

MISE EN EVIDENCE, EN FRANCE, D'UNE SOUCHE DE *PUCCINIA HORIANA* RÉSISTANTE A L'OXYCARBOXINE

par Denise GROUET *, Françoise MONTFORT **, P. LEROUX ***

RÉSUMÉ

Plusieurs souches de *Puccinia horiana* P. Henn. ont été étudiées au laboratoire et en serre pour déterminer leur sensibilité vis-à-vis de l'oxycarboxine, matière active très employée par les horticulteurs pour lutter contre la Rouille blanche des chrysanthèmes.

L'une d'entre elles s'est révélée résistante : elle provenait d'une exploitation où les plantes étaient traitées depuis plus d'un an de façon intensive et exclusive avec de l'oxycarboxine.

Après l'abandon des pulvérisations d'oxycarboxine, la résistance décroît progressivement avec le temps, mais 3 mois n'ont pas suffi pour rendre cette souche totalement sensible. Par contre, la résistance se maintient si des traitements réguliers sont effectués.

Compte-tenu de ces résultats, il s'avère indispensable, pour éviter l'apparition de tels problèmes, d'inclure dans le programme de traitement d'autres fongicides ayant des modes d'action biochimiques différents.

INTRODUCTION

La Rouille blanche du Chrysanthème due à *Puccinia horiana* P. Henn. a été signalée en France pour la première fois en 1967 par Mays et Favreau. Sa gravité a incité alors les horticulteurs à appliquer toutes les mesures nécessaires pour enrayer son évolution. Mais depuis ces dernières années, de nombreux praticiens s'inquiètent devant les difficultés qu'ils rencontrent pour lutter efficacement contre cette maladie. La Rouille blanche est redevenue un facteur limitant pour la production du Chrysanthème et elle sévit aussi bien en culture traditionnelle qu'en culture dirigée sous serre.

A la suite des travaux de Dalchow (1968), Zadoks et al. (1969), Schicke et Arndt (1971), Grouet et Allaire (1973), la large utilisation de l'oxycarboxine et de la triforine a certainement contribué au maintien d'un état sanitaire convenable dans beaucoup d'exploitations. Mais, récemment, au Japon, Abiko et al. (1977) signalent l'apparition de souches résistantes à l'oxycarboxine dans des cultures de chrysanthèmes traités exclusivement avec cette matière active depuis 1971.

On est ainsi amené à se demander si un tel problème ne se pose pas actuellement dans certains établissements français où la Rouille blanche est en recrudescence.

L'objet de cette étude est donc de préciser le comportement de plusieurs souches de *P. horiana* vis-à-vis de l'oxycarboxine.

MATERIEL ET METHODES

Le travail est effectué sur des souches prélevées dans diverses exploitations situées dans différentes régions de France. Afin de déterminer la sensibilité de chacune d'elles à l'oxycarboxine, nous réalisons parallèlement des tests au laboratoire et des essais en serre sur jeunes plants racinés appartenant au cultivar Horim, celui-ci étant reconnu comme très sensible à la Rouille blanche.

1. PROTOCOLE DES ESSAIS EN LABORATOIRE

a) *Etude de la germination des téléospores.*

On découpe de petits fragments de feuille portant des pustules de Rouille au stade « orangé », c'est-à-dire avant la germination des téléospores.

On réalise, à leur niveau, des coupes transversales fines soit à la main, soit à l'aide d'un microtome manuel (l'épaisseur des coupes est d'environ 50 microns).

Les coupes sont déposées sur des lames enduites d'un mince film d'eau gélosée à 20 g/litre à laquelle sont ajoutées des quantités croissantes d'oxycarboxine de façon que les concentrations finales s'échelonnent entre 2 et 200 ppm. Les lames sont ensuite placées, sur un support, dans une boîte de Pétri dans laquelle est assurée une humidité maximale. Le tout est mis dans une enceinte obscure dont la température est comprise entre 16 et 20 °C ; les boîtes sont laissées dans ces conditions, pendant 20 à 24 heures, pour permettre la formation et la projection des basidiospores. Après ce laps de temps, on note pour chaque coupe :

- la longueur en microns des filaments germinatifs formés à partir des téléospores,
- leur nombre dans un champ de microscope déterminé,
- l'importance de la projection des basidiospores.

b) *Etude de la germination des basidiospores.*

On utilise des feuilles de Chrysanthème sur lesquelles les pustules de Rouille commencent à « blanchir ». On prépare des boîtes de Pétri comme dans l'étude précédente. La feuille malade est collée par sa face supérieure dans le couvercle de la boîte. Après quelques heures, les basidiospores formées au niveau des pustules sont projetées sur la lame. La feuille est alors retirée.

La notation de la germination des spores est faite 3 heures après et elle porte sur 400 spores.

2. PROTOCOLE DES ESSAIS EN SERRE

On utilise 6 souches de *P. horiana*. Chacune d'elles est inoculée à de jeunes pieds racinés sains (5 à 7 feuilles). Pour cela, on recouvre ceux-ci d'un conteneur en plastique noir renversé au fond duquel sont fixées, par leur face supérieure, des feuilles porteuses de pustules blanchâtres. L'ensemble est maintenu entre 16 et 20 °C et en atmosphère saturée d'humidité pendant 3 jours. Les plantes sont ensuite placées en serre.

Pour chaque souche, le lot de chrysanthèmes contaminés artificiellement est divisé en 2 parties :

— la moitié est traitée une fois par semaine avec de l'oxycarboxine (20 g m.a./hl) appliquée en pulvérisation.

— l'autre moitié ne reçoit aucun traitement. Toutes les souches, traitées ou non, sont bien isolées les unes des autres.

RESULTATS

1. ANALYSE DE DIVERSES FORMULATIONS D'OXYCARBOXINE

Certains horticulteurs mettant en doute l'efficacité de produits formulés achetés (possibilité de dégradation au cours du temps et en fonction des conditions de conservation), il était nécessaire de contrôler tout d'abord la composition d'un certain nombre d'entre eux utilisés dans différentes exploitations.

Ceci a été fait par une étude chromatographique sur couche mince comparant de l'oxycarboxine pure, deux formulations commerciales de Plantvax^(R) incriminées et une de référence, de fabrication récente. Nous avons constaté que le seul produit fongitoxique présent dans les formulations est bien l'oxycarboxine et que celle-ci s'y trouve en quantité normale.

Nous avons également vérifié, par un essai de germination de téléospores, la concordance d'action de l'oxycarboxine pure et du Plantvax^(R) de référence ; ce dernier est utilisé dans tous les essais. Cette étude préliminaire a permis d'éliminer l'hypothèse d'une mauvaise formulation du Plantvax^(R) lors de la recrudescence de la Rouille blanche dans une exploitation.

2. COMPARAISON DE LA SENSIBILITÉ A L'OXYCARBOXINE DE PLUSIEURS SOUCHES DE *P. horiana* ET MISE EN ÉVIDENCE D'UNE SOUCHE RÉSISTANTE

a) *Etude en laboratoire.*

— Germination des téléutospores.

• Les résultats sont indiqués dans les tableaux Ia, Ib et II. Pour l'ensemble des souches, la longueur moyenne des filaments germinatifs (tableau I.a) décroît progressivement avec des concentrations croissantes d'oxycarboxine ; par contre, pour une concentration déterminée, elle varie d'une souche à l'autre. A partir des résultats présentés dans le tableau I.a., nous constatons que la C I 50 (concentration inhibant de 50 % l'élongation des filaments germinatifs) est inférieure à 5 ppm pour les souches S1, S2, S4, S7, S9 et S10 alors qu'elle est de l'ordre de 20 ppm pour S5. Quant à la CMI (concentration minimale inhibitrice) elle diffère suivant les souches, mais elle est nettement plus élevée pour la S5.

TABLEAU I a

Influence de la concentration en oxycarboxine sur la germination des téléutospores en fonction des souches

Concentration d'oxycarboxine (en ppm)	SOUCHES						
	S 2	S 4	S 9	S 10	S 7	S 1	S 5
0 (Témoïn)	20	40	23	38	50	60	40
2	15	20	26	18	15	40	40
5	4	10	10	9	10	16	50
10	4	6	7	3,5	6	12	20
20	0	4	4	1	5	10	20
50	0	0	0	1,5	2	4	4
100	0	0	0	0	0	0	4
200	0	0	0	0	0	0	4

Longueur moyenne (en microns) des filaments germinatifs formés à partir des téléutospores

TABLEAU I b

Influence de la concentration en oxycarboxine sur la germination des téléutospores en fonction des souches

Concentration d'oxycarboxine (en ppm)	S O U C H E S						
	S 2	S 4	S 9	S 7	S 10	S 1	S 5
0 (Témoir)	18	16	11	18	18	18	18
2	9,5	16	30	15	15	16	16
5	3,5	6	25	10	11,5	15	19
10	0,5	4,5	9,5	5	4,5	15	15
20	0	3	6,5	1	1	8	19
50	0	0	0	0,5	0,75	1	9
100	0	0	0	0	0	0	11
200	0	0	0	0	0	0	3

Nombre moyen de filaments germinatifs formés à partir des téléutospores dans un champ de microscope déterminé

• Nous retrouvons des résultats sensiblement analogues au niveau du nombre de filaments germinatifs en ce qui concerne la CMI (tableau I.b).

• On observe une projection de basidiospores qui germent immédiatement jusqu'à 10 ppm avec la souche S5 ; par contre, avec les 3 souches S1, S7 et S9 les basidiospores commencent parfois à se former mais elles ne sont jamais projetées (tableau II). La souche S10 a un comportement intermédiaire.

— Germination des basidiospores.

Comme les téléutospores, les basidiospores de la souche S5 sont moins sensibles à l'oxycarboxine que celles des autres souches. En effet, d'après les résultats présentés dans la fig. 1, nous obtenons une CI 50 comprise entre 5 et 15 ppm pour les souches S1, S2 et S11 alors qu'elle est environ de 75 ppm pour S5.

b) *Etude en serre.*

— Sur les chrysanthèmes inoculés avec les souches sensibles S1, S2, S4, S7 et S9 et traités avec de l'oxycarboxine, les pustules se nécrosent 10 à 15 jours après la première pulvérisation et aucune tache ne

TABLEAU II

Influence de la concentration d'oxycarboxine sur la formation et la germination des basidiospores en fonction des souches

Concentration d'oxycarboxine (en ppm)	S O U C H E S				
	S 9	S 7	S 1	S 10	S 5
0 (Témoïn)	++++	++++	+++	+++	++++
2	(+++)	(++)	(++)	+	++++
5	-	(++)	(++)	(+)	++++
10	-	-	(+)	-	++
20	-	-	-	-	-
50	-	-	-	-	-
100	-	-	-	-	-
200	-	-	-	-	-

Le nombre de croix exprime l'importance des basidiospores formées
 + basidiospores projetées et germées
 (+) basidiospores individualisées mais non projetées
 - pas de basidiospores.

réapparaît ensuite. Par contre, les pulvérisations hebdomadaires effectuées pendant 13 semaines n'ont pas pu éliminer les pustules sur les pieds racinés contaminés avec la souche S5 : des téléospores apparaissent régulièrement et continuent à donner des basidiospores ; cependant ils sont en nombre réduit.

— Sur les autres lots de chrysanthèmes non traités, de très nombreuses pustules apparaissent aussi bien avec les souches sensibles qu'avec la souche résistante.

3. EVOLUTION DE LA SOUCHE RÉSISTANTE

Nous avons suivi, par l'étude de germination des basidiospores, l'évolution de la sensibilité de la souche S5, reconnue comme résistante aussitôt après son prélèvement chez l'horticulteur. En effet, le 4 juin 1980, presque 90 % des basidiospores germent encore à 50 ppm d'oxy-

carboxine (fig. 2, courbe 1). Cette souche est ensuite maintenue en serre, d'une part sur des chrysanthèmes qui reçoivent une pulvérisation par semaine et, d'autre part, sur des plantes qui ne subissent aucun traitement.

Germination des basidiospores
(en p.100 du témoin)

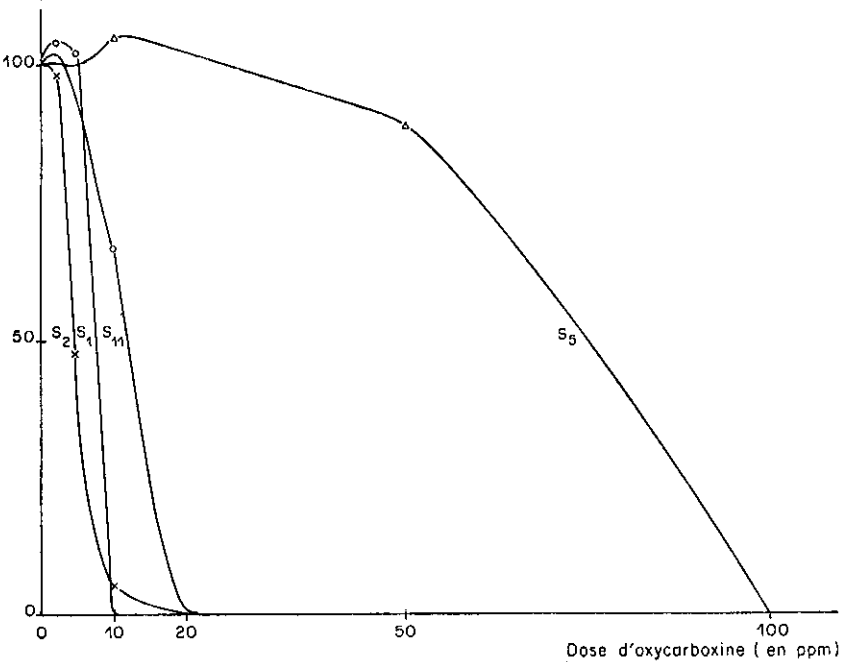


FIGURE 1

Influence de la concentration en oxycarboxine sur la germination des basidiospores des souches S1, S2, S5 et S11.

a) *Evolution de la souche résistante après l'abandon des traitements (fig. 2).*

Huit et treize semaines après l'arrêt des traitements, les CI 50 des basidiospores sont respectivement de l'ordre de 40 et 30 ppm. La souche S5 a donc perdu de sa résistance puisqu'initialement la CI 50 était de 75 ppm. Cependant, après 3 mois, une certaine résistance se maintient encore, les souches sensibles ayant des CI 50 toujours inférieures à 15 ppm.

b) *Evolution de la souche résistante lorsque les traitements sont poursuivis.*

Dans ce cas, après 13 semaines, les pourcentages de germination des basidiospores à 20 et 50 ppm sont les mêmes qu'au début de l'essai et à 100 ppm, ils sont encore nuls. La fig. 3 indique les résultats pour 50 ppm.

La résistance de la souche s'est donc maintenue en présence de traitements réguliers à l'oxycarboxine.

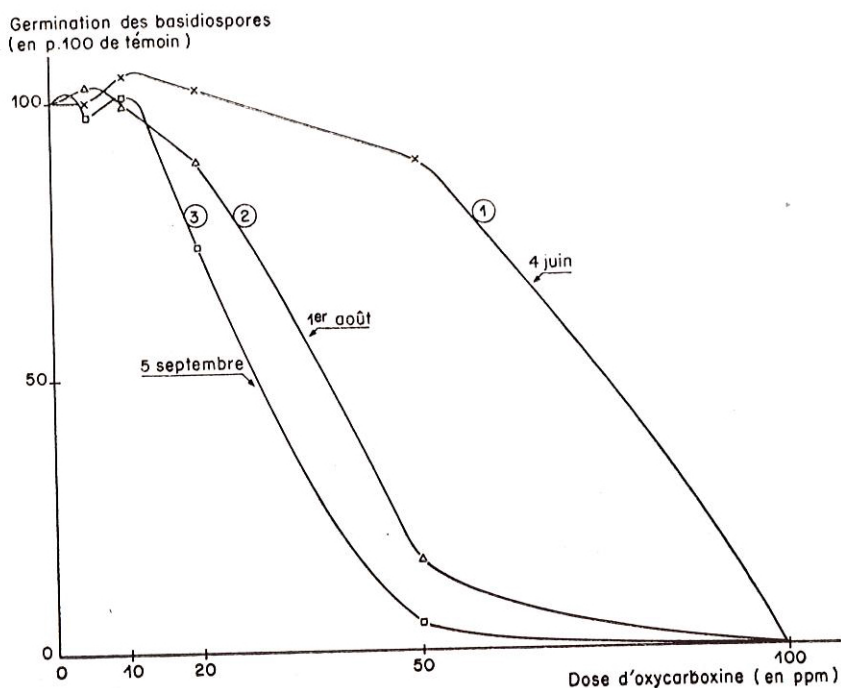


FIGURE 2

Evolution, en fonction du temps, de la souche S5, après l'abandon des pulvérisations d'oxycarboxine

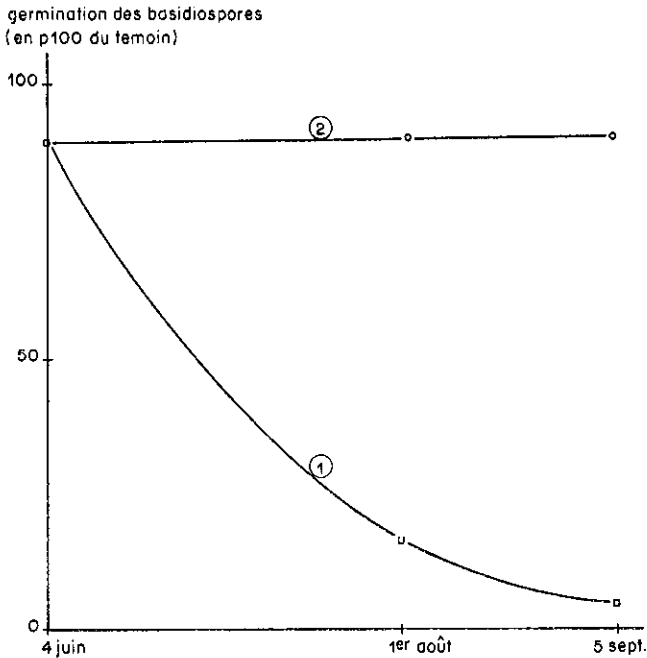


FIGURE 3

Evolution de la souche S5 après interruption
ou maintien du traitement à l'oxycarboxine : germination des basidiospores
en présence de 50 ppm d'oxycarboxine

- (1) : Pulvérisations interrompues à partir du 4 juin.
(2) : poursuite des traitements hebdomadaires à raison de 20 g m. a./hl.

4. CONCLUSION

Cette étude réalisée tant en laboratoire qu'en serre, nous a permis de mettre en évidence une souche de *P. horiana* résistante à l'oxycarboxine, seul cas de résistance apparue jusqu'à présent, dans la pratique, vis-à-vis de la famille des crotonanilides. Cette souche a été prélevée chez un exploitant qui, en 1979 et 1980, a effectué des pulvérisations 2 ou 3 fois par semaine avec du Plantvax^(R). Ces nombreux traitements ont donc favorisé l'apparition de la résistance à l'oxycarboxine.

Par ailleurs, les autres souches étudiées se sont révélées sensibles à ce fongicide, mais à des degrés différents.

Dans un établissement où la Rouille blanche est en recrudescence, il peut donc s'avérer intéressant de connaître la sensibilité à l'oxycarboxine de la souche de *P. horiana* présente dans la culture. L'étude de la germination des basidiospores permet de la déterminer en 20 heures.

En présence d'une souche résistante, les traitements avec l'oxycarboxine doivent être interrompus. Mais cette matière active n'est pas condamnée pour autant car, d'une part, la résistance décroît avec le temps en l'absence du produit et, d'autre part, la plupart des souches prélevées, dans des cultures traitées régulièrement se sont révélées sensibles à l'oxycarboxine.

En outre, lorsqu'une résistance risque de se développer vis-à-vis d'une famille chimique, il est conseillé d'inclure, dans le programme de traitements, d'autres fongicides ayant des modes d'action biochimiques différents (Leroux et Fritz, 1978). Dans le cas de la Rouille blanche du Chrysanthème, l'emploi de certains dithiocarbamates (en préventif) ou mieux d'inhibiteurs de la biosynthèse de l'ergostérol est préconisé. Dans ce dernier groupe, il y a la triforine qui a déjà fait ses preuves et le triadiméfon avec lequel nous avons obtenu des résultats encourageants (Montfort, 1980).

BIBLIOGRAPHIE

- ABIKO K., KISHI K., YOSHIOKA A., 1977 — Occurrence of oxycarboxin-tolerant isolates of *Puccinia horiana* P. Henn. in Japan. *Ann. Phytopath. Soc. Japan*, 43, 145-150.
- DALCHOW J., 1968 — Zur Bekämpfung von Rostpilzen in gärtnerischen Kulturen. *Nachr. Bl. dt. Pflschutzdienst Stuttgart*, 20 (3), 35-37.
- GROUET Denise et ALLAIRE L., 1973 — Efficacité de l'oxycarboxine et de la triforine contre la Rouille blanche du Chrysanthème (*Puccinia horiana* P. Henn.). *Phytiatr. Phytopharm.*, 22, 177-188.
- LEROUX P. et FRITZ R., 1978 — Les modes d'action et la sélectivité des fongicides. *Phytiatr. Phytopharm.*, 27, 163-188.
- MAYS Françoise et FAVREAU J., 1967 — Présence en France de *Puccinia horiana* P. Henn. sur Chrysanthème. *C. R. Acad. Agric. Fr.*, 53, 962-966.
- MONTFORT Françoise, 1980 — La Rouille blanche du Chrysanthème. Mise en évidence d'une souche de *Puccinia horiana* résistante à l'oxycarboxine. - Recherche de nouvelles méthodes de lutte. *D.E.A. Agronomie - Protection des cultures. Université de Rennes. E.N.S.A.R.*
- SCHICKE P. et ARNDT S., 1971 — Die Bekämpfung von Zierpflanzenkrankheiten mit Triforine. 23^e Symposium international de Phytopharmacie et de Phytologie. Gand : mai.
- ZADOKS J.C., KODDE A. et HOOBKAMER W., 1969 — The effect of derivatives of 1,4 oxathiin on *Puccinia horiana* in *Chrysanthemum morifolium*. *Neth. J. Pl. Path.*, 75, 193-196.

Note présentée le 15 octobre 1980.

* I.N.R.A., Station de Pathologie Végétale - C.N.R.A., 78000 Versailles.

** Université de Rennes I. Av. Général Leclerc - 35042 Rennes Cédex.
Chaire de Botanique. E.N.S.A., 65, rue de St Briec - 35042 Rennes Cédex.

*** I.N.R.A., Station de Phytopharmacie - C.N.R.A., 78000 Versailles.