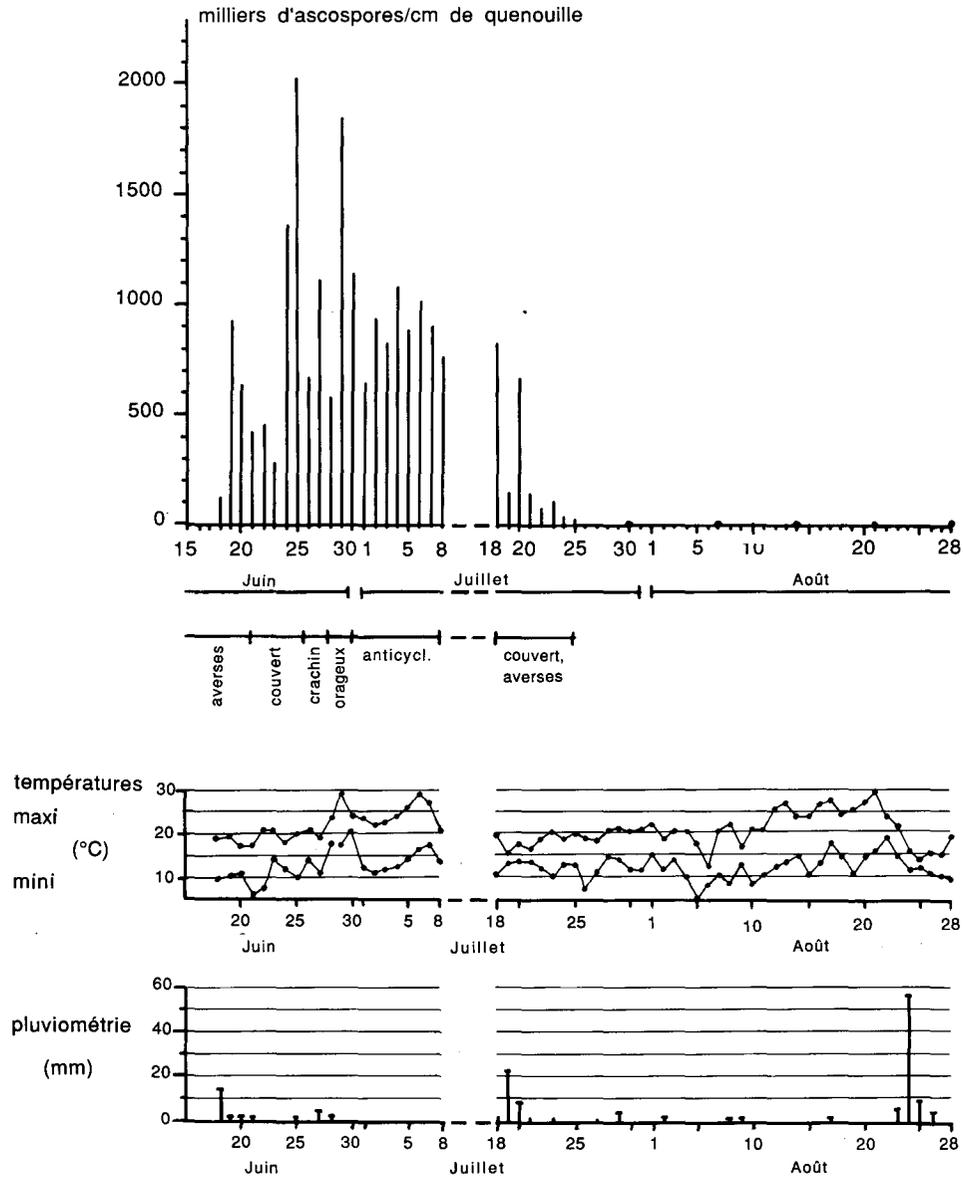


FIGURE 3 : Quantités d'ascospores émises dans les conditions naturelles en 1987 et récoltées chaque jour avec un capteur de spores par aspiration, en relation avec les conditions climatiques
FIGURE 3 : Quantities of ascospores discharged in natural conditions in 1987 and collected daily with a vacuum spore trap, according to climatic conditions

• **Capture des ascospores de quenouilles portées par des tiges coupées placées à l'extérieur**

Rappelons que l'on travaille ici à partir de lots de 10 tiges quenouillées en très bon état, mises à plat sur le sol (sec ou maintenu humide), ou verticales et leurs extrémités plongeant dans de l'eau permutée. Ces quenouilles subissent les conditions climatiques naturelles. Pendant la période de manipulation (du 9 au 17 juillet), les conditions météorologiques ont d'abord été anticycloniques jusqu'au 13 juillet, puis plus ou moins orageuses avec des pluies éparses peu importantes.

— *Tiges quenouillées déposées sur un sol sec immédiatement après la coupe*

La manipulation a lieu par très beau temps anticyclonique et porte sur 3 lots de 10 quenouilles. Malgré une humidité atmosphérique à saturation relevée la nuit au niveau du sol, on ne récolte des ascospores que la première nuit, entre 21 h et 24 h. La quantité capturée est très faible ($1,2 \times 10^3$ ascospores/cm de quenouille, en moyenne). La projection est nulle pendant les 2 jours suivants, les quenouilles étant desséchées. La sporulation de quenouilles détachées des plantes s'arrête donc très vite si elles sont placées sur un sol sec, par suite de leur dessiccation.

— *Tiges quenouillées déposées après la coupe sur un sol maintenu constamment humide*

En conditions anticycloniques, trois lots de tiges quenouillées sont placés à la surface d'un sol mis en terrine dont la partie inférieure baigne dans un bac rempli d'eau. Le sol reste ainsi constamment gorgé d'eau, si bien que les quenouilles ne se dessèchent pas pendant la durée de la manipulation. Il est ainsi possible de capturer des ascospores pendant toute la période considérée (72 heures), avec toutefois un maximum la première nuit (moyenne : 73×10^3 ascospores/cm de quenouille). La sporulation diminue vite ensuite (moyenne : 9×10^3 ascospores/cm de quenouille les 2^e et 3^e nuits). Même maintenues sur un sol humide, la sporulation des tiges quenouillées séparées des plantes est donc bien plus faible (environ 10 fois moins dans le meilleur des cas) que lorsque les quenouilles restent sur pied, et diminue rapidement.

— *Tiges quenouillées soumises à diverses durées de dessiccation à 25°C puis portées sur un sol humide*

Trois lots de quenouilles, séparées des plantes, sont placés en étuve à 25°C pendant 12, 24 ou 48 heures avant d'être reportés sur le sol humide, les conditions anticycloniques se maintenant. Les quantités de spores récoltées pendant les 24 heures qui suivent le dépôt des quenouilles sur le sol sont les suivantes :

— dessiccation de 12 heures : 41×10^3 ascospores,

— dessiccation de 24 heures : 27×10^3 ascospores,

— dessiccation de 48 heures : 16×10^3 ascospores.

Une dessiccation suivie de réhumectation n'entraîne donc pas la mort des quenouilles, mais plus la dessiccation est prolongée, plus la sporulation diminue.

— *Tiges quenouillées dont l'extrémité plonge dans un récipient rempli d'eau*

Deux lots de quenouilles sont successivement utilisés, pendant 3 jours chacun. Le premier lot a subi l'action de conditions anticycloniques, le second de conditions climatiques orageuses. La sporulation des 2 lots est semblable et demeure constamment élevée sur les 3 jours de capture. Ainsi, on récolte en moyenne par période de 24 heures et par cm de quenouille 420×10^3 ascospores pour le 1^{er} lot et 302×10^3 ascospores pour le second.

Ces valeurs montrent que lorsque l'alimentation en eau des quenouilles portées par des tiges coupées est satisfaite, elles sont capables de projeter leurs ascospores de la même façon que lorsqu'elles demeurent attachées à la plante. Un examen microscopique d'une quenouille bien alimentée en eau montre que le stroma du champignon, bordant les cavités périthéciales, est turgescant et comprime l'ensemble des asques. Cela provoque leur sortie à tour de rôle par le pore périthécial et l'éjection des ascospores filiformes, comme on peut le vérifier aussi à la loupe binoculaire. La turgescence des tissus du champignon due à une bonne absorption d'eau par les vaisseaux de la tige est donc nécessaire à l'émission abondante des ascospores, ainsi que l'avait déjà constaté INGOLD (1948) lors d'une manipulation au laboratoire.

• Périodicité de l'éjection des ascospores

Ainsi que l'indique la figure 4 qui rassemble les données des captures du 19 juin au 7 juillet 1987, les ascospores sont éjectées en très grande majorité la nuit, entre 21 h et 3 h, quelles que soient les conditions climatiques du jour ou de la nuit. Ces résultats recourent ceux obtenus au champ en 1986, déjà cités. La seule exception est le 27 juin, où un crachin depuis la fin de la matinée jusqu'à la tombée de la nuit (humidité relative de 100 % de 9 h à 24 h) a favorisé l'émission de quantités non négligeables d'ascospores l'après-midi ($19,4 \times 10^3$ ascospores/cm de quenouille de 12 h à 15 h et $37,9 \times 10^3$ de 15 h à 18 h). La projection des ascospores nécessite donc la turgescence des quenouilles et aussi une très forte humidité de l'air. Sous le climat du bassin parisien, cette forte humidité de l'air ne se rencontre presque uniquement que la nuit en période estivale, avec des durées plus ou moins longues selon la pluviométrie.

La mise en évidence de cette particularité de sporulation, presque exclusivement nocturne, aura des conséquences sur l'épidémiologie et sur l'établissement des conseils pour la lutte prophylactique.

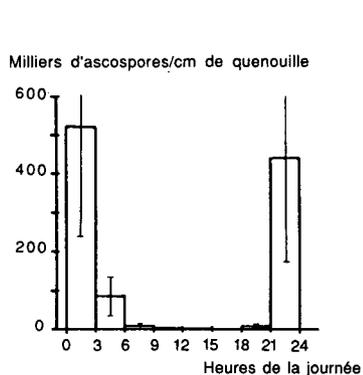


Figure 4

FIGURE 4 : Répartition moyenne journalière de la projection des ascospores dans les conditions naturelles du Bassin Parisien, de la mi-juin au début de juillet

FIGURE 4 : Mean daily distribution of ascospores discharge in the natural conditions of Paris Basin, from mid June to early July

		Températures (°C)		
		15	20	25
Lumière			N.S.	
		390	584	503
Obscurité				N.S.
		238	328	400
		N.S.		

S et NS : différences respectivement significatives et non significatives au seuil P = 0,05

Tableau 1

TABLEAU 1 : Effet de la température, de la lumière et de l'obscurité sur la quantité moyenne d'ascospores projetées en 24 heures (en milliers d'ascospores/cm de quenouille) à une humidité atmosphérique de 100%

TABLE 1 : Influence of temperature, light and darkness on the mean quantities of ascospores discharged in 24 hours (in thousands of ascospores/cm of choke) at 100% R.H. of the atmosphere

2. Emission des ascospores en chambre climatisée

Nous avons montré précédemment que des tiges quenouillées coupées, mises à tremper dans de l'eau, continuent dans les conditions naturelles à sporuler de façon apparemment normale pendant quelques jours. Nous avons mis à profit cette particularité pour étudier leur sporulation sous diverses conditions.

Avec le dispositif utilisé, pour des quenouilles d'une taille voisine de 40 mm, les ascospores projetées se déposent avec la plus grande abondance jusqu'à environ 20 mm de la base de la quenouille. On trouve encore quelques ascospores au bord du disque en plastique, soit à 70 mm de la base de la quenouille.

• Emission des ascospores sous une humidité atmosphérique de 100%

Le tableau 1 résume les résultats obtenus, en nombre moyen d'ascospores recueillies en 24 h/cm de quenouille, selon la température et la présence de lumière ou d'obscurité.

L'analyse de variance portant sur la comparaison de l'effet des températures à lumière constante montre une légère différence significative entre 15 et 20°C (le

F calculé est à la limite de significativité, à $P = 5\%$), mais pas entre les autres températures. Cet effet n'existe pas lorsque les quenouilles sont maintenues à l'obscurité. Cela signifie que, dans nos conditions, nous n'avons pas mis en évidence d'action nette de la température sur la projection des ascospores, entre 15 et 25°C. Ceci est dû en particulier à l'hétérogénéité assez grande qui existe d'une quenouille à l'autre pour la sporulation, hétérogénéité qui se manifeste par des coefficients de variation compris entre 11,4 et 13,4%.

L'effet d'une relativement faible intensité lumineuse (3 500 lux) est plus probant, du moins à 15 et 20°C, malgré des coefficients de variation toujours assez élevés (de 9,3 à 13,5%). Ainsi, à ces températures et en humidité saturante, cette intensité lumineuse - que l'on ne trouve dans la nature qu'au lever et au coucher du soleil et peut-être en pleine journée sous le couvert végétal - semble plus favorable que l'obscurité à la sporulation. Comme, au champ, *Epichloe* ne sporule abondamment que pendant la nuit : durant la journée, l'effet bénéfique de la lumière (que l'on devrait en toute rigueur tester avec d'autres intensités) est inhibé par des facteurs limitants bien plus importants.

• Emission des ascospores à une humidité relative voisine de 70%

Quel que soit le couple de facteurs étudié, et bien que les quenouilles ne se soient jamais desséchées, leur exposition à une humidité relative voisine de 70% annule pratiquement toute projection d'ascospores. Les rares quenouilles ayant sporulé, réparties au hasard dans les essais, ont délivré de faibles quantités d'ascospores (de $7,5 \times 10^3$ à $13 \times 10^3/cm$ de quenouille en 24 h).

Une sécheresse relativement modérée de l'air ambiant suffit donc pour stopper la projection des ascospores, ce qui confirme nos déductions émises à la suite des expérimentations dans les conditions naturelles. Nous n'avons pas effectué de captures à des humidités relatives comprises entre 70 et 100%, faute de pouvoir régler aisément et avec certitude le taux d'humidité à l'intérieur des cages cylindriques.

Conclusion

Les rares études sur la sporulation d'*Epichloe typhina* auxquelles on peut se référer sont anciennes, fragmentaires et, pour certaines, sujettes à caution. WESTERN et CAVETT (1959) avaient montré que la période d'émission des ascospores se situe de la mi-juin à la fin de juillet en Angleterre. Nous avons abouti aux mêmes conclusions dans le bassin parisien. Leurs résultats étaient cependant très imprécis et incomplets, car les pièges à ascospores n'étaient constitués que de quelques lames de verre engluées fixées sur des piquets et disposées dans un champ de dactyle fortement quenouillé. Outre que les comptages de spores portaient sur des périodes de plusieurs jours, les auteurs ne reliaient pas l'éjection des ascospores aux conditions

climatiques et n'étaient pas en mesure de mettre en évidence la sporulation nocturne du champignon.

Résumons les principaux résultats auxquels nous avons abouti. La projection des ascospores, qui constituent l'inoculum pathogène, a lieu de la mi-juin à la fin du mois de juillet, avec un maximum vers la mi-juillet, époque où a lieu la récolte des semences de dactyle. Il y a donc une parfaite coïncidence entre la production d'un inoculum abondant à dissémination éolienne et la présence de plaies généralisées des tiges, nécessaires aux contaminations, lesquelles sont possibles, selon WESTERN et CAVETT, tant que les tiges ne sont pas cicatrisées. Très important également nous semble le fait que les ascospores sont projetées presque exclusivement la nuit, quelles que soient les conditions climatiques, leur libération nécessitant une forte humidité de l'air. Enfin, seules sont capables de sporuler les quenouilles non détachées des plantes ou, pendant peu de temps, celles qui, fauchées, tombent sur un sol humide.

Les modalités de sporulation que nous venons d'énoncer nous permettent de déduire quelques conseils ayant pour objet de réduire le plus possible la quantité d'inoculum. Bien que l'on ne connaisse pas la quantité minimale d'inoculum nécessaire pour engendrer la contamination d'une plante, il est en effet raisonnable d'espérer une diminution de l'intensité de la maladie si l'on parvient à limiter l'inoculum disponible. Il conviendrait donc de :

— **Récolter par période de beau temps sûrement établi pour plusieurs jours**, l'idéal étant des conditions anticycloniques stables. Ainsi, les tiges ne restent pas longtemps humides, ce qui est défavorable à la germination des ascospores (WESTERN et CAVETT, 1959). Mais surtout, en conditions anticycloniques estivales, le sol demeure sec et, la nuit, l'air est très stable. Les quenouilles coupées voient donc leur sporulation rapidement inhibée par suite d'une humectation insuffisante. Celles qui restent sur les plantes sont susceptibles de sporuler abondamment la nuit mais les ascospores ne sont sans doute pas disséminées très loin et donc ne peuvent pas contaminer de nombreuses plantes, en raison de la faiblesse, voire de l'absence totale de vent et de turbulences dans les très basses couches de l'atmosphère et notamment à proximité du sol.

— **Veiller à faucher très soigneusement la culture, le plus bas possible, pour inactiver le maximum de quenouilles**. Eviter de laisser des bordures ou des parties non coupées qui contiennent de nombreuses quenouilles sporulantes.

— **Faucher en premier les champs les plus âgés généralement très infestés**, afin de réduire le plus possible ces importantes sources d'inoculum susceptible d'être dispersé par le vent (cette mesure serait à déconseiller si l'on avait démontré la transmission de la maladie d'un champ à l'autre par les instruments de récolte, ce qui n'est pas le cas).

Précisons qu'en raison de la dissémination éolienne du champignon, la proximité des champs de dactyle dans les régions de production de semences facilite grandement leur contamination mutuelle. Il suffit pour cela que le vent entraîne l'inoculum à partir de quelques foyers de maladie sur des champs jusque-là sains, pendant la période favorable à la contamination. C'est pourquoi les mesures prophylactiques que nous préconisons n'ont de chances de s'avérer bénéfiques que si l'ensemble des producteurs d'une même petite région s'appliquent à les respecter.

Nous sommes conscients que ces conseils seront difficiles à faire passer dans la pratique car ils sont contraignants. Ils devraient cependant constituer une base sûre pour réduire les pertes dues à la quenouille par le seul emploi de pratiques culturales, pratiques qui demeureront indispensables tant que l'on ne disposera pas de traitements fongicides efficaces. Soulignons enfin que ces préconisations sont formulées uniquement à partir de déductions portant sur la connaissance de l'épidémiologie de la maladie et sur des données de climatologie. Il serait donc recommandé de les conforter par des expérimentations au champ, sur plusieurs années.

Accepté pour publication, le 30 janvier 1991

Remerciements

Une partie des travaux faisant l'objet de cet article a été financée par la Fédération Nationale des Agriculteurs Multiplicateurs de Semences. Je remercie particulièrement MM. H. CLINKSPOOR et G. SICARD, de cette Fédération, pour les échanges fructueux que nous avons eus.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- FERMAUD M., CLINKSPOOR H., RAYNAL G. (1987) : "Quelques éléments nouveaux sur la quenouille du dactyle", *Bulletin FNAMS Semences*, 99, 28-31.
- HIRST J.M. (1952) : "An automatic volumetric spore trap", *Ann. Appl. Biol.*, 39, 257-265.
- INGOLD C.T. (1948) : "The water-relations of spore discharge in *Epichloe*", *Trans. Brit. Mycol. Soc.*, 31, 277-280.
- LARGE E.C. (1954) : "Surveys for choke (*Epichloe typhina*) in cocksfoot seed crops 1951-1953", *Pl. Path.*, 3, 6-11.
- MAINER-CASADO A. (1979) : *Susceptibilidad de las especies pratenses a ciertos patógenos importantes in Galicia*, tesis doctoral, Madrid, 105 p.
- RAPILLY F. (1970) : "Réalisation d'un appareil automatique de capture des spores présentes dans l'air", *Ann. Phytopathol.*, 2, 259-262.
- RAYNAL G., CLINKSPOOR H. (1988) : "Epidémiologie de la quenouille du dactyle et méthodes de lutte prophylactique envisageables", *2^e Conf. Intern. sur les Maladies des Plantes ANPP*, Bordeaux, 1049-1056.

RAYNAL G. (1990) : "Cinétique de la production d'ascospores de *Sclerotinia trifoliorum* Eriks. en chambre de culture et en conditions climatiques naturelles. Incidences pratiques et épidémiologiques", *Agronomie*, 10, 561-572.

WESTERN J.H., CAVETT J.J. (1959) : "The choke disease of cocksfoot (*Dactylis glomerata*) caused by *Epichloe typhina* (Fr.)Tul.", *Trans. Brit. Mycol. Soc.*, 42, 298-307.

RÉSUMÉ

La quenouille peut provoquer entre 10 et 20% de pertes en semences chez le dactyle. Des études réalisées en 1987 à l'aide d'un piège à aspiration sur des touffes quenouillées de dactyles sauvages, isolées en microparcelles dans les conditions climatiques naturelles, montrent que les ascospores sont projetées en quantités importantes surtout de la fin juin à la mi-juillet, quelles que soient les conditions climatiques. L'éjection des ascospores est essentiellement nocturne et nécessite une humidité relative de l'air proche de 100%. Des quenouilles détachées des plantes, placées sur un sol sec, s'arrêtent rapidement de sporuler. Si ces quenouilles sont alimentées en eau, elles sporulent normalement pendant quelques jours pourvu que l'humidité de l'air soit élevée. Des études complémentaires réalisées en chambre climatisée, sur des quenouilles séparées des plantes, à 15, 20 et 25°C, à la lumière ou à l'obscurité, à une humidité atmosphérique de 70 ou 100%, confortent les résultats obtenus en conditions naturelles. La lutte, uniquement prophylactique et tenant compte des conditions requises pour la sporulation du champignon, nécessiterait de récolter les dactyles par beau temps sec, de pratiquer une fauche soignée pour couper le maximum de quenouilles, de récolter en premier lieu les champs les plus âgés et enfin de détruire par un labour après récolte les champs qui montrent plus de 10% de tiges quenouillées.

SUMMARY

The release of ascospores of *Epichloe typhina* (Pers. ex Fr.) Tulasne, the agent of choke disease of cocksfoot. Consequences for epidemiology and control

The choke disease of cocksfoot is an important threat in seed production in northern and eastern parts of France, where the main acreages of seed fields are located. The fungus inhibits seed formation. The average losses can reach 10 to 20% and increase with the age of the stands. Studies carried out in 1987 with a vacuum spore trap on wild choked plants, isolated in small parcels, showed that the ascospores were discharged in important quantities mainly from the end of June to mid-July, whatever the climatic conditions. The ascospores were essentially ejected during the night, because their discharge requires a high relative air humidity. Choked stems cut from plants and placed on a dry soil stopped sporulating quickly. When these chokes were well supplied with water, they continued to sporulate normally during a few days, provided that the air humidity was high. Complementary studies carried out in a climatic chamber, at various temperatures (15, 20, 25°C), in the light or in darkness, at a relative humidity of the air from 70 to 100%, on choked stems separated from plants, led to the same results as those obtained on chokes left on the plants. Possible control measures are only prophylactic, field trials with fungicides having proved to be unsuccessful, and should take into consideration the quoted conditions required for sporulation. One should harvest the crop when the weather is dry and sunny (anticyclonic conditions are the best ones). Under those conditions, chokes, cut by the combine-harvester, fall on the ground, dry quickly and are not able to sporulate any more. Moreover, during anticyclonic conditions, the wind is low or even non-existing during the night, so that the ascospore dissemination is presumably limited. One should leave non-cut areas as briefly as possible in the field, mainly on the edges, where numerous sporulating chokes may survive. The older fields should be harvested first, in order to inactivate their inocula. Ascospores being carried by the wind, these recommendations could only be effective if all the growers agreed to apply them in a small region.