

Alternariose de la pomme de terre en France

Pour progresser dans la connaissance de l'alternariose, une analyse du pouvoir pathogène de plusieurs souches des 2 espèces d'*Alternaria* (*Alternaria spp.*) a été réalisée en conditions contrôlées ainsi que l'observation des niveaux d'efficacité *in vitro* de certaines spécialités fongicides commerciales à l'encontre des 2 espèces d'*Alternaria*.

Mieux connaître, c'est mieux lutter !

Sur l'initiative de BASF Agro, un groupe de travail* a été constitué afin de mieux comprendre ce qu'est l'alternariose en France. La première étape de ce travail a permis de répondre à quelques interrogations à partir de données issues d'un réseau de parcelles mis en place en 2005 (27 grandes parcelles) et en 2006 (31 grandes parcelles et 18 petites parcelles). Les objectifs étaient, premièrement, d'identifier l'importance relative de différents critères identifiés comme susceptibles d'être importants dans le développement de la maladie *via* la mise au point d'une « fiche terrain » et, deuxièmement, de caractériser les populations françaises d'*Alternaria*. Ainsi, outre l'identification de facteurs favorables à l'infection des pommes de terre et au développement de la maladie dans un contexte français (ensoleillement, alternance de phases d'ensoleillement et d'humidité, présence d'alternariose dans les parcelles voisines, interactions « Manque d'azote » et « Déficit hydrique »), il s'est avéré que, bien que nous ayons identifié deux espèces fongiques susceptibles d'être impliquées dans l'alternariose de la pomme de terre - *Alternaria solani* et *A. alternata* - il était difficile d'isoler l'espèce *solani* sur milieu de culture, en conditions *in vitro*. À l'époque, nous avions opté pour un diagnostic moléculaire (analyse de la présence/absence des espèces fongiques en fonction de la détection de leur ADN) afin d'obtenir des premières pistes de travail avant de revenir, avec cette présente étude, à des approches plus pragmatiques que sont la microbiologie et la phytopathologie. Par conséquent, les deux grands axes

de cette nouvelle étude concernent :
 - L'analyse du pouvoir pathogène de plusieurs souches des deux espèces d'*Alternaria* (*Alternaria spp.*) prélevées sur pomme de terre, inoculées séparément ou associées, *via* la mise au point d'un test d'infection, en conditions contrôlées.
 - L'observation des niveaux d'efficacité *in vitro* de certaines spécialités fongicides commerciales à l'encontre des 2 espèces d'*Alternaria*.

Alternariose ou Alternarioses ?

Un test d'infection réalisé en laboratoire, en conditions contrôlées, a été mis au point afin de déterminer le rôle exact d'*A. alternata* dans l'alternariose de la pomme de terre, en France. Pour ce faire, nous avons utilisé des folioles issues de deux variétés de pommes de terre présentant une sensibilité à l'alternariose - Maestro (variété assez sensible) et Samba (variété un peu moins sensible) - maintenues en survie dans des boîtes de Pétri. Certains spécialistes relatant que les infections générées par les champignons responsables de l'alternariose seraient susceptibles d'être favorisées par la présence de micro-blessures, nous avons donc décidé d'inclure cette variable supplémentaire dans notre expérimentation en réalisant des blessures au scalpel sur certaines des folioles. Ainsi, après avoir repiqué puis fait sporuler chacune des deux espèces d'*Alternaria*, nous avons utilisé 10 microlitres (µl) de suspensions de spores calibrées [deux concentrations distinctes utilisées : 10³

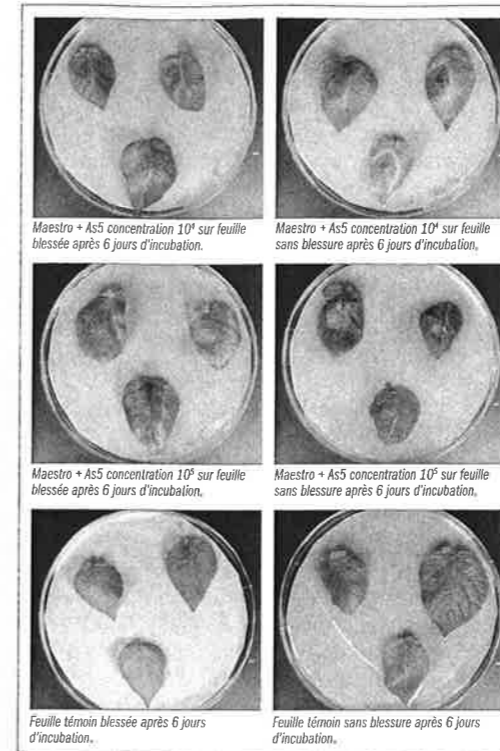


Figure 1. Résultats des infections réalisées en conditions contrôlées de folioles de la variété Maestro de pomme de terre, préalablement blessées ou non, par deux concentrations d'une souche d'*A. solani*.

Tableau 1. Moyenne des résultats des niveaux d'infection observés sur folioles blessées (B) ou non (SB) de deux variétés de pomme de terre (Maestro et Samba) générés par 6 souches différentes d'*Alternaria alternata*, après trois et six jours d'incubation. Deux concentrations de spores distinctes ont été utilisées.

	<i>A. alternata</i>							
	3 jours				6 jours			
	Maestro		Samba		Maestro		Samba	
	B	SB	B	SB	B	SB	B	SB
Faible concentration de spores	-	-	-	-	+++	++	+	+
Forte concentration de spores	+	+	-	(+)	+++	++	++	++

Tableau 2. Moyenne des résultats des niveaux d'infection observés sur folioles blessées (B) ou non (SB) de deux variétés de pomme de terre (Maestro et Samba) générés par 6 souches différentes d'*Alternaria solani*, après trois et six jours d'incubation. Deux concentrations de spores distinctes ont été utilisées.

	<i>A. solani</i>							
	3 jours				6 jours			
	Maestro		Samba		Maestro		Samba	
	B	SB	B	SB	B	SB	B	SB
Faible concentration de spores	(+)	(+)	(+)	-	++	++	+	+
Forte concentration de spores	++	+	+	(+)	+++	+++	++	++

ou 10⁴ et 10⁴ ou 10⁵ spores/millilitre (ml), en fonction de la capacité de sporulation propre à chaque souche ; un facteur 10 étant toujours réalisé entre la concentration la plus faible et la plus forte] de chacune des espèces pour infecter les folioles préalablement détachées de la plante. Les folioles infectées ont ensuite été incubées en conditions humides pendant six jours avec une prise de photos après trois et six jours d'incubation. La Figure 1 présente les résultats obtenus avec les deux concentrations d'une souche d'*A. solani* sur la variété Maestro, dont les folioles avaient été blessées ou non, six jours après infection. Afin de nous affranchir de tout résultat singulier ou incohérent, six souches différentes de chacune des espèces d'*Alternaria* ont été utilisées, des témoins ont été réalisés pour chacune des conditions d'expérimentation et chaque test a été répété 3 fois (triplicat). Les résultats reprenant l'ensemble des conditions introduites dans cette étude sont présentés dans les Tableaux 1, 2 et 3.

Malgré une interprétation complexe des résultats notamment liée à la multitude des variables introduites (variété de pomme de terre, âge des folioles, positionnement des feuilles sur le plant etc.) mais aussi par des conditions propres à l'expérimentation (difficulté de faire sporuler les souches d'*Alternaria solani*, par exemple), quelques conclusions

[-] pas de nécrose,
 [+] début de nécrose de la taille de la goutte initiale,
 [++] faible nécrose de la feuille (< 50% de la surface foliaire),
 [+++] importante nécrose de la feuille (> 50% et < 75% de la surface foliaire),
 [++++] nécrose foliaire totale.

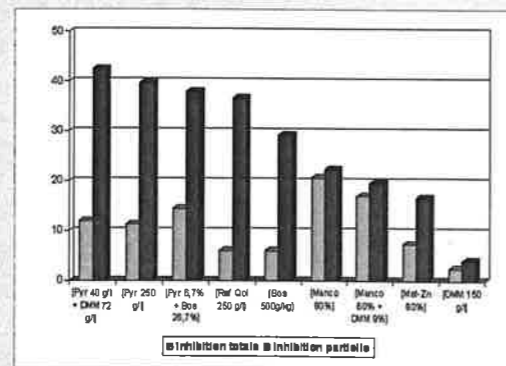
Tableau 3. Moyenne des résultats des niveaux d'infection observés sur folioles blessées (B) ou non (SB) de deux variétés de pomme de terre (Maestro et Samba) générés par l'association des deux espèces d'*Alternaria*, après trois et six jours d'incubation. Une concentration unique de spores, 10⁴ spores/ml, a été utilisée.

	<i>A. alternata</i> + <i>A. solani</i>							
	3 jours				6 jours			
	Maestro		Samba		Maestro		Samba	
	B	SB	B	SB	B	SB	B	SB
Faible concentration de spores	+	+	+	-	+++	+++	++	++

intéressantes et/ou pistes de réflexion peuvent cependant être mises en avant :

- Les résultats après six jours d'incubation ne sont pas tous interprétables en particulier ceux obtenus avec la variété Samba dont la sénescence a tendance à être rapide et ce, même en absence de contamination par *Alternaria spp.*
- Dans le cas des infections générées par *A. alternata*, les blessures semblent permettre une infection plus importante dans les étapes précoces de développement (trois jours). Toutefois, cette importance n'est plus retrouvée dans les étapes plus tardives (six jours). Par conséquent, les blessures ne sembleraient pas être un facteur favorisant les infections par *A. solani* (agent pathogène au sens strict) alors que chez *A. alternata* (agent pathogène à capacité saprophytique), des « portes d'entrée » dans la plante favoriseraient son développement.
- La concentration de spores d'*A. solani* nécessaire à l'initiation d'une infection sur les folioles de pomme de terre est en général plus faible que celle d'*A. alternata*. En effet, une expérience complémentaire a montré qu'il fallait 10 à 100 fois moins de spores pour obtenir une lésion de taille équivalente après trois jours d'incubation (soit de 10^2 à 10^3 spores d'*A. solani* pour 10^4 spores d'*A. alternata*). Même si cette tendance se lisse après six jours d'incubation, essentiellement à cause des lésions qui recouvrent la totalité des surfaces foliaires, il semblerait que les souches d'*A. solani* soient plus aptes à initier une lésion sur folioles que les souches d'*A. alternata*.
- Aucune synergie (infection augmentée) n'est détectée lorsque les deux espèces d'*Alternaria* sont inoculées de façon simultanée.

Figure 2. Diamètres moyens d'inhibition totale et partielle relatifs à chaque fongicide ou association de fongicides testé(e)s, toutes espèces d'*Alternaria* confondues, après trois jours d'incubation.
Manco : mancozèbe, DMM : diméthomorphe, Pyr : pyraclostroline, Bos : boscalid, Met-Zn : métirame-zinc, Ref Qol : strobilurine.



Ainsi, compte tenu de la capacité de ces deux espèces à infecter la pomme de terre, même si *A. solani* semble être l'agent pathogène majoritairement responsable de la maladie, il est capital d'obtenir des informations quant à la possibilité de contrôler leur développement par l'utilisation de fongicides.

Efficacité de fongicides sur le développement d'*A. solani* et *A. alternata*

Étape initiale : germination des spores

L'objectif de la mise en place de ce test est de faire un état des lieux des niveaux d'efficacité de différentes molécules sur un panel d'espèces et de souches d'*Alternaria* (10 souches de chacune des deux espèces, non obligatoirement prélevées sur pomme de terre), à un stade très précoce de développement.

La méthode utilisée est dérivée de la méthode des antibiogrammes. Un millilitre d'une suspension calibrée de spores (10^5 spores/ml) de chacune des espèces d'*Alternaria* étudiée a été déposé sur un milieu de culture artificiel (milieu PDA : Pomme de terre/Dextrose/Agar). Cette suspension a été étalée de façon à obtenir une répartition homogène sur toute la surface de la boîte de Pétri. Sans fongicide, cette technique permet un recouvrement total de la boîte après trois jours d'incubation.

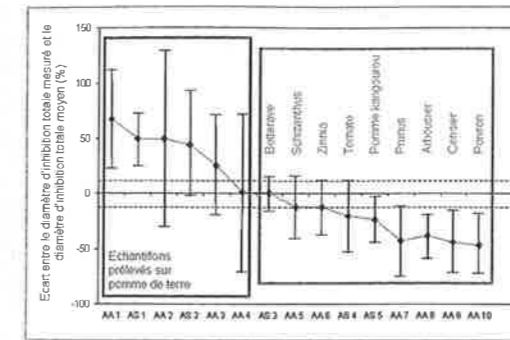
En parallèle, des disques de papiers stérilisés de 6 mm de diamètre ont été imbibés à l'aide de 20 µl des différents fongicides utilisés ; la concentration de chacun de ces derniers correspondant à celle utilisée en pratique. Les disques ont ensuite été déposés sur le milieu de culture contenant les suspensions de spores préalablement étalées (5 disques par boîte).

Les boîtes ont été mises à incuber à 28 °C. Neuf fongicides ou associations de fongicides, en parallèle d'un témoin « eau stérile », ont été testés. Chaque expérimentation a été répétée trois fois.

Une première lecture du diamètre d'inhibition est réalisée après trois jours d'incubation. À la suite de quoi, les boîtes sont de nouveau incubées pendant 48 h dans les mêmes conditions avant que de nouvelles mesures soient effectuées (cinq jours d'incubation au total).

Deux diamètres d'inhibition ont été notés. Il s'agit du diamètre d'inhibition total (aucun développement fongique n'est observé - Figures 2 et 3) et du diamètre d'inhibition partielle (un développement fongique plus faible que celui mesuré sur le témoin « eau stérile » est observé - Figure 2).

Figure 3. Ecart entre la sensibilité observée pour une souche et la sensibilité moyenne. La sensibilité est appréciée en fonction du diamètre d'inhibition totale, toutes molécules ou associations de molécules confondues, pour chaque souche de chaque espèce testée, après trois jours d'incubation. Les pointillés délimitent une zone pour laquelle il est considéré que la sensibilité est moyenne. AA : *A. alternata*, AS : *A. solani*.



Avant tout, il est important de préciser que les souches d'*A. solani* présentent, de façon générale, davantage de difficultés à sporuler. Par conséquent, sur les dix souches devant être analysés, seules cinq ont pu générer des résultats.

En conclusion de cette étude, il apparaît que tous les produits testés présentent un effet « inhibiteur total » et que les diamètres d'inhibition moyens varient en fonction du/des fongicide(s) utilisé(s) (toxicité différente des molécules à la concentration nominale d'utilisation et/ou vitesse de diffusion différente).

En ce qui concerne l'effet « inhibiteur partiel », bien que la variabilité des diamètres d'inhibition apparaît être non négligeable d'une souche à l'autre, cette variabilité semble moins importante que celle enregistrée dans le cas de la mesure des diamètres d'inhibition totale. Quoi qu'il en soit, les mesures des diamètres d'inhibition aussi bien totale que partielle conduisent aux mêmes conclusions :

- Il ne semble pas y avoir d'effet « espèce » : les souches d'*A. solani* et d'*A. alternata* ne se distinguent pas l'une de l'autre d'un point de vue sensibilité.
- Les diamètres d'inhibition ne sont pas équivalents d'une souche à l'autre : les souches d'*Alternaria spp.* n'ont pas toutes le même niveau de sensibilité pour un fongicide donné.
- Il existe un gradient de sensibilité indépendant du produit testé ce qui veut dire que certaines souches sont naturellement moins sensibles que d'autres à des molécules antifongiques (et réciproquement).
- Les souches des espèces d'*Alternaria* montrant les diamètres d'inhibition totale moyens les plus importants correspondent à des souches prélevées sur pomme de terre ; les souches les moins sensibles aux molécules testées ayant été prélevées sur cerisier, arbousier, ageratum, betterave, zinnia, schizanthus, pomme kangourou, prunus, poivron ou encore tomate (Figure 3). Le fait que, d'un point de vue sensibilité, les souches des espèces prélevées sur pomme de terre soient totalement regroupées pourrait suggérer l'éventualité de l'existence d'espèces d'*Alternaria - alternata* et *solani* - davantage spécialisées dans l'attaque de la pomme de terre.

NOUVEAUTÉS MATÉRIEL DORMY

Cape sur buttoir



Système anti érosion adaptable Sur fraises toutes marques



Ets COTTARD

80190 CURCHY

03 22 78 30 37

Fax : 03 22 88 29 45

cottard.sarl@wanadoo.f