



Modelling the effects of cropping systems and their spatial distribution on phoma stem canker on Winter OilSeed Rape and the adaptation of fungal pathogen populations responsible for the disease (*Leptosphaeria maculans*) to cultivar resistances.

Elise Lo-Pelzer

► To cite this version:

Elise Lo-Pelzer. Modelling the effects of cropping systems and their spatial distribution on phoma stem canker on Winter OilSeed Rape and the adaptation of fungal pathogen populations responsible for the disease (*Leptosphaeria maculans*) to cultivar resistances.. Life Sciences [q-bio]. AgroParisTech, 2008. English. NNT : 2008AGPT0030 . pastel-00003792

HAL Id: pastel-00003792

<https://pastel.hal.science/pastel-00003792>

Submitted on 1 Dec 2008

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

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

THÈSE

pour obtenir le grade de

Docteur

de

**l'Institut des Sciences et Industries du Vivant et de l'Environnement
(Agro Paris Tech)**

*présentée et soutenue publiquement
par*

Elise LÔ - PELZER

le 20 mai 2008

**Modélisation des effets des systèmes de culture et de leur répartition
spatiale sur le phoma du colza et l'adaptation des populations pathogènes
responsables de la maladie (*Leptosphaeria maculans*)
aux résistances variétales.**

Directeur de thèse : Marie-Hélène JEUFFROY

Codirecteur(s) de thèse : Jean-Noël AUBERTOT, Lydia BOUSSET

UMR 211 Agronomie INRA/AgroParisTech, F-78850 Thiverval-Grignon

Devant le jury :

Mme Françoise LESCOURRET, Directeur de recherche, **INRA**
M. Jean-Loup NOTTEGHEM, Professeur, **SupAgro**
M. Thierry DORE, Professeur, **AgroParisTech**
M. Fabien HALKETT, Chargé de recherche, **INRA**
Mme Marie-Hélène JEUFFROY, Directeur de recherche, **INRA**
M. Xavier PINOCHET, Direction scientifique, **CETIOM**

Rapporteur
Rapporteur
Examineur
Examineur
Examineur
Examineur

Avant propos

Je tiens tout d'abord à remercier mes trois encadrants. Je remercie Marie-Hélène Jeuffroy pour sa bonne humeur et ses encouragements, Lydia Bousset, pour son optimisme et ses conseils (pour la thèse et pour tout le reste), et Jean-Noël Aubertot, pour sa précision et sa rigueur. Merci à tous les trois pour votre soutien, votre disponibilité, et pour votre complémentarité, autant disciplinaire que personnelle.

Je remercie ensuite Françoise Lescourret et Jean-Loup Notteghem, qui ont accepté d'être les rapporteurs du jury de ce travail de thèse, ainsi que les examinateurs, Fabien Halkett, Xavier Pinochet, Thierry Doré et Marie-Hélène Jeuffroy.

Je remercie tous les membres de mon comité de pilotage, qui ont participé activement à la réflexion sur mon travail tout au long de la thèse, et plus particulièrement Nathalie Colbach pour la modélisation et l'analyse de sensibilité, Olivier David pour les analyses statistiques, Yves Brunet pour la dispersion, Christian Lannou pour ses connaissances sur la durabilité des résistances et épidémiologie, Etienne Pilorgé et Xavier Pinochet pour les aspects pratiques et applications, et Thierry Doré pour l'agronomie. Un grand merci pour votre disponibilité et vos conseils avisés.

Je remercie également David Makowski et Hervé Monod pour m'avoir conseillée sur l'analyse de sensibilité, Francis Flénet pour m'avoir aidée sur les aspects coûts énergétiques du modèle, Annette Penaud pour la pathologie et l'épidémiologie végétale, Muriel Morison, Emmanuel Hance et Emmanuelle Mestries, pour m'avoir fourni des données utiles pour mon travail, Moin Salam pour ses conseils et sa participation aux relectures des publications, et toutes les autres personnes qui m'ont aidée à avancer, en particulier dans l'UMR d'agronomie de Grignon.

Je remercie François Rouault, qui m'a aidé pour les expérimentations au Rheu, Marine Vergotte et Lyé Nemoto pour les comptages, Hervé Lecat et Alain Bammé pour l'expérimentation sous serre.

Je tiens particulièrement à remercier Thierry Doré, Ivan Sache et Christian Lannou pour leurs conseils toujours pertinents.

Merci à mes deux co-thésardes Céline et Marion : à trois, c'est toujours plus facile quand on a des doutes (et merci pour la bouilloire !). Merci à Lorène pour ses conseils de jeune docteur. Merci à Gwen pour son soutien (sur tous les points !). Enfin, je remercie tous les autres « djeuns » de l'UMR d'Agronomie et de Grignon, pour les longs trajets en train et les inoubliables repas à la cantine.

Merci à ma famille et mes amis pour leurs encouragements, et à Saer pour m'avoir supportée au quotidien.

Table de matières

Introduction générale	3
Chapitre 1. Problématique	3
1. Analyse bibliographique	4
1.1. Conception-évaluation de stratégies de production intégrée	4
1.2. Importance économique de la culture de colza d'hiver et risques liés au phoma	4
1.2.1. Le colza d'hiver	7
1.2.2. Le phoma du colza	8
1.2.3. Méthodes de lutte	10
1.2.3.1. Contrôle génétique	10
1.2.3.2. Contrôle cultural et chimique	11
1.2.3.3. Contrôle biologique et physique	12
2. Objectif de la thèse	13
3. Démarche de recherche	14
3.1. Modèles existants et conséquences pour l'outil créé	14
3.1.1. Modèles pour l'étude de la durabilité des résistances spécifiques	14
3.1.2. Modèles pour le contrôle d'une maladie	15
3.1.3. Modèles qui prennent explicitement en compte les pratiques culturales	17
3.1.4. Modèles spécifiques au phoma et au colza	17
3.1.5. Conséquences pour le modèle créé	4
3.2. Structure de SIPPOM	18
4. Plan de la thèse	20
Chapitre 2. Acquisition de connaissances pour compléter les formalismes de SIPPOM, formalisme des forces évolutives	21
1. Acquisition de connaissances : expérimentation et analyses de données existantes	22
1.1. Récurrence de l'épidémie : lien entre la sévérité de la maladie et la quantité potentielle d'inoculum primaire l'année suivante	22
1.1.1. Le phoma (<i>Leptosphaeria maculans</i> /L. <i>biglobosa</i>) du colza (<i>Brassica napus</i>): la note G2 est-elle un indicateur représentatif de la répartition des effectifs observés dans les classes de nécrose ? Phoma stem canker (<i>Leptosphaeria maculans</i> /L. <i>biglobosa</i>) of oilseed rape (<i>Brassica napus</i>): is the G2 Disease Index a good indicator of the distribution of the observed canker severities?	22
1.1.1.1. Résumé / Abstract	22
1.1.1.2. Key words	23
1.1.1.3. Introduction	23
1.1.1.4. Materials and methods	25
1.1.1.5. Results	21
1.1.1.6. Discussion	21
1.1.1.7. Acknowledgments	27
1.1.2. Relation entre la sévérité de la nécrose au collet (causé par le complexe d'espèces <i>Leptosphaeria maculans</i> /L. <i>biglobosa</i>) et la production d'inoculum sur les résidus de culture de colza. Relationship between the severity of blackleg (<i>Leptosphaeria maculans</i> /L. <i>biglobosa</i> species complex) and subsequent primary inoculum production on oilseed rape stubble	28
1.1.2.1. Résumé / Abstract	28
1.1.2.2. Key words	29
1.1.2.3. Introduction	29
1.1.2.4. Materials and methods	30
1.1.2.5. Results	34
1.1.2.6. Discussion	21
1.1.2.7. Acknowledgments	39
1.1.3. Discussion	21

1.2.	Estimation du rendement accessible de la culture de colza sans maladie	41
1.2.1.	Introduction	41
1.2.2.	Matériels et méthodes	42
1.2.3.	Résultats	44
1.2.4.	Bilan et discussion	45
1.3.	Effet de la résistance quantitative sur l'indice de sévérité de la maladie	46
1.3.1.	Introduction	46
1.3.2.	Matériels et méthodes	46
1.3.3.	Résultats	21
1.3.4.	Discussion	48
2.	Forces évolutives	21
2.1.	Migration	49
2.1.1.	Définition	49
2.1.2.	Expérimentation : étude de la dispersion des ascospores de <i>L. maculans</i>	49
2.1.2.1.	Introduction	49
2.1.2.2.	Matériels et méthodes	50
2.1.2.3.	Résultats et discussion	51
2.1.3.	Formalisation dans SIPPOM	21
2.1.4.	Discussion	52
2.2.	Sélection	53
2.2.1.	Définition	53
2.2.2.	Formalisation dans SIPPOM	54
2.2.3.	Discussion	55
2.3.	Recombinaison	21
2.3.1.	Définition	56
2.3.2.	Formalisation dans SIPPOM	56
2.3.3.	Discussion	57
2.4.	Effet Allee	57
2.4.1.	Définition	57
2.4.2.	Formalisation dans SIPPOM	21
2.4.3.	Discussion	58
2.5.	Autres forces évolutives	59
2.5.1.	Mutation	59
2.5.2.	Coût de virulence	60
2.5.3.	Dérive génétique	60
3.	Conclusion	61

Chapitre 3. Structure et analyse de sensibilité de SIPPOM **21**

1. SIPPOM-WOSR : un simulateur pour la gestion intégrée des populations pathogènes pour l'étude du Phoma du colza **62**

SIPPOM-WOSR: a Simulator for Integrated Pathogen POPulation Management adapted to study blackleg on Winter OilSeed Rape **62**

1.1.	Résumé / Abstract	62
1.2.	Key words	63
1.3.	Introduction	64
1.4.	General description of SIPPOM-WOSR	67
1.4.1.	General frame	67
1.4.2.	Input variables	68
1.4.3.	Output variables	68
1.5.	Structure of SIPPOM-WOSR	69
1.5.1.	Primary inoculum production sub-model	69
1.5.2.	Dispersion sub-model	71
1.5.3.	Dynamic crop growth sub-model	71
1.5.4.	Genetic sub-model	72
1.5.5.	Infection and relative yield loss sub-model	74
1.6.	Examples of simulation with SIPPOM-WOSR	76
1.7.	Discussion	62
1.7.1.	Examples of simulation: consequences for the structure of SIPPOM-WOSR	78
1.7.2.	Simplifications and limits	79
1.7.3.	Evaluation and sensitivity analysis	80
1.8.	Conclusion and perspectives	81
1.9.	Acknowledgments	81

2. Analyse de sensibilité de SIPPOM-WOSR, simulateur pour la gestion intégrée des populations pathogènes adapté au Phoma du colza **82**

Sensitivity analysis of SIPPOM-WOSR, a Simulator for Integrated Pathogen POPulation Management adapted to phoma stem canker on Winter OilSeed Rape **82**

2.1.	Résumé / Abstract	82
2.2.	Key words	83
2.3.	Introduction	83
2.4.	Materials and methods	62
2.4.1.	Description of the SIPPOM-WOSR model	86
2.4.2.	Sensitivity analysis method	87
2.4.2.1.	Input variables	87
2.4.2.2.	Choice of parameters	89
2.4.2.3.	State and output variables tested	91
2.4.2.4.	Statistical analysis	62
2.5.	Results	62
2.5.1.	Crop growth sub-model	93
2.5.2.	Primary inoculum production sub-model	62
2.5.3.	Infection sub-model	62
2.5.4.	Dispersion sub-model	62
2.5.5.	Genetic sub-model	100
2.6.	Discussion	62
2.7.	Acknowledgments	104

3. Autres exemples de simulation avec SIPPOM-WOSR **62**

3.1.	Matériels et méthodes	105
3.2.	Résultats et discussion	62

Chapitre 4. Discussion générale	112
1. Rappel de l'objectif et bilan des tâches réalisées	112
2. Evolutions possibles de SIPPOM	114
2.1. Amélioration du module peuplement	114
2.2. Amélioration du module infection	115
2.3. Prise en compte des effets de bord	116
2.4. Prise en compte d'éléments omis dans la version actuelle de SIPPOM	117
2.5. Amélioration des temps de calcul	119
3. Représentation de l'évolution de la structure des populations pathogènes	119
4. Stratégies de gestion durable des résistances spécifiques	121
Conclusion et perspectives	122
Références	125
Sigles et abréviations	125
Annexes	136
1. Annexe 1. Classes de sévérité de nécrose évaluées à l'échelle de la plante, calcul de l'indice de sévérité à l'échelle de la parcelle, biologie et observation des pseudothèces	137
2. Annexe 2. Calculs de la sortie économique et des sorties environnementales dans SIPPOM	139
3. Annexe 3. Module déplacement vertical des résidus (d'après Schneider, 2005)	142
4. Annexe 4. Module Dispersion	143
5. Annexe 5. Définition de critères statistiques d'évaluation de la qualité prédictive d'un modèle	145
6. Annexe 6. Liste des publications scientifiques et communications associées au travail de thèse	146

Introduction générale

Introduction générale

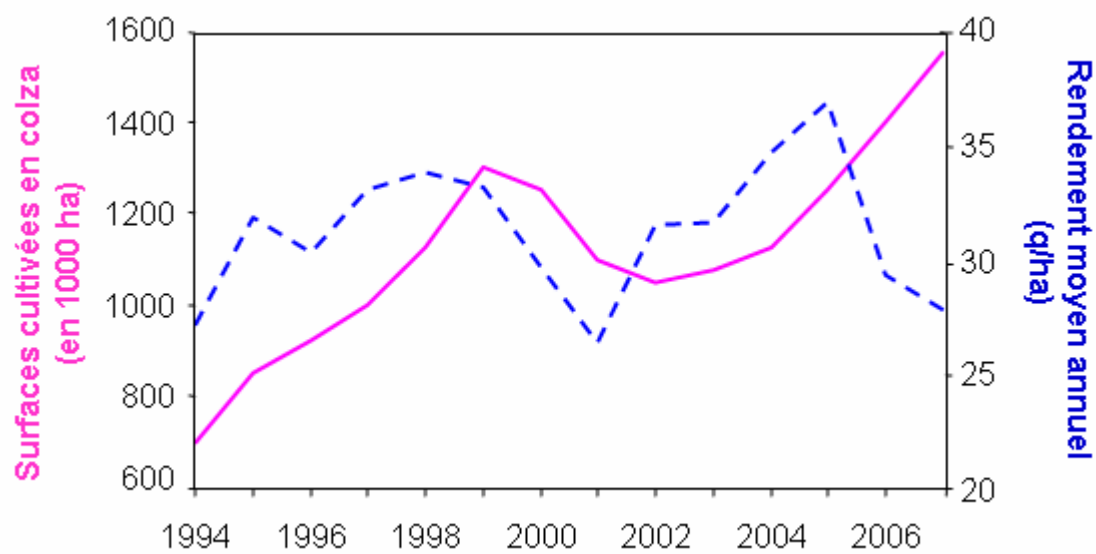
Au cours du 20^{ème} siècle, la production agricole dans les pays du nord s'est accompagnée d'une augmentation importante de la productivité à l'hectare, liée à l'intensification parfois excessive des modes de conduite (utilisation importante d'intrants tels que les engrais ou les produits phytosanitaires ; Tilman *et al.*, 2002). Ces pratiques ont conduit à des impacts environnementaux souvent négatifs. En effet, on a pu assister entre autres à des pollutions importantes des eaux du fait de l'utilisation excessive de fertilisants ou de pesticides : des phénomènes d'eutrophisation d'écosystèmes naturels ont été observés suite à l'utilisation importante d'engrais azotés (IFEN, 2004), alors que les eaux souterraines et superficielles sont fortement polluées par les pesticides (IFEN, 2007) et que de nombreuses nappes dépassent la teneur de 50 mg/l de nitrate. De mêmes, les sols sont parfois soumis à une érosion ou à une pollution importante, qui peut les rendre inutilisables pour l'agriculture. Enfin, l'agriculture est considérée comme responsable de 76 % des émissions de protoxyde d'azote (N₂O) dans l'atmosphère (puissant gaz à effet de serre).

En ce début de 21^{ème} siècle, la production agricole doit donc répondre à plusieurs enjeux. D'une part, des prévisions indiquent que la population mondiale pourrait augmenter de 50 % d'ici 2050 (Tilman *et al.*, 2002), ce qui nécessite de maintenir une production à l'hectare élevée à l'échelle mondiale, voire d'augmenter cette production. D'autre part, les systèmes de production doivent avoir des impacts sur l'environnement les plus faibles possibles, et contribuer à la préservation de la biodiversité et à l'entretien des paysages. Récemment en France, le Grenelle de l'environnement a rappelé les nouveaux enjeux de l'agriculture et de la recherche agronomique (Ministère de l'écologie, du développement et de l'aménagement durables, 2007). Les changements climatiques dus aux émissions de gaz à effet de serre nécessitent d'orienter la recherche vers la conception de systèmes de cultures¹ innovants peu consommateurs d'énergie ou permettant un stockage du carbone plus important dans les sols (Arrouays *et al.*, 2002). L'agriculture contribue également à la gestion des territoires et doit préserver au mieux la biodiversité. Elle ne doit pas entraîner de risques éco-toxicologiques pour l'environnement ou toxicologiques pour la santé humaine : ceci concerne par exemple l'utilisation de produits phytosanitaires. Dans ce cadre, l'utilisation de ces produits doit être diminuée de moitié d'ici 2012, selon le Grenelle de l'environnement. Enfin, l'agriculture doit contribuer au développement durable, en fournissant une production économiquement rentable (pilier économique), tout en préservant l'environnement et les écosystèmes (pilier environnemental ou écologique), et en étant acceptable pour les agriculteurs et la société (pilier social ; Ferron et Deguine, 1999 ; Tilman *et al.*, 2002).

Depuis le développement des produits phytosanitaires et jusqu'à aujourd'hui, la protection des cultures a reposé essentiellement sur l'utilisation de pesticides. En France, 3^{ème} consommateur

¹ Système de culture : ensemble des modalités techniques mises en œuvre sur des parcelles traitées de manière identique. Un système de culture est donc caractérisé par la nature des cultures et leur ordre de succession, et par les itinéraires techniques appliqués à ces différentes cultures, incluant le choix des variétés (Sebillotte, 1990). L'itinéraire technique est une combinaison logique et ordonnée des techniques mises en œuvre sur une parcelle en vue d'en obtenir une production (Sebillotte, 1978).

Figure 1.1. Evolution des surfaces françaises cultivées en colza et rendement moyen annuel



Source : <http://www.prolea.com>

mondial de pesticides, 76 100 tonnes de substances actives ont été vendues en 2004, dont 49 % de fongicides, 34 % d'herbicides, 3 % d'insecticides et 14 % d'autres produits (Aubertot *et al.*, 2005). Or, ce système a montré ses limites : l'utilisation excessive de pesticides conduit à une contamination de différents compartiments de l'environnement : eaux superficielles et profondes, sols et atmosphère (Connel, 2005 ; Aubertot *et al.*, 2005 ; IFEN, 2007). Par exemple, lors d'une pulvérisation de pesticide sur un couvert végétal, 10 à 70 % sont perdus dans le sol et 30 à 50 % sont perdus dans l'air (Aubertot *et al.*, 2005 ; Bedos *et al.*, 2006). L'utilisation des pesticides peut conduire, par effets directs ou indirects, à des modifications profondes des écosystèmes cultivés ou naturels : modification de l'abondance des proies ou des prédateurs, modification des habitats, disparition d'espèces végétales (Aubertot *et al.*, 2005). Elle entraîne des risques pour la santé humaine (Tron *et al.*, 2005). Enfin, les bioagresseurs¹ peuvent s'adapter aux molécules actives, devenant ainsi résistants aux produits utilisés : par exemple, l'utilisation excessive de strobilurines a entraîné la perte de leur efficacité en raison de l'adaptation des populations de *Septoria tritici* (responsable de la septoriose chez le blé) ou de *Plasmopara viticola* (responsable du mildiou de la vigne ; e.g. Matasci *et al.*, 2008). Les variétés résistantes sont également souvent utilisées dans la protection des cultures contre les maladies. Cependant, leur efficacité est parfois très courte en particulier pour les résistances monogéniques². Un enjeu majeur de la recherche aujourd'hui est de trouver des systèmes de cultures alternatifs aux systèmes intensifs, i) pour lesquels la protection des cultures ne repose pas uniquement sur l'utilisation de produits phytosanitaires, ii) qui soient économiquement satisfaisants pour les agriculteurs, et iii) dont les impacts sur l'environnement soient les plus faibles possibles. Ces systèmes ont été qualifiés de systèmes de production intégrée³ (Stern *et al.*, 1959 ; Ferron et Deguine, 1999).

La culture du colza d'hiver présente des intérêts agronomiques et des débouchés potentiels importants, mais elle est soumise à de nombreux bioagresseurs, ce qui entraîne des rendements irréguliers (Figure 1.1). De plus, le bilan environnemental de cette culture est critiqué du fait, entre autres, des nombreux traitements phytosanitaires réalisés (6,7 traitements annuels en moyenne en France ; Aubertot *et al.*, 2005). Cette culture occupait en 2007 en France 1,6 millions d'hectares, soit presque 7 % de la SAU (Estimation ONIGC, 2007). La surface est en augmentation en France et en Europe depuis 2002, après avoir subi une légère baisse entre 1999 et 2002 (Figure 1.1). Le colza est donc une culture importante et en augmentation du fait du renforcement récent de la production de bio-carburants (Colza diester), il est donc nécessaire de proposer de nouveaux itinéraires techniques⁴ pour cette culture, susceptibles d'assurer la régularité et le niveau élevé des rendements, et qui préservent l'environnement. La gestion des bioagresseurs de cette culture est un enjeu majeur, en particulier le phoma du colza, une maladie qui provoque des dommages importants pour la culture (selon les années, les pertes de rendement sont comprises entre 5 et 20 % de la

¹ Bioagresseurs (pests) : organismes susceptibles de générer des pertes de récoltes directes ou indirectes : pertes de rendement (quantitatif et/ou qualitatif), coût supplémentaire de récolte ou de tri. Les bioagresseurs regroupent les adventices, les insectes, les champignons pathogènes, les virus, les nématodes... (Zadoks, 1993).

² Voir l'encadré 1.2.

³ Voir l'encadré 1.1.

⁴ Itinéraire technique : combinaison logique et ordonnée des techniques mises en œuvre sur une parcelle en vue d'en obtenir une production (Sebillotte, 1978).

production nationale française ; Aubertot *et al.*, 2004a). Le pathosystème phoma du colza est donc un cas d'étude pertinent pour travailler à la conception de systèmes de cultures innovants répondant aux exigences de la production intégrée.

L'objectif de ce travail de thèse est de proposer un outil pour la conception de systèmes de cultures permettant de contrôler le phoma du colza, tout en maintenant un profit économique satisfaisant pour cette culture et en réduisant les nuisances environnementales. Le premier chapitre présente une analyse bibliographique axée sur la production intégrée, la durabilité des méthodes de lutte et le pathosystème étudié, et se poursuit par une présentation des questions de recherche qui ont été retenues pour ce travail ainsi que par la description de la structure de l'outil conçu pour répondre à ces questions. Le deuxième chapitre présente les expérimentations et analyses de données réalisées au cours de la thèse ainsi que les formalismes qui ont été développés au cours de la thèse pour construire du modèle. Le troisième chapitre complète la présentation de l'ensemble des formalismes et équations retenus et l'analyse de sensibilité du modèle. Il est suivi par une discussion générale sur l'outil, ses limites et son utilisation.

Chapitre 1. Problématique

Encadré 1.1. De la lutte intégrée à la production intégrée

Lutte intégrée (FAO, 1967 ; cité par Ferron et Deguine, 1999) : Système de gestion des populations de bioagresseurs qui, dans un environnement donné, met en œuvre toutes les techniques appropriées pour maintenir les populations des espèces nuisibles à des niveaux inférieurs à ceux causant des dommages d'importance économique.

Protection intégrée (OILB/SROP 1973) : Système de lutte contre les organismes nuisibles qui utilise un ensemble de méthodes satisfaisant les exigences à la fois économiques, écologiques et toxicologiques, en réservant la priorité à la mise en œuvre délibérée des éléments naturels de limitation et en respectant les seuils de tolérance.

Production intégrée (OILB/SROP 1993) : système agricole de production d'aliments et des autres produits de haute qualité qui utilise des ressources et des mécanismes de régulation naturelle pour remplacer des apports dommageables à l'environnement et assure à long terme une agriculture viable.

La lutte intégrée propose en fait de diminuer la taille des populations de bioagresseurs jusqu'à un niveau entraînant des pertes économiques acceptables, alors que la protection ou la production intégrée proposent une gestion des populations dans leur ensemble, en intégrant l'ensemble des éléments de l'agroécosystème. La production intégrée est un concept plus large qui prend en compte l'ensemble des effets du SDC sur l'agro-écosystème, et pas uniquement les nuisances des pesticides : l'ensemble des ressources naturelles doit être préservé. Elle implique une optimisation des mécanismes naturels de régulation, qui nécessite de considérer également l'environnement du champ cultivé (bordures...) et sa gestion.

Les méthodes de lutte qui peuvent être mobilisées sont :

- **La lutte chimique** : utilisation de pesticides
- **Le contrôle génétique** : utilisation de variétés résistantes permettant de limiter les dégâts et/ou les dommages engendrés par les bioagresseurs.
- **La lutte biologique** : introduction d'un organisme vivant (bactérie, insecte...) susceptible de prévenir les dégâts et/ou les dommages causés par des bioagresseurs.
- **La lutte biotechnique** : mobilisation de phénomènes ou produits d'origine biologique qui ne sont pas des organismes vivants.
- **La lutte physique** regroupe toutes les techniques de lutte dont le mode d'action est physique, c'est-à-dire mécanique, thermique, ou encore électromagnétique.
- **La lutte culturale** : adaptation de techniques dont l'objectif premier n'est pas la protection des cultures, mais qui permettent de réduire la taille des populations de bioagresseurs, donc les dégâts et/ou les dommages qu'elles entraînent. Les rotations alternant des cultures à durée et période de cycles différents et de familles botaniques différentes permettent de limiter la présence d'adventices qui ont des cycles concordants à une culture donnée, et de rompre les cycles des ravageurs et maladies. La gestion de la date/densité de semis et de la fertilisation permet de créer un environnement moins favorable ou moins sensible au développement des bioagresseurs, et de désynchroniser les cycles de la culture et du bioagresseur. La mise en place d'intercultures permet de limiter le stock de graines d'adventice et d'inoculum. Les associations de cultures permettent de limiter le développement des bioagresseurs.

Le travail du sol permet de limiter le stock de graines d'adventices (technique du faux semis, lutte physique) ou la quantité d'inoculum primaire (enfouissement des résidus infectés, lutte culturale). En même temps, une réduction du travail du sol permet des économies d'énergie, favorise le développement de la faune du sol, et limite les phénomènes d'érosion et de lessivage.

La mobilisation des méthodes de lutte implique le raisonnement de leur organisation spatiale pour limiter la propagation des bioagresseurs, donc la considération de l'échelle supra-parcellaire.

Chapitre 1. Problématique

1. Analyse bibliographique

1.1. Conception-évaluation de stratégies de production intégrée

Le concept de lutte intégrée des cultures est apparu en 1959 (Stern *et al.*, 1959) et a évolué pendant plusieurs décennies vers la protection, puis la production intégrée (Encadré 1.1). La protection intégrée fait appel à une combinaison de méthodes de contrôle génétique, cultural, biologique, biotechnique, physique, voire chimique contre les bioagresseurs, répondant à des exigences économiques, écologiques et toxicologiques (OILB/SROP, 1973 ; Ferron et Deguine, 1999). La lutte chimique repose sur l'utilisation de pesticides, généralement appliqués sur le sol, les semences ou la culture, et qui permettent d'éradiquer une partie des populations de bioagresseurs. Le contrôle génétique consiste à utiliser des variétés permettant de limiter les dégâts¹ et/ou les dommages² engendrés par les bioagresseurs. Ces variétés peuvent contenir un ou plusieurs gènes de résistance spécifique, et/ou présenter une résistance quantitative. Les résistances spécifiques sont généralement monogéniques, alors que les résistances quantitatives impliquent plusieurs gènes (Encadré 1.2). La lutte culturale repose sur l'adaptation de techniques dont l'objectif premier n'est pas la protection des cultures, mais qui permettent de réduire la taille des populations de bioagresseurs donc les dommages qu'elles entraînent. On peut citer par exemple le labour qui permet d'enfouir des résidus de culture sur lesquels se développe l'inoculum primaire³ de différentes maladies. La lutte biologique nécessite l'introduction d'un organisme vivant (bactérie, insecte...) susceptible de prévenir les dégâts et/ou les dommages causés par des bioagresseurs (OILB/SROP, 1973). Elle est utilisée en culture sous abris mais assez peu utilisée en grande culture. On peut citer l'exemple de l'utilisation de *Coniothyrium minitans* contre le sclerotinia (Yang *et al.*, 2007) ou encore l'emploi des trichogrammes contre la pyrale du maïs (Gardner *et al.*, 2007). La lutte biotechnique mobilise des phénomènes biologiques, comme la confusion sexuelle chez le ravageur ou l'induction de résistance chez la plante, grâce à l'utilisation de produits d'origine biologique qui ne sont pas des organismes vivants. Enfin, la lutte physique regroupe toutes les techniques de lutte dont le mode d'action est physique, c'est-à-dire mécanique, thermique, ou encore électromagnétique (Panneton *et al.*, 2000). On peut citer par exemple l'utilisation de bâches pour chauffer le sol (solarisation), le binage des mauvaises herbes ou la technique du faux semis (lutte mécanique).

La protection et la production intégrée nécessitent de combiner ces méthodes de lutte dans l'espace et dans le temps afin de contrôler au mieux les populations de bioagresseurs et de limiter les dommages qu'ils causent. Quand la dispersion du bioagresseur dépasse l'échelle de la parcelle, la protection intégrée doit être raisonnée à l'échelle régionale et non plus à

¹ Dégâts : symptômes visibles sur les cultures, causés par les bioagresseurs (Savary *et al.*, 2006).

² Dommage : diminution de la quantité et/ou de la qualité des produits récoltés, causée par les bioagresseurs (Savary *et al.*, 2006).

³ Inoculum primaire : spores ou mycélium à l'origine de l'épidémie, par opposition à l'inoculum secondaire issu des générations successives de l'agent pathogène une fois l'épidémie initiée

Encadré 1.2. Résistance spécifique et résistance quantitative

On appelle résistance spécifique une résistance issue d'une reconnaissance gène pour gène entre l'individu et son hôte, qui rend l'individu totalement incapable d'infecter la plante (Flor, 1955 ; 1971 ; McDonald et Linde, 2002). Cette résistance a souvent un déterminisme monogénique, et on parle de résistance qualitative en référence au tout ou rien de son expression. Elle correspond à la résistance verticale décrite par Van der Planck, bien que certains auteurs contestent la transitivity de ces différentes appellations (Johnson, 1984). La variété concernée possède un gène de résistance (ou éventuellement plusieurs) codant pour des protéines intra ou extra cellulaires qui « reconnaissent » les protéines codées par un gène d'avirulence présent chez le pathogène associé. Ces protéines d'avirulence sont souvent de petite taille, riches en résidus cystéines qui leur confère une stabilité face aux protéases végétales. Elles sont sécrétées le plus souvent dans les espaces extra-cellulaires, et sont sur-exprimées au cours de l'infection. Deux modèles de reconnaissances entre la protéine de résistance et la protéine d'avirulence ont été proposés : un modèle d'interaction directe récepteur-ligand entre les deux protéines, induisant une cascade de signaux biochimiques qui conduisent aux réponses de défense de la plante (réaction hypersensible, RH), et un modèle d'interaction indirecte, impliquant des complexes multi-protéiques récepteurs (donc plusieurs gènes) permettant la détection de la protéine d'avirulence. Finalement, si un individu possède le gène d'avirulence, il y a reconnaissance et mise en œuvre des mécanismes de résistance de la plante. L'individu est incapable d'infecter la plante. Si l'individu perd ce gène d'avirulence, la plante ne le reconnaît plus, il n'y a plus de résistance.

		Plante	
		R	r
Champignon	Avr	Reconnaissance = résistance 	
	avr		

R : la plante hôte possède le gène de résistance spécifique
r : la plante hôte ne le possède pas

Avr : le pathogène possède le gène d'avirulence
avr : le pathogène ne le possède pas

On appelle résistance partielle une résistance qui peut impliquer plusieurs gènes et qui confère à la plante des mécanismes de défense particuliers vis-à-vis de l'infection, sans toutefois lui permettre d'éviter totalement l'infection. Ceci grâce, par exemple, à la sécrétion de molécules comme des phytoalexines ou des enzymes hydrolytiques (McDonald et Linde, 2002). Cette résistance est souvent à déterminisme polygénique – même si Johnson (1984) conteste que cette résistance implique nécessairement plusieurs gènes – ce qui lui confère une variation quantitative de son niveau d'expression. Elle correspond à la résistance horizontale décrite par Van der Planck. La résistance quantitative n'est pas basée sur une reconnaissance gène pour gène. Tous les individus sont capables d'infecter la plante résistante mais l'efficacité d'infection, la durée de la période de latence, la sporulation, ou la progression systémique est altérée par rapport à celles constatées sur variétés sensibles. Les dégâts et les dommages causés par la maladie sont alors diminués. Les mécanismes impliqués dans cette forme de résistance sont en général peu connus. En parallèle de la virulence/avirulence d'un individu face à une résistance spécifique, on parle, dans le cas des résistances quantitatives, d'agressivité (composante quantitative du pouvoir pathogène).

l'échelle de la parcelle. Par ailleurs, l'existence de processus polyétiques¹ de certains bioagresseurs peut nécessiter de combiner les méthodes de lutte à l'échelle pluriannuelle. Dans le cas de ces échelles de temps et d'espace, la conception et l'évaluation de stratégies de protection intégrée par expérimentation est difficile, même s'il existe des dispositifs expérimentaux de protection intégrée des cultures. On peut remarquer que si ces expérimentations sont généralement pluriannuelles (ou au moins multi-sites), l'échelle d'espace reste pratiquement toujours limitée à celle de la parcelle. En complément de ces expérimentations, il est donc nécessaire de développer des outils d'aide à la conception et/ou l'évaluation de systèmes innovants pouvant prendre en compte d'autres échelles spatio-temporelles.

Une exigence implicite de la production intégrée, et qui constitue un enjeu fort, est de conserver l'efficacité des méthodes de lutte employées. En effet, on assiste, face à l'utilisation massive d'une technique de lutte, à l'adaptation des populations de bioagresseurs. C'est le cas par exemple des adventices face aux herbicides (*e.g.* Roux *et al.*, 2008), des insectes face aux cultures OGM (maïs ou coton Bt, *e.g.* Laxminarayan and Simpson, 2002), ou des champignons pathogènes face aux fongicides (septoriose, mildiou de la vigne ; *e.g.* Matasci *et al.*, 2008). Le contournement des gènes de résistances spécifiques par les populations pathogènes a également été souvent observé (Encadré 1.3) : face à la pression de sélection exercée sur les populations pathogènes, dans le cas de l'utilisation massive de variétés possédant le même gène de résistance spécifique dans une région, les pathotypes² virulents sont favorisés puisqu'ils sont capables d'infecter les variétés résistantes. Ils deviennent majoritaires dans la population pathogène et le gène de résistance spécifique devient alors totalement inefficace : on dit qu'il est contourné. Un exemple est le contournement du gène de résistance Yr17 contre la rouille jaune du blé (Bayles *et al.*, 2000) ou le contournement du gène de résistance Rlm1 du colza contre le phoma (Rouxel *et al.*, 2003 ; Encadré 1.4).

Une résistance est dite durable si elle reste efficace quand elle est utilisée sur de larges surfaces pendant une durée importante et dans des conditions environnementales favorables à la maladie (Johnson, 1981 ; 1984). Réduire la pression de sélection exercée sur les populations pathogènes en raisonnant le déploiement des variétés résistantes (McDonald et Linde, 2002) ou la combinaison de méthodes de lutte associée à une réduction de pression de sélection (Aubertot *et al.*, 2006a) doit permettre d'augmenter la durabilité des gènes de résistance spécifique. Plusieurs techniques de déploiement de gènes de résistance spécifique existent pour empêcher la sélection de pathotypes virulents (Kiyosawa, 1982 ; Finckh *et al.*, 1998 ; McDonald et Linde, 2002). A l'échelle de la plante, plusieurs gènes de résistance spécifique peuvent être cumulés dans une même variété (pyramidage). Le pathogène doit alors cumuler les virulences pour être capable d'infecter la variété. A l'échelle de la parcelle, les mélanges variétaux impliquent que seul le pathotype multi-virulent pour les variétés en mélange est capable d'infecter tous les hôtes de la parcelle, les autres pathotypes simple

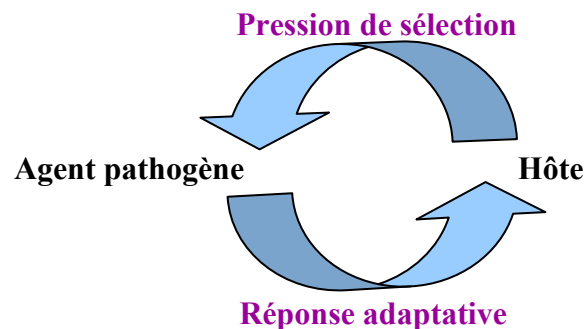
¹ Polyétique : se dit d'une épidémie dont les générations du parasite sont récurrentes d'une année de végétation à l'autre.

² Pathotype : fraction de la population pathogène qui présente le même profil de virulences sur une gamme différentielle d'hôtes donnée

Encadré 1.3. Processus de contournement d'un gène de résistance spécifique

Un gène de résistance spécifique est d'autant plus efficace que la fréquence des individus virulents correspondant est faible à l'échelle de la région. Sur la variété résistante, le nombre limité d'individus virulents entraîne alors des dommages limités.

L'utilisation massive de variétés contenant un gène de résistance spécifique confère aux individus virulents correspondant (qui ont perdu le gène d'avirulence) un avantage sélectif par rapport aux individus avirulents. Le contournement d'un gène de résistance correspond à la **sélection** et à la multiplication des individus virulents apparus par mutation, recombinaison ou migration (McDonald et Linde, 2002). On parle d'adaptation d'une population pathogène sous l'effet de la pression de sélection exercée.



Un individu devient virulent quand il perd le gène d'avirulence correspondant au gène de résistance considéré. La **mutation**¹ est la première force évolutive responsable de la perte du gène d'avirulence. Plusieurs types de mutation ont été décrits : mutation par insertion, par délétion, mutation RIP (Repeat induced point mutation). Plus la taille de la population est élevée, plus le nombre de mutations au sein de cette population qui conduisent à l'apparition d'un individu virulent est élevée (McDonald et Linde, 2002). La perte du gène d'avirulence peut conférer un **coût de virulence**¹ à l'individu : sa capacité d'infection et sa survie est plus difficile que s'il avait conservé le gène d'avirulence (Huang *et al.*, 2006). Sur une variété sensible, l'individu aura alors tendance à disparaître. Du fait du coût de virulence, la **dérive génétique**¹ peut provoquer la disparition de virulences dans le cas de petites populations quand il n'y a plus de sélection (variété sensible). Un autre mécanisme d'apparition d'un individu virulent dans une population est la **migration**¹, qui représente le passage d'allèles d'une population à une autre. Enfin, la reproduction sexuée si elle existe chez le champignon (cas de *L. maculans*) peut entraîner la **recombinaison**¹ qui conduit à l'accumulation de virulences. L'individu correspondant sera alors capable d'infecter des variétés qui possèdent plusieurs gènes de virulence.

L'apparition d'une nouvelle virulence a lieu sur les variétés qui ne possèdent pas le gène de résistance correspondant. L'individu doit ensuite transmettre des descendants par migration sur une parcelle possédant ce gène de résistance, où la sélection leur confère un avantage par rapport aux autres individus. Si l'individu virulent est capable de se multiplier et de transmettre des descendants vers d'autres parcelles résistantes, le gène de résistance risque d'être contourné en quelques années. Le processus de contournement d'une résistance nécessite donc l'apparition de la virulence, sa sélection et sa multiplication, et la transmission de descendants (qui nécessite la contribution à l'inoculum de l'année suivante).

Les processus qui ont été décrits ici pour une résistance spécifique s'appliquent également aux résistances quantitatives. Un individu plus agressif vis-à-vis d'une variété résistante (apparu par mutation ou migration), est sélectionné par rapport à d'autres individus, même si ce processus est plus lent que pour un contournement de gène de résistance spécifique, puisque tous les individus restent capables d'infecter la variété. On parle alors d'érosion de la résistance quantitative (McDonald et Linde, 2002).

¹ La définition de ces termes (ainsi que des mécanismes de mutation) est plus détaillée dans le chapitre 2

virulents ne pouvant infecter qu'une seule des variétés du mélange (Mundt, 2002). Zhu *et al.* (2000) ont démontré l'efficacité de cette technique contre la pyriculariose du riz (gestion des populations de *Magnaporthe grisea*), alors que Belhaj Fraj (2003) a montré l'efficacité d'une culture de blé en mélange pour réduire la sévérité de la septoriose (*Mycosphaerella graminicola*). Enfin, à l'échelle d'une région, le déploiement de variétés avec un ou plusieurs gènes de résistance spécifique dans l'espace (mosaïque) ou dans le temps (succession) est en général un moyen efficace de ralentir le contournement des résistances (Finckh *et al.*, 1998). Réduire la taille des populations pathogènes grâce à une combinaison de méthodes de lutte chimiques, culturales, biologiques ou physiques pourraient favoriser la durabilité des gènes de résistance spécifique (Aubertot *et al.*, 2006a). En effet, l'apparition de nouvelles virulences par mutation est alors limitée, ainsi que les risques de recombinaison entre deux individus (donc l'accumulation de virulences). De plus, le nombre d'individus virulents étant plus faible, leur migration vers de nouvelles régions est plus limitée. Une taille de population réduite peut aussi permettre une perte de virulence par dérive génétique (Kiyosawa, 1982 ; McDonald et Linde, 2002).

On appelle gestion intégrée de l'avirulence de populations pathogènes la combinaison des deux actions : limitation de la taille des populations pathogènes et limitation de la pression de sélection exercée sur ces populations (Integrated Avirulence Management, Aubertot *et al.*, 2006a). La conception-évaluation de stratégies de gestion intégrée de populations pathogènes est difficile quand ces échelles dépassent la parcelle et l'année culturale. Elle nécessite de prendre en compte les différentes méthodes de lutte, mais aussi l'évolution de caractéristiques de structures de populations pathogènes (taille et structure génétique) sous l'influence des stratégies mises en place et des forces évolutives (van den Bosch *et al.*, 2006).

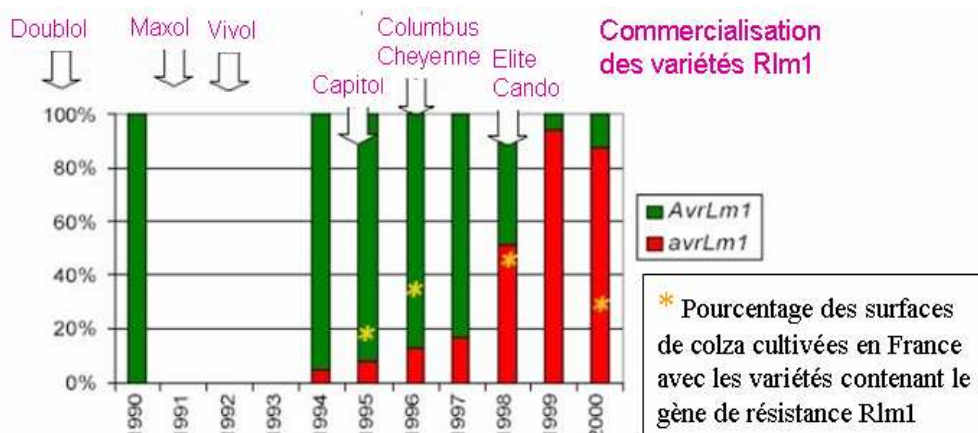
Enfin, l'évaluation des stratégies de production intégrée doit se faire selon différents critères. Un critère économique : les itinéraires techniques intégrés peuvent conduire à des rendements moindres, mais qui peuvent être compensés par des coûts en intrants moindres. L'évaluation doit donc se faire sur la marge brute et non pas uniquement sur le rendement (critère de production). Des critères environnementaux et toxicologiques : les stratégies de contrôle intégré doivent conduire à une utilisation moindre de pesticides (pour limiter la pollution engendrée et les impacts sur la santé humaine), mais aussi d'énergies fossiles. Un critère de maintien de l'efficacité des méthodes de lutte mises en œuvre : les variétés résistantes en particulier, doivent conserver leur efficacité.

Encadré 1.4. Résistances au phoma du colza, et exemple du contournement du gène de résistance spécifique Rlm1

Chez le colza, la résistance spécifique s'exprime du stade plantule au stade adulte, au niveau des feuilles et des cotylédons (Delourme *et al.*, 2006). Les gènes de résistance au phoma sont appelés Rlm en France et au Royaume-Uni, et cette appellation pourrait devenir internationale (Delourme *et al.*, 2006). Dix gènes Rlm ont été identifiés, sur l'espèce *Brassica napus*, mais aussi sur d'autres espèces de *Brassicacées* : *B. juncea*, *B. nigra*... (Delourme *et al.*, 2006). Les gènes d'avirulence correspondants chez *Leptosphaeria maculans* sont appelés AvrLm. La résistance quantitative s'exprime au stade adulte, et l'on observe une diminution significative de la sévérité de nécrose chez les variétés de colza présentant ce type de résistance (Delourme *et al.*, 2006).

Des phénomènes de contournements de gènes de résistance spécifique ont été observés dans le cas du phoma du colza. En particulier, Rouxel *et al.* (2003) ont suivi le contournement du gène Rlm1.

Evolution de la fréquence d'AvrLm1 en France depuis 1990



Source : Rouxel *et al.*, 2003

Les variétés contenant le gène Rlm1 ont été commercialisées au début des années 1990. Pourtant, elles n'ont été utilisées de façon massive en France qu'à partir de 1994 (presque 50% des surfaces cultivées en colza présentent des variétés avec le gène Rlm1 en 1998). La virulence correspondante apparaît dès 1994 et, en 1999, presque 100% de la population pathogène est virulente vis-à-vis du gène Rlm1.

1.2. Importance économique de la culture de colza d'hiver et risques liés au phoma

1.2.1. Le colza d'hiver

La culture du colza d'hiver, même si elle n'occupe qu'une faible part de la SAU en France, est en augmentation (Figure 1.1). Le colza est une culture difficile à conduire, car elle est sujette à de nombreux bioagresseurs : agents pathogènes responsables de différentes maladies (phoma, sclérotinia, oïdium, cylindrosporiose, hernie...), insectes (mouche du chou, grosse altise, tenthrède de la rave, pucerons, charançon de la tige du colza, méligèthe...), limaces, adventices. Le colza nécessite actuellement des apports importants en produits phytosanitaires, en particulier en pesticides : l'IFT¹ moyen de cette culture était compris, en 2001, entre 4 et 6 en fonction des régions où le colza est cultivé, contre 1,5-2 pour le maïs, 1,5-4,5 pour l'orge ou 2-6 pour le blé tendre (les régulateurs de croissances ne sont pas pris en compte pour le colza, ce qui entraîne une valeur de l'IFT minimisée ; Champeaux, 2006). L'utilisation de pesticides a même augmenté au cours de la dernière décennie. Au Royaume-Uni par exemple, 2,5 % des parcelles étaient traitées en automne avec un fongicide en 1992, contre 75 % en 1999 (Turner *et al.*, 2000). Ceci diminue le rendement économique de la culture, et rend le bilan environnemental médiocre par rapport à d'autres cultures (Dejoux, 1999).

Cependant, la culture de colza présente des intérêts agronomiques non négligeables. Le colza, par sa forte capacité d'absorption d'azote dès l'automne (Dejoux *et al.*, 2003), permet une valorisation des apports d'amendements organiques ou d'effluents d'élevage en fin d'été, et une utilisation des reliquats d'azote laissés dans le sol par la culture précédente, à une période où ils pourraient être lixiviés en dehors de la zone explorée par les racines. Du fait de la couverture longue du sol, le colza permet de limiter les phénomènes d'érosion du sol (Marquard et Walker, 1995), et son système racinaire en pivot permet un bon état structural du sol. Insérée dans des successions de cultures riches en céréales à paille, cette culture a l'intérêt de rompre le cycle des bioagresseurs, et donc de réduire leur nuisibilité sur le rendement des céréales. De plus, le colza, comme l'ensemble des espèces de brassicacées, sécrète au niveau de ses tissus périphériques des glucosinolates qui interviennent dans les mécanismes de défense de la plante (Reau *et al.*, 2005). Après récolte, les glucosinolates contenus dans les résidus sont dégradés en composés (isothiocyanates par exemple) qui ont des propriétés biocides contre certains organismes du sol, comme les champignons pathogènes telluriques des céréales, les nématodes ou les bactéries. Les espèces de brassicacées, dont le colza, introduites dans les rotations, ont donc des propriétés assainissantes du sol (Kirkegaard *et al.*, 1999 ; Smith *et al.*, 1999 ; Reau *et al.*, 2005). Aussi le rendement d'un blé, par exemple, est meilleur, en moyenne, après un colza que lorsqu'il suit une autre céréale² (CETIOM, 2001). Par ailleurs, les débouchés de la culture de colza sont divers : alimentation animale (tourteau et graine de colza), huile (à usage alimentaire et

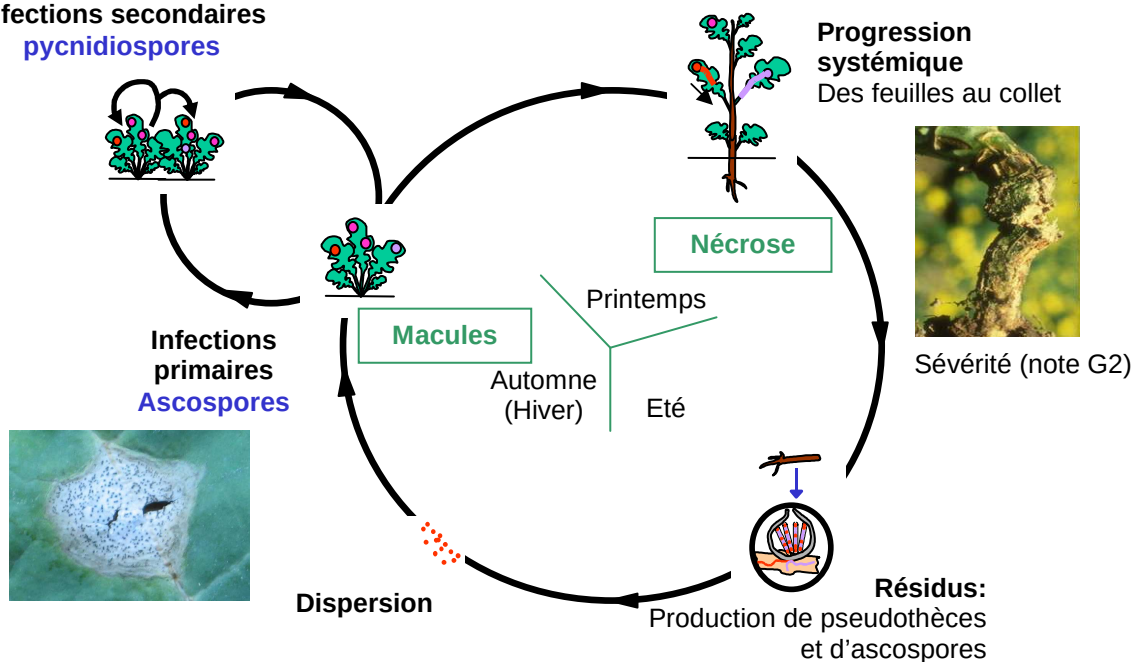
¹ L'IFT, Indice de Fréquence de Traitement, est un indicateur d'intensité d'utilisation des produits phytosanitaires qui représente le nombre de traitements réalisés à la dose homologuée (Champeaux, 2006).

² Il faudrait cependant comparer cet effet précédent à d'autres cultures que les céréales.

Encadré 1.5. Cycle et biologie de *L. maculans*, et symptômes causés sur la culture de colza (macule foliaire et nécrose au collet)

Leptosphaeria maculans est un dothideomycète pathogène des espèces de *Brassica*. Ce parasite est biotrophe jusqu'à la reprise de végétation, puis saprophyte. Deux types de reproduction existent dans le cycle du champignon : reproduction asexuée donnant naissance aux conidies (ou pycnidiospores) formées dans les pycnides, et reproduction sexuée impliquant deux types sexuels différents et donnant naissance aux ascospores formées au niveau des pseudothèces (souvent appelés périthèces¹). Les pycnides se forment sur les macules foliaires et les tiges nécrosées. Les conidies ($3-5 \times 1.5-2 \mu\text{m}^2$) sont unicellulaires, dispersées par les gouttelettes d'éclaboussure, processus aussi appelé « *splashing* » (Travadon *et al.*, 2007). Les pseudothèces se forment sur les résidus de culture infectés. Ils sont de taille variable, 300 à 500 μm de diamètre (CMI descriptions of pathogenic fungi and bacteria n° 331), en général plus gros que les pycnides. Ils contiennent des asques ($80-125 \times 15-22 \mu\text{m}^2$), qui contiennent eux-mêmes à maturité 8 ascospores. Chaque ascospore ($35-70 \times 5-8 \mu\text{m}^2$) est composée à maturité de 6 cellules. Les ascospores sont dispersées par le vent.

Infections secondaires
pycnidiospores



¹ La distinction entre les périthèces et les pseudothèces n'est pas toujours évidente dans le règne des champignons, ce qui explique que l'on parle souvent de périthèces pour *L. maculans*. Les périthèces *sensu stricto* se développent après les gamètes femelles, qui leur donnent naissance en recrutant des hyphes alentour pour élaborer l'enveloppe de la fructification. Dans le cas des pseudothèces, le gamète femelle apparaît après formation de l'enveloppe de la fructification. Les dothideomycètes, et donc *Leptosphaeria maculans*, présentent ce type de développement.

industriel). Plus récemment, le colza prend une importance particulière car il est utilisé pour la production de biocarburants.

1.2.2. Le phoma du colza

Le phoma est l'une des maladies les plus préjudiciables à la culture du colza, qui existe partout où elle est présente (Hall, 1992, West *et al.*, 2001 ; Fitt *et al.*, 2006). Il est causé par le complexe d'espèces *Leptosphaeria maculans* (Desm. Ces et de Not. forme asexuée *Phoma lingam*) / *L. biglobosa*. Cette maladie est d'une importance économique majeure puisqu'elle provoque, selon les années, des pertes de rendement comprises entre 5 et 20 % de la production nationale française (Aubertot *et al.*, 2004a), mais pouvant atteindre 100% dans des situations exceptionnelles (West *et al.*, 2001).

L'infection est généralement initiée par un nuage d'ascospores aériennes, qui proviennent des pseudothèces qui se forment sur les résidus de culture de l'année précédente, restés en surface (Encadré 1.5). Les ascospores, spores issues de la reproduction sexuée et contenues dans les asques des pseudothèces, sont libérées après humidification par la pluie ou la rosée et dispersées par le vent (Hall, 1992 ; West *et al.*, 2001). Elles sont déposées sur les plantules de colza, germent et pénètrent dans les feuilles par les blessures ou les stomates. Le mycélium colonise les espaces intercellulaires (Howlett, 2004) et des lésions apparaissent sur les feuilles, 5 jours après l'infection si les conditions sont favorables. On assiste alors à l'apparition du premier symptôme, la macule foliaire (Encadré 1.5). Les ascospores sont considérées comme l'inoculum responsable des infections primaires, même s'il peut aussi exister une infection par les semences (McGee, 1977 ; West *et al.*, 2001). Cette infection des semences peut entraîner l'exportation de la maladie dans des nouvelles régions de culture où elle n'est pas présente et la survie à long terme du parasite qui peut y vivre plus de 10 ans (Hall, 1992). Des infections secondaires peuvent exister, par libération de conidies (ou pycnidiospores), spores issues de multiplication asexuées et contenues dans les pycnides formées sur les macules, et dispersion par la pluie sur les plantes adjacentes (Travadon *et al.*, 2007). Même si l'importance des infections secondaires dans le cycle épidémique global est peu connu (Li *et al.*, 2006), la maladie est considérée comme monocyclique (en population de grandes tailles, seule les infections primaires par les ascospores sont responsables de l'essentiel de la maladie) en Australie, en Europe et au Canada (Salam *et al.*, 2007).

A partir des macules, le mycélium progresse de façon systémique jusqu'au collet où le deuxième symptôme, la nécrose, apparaît (Encadré 1.5). Contrairement aux macules, qui apparaissent rapidement après l'infection (latence de 250 °C.j, base 0 °C, Brunin et Lacoste, 1970), la nécrose apparaît tardivement et n'est pas toujours visible extérieurement, sauf si elle conduit à la verse de la plante, ce qui peut se produire dans les cas les plus graves. La perturbation de la photosynthèse par les macules ne semble pas avoir un impact systématique sur le développement de la plante, puisque la corrélation entre le nombre de macules et les dommages est très irrégulière (Sun *et al.*, 2000). Les macules sont cependant révélatrices de la présence du champignon. La nécrose provoque une altération de la nutrition hydrique et minérale de la plante, et parfois des phénomènes de verse parasitaire. Elle est ainsi à l'origine de pertes de rendement (McGee et Emmett, 1977). Ces pertes sont plus importantes si

l'infection est précoce, c'est-à-dire avant le stade 6 feuilles (Brunin et Lacoste, 1970). Souvent, la libération des ascospores coïncide avec le stade plantule de la culture, où la plante est plus sensible aux infections : en mai après les averses d'hiver en Australie ou au Canada, de septembre à novembre pendant la période végétative en Europe. La corrélation entre le nombre de macules et la sévérité de la nécrose est variable (Sun *et al.*, 2000).

Leptosphaeria maculans se développe principalement sur les parties inférieures de la tige, contrairement à *L. biglobosa*, qui se développerait plutôt sur les parties supérieures (West *et al.*, 2001). Après la récolte, *L. maculans* se développe rapidement sur les résidus, en produisant des fructifications : pycnides et pseudothèces, organes contenant respectivement les pycnidiospores et les ascospores. La durée de vie de l'agent pathogène sur les résidus peut aller jusqu'à 5 ans, mais dépend de l'espèce, de la variété de l'hôte et du climat, qui favorise ou non la décomposition des résidus (Baird *et al.*, 1999). Quand les pseudothèces sont matures, les ascospores produites sont libérées, dispersées par le vent sur plusieurs kilomètres et peuvent infecter les nouvelles cultures de colza. La majorité des ascospores semble se déposer sur les 500 premiers mètres (Marcroft *et al.*, 2004a), même si cela est difficilement quantifiable, pour des raisons expérimentales (Chapitre 2).

La prédominance d'une espèce de *Leptosphaeria* ou de l'autre varie en fonction de la situation géographique. Les espèces ont d'abord été séparées en deux groupes, selon leur agressivité : forte et faible, tox^+ et tox^0 , ou A et B. Ces deux groupes ont les mêmes hôtes et la même morphologie de spores (West *et al.*, 2001), mais présentent des différences pour les symptômes sur les cultures, les parties de la plante infectées, la génétique ou la production de métabolites (Toscano-Underwood *et al.*, 2003). Les groupes A et B sont considérés comme deux espèces différentes depuis 2001, appelées *L. maculans* et *L. biglobosa* (Schoemaker et Brun, 2001). En plus d'être plus pathogène, il semble que *L. maculans* survive plus longtemps sur les résidus de culture enterrés, du fait qu'il est situé sur les parties inférieures de la tige, plus résistantes à la décomposition que les parties supérieures, où l'on retrouve plus fréquemment *L. biglobosa*. De plus, *L. maculans* colonise plus profondément l'intérieur de la tige, ce qui permet d'augmenter la durée de sa survie dans les résidus (Huang *et al.*, 2003).

Le rôle du climat est prépondérant dans le cycle de l'agent pathogène. Les précipitations et la température ont un impact important sur la survie de l'inoculum, la maturation des pseudothèces, la date de libération des spores, les conditions d'infection et de résistance de l'hôte. Une humidité relative dans l'air suffisamment élevée est nécessaire pour la maturation des spores et l'infection (Hall, 1992). La température optimale pour la formation et la maturation des pseudothèces est de 14-15°C (Pérès *et al.*, 1999 ; Huang *et al.*, 2003 ; Toscano-Underwood *et al.*, 2003). L'infection peut avoir lieu entre 6 et 24°C, mais les lésions apparaissent plus rapidement entre 14 et 16°C, alors que les symptômes du collet apparaissent entre 20 et 24°C (McGee, 1977 ; Hall, 1992). De plus, l'augmentation de la température amplifie le phénomène de déficit hydrique entraîné par la nécrose du collet (West *et al.*, 2001). La pluie et la température jouent également sur la dégradation des résidus et donc sur la persistance de sources d'inoculum primaire (West *et al.*, 2001). Enfin, la pluie est responsable de la libération des ascospores alors que le vent est responsable de leur dispersion.

Les principaux facteurs influençant la gravité des épidémies sont le climat (maturation des pseudothèces, dispersion, efficacité et développement de l'infection), les pratiques culturales (y compris le choix variétal), et la structure génétique de la population pathogène (fréquence des individus virulents si la variété présente un ou plusieurs gènes de résistance spécifique). Il existe de nombreuses interactions entre ces facteurs.

1.2.3. Méthodes de lutte

1.2.3.1. Contrôle génétique

La principale méthode de lutte efficace contre le phoma est l'utilisation de variétés résistantes, présentant des résistances spécifiques et/ou quantitatives (Delourme *et al.*, 2006 ; Encadrés 1.2 ; 1.5). Parmi les variétés semées en France actuellement, 80 à 90 % sont classées très peu sensibles (classement CETIOM ; Pinochet *et al.*, 2004). La plupart de ces variétés étaient jusqu'à récemment plutôt de groupe 1, c'est-à-dire avec un bon niveau de résistance quantitative, mais on note ces dernières années une augmentation de l'utilisation des variétés hybrides ou contenant le gène de résistance spécifique Rlm7 (30-35 % au niveau national, 45 % sur le site pilote de la région Centre où est réalisé un suivi du contournement Rlm7 ; Comm. Pers. Pinochet). Plusieurs composantes de la résistance peuvent se manifester au champ : résistance à l'infection, impliquant une ou plusieurs résistance(s) spécifique(s) et résistance au développement de la maladie (perte des feuilles malades, limitation du développement de la nécrose...), impliquant la résistance polygénique (West *et al.*, 2001 ; Encadré 1.5).

Les résistances spécifiques peuvent être très efficaces lors de leur introduction : le nombre d'individus virulents est très faible dans la population, ce qui conduit à une infection pratiquement nulle du peuplement. Pourtant, cette efficacité n'est pas durable. En effet, on a assisté à des contournements rapides des gènes de résistance (Sprague *et al.*, 2006), en particulier en France du gène Rlm1 : si l'on suppose que le gène est contourné quand plus de 50 % des pathotypes sont virulents, le contournement de ce gène a eu lieu en 5 ans (Rouxel *et al.*, 2003 ; Encadré 1.4). Quatre types de mutation ont été décrits comme permettant l'acquisition de virulence chez *L. maculans*¹ (Parlange, 2006 ; Gout *et al.*, 2007 ; Balesdent, 2008) : la perte du gène d'avirulence peut se faire par délétion d'un fragment d'ADN (AvrLm1 ; Gout *et al.*, 2007) ou par des phénomènes de mutation ponctuelle (avrLm4), le gène d'avirulence peut être inactivé par insertion (avrLm7) ou par mutation de type RIP (*Repeat Induced Point mutation* ; cas observés chez des souches avrLm1 et avrLm7). La diversité des mécanismes implique l'apparition rapide de virulences chez *L. maculans*. Ainsi, on détecte souvent des pathotypes virulents dans les populations pathogènes dès l'introduction d'un nouveau gène de résistance (Brun *et al.*, 2001). La sélection de ces pathotypes virulents sur les parcelles où des variétés contenant le gène de résistance spécifique correspondant sont implantées conduit à leur augmentation en nombre, donc en fréquence, dans la population régionale. *L. maculans* est un agent pathogène présentant les deux modes de reproduction (sexuée et asexuée), une dispersion de spores efficaces (sur d'assez longues distances) et une

¹ Ces mécanismes sont décrits plus en détails dans le chapitre 2

taille de population importante, avec une forte diversité génétique. Il s'adapte donc rapidement, entraînant un contournement rapide des gènes de résistance spécifique (McDonald et Linde, 2002). En Europe, la plupart des gènes de résistance spécifique commercialisés ont été contournés : Rlm 1, 2, 3, 4, 5 et 9 (Balesdent *et al.*, 2006 ; Stachowiak *et al.*, 2006).

Tous les pathotypes peuvent infecter les variétés avec des résistances quantitatives, qui présentent souvent des macules, mais une quantité réduite de nécroses du collet (Salisbury *et al.*, 1995). Les résistances quantitatives permettraient donc de limiter les dégâts secondaires (les nécroses), à infections primaires égales : elles permettraient de ralentir la progression systémique de l'agent pathogène dans la tige, même si peu de données sont disponibles pour comprendre leur fonctionnement. L'utilisation de souches GFP (*Green Fluorescent Protein*) permettrait de mieux comprendre les mécanismes de résistance quantitatives au cours de la progression systémique du champignon (Huang *et al.*, 2007a). On observe une diminution significative de la sévérité des nécroses chez les variétés possédant ce type de résistance (Delourme *et al.*, 2006). L'existence d'érosion de ces résistances quantitatives a été rapportée (Salisbury *et al.*, 1995 ; Delourme *et al.*, 2006).

Les variétés de colza ont été classées en quatre groupes selon qu'elles possèdent une résistance quantitative et/ou une résistance spécifique contournée ou non, et des recommandations existent pour leur utilisation dans le paysage (Classement CETIOM, Pinochet *et al.*, 2004). De plus, la durabilité des résistances spécifiques contre le phoma du colza devrait pouvoir être augmentée si on raisonne l'utilisation de ces variétés en combinaison avec les variétés présentant des résistances partielles, et les méthodes de lutte chimiques et culturales (Gladders *et al.*, 2006).

1.2.3.2. Contrôle cultural et chimique

Des méthodes complémentaires au contrôle génétique existent pour lutter contre le phoma : le contrôle cultural et la lutte chimique. L'enfouissement des résidus grâce au travail du sol permet de diminuer la quantité de résidus en surface (Schneider *et al.*, 2006) et d'accélérer la décomposition des résidus (Turkington *et al.*, 2000), donc de limiter la quantité d'inoculum primaire disponible pour les cultures suivantes. Un traitement chimique des résidus pour diminuer la quantité d'ascospores produites peut également exister dans des systèmes de travail du sol simplifié (Turkington *et al.*, 2000). Concernant la succession culturale, un délai de retour du colza de 4 ans est recommandé pour permettre une baisse du risque d'infection par les ascospores issues de résidus encore présents sur la parcelle (West *et al.*, 2001). Afin de limiter les risques d'infection par les ascospores issues de résidus de parcelles adjacentes, un éloignement d'au moins 500 m est recommandé entre une parcelle avec des résidus infectés et une parcelle semée en colza (Marcroft *et al.*, 2004a). Les ascospores, dispersées sur de longues distances, représentent un risque faible pour les pertes de rendement puisqu'elles sont en faible nombre. Par contre, la dispersion de nouveaux pathotypes virulents à des distances élevées peut entraîner leur introduction par migration dans des régions où ils étaient absents, si l'infection causée conduit à la reproduction de ces pathotypes en fin de cycle cultural. La date de semis a un impact sur le stade phénologique de la culture au moment de l'arrivée des

ascospores : une date de semis précoce peut permettre d'éviter la coïncidence entre la libération des ascospores et le stade sensible de la culture (c'est-à-dire avant le stade 6 feuilles). Enfin, la densité de semis et l'azote disponible dans le sol au moment du semis (éventuellement lié à un apport d'azote organique avant semis) ont un impact sur la surface foliaire de la plante susceptible d'intercepter les ascospores au moment des pics (Aubertot *et al.*, 2004a).

Un traitement fongicide peut permettre de diminuer les infections. Cependant, son efficacité est fortement liée à la date et à la dose d'application (Penaud *et al.*, 1999 ; West *et al.*, 2002 ; Steed *et al.*, 2007) : le traitement foliaire est efficace quand il est appliqué juste après les premières contaminations, pour limiter l'infection de nouvelles feuilles ou la progression de l'infection vers le collet. Ceci nécessite de prédire précisément l'arrivée des pics d'émission d'ascospores et d'évaluer régulièrement l'état sanitaire de la culture, même si l'apparition des premières macules indique que la culture est déjà contaminée. L'efficacité du fongicide est donc souvent limitée, d'autant plus que sa rémanence est souvent faible (Gladders *et al.*, 2006).

1.2.3.3. Contrôle biologique et physique

Ces méthodes de lutte sont plus ponctuelles voire non utilisées pour le cas de la lutte biologique. Plusieurs agents biologiques ont montré un effet antagoniste sur *L. maculans* lors d'expérimentations *in vitro* : la germination des ascospores ou le développement du mycélium, par exemple, peuvent être empêchés par *Erwinia herbicola* (Chakraborty *et al.*, 1994). Certaines expériences ont même été conduites en chambre climatique ou au champ pour réduire la survie du champignon sur résidus (*Paenibacillus polymyxa*, Kharbanda *et al.*, 1999) ou réduire le nombre de macules (*Trichoderma harzianum*, Hysek *et al.*, 2002). Aucune de ces méthodes n'est cependant utilisée par les agriculteurs.

Des méthodes de lutte physique sont utilisées pour la gestion des résidus, particulièrement dans les régions sèches où la décomposition des résidus est lente : par exemple, les résidus peuvent être brûlés (West *et al.*, 2001), mais cette pratique est interdite en France.

Devant l'importance agronomique de la culture de colza, il est nécessaire d'assurer le maintien du colza dans les rotations tout en améliorant son bilan environnemental et économique. Ceci implique d'assurer la régularité des rendements, et de maîtriser l'usage des intrants, grâce à des itinéraires techniques adaptés susceptibles de limiter la sensibilité de la culture aux bioagresseurs, en particulier contre le phoma du colza. La maladie est polyétique (transmission d'inoculum d'une année culturale à la suivante) et la dispersion de l'agent pathogène dépasse l'échelle de la parcelle. Un enjeu de la recherche agronomique est la mise en place de stratégies de contrôle collectif de la maladie à des échelles supra-parcellaire et pluriannuelle, combinant les méthodes de lutte génétique, chimique et culturale, et prenant en compte l'impact fort du climat sur le cycle épidémique, et l'évolution de la composition des populations pathogènes.

2. Objectif de la thèse

Trois enjeux se dégagent de cette synthèse bibliographique. D'abord, les enjeux environnementaux conduisent à proposer des systèmes de cultures (SDC) plus respectueux de l'environnement, en particulier dans le cadre de la protection des cultures. Ensuite, un enjeu économique nécessite de soutenir la rentabilité économique de la culture de colza, qui présente des intérêts agronomiques et des débouchés importants. Ceci implique, entre autres, de préserver l'efficacité des moyens de lutte utilisés. Enfin, il existe un enjeu scientifique : comment étudier la meilleure combinaison de méthodes de lutte à des échelles spatiales et temporelles dépassant celles accessibles à l'expérimentation.

L'objectif de cette thèse est de développer un outil permettant de concevoir et d'évaluer *ex ante* des systèmes de culture répondant à ces enjeux, pour la culture de colza et le phoma. Etant donné la complexité du système étudié, la modélisation est le moyen le plus approprié pour développer et évaluer des stratégies de contrôle d'une maladie. Un modèle a donc été développé pour le phoma du colza : SIPPOM, *Simulator for Integrated Pathogen POpulation Management*. L'accent a été mis sur la nécessité de maintenir la durabilité des gènes de résistance spécifique.

Le modèle doit permettre de représenter des stratégies de déploiement de variétés résistantes dans l'espace et dans le temps en combinaison avec d'autres méthodes de lutte. Il doit également permettre de vérifier que les stratégies proposées assurent aux agriculteurs une rentabilité économique, et répondent aux exigences environnementales et toxicologiques de la production intégrée. Des simulations de différents scénarios de combinaisons de techniques culturales incluant leur répartition spatiale, en interaction avec les facteurs environnementaux pédoclimatiques seront donc possibles là où l'expérimentation est difficile. Cet outil pourra être utilisé pour hiérarchiser des stratégies de contrôle, et pour mettre en évidence des lacunes dans les connaissances essentielles à acquérir pour mettre au point des scénarios candidats.

3. Démarche de recherche

3.1. Modèles existants et conséquences pour l'outil créé

Le développement d'une épidémie dans un agrosystème résulte d'interactions entre les populations hôtes et les populations pathogènes, interactions qui dépendent de facteurs environnementaux et des pratiques culturales (Tixier *et al.*, 2006). Pourtant, peu de modèles visant à raisonner les pratiques culturales prennent l'ensemble de ces facteurs en compte. Dans cette partie, je ne réaliserai pas une étude exhaustive de l'ensemble des modèles existants (ils sont nombreux) pour simuler des stratégies de contrôle d'une maladie ou pour mesurer la durabilité des résistances. Je présente quelques exemples de modèles en soulignant leurs caractéristiques intéressantes, mais également les limites qu'ils présentent par rapport à l'objectif de mon travail de thèse. Ces caractéristiques et limites concernent la prise en compte des différentes méthodes de lutte, la représentation de systèmes de culture agencés dans l'espace, et la prise en compte des conditions pédoclimatiques.

3.1.1. Modèles pour l'étude de la durabilité des résistances spécifiques

Plusieurs modèles ont été publiés pour étudier la durabilité des résistances spécifiques. En général, ces modèles représentent l'évolution des populations pathogènes face à des populations hôtes en fonction de la proportion de variétés résistantes dans un paysage, ou ratio (Leonard, 1993). Par exemple, van den Bosch et Gilligan (2003) proposent un modèle évaluant l'impact de ce ratio et d'autres paramètres épidémiologiques (comme par exemple le taux d'infection, de migration ou de mutation) sur la durabilité des résistances. Pietravalle *et al.* (2006) présentent le même type de modèle pour *L. maculans*. L'effet du coût de virulence ainsi que la saisonnalité de l'épidémie sont ajoutés : un paramètre de « gestion inter-culturelle » prend en compte l'effet de l'environnement et des pratiques sur la récurrence de l'épidémie. Ces deux exemples permettent de simuler l'évolution des populations pathogènes en fonction des forces évolutives et de l'utilisation des variétés résistantes, sans considérer le caractère spatial du déploiement.

Kiyosawa (1982) présente plusieurs modèles simulant des stratégies de déploiement de deux gènes de résistance : mélange variétal, mosaïque, succession et pyramidage. Dans la plupart des modèles présentés, seule la proportion de la surface cultivée avec la (les) variété(s) résistante(s) est considérée. Cependant, en se basant sur le modèle de Leonard (1969), l'auteur propose de prendre en compte le gradient de dispersion de l'agent pathogène dans la mesure de la durabilité d'un système en mélange variétal. Le modèle de Shi-Mai (1991) prend en compte de façon explicite la répartition spatiale des variétés. Il simule la dynamique des populations de rouille jaune à l'échelle de la Chine, en considérant des sous-régions du pays, à l'intérieur et entre lesquelles des échanges entre populations pathogènes ont lieu. Dans ces deux derniers exemples, la seule stratégie de contrôle envisagée est la stratégie de déploiement des variétés, mais le caractère spatial du déploiement est pris en compte.

Hovmøller *et al.* (1997) présentent un modèle de dynamique d'évolution des populations pathogènes face aux variétés résistantes, en introduisant l'impact des traitements fongicides

sur cette dynamique. Les stratégies de contrôle combinent ici le déploiement des variétés résistantes et le contrôle chimique.

Ces modèles présentent une approche simple et intéressante de la durabilité des résistances spécifiques, qui permet surtout de simuler l'évolution des populations pathogènes face aux forces évolutives, incluant la sélection, donc les stratégies de déploiement des variétés résistantes. La représentation spatiale peut améliorer la prédiction des dynamiques d'évolution des populations pathogènes. Cependant, les autres moyens de lutte qui ont pourtant un impact sur l'évolution des populations pathogènes sont peu ou pas pris en compte. De plus, les conditions climatiques ont un impact sur l'incidence et la sévérité¹ de la maladie chaque année, et donc sur la vitesse de contournement des résistances spécifiques (Kiyosawa, 1982). Les conditions pédoclimatiques devraient donc être prises en compte dans les modèles de mesure de la durabilité des résistances spécifiques. Enfin, van den Bosch et Gilligan (2003) ou Pietravalle *et al.* (2006) soulignent que la variable de mesure de la durabilité a un impact sur les conclusions concernant les stratégies : elles ne seront pas les mêmes si l'on considère la population pathogène (par exemple le temps pour atteindre un seuil de fréquence du pathotype virulent) ou la production (par exemple le temps pour que la variété résistante ne présente plus de gain de rendement par rapport à la variété sensible). Ceci souligne le fait que les modèles ne doivent pas considérer une seule variable de sortie mais un ensemble de variables caractérisant la structure des populations pathogènes, les dommages causés sur la culture, et éventuellement les impacts économiques de ces dommages.

3.1.2. Modèles pour le contrôle d'une maladie

D'autres modèles sont destinés à raisonner le contrôle de maladies, mais ils ne prennent souvent en compte qu'une seule méthode de lutte. Le modèle présenté par Holt et Chancellor (1999) permet d'étudier l'impact de la répartition spatiale et temporelle de variétés résistantes sur l'incidence d'une maladie à l'échelle régionale, en fonction des conditions climatiques favorables ou non à la maladie. Contrairement aux modèles présentés dans le paragraphe précédent, ce modèle n'a pas pour objectif d'évaluer la durabilité des résistances en fonction du schéma temporel et spatial de déploiement, mais bien d'évaluer l'impact des stratégies de déploiement pour le contrôle d'une maladie. Il a été construit dans le cas d'une culture continue de riz (deux cultures par an sur chaque champ) dans une région de 400 ha. Il est spatialement explicite et permet donc de prendre en compte les caractéristiques de dispersion du bioagresseur (ici un virus). L'intérêt de ce modèle est qu'il prend en compte non seulement la proportion de variétés résistantes dans une région, mais aussi la répartition de ces variétés dans l'espace. De plus, le déploiement temporel est étudié dans différentes conditions climatiques. En revanche, seule la lutte génétique est prise en compte.

Le modèle EIPRE (Zadoks, 1989) est un outil d'aide à la décision permettant de recommander un traitement fongicide dans un champ en fonction de l'état de croissance du peuplement, de la variété, des traitements précédents (éventuellement du risque d'adaptation

¹ L'incidence représente la proportion de plantes (d'organe) malades alors que la sévérité représente la quantité de maladie sur un organe.

des populations pathogènes aux molécules actives) et de l'incidence de 5 maladies fongiques. L'objectif de ce modèle n'est donc en aucun cas de tester des stratégies de contrôle d'une maladie mais de recommander une pratique en fonction de l'état d'un champ à un temps t donné. Forster et Gilligan (2007) présentent un modèle spatialement explicite permettant d'optimiser l'utilisation de fongicides à l'échelle du paysage. L'intérêt de ces deux modèles est qu'ils prennent en compte des aspects économiques en évaluant l'intérêt d'un traitement en fonction de son impact sur la sévérité de la maladie mais aussi sur le gain de rendement qu'entraîne ce traitement, en le comparant au prix de son application, comme défini dans le concept de lutte chimique raisonnée, apparue dans les années 1970 (Ferron et Deguine, 1999).

Le modèle présenté par Stacey *et al.* (2004) permet d'évaluer des stratégies de contrôle d'une maladie tellurique de la betterave, incluant le choix variétal et des politiques d'isolement de champs infectés. La progression de la maladie en fonction des stratégies est étudiée à l'échelle nationale (Royaume-Uni). L'infection est simulée dans chaque parcelle et les échanges d'inoculum sont ensuite simulés de façon explicite entre les parcelles d'une même exploitation agricole et entre les exploitations agricoles. Les pratiques de contrôle varient dans l'espace et au cours des années de simulation successives. L'accent est mis sur les mouvements spatiaux d'une maladie à grande échelle (ici essentiellement dus aux mouvements des outils). Par contre, le déroulement de l'épidémie dans chaque parcelle est représenté de façon simplifiée, ce qui ne permet pas de prendre en compte l'impact des conditions pédoclimatiques ou d'autres pratiques sur l'incidence et la sévérité des épidémies.

OMEGA-sys a été développé par M. Morison dans l'UMR d'Agronomie (INRA Grignon ; non publié). L'objectif du modèle est de modéliser l'élaboration du rendement en tenant compte de trois facteurs limitants (l'azote, le phoma et les adventices), afin de comparer les conséquences économiques et environnementales d'itinéraires techniques innovants pour la culture de colza. Les pratiques considérées sont le semis (date et densité), la variété, la fertilisation azotée en automne et avant semis, le travail du sol (labour ou non), le désherbage mécanique ainsi que les traitements fongicides et herbicides. Un module économique permet de prendre en compte les risques de décisions techniques prises, en fonction de la date et des aléas climatiques. Ce modèle prend en compte les méthodes de lutte culturales et chimiques, et propose d'évaluer les itinéraires techniques selon plusieurs critères : agronomique (rendement), économique (marge brute), et environnemental (nombre de traitements, N lessivé, énergie). Cependant, les échelles considérées sont la parcelle et l'année culturale.

Les modèles cités dans cette partie sont intéressants mais soit ils ne considèrent qu'un nombre limité de méthodes de lutte au cours du cycle épidémique (Holt et Cancellor, 1999 ; Stacey *et al.* 2004 ; Forster et Gilligan, 2007), soit ils ne considèrent que l'échelle de l'année culturale et de la parcelle (EIPRE, Zadoks, 1989 ; OMEGA-sys). Ainsi, ils ne permettent pas de concevoir des stratégies de production intégrée adaptées à des agents pathogènes évoluant sur les échelles pluriannuelle et pluriparcellaire.

3.1.3. Modèles qui prennent explicitement en compte les pratiques culturales

Les modèles qui prennent en compte les pratiques culturales sont en général des modèles de culture. Ces modèles simulent des rendements (quantitatifs et parfois qualitatifs) de cultures en prenant en compte en général les conditions pédoclimatiques et la nutrition hydrique et azotée du peuplement, mais sans considérer les populations de bioagresseurs et leur impact sur ces rendements (Tixier *et al.*, 2006). C'est le cas par exemple du modèle Azodyn (Jeuffroy et Recous, 1999) ou du modèle STICS (Brisson *et al.*, 2003), qui simulent la croissance du peuplement sur une parcelle et un cycle cultural.

Le modèle Genesys (Colbach *et al.*, 2001a; 2001b) permet de simuler les flux de gènes entre parcelles de colza et repousses pour évaluer les impacts de l'introduction de cultures OGM dans un paysage sur le maintien de l'efficacité des gènes de résistances aux herbicides. Ce modèle est spatialement explicite, et prend en compte des pratiques culturales telles que le choix des espèces et des variétés cultivées, le travail du sol, les dates et densité de semis, l'utilisation d'herbicides *etc...* à des échelles pluriannuelles et pluri-parcellaires. La représentation spatiale des flux de pollen, ainsi que la prise en compte des conséquences des pratiques culturales (incluant le choix variétal et les traitements herbicides) sur ces flux, sont un exemple pour représenter les flux spatiaux de particules comme les spores, sous l'influence des pratiques culturales.

3.1.4. Modèles spécifiques au phoma et au colza

En ce qui concerne le phoma et la culture de colza, des modèles sont disponibles pour décrire le développement de la culture et certaines étapes du cycle épidémique. Azodyn-rape (Jeuffroy *et al.*, 2003) est un modèle de culture dynamique simulant le développement de la culture en prenant en compte les besoins de la plante et les disponibilités du sol en azote et en eau. Le climat, les autres caractéristiques du sol et les pratiques sont également pris en compte. Il est basé sur la méthode du bilan pour le module azote du sol, et sur le modèle de Monteith pour la croissance de la culture. SimInoc (Schneider, 2005) permet de simuler d'une part le déplacement des résidus de colza dans le sol en fonction du travail du sol réalisé, et, d'autre part, la décomposition des résidus en fonction de leur position (en surface ou dans le sol). Il permet également de simuler la densité potentielle de pseudothèces formés sur les résidus. SimMat (Aubertot *et al.*, 2006c) simule la maturation des pseudothèces en fonction des conditions climatiques (pluie et température). D'autres modèles existent pour prédire la libération des ascospores (Salam *et al.*, 2007 ; Huang *et al.*, 2007b). Enfin, SimCanker (Aubertot *et al.*, 2004c) permet de calculer un indice de sévérité de la maladie et une perte de rendement liée à partir d'un nombre de macules, du climat (température) et de la biomasse de la culture à l'entrée de l'hiver.

Tableau 1.1. Stratégies à tester et conséquences pour les caractéristiques de SIPPOM

Niveau stratégique	Echelle	Entrées	Autres caractéristiques	Module
1. Limiter la taille des populations pendant le cycle cultural	Parcelle	- Variété		Module peuplement
	Année	- Semis		
		- N organique		Module infection
		- Fongicide		
		Climat, sol		
2. Limiter la taille des populations entre deux cycles successifs	Parcelle	- Travail du sol		Module production d'inoculum
	Année	Climat		
3. Limiter les flux de spores entre les parcelles	Pluriparcellaire	- Successions	Spatialement explicite	Module dispersion
	Pluriannuel	- Répartition spatiale des parcelles de colza		
		Climat		
4. Limiter la pression de sélection exercée sur les populations pathogènes	Pluriparcellaire	- Variétés (R. spécifiques)	- Spatialement explicite	Module génétique
	Pluriannuel	- Répartition spatiales des parcelles de colza (Résistances)	- Plusieurs gènes de résistance/pathotypes - Forces évolutives	

3.1.5. Conséquences pour le modèle créé

Aucun des modèles présentés précédemment ne permet de mettre en place des stratégies de contrôle d'une maladie combinant un ensemble de méthodes de lutte. Il est nécessaire de développer un modèle spécifique représentant les effets des systèmes de culture (choix variétal, traitements fongicides et méthode de contrôle cultural) et de leur agencement spatial sur les dynamiques épidémiques de *L. maculans* et sur l'adaptation de ces populations aux résistances variétales utilisées. Le modèle SIPPOM-WOSR, *Simulator for Integrated Pathogen POpulation Management*, a été développé au cours de cette thèse pour répondre à ces exigences.

Ce modèle résulte du couplage entre un modèle de culture simulant le développement du peuplement, un modèle maladie simulant la production d'inoculum, l'infection et les dommages, et un modèle de population permettant de suivre au cours du temps l'évolution de la composition des populations pathogènes et donc de l'efficacité des résistances spécifiques. Même s'il a été évoqué par Aubertot *et al.* (2006a) pour le phoma, un tel couplage n'a encore jamais été réalisé. Dans le cadre de la production intégrée, les variables de sortie doivent être biologiques, génétiques, agronomiques, économiques et environnementales. Le modèle doit être spatialement explicite pour simuler des échanges de spores entre les parcelles, et doit permettre des simulations pluri-annuelles à des échelles régionales qui couvrent l'échelle de dispersion des spores de *L. maculans*. A notre connaissance, aucun modèle de ce type n'est actuellement disponible, et ce, pour aucun pathosystème.

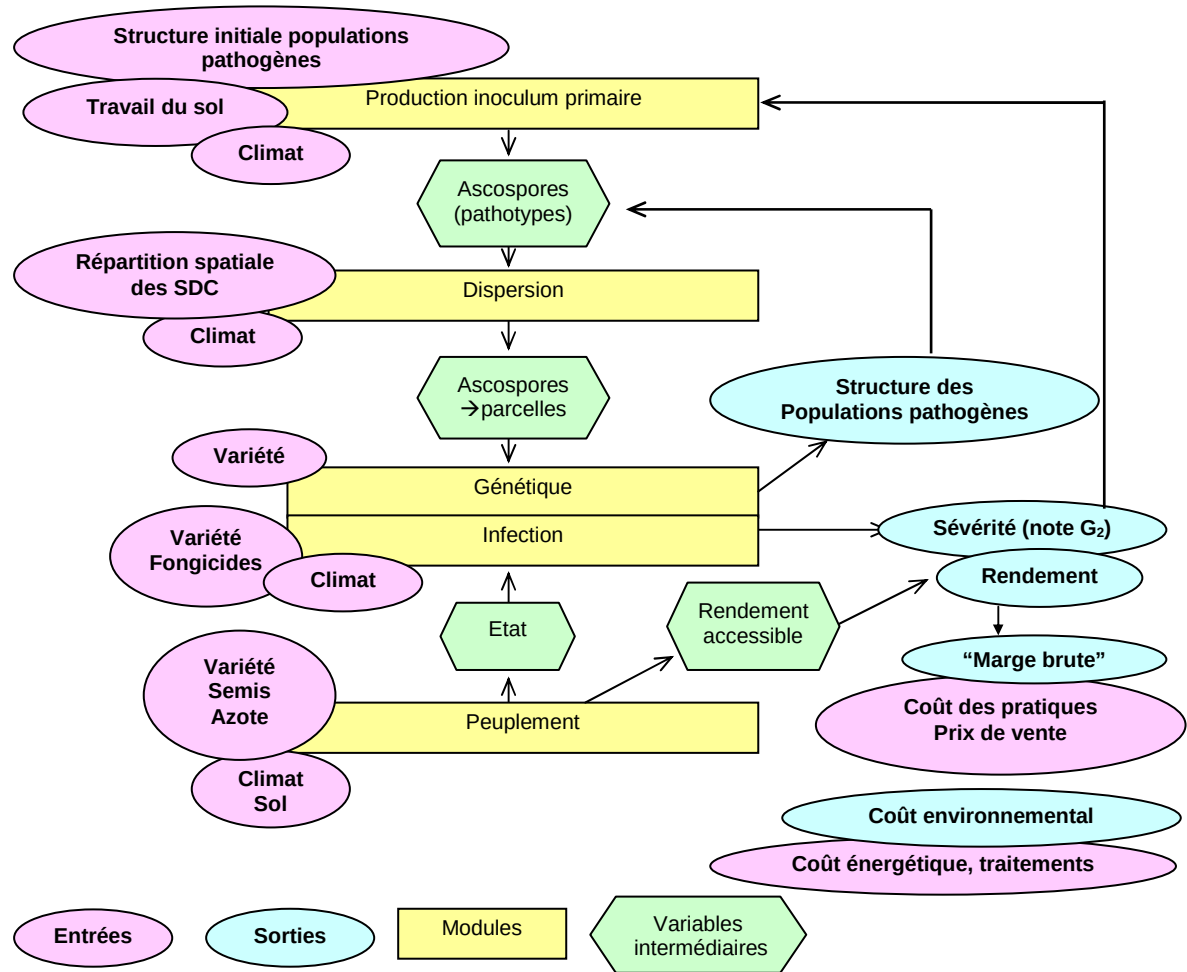
3.2. Structure de SIPPOM

Les utilisateurs de SIPPOM seront d'abord les chercheurs, puisque ce modèle est destiné à tester des stratégies de production intégrée. Cependant, le modèle doit aussi pouvoir être utilisé dans le développement, comme outil de démonstration de l'efficacité de pratiques ou de combinaisons de pratiques. Ce constat a eu des conséquences pour la réflexion sur la structure de SIPPOM, en particulier pour le choix des sorties.

Quatre niveaux de stratégies de gestion ont été retenus comme devant pouvoir être simulés avec SIPPOM, correspondant aux étapes et caractéristiques du cycle épidémique de la maladie (Tableau 1.1). Le premier niveau consiste à limiter la taille des populations¹ de *L. maculans* pendant le cycle cultural. Cela implique de limiter les infections primaires et de limiter la progression de l'infection, et donc les dommages causés. Elle fait appel au contrôle génétique (résistance spécifique pour limiter les infections primaires et résistances quantitatives pour limiter la sévérité de la nécrose), au contrôle chimique (traitement fongicide à l'automne), et au contrôle cultural (adaptation de la densité de semis et de l'apport d'azote organique avant semis pour agir sur la surface foliaire réceptrice de spores, date de semis pour éviter la concomitance entre les pics d'émission d'ascospores et la période de plus grande sensibilité du colza). Le deuxième niveau stratégique que le modèle doit pouvoir simuler vise à limiter la taille des populations de *L. maculans* entre deux cycles culturaux. Cette stratégie consiste à limiter la quantité d'inoculum primaire par enfouissement des

¹ Une population correspond à une parcelle dans SIPPOM

Figure 1.2. Structure de SIPPOM



résidus sur lesquels les ascospores sont produites, grâce au travail du sol. Ces deux premiers niveaux stratégiques sont raisonnés à l'échelle du cycle cultural et de la parcelle. Le troisième niveau stratégique consiste à limiter les flux de spores entre les parcelles de colza. Il nécessite de considérer des échelles régionales et pluriannuelles, et de raisonner les distances entre parcelles de colza d'une année à l'autre, donc les successions de cultures, ainsi que la répartition spatiale des parcelles de colza. Enfin, le dernier niveau stratégique consiste à limiter la pression de sélection exercée sur les populations pathogènes en adaptant la répartition spatiale et temporelle des gènes de résistance spécifique. Elle implique de considérer les différents pathotypes possibles et de prendre en compte les forces évolutives influençant la structure des populations de pathogènes, telles que la recombinaison, la sélection et la migration.

Afin de pouvoir simuler ces quatre niveaux stratégiques, SIPPOM est composé de 5 modules (Figure 1.2). Le premier module simule la production d'inoculum primaire, en prenant en compte les effets du climat sur la maturation des pseudothèces, et les effets du travail du sol sur l'enfouissement des résidus. Il est basé sur les modèles SimInoc (Schneider, 2005), et SimMat (Aubertot *et al.*, 2006c). Le second module représente la dispersion : la libération des ascospores est déclenchée à chaque événement pluvieux et les spores sont dispersées selon les caractéristiques du vent (orientation et vitesse). Ce module est adapté du modèle Anthracnose Tracer (Diggle *et al.*, 2002). Le module peuplement végétal est basé sur le modèle Azodyn-rap (Jeuffroy *et al.*, 2003) et simule l'état de la culture (surface foliaire (LAI : *Leaf Area Index*), biomasse et nombre de feuilles) au moment des infections primaires. Les entrées sont le climat (pluie, température, rayonnement global et évapotranspiration), les caractéristiques du sol et les pratiques culturales (date et densité de semis, azote organique avant semis). Ce module doit également permettre de simuler le rendement accessible, c'est-à-dire sans maladie. La quantité d'ascospores produites sur chaque parcelle source et dispersées dans la région est caractérisée par la fréquence de chaque pathotype. Le module génétique doit permettre d'évaluer la compatibilité entre les virulences des spores et les résistances spécifiques des variétés. Il doit également permettre de simuler la recombinaison. Finalement, le module infection permet de calculer un indice de sévérité de la maladie, la note G_2^1 , à partir d'un nombre de macules, de la température et de la biomasse du couvert. Ce module est basé sur SimCanker (Aubertot *et al.*, 2004c). L'effet de la résistance quantitative ainsi que des traitements fongicides doit également être pris en compte dans ce module. Enfin, la récurrence de la maladie d'une année à l'autre, c'est-à-dire la relation entre la sévérité de la maladie une année donnée et la quantité d'inoculum l'année suivante a été peu étudiée, quelle que soit la maladie considérée. La représentation de la récurrence dans le modèle a nécessité une expérimentation spécifique pour permettre la formalisation de cette relation.

Etant donné les objectifs de SIPPOM, plusieurs sorties ont été identifiées comme nécessaires pour comparer l'efficacité des scénarios de lutte testés avec le modèle (Figure 1.2). SIPPOM comporte deux sorties « maladie », la note G_2 , et la perte de rendement associée. Le rendement calculé à l'aide du rendement accessible (module peuplement) diminué de la perte

¹ Cet indice est présenté en détail dans le chapitre 2 et en annexe 1. Il intègre le nombre de plantes présentant différentes notes de sévérité de nécrose, pour en déduire un indice de sévérité de la maladie à la parcelle.

de rendement due au phoma (module infection) est la sortie « agronomique » de SIPPOM. Une sortie « économique » est calculée, et prend en compte de façon simplifiée le coût des pratiques mises en jeu et le prix de vente des cultures (nous appellerons cette sortie marge brute, même si la définition d'une marge brute ne correspond pas exactement à ce calculée par SIPPOM¹). SIPPOM comporte deux sorties « environnementales », l'indice de fréquence de traitement (Champeaux, 2006) pour caractériser la pression de pesticides des stratégies, et le coût énergétique simplifié des stratégies. Enfin, une sortie « génétique » représente la structure des populations pathogènes (taille et fréquences de pathotypes). Les sorties sont calculées chaque année et pour chaque parcelle, et calculées à l'échelle régionale sur l'ensemble des années simulées.

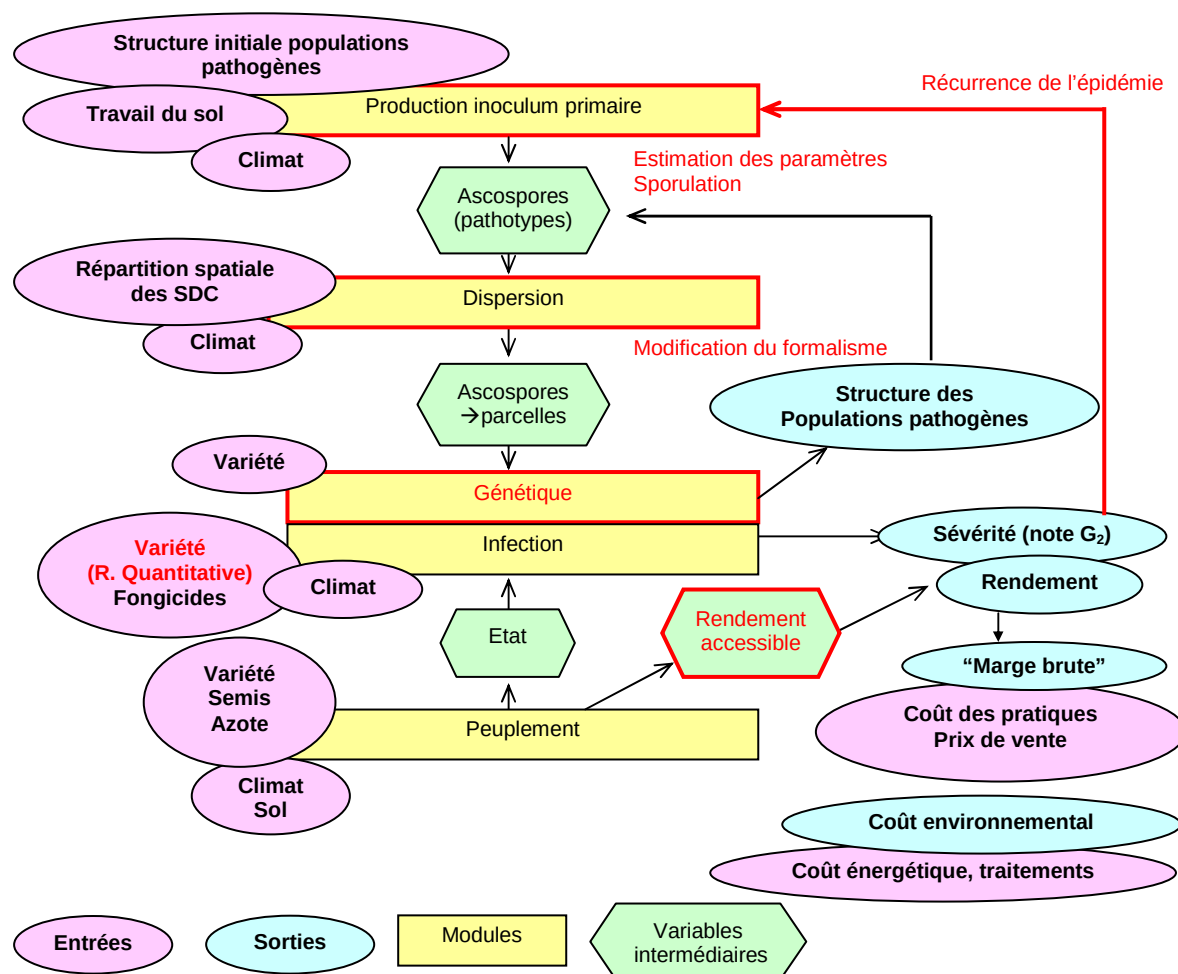
4. Plan de la thèse

La réflexion sur la conception du modèle, sur les modules existants et sur les sorties nécessaires, présentée dans ce premier chapitre, m'a permis d'identifier des manques de connaissance ou une absence de formalismes idoines : récurrence de l'épidémie entre deux années, prise en compte de la résistance quantitative, estimation du rendement accessible de la culture, formalisation des forces évolutives. Le deuxième chapitre de la thèse présente, d'une part, l'expérimentation et les analyses de données qui ont été réalisées pour combler les trois premiers manques, et, d'autre part, la réflexion qui a été menée aboutissant à la formalisation des forces évolutives représentées dans le modèle. Certains modules pré-existants ont été modifiés pour pouvoir être utilisés dans le cadre de SIPPOM. Ces modules, ainsi que les nouveaux modules ou parties de modules créés ont été assemblés et codés sous Mathematica 5.2[®] (Wolfram Research). Le troisième chapitre présente le formalisme de SIPPOM. Les hypothèses de simplification du système sont discutées. Une analyse de sensibilité du modèle a été réalisée pour évaluer la sensibilité du modèle aux variations des paramètres. Cette analyse de sensibilité est également présentée et discutée dans le chapitre 3. Afin de démontrer l'intérêt de SIPPOM, des exemples de simulations de scénarios de lutte sont présentés. Enfin, le dernier chapitre de la thèse est une discussion générale sur l'outil créé (intérêts et limites) et sur la généralité de l'approche.

¹ La marge brute est égale au produit (rendement $\times$ prix de vente) diminué du prix des intrants (semences, fertilisation et traitements). La sortie économique de SIPPOM (Annexe 2) considère que le prix de vente ainsi que le prix des intrants est constant au cours des années de simulation. Seul le prix de la fertilisation azotée est introduit dans le calcul de la sortie économique. Le prix des semences est constant quelque soit la variété semée. Enfin, le coût de mécanisation (travail du sol, récolte épandage) est considéré dans le calcul de la sortie économique de SIPPOM, alors qu'il est normalement pris en compte dans le calcul de la marge semi-nette.

Chapitre 2. Acquisition de connaissances pour compléter les formalismes de SIPPOM, formalisme des forces évolutives

Figure 2.1. Structure de SIPPOM et modules créés, améliorés ou complétés au cours de ce travail de thèse, présentés dans ce chapitre (en rouge)



Chapitre 2. Acquisition de connaissances pour compléter les formalismes de SIPPOM, formalisme des forces évolutives

Comme indiqué dans la problématique, des modèles existants ont été utilisés pour certaines parties de SIPPOM : SimInoc (Schneider, 2005) et SimMat (Aubertot *et al.*, 2006c) ont été utilisés pour simuler la production d'inoculum primaire, le module peuplement est basé sur Azodyn (Jeuffroy *et al.*, 2003), alors que SimCanker (Aubertot *et al.*, 2004c) a été utilisé pour le module infection. Cependant, certaines parties de ces modules nécessitent d'être améliorées ou complétées pour répondre aux objectifs de SIPPOM, alors que d'autres modules, comme le module génétique, ont été créés entièrement (Figure 2.1). La première partie de ce chapitre présente les analyses de données ou expérimentations réalisées pour compléter les formalismes de SIPPOM : récurrence de l'épidémie d'une année à l'autre, estimation du rendement accessible de la culture, prise en compte de l'effet de la résistance quantitative dans le calcul de l'indice de sévérité de la maladie. La deuxième partie présente la réflexion menée sur les forces évolutives représentées dans le module génétique de SIPPOM, qui agissent sur la structure et sur la taille des populations pathogènes.

Les sous-parties de ce chapitre sont de tailles inégales, puisque les deux premières ont fait l'objet de publications et sont donc plus développées et figurent en anglais, précédées d'une traduction en français du résumé.

1. Acquisition de connaissances : expérimentation et analyses de données existantes

1.1. Récurrence de l'épidémie : lien entre la sévérité de la maladie et la quantité potentielle d'inoculum primaire l'année suivante

Quelle que soit la maladie, la quantité d'inoculum produite est vraisemblablement liée à la sévérité de la maladie l'année précédente, même si l'échelle de cette récurrence dépend des échelles de survie et de dispersion propres à chaque agent pathogène. Or, la quantification de cette relation a rarement été réalisée. Dans SIPPOM, le module infection utilisé simule un indice de sévérité de la maladie appelé note G_2 à partir du nombre d'ascospores arrivant sur une parcelle. La note G_2 est une note de sévérité à la parcelle qui intègre des notes de sévérité de la nécrose à l'échelle de la plante (Annexe 1). Cependant, le module infection ne permet pas d'estimer la sévérité de la nécrose à l'échelle de la plante, alors que le module production d'inoculum simule la production d'ascospores par unité de masse de résidus. Il est donc nécessaire de relier un indice de sévérité global à la parcelle à une production d'inoculum à l'échelle du résidu. Au cours de ce travail de thèse, une analyse de données a été conduite pour relier la note G_2 à une distribution de plantes par classe de sévérité de nécrose. Ceci a donné lieu à une publication soumise à European Journal of Plant Pathology en décembre 2007 (1.1.1.). Une expérimentation a été mise en place pour estimer la quantité d'inoculum produite en fonction de la sévérité de nécrose. Une première expérimentation a été conduite en serre afin de se placer en conditions contrôlées, reproductibles. Cependant, cette expérience a échoué car il était difficile de contrôler l'humidité dans la serre, qui n'était pas suffisante pour permettre aux pseudothèces de murir et de produire des ascospores. L'expérimentation a donc été reconduite en conditions naturelles et les résultats ont été acceptés pour publication dans Plant Pathology (1.1.2.).

1.1.1. Le phoma (*Leptosphaeria maculans*/L. *biglobosa*) du colza (*Brassica napus*): la note G_2 est-elle un indicateur représentatif de la répartition des effectifs observés dans les classes de nécrose ?

Phoma stem canker (*Leptosphaeria maculans*/L. *biglobosa*) of oilseed rape (*Brassica napus*): is the G_2 Disease Index a good indicator of the distribution of the observed canker severities?

1.1.1.1. Résumé / Abstract

Résumé. Plusieurs indices de sévérité ont été proposés pour évaluer la sévérité du phoma en fin d'épidémie. L'indice de sévérité couramment utilisé en France (appelé note G_2) est calculé en intégrant dans un même indice la distribution des proportions de plantes observées dans chacune de six classes de nécrose. Cet indice utilise des coefficients arbitrairement fixés¹ pour pondérer les classes de nécrose. Une valeur donnée de l'indice de sévérité peut donc en

¹ Une étude avait tout de même été réalisée par le CETIOM pour le choix de ces coefficients, de façon à ce que la relation entre l'indice de sévérité et la perte de rendement soit la meilleure possible.

théorie être obtenue à partir de plusieurs distributions d'effectifs dans les classes de nécrose. Par conséquent, il est important d'évaluer dans quelle mesure la note G_2 est représentative de la distribution des plantes dans les classes de sévérité de nécrose. En utilisant un jeu de données portant sur plusieurs années, plusieurs sites et plusieurs variétés, nous avons montré que la note G_2 est un bon indicateur de la distribution des plantes dans les classes de sévérité de nécrose. Ceci souligne la robustesse de la note G_2 .

Abstract. Several disease indexes (DI) have been proposed to assess the severity of phoma stem canker at late growth stages. The DI commonly used in France (called G_2 DI) consists in integrating the distribution of the proportions of plants observed within 6 canker severity classes into a single index. This index uses arbitrarily chosen coefficients associated to each class of canker severity. A given value of this DI can therefore be obtained with different distributions within the canker severity classes. Consequently, it is important to assess to which extent the G_2 DI is representative of the distribution of plants in canker severity classes. We showed in this study that the G_2 DI is a good indicator of the distribution of the observed canker severities, using a dataset from different years, sites and cultivars. This enlightens the robustness of the G_2 DI.

1.1.1.2. Key words

Blackleg, canola, disease index, distribution, phytopathometry

1.1.1.3. Introduction

Phoma stem canker, caused by the species complex *Leptosphaeria maculans*/L. *biglobosa*, is one of the most important diseases of oilseed rape (*Brassica napus*). This disease has a major economic impact, with non-negligible yield losses (West *et al.*, 2001). Leaf spots appear on leaves after infections by ascospores, the primary inoculum. Secondary infections can occur on adjacent plants through rain-dispersed conidia. There is a systemic progression of the fungus from leaves to the base of the stem where the second symptom, the canker (or necrosis), appears. When plants are infected before the 6-leaf stage, cankers can be responsible for high yield losses, as it hinders mineral and water nutrition of the plant (Brunin and Lacoste, 1970). Several methods can be used to control the disease, such as use of resistant cultivars, adaptation of cultural practices (particularly tillage that limits the quantity of primary inoculum by burying stubble) and fungicide treatments (Aubertot *et al.*, 2006a). As the disease can generate high yield loss, it is important to be able to assess the severity of the disease at various growth stages. To advise chemical treatments, early assessment of leaf spotting is necessary, whereas yield losses prediction, cultivar resistance evaluation, or field diagnoses (Doré *et al.*, 1997) require late assessment of canker severity. The canker severity assessment also allows a better understanding of the epidemic cycle, the development of the disease, and the associated crop losses.

Several proposals have been made in the literature to assess the severity of phoma stem canker at late growth stages. McGee (1973) proposed to sample plants at flowering or at harvest in 20 equally spaced spots (30 cm diameter) in a diagonal line across the field and to

Figure 2.2. Echelle de sévérité des nécroses, évaluée sur une section transversale du collet de la plante : les classes sont définies en fonction de la proportion de la surface de la section transversale (section au niveau du collet) nécrosée.

						
Classe	1	2	3	4	5	6
Nécrose	0	]0-25%]	]25-50%]	]50-75%]	]75-100%]	100% tige rompue

sort the plants in 3 classes: healthy plants, and slightly or severely stem base cankered plants. Unfortunately, he did not provide any details on where on the stem and how the severity of cankers was assessed (section of the stem or external assessment). A disease index (DI) was calculated at flowering as the percentage of cankered plants of a given field, or at harvest as the percentage of severely cankered plants. Van den Berg *et al.* (1993) compared different assessment of severity and showed that rating the area of diseased tissue at the base of the stem was the most reliable. Rempel and Hall (1996) proposed to assess disease severity on 100 plants picked randomly in the field by cutting them at the base of the stem and by sorting cankers in 5 classes (0 to 4) of necrosis severity according to the area of the cross section that is discoloured by the disease (0%, 1-25%, 26-50%, 51-75% and 76-100%). The DI is calculated as follows:

$$DI = \frac{\sum_{i=0}^4 i * n_i}{4 * \sum_{i=0}^4 n_i} * 100$$

Where n_i is the number of plants in class of severity of necrosis i . Values of this DI range from 0% to 100%. These authors advised to assess the necrosis severity at the end of flowering (growth stage 4.4: flowering complete, seeds enlarging at lower pods; Harper and Berkenkamp, 1975).

The most commonly used Disease Index in France, called G₂ DI, is based on a classification of plants in 6 classes of necrosis severity¹, from healthy plants to lodged plants. This classification was first proposed by Pierre and Regnault (1982) who recommended to assess the severity of necrosis one month before harvest. Based on this, Aubertot *et al.* (2004b) conducted a methodological study on the assessment of stem canker disease severity (definition of the sample size as a function of the precision required on the G₂ DI, comparison of several methods to assess necrosis severity, among and within rater repeatability of the assessment, analysis of spatial structure of the disease within fields). At crop maturity (growth stage 5.3-5.5: seeds green-brown to brown in the lowest pods; Harper and Berkenkamp, 1975), necrosis severity is assessed on the section of the stem at crown level (shown to be the most precise method between those compared by Aubertot *et al.*, 2004b). Classes are: 1, healthy plants, no visible lesion; 2, canker weakly developed (less than 25% of necrosed section); 3, canker developed on less than half of the crown section but more than 25%; 4, canker developed on more than half of the crown section but less than 75% of the crown section; 5, canker almost developed on the whole crown section (more than 75% of necrosed section) and 6, section without any living tissue, plant lodged or broken at the crown level during sampling (Aubertot *et al.*, 2004b).

¹ La figure 2.2 ainsi que l'annexe 1 présentent les classes de sévérité de nécrose

Table 2.1. Number of assessed plots (40 plants per plot) given the year and cultivar

Cultivar	Year				
	2002	2003	2004	2005	2006
Columbus	8	4	4	8	12
Eurol	8	4	4	8	12
Falcon	8	4	4	8	12
Goeland	8	4	4	8	12
Jet9	8	4	4	8	12
Vivol	8	4	4	8	12
Aviso	4	4	4	8	8
Roxet	-	-	-	8	8
Nectar	-	-	-	-	4
Libri	-	-	-	-	4
Kadore	-	-	-	-	4
Hydromel	-	-	-	-	4
Hybristar	-	-	-	-	4
Barrel	-	-	-	-	4

Table 2.2. Number of distributions recorded in each DI interval

DI interval	DI value	Nb of distributions
1	$0 < G_2 \leq 1$	20
2	$1 < G_2 \leq 2$	27
3	$2 < G_2 \leq 3$	72
4	$3 < G_2 \leq 4$	63
5	$4 < G_2 \leq 5$	42
6	$5 < G_2 \leq 6$	26
7	$6 < G_2 \leq 7$	18
8	$7 < G_2 \leq 8$	10
9	$8 < G_2 \leq 9$	6

The disease index derived from Pierre and Regnault (1982) is calculated as follows:

$$DI = \frac{\sum_{i=2}^6 [2(i-2)+1]n_i}{\sum_{i=1}^6 n_i}$$

Where n_i is the number of plants in class of severity of necrosis i . The G_2 DI ranges between 0 (healthy plants) to 9 (all plants totally cankered). This index is strongly correlated with yield losses (Aubertot *et al.*, 2004c). However, a single value of the DI can be obtained with various distributions of symptoms. The aim of this study was to test the robustness of this disease index, and particularly to see if close G_2 DI values emerged from close repartitions of plants in the necrosis severity classes or if data collected in fields presenting totally different plant partitioning in the necrosis severity classes could lead to close DI values.

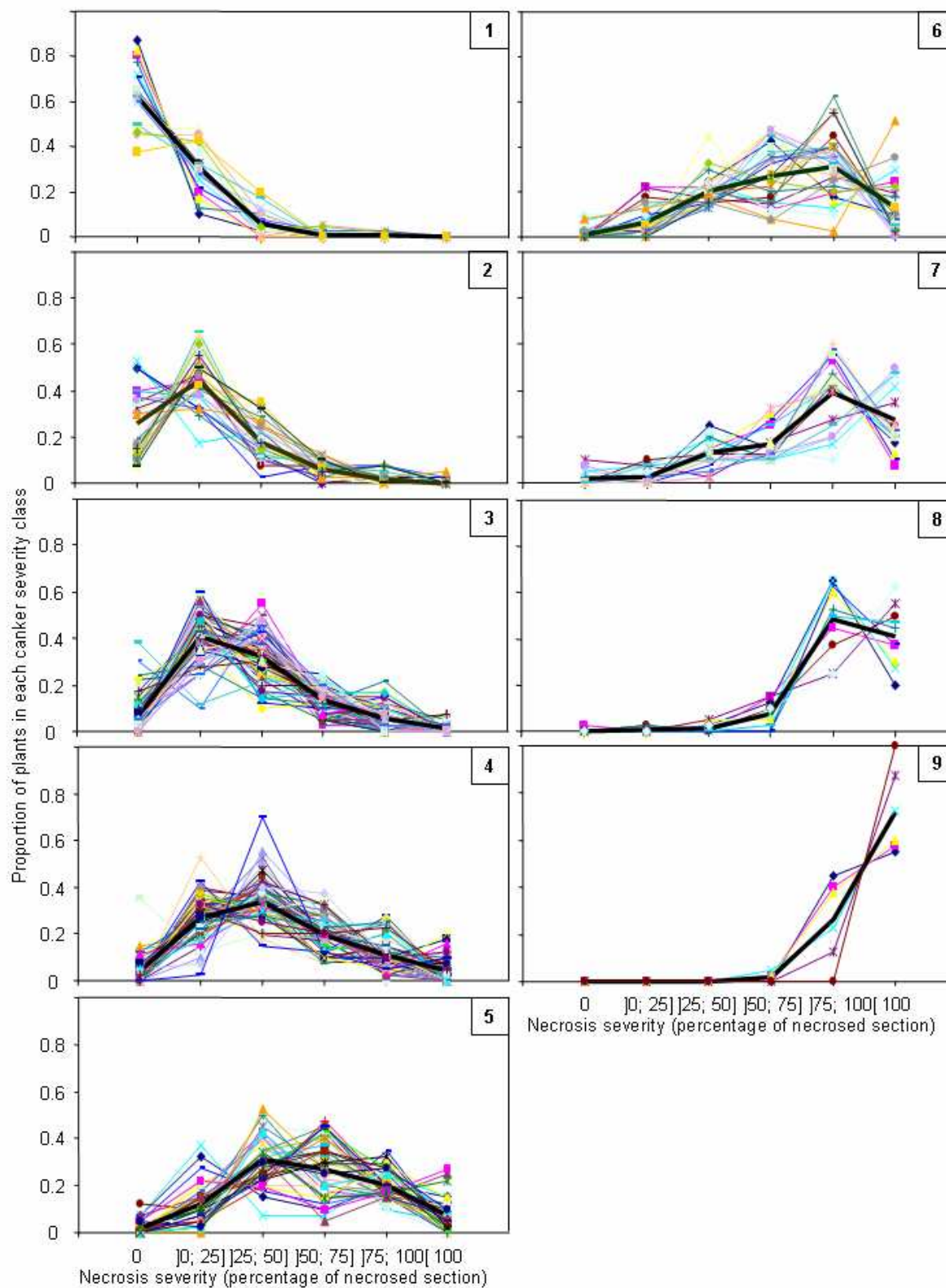
1.1.1.4. Materials and methods

Forty plants per plots in 284 plots in the experimental sites of Grignon (48.9°N, 1.9°E, 130 m elevation, Ile-de-France), and Saint Florent sur Cher (46.0°N, 2.0°E, 117 m elevation, Cher), were assessed for the severity of the necrosis at crop maturity (as described above), between years 2002 and 2006. Fourteen cultivars were represented (Table 2.1). The number of assessed fields for each year and cultivar was between 4 and 12 (Table 2.1). The G_2 DI was calculated for each field, and 9 DI-intervals were defined according to the value of the calculated DI (Table 2.2). We call “distribution” the proportions of plants in each class of severity (classes 1 to 6) leading to a given value of DI. The correspondence between the various distributions and the DI values is given in Table 2.2.

In order to test if the G_2 Disease Index was a good indicator of the distribution of the observed canker severities, we compared, for each interval, each distribution with an average distribution for the considered interval. In order to avoid artificial correlation between the two compared distributions, the average distribution was calculated using all distributions of a given DI-interval, except the one that was tested. This procedure was similar to cross-validation, as described by Wallach *et al.* (2006). The tested distributions were compared with the corresponding average distributions, using the non parametric Kolmogorov-Smirnov test (procedure NPAR1WAY, SAS®). With the Kolmogorov-Smirnov test, the hypothesis tested is H_0 : the distributions are significantly different. By calculating the average distribution independently from the tested distribution, the independence of the two compared distributions in a Kolmogorov-Smirnov test was respected.

Mean distributions have then been calculated with all distributions of each DI-interval and have been compared between DI-intervals using the same statistical test.

Figure 2.3. Distributions and mean distribution (thick black line) for the different DI-intervals: the distributions represent the proportion of plants (among the 40 noted plants per plot) in each canker severity class



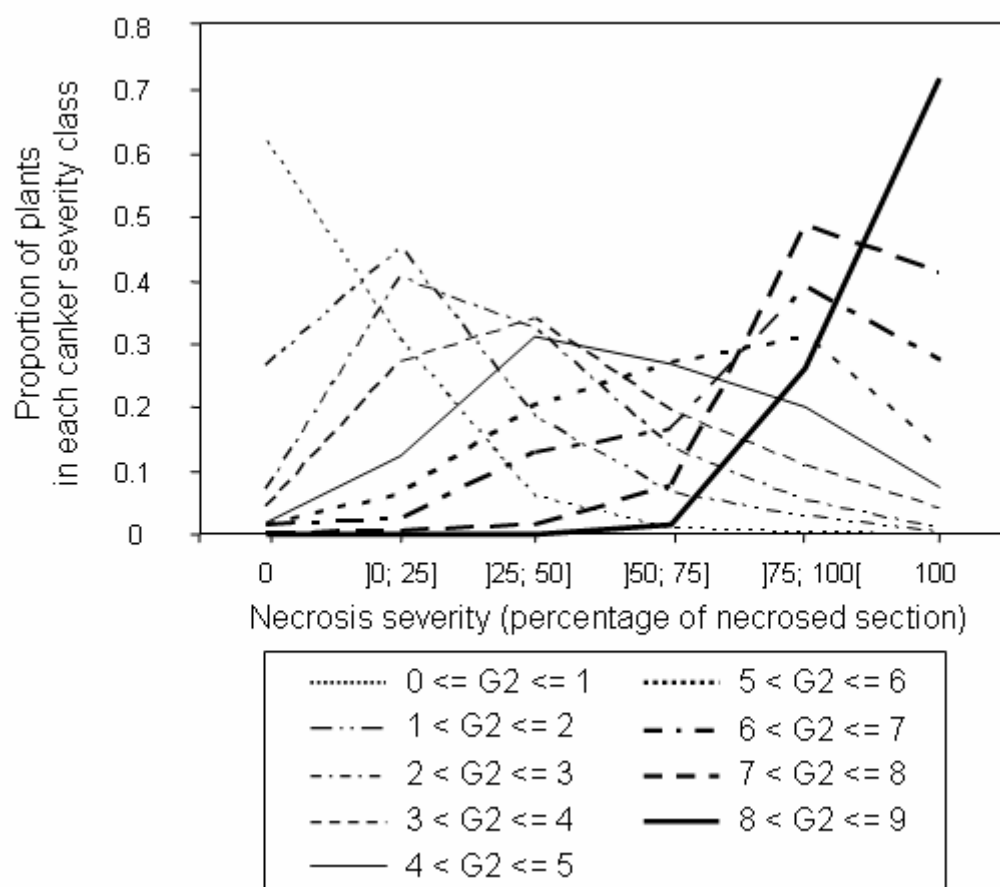
1.1.1.5. Results

The number of distributions in each DI-interval, all years and cultivars confounded, was between 6 (interval 9) and 72 (interval 3) distributions (Table 2.2). The distributions and the mean distributions (represented here as proportions of plants in each necrosis severity classes) for each DI interval are shown in Figure 2.3.

With a threshold of $P = 0.05$, only two distributions were significantly different from the corresponding average distribution in DI-intervals 6 and 9 (26 and 6 considered distributions, Table 2). Other distributions in these DI-intervals, and all distributions in other DI-intervals were not significantly different from the associated average distributions. With $P = 0.10$, one distribution in DI-intervals 1, 2, 3 and 5 (20, 27, 72 and 42 considered distributions, Table 2) and 3 distributions in DI-interval 4 (63 considered distributions) were significantly different from the average distribution (in addition to previous distributions for $P = 0.05$).

Mean distributions, calculated with all distributions (Figure 2.4), were significantly different between DI-intervals, except for distributions from two successive DI-intervals: the mean distribution of the DI-interval 2 was not significantly different of the mean distribution of the DI-intervals 1 and 3 but significantly different of all the other mean distributions, the mean distribution of the DI-interval 3 was not significantly different of the mean distribution of the DI-intervals 2 and 4 but significantly different of the other mean distributions, and so on. This indicates that each calculated mean distribution was representative of the considered DI-interval and that the definition and number of DI-intervals was appropriate.

Figure 2.4. Mean distribution for the different DI-intervals: the distribution represent the average of the proportion of plants in each class of canker severity.



1.1.1.6. Discussion

As will all DI, the same value of G_2 DI can be obtained with different distributions of plants in canker severity classes. For instance, Aubertot *et al.* (2004b) presented two different hypothetic distributions leading to the same value of G_2 DI ($G_2 = 4.5$, distribution 1: 3 % of plants noted 1, 7 % of plants noted 2, 15 % of plants noted 3, 67 % of plants noted 4, 5 % of plants noted 5, 3 % of plants noted 6, distribution 2: 2 % of plants noted 1, 27 % of plants noted 2, 13 % of plants noted 3, 28 % of plants noted 4, 15 % of plants noted 5, 15 % of plants noted 6). However, we showed that in field conditions, a given G_2 DI range is always obtained with similar distributions of canker severities. Very few distributions appeared different from the average distribution independently calculated, even in intervals 8 and 9, where the number of distributions was low (respectively 10 and 6 distributions) to establish the average distribution. It would be interesting to confirm the results found for average distributions with additional data, particularly for highest intervals (8 and 9).

The G_2 disease index, commonly used in France, is quite easy to calculate, and well correlated with yield losses. We showed that it is a fairly good indicator of observed distribution of canker severities. This enlightens the robustness of the G_2 DI. Associated with experimental results that describe the relationship between necrosis severity and quantity of primary inoculum produced (Lô-Pelzer *et al.*, 2008a), these results will be directly used in the model SIPPOM-colza, a simulator for integrated pathogen population management (Lô-Pelzer *et al.*, 2007), to predict the potential quantity of primary inoculum from the DI value of the previous year.

1.1.1.7. Acknowledgments

The authors are grateful to GEVES and CETIOM for providing the data. This work is part of a Ph.D. project co-funded by INRA and CETIOM.

1.1.2. Relation entre la sévérité de la nécrose au collet (causé par le complexe d'espèces *Leptosphaeria maculans*/L. *biglobosa*) et la production d'inoculum sur les résidus de culture de colza.

Relationship between the severity of blackleg (*Leptosphaeria maculans*/L. *biglobosa* species complex) and subsequent primary inoculum production on oilseed rape stubble

1.1.2.1. Résumé / Abstract

Résumé. Pour gérer le phoma du colza, il est nécessaire de mieux comprendre l'enchaînement pluriannuel des épidémies. Cependant, la relation entre la sévérité de la maladie et la production d'inoculum primaire au début de la saison culturale suivante est méconnue, quel que soit le pathosystème considéré. Les objectifs de notre étude étaient i) de quantifier cette relation pour le phoma du colza, ii) d'analyser les effets de la sévérité de la nécrose sur la dynamique de maturation des pseudothèces, et iii) de mener une analyse méthodologique de la procédure utilisée pour dénombrer les pseudothèces. La sévérité de la nécrose a été notée. Après incubation sur deux sites, le nombre de pseudothèces par unité de surface de résidu a été compté sous loupe binoculaire, et le nombre d'ascospores par pseudothèce a été estimé. La production potentielle d'inoculum primaire augmente avec la sévérité de la nécrose (en moyenne six fois plus de pseudothèces sur les résidus les plus nécrosés que sur les résidus les moins nécrosés). Cette relation est stable pour les deux variétés, les trois années, les deux sites de prélèvement et les deux sites d'incubation étudiés. L'analyse de variance indique un effet significatif ($P < 0.0001$) de la sévérité de nécrose, du site d'incubation, du site de prélèvement et de l'année sur la quantité d'inoculum potentielle. La maturation des pseudothèces est six fois plus rapide sur les résidus les plus nécrosés que sur les résidus les moins nécrosés. La procédure de quantification des pseudothèces a été évaluée et une méthode alternative rapide et plus simple est proposée. Nos résultats sont les premiers à rendre possible la prédiction de la production potentielle d'inoculum primaire.

Abstract. To manage blackleg, also known as phoma stem canker, a better understanding of the development of epidemics on a pluriannual basis is necessary. However, the relationship between the severity of the disease and the primary inoculum production the following year is poorly understood, no matter the fungal pathogen. The aims of the study were i) to quantify this relationship for blackleg, ii) to analyse the effect of the severity of canker on the dynamics of pseudothecial maturation, and iii) to conduct a methodological analysis of the procedure used to quantify pseudothecia. The canker severity of stubble was assessed. After incubation at two sites, the number of pseudothecia per unit area of stubble was counted with a binocular microscope, and the number of ascospores per pseudothecium was evaluated. The quantity of primary inoculum increased with the severity of the canker (on average six times more pseudothecia on stubble with more severe cankers than on stubble with less severe cankers). The relationship was stable whatever the cultivar, the year and site of collection, and the site of incubation. The variance analysis showed a significant effect ($P < 0.0001$) of the canker severity, the incubation site as well as the sampling site and year on the quantity of inoculum. The maturation of pseudothecia was six times faster on stubble with more severe

cankers. The procedure for pseudothecial quantification was assessed and a simpler and faster alternative procedure was proposed. Both procedures were accurate. Results make it possible to forecast the quantity of available primary inoculum.

1.1.2.2. Key words

Phoma stem canker, canola, stem necrosis severity, pseudothecial maturation

1.1.2.3. Introduction

Blackleg (also known as phoma stem canker) caused by the species complex *Leptosphaeria maculans*/*L. biglobosa*, is one of the most economically damaging diseases of Brassicas world-wide (Fitt *et al.*, 2006). In France, the mean national yield loss ranges from 5 to 20% (Aubertot *et al.*, 2004a), but individual farmers can suffer up to 100% yield loss. Understanding the epidemic cycle, particularly the initiation of infection, may help manage the disease (Hall, 1992; Schneider *et al.*, 2006).

Ascospores, the most common primary inoculum (Brunin and Lacoste, 1970), are released from pseudothecia (ascocarps) developing on infected stubble left in fields after harvest (Hall, 1992; West *et al.*, 2001). They are wind-dispersed, and can land on seedlings or young plants. The first symptom, leaf spots, appear after the germination and penetration of spores *via* wounds or stomata. Yield loss is higher if plants are infected before the 6-leaf stage (Brunin and Lacoste 1970; McGee and Petrie, 1979). Conidia developing on leaf spots are dispersed by rain on adjacent plants, causing a secondary infection. The effect of secondary infections on disease severity is not well known (Li *et al.*, 2006). Nevertheless, the disease is taken to be monocyclic in Australia, Canada and Europe (Salam *et al.*, 2007). The systemic progression of the fungus from leaves to the base of the stem leads to the second symptom, basal stem canker, hereafter referred to as canker. This symptom is responsible for yield loss, as it hinders the mineral and hydric nutrition of the plant (Hall, 1992; West *et al.*, 2001; Marcroft *et al.*, 2003).

Weather, particularly rain, temperature and wind, has a major impact on the disease at all stages of the epidemic cycle: maturation of pseudothecia, liberation and dispersion of ascospores, infection and development of stem canker (Peres *et al.*, 1999; West *et al.*, 2001; Salam *et al.*, 2003; Aubertot *et al.*, 2006c). Several practices, such as stubble management, choice of sowing date, use of cultivars with specific and/or partial resistances or chemical treatments, can be used to control the disease (Hall, 1992; Aubertot *et al.*, 2006a). However, one of the main factors that affect the severity of the primary infections is the timing and quantity of primary inoculum released in the fields of a region at the end of summer, when oilseed rape fields are sown (Marcroft *et al.*, 2003). In the literature, practices aimed at limiting the quantity of primary inoculum in a field or in adjacent fields (*e.g.*, interaction between tillage and the crop sequence) have already been described for several diseases (Palti, 1981). It is sometimes assumed that this quantity should also depend on the severity of the disease in the preceding year. However, such relationships have seldom been studied. For soil-borne diseases, authors have mainly studied the effect of previous crop on primary

inoculum in a given field and have shown that if the previous and the current crop are the same, the risk is high, since the quantity of primary inoculum is high (eg. Colbach *et al.*, 1994). This does not imply a quantitative description of the relationship between the severity of a disease on the same crop the previous year and the quantity of primary inoculum. In the case of airborne diseases, disease severity in adjacent fields affects the quantity of primary inoculum that will infect a given field. This relationship has rarely been investigated, most likely because primary inoculum is often a non-limiting factor for epidemics of diseases with long-distance dispersal.

In the case of blackleg, Petrie (1995) showed that the quantity of primary inoculum on stubble was higher when the canker on the plant was more severe. This trend was established only for 2 canker severity classes. McGee (1977) collected stubble in fields graded for disease severity according to 4 groups, and showed that the quantity of primary inoculum produced was higher in fields with a higher disease severity assessment. Investigating the relationship at the plant level rather than at the field level might be a way to better understand the disease. Moreover, resistance might affect both quantity and timing of primary inoculum released. This has been shown for cultivars with specific resistance (Marcroft *et al.*, 2004b), but an effect of quantitative resistance on the production of ascospores has not yet been detected (Poisson and Peres, 1999a; Marcroft *et al.*, 2004b). However, quantitative resistance could alter the sexual reproduction of the *L. maculans/L. biglobosa* species complex through different biochemical and/or biophysical properties of the infected tissues. It therefore appears necessary to also analyse the potential effect of quantitative resistances on primary inoculum production.

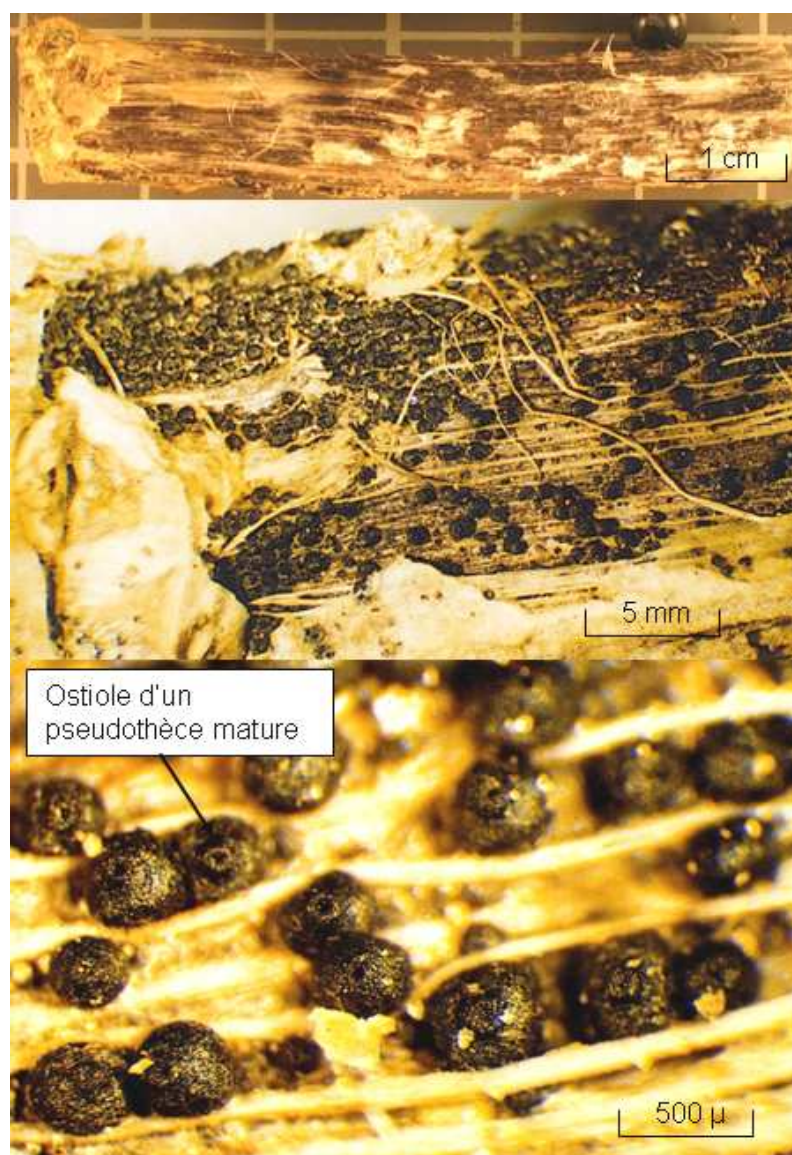
The main aim of this study was to reveal a relationship between canker severity and subsequent production of primary inoculum of the *L. maculans/L. biglobosa* species complex. The stability of this relationship was assessed for two cultivars with contrasting quantitative resistance levels, two kinds of weather conditions during incubation, and for stubble collected over three successive years at two locations. As Gladders and Musa (1980) or Petrie (1995) showed a positive relationship between canker severity and maturation rate, the effect of canker severity and of cultivar on the kinetics of maturation of pseudothecia was also analysed under two kinds of incubation conditions. The procedure for quantification was time consuming, thus it was compared with a simpler one in terms of accuracy and convenience.

1.1.2.4. Materials and methods

1.1.2.4.1 Stubble collection

Oilseed rape stubble was collected 2-3 weeks prior to harvest in fields at two INRA-CETIOM Experimental Units, Le Rheu (48.1°N, 1.5°W, 30 m elevation), Brittany, and Grignon (48.9°N, 1.9°E, 130 m elevation), Ile-de-France, where winter oilseed rape is frequently grown. Residues were collected over three years (2004, 2005 and 2006) and for two cultivars, Eurol, susceptible (Cargill semences, 1991), and Darmor, with a good level of quantitative resistance (INRA-Serasem, 1984): Darmor does not have an efficient specific resistance gene but the severity of canker is significantly reduced in fields of this cultivar (Pilet *et al.*, 1998). They were graded for canker severity: the base of the stem was cross-sectioned at the crown

Figure 2.5. Observation des résidus incubés (source : Lô-Pelzer, CETIOM)



level and the fraction of necrotic area was evaluated. A grade was given according to the percentage of necrotic cross-section: Class 1 for 0%, Class 2 for 1-25%, Class 3 for 26-50%, Class 4 for 51-75%, Class 5 for 76-99%, and Class 6 for 100% necrotic section¹ (Aubertot *et al.*, 2004b). All the samples of stubble were dried and then stored at room temperature (18-22 °C) until use.

1.1.2.4.2 Incubation

An experimental unit consisted of four residues, ca. 5 cm long, above the crown section, characterised by a sampling site, a sampling year, a cultivar and one of the six classes of canker severity. Three replicates of each treatment were incubated at two locations, Le Rheu and Grignon, during the same period of July-October 2006, in order to have two different weather scenarios. Stubble was prepared for incubation on July 27th, 2006 in Le Rheu and on July 28th, 2006 in Grignon, 1-2 weeks after harvest. It was placed horizontally in plastic trays filled with a sandy loam soil. Temperature, total rainfall and relative humidity were measured hourly over the whole period. In order to compare the two incubation sites, the number of favourable days until maturation was calculated for each incubation site: a day was considered to be favourable if the mean temperature was between 2 and 20°C and if the cumulative rainfall 11 days beforehand (including the day in question) exceeded 4 mm (Aubertot *et al.*, 2006c). Given these parameter values, 64 favourable days are required for 50% of pseudothecia to reach maturation.

1.1.2.4.3 Dynamics of pseudothecial maturation

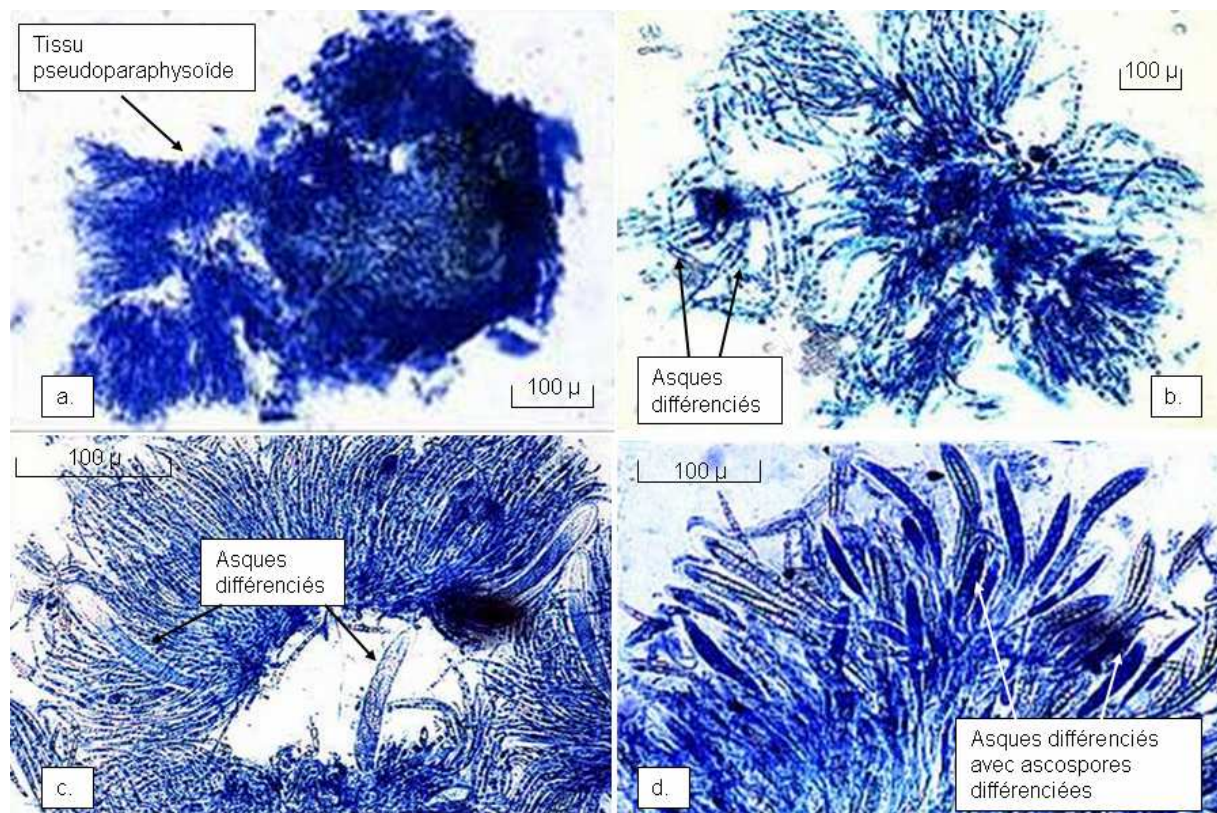
As soon as pseudothecia were observed on stubble², the stubble collected in Le Rheu in 2006 was sampled weekly to assess the maturation stage of it. Since the aim of the experiment was to analyse the effect of canker severity and cultivar on pseudothecial maturation, only stubble collected in one year and location was examined. Five pseudothecia per residue (20 per treatment) were sampled, observed under a microscope and classified as mature or immature pseudothecia³. Mature pseudothecia presented differentiated asci with 8 differentiated ascospores, or were empty. Immature pseudothecia could present undifferentiated asci or differentiated asci but undifferentiated ascospores (Bernard *et al.*, 1999; Toscano-Underwood *et al.*, 2003; Khangura *et al.*, 2007). Incubation was stopped when at least 50% of observed pseudothecia were mature in all treatments in Le Rheu, and progressively in Grignon, depending on the maturation observed in both cultivars for different canker severities. Stubble was photographed and then stored at room temperature (18-22°C) until the quantification of inoculum.

¹ Les classes de sévérité de nécrose sont présentées dans la figure 2.2 et l'annexe 1

² Des photos de résidus présentant des pseudothèces sont présentées dans la figure 2.5 et l'annexe 1

³ Des photos des classes de maturations des pseudothèces sont présentées dans la figure 2.6 et l'annexe 1

Figure 2.6. Observation au microscope de pseudothèces de *Leptosphaeria maculans*/ *L. biglobosa* a. en classe A de maturation, b. en classe B de maturation, c. en classe C de maturation et d. en classe D de maturation (source : CETIOM)



1.1.2.4.4 Primary inoculum quantification

Stubble was examined by three different observers, one per replicate, under a binocular microscope ($\times 1.6$). Pseudothecia on the lateral surface of each residue were counted. The length, diameter and mass of residues were measured. The lateral surface area of each residue was calculated, assuming that they were cylindrical. A significant fraction of the stubble was hollow, and this was recorded.

The number of ascospores per pseudothecium was estimated. A first estimation was made by calculating the minimal and maximal volumes of pseudothecia and asci (CMI descriptions of pathogenic fungi and bacteria n° 331: pseudothecia, 300-500 μ diam., asci 80-125 μ * 15-22 μ). A pseudothecium was taken to be a sphere, whereas an ascus was taken to be a spheroid. Another method was used to estimate the number of ascospores: fifty pseudothecia were sampled on the stubble collected in Le Rheu in 2006 for each incubation site, cultivar and canker severity (the fact that there were no differences between years and sampling locations was assumed). They were placed in Eppendorf tubes containing 200 μ l of 0.1% bleach to prevent ascospore germination. Tubes were vortexed and spores were counted with a haemocytometer.

1.1.2.4.5 Assessment of the quantification method

Pseudothecia of *L. maculans*/*L. biglobosa* are sometimes difficult to identify, as they can be confused with pycnidia of *L. maculans*/*L. biglobosa* or pseudothecia of other fungi. Hence a specific test to confirm the quantification was performed. Three quantification classes, corresponding to third fractiles, were defined according to the number of pseudothecia counted per residue: < 40 , 40-200, and > 200 . Fructifications counted as pseudothecia and fructifications not counted but resembling pseudothecia were sampled by the same three observers on three residues per replicate, incubation site and quantification class. Fructifications were observed with a microscope and the proportions of real pseudothecia among counted and uncounted fructifications were calculated.

In order to confirm the results, the number of pseudothecia per residue was evaluated for stubble collected in 6 fields chosen randomly in Brittany (western France) and for stubble collected in 7 fields in central France (5 cultivars). Residues collected in Brittany were cut 5 cm above the sectioned crown, whereas only the part below the crown (5 cm) was taken for stubble collected in central France (this was a way to assess the production of pseudothecia on the root fraction of the stubble). This stubble was collected in farmers' fields, whereas the residues considered before had been collected in experimental plots, which had partly been inoculated with infected stubble.

1.1.2.4.6 Proposal for a simpler method to quantify pseudothecia

The quantification procedure was time consuming because pseudothecia had to be counted using a binocular microscope. A simpler method was therefore tested, involving the assessment of the total area of residue occupied by pseudothecia. The aim of this test was to quantify the correlation between counts under the binocular microscope and a simpler variable (the total area occupied by pseudothecia). If the correlation between these 2 variables was good enough, this method could successfully be used in cases where numerous and/or fast results are needed. The two faces of individual residues were photographed. The photographs were printed and the areas occupied by pseudothecia were delimited. The real area occupied by pseudothecia was then calculated for 10 residues per quantification class (as defined above), replicate and incubation site. This was based on the multiplication of the relative area occupied by pseudothecia, calculated with the ImageJ[®] software, by the lateral area of each residue. The correlation between this variable (the total area occupied by pseudothecia) and the number of counted pseudothecia was analysed.

1.1.2.4.7 Statistical analyses

Statistical analyses were carried out using procedures from SAS[®] V8 for Windows (SAS Institute Inc., 1999).

In order to study the dynamics of pseudothecial maturation, the proportion of mature pseudothecia was calculated for each treatment, incubation site and observation date. To consider the two incubation sites together, observation dates with the same number of favourable days to maturation from the beginning of incubation at both locations were selected. A day was considered favourable if the mean temperature was between 2 and 20°C and if the cumulative rainfall 11 days up to and including that day exceeded 4 mm (Aubertot *et al.*, 2006c)

The slopes of the linear regression of the proportions compared to observation date were calculated and the effects of the canker severity and the cultivar on the slopes were analysed with an ANOVA (proc GLM, SAS[®]).

The number of pseudothecia on one square centimetre of stubble was used to analyse the primary inoculum quantification. Pseudothecia numbers were log-transformed to achieve normality and stabilise variance. Data were then analysed with the ANOVA (proc GLM, SAS[®]). The model tested was written as follows:

$$\text{Ln}(NbPseudothecia \text{ over } 1 \text{ cm}^2 + 1) =$$

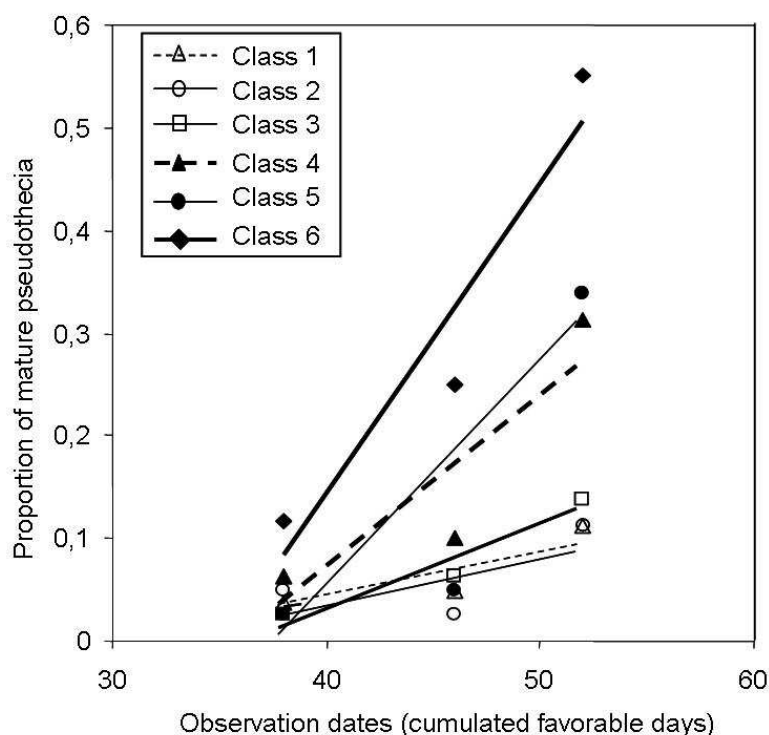
$$Necrosis_i + Var_j + IncubSite_k + Year_l + Site_m + Hollow_n + IncubSite * Repetition_{kp} + Int + error \quad (1)$$

where Necrosis is the canker severity (i=1-6, notation described above, considered as a qualitative variable), Var is the cultivar (j=1,2 for Eurol and Darmor respectively), IncubSite is the incubation site (k=1, 2 for Le Rheu and Grignon respectively), Year is the year of sampling (l=1, 2, 3 for 2004, 2005 and 2006 respectively), Site is the sampling site (m=1, 2 for Le Rheu and Grignon, respectively), Hollow is the state of each stubble (n=1, 2 for hollow or not) and replicate*IncubSite is the effect of replicate (p=1, 2, 3 replicates in each

Table 2.3. Duration (number of days and favourable days) of incubation of winter oilseed rape stubble in both incubation sites. A day was considered as favourable if the mean temperature was between 2 and 20°C and if the cumulative rainfall 11 days up to and including that day exceeded 4 mm (Aubertot *et al.*, 2006c)

Incubation site	Treatment	Number of days	Number of favourable days
Le Rheu	All	75	58
Grignon	Eurol and Darmor, Canker severity 6	63	53
	Darmor, Canker severity 4	65	54
	Eurol and Darmor, Canker severity 5	66	55
	Eurol and Darmor, Canker severity 2	70	59
	Darmor, Canker severity 1	72	61
	Eurol, Canker severity 4	75	64
	Eurol, Canker severity 1		
	Eurol and Darmor, Canker severity 3		

Figure 2.7. Proportion of mature *L. maculans* pseudothecia observed at 3 dates (number of favourable days to maturation since the beginning of the incubation), depending on the severity of canker observed on winter oilseed rape stubble. A day was considered as favourable if the mean temperature was between 2 and 20°C and if the cumulative rainfall 11 days up to and including that day exceeded 4 mm (Aubertot *et al.*, 2006c)



incubation site). All second order interactions (Int) between factors were tested. Mean comparisons based on LSMEANS procedure were carried out for significant single factors.

Concerning the pseudothecial quantification on stubble from farmers' fields, the number of pseudothecia on 1 square centimetre of stubble was also calculated. This variable was log-transformed to achieve normality. Data were also analysed by ANOVA (proc GLM, SAS[®]) for each location, with the following model:

$$\text{Ln}(\text{NbPseudothecia over } 1 \text{ cm}^2 + 1) = \text{Necrosis}_i + \text{Field}_j + \text{Necrosis}_i * \text{Field}_j + \text{error} \quad (2)$$

where Necrosis is the canker severity ($i=1-6$, notation described above), Field is the field where stubble has been collected ($j=1-6$ for residues collected in Brittany and $j=1-7$ for residues collected in Central France).

A linear regression (proc REG, SAS[®]) was fitted to analyse the relationship between counted pseudothecia and the measurement of the total area occupied by pseudothecia.

1.1.2.5. Results

1.1.2.5.1 Incubation

Incubation was stopped when at least 50% of observed pseudothecia were mature. The incubation was stopped for all treatments at the same time in Le Rheu, and according to the observed maturation for canker severities and cultivars in Grignon (Table 2.3). Average temperature was 14.8°C in Le Rheu and 16.9°C in Grignon. Average relative humidity was 78.2% in Le Rheu and 77.2% in Grignon and total rainfall was 155 mm in Le Rheu and 134 mm in Grignon.

1.1.2.5.2 Dynamics of pseudothecial maturation

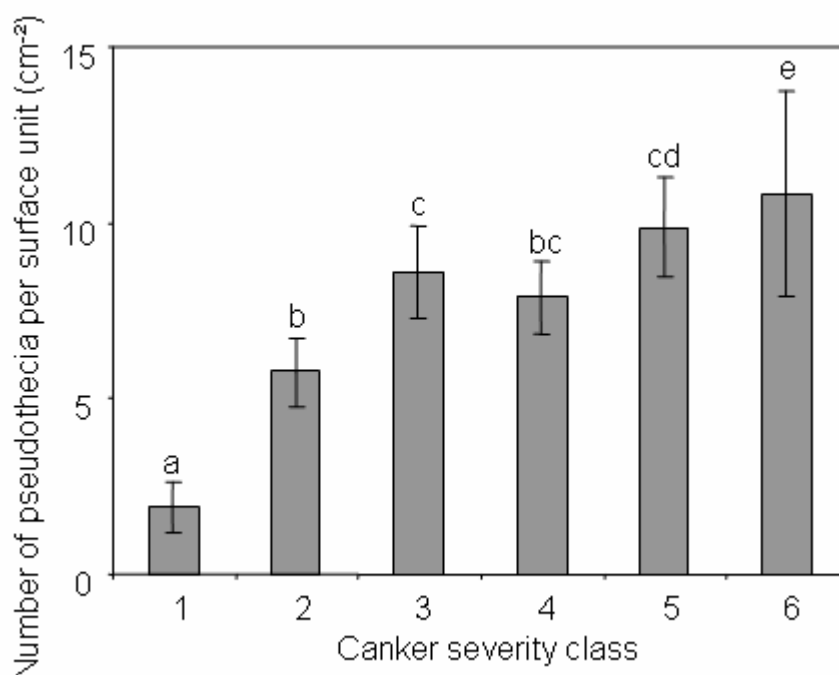
Determination coefficients of the linear relationship between the proportions of matured pseudothecia and observation date were calculated for each treatment observed for maturation, and 70% of them were above 0.65. Necrosis severity and cultivar had a significant effect ($P=0.002$ and $P=0.017$ respectively) on maturation (Figure 2.7, slopes for the 6 canker severity classes, on average over cultivars). The interaction between canker severity and cultivar was also significant ($P=0.039$). Pseudothecia on stubble of classes 1 and 2 matured less rapidly than pseudothecia on stubble of classes 4, 5, and 6. Pseudothecia on stubble of class 3 matured less rapidly than pseudothecia on stubble of classes 5 and 6 but not class 4. Classes 4, 5, and 6 were not significantly different. Pseudothecia on stubble from the resistant cultivar (Darmor) matured faster ($P=0.017$) than pseudothecia on stubble of the same class of the susceptible cultivar (data not shown).

Table 2.4. Analysis of variance: effect of incubation site, replicate, sampling year and site, cultivar, hollow stubble and canker severity on the log-transformed number of pseudothecia of *L. maculans* counted on 1 cm² of winter oilseed rape stubble.

	Df	Sum of Squares (TypeIII)	F Value	P(F)	R ²
Model	58	789.32	18.19	<.0001	0.48
Error	1128	843.93			
Corrected Total	1186	1633.25			
Effects^a					
Necrosis severity	5	55.35	14.80	<.0001	
Cultivar	1	1.83	2.45	0.1178	
Incubation site	1	30.63	40.95	<.0001	
Sampling site	1	71.12	95.06	<.0001	
Sampling year	2	11.22	7.50	0.0006	
Hollow	1	16.50	22.05	<.0001	
Necrosis severity*cultivar	5	10.12	2.71	0.0194	
Incubation site* Sampling site	1	6.66	8.90	0.0029	
Sampling site* Sampling year	2	19.35	12.93	<.0001	
Sampling site*cultivar	1	6.90	8.79	0.0031	
Sampling year*cultivar	2	11.96	8.00	0.0004	
Sampling site*hollow	1	3.70	4.94	0.0264	
Cultivar*hollow	1	10.16	13.58	0.0002	

a: non-significant interactions (P > 0.05) are not presented

Figure 2.8. Number of *L. maculans* pseudothecia per cm² of winter oilseed rape stubble according to the severity of canker (classes 1-6). The bars represent the 95% confidence intervals. Histograms with different letters are significantly different.



1.1.2.5.3 Primary inoculum quantification

Necrosis severity, incubation site, sampling site and year as well as hollow residues had a significant effect ($P < 0.05$) on the log-transformed number of pseudothecia (Table 2.4). Interactions between canker and cultivar, incubation site and sampling site, sampling site and sampling year or cultivar, and between hollowness and sampling site or cultivar were also significant (Table 2.4). There was no significant difference between replicates. The number of counted pseudothecia per unit area of stubble increased with canker severity (Figure 2.8). Stubble with canker class 1 had significantly fewer pseudothecia than stubble with canker class 2, which in turn had significantly fewer pseudothecia than stubble with canker classes 3 and 5. The number of pseudothecia was not significantly different between classes 2 and 4, 3 and 4, and 4 and 5 (Figure 2.8). Even if the variability was great, stubble with canker class 6 presented significantly more pseudothecia than other canker classes. The results showed variability between sampling years (Figure 2.9.a), and stubble collected at Grignon presented significantly more pseudothecia than those collected at Le Rheu (Figure 2.9.b). Stubble incubated at Le Rheu had significantly more pseudothecia than stubble incubated at Grignon (Figure 2.9.c). Hollow stubble had significantly fewer pseudothecia than others (up to half as many, data not shown). There was no significant difference between the two cultivars (Figure 2.9.d, Table 2.4). Analyses of the number of pseudothecia per gram or of the number of pseudothecia per square centimetre to the power 0.2 (another possible variable transformation to achieve normality) showed similar results.

The estimation of the number of ascospores per pseudothecium by calculating individual volumes of an ascus and a pseudothecium resulted in 890 to 13,890 ascospores per pseudothecium. However, this number is an over-estimate since there are empty spaces and volumes occupied by envelopes in a pseudothecium, but it is difficult to evaluate the proportion of the total volume effectively occupied by asci. In the vortex experiment, between 120 and 1,880 ascospores per pseudothecium were counted (mean value of 820), with no significant difference between canker severities and between cultivars. However, this number was under-estimated since few ascospores were still observed in pseudothecia after vortexing. Given these two estimates, the number of ascospores per pseudothecium was figured to range between 1,000 and 10,000. This is consistent with Schneider (2005) who stated that this value should range from 1,000 to 14,000.

Figure 2.9. Number of *L. maculans* pseudothecia per cm² of winter oilseed rape stubble according to the severity of canker (classes 1-6) for a. the 3 years of sampling, b. the 2 sites of sampling (Grignon and Le Rheu), c. the 2 sites of incubation (Grignon and Le Rheu), and d. the 2 cultivars (Darmor, with a quantitative resistance, and Eurol, susceptible). The bars represent the 95% confidence intervals. The y-axes are not to the same scale.

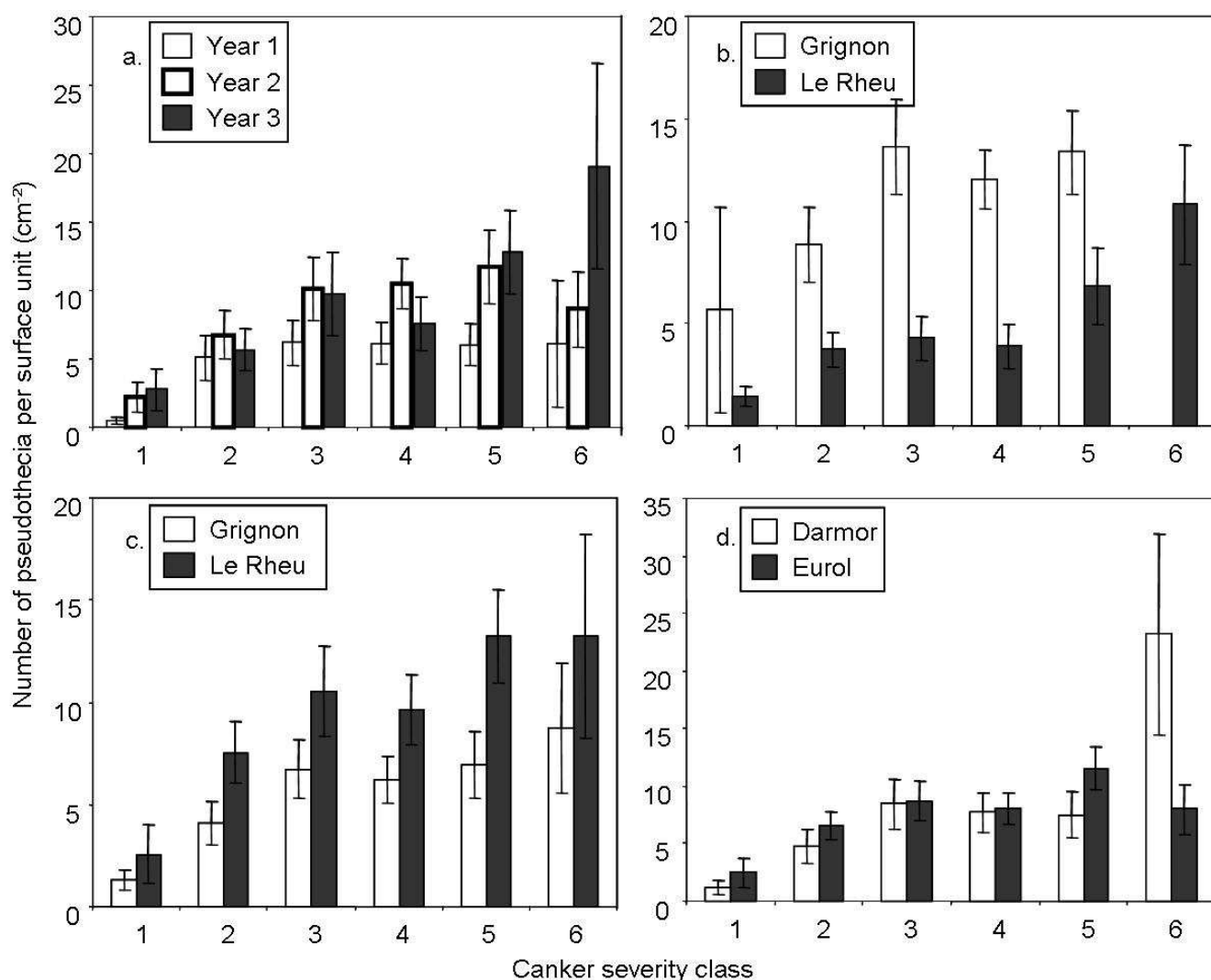


Table 2.5. Validation of *L. maculans* pseudothecial quantification by three observers: percentage of *L. maculans* pseudothecia among fruiting bodies counted as *L. maculans* pseudothecia and as non-*L. maculans* pseudothecia (the exact confidence intervals, CI, have been calculated using the binomial law)

	Fructifications counted as <i>L. maculans</i> pseudothecia			Fructifications counted as non- <i>L. maculans</i> pseudothecia		
	Number of observed fruiting bodies	Percentage of real pseudothecia (%)	CI (95%)	Number of observed fruiting bodies	Percentage of real pseudothecia (%)	CI (95%)
Observer 1	206	95.5	[91.7; 97.9]	93	11.1	[6.2; 17.9]
Observer 2	201	91.7	[87.1; 95.1]	126	4.3	[1.2; 10.6]
Observer 3	152	93.4	[89.1; 96.8]	117	13.7	[8.7; 21.3]

1.1.2.5.4 Assessment of the quantification method

For all observers, most (91 to 96%) of the fructifications counted as pseudothecia were real pseudothecia of *L. maculans* or *L. biglobosa*. Only a few (4 to 14%) of the fructifications considered as non-*L. maculans*-pseudothecia were in fact pseudothecia of *L. maculans* (Table 2.5).

Stubble used to study the relationship between canker severity and production of primary inoculum was collected in experimental fields, some of which had been inoculated. The relationship was tested by estimating the quantity of pseudothecia for stubble collected in farmers' fields. This was also a way to assess the relationship for other cultivars. Necrosis severity had a significant effect ($P=0.001$) on the log-transformed number of pseudothecia counted on 1 cm². As for stubble collected in experimental fields, the number of pseudothecia per cm² of stubble increased with canker severity for stubble collected in Brittany (Figure 2.10). Stubble of severity class 1 had significantly fewer pseudothecia than stubble denoted 2, 3, 4, or 5. Class 6 stubble had significantly more pseudothecia than other canker severity classes. Again, there was no significant difference between cultivars (data not shown). The results with stubble collected in 7 fields in central France were similar (data not shown).

1.1.2.5.5 Proposal for a simpler method to quantify pseudothecia

The correlation between counted pseudothecia and the total area occupied by pseudothecia was significant ($P<0.05$), and the associated coefficient of determination was 71% (Figure 2.11). This coefficient was higher for stubble with more than 200 counted pseudothecia (83% against 49% for both other quantification classes). The total area occupied by pseudothecia increased with the severity of canker (Figure 2.12).

Figure 2.10. Number of *L. maculans* pseudothecia per cm² of winter oilseed rape stubble according to the severity of canker (classes 1-6) for residues (5 cm above the sectioned crown) collected in 6 fields in Brittany (western France). The bars represent the 95% confidence intervals. Histograms with different letters are significantly different.

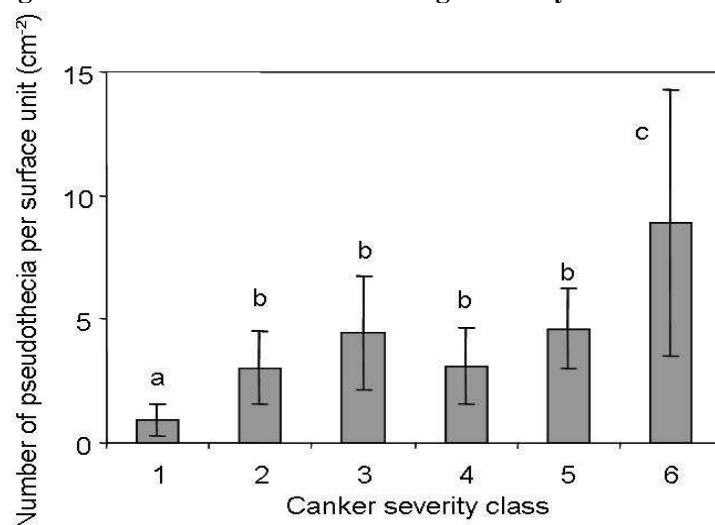


Figure 2.11. Relation between counted *L. maculans* pseudothecia and evaluated area occupied by *L. maculans* pseudothecia for 180 residues of winter oilseed rape ($R^2 = 71\%$).

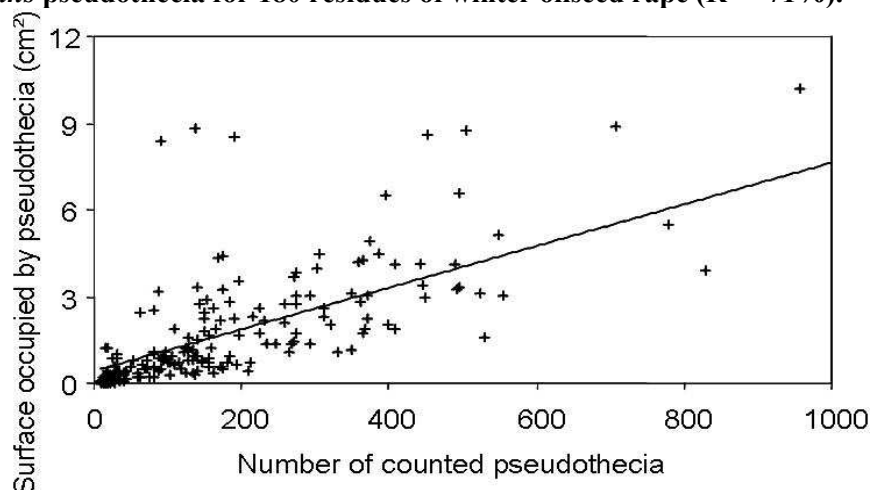
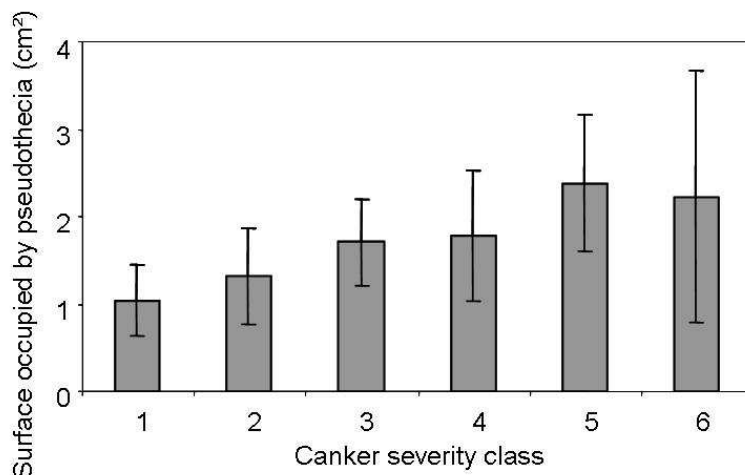


Figure 2.12. Area occupied by *L. maculans* pseudothecia (cm²) depending on the severity of canker for 180 residues of winter oilseed rape. The bars represent the 95% confidence intervals.



1.1.2.6. Discussion

Under experimentation conditions in Grignon and Le Rheu, France, maturation of pseudothecia occurred between 63 and 75 days, much slower than reported by Peres *et al.* (1999), who obtained the first mature pseudothecia after 13-30 days under controlled conditions, depending on the temperature and the rainfall (quantity and frequency). Under Australian conditions, non-mature pseudothecia were detected after 50 days under natural conditions (Wherrett *et al.*, 2003) and maturation of pseudothecia occurred between 99 and 171 days (averaged over 3 years), the observed range being largely due to the rainfall variability according to the location (Khangura *et al.*, 2007).

In the present study, a positive correlation was found between canker severity and the production of primary inoculum: the more severe the canker, the faster the maturation and the larger the quantity of pseudothecia. Petrie (1995) also showed that the maturation of pseudothecia was faster on stubble with severe basal cankers than on stems with superficial lesions, producing less primary inoculum. However, he separated stubble into 2 canker severity classes whereas the present study separated stubble into six classes for greater accuracy. Similarly, McGee (1977) showed that the quantity of primary inoculum increased with the severity of disease assessed in fields, but did not investigate any relationship at the plant level. A quantitative relationship between canker severity and the quantity of ascospores at the plant level has been revealed here. Moreover, this relationship was stable under different weather conditions and for different cultivars, years and sampling sites. Quantification by counting pseudothecia with a binocular microscope was shown to be reliable. The estimation of the number of ascospores per pseudothecium is an easy way, yet somewhat imprecise, to estimate the quantity of primary inoculum (airborne spores) able to infect new crops. The biological variability of this variable should be analysed in more detail in further studies. Further, note that the asci do not all mature at the same time in each pseudothecium. Both methods may underestimate the quantity of released spores as only mature or almost mature asci are considered. Immature asci could later swell into the available space, freed after release of spores, to mature and release more spores.

The use of Darmor, a cultivar with a good level of quantitative resistance, reduced the severity of canker in a field (Pilet *et al.*, 1998). However, in the present case, for stubble of the same canker severity class, results for the quantification of primary inoculum were similar whatever the level of quantitative resistance of the cultivar. Assessing the primary inoculum production on stubble from susceptible (different level of quantitative resistances) or specific resistant cultivars of various *Brassica* species, Marcroft *et al.* (2004b) also found no difference between cultivars with various levels of quantitative resistance. But they showed that the specific resistant cultivar presented fewer pseudothecia. Similarly, Poisson and Peres (1999a) did not find any significant difference between quantitative resistant and susceptible cultivars for quantity of inoculum produced. Those results therefore agree with the results presented here.

As regard the differences between cultivars for pseudothecial maturation, a difference between Darmor (with a good level of quantitative resistance) and Eurol (susceptible) was

observed in this study: pseudothecia on stubble from the susceptible cultivar matured significantly more slowly than pseudothecia on stubble of the same class from the cultivar with a high level of quantitative resistance. In contrast to these results, Poisson and Peres (1999a) or Khangura *et al.* (2007) did not find a difference in the timing of pseudothecia maturity on stubble from cultivars with various levels of quantitative resistance. The difference between cultivars observed here could be related to the hollow state of some residues. This hollow state has already been shown to have an impact on quantity of pseudothecia and therefore could play a role in the maturation process. However, the Darmor stubble observed for maturation was all hollow, whereas only 77% of Eurol's stubble was hollow. The fact that pseudothecia matured faster on the resistant cultivar was not explained. There are few data to explain the mechanisms of quantitative resistances, and particularly to explain the expression of this resistance on dead stubble. Nevertheless, the use of Darmor, a cultivar with a good level of quantitative resistance, remains efficient to limit canker severity during the vegetative cycle of the plant, even if this beneficial effect could be altered by the fact that pseudothecia mature faster on Darmor stubble.

The stubble incubated at Le Rheu had significantly more pseudothecia than stubble incubated at Grignon. Pseudothecial maturation depends on weather conditions, particularly temperature and wetness (Salam *et al.*, 2003). The weather conditions were better for maturation in Le Rheu, as the daily temperatures were closer to 14°C, rainfall events were more frequent, and the total rainfall was higher (Peres *et al.*, 1999; Toscano-Underwood *et al.*, 2003). The variability between sampling years and the higher production of pseudothecia on stubble collected in Grignon may be due to the weather conditions during growth, the date of collection, and the level of inoculation in experimental fields. Fields in Grignon were all inoculated with infected stubble, whereas only some of the fields were inoculated in Le Rheu. It was not possible to distinguish the information, as stubble collected in several fields, inoculated or not, was mixed together. Nevertheless, the quantification of pseudothecia on stubble from non-inoculated fields validated the relationship between canker severity and inoculum production. Storage at room temperature for one or two years after sampling could also have influenced inoculum production. However, it seems not to be the case, as the same relationship was found using non-dried and non-stored stubble collected in farmers' fields.

The comparison of the two methods of quantification provided interesting results upon which to found a simple method to quantify pseudothecia. Wherrett *et al.* (2003), Marcroft *et al.* (2004b) and Schneider (2005) had already estimated the pseudothecial density using the proportion of the stubble area infected with pseudothecia. This quantification protocol, which is easier to set up, was shown to be fairly reliable. It is probably less accurate than the routine quantification of pseudothecia, but it is a good alternative, particularly when the quantity of pseudothecia is large (the coefficient of determination was better in this case).

Finally, it was clearly shown that there is a good relationship between canker severity in a given year and the production of inoculum in the following year with stubble incubated under natural conditions. Others have already studied the effects of canker severity (McGee, 1977; Petrie, 1995), cultivars (Poisson and Peres, 1999a; Marcroft *et al.*, 2004b) or age of stubble (Gosende *et al.*, 1999; Marcroft *et al.*, 2003; Khangura *et al.*, 2007) on production of

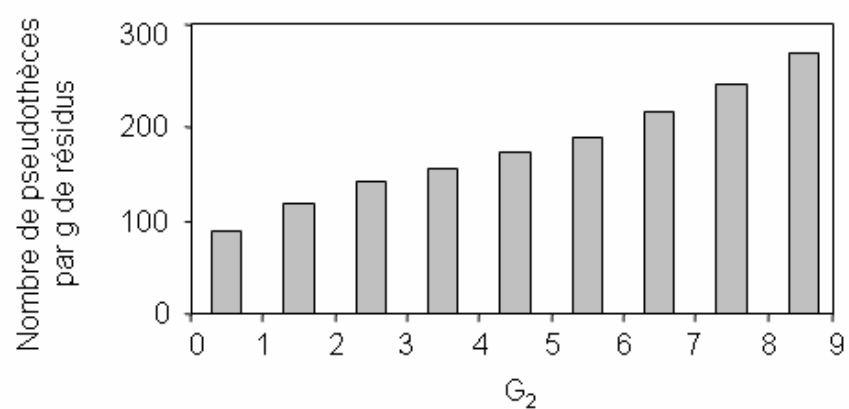
ascospores of *L. maculans*. As discussed above, the present results are in agreement with previous results, except for the effect of the quantitative resistance on maturation, but this is the first time that a quantitative relationship between canker severity and production of ascospores has been explicitly described. It would be interesting to test this relationship using stubble that has been buried for several years, for example by ploughing, and later brought back to the surface. Khangura *et al.* (2007), for example, noticed that the age of stubble did not affect the dynamics of pseudothecial maturation but significantly reduced the production of new pseudothecia. Turkington *et al.* (2000) noticed that soil-incorporated stubble produced less inoculum than surface-placed stubble. These two points could be studied in relation to class of canker severity.

The quantity of primary inoculum produced on stubble seems to depend on many factors and their interactions: canker severity, cultivar, climatic conditions during the growth of the crop and during the pseudothecial maturation, hollow state of stubble (that could be linked to climate and cultivar), and age of stubble. Most of these factors are known (cultivar) or can be followed (climatic conditions) or measured (canker severity) but their impact is sometimes difficult to apprehend, particularly on the dynamics of maturation. The timing of spore release is indeed as important as the quantity of spore released for the consequences on infection efficiency. Quantity of ascospores and timing of release is therefore difficult to forecast, and in turn the consequent disease severity in the current crop. However, canker severity had the most impact on the dynamics of maturation and primary inoculum quantity. Associated with studies analysing the effect of weather on maturation of pseudothecia and ascospore discharges (Aubertot *et al.*, 2006c; Salam *et al.*, 2007; Khangura *et al.*, 2007; Huang *et al.*, 2007b), the results presented here make it possible to forecast the quantity of available primary inoculum for a given disease severity. This could be integrated into an infection-prediction model to devise cultural strategies to limit blackleg on oilseed rape. In fact, the relationship between severity of disease and subsequent production of primary inoculum is of primary importance for prediction of infection whatever the disease, and should be further investigated to design integrated pest management strategies.

1.1.2.7. Acknowledgments

The authors are grateful to François Rouault, Lye Nemoto, Marine Vergotte and the CETIOM for their technical assistance. This work was carried out with the financial support of the « ANR- Agence Nationale de la Recherche - The French National Research Agency » under the « Programme Agriculture et Développement Durable », project « ANR-05-PADD-05, CEDRE », of the Ministère de l'Agriculture et de la Pêche (CTPS 05-02 Phoma) and of the Agence pour le Développement Agricole et Rural (BioViResDur). This study took place in the UMT Pivert. It is part of a Ph.D. project co-funded by INRA and CETIOM. The authors are grateful to Alan Scaife as well as Suzette Tanis-Plant for editorial advice in English.

Figure 2.13. Relation entre le nombre de pseudothèses produits par gramme de résidus et la note G_2 .



1.1.3. Discussion

Les distributions moyennes de plantes par classe de nécrose en fonction de la note G_2 (1.1.1) et les données obtenues dans l'expérimentation potentiel de production d'inoculum (1.1.2) permettent d'obtenir une relation directe entre la note G_2 et le nombre de pseudothèces produits par unité de masse de résidus (Figure 2.13). Pour établir cette relation, j'ai utilisé les données « nombre de pseudothèces par gramme de résidus » obtenues dans l'expérimentation. La masse de résidus laissés au champ après récolte est de l'ordre de $0,5 \text{ kg.m}^{-2}$ (valeur qui est utilisé dans SIPPOM, Schneider, 2005). Cette masse est ensuite diminuée du fait du travail du sol et de la décomposition des résidus. On aurait donc pu obtenir directement un nombre de pseudothèces par unité de surface du sol en fonction de la note G_2 , et utiliser directement cette relation dans SIPPOM.

Cependant, on a voulu garder autant que possible les formalismes proposés par Schneider (2005, SimInoc) et par Aubertot *et al.* (2006c, SimMat) puisque ces formalismes ont été évalués, et qu'ils permettent de prendre en compte l'effet du travail du sol et la dynamique de maturation des pseudothèces. Ainsi, dans SIPPOM, la distribution de plantes par classe de nécrose est déduite à partir de la note G_2 ($prop_i$). Le nombre de pseudothèces en fonction de la classe de nécrose est défini relativement à la classe 6 (a_i). La quantité potentielle de pseudothèces par unité de surface du sol s'écrit donc (Schneider, 2005 ; Lô-Pelzer *et al.*, 2008a¹ ; 2008b²) :

$$p(t) = \frac{\left(\sum_{i=1}^{i=6} prop_i * a_i \right) m_{surface} * \tau_{max} d_p e^{-\beta t}}{\rho d}$$

avec a_i : production d'inoculum dépendant de la classe de sévérité de nécrose relativement à la classe de nécrose 6 (la valeur des coefficients a a été déduite des données « nombre de pseudothèces par unité de surface de résidu » obtenues lors de l'expérimentation, 1.1.1 ; $[a_i] = 1$), τ_{max} : taux maximum de recouvrement des résidus par les pseudothèces ($[\tau_{max}] = 1$), d_p : densité maximale de pseudothèces par unité de surface de résidus ($[d_p] = \text{L}^{-2}$), $e^{-\beta t}$: abondance relative de résidus âgés de t années ($[\beta] = \text{T}^{-1}$), ρ : masse volumique des résidus ($[\rho] = \text{M.L}^{-3}$), d : diamètre moyen des résidus ($[d] = \text{L}^2$). L'expérimentation a permis de ré-estimer les paramètres de cette équation, comme le diamètre, la masse volumique des résidus, ou le taux de recouvrement des résidus par les pseudothèces, initialement estimés par Schneider (2005).

¹ Cette référence correspond à la partie 1.1.2 de ce chapitre

² Cette référence correspond à la partie 1.1.1 de ce chapitre

1.2. Estimation du rendement accessible de la culture de colza sans maladie

1.2.1. Introduction

Le module peuplement de SIPPOM doit simuler non seulement l'état de la culture au moment de l'infection, mais aussi le rendement accessible de la culture sans maladie. Le modèle Azodyn existant (Jeuffroy *et al.*, 2003) permet de simuler de manière dynamique la croissance du peuplement en fonction des besoins de la plante et apports du sol en azote et en eau. Les autres données climatiques telles que le rayonnement ou la température, et les pratiques culturales (variété, semis, fertilisation azotée...) sont également des entrées d'Azodyn. Ce modèle permet également de simuler le rendement quantitatif et qualitatif de la culture. Cependant, le nombre de paramètres et d'entrées nécessaires est très important (plus de 100 paramètres). Afin de simplifier SIPPOM, le modèle Azodyn a été utilisé uniquement pour simuler le développement de la culture en automne, puisque le module infection nécessite d'être renseigné avec la surface foliaire (LAI) et le stade phénologique (nombre de feuilles visibles, et non pas émises) chaque jour pendant la période sensible à l'infection, c'est-à-dire de la levée à l'entrée hiver. Le module infection nécessite aussi de considérer la biomasse entrée d'hiver. Le calcul de la biomasse journalière, basé sur Azodyn, a donc été conservé pour cette période.

Un module statique simulant le rendement accessible de la culture sans maladie a été créé. Le rendement accessible dépend du rendement potentiel de la variété, et deux facteurs limitants principaux du rendement accessible ont été pris en compte : l'état du peuplement à la reprise de végétation, représenté par la biomasse sortie hiver (comme proposé dans la réglette azote colza pour raisonner la fertilisation azotée minérale de printemps ; Reau et Wagner, 1998), et la nutrition hydrique du peuplement (comme proposé par Limaux, 1999), représentée par la réserve utile maximale du sol et le déficit climatique (différence entre la pluie et l'évapotranspiration de la reprise de végétation jusqu'à la récolte, Limaux, 1999). On fait l'hypothèse que l'azote minéral de printemps est apporté de façon optimale. L'azote minéral de printemps n'est donc pas considéré comme un facteur limitant du rendement. On se propose d'établir la relation suivante :

$$Rdt_{Accessible} = f[Variété, (RU, DC), BMSH]$$

Avec

BMSH : biomasse sèche sortie d'hiver ($\text{kg} \cdot \text{ha}^{-1}$), simulée dans le module peuplement, ce qui nécessite de réaliser les simulations journalières jusqu'à la reprise de végétation

RU : réserve utile du sol (mm), renseignée en entrée dans SIPPOM pour chaque parcelle

DC : déficit climatique (mm), calculé entre le 1^{er} mars et le 10 juillet

1.2.2. Matériels et méthodes

1.2.2.1. Rendement potentiel par variété

Le site Oleovar développé par le CETIOM (www.oleovar.cetiom.fr) rend compte des rendements d'un grand nombre de variétés du catalogue, évalués sur plusieurs années et sur plusieurs sites, sans pression biotique. En considérant l'année et le site les plus favorables (rendement maximal), on peut obtenir des valeurs de « rendement potentiel » des variétés. Néanmoins, étant donné que ces rendements correspondent à des moyennes sur plusieurs essais (dont le nombre varie d'une variété à l'autre), ils ne correspondent pas réellement aux rendements maximums qui peuvent être atteints par les différentes variétés. Il est donc nécessaire de réévaluer ces rendements potentiels, de manière à disposer de valeurs comparables pour l'ensemble des variétés. Le jeu de données utilisé dans la partie reliant le rendement à la biomasse à la reprise de végétation (1.2.2.3.) présente un rendement maximum pour une variété connue de 51 q.ha⁻¹ (variété Goéland). Tous les rendements potentiels relevés sur le site Oleovar ont donc été corrigés relativement à ce rendement et au rendement potentiel de la variété Goéland relevé sur le site Oleovar :

$$RdtPot_{var} = \frac{RdtMaxObservé_{Goéland} * RdtPotOleo_{var}}{RdtPotOleo_{Goéland}}$$

Avec RdtMaxObservé : rendement maximum observé pour la variété Goéland dans le jeu de données du CETIOM utilisé pour relier le rendement à la biomasse sortie hiver (51 q.ha⁻¹), RdtPotOleo_{var} : rendement maximum de la variété relevé sur le site Oleovar, RdtPotOleo_{Goéland} : rendement maximum pour la variété Goéland relevé sur le site Oleovar.

1.2.2.2. Estimation de la perte de rendement liée à la nutrition hydrique du peuplement

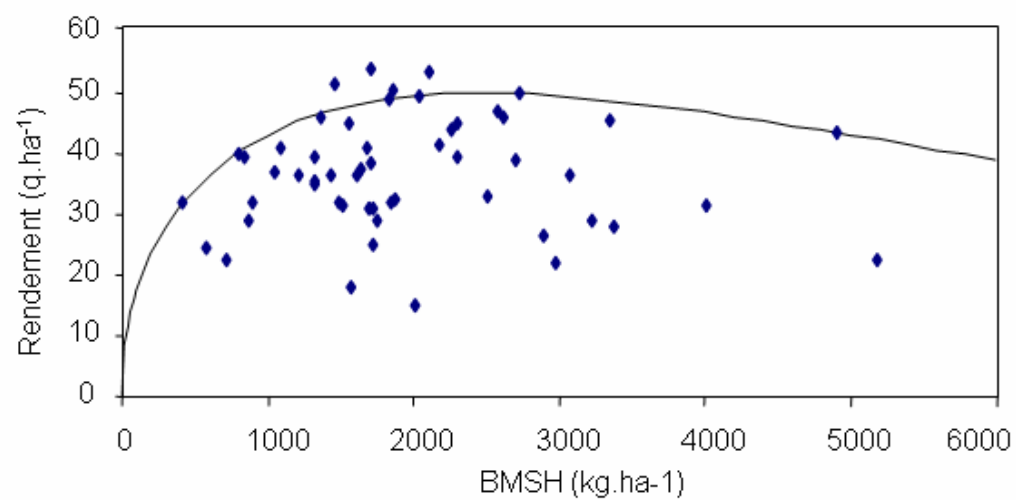
Dans sa thèse, Limaux (1999) propose d'estimer le rendement accessible du blé à partir du déficit climatique (DC) calculé du 1^{er} mars au 10 juillet de la façon suivante :

$Rdt = aDC + b$ avec $DC = \sum_j (ETP_j - P_j)$ (ETP_j : évapotranspiration journalière (mm), P_j : pluie journalière (mm)).

Afin d'établir la relation entre le rendement du colza et le déficit climatique, nous avons utilisé des données issues du référentiel de l'Observatoire des Potentialités Agro-climatiques de Lorraine, fournies par Emmanuel Hance. Ces données sont issues de 10 sites en Lorraine. Elles ont été relevées pendant 12 années (1992-2004) et regroupent 19 types de sol. Les valeurs des coefficients a et b dans la relation entre le rendement et le déficit climatique sont très variables en fonction du type de sol. Le sol a donc été caractérisé par sa réserve utile maximale (RU, en mm). Une relation entre le rendement observé et le déficit climatique (DC), la réserve utile (RU) et l'interaction DC*RU a été établie par régression linéaire :

$$Rdt_{RU,DC} = \alpha_1 DC + \alpha_2 RU_{max} + \alpha_3 DC * RU_{max} + \alpha_4$$

Figure 2.14. Relation entre le rendement et la biomasse sortie d'hiver (BMSH), établie par régression quantile pour le quantile $\tau = 0,85$



La qualité prédictive de la relation obtenue a été évaluée par validation croisée. En faisant le rapport avec le rendement maximal des données observées, on a calculé une perte de rendement relative au rendement maximum, due au déficit hydrique (DC et RU).

1.2.2.3. Estimation de la perte de rendement liée à l'état du peuplement à la reprise de végétation

Afin d'établir la relation entre le rendement et la biomasse sortie hiver (caractérisant l'état du peuplement à la reprise de végétation), un jeu de données m'a été fourni par le CETIOM. Il comprend des mesures de rendement et de biomasse sortie d'hiver réalisées sur 54 parcelles (35 sites) pour 9 variétés et pendant 7 années (1993-1999). Une seule mesure de biomasse sortie d'hiver a été réalisée par parcelle, avant l'apport d'azote minéral, alors que plusieurs valeurs du rendement ont été mesurées à la récolte en fonction de l'azote minéral apporté au printemps. Afin de faire abstraction du facteur limitant azote, on a considéré la mesure de rendement correspondant à la dose maximale d'azote apporté.

Etant donné la répartition des valeurs du rendement en fonction de la biomasse sortie d'hiver (Figure 2.14), la représentation en courbe enveloppe a été choisie pour établir la relation entre ces deux variables (Makowski *et al.*, 2007). Le principe de la courbe enveloppe consiste à déterminer la fonction établissant le rendement maximum en fonction de la biomasse. Cette courbe représente en fait la valeur du rendement quand la biomasse sortie d'hiver est le seul facteur limitant, les points situés en dessous de cette courbe prenant en compte d'autres facteurs limitant que l'on ne connaît pas (Makowski *et al.*, 2007). Deux étapes sont nécessaires pour établir l'équation de la courbe enveloppe : le choix de la fonction mathématique, et l'estimation des paramètres par régression quantile (Makowski *et al.*, 2007). La fonction mathématique choisie est celle proposée par Cade *et al.* (2000) :

$$Rdt_{BMSH} = \beta_0 \left(\frac{BMSH}{BMSH_0} \right)^{\beta_1} \exp(\beta_2 BMSH)$$

Avec $BMSH_0 = 1 \text{ kg.ha}^{-1}$, $[\beta_0] = \text{M.L}^{-2}$, $[\beta_1] = 1$, $[\beta_2] = \text{M}^{-1}.\text{L}^2$.

Ce modèle est linéarisable, ce qui facilite l'estimation des paramètres à l'aide de la fonction *rq* du logiciel statistique R :

$$\ln\left(\frac{Rdt_{BMSH}}{Rdt_{BMSH0}}\right) = \ln\left(\frac{\beta_0}{BMSH_0}\right) + \beta_1 * \ln\left(\frac{BMSH}{BMSH_0}\right) + \beta_2 BMSH$$

Avec $Rdt_{BMSH0} = 1 \text{ q.ha}^{-1}$.

L'estimation des paramètres $\ln\left(\frac{\beta_0}{BMSH_0}\right)$, β_1 et β_2 a été réalisée pour des quantiles variant

entre 0,5 et 0,95 avec un pas de 0,05. Le quantile correspondant à l'intervalle de confiance le plus restreint pour l'estimation des trois paramètres a été sélectionné. En faisant le rapport

Tableau 2.6. Rendements potentiels par variété. Ces rendements ont été obtenus à partir du rendement maximum par variété relevé sur le site Oleovar (www.oleovar.cetiom.fr), corrigé avec un rendement maximum observé pour la variété Goéland

Variété	Rendement (q.ha ⁻¹)	Variété	Rendement (q.ha ⁻¹)	Variété	Rendement (q.ha ⁻¹)
ADRIANA	53,2	EVORA	43,1	NELSON	38,9
ALESI	49,8	EXAGONE	52,0	OLIRIS	47,2
ATLANTIC	45,5	EXOCET	56,1	OLPHI	47,9
AVISO	50,0	EXPERT	48,3	OVATION	54,9
BAMBIN	51,9	EXPLUS	44,1	PACIFIC	47,3
BANJO	48,0	EXTEND	53,8	PARADE	44,6
BARREL	34,1	EXTRA	48,8	POLLEN	45,2
BELCANTO	44,0	FALCON	44,6	POTOMAC	48,1
BILBAO	45,8	FLASH	54,7	PR45W04	48,7
BORNEO	38,6	GAMIN	48,1	PRONTO	45,9
BRISTOL	48,1	GOELAND	50,5	QUATTRO	51,4
CABESTAN	51,7	GRIZZLY	48,8	RECITAL	41,4
CALIFORNIUM	39,7	HEKTOR	42,6	REMY	50,5
CAMPALA	50,1	HYBRISTAR	37,6	ROBUST	53,3
CANARY	46,3	IBEX	35,4	RODEO	47,5
CANNELLE	48,8	JESPER	37,6	ROYAL	42,3
CANTI CS	52,7	KADORE	40,8	SAHARA	36,6
CAPITOL	46,4	KALIF	54,1	SALOMONT	48,2
CAPVERT	47,2	KARUN	53,8	SATURNIN	43,9
CARACO	52,0	KOSTO	47,3	SAVANNAH	47,2
CARIBOU	46,0	LABRADOR	41,1	SHAKIRA	41,9
CAROUSEL	43,2	LEWIS	49,5	SMART	39,7
CATANA	53,7	LIBRI CS	36,0	STANDING	47,7
COLOSSE	43,6	LICORNE	46,7	SUN	52,0
COLUMBUS	48,5	LIONESS	43,1	SYNERGY	47,4
CONSTANT	49,9	LITONIC	43,0	SW CALYPSO	38,1
COOPER	53,3	LUTIN	43,6	SW MAESTRO	39,6
CORAIL	51,5	MADRIGAL	48,8	TALENT	44,2
DECATHLON	34,1	MAKILA	47,3	TENOR	47,7
ECRIN	50,4	MENDEL	44,0	TOCCATA	38,9
ELEONORE	49,8	MILENA	48,3	TWISTER	49,8
ES ASTRID	43,2	MLCH 093	41,9	VERONA	43,8
ES HYDROMEL	38,3	MOHICAN	42,7	VIVOL	44,9
ES NECTAR	37,4	MONTEGO	47,2	ZENITH	47,3
EUROL	44,3	NAVAJO	48,5		

avec le rendement maximal des données observées, on en déduit une perte de rendement relative au rendement maximum, due à la biomasse sortie hiver.

1.2.3. Résultats

1.2.3.1. Rendement potentiel par variété

Les rendements potentiels obtenus pour 104 variétés sont présentés dans le tableau 2.6.

1.2.3.2. Estimation de la perte de rendement liée à la nutrition hydrique du peuplement

Le rendement a été exprimé en fonction de la réserve utile et du déficit climatique ($R^2 = 90\%$) :

$$Rdt_{RU,DC} = \alpha_1 DC + \alpha_2 RU_{\max} + \alpha_3 DC * RU_{\max} + \alpha_4$$

Avec $\alpha_1 = -0,0855 \text{ q. ha}^{-1}.\text{mm}^{-1}$, $\alpha_2 = 0,1057 \text{ q. ha}^{-1}.\text{mm}^{-1}$, $\alpha_3 = 2,98.10^{-4} \text{ q. ha}^{-1}.\text{mm}^{-2}$, $\alpha_4 = 31,554 \text{ q.ha}^{-1}$

La qualité prédictive de la relation a été évaluée par validation croisée sur les mêmes données (sans tenir compte des corrélations entre sites et années). La RMSEP¹ obtenue est de $2,18 \text{ q.ha}^{-1}$ pour un rendement moyen observé de $32,9 \text{ q.ha}^{-1}$ soit une RMSEP relative de $6,6\%$.

La perte de rendement relative due au déficit hydrique a été obtenue en faisant le rapport avec le rendement maximal des données observées :

$$PerteRdtR_{RU,DC} = a_1 DC + a_2 RU_{\max} + a_3 DC * RU_{\max} + a_4$$

Avec $a_1 = -1,7.10^{-3} \text{ mm}^{-1}$, $a_2 = 2,2.10^{-3} \text{ mm}^{-1}$, $a_3 = 6,1.10^{-6} \text{ mm}^{-2}$, $a_4 = 0,644$.

On remarque que le coefficient a_3 est faible, ce qui montre que l'interaction $DC * RU_{\max}$ a peu d'effet sur la perte de rendement relative due au déficit hydrique.

¹ La définition est présentée dans l'annexe 5

Figure 2.15. Estimations des paramètres en fonction de la valeur du quantile ($[\beta_0] = M.L^{-2}$, $[\beta_1] = 1$, $[\beta_2] = M^{-1}.L^2$, $BMSH_0 = 1\text{kg.ha}^{-1}$). Les intervalles de confiance de ces estimations sont représentés en traits discontinus.

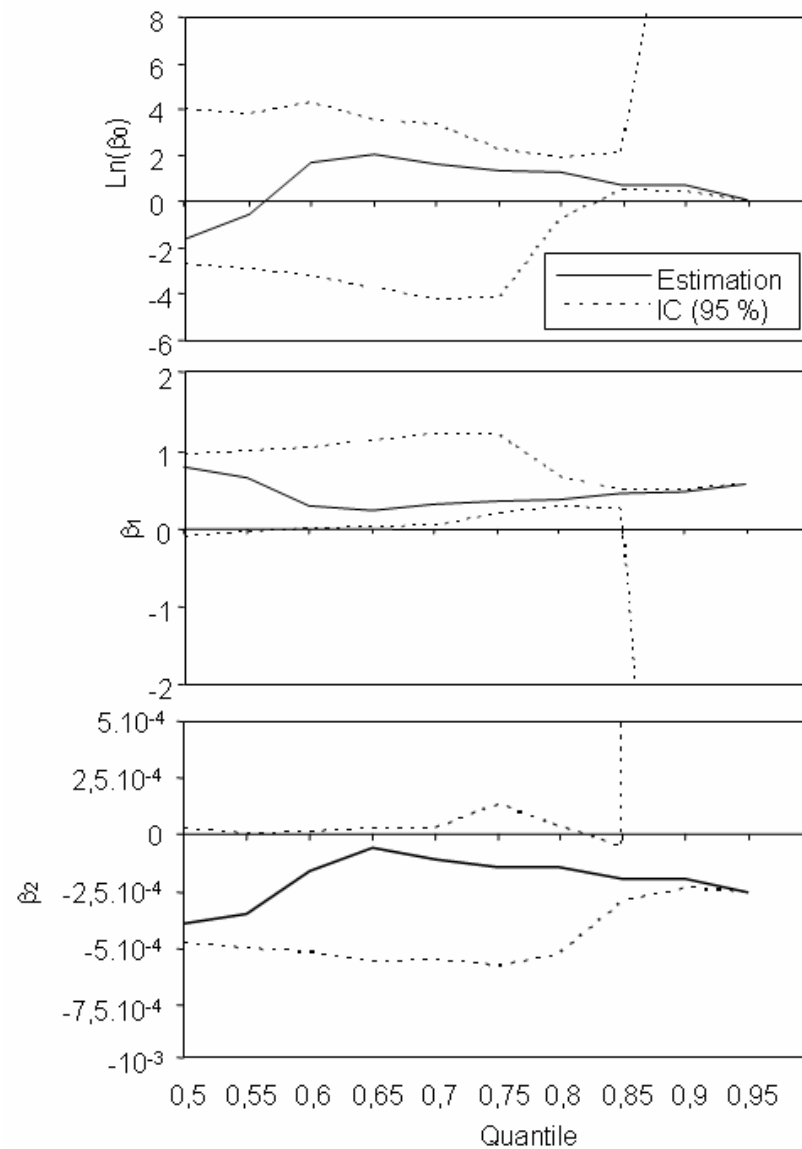
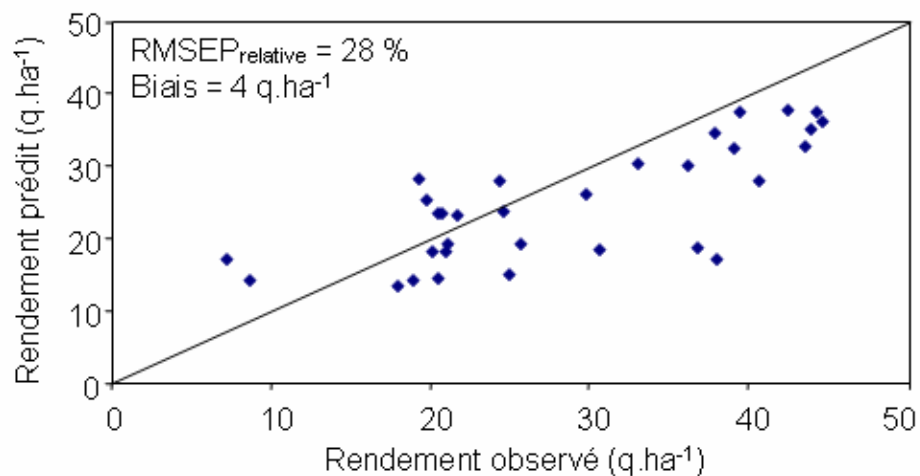


Figure 2.16. Comparaison entre le rendement observé et le rendement estimé pour 32 parcelles



1.2.3.3. Estimation de la perte de rendement liée à l'état du peuplement à la reprise de végétation

L'intervalle de confiance le plus étroit correspond au quantile $\tau = 0,85$ (Figure 2.15). On en déduit les valeurs des paramètres en considérant ce quantile :

$$Rdt_{BMSH} = \beta_0 \left(\frac{BMSH}{BMSH_0} \right)^{\beta_1} \exp(\beta_2 BMSH)$$

Avec $\beta_0 = 2,07 \text{ q.ha}^{-1}$; $\beta_1 = 0,467$; $\beta_2 = -1,9.10^{-4} \text{ kg}^{-1}.\text{ha}$.

La courbe enveloppe obtenue est présentée dans la figure 2.14. La perte de rendement relative au rendement maximum, due à la biomasse sortie hiver est obtenue en faisant le rapport avec le rendement maximal des données observées :

$$PerteRdtR_{BMSH} = b_0 \left(\frac{BMSH}{BMSH_0} \right)^{b_1} \exp(b_2 BMSH)$$

Avec $b_0 = 3,84.10^{-2}$, $b_1 = 0,467$, $b_2 = -1,9.10^{-4} \text{ kg}^{-1}.\text{ha}$.

1.2.4. Bilan et discussion

Le rendement accessible simulé dans SIPPOM est donc :

$$Rdt_{Acc} = RdtPot_{var} * PerteRdtR_{RU,DC} * PerteRdtR_{BMSH}$$

$$Rdt_{Acc} = RdtPot_{var} * (a_1 DC + a_2 RU_{max} + a_3 DC * RU_{max} + a_4) * b_0 \left(\frac{BMSH}{BMSH_0} \right)^{b_1} \exp(b_2 BMSH)$$

Avec

$$a_1 = -1,7.10^{-3} \text{ mm}^{-1}, a_2 = 2,2.10^{-3} \text{ mm}^{-1}, a_3 = 6,1.10^{-6} \text{ mm}^{-2}, a_4 = 0,644$$

$$b_0 = 3,84.10^{-2}, b_1 = 0,467, b_2 = -1,9.10^{-4} \text{ kg}^{-1}.\text{ha}$$

Des données indépendantes ont été utilisées pour évaluer la relation proposée (Figure 2.16). Ces données proviennent d'essais réalisés par Muriel Morison (INRA Grignon, UMR d'Agronomie) sur trois sites, Grignon, Versailles, et une parcelle dans le département de l'Eure, et pendant deux années, 2004-2005 et 2005-2006. Les valeurs moyennes sont correctement prédites, mais les extrêmes faibles sont sur-estimées et les extrêmes fortes sont sous-estimées. Le rendement est en général sous-estimé (biais¹ : 4 q.ha⁻¹) et la RMSEP relative est élevée (28 %). De plus, on estime ici un rendement accessible, alors que les parcelles utilisées pour cette évaluation ne correspondent pas forcément à des parcelles où le phoma et les autres facteurs limitants (mauvaises herbes, azote²...) étaient absents (nous avons cependant sélectionné les parcelles traitées et avec un apport optimal en azote). Si tel est le cas, la relation obtenue sous-estime d'autant plus le rendement accessible. Ceci nous

¹ La définition est présentée dans l'annexe 5

² Je rappelle que l'on considère que l'azote minéral de printemps est apporté de façon optimale. Il n'est donc pas pris en compte comme un facteur limitant du rendement accessible.

indique que la relation proposée peut être utilisée car les ordres de grandeur sont bien prédits et que la prédiction est correcte pour une partie des valeurs. Cependant, si SIPPOM est utilisé pour hiérarchiser des stratégies par rapport aux sorties économiques, il sera nécessaire d'améliorer cette relation.

La sensibilité de ce module aux variations des paramètres a été analysée (Chapitre 3).

1.3. Effet de la résistance quantitative sur l'indice de sévérité de la maladie

1.3.1. Introduction

Peu de données sont disponibles concernant le fonctionnement de la résistance quantitative. Pourtant, on observe que les variétés possédant ces résistances présentent une sévérité de nécrose inférieure, même si le nombre de macules observé est similaire aux variétés sensibles (Delourme *et al.*, 2006). Ces résistances sont de plus en plus utilisées, seules ou en association avec des résistances spécifiques. Il est donc nécessaire de prendre en compte l'effet de la résistance quantitative dans SIPPOM. Etant donné le peu de données disponibles, on a choisi de représenter cet effet de façon simplifiée. On ne représente que deux niveaux de résistance quantitative : une variété est partiellement résistante ou non. Par rapport au calcul du DI proposé dans SimCanker (Aubertot *et al.*, 2004c), la résistance quantitative est prise en compte dans le calcul de l'indice de sévérité (DI) de la maladie (note G₂) :

$$DI = \alpha_{RQ} DI_{SimCanker} = \alpha_{RQ} \frac{DI_{\max} \exp(a_0 + a_1 N_{\max} + a_2 TT + a_3 BMBW)}{1 + \exp(a_0 + a_1 N_{\max} + a_2 TT + a_3 BMBW)}$$

Avec α_{RQ} : coefficient représentant l'effet de la résistance quantitative ($\alpha_{RQ} < 1$), $DI_{\max} = 9$, $N_{\max}$: nombre maximum de macules par plante, TT : temps thermique (°C.j, base 0°C) du dernier trimestre, BMBW : biomasse fraîche aérienne entrée d'hiver. L'objectif de cette partie est d'estimer la valeur de α_{RQ} .

1.3.2. Matériels et méthodes

Une expérimentation a été conduite à Grignon deux années de suite (Aubertot, non publié) pour analyser l'effet de la variété, de la densité et de la disponibilité en azote sur la perturbation de l'élaboration du rendement par le phoma du colza. Dans le cadre de cette expérimentation, on dispose de données sur 63 plantes individuelles (2004-2005) et 71 plantes individuelles (2005-2006) de deux variétés, Aviso (avec un bon niveau de résistance quantitative) et Bristol (sensible). Les données regroupent :

- Un nombre de macules relevé à 4 dates (5/11, 2/12, 17/02 et 12/04 en 2004-2005, et 24/11, 9/02, 16/03 et 6/04 en 2005-2006)
- Une sévérité de nécrose.

Une note G2 observée pour les deux variétés a été calculée selon la formule suivante :

$$DI_{obs} = \frac{\sum_{i=2}^6 [2(i-2) + 1] n_i}{\sum_{i=1}^6 n_i}$$

Où n_i est le nombre de plantes notées affectées à la classe de nécrose i .

On dispose également des données climatiques, donc du temps thermique du dernier trimestre, mais pas de données sur la biomasse entrée d'hiver (ni pour les plantes individuelles, ni pour les placettes). En prenant comme valeur moyenne de biomasse fraîche entrée d'hiver 570 g.m^{-2} (valeur moyenne des simulations de l'analyse de sensibilité du module peuplement, chapitre 3), on peut également calculer une note G_2 simulée (ou DI_{sim}) par variété :

$$DI_{sim} = \frac{DI_{max} \exp(a_0 + a_1 N_{max} + a_2 TT + a_3 BMBW)}{1 + \exp(a_0 + a_1 N_{max} + a_2 TT + a_3 BMBW)}$$

Où le DI_{max} représente la valeur maximale de la note G_2 (9), N_{max} le nombre de macule maximum par plante, TT le temps thermique ($^{\circ}\text{C.j}$, base 0°C) du dernier trimestre et $BMBW$ la biomasse fraîche entrée hiver.

On suppose que la résistance quantitative n'intervient pas dans la sensibilité des variétés à l'infection primaire donc au nombre de macules (seule la résistance spécifique serait responsable des différences du nombre de macules). Ainsi, le DI simulé ne prend pas en compte la résistance quantitative, mais il nous permet d'évaluer une différence de DI due à la différence du nombre de macules relevé pour les deux variétés :

$$DI_{Sim} \text{Aviso} = \alpha_{mac} * DI_{Sim} \text{Bristol}$$

Avec α_{mac} : coefficient représentant l'effet de la différence du nombre de macules sur le DI .

En revanche, la résistance quantitative influence les G_2 observées, d'où :

$$DI_{Obs} \text{Aviso} = \alpha_{mac} * \alpha_{RQ} * DI_{Obs} \text{Bristol}$$

On peut donc en déduire le α_{RQ} recherché :

$$\alpha_{RQ} = \frac{DI_{obs} \text{Aviso}}{DI_{obs} \text{Bristol}} * \frac{DI_{sim} \text{Bristol}}{DI_{sim} \text{Aviso}}$$

Tableau 2.7. Calcul du coefficient représentant l'effet de la résistance quantitative dans le calcul de l'indice de sévérité de la maladie (α_{RO}) en fonction de la date de relevé du nombre de macules. N_{mac} représente le nombre de macules par plante relevé aux différentes dates alors que N_{max} représente le nombre maximum de macules pour l'ensemble des dates relevées. DI_{sim} découle de ce nombre maximum.

2004-2005	Aviso	Bristol	α_{RO}	2005-2006	Aviso	Bristol	α_{RO}
TT (°C.j)	705	705		TT (°C.j)	755,5	755,5	
BMBW (g.m ⁻²)	570	570		BMBW (g.m ⁻²)	570	570	
N_{mac} 5/11	17	44		N_{mac} 24/11	3	6	
N_{mac} 2/12	26	29		N_{mac} 9/02	6	17	
N_{mac} 17/02	3	5		N_{mac} 16/03	15	19	
N_{mac} 12/04	19	20		N_{mac} 6/04	34	108	
N_{max}	26	44		N_{max}	34	108	
DI_{sim} 5/11	7,44	8,86	0,68	DI_{sim} 24/11	3,63	4,26	0,66
DI_{sim} 2/12	8,26	8,43	0,58	DI_{sim} 9/02	4,26	6,46	0,85
DI_{sim} 17/02	5,02	5,44	0,61	DI_{sim} 16/03	6,10	6,79	0,63
DI_{sim} 12/04	7,67	7,77	0,57	DI_{sim} 6/04	8,34	9,00	0,61
DI_{sim}	8,26	8,86	0,61	DI_{sim}	8,34	9,00	0,61
DI_{obs}	2,71	4,78		DI_{obs}	3,09	5,50	

1.3.3. Résultats

En fonction des dates de relevés de macules, α_{RQ} est compris entre 0,57 et 0,85 (Tableau 2.7) et vaut en moyenne 0,65. Normalement, le nombre de macules à considérer est le nombre de macules maximum (N_{max}), ce qui correspond à un α_{RQ} de 0,61 quelle que soit l'année. Cependant, dans SIPPOM, le calcul de N_{max} est réalisé entre la levée et la fin de l'année. On peut donc plutôt considérer les relevés de macules correspondant, le 5/11 et le 2/12 pour l'année 2004, soit $\alpha_{RQ} = 0,61$ en prenant le nombre maximum de macules des deux dates (qui correspond au N_{max} de l'ensemble des relevés de cette année culturale), et le 24/11 pour l'année 2005, soit $\alpha_{RQ} = 0,66$. Finalement, α_{RQ} a été fixé à 0,65 dans SIPPOM.

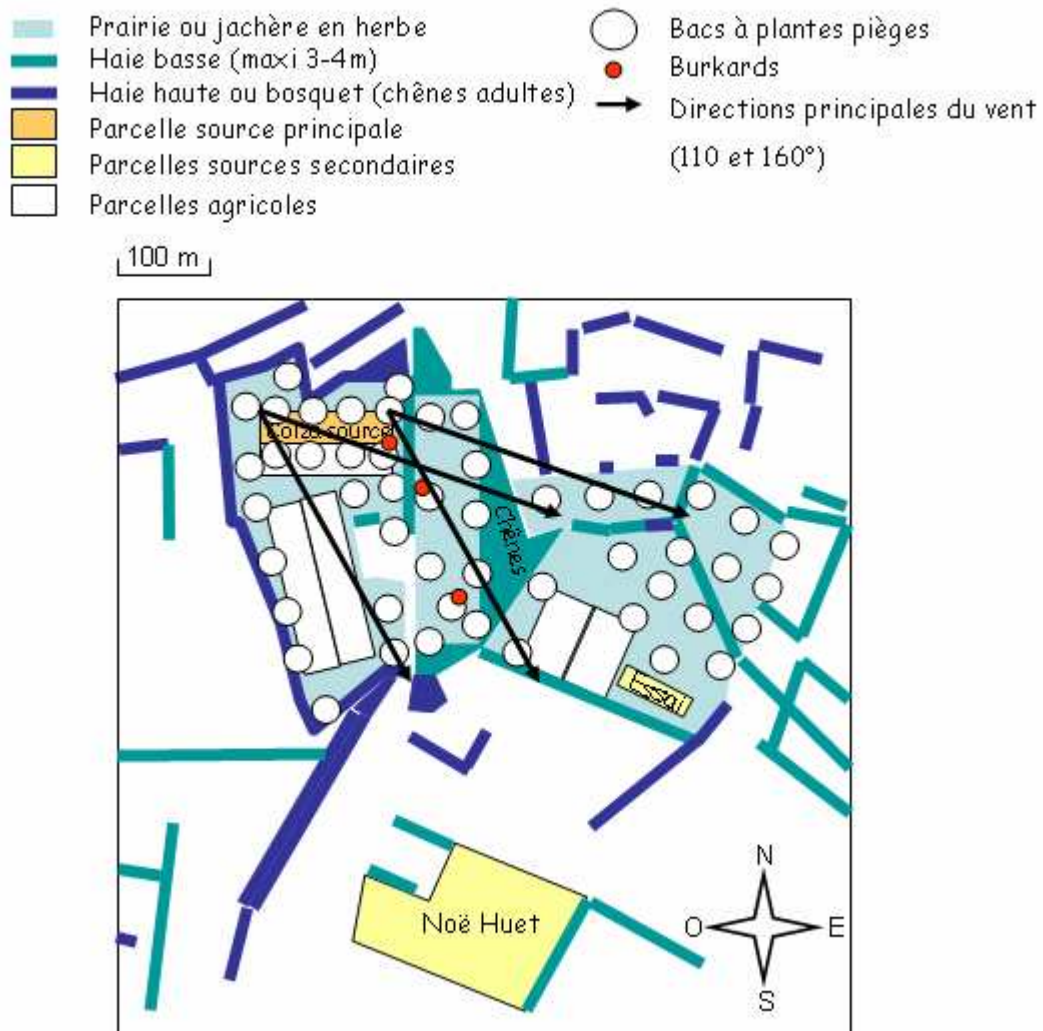
1.3.4. Discussion

On constate que le DI_{sim} est toujours supérieur au DI_{obs} , même pour la variété sensible. Les valeurs du temps thermique sont à la limite du domaine de validité de SIPPOM (entre 742 et 836 °C.j) alors que la valeur de biomasse choisie est comprise dans le domaine de validité (entre 38 et 4307 g.m⁻²). La surestimation du DI dans le formalisme de SIPPOM sera discutée dans les chapitres suivants.

Malgré le fait que les données utilisées n'étaient pas destinées à l'objectif qu'on leur a donné, les valeurs du coefficient sont assez stables selon les dates de relevé du nombre de macules. La valeur du coefficient choisie a été confrontée à une expertise. Selon Xavier Pinochet (CETIOM ; Comm. Pers.), les variétés classées très peu sensibles (combinant en général une résistance spécifique et une résistance quantitative) présenteraient des notes G_2 moyennes de l'ordre de 2,5, des variétés peu sensibles (avec une résistance quantitative) présenteraient des notes G_2 moyennes autour de 3-4 alors que les variétés sensibles présenteraient des notes G_2 moyennes autour de 6. Ainsi, α_{RQ} serait compris entre 0,42 (= 2,5/6, valeur prenant en compte l'effet de la résistance spécifique) et 0,67 (= 4/6). La valeur choisie semble être raisonnable.

Afin de tester l'effet de la variation de cette valeur sur l'indice de sévérité de la maladie, ce paramètre a été testé dans l'analyse de sensibilité (variation entre 0,325 et 0,975, Chapitre 3).

Figure 2.17. Plan de l'expérimentation réalisée sur le site expérimental INRA du Rheu. Des bacs contenant des plantes pièges (variété Drakkar) ont été disposés autour d'une parcelle source de spores jusqu'à une distance de 500 m. Trois Burkards ont également été disposés sur le site à 0, 50 et 200 m de la source.



2. Forces évolutives

Comme présenté dans le chapitre précédent, plusieurs types de forces évolutives ont un impact sur la structure des populations pathogènes, c'est-à-dire sur la composition des populations en différents pathotypes (Henry et Gouyon, 1999). La taille des populations pathogènes influence fortement l'effet de ces forces évolutives (McDonald et Linde, 2002). Nous appelons ici population pathogène l'ensemble des individus d'une parcelle.

2.1. Migration

2.1.1. Définition

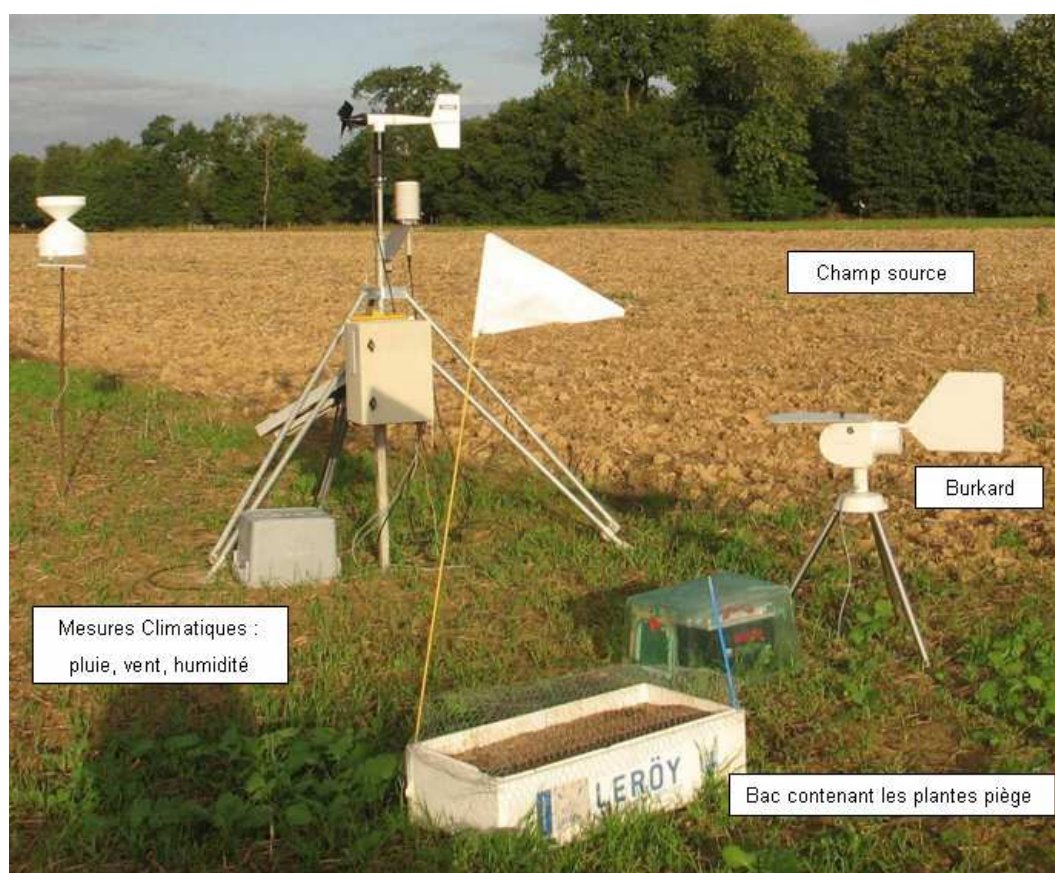
La migration représente les flux de gènes ou de génotypes dans l'espace (Henry et Gouyon, 1999). En ce qui concerne les maladies aériennes, la migration est essentiellement due à la dispersion des spores, sur de longues distances quand celles-ci sont dispersées par le vent. Elle a un impact important puisque la migration d'un pathotype virulent peut provoquer son apparition dans une région où il n'était pas présent, puis son augmentation en fréquence s'il est sélectionné au niveau des parcelles résistantes (McDonald et Linde, 2002). Il est donc nécessaire de représenter cette force évolutive dans un modèle simulant l'effet des stratégies de contrôle et de leur répartition spatiale sur la durabilité des résistances spécifiques. L'expérimentation présentée ci-après est en cours de valorisation dans une contribution à un ouvrage collectif du CETIOM sur le phoma du cloza.

2.1.2. Expérimentation : étude de la dispersion des ascospores de *L. maculans*

2.1.2.1. Introduction

Les ascospores de *Leptosphaeria maculans* sont dispersées par le vent sur des distances élevées, qui peuvent atteindre plusieurs kilomètres (West *et al.*, 2001). La concentration en ascospores décroît très rapidement sur les 500 premiers mètres par rapport à la source, puis se maintient à des niveaux faibles mais non nuls. Sur de telles distances, il est assez difficile d'établir une fonction de dispersion, puisque le piégeage des spores à l'aide de capteurs dynamiques devient impossible, les spores étant en concentration trop faible dans l'air. L'utilisation de plantes pièges est alors la plus fréquente. Salam *et al.* (2001), par exemple, placent autour d'une source de résidus infectés (3×2 m²) des plantes pièges en demi cercles concentriques jusqu'à 400 m de la source. Les résultats montrent une décroissance très rapide du nombre de spores interceptées sur les 50 premiers mètres, avec une absence de spores interceptées à partir de 200 m. En revanche, Marcroft *et al.* (2004a) ont observé une décroissance très progressive du nombre d'infections en plaçant des plantes pièges jusqu'à une distance de 1000 m à la source. Le nombre d'infections reste très élevé même à 1000 m de la source, ce qui laisse supposer la présence d'autres sources de spores. Guo et Fernando (2005) ont utilisé des pièges actifs (Burkard à la source et Rotorod) pour établir une courbe de dispersion des ascospores jusqu'à 45 m de la source. La concentration en ascospores décroît exponentiellement avec la distance à la source et est nulle à partir de 30 m de la source, ce qui

Figure 2.18. Parcelle source, relevés climatiques et piégeage de spores (Burkard et bac contenant les plantes pièges).



est une distance très inférieure aux autres résultats publiés. Les trois références citées montrent que l'établissement d'une courbe de dispersion précise est difficile. L'objectif de l'expérimentation était donc de tenter d'établir une fonction de dispersion des spores de *L. maculans*/*L. biglobosa* dans des conditions climatiques françaises et de comparer la fonction de dispersion obtenue à celle utilisée dans le modèle.

2.1.2.2. Matériels et méthodes

Sur le site expérimental de l'INRA du Rheu (48.1°N, 1.8°E, altitude 30 m) une expérimentation a été mise en place à l'automne 2006 afin d'établir un jeu de données sur la dispersion des ascospores de *L. maculans*/*L. biglobosa* en conditions françaises (topographie, dynamique de libération des spores) à partir d'une parcelle source (S). La parcelle source (S) semée à l'automne 2005 avec la variété de colza sensible Saturnin a présenté des symptômes de phoma (nécroses du collet) mi-mai 2006. Cette parcelle n'a reçu aucune inoculation artificielle, mais sur la parcelle adjacente, du blé avait été implanté en semis direct après une culture de colza en 2004-2005. Un seul déchaumage après récolte a été réalisé sur la parcelle source (S) au cours de l'été 2006 et les résidus de colza sont restés en place jusqu'à l'implantation de blé après labour le 10 novembre. On note sur le site la présence de deux autres parcelles de colza : un essai sur le site expérimental INRA, avec un apport de quelques résidus infectés (essai) et un champ de colza au lieu dit la Noë Huet (Figure 2.17). L'objectif de notre expérimentation en début d'automne 2006 était de quantifier la dispersion des ascospores de phoma à partir des résidus de la parcelle source d'une part, à l'aide de pièges à spores et d'autre part, à l'aide de plantes pièges (Figure 2.18).

Trois capteurs dynamiques (Burkards) ont été disposés à 0, 50 et 200 m de la parcelle source et les spores ont été piégées entre le 19 septembre et le 5 novembre. Début septembre, cinquante bacs (80 cm * 40 cm, profondeur 20 cm) remplis de terre ont été disposés sur l'ensemble du site expérimental jusqu'à 500 mètres de la parcelle source (Figure 2.17, 2.18). La variété de colza Drakkar sans gènes de résistance au phoma a été semée dans ces bacs le 18 septembre (0,2 g par bac soit 94 graines). Un repiquage de graines pré germées a été réalisé le 6 octobre pour ajouter des plantules dans les bacs où la levée était faible. Le 16 novembre, les plantes ont été récoltées et les macules comptées. Etant donné que la levée des plantes avait été irrégulière en fonction des bacs et que certains bacs avaient été fortement attaqués par des limaces malgré l'apport de molluscicide, les feuilles en âge de porter des macules ont été pesées en fin d'expérimentation afin de ramener la quantité de macules à une biomasse fraîche. Les feuilles en âge de porter des macules ont été sélectionnées en éliminant d'une part les feuilles trop âgées et abîmées sur lesquelles le dénombrement n'était plus possible et d'autre part les feuilles trop jeunes. L'identification des feuilles trop jeunes a été faite en comparaison avec les feuilles ne portant pas de macules sur les plantes fortement contaminées. Les données climatiques horaires (température, pluie, vitesse et direction du vent) ont été relevées sur la parcelle source pendant la durée de l'expérimentation (Figure 2.19). Afin de ne considérer que les bacs qui ont effectivement reçu des spores, le nombre d'heures pendant lesquelles le vent a soufflé dans les différentes directions (avec une

Figure 2.19. Nombre total de spores piégées avec les Burkards entre le 19 septembre et le 5 novembre 2006 en fonction de la distance à la source.

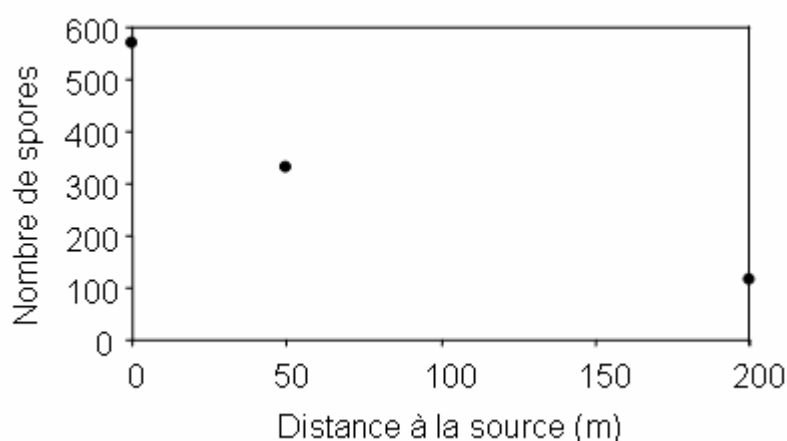


Figure 2.20. Nombre de macules par gramme de plantes de colza dans chaque bac de plantes piégés en fonction de la distance au plus proche bord de la parcelle source (chaque point représente un bac)

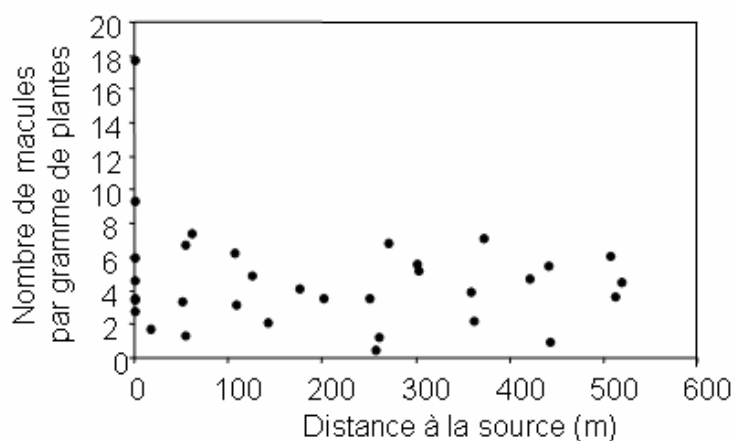
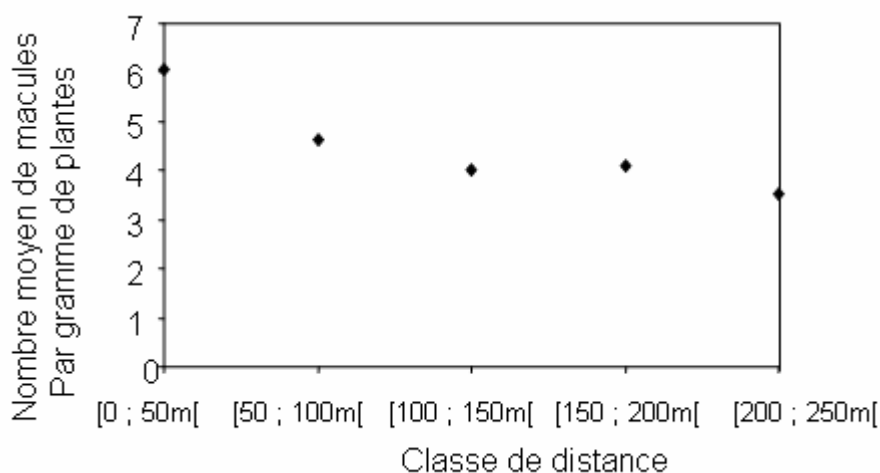


Figure 2.21. Nombre moyen de macules par gramme de plantes et par classe de distance à la source (chaque point représente la moyenne du nombre de macules pour les bacs situés dans la classe de distance considérée).



résolution de 10°) a été relevé pendant les deux périodes de projection d'ascospores. Les deux directions principales du vent pendant ces deux périodes étaient 110 et 160° (Figure 2.17).

2.1.2.3. Résultats et discussion

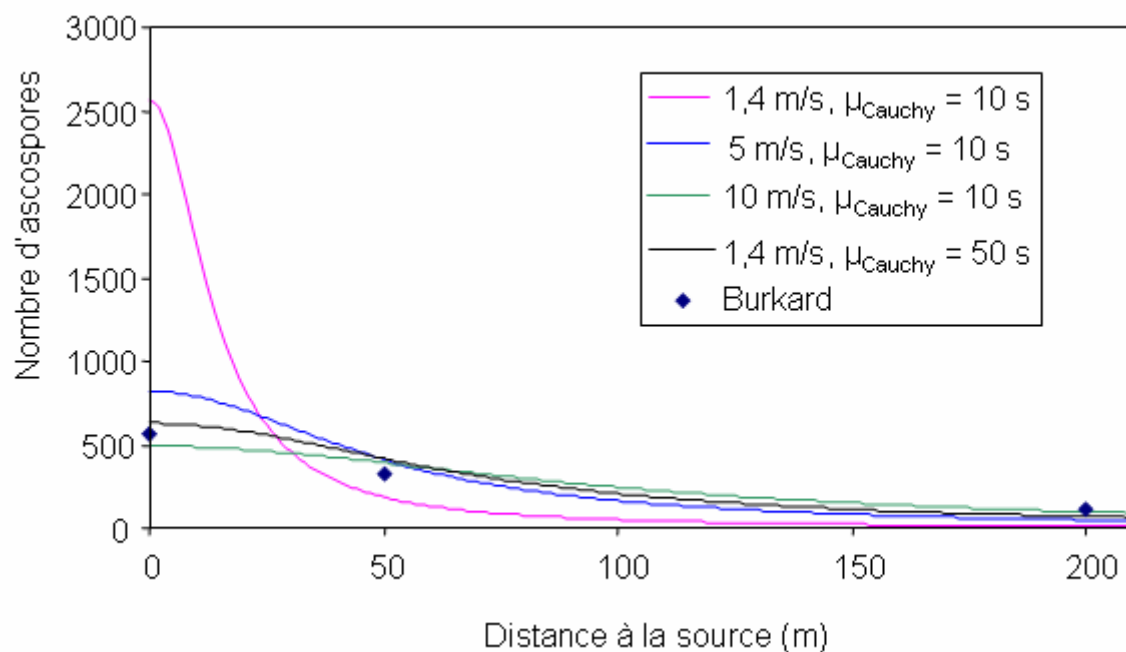
Piégeages des ascospores. La majorité des ascospores a été piégée au cours de deux périodes : 8-11 octobre et 25-29 octobre. Le nombre total de spores piégées pendant la période de 48 jours considérée décroît avec la distance à la source (Figure 2.19).

Infection de plantes pièges. Le nombre de macules comptées le 16 novembre ramené à la masse des plantes ne présente pas de décroissance nette avec la distance à la source même quand on considère seulement les bacs situés dans les directions du vent les jours de libération de spores (Figure 2.20). Ceci est en contradiction avec les données de piégeages à l'aide des Burkards, et deux hypothèses peuvent être proposées. D'une part, les sources secondaires de spores ont pu contaminer les bacs situés à des distances élevées de la source principale. D'autre part, le site expérimental choisi comporte des haies qui ont pu influencer la dispersion des spores aux distances élevées. Pour ces deux raisons, nous avons restreint l'échantillonnage aux seuls bacs situés à moins de 200 m de la parcelle source dans la direction du vent. Pour ce sous-échantillon, le nombre moyen de macules ramené à la masse des plantes en fonction de la classe de distance à la source décroît avec la distance à la source (Figure 2.21).

Dans nos conditions expérimentales (climat, topographie et quantité d'ascospores émises par la source), le nombre de spores piégées décroît jusqu'à 200 m de la source, mais ce nombre reste assez élevé. Contrairement aux résultats de Salam *et al.* (2001) ou Guo et Fernando (2005) mais similairement à Marcroft *et al.* (2004a), le nombre de macules ne décroît plus avec la distance pour les bacs situés entre 200 et 500 m. Etant donné le site de l'expérimentation, on peut supposer que des spores issues des deux autres parcelles de colza ont pu contribuer à infecter les plantes pièges des bacs qui en sont proches. Par ailleurs, la présence de haies entre la parcelle source et les bacs les plus distants a pu perturber la dispersion des ascospores. Ces résultats nous renseignent sur les risques d'infection à des courtes distances à la source mais illustrent les difficultés expérimentales auxquelles on est confronté quand on souhaite réaliser ce type d'étude à des distances supérieures.

Enfin, ces observations au même titre que celles des publications précédentes correspondent à l'observation d'un unique gradient de dispersion dans des conditions données (climat, topographie et quantité d'ascospores émises par la source). Or, en vue de la mise au point de stratégies de gestion des résistances, il est important d'identifier non seulement la dispersion moyenne des spores à partir d'une source, mais également d'analyser la variabilité existant en fonction du climat (par exemple intensité du vent), de la variété (qui jouerait par exemple sur la quantité de spores émise) ou du paysage (par exemple haies). Il sera important à l'avenir d'évaluer la variabilité des dispersions à partir de sources différentes ou dans des conditions climatiques différentes, même si l'acquisition de ces données est très difficile. L'observation de plusieurs gradients de maladie le même automne dans des champs d'agriculteurs confirme l'existence d'une forte variabilité (Bousset, données non publiées).

Figure 2.22. Comparaison entre les données expérimentales et la courbe de dispersion utilisée dans SIPPOM. La vitesse $1,4 \text{ m.s}^{-1}$ correspond à la vitesse moyenne relevée dans les directions principales du vent pendant les périodes de libération d'ascospores (8-11 octobre et 25-29 octobre).



2.1.3. Formalisation dans SIPPOM

Puisque nos résultats expérimentaux ne nous ont pas permis de déduire une fonction de dispersion des ascospores de *L. maculans* sur des distances supérieures à 200 m, nous avons fait le choix d'utiliser plutôt la fonction de dispersion proposée par une équipe de chercheurs australiens et re-paramétrée pour les spores de *L. maculans* (Diggle *et al.*, 2002 ; Salam, non publié). La fonction de dispersion qui a été utilisée dans SIPPOM suit une densité de probabilité semi-Cauchy :

$$f(l; \gamma) = \frac{2}{\pi \gamma \left(1 + \frac{l^2}{\gamma^2} \right)}.$$

Avec l : distance à la source, γ : facteur d'échelle qui prend en compte la vitesse du vent : $\gamma = \mu_{\text{cauchy}} * \text{vitesse}$. Cette fonction multipliée par dl représente la densité de probabilité qu'une spore tombe sur un intervalle infinitésimal dl à une distance l de la source en fonction de la vitesse du vent. Le paramètre μ_{cauchy} a été estimé en conditions australiennes (Salam, non publié) : des plantes pièges et des Burkards ont été disposées sur un kilomètre autour d'un tas de résidus infectés, dans une région d'openfield. Le paramètre μ_{cauchy} vaut 10 secondes.

2.1.4. Discussion

La fonction de dispersion ainsi définie décroît rapidement à des distances proches de la source puis se maintient (queue de dispersion). Telle quelle, la fonction ne permet pas de représenter les résultats obtenus expérimentalement (Figure 2.22) : avec une vitesse moyenne relevée de $1,4 \text{ m.s}^{-1}$, la quantité simulée de spores déposées à proximité de la source est beaucoup plus importante que la quantité relevée avec une valeur du paramètre μ_{cauchy} de 10s. Pour des vitesses de vent plus élevées (5 et 10 m.s^{-1}), la fonction de dispersion est en accord avec les données. Ceci pourrait être une indication que ce n'est pas la vitesse moyenne journalière du vent qu'il faut prendre en considération, mais plutôt la vitesse des bourrasques plus propices à arracher les spores de la couche limite existant à la surface du sol (ces bourrasques doivent coïncider avec la libération des ascospores déclenchée par la pluie). Nous ne disposons pas de ces données puisque seul le vent moyen a été mesuré, au pas de temps horaire. Cependant, si l'on regarde les données de moyennes horaires les jours d'émission des spores, on constate une hétérogénéité et des valeurs allant jusqu'à 3.2 m.s^{-1} , ce qui n'est pas incohérent avec l'existence de bourrasques plus fortes. Cette question de niveau de détail nécessaire s'applique par ailleurs à la direction du vent puisque nous avons constaté que les directions pertinentes pour la dispersion, c'est-à-dire les directions les jours d'émission d'ascospores, ne sont pas du tout identiques à la direction principale du vent sur la période automnale étudiée (données non présentées). Ces considérations interpellent sur le pas de temps du module dispersion à considérer, journalier ou plus fin.

Enfin, si l'on fixe la valeur du paramètre μ_{cauchy} à 50s (comme pour les spores de *Colletotrichum gloeosporioides*, Diggle *et al.*, 2002) avec la vitesse moyenne du vent relevée, la fonction de dispersion correspond aux données. Néanmoins, puisque la valeur de 10 s pour le paramètre μ_{cauchy} a été estimée et évaluée pour les spores de *L. maculans* dans de meilleures conditions expérimentales et pour des distances plus élevées que les nôtres, cette valeur a été conservée dans SIPPOM. La sensibilité du module dispersion à la variation du paramètre μ_{cauchy} a été analysée, en considérant les valeurs 5 s, 10 s et 50 s (Chapitre 3).

2.2. Sélection

2.2.1. Définition

La sélection selon Darwin (1858) est un processus qui entraîne une reproduction supérieure ou inférieure chez certains individus du fait de leur génotype. Selon la théorie de la reconnaissance gène-pour-gène initialement proposée par Flor (1955 ; 1971) un pathotype est capable d'infecter une variété avec un gène de résistance spécifique seulement s'il a perdu le gène d'avirulence correspondant à ce gène de résistance. Dans ce cas, la pression de sélection exercée par une variété résistante entraîne la sélection des pathotypes capables d'infecter la variété là où d'autres seront moins agressifs, voire incapables de survivre sur la variété résistante. Selon McDonald et Linde (2002), la sélection serait la force évolutive ayant le plus d'impact sur la structure des populations pathogènes, l'avantage sélectif des individus virulents étant très élevé dans le système agricole actuel (homogénéité des pressions de sélection et parcelles de grande taille).

La sélection doit être représentée dans le modèle, puisqu'elle va générer l'augmentation en fréquence des individus virulents dans une région où une variété résistante est cultivée. De plus, la proportion des surfaces cultivées avec la variété résistante va avoir un impact sur cette augmentation. Compte tenu des connaissances actuelles, il nous a été possible de formaliser la sélection exercée par les résistances spécifiques, mais nous ne disposons pas des informations nécessaires (mécanismes, jeux de données) pour proposer et quantifier un formalisme de sélection par les résistances quantitatives. Dans SIPPOM, toutes les souches sont égales sur la variété partiellement résistante, il ne peut donc pas y avoir érosion de son efficacité au cours du temps.

2.2.2. Formalisation dans SIPPOM

Neuf gènes de résistance spécifique ont été caractérisés chez le colza (Delourme *et al.*, 2006) et d'autres non encore publiés sont en cours de caractérisation. Dans SIPPOM, le nombre de gènes de résistance (ou le nombre de gènes d'avirulence) à considérer ($nvir$) est renseigné par l'utilisateur.

Prenons un exemple avec $nvir = 2$.

Sur chaque parcelle cible, une variété est représentée par un vecteur de taille $nvir$. Un élément du vecteur vaut 1 si la variété possède le gène de résistance correspondant, 0 sinon.

Prenons l'exemple d'une variété qui posséderait un des deux gènes de résistance, la variété est codée $\{1, 0\}$.

De la même façon, un pathotype est représenté par un vecteur de taille $nvir$. Un élément du vecteur vaut 1 si le pathotype possède le gène d'avirulence, 0 sinon. L'ensemble des pathotypes possibles (ensemble des combinaisons de gènes d'avirulence) est égal à 2^{nvir} et est représenté dans une liste.

Si $nvir = 2$, les pathotypes possibles sont $\{0,0\}$: le pathotype a perdu les deux gènes d'avirulence, il est donc double virulent ; $\{0,1\}$: le pathotype a perdu le gène d'avirulence 1 correspondant à la variété considérée, mais a conservé le gène d'avirulence 2, il est donc virulent pour la variété choisie ; $\{1,0\}$, le pathotype a perdu le gène d'avirulence 2, mais a conservé le gène d'avirulence 1 correspondant à la variété considérée, il est donc avirulent pour la variété choisie ; $\{1,1\}$: le pathotype a conservé les deux gènes d'avirulence, il est donc avirulent pour la variété choisie.

Quand on multiplie le vecteur variété par les vecteurs pathotype, la valeur obtenue est strictement positive quand il y a résistance.

Selon l'exemple,

$\{1,0\} * \begin{Bmatrix} 0 \\ 0 \end{Bmatrix} = 0$, le pathotype double virulent est capable d'infecter la variété ;

$\{1,0\} * \begin{Bmatrix} 0 \\ 1 \end{Bmatrix} = 0$, le pathotype simple virulent pour le gène d'avirulence 1 est capable d'infecter la variété,

$\{1,0\} * \begin{Bmatrix} 1 \\ 0 \end{Bmatrix} = 1$, le pathotype simple virulent pour le gène d'avirulence 2 n'est pas capable d'infecter la variété,

$\{1,0\} * \begin{Bmatrix} 1 \\ 1 \end{Bmatrix} = 1$, le pathotype double avirulent n'est pas capable d'infecter la variété.

Au début de chaque année culturale, la compatibilité entre les pixels sources et les pixels cibles est calculée dans le module génétique en fonction des pathotypes du pixel source et de la variété du pixel cible. Le filtre, qui représente la sélection, est un vecteur de longueur $2^{n_{vir}}$ construit à partir des multiplications présentées entre le vecteur variété et les vecteurs pathotypes. Ses éléments valent 1 si la multiplication est nulle (le pathotype correspondant est capable d'infecter la variété), 0 si la multiplication est strictement positive (le pathotype correspondant n'est pas capable d'infecter la variété). Chaque parcelle source de spores est par ailleurs caractérisée par une fréquence de chaque pathotype ($2^{n_{vir}}$ fréquences par parcelles). La multiplication terme à terme du filtre (caractéristique d'un couple pixel source / pixel cible) par les fréquences par pathotype du pixel source donne la proportion de spores issues du pixel source et dispersées vers le pixel cible qui sont capables d'infecter le pixel cible.

Dans l'exemple proposé, le filtre vaut $\{1, 1, 0, 0\}$. Si on suppose que les 4 pathotypes étaient équiprobables au niveau du pixel source, le vecteur des fréquences est égal à $\{0.25, 0.25, 0.25, 0.25\}$. La multiplication terme à terme de ces deux vecteurs vaut finalement $\{0.25, 0.25, 0, 0\}$. Parmi les spores dispersées à partir du pixel source et parvenant au pixel cible considéré, seuls les spores de deux pathotypes survivent. Le nombre de spores infectant le pixel cible est diminué par 2.

2.2.3. Discussion

Le formalisme choisi nous permet de distinguer le devenir et la dispersion des individus de chacun des pathotypes. Cette approche n'est pas nouvelle, mais ce qui est important est d'avoir pu la transposer au niveau d'un simulateur à l'échelle pluri parcellaire. Ainsi nous allons pouvoir suivre au cours du temps l'évolution des fréquences des allèles de virulence. Ceci ouvre la perspective de combiner les stratégies de gestion à la parcelle avec les stratégies à l'échelle du paysage, car la composition des populations de chacune des sources va pouvoir se différencier au cours du temps.

		Parent 1			
		00	01	10	11
Parent 2	00	1,0,0,0	$\frac{1}{2}, \frac{1}{2}, 0, 0$	$\frac{1}{2}, 0, \frac{1}{2}, 0$	$\frac{1}{2}(1-c_{12}), c_{12}/2, c_{12}/2, \frac{1}{2}(1-c_{12})$
	01	-	0,1,0,0	$c_{12}/2, (1-c_{12})/2, (1-c_{12})/2, c_{12}/2$	$0, \frac{1}{2}, 0, \frac{1}{2}$
	10	-	-	0,0,1,0	$0, 0, \frac{1}{2}, \frac{1}{2}$
	11	-	-	-	0,0,0,1

		Parent 1							
		000	001	010	011	100	101	110	111
Parent 2	000	1,0,0,0, 0,0,0,0	$\frac{1}{2}, \frac{1}{2}, 0, 0,$ $0, 0, 0, 0$	$\frac{1}{2}, 0, \frac{1}{2}, 0,$ $0, 0, 0, 0$	$\frac{1}{4}, \frac{1}{4}, \frac{1}{4}, \frac{1}{4},$ $0, 0, 0, 0$	$\frac{1}{2}, 0, 0, 0,$ $\frac{1}{2}, 0, 0, 0$	$\frac{1}{4}, \frac{1}{4}, 0, 0,$ $\frac{1}{4}, \frac{1}{4}, 0, 0$	$\frac{1}{4}, 0, \frac{1}{4}, 0,$ $\frac{1}{4}, 0, \frac{1}{4}, 0$	$\frac{1}{8}, \frac{1}{8}, \frac{1}{8},$ $\frac{1}{8}, \frac{1}{8}, \frac{1}{8},$ $\frac{1}{8}, \frac{1}{8}$
	001		0,1,0,0, 0,0,0,0	$\frac{1}{4}, \frac{1}{4}, \frac{1}{4}, \frac{1}{4},$ $0, 0, 0, 0$	$0, \frac{1}{2}, 0, \frac{1}{2},$ $0, 0, 0, 0$	$\frac{1}{4}, \frac{1}{4}, 0, 0,$ $\frac{1}{4}, \frac{1}{4}, 0, 0$	$0, \frac{1}{2}, 0, 0,$ $0, \frac{1}{2}, 0, 0$	$\frac{1}{8}, \frac{1}{8}, \frac{1}{8},$ $\frac{1}{8}, \frac{1}{8}, \frac{1}{8},$ $\frac{1}{8}, \frac{1}{8}$	$0, \frac{1}{4}, 0, \frac{1}{4},$ $0, \frac{1}{4}, 0, \frac{1}{4}$
	010			0,0,1,0, 0,0,0,0	$0, 0, \frac{1}{2}, \frac{1}{2},$ $0, 0, 0, 0$	$\frac{1}{4}, 0, \frac{1}{4}, 0,$ $\frac{1}{4}, 0, \frac{1}{4}, 0$	$\frac{1}{8}, \frac{1}{8}, \frac{1}{8}, \frac{1}{8},$ $\frac{1}{8}, \frac{1}{8}, \frac{1}{8},$ $\frac{1}{8}, \frac{1}{8}$	$0, 0, \frac{1}{2}, 0,$ $0, 0, \frac{1}{2}, 0$	$0, 0, \frac{1}{4}, \frac{1}{4},$ $0, 0, \frac{1}{4}, \frac{1}{4}$
	011				0,0,0,1, 0,0,0,0	$\frac{1}{8}, \frac{1}{8}, \frac{1}{8}, \frac{1}{8},$ $\frac{1}{8}, \frac{1}{8}, \frac{1}{8},$ $\frac{1}{8}, \frac{1}{8}$	$0, \frac{1}{4}, 0, \frac{1}{4},$ $0, \frac{1}{4}, 0, \frac{1}{4}$	$0, 0, \frac{1}{4}, \frac{1}{4},$ $0, 0, \frac{1}{4}, \frac{1}{4}$	$0, 0, 0, \frac{1}{2},$ $0, 0, 0, \frac{1}{2}$
	100					$0, 0, 0, 0,$ $1, 0, 0, 0$	$0, 0, 0, 0,$ $\frac{1}{2}, \frac{1}{2}, 0, 0$	$0, 0, 0, 0,$ $\frac{1}{2}, 0, \frac{1}{2}, 0$	$0, 0, 0, 0,$ $\frac{1}{4}, \frac{1}{4}, \frac{1}{4}, \frac{1}{4}$
	101						$0, 0, 0, 0,$ $0, 1, 0, 0$	$0, 0, 0, 0,$ $\frac{1}{4}, \frac{1}{4}, \frac{1}{4}, \frac{1}{4}$	$0, 0, 0, 0,$ $0, \frac{1}{2}, 0, \frac{1}{2}$
	110							$0, 0, 0, 0,$ $0, 0, 1, 0$	$0, 0, 0, 0,$ $0, 0, \frac{1}{2}, \frac{1}{2}$
	111								$0, 0, 0, 0,$ $0, 0, 0, 1$

2.3. Recombinaison

2.3.1. Définition

La recombinaison est une conséquence de la reproduction sexuée, et elle permet l'apparition dans la descendance de nouvelles combinaisons des caractères parentaux (Henry et Gouyon, 1999). L'association statistique des allèles à deux loci existant chez chacun des parents (associations parentales) est modifiée et aboutit à de nouvelles associations appelées recombinées. L'existence de la recombinaison dépend de la liaison physique entre les loci. La recombinaison entraîne l'augmentation de la diversité génétique chez les populations pathogènes, ce qui a été caractérisé comme un facteur de risque pour le contournement des résistances spécifiques (McDonald et Linde, 2002). La reproduction entre des pathotypes qui ont perdu chacun un gène de virulence différent peut donc conduire grâce à la recombinaison à la production de descendants cumulant la perte des deux gènes d'avirulence. *Leptosphaeria maculans* est un champignon hétérothallique, chez lequel la reproduction sexuée est conditionnée par la rencontre entre des individus de types sexuels différents. La recombinaison peut avoir une influence sur la vitesse de contournement des résistances spécifique par le champignon pathogène puisque ceci a été étudié dans un modèle théorique (Brown, 1995), et SIPPOM peut permettre d'étudier cet aspect plus en détail et surtout en interaction avec les autres facteurs.

2.3.2. Formalisation dans SIPPOM

L'objectif est de rendre compte de la recombinaison pouvant avoir lieu entre les gènes d'avirulence lors de la reproduction sexuée de *L. maculans*. Le phénomène de recombinaison est complexe à représenter, en particulier si on considère plusieurs gènes, ainsi que la liaison physique entre ces gènes. Ainsi, dans SIPPOM, la recombinaison peut être simulée pour 2 ou 3 gènes d'avirulence. La recombinaison pour un nombre de gènes plus important est difficile à modéliser et à se représenter en terme de conséquences sur les sorties du modèle. La liaison physique entre les gènes est représentée par un coefficient. Ce coefficient est nul si les deux gènes sont complètement liés (pas de recombinaison possible), et vaut 0,5 si les deux gènes sont indépendants. La liaison physique entre les gènes n'est considérée que dans le cas de la recombinaison entre deux gènes. Comme présenté précédemment, un pathotype est représenté par un vecteur de taille n_{vir} . Les éléments du vecteur représentent la présence (1) ou l'absence (0) du gène d'avirulence considéré.

Lorsque deux individus se rencontrent, le type sexuel n'est pas considéré comme un facteur limitant. La première étape est de déterminer quels sont les descendants possibles. L'ensemble des génotypes possibles pour les descendants est représenté dans le tableau 2.8 pour le cas de la recombinaison entre deux gènes d'avirulence (c_{12} représente le coefficient de liaison physique entre les deux gènes, compris entre 0 et 0,5), et tableau 2.9 pour le cas de la recombinaison entre trois gènes d'avirulence physiquement indépendants. Chaque élément de la matrice représente la liste des fréquences des pathotypes descendants possibles, classée selon un ordre croissant (la somme des éléments de cette liste devant être égale à 1).

La seconde étape est de calculer le nombre total de rencontres entre pathotypes, ainsi que les fréquences par pathotype obtenues avec l'ensemble des descendants. Ces fréquences découlent de la multiplication des éléments de la matrice de recombinaison (Tableau 2.8 ou 2.9) par la proportion de cas de rencontre entre les deux pathotypes parents considérés, par rapport au nombre total de rencontres.

2.3.3. Discussion

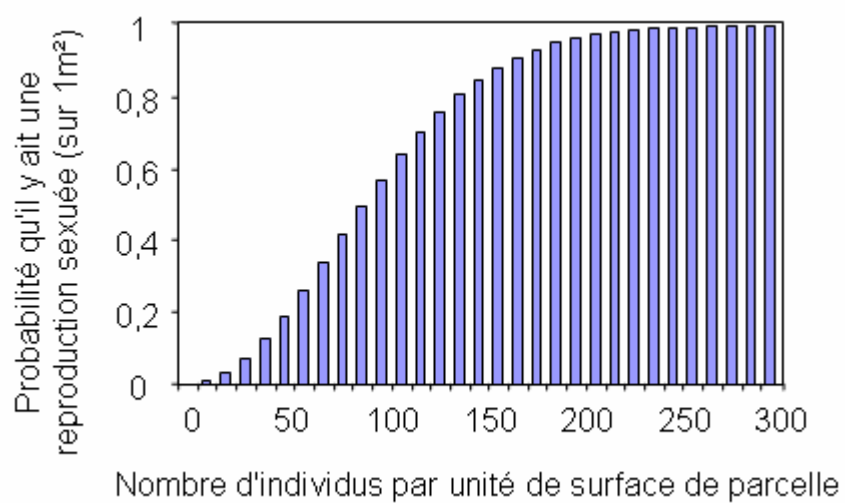
Le formalisme choisi nous permet de prendre explicitement en compte l'association entre allèles lors de la recombinaison. La part due à l'association statistique des allèles de virulence est décrite par le fait de travailler sur les fréquences de pathotype (et non pas sur les fréquences alléliques). La possibilité – optionnelle pour l'utilisateur – de prendre en compte la liaison physique entre les gènes de virulence est une originalité de notre approche. En effet, chez *L. maculans*, les gènes d'avirulence sont organisés en cluster (Delourme *et al.*, 2006). Cette caractéristique n'est pas propre à ce champignon et a été décrite par exemple chez *Blumeria graminis* (responsable de l'oïdium de l'orge ; Pedersen *et al.*, 2002). Pouvoir inclure cet aspect de la biologie ouvre d'une part la perspective de pouvoir comparer les résultats des simulations avec les données expérimentales, y compris lorsque les gènes d'avirulence ne sont pas physiquement indépendants. D'autre part, avoir inclus explicitement cette caractéristique dans SIPPOM ouvre la perspective d'analyser les stratégies de gestion basées sur la création de variétés combinant plusieurs gènes de résistance, choisis spécifiquement en fonction de l'existence d'une liaison physique pour les gènes de virulence correspondant chez le champignon.

2.4. Effet Allee

2.4.1. Définition

L'effet Allee (Allee, 1931) représente la réduction du nombre de descendants transmis par chaque individu lorsqu'il se trouve dans une population de petite taille, par rapport à ce qu'il aurait pu transmettre dans une population de grande taille. Par exemple, pour des individus dans une population de petite taille, la probabilité de rencontrer un partenaire et donc de transmettre des descendants par reproduction sexuée est plus faible. Concernant les populations de *L. maculans*, en début de contournement d'une résistance spécifique efficace, les individus pourraient avoir des difficultés à se rencontrer sur une même plante. Une thèse est actuellement en cours à l'INRA du Rheu sur ce sujet. Renaud Travadon étudie deux aspects du cycle de vie de *L. maculans* (dispersion des pycniospores, systémie) qui pourraient influencer sur la rencontre de partenaires au collet d'une même plante. Par ailleurs, une étude en parcelles expérimentales est en cours sur le site du Rheu (Bousset, non publié) pour tester l'hypothèse selon laquelle la taille réduite des populations pathogènes peut limiter leur transmission de descendants. Le maintien des populations virulentes à des faibles tailles permettrait de limiter la transmission des pathotypes virulents entre deux années culturales. SIPPOM peut permettre d'évaluer l'impact de l'effet Allee à des échelles régionales sur la durabilité des résistances.

Figure 2.23. Représentation de la probabilité qu'il y ait au moins un évènement de reproduction sexuée en fonction du nombre d'individus par unité de surface, pour un nombre de sites de rencontre au collet $N_s = 100$.



2.4.2. Formalisation dans SIPPOM

Il existe actuellement peu de données expérimentales permettant de représenter l'effet Allee chez un champignon pathogène. Nous avons donc choisi un formalisme basé sur des hypothèses simples. On considère que le bas de la tige d'une plante est composé de N_s sites de rencontres d'individus. A l'échelle du peuplement (au m^2), on a donc $N_s * \text{Densité}$ sites potentiels de rencontre d'individus. On suppose que n individus atteignent l'espace considéré, et qu'un individu peut arriver sur chacun de ces sites de manière équiprobable. On considère qu'il y a reproduction sexuée si au moins deux individus se trouvent sur le même site, et ce, sans tenir compte de leurs types sexuels. Avec ces hypothèses, on peut calculer la probabilité que tous les individus tombent sur des sites différents, c'est-à-dire qu'il n'y ait pas de reproduction sexuée. On en déduit facilement que la probabilité qu'il y ait reproduction sexuée sur l'espace considéré, qui s'écrit :

$$P(n) = 1 - \frac{(N_s * \text{Densité} * S)!}{((N_s * \text{Densité} * S) - n)! (N_s * \text{Densité} * S)^n} \quad \text{où } S \text{ est la surface de sol considérée.}$$

La relation obtenue pour $N_s = 100$ et $\text{Densité} = 60$ plantes par m^2 est présentée dans la figure 2.23, pour n compris entre 1 et 300 (au dessus de 300, la probabilité vaut $1-10^{-4}$).

2.4.3. Discussion

Le formalisme proposé ne dépend que d'un seul paramètre : le nombre de sites de rencontre par plante N_s . En l'absence de données, sa valeur a été fixé arbitrairement à 100 pour le moment. Cette valeur nous semble plausible, même s'il n'existe pas de données pour la renseigner : elle est du même ordre de grandeur qu'un nombre de macules cumulé par plante, en supposant que tous les individus responsables d'une macule sont capables de parvenir au collet. Cependant, des expérimentations en conditions contrôlées indiquent que la compétition entre individus peut influencer le succès de leur progression systémique jusqu'au collet de la plante (Travadon 2008a ; 2008b). On notera toutefois que la coexistence de plusieurs individus au collet d'une même plante a déjà été décrite, et que chacun peut coloniser un volume conséquent de tissus même si ce volume n'est pas actuellement estimé avec précision (Schmit *et al.*, 2002). Le formalisme pour l'effet Allee pourra probablement être précisé à l'aide des données en cours d'acquisition sur *L. maculans*. Cependant, on peut déjà souligner que si au niveau d'une population les types sexuels sont équifréquents (d'où notre choix de ne pas le considérer comme facteur limitant lors de la reproduction sexuée, voir 2.3.2), ceci n'est pas vrai à l'échelle de chacune des plantes individuelles (Schmit *et al.*, 2002). Le maintien des populations virulentes à des faibles tailles permettrait de limiter la transmission des pathotypes virulents entre deux années culturales. Avoir explicitement pris en compte ce mécanisme dans SIPPOM ouvre la perspective d'évaluer l'impact de l'effet Allee à des échelles régionales sur la durabilité des résistances, ce qui n'a pas été à ce jour réalisé à part dans le cas du champignon phytopathogène *Tilletia indica* dont le cycle de vie sur blé est très particulier (Garrett et Bowden, 2002). La sensibilité du modèle aux variations de la valeur du paramètre N_s a été analysée (Chapitre 3).

2.5. Autres forces évolutives

2.5.1. Mutation

La mutation est une erreur dans la reproduction conforme du message génétique (Henry et Gouyon, 1999). C'est le mécanisme principal d'apparition des virulences, en particulier chez les bactéries et les virus, puisque la taille importante des populations entraîne un nombre de mutations plus important (McDonald et Linde, 2002). Cependant, chez *L. maculans*, il a été montré que les pathotypes virulents correspondant à des gènes de résistance spécifique jamais encore utilisés en Europe sont déjà présents en très faible fréquence dans les populations (Brun *et al.*, 2001). Nous avons donc fait le choix de ne pas représenter la mutation dans SIPPOM. Ainsi, l'apparition des individus virulents n'est pas explicitée et les pathotypes virulents correspondant à la nouvelle variété résistante sont introduits dans SIPPOM grâce à l'initialisation de leur fréquence à des valeurs très faibles. Cependant, ceci pose le problème des valeurs que l'on donne à ces fréquences très faibles, puisqu'elles ne sont pas accessibles à l'expérimentation : l'obtention de ces valeurs nécessiterait un prélèvement d'un nombre de macules de l'ordre de 10^6 , suivi d'isolement et de caractérisation des isolats. La sensibilité du modèle aux valeurs de ces fréquences a été analysée (Chapitre 3).

Par ailleurs, des données nouvelles très récentes permettent de mieux comprendre les mécanismes d'apparition des virulences chez *L. maculans*. Quatre types de mutations ont été décrits comme permettant l'acquisition de virulence (Balesdent, 2008). La perte du gène d'avirulence peut se faire par délétion d'un fragment d'ADN, c'est ce qui a été observé pour le gène AvrLm1 (Gout *et al.*, 2007). Le gène d'avirulence peut être inactivé par insertion de séquences de rétrotransposons dans le gène ou la région promotrice (cas observé chez une souche avrLm7) ou par mutation de type RIP (*Repeat Induced Point Mutation*). La mutation RIP est un mécanisme particulier qui a lieu au cours de la méiose. Elle provoque des transitions C>T et G>A dans les séquences répétées du génome, impliquant l'apparition de codons stop donc l'inactivation du gène. Ce mécanisme est postulé intervenir dans l'inactivation des transposons. Des cas ont été observés chez des souches avrLm1 et avrLm7. Enfin, des phénomènes de mutation ponctuelle peuvent entraîner la perte du gène d'avirulence. Ce cas a été observé chez des souches avrLm4, où la perte de la reconnaissance du gène d'avirulence par les variétés possédant le gène de résistance Rlm4 ne s'accompagne pas de la perte de la fonction du gène d'avirulence pour le pathotype.

La diversité des mécanismes observés peut expliquer l'apparition rapide de virulences lors de l'introduction de nouveaux gènes de résistance dans les variétés. Ces mécanismes ne sont pas spécifiques aux différents gènes d'avirulence. De plus, certains gènes d'avirulence sont liés entre eux dans le génome, comme AvrLm1, 2 et 6 ou AvrLm4, 3 et 7, ce qui implique que l'acquisition des virulences n'est pas indépendante. On peut d'ores et déjà utiliser la version actuelle de SIPPOM pour tester l'effet de construction de variétés combinant plusieurs résistances sur la durabilité. Une perspective lorsque l'ensemble des informations aura été rassemblé, serait de compléter SIPPOM en explicitant l'apparition des individus virulents par mutation, pour pouvoir mieux prendre en compte les spécificités biologiques de *L. maculans*.

2.5.2. Coût de virulence

Un pathotype qui a perdu un gène d'avirulence acquiert un avantage sélectif pour infecter les variétés possédant le gène de résistance correspondant. En même temps, la perte de la fonction du gène d'avirulence peut entraîner un coût de survie supplémentaire pour le pathotype, ce qui le rend moins compétitif sur les parcelles de variétés sensibles. On connaît peu le coût associé à l'acquisition des virulences chez *L. maculans*, et cela doit dépendre du gène d'avirulence considéré. Dans le cas de l'acquisition de la virulence 4 par exemple, l'allèle avirulent AvrLm4 offre un avantage sélectif aux pathotypes correspondants : accroissement du nombre et du diamètre des macules, meilleure production de pycnides et meilleure progression systémique (Huang *et al.*, 2006). Pietravalle *et al.* (2006) ont montré, grâce à l'utilisation d'un modèle basé sur celui de van den Bosch et Gilligan (2003), que le coût de virulence aurait un impact important sur la durabilité. Il serait donc nécessaire d'estimer ce coût à chaque étape du cycle de développement du champignon ainsi que le coût global. Cependant, quatre éléments nous ont amenés à faire le choix de ne pas expliciter le coût de virulence dans SIPPOM : i) le manque de données disponibles au début de mon travail de thèse, ii) le fait que le coût de la virulence varie en fonction du gène d'avirulence considéré, iii) le fait que le coût de la virulence vis-à-vis d'un gène donné ne peut pas être prédit à l'avance avant l'apparition des premières souches virulentes, ce qui n'en fait pas un levier pour les stratégies de gestion, et iv) le fait que le coût de la virulence vis-à-vis d'un gène donné peut évoluer au cours du temps suite à l'adaptation des populations (il faudrait alors modéliser aussi cet aspect). Si ces difficultés étaient contournées, il serait tout à fait possible d'expliquer ce mécanisme dans SIPPOM et les formalismes actuels rendent cette modification ultérieure possible, en pondérant les fréquences des pathotypes lors du filtre.

2.5.3. Dérive génétique

La dérive génétique représente la fluctuation aléatoire de la fréquence des gènes dans une population d'effectif limité (Henry et Gouyon, 1999). Cette notion est donc liée à la taille des populations pathogènes : alors qu'une taille importante favorise l'apparition de nouveaux allèles par mutation, une faible taille peut conduire à la disparition d'allèles du fait de la dérive génétique (McDonald et Linde, 2002). La virulence acquise par certains pathotypes peut disparaître dans des populations pathogènes de petite taille en l'absence de pression de sélection (disparition de la région de la variété possédant le gène de résistance correspondant), si par ailleurs la perte du gène d'avirulence entraîne un coût de survie supplémentaire pour le pathotype. En général, les nouvelles variétés commercialisées possèdent les gènes de résistances qui ont été contournés (par exemple, 25 % des variétés en France possèdent le gène de résistance Rlm4 ; d'après X. Pinochet, CETIOM, M.H. Balesdent, INRA, cités par Huang *et al.*, 2006). Ainsi, la pression de sélection exercée sur les populations pathogènes reste importante, et il est peu probable que la dérive génétique soit un mécanisme majoritaire de disparition des virulences. De plus, la dérive étant un phénomène aléatoire, ce n'est pas un levier d'action facilement transposable en stratégie de gestion. Nous avons donc choisi de ne pas représenter la dérive génétique dans SIPPOM.

3. Conclusion

Cette partie m'a permis de compléter les modules préexistants utilisés dans SIPPOM, et de créer les modules manquants. Bien sûr, des améliorations seront possibles dans le futur, en particulier avec l'arrivée de connaissances nouvelles. Cependant, c'est la première fois que la somme de toutes ces informations est rassemblée pour un même champignon phytopathogène. Ceci offre la perspective unique de modéliser explicitement l'intégralité du cycle de vie du champignon sous les effets des systèmes de culture. En particulier, la récurrence des épidémies entre les saisons successives, la croissance du peuplement, la dispersion de l'inoculum entre parcelles dans le paysage et la prise en compte de plusieurs forces évolutives. Le chapitre suivant présente la structure du modèle ainsi que son analyse de sensibilité.

Chapitre 3. Structure et analyse de sensibilité de SIPPOM

Chapitre 3. Structure et analyse de sensibilité de SIPPOM

L'objectif de ce chapitre est de présenter d'une part la structure et les équations de SIPPOM, et d'autre part l'analyse de sensibilité qui a été réalisée pour tester la sensibilité du modèle aux variations des paramètres. Le chapitre est composé de deux publications qui ont été soumises dans « Field Crops Research ». Plusieurs annexes (appelées dans les publications en note de bas de page) sont également disponibles pour compléter la description de certaines parties du modèle. Enfin, la dernière partie présente des exemples de simulations réalisées avec le modèle conçu au cours de ce travail de thèse.

1. SIPPOM-WOSR : un simulateur pour la gestion intégrée des populations pathogènes pour l'étude du Phoma du colza

SIPPOM-WOSR: a Simulator for Integrated Pathogen POpulation Management adapted to study blackleg on Winter OilSeed Rape

1.1. Résumé / Abstract

Résumé. Le phoma est l'une des maladies les plus préjudiciables à la culture du colza. Cette maladie est causée par le complexe d'espèces *Leptosphaeria maculans*/*L. biglobosa*. Le choix d'une variété avec un bon niveau de résistance (spécifique ou quantitative) est la principale méthode de lutte efficace contre le phoma. Même si les nouvelles variétés avec résistance spécifique sont très efficaces, cette efficacité est peu durable, et maintenir l'efficacité dans le temps représente un enjeu pour la recherche partout où le colza est cultivé. D'autres méthodes de lutte sont mobilisables pour contrôler le phoma, comme le raisonnement de la date et de la densité de semis, les traitements fongicides (appliqués aux dates et doses appropriées), ou encore les apports en azote organique pour la croissance de la culture en automne. De plus, la gestion des résidus de culture infectés permet de limiter la quantité d'inoculum primaire. Cependant, peu d'informations sont disponibles pour définir les meilleures combinaisons de ces méthodes de lutte à l'échelle régionale et sur plusieurs années, afin de concevoir des systèmes de culture qui permettent un contrôle durable de la maladie, c'est-à-dire qui préserve l'efficacité des résistances spécifiques, qui maximise les revenus des agriculteurs, et qui limite les impacts environnementaux. Les combinaisons de méthodes de lutte sont difficilement évaluables expérimentalement. Les modèles sont donc une alternative intéressante, particulièrement pour évaluer l'ensemble des sorties des stratégies de contrôle testées. SIPPOM, *Simulator for Integrated Pathogen POpulation Management*, a été développé pour répondre à ces enjeux. Le modèle simule l'évolution de la structure et de la taille des populations pathogènes sous l'influence des stratégies de contrôle. Le modèle est composé de 5 modules simulant i) la production d'inoculum primaire, ii) la dispersion des ascospores, iii) la croissance du peuplement, iv) l'infection (sévérité de la maladie et perte de rendement associée), et v) l'évolution de la structure des populations de *L. maculans*. Les variables d'entrées sont les données climatiques, les caractéristiques du sol, la description des systèmes de culture (succession et itinéraires techniques) et leur répartition spatiale, et la taille et la structure initiale des populations pathogènes. Les forces évolutives représentées sont la migration, la sélection, la recombinaison, et l'effet Allee. Les performances économiques des

stratégies simulées sont évaluées grâce au calcul d'une pseudo marge brute prenant en compte le coût des opérations techniques, le prix de vente des cultures, et le rendement (rendement accessible diminué des pertes de rendement dues à la maladie). Les performances environnementales des stratégies sont également évaluées. La structure du modèle ainsi que les hypothèses pour sa conception sont présentées. Des exemples de simulations montrent l'utilisation possible de SIPPOM pour tester des stratégies de contrôle collectif et durable du phoma à l'échelle régionale.

Abstract. Blackleg, also known as phoma stem canker, is one of the major diseases of oilseed rape. It is caused by the species complex *Leptosphaeria maculans*/*L. biglobosa*. Choosing a cultivar with a good level of resistance (specific and/or quantitative) is one of the best options for blackleg management in winter oilseed rape. Although new specific resistances are very strong, their lack of durability has been a vital issue in all oilseed growing areas world-wide. There are other options for blackleg management, like sowing at right time and rate, applying fungicides at proper time(s) and rate, and preventing high nitrogen availability in soil during autumn. In addition, the management of infected stubble can limit primary inoculum production at a regional scale. However, information is lacking on how to design the cropping systems combining these options over multiple-year-cycle at a regional scale to durably control the disease: preservation of the efficacy of specific resistances, maximisation of economic profits while preserving the environment. It is highly difficult to test these combinations of disease management options using traditional field experimentation approach. Alternately, modelling is an effective and practical approach, especially to test the likely outcome of various disease management strategies. In this study, SIPPOM, a Simulator for Integrated Pathogen POpulation Management, was developed. It simulates the size and genetic structure of *L. maculans* population under the influence of various cropping systems. The simulator consists of five sub-models i) primary inoculum production, ii) ascospores dispersion, iii) crop development, iv) plant infection, disease severity and yield loss, and v) changes of the genetic structure of pathogen populations over time. The input variables are climatic data, soil characteristics, description of cropping systems (crop sequence and winter oilseed rape crop management) and their spatial distribution, initial size and genetic structure of pathogen populations. The genetic evolutionary forces taken into account are migration, selection, recombination, and the Allee effect. The economic performance of the simulated strategies is computed using the technical operation costs, crop prices, and actual yield (attainable yield minus yield loss due to the disease). The environmental performance of the simulated strategies is also calculated directly as a function of the considered cropping systems. We present the structure of the model, explain the hypotheses, show examples of simulation and discuss the possible use of SIPPOM with respect to the design of collective strategies for the durable control of blackleg on winter oilseed rape at a regional scale.

1.2. Key words

Phoma stem canker; *Leptosphaeria maculans*; *Brassica napus*; model; resistance durability; Integrated Pest Management

1.3. Introduction

Today, pest management through the adaptation of cropping systems has become a major concern in agronomic research, because of the environmental impacts caused by the intensive use of pesticides (Aubertot *et al.*, 2005). There is a need to find alternative control methods that limit the excessive pesticide use. Another challenge is to preserve the efficiency of control methods over time (Aubertot *et al.*, 2006a). Pesticides have shown their limits, as proved by their impacts in terms of pollution of air, soil and water (Connel, 2005), risks for human health (Tron *et al.*, 2001) and loss of efficiency due to adaptation of pest populations (*e.g.* McCartney *et al.*, 2007). Similarly, in the case of diseases, the high use, in a given area, of cultivars with the same specific resistance gene can lead to the total inefficiency of this resistance (*e.g.* the breakdown of the Yr17 resistance gene against yellow rust of wheat, Bayles *et al.*, 2000). There is therefore a great need to design new cropping systems that are less susceptible to pests. IPM consists in using a combination of control methods satisfying economical, ecological and toxicological requirements (OILB/SROP, 1973; Ferron and Deguine, 1999). Five types of control methods can be used: chemical, genetic, cultural, biological and physical (Aubertot *et al.*, 2006b). The efficiency of these control methods has to be maintained over years, particularly genetic and chemical control methods. The control strategies should be durable in terms of efficiency, profitability and environmental preservation.

Integrated Avirulence Management consists in limiting the selection pressure exerted on pathogen populations and, at the same time, reducing the size of pathogen populations by combining cultural, chemical, biological and physical control methods (Aubertot *et al.*, 2006a). Limiting the selection pressure exerted on pathogen populations by specific resistances implies the necessity to consider the specific resistant gene distribution in space and over time (McDonald and Linde, 2002). For airborne diseases, part of the inoculum is dispersed by wind, often exceeding the field scale. Thus, both in order to limit the occurrence of the disease and to maintain the control method efficiency, it is necessary to think about combinations of control methods at the regional scale instead of at the field scale (Aubertot *et al.*, 2006a). Similarly, because of polyetical processes in epidemic cycles of diseases, it is necessary to take into account the pluriannual scale in designing control strategies. At these scales of time and space, field experiments are difficult to set up, and modelling is an advantageous approach. However, to best of our knowledge, no model aiming at designing cropping systems that limit pathogen populations through the adaptation of cultural practices, cultivar choice and chemical control at a regional scale exists yet.

Several models that study virulence dynamics in plant pathogen populations have been published (*e.g.* Leonard, 1993; Hovmoller *et al.* 1997). Among these genetic models of pathogen populations, few aim at showing the effect of population dynamics and genetics on durability of specific resistance (*e.g.* van den Bosch *et al.*, 2006). Van den Bosch and Gilligan (2003) proposed a model that assessed the impact of the proportion of resistant cultivar (resistant cultivar ratio) and epidemiological parameters (infection, migration, mutation rate) on three measurements of durability. These authors strengthened the necessity to consider the evolutionary response of pests to disease control measures (van den Bosch *et al.*, 2006) but

only considered resistant cultivar ratio as control method (simulating multilines and deployment strategies), and did not account for spatial pattern of resistance management. In addition to van den Bosch and Gilligan (2003), Pietravalle *et al.*, (2006) attempted considering seasonality in their model by adding a parameter that simulates intercrop management (effect of environmental factors and cultural practices on pathogen density). The model simulated the effect of resistant cultivar ratio and cost of virulence on two measurements of durability of resistance. However, the seasonality was not adequately accounted for. For example, in-season cultural practices were not taken into account, and between-season practices were considered simplistically. Here again, authors did not consider spatial distribution of resistant cultivars in the region. The importance of the choice of the variable chosen to measure durability and to draw up conclusions about strategies is emphasized (van den Bosch and Gilligan, 2003; Pietravalle *et al.*, 2006). Other models take into account durability of specific resistance genes according to their distribution in time and space (Kiyosawa, 1982; Shi-Mai, 1991). Most of these models are at pluri-annual and regional scales, sometimes spatially explicit (Shi-Mai, 1991). However, specific resistance in cultivar was also the only control method taken into account. Examples of models can be found to simulate development of resistances in pest population against pesticides (*e.g.* Richter *et al.*, 2002) or GM-crops (*e.g.* Cerda and Wright, 2004). These models take into account not only cultivars but also pesticides application in pluriannual simulations. They are often spatially explicit but only at the field scale.

On the other hand, existing crop models take into account cultural practices as well as pedo-climatic characteristics. Azodyn (Jeuffroy and Recous, 1999) or STICS (Brisson *et al.*, 2003) for example, simulate crop growth at the field and annual scales whereas GeneSys (Colbach *et al.*, 2001a; 2001b) works at the pluriannual and regional scales. However, none of these crop models simulates pest injuries. Finally, some models allow the optimisation of control of disease through chemical treatments at the field scale (EIPRE, Zadoks, 1989) or at the landscape scale (*e.g.* Forster and Gilligan, 2007). These models often take into account economical gain of treatments. EIPRE also takes into account the cultivar choice and the risk of development of pest resistance to chemicals. This model is a decision support system: disease severities of five fungal diseases of wheat are given as input variables and the model simulates yield loss according to other characteristics of the field (soil type, cultivar, crop stage, nitrogen supply, crop growth regulator). Because initial infections, disease progressions as well as polyetic processes are not described, it is difficult to take into account other control methods that have an impact on different steps of the epidemic cycle.

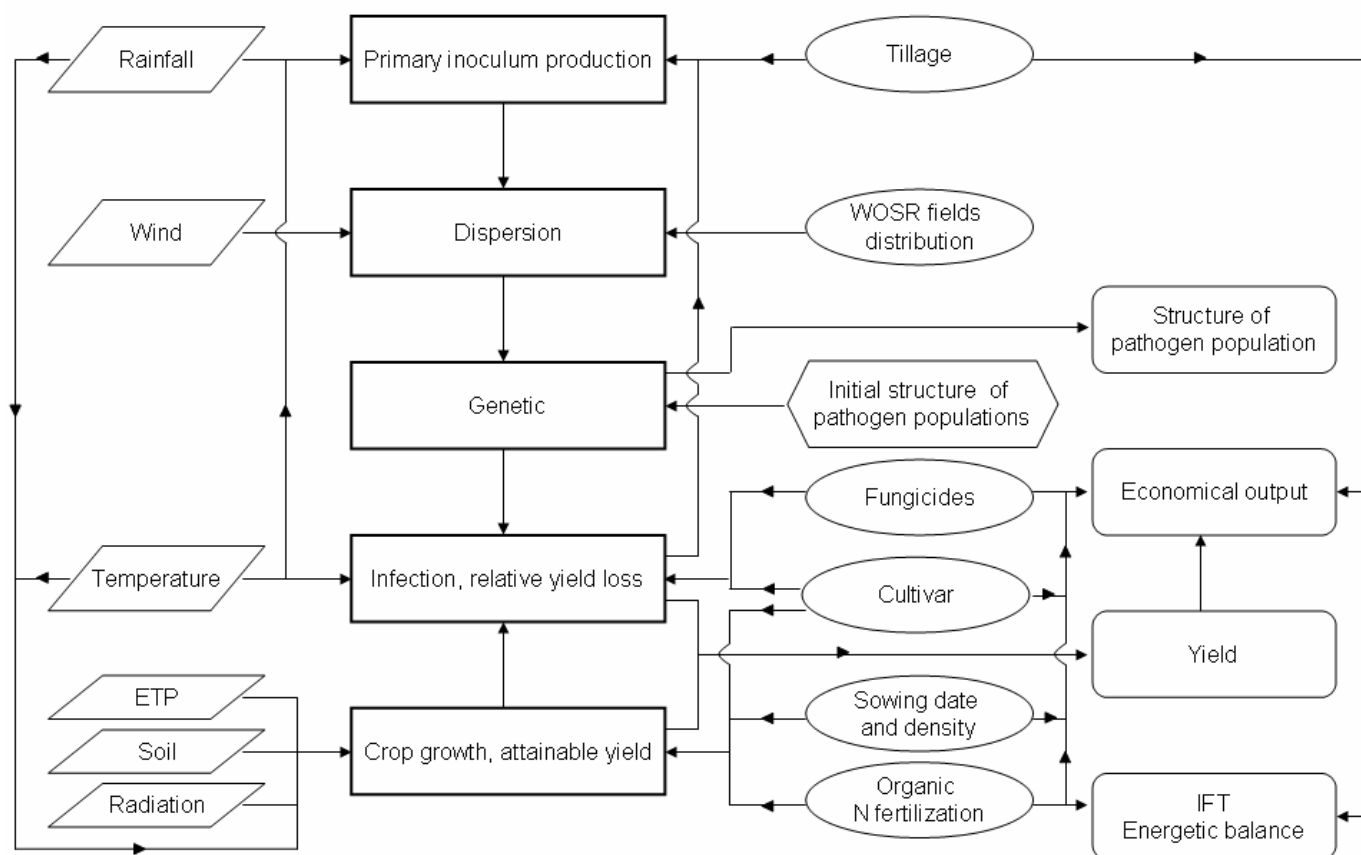
Establishing integrated control strategies of a disease with models demands to simulate the impact of combination of genetic, chemical, cultural, biological and physical control methods in space and over time on pathogen populations as well as the evolutionary response of pathogen populations to control methods. In order to simulate the interactions between the crop development and growth and the pathogen population evolution under the influence of the cultural practices, genetic models have to be integrated with crop models and models simulating pesticide use. It should also be a way to test specific resistance durability under contrasted control strategies: as durability estimation depends on the considered measure (van

den Bosch and Gilligan, 2003; Pietravalle *et al.*, 2006), the outputs of the model should characterise pathogen population, disease severity as well as crop production. To our knowledge, no existing model presents all these features.

The development of such a model was attempted, for the control of blackleg on winter oilseed rape, caused by the species complex *Leptosphaeria maculans*/*L. biglobosa*. Indeed, the disease has a major economic impact on oilseed rape yield world-wide (Fitt *et al.*, 2006). In addition, it has already been studied in details in terms of epidemic cycle and efficacy of different control methods (Aubertot *et al.*, 2006a). Ascospores, the main primary inoculum, are released from infected stubble left in fields after harvest with the maturation of pseudothecia (Hall, 1992). They are wind-dispersed over several kilometres (West *et al.*, 2001), and can infect seedlings: ascospores germinate and enter plant tissues *via* wounds and stomata. If infection occurs, the first symptoms, leaf-spots, appear. Primary infections cause greater yield loss when they occur before the 6-leaves stage (Brunin and Lacoste, 1970; Poisson and Pérès, 1999b). Conidia develop on leaf spots and may cause secondary infections on adjacent plants. However, the disease is considered as monocyclic in Australia, Canada and Europe (Salam *et al.*, 2007). The fungus then progresses from the leaves to the base of the stem, where the second symptom appear, the basal stem canker which is responsible for yield loss.

The main efficient control method against blackleg is genetic through the use of cultivars with specific or quantitative resistances (Delourme *et al.*, 2006), but specific resistances lack durability (Rouxel *et al.*, 2003). Fungicide treatments, if applied at the right time, allow limiting the infection (Penaud *et al.*, 1999; West *et al.*, 2002). However, the “right time” is difficult to identify by growers, as it necessitates to forecast ascospores showers. Chemical treatments can therefore be economically inefficient and source of pollution. Thus, new cropping systems completing genetic and chemical control with cultural control methods have to be designed to manage the disease in an environmental friendly way and enhance the durability of specific resistance genes (Aubertot *et al.*, 2006a). To date, genetic control mainly relies on specific resistance: each spore landing on an oilseed rape field is able to infect a resistant cultivar only if it has lost the corresponding avirulence gene (the pathotype is then virulent against the specific resistance). Quantitative resistances have an impact on the systemic progression of the fungus during spring, and can therefore limit canker severity (Delourme *et al.*, 2006). Cultural practices, such as sowing date, sowing rate or nitrogen management at the cropping system level, have an impact on the leaf area receiving ascospores (Aubertot *et al.*, 2004a), and thus on the risk and intensity of infection. Moreover, shifting the sowing date can prevent the coincidence between ascospores release and the most sensitive stage of oilseed rape to infection (before the 6-leaf stage, Aubertot *et al.*, 2004a). After harvest, tillage can reduce the quantity of primary inoculum by burying infected stubble and preventing pseudothecial maturation (Schneider *et al.*, 2006). Disease control can be improved by reducing spore flow between fields, which requires considering the spatial distribution of oilseed rape fields. Most dispersed spores are deposited within 500 m of the inoculation source and a separation of crops from sources of ascospores of only 500 m is

Figure 3.1. Flow chart of SIPPOM-WOSR. Sub-models are represented in squares, climatic and soil inputs data in diamonds, technical inputs data in ovals, and outputs data in rounded squares. The structure of pathogen populations is an input variable (initial structure), a state variable (simulated each year) as well as an output variable.



actually recommended in Australia, but there is still a limited risk for crops to be contaminated several kilometers away (West *et al.*, 2001; Marcroft *et al.*, 2004a).

In this paper, we have integrated the major scenarios of pathogen population management, developed SIPPOM, Simulator for Integrated Pathogen POPulation Management, and applied to *Leptosphaeria maculans/Brassica napus* pathosystem. SIPPOM-WOSR simulates the effects of cropping systems and their spatial distribution on blackleg epidemics over years, at a regional scale, along with the adaptation of *Leptosphaeria maculans* populations to oilseed rape specific resistances. This simulator aims at testing and ranking control strategies according to durability of specific resistance, economical profits for farmers and to the environmental impacts for the region. The aim of this paper is to present the overall model, cite an example of application, and discuss its potential usages.

1.4. General description of SIPPOM-WOSR

1.4.1. General frame

SIPPOM-WOSR is a Simulator for Integrated Pathogen POPulation Management for Winter OilSeed Rape. The basic structure of the model is inspired from the spatially explicit model described by Aubertot *et al.* (2006a). SIPPOM is composed of 5 sub-models simulating the primary inoculum production, the dispersion of ascospores, the changes of the genetic structure of pathogen populations over time, the infection and yield loss, and the crop growth dynamic (Figure 3.1). To simulate the primary infection efficiency as well as the progression of infection during the vegetative cycle, the model takes into account virulence compatibility between specific resistances and pathotypes, host characteristics, as well as the effect of cultural practices (sowing date and density, nitrogen management, fungicide treatments or the use of a cultivar with a quantitative resistance) on infection and on host development. Between two successive cultural cycles, the model simulates the production of primary inoculum depending on tillage and climate characteristics to describe pseudothecial maturation. Because of the importance of the coincidence between release of ascospores and crop stage, the pseudothecial maturation, spores release and dispersion (from harvest to the beginning of winter) as well as the crop growth during primary infection (fall and beginning of winter) are simulated on daily scale. Calculations of disease severity, attainable yield and yield loss are from static relationship. The characteristics of the pathogen dispersion necessitate considering a large spatial scale (several squared kilometres). Moreover, several years of simulation are necessary to represent disease epidemics in the region and the breakdown of specific resistances. The reduction of spore flow between fields implies the necessity to include a spatially explicit representation as regards dispersion, considering distance between fields and crop sequences on a given field. In order to keep heterogeneity of infection in fields, the space is rasterized (50*50 m²) rather than vectorially represented. Finally, to simulate the reduction of selection pressure exerted on pathogen populations, the model gives the frequency and distribution of pathotypes among pathogen populations over time depending on migration, selection and recombination. The Allee effect (Allee, 1931), that represents the impossibility for pathotypes in a very low frequency to reproduce and

transmit descendants, is also represented in SIPPOM. The model is adapted to winter oilseed rape, in northern Europe climatic conditions as the crop growth and the infection sub-model takes into account the winter season. SIPPOM has been coded in Mathematica 5.2[®] (Wolfram) and Borland C++ builder.

1.4.2. Input variables

The user of SIPPOM determines the number of years to be simulated, the spatial distribution of fields in the landscape, the crop sequence associated to each field and all the cultivation techniques: tillage (type of tool and date), organic nitrogen application before sowing (type, date and rate), sowing date and rate, cultivated specie and cultivar, chemical treatments (type and date of application), nitrogen mineral fertilisation in spring (date and rate of application). Specific resistance genes, quantitative resistance level and potential yield of WOSR are provided for 104 cultivars. For other cultivars, these features have to be provided to the model. Soil characteristics have to be described for each field (they are used in the crop-growth sub-model). The user has also to provide daily climatic data (rainfall, mean temperature, evapotranspiration, radiation, wind speed and direction).

1.4.3. Output variables

Each sub-model works at the field scale (crop growth or production of inoculum sub-model) or at the pixel scale (genetic, dispersion or infection sub-model). Output variables of the model entail epidemic, agronomic, economical, environmental and genetic outputs. The epidemical outputs are a disease index (DI, the G_2 index described by Aubertot *et al.*, 2004b) that characterizes canker severity and the associated relative yield loss. The agronomic output is the yield. The economical output is a pseudo-gross margin taking into account the cost of strategies decided upon: a cost (€ per ha) has been approximated for each cultural practice¹. Similarly, energetic cost of each practice has been set ($\text{MJ} \cdot \text{ha}^{-1}$) (ADEME *et al.*, 1999)². Crop management of other crops than WOSR is used to calculate the cumulated pseudo-gross margin and cumulated environmental cost of a field or of the simulated region over years. Economical and environmental cost of each practice and selling price of crops are fixed over the years of simulation. Another environmental output is the frequency of treatments index (IFT, Champeaux, 2006). An important output of the model is the structure (frequency of each pathotype) and size of the pathogen population. It characterises the specific resistance efficacy given the simulated control strategies.

All outputs are calculated annually for each field of the considered region. They are also calculated for the region, and cumulated over the years of simulation. SIPPOM is deterministic.

¹ Le détail des calculs de la sortie économique est présenté dans l'annexe 2

² Le détail des calculs des sorties environnementales est présenté dans l'annexe 2

1.5. Structure of SIPPOM-WOSR

In this part, three steps are presented for each sub-model: i) the chosen algorithm, ii) the parameterization and iii) the evaluation of the sub-model.

1.5.1. Primary inoculum production sub-model

The primary inoculum production is simulated from harvest to the end of year for each field source of ascospores (cultivated with WOSR the year before). The sub-model describes the displacement of stubble in soil given the succession of soil tillage operations applied (Schneider, 2005)¹, and simulates the dynamic of pseudothecial maturation, based on the model SimMat (Aubertot *et al.*, 2006c). The soil is divided into four layers: soil surface,]0; 10 cm],]10; 20 cm] and]20; 30 cm]. Each day, stubble is decomposed according to its position in soil, according to the following equation (Schneider, 2005):

$$m = m_0 \exp^{-\alpha t} \quad \text{Eq. 1}$$

with m : mass of stubble per surface unit in each layer ($[m] = \text{M.L}^{-2}$), at the date t ($[t] = \text{T}$); m_0 : mass of stubble per surface unit in each layer at WOSR harvest ($[m_0] = \text{M.L}^{-2}$); α : decomposition rate depending on the stubble position (on surface, or buried, $[\alpha] = \text{T}^{-1}$). Each tillage operation is represented by a 4*4 matrix that describes the displacement of stubble from a layer to another in soil. Each day when a tillage tool is applied, stubble is redistributed among layers.

The pseudothecial maturation takes place only on stubble that lays on soil surface. A potential pseudothecia density per soil surface unit $p(t)$ ($[p(t)] = \text{L}^{-2}$) is calculated from the mass of stubble at soil surface ($[m_{\text{surface}}] = \text{M.L}^{-2}$) (Equation 2, Schneider, 2005; Lô-Pelzer *et al.*, 2008a², 2008b³). This potential pseudothecia density also depends on the severity of the disease in the field the previous year as the quantity of pseudothecia produced increases with canker severity (Lô-Pelzer *et al.*, 2008a). The proportion of plants in each canker severity (prop_i) is deduced from the Disease Index (DI) calculated in each field (Lô-Pelzer *et al.*, 2008b). The potential pseudothecia density per soil surface unit is therefore:

$$p(t) = \frac{\left(\sum_{i=1}^{i=6} \text{prop}_i * a_i \right) m_{\text{surface}} * \tau_{\max} d_p e^{-\beta t}}{\rho d} \quad \text{Eq. 2}$$

with a_i : production of inoculum depending on the canker severity class i relatively to the most severe class (6 classes of canker severity, Aubertot *et al.*, 2004b; $[a_i] = 1$); $\tau_{\max}$: maximum covering rate of pseudothecia per stubble ($[\tau_{\max}] = 1$); d_p : maximum density of pseudothecia ($[d_p] = \text{L}^{-2}$); $e^{-\beta t}$: relative abundance of residues aged of t years ($[\beta] = \text{T}^{-1}$); ρ : mean density of stubble ($[\rho] = \text{M.L}^{-3}$); d : mean diameter of stubble ($[d] = \text{L}^2$).

¹ Le détail du module déplacement vertical des résidus, ainsi que les valeurs des matrices de transfert, est présenté dans l'annexe 3.

² Cette référence correspond à la partie 1.1.2 du chapitre 2

³ Cette référence correspond à la partie 1.1.1 du chapitre 2

The dynamic of pseudothecial maturation is calculated according to the number of favourable days to maturation (Salam *et al.*, 2003; 2007). A day is considered as favourable to maturation if the average temperature is between $\theta_{\min}$ and $\theta_{\max}$, and if the cumulated rainfall n_j days before the considered day is above a threshold $R_{\min}$. The probability for a pseudothecium to be mature after N days is supposed to follow a Gaussian law (Equation 3, Aubertot *et al.*, 2006c).

$$F(n \leq N) \approx \frac{1}{\sigma\sqrt{2\pi}} \int_0^N e^{-\frac{(x-x_0)^2}{2\sigma^2}} dx \quad \text{Eq. 3}$$

where x is a variable representing time, x_0 , the expected value of cumulated favourable days, and σ^2 , the variance of the Gaussian law ($[x] = [x_0] = [\sigma] = T$). According to equations 2 and 3, the number of matured pseudothecia per soil surface unit is therefore:

$$n_p(t) = \frac{\left(\sum_{i=1}^{i=6} m_{\text{surface}} * \text{prop}_i * a_i \right) \tau_{\max} d_p e^{-\beta t}}{\rho d \sigma \sqrt{2\pi}} \int_0^N e^{-\frac{(x-x_0)^2}{2\sigma^2}} dx \quad \text{Eq. 4}$$

Ascospores are released as soon as it rains. The proportion of released ascospores depends on the rainfall a given day and on the number of released ascospores the previous days. The number of released ascospores per day (Δt) and per soil surface unit ($[n_a] = L^{-2} \cdot T^{-1}$) is therefore:

$$n_a(t) = \varepsilon_n(t) \frac{\left(n_p(t) d_a - \sum_{i=\text{harvest}}^{t-1} n_a(i) \right) (1 - \exp(-C_{\text{vid}} R(t)))}{\Delta t} \quad \text{Eq. 5}$$

With $\varepsilon_n(t)=1$ if $R(t) > 0$ mm, else $\varepsilon_n(t)=0$ ($[\varepsilon_n(t)]=1$), d_a : number of ascospores per pseudothecium ($[d_a] = 1$), C_{vid} : ascospore release coefficient ($[C_{\text{vid}}] = L^{-1}$), $R(t)$: cumulated rainfall during day t ($[R] = L$).

Input variable m_0 and parameter α (Equation 1) as well as parameter values of each matrix describing stubble displacement in soil have been estimated by Schneider (2005). Parameters a_i estimation derived from an experiment conducted by Lô-Pelzer *et al.* (2008a), parameters prop_i estimation derived from data analysis from CETIOM (Lô-Pelzer *et al.*, 2008b) whereas other parameters of equation 2 and 5 derived from experimentations conducted by Schneider (2005) and Lô-Pelzer (unpublished data). Parameterisation of the pseudothecial maturation sub-model was based on initial values published in Salam *et al.* (2003), followed by a re-parameterisation using French data (unpublished data).

The model of displacement of stubble has been evaluated by Schneider (2005) using two contrasted successions of tillage operations. The simulated and observed distributions of stubble in the 4 soil layers were fairly similar. A cross-validation of the pseudothecial maturation sub-model was performed over 116 site-years. The quality of prediction was judged suitable (RMSEP = 0.22, Efficiency = 0.51).

1.5.2. Dispersion sub-model¹

SIPPOM is spatially explicit. The represented region is rasterized in 50*50 m² pixels. Each pixel is attributed to a field (or, more generally to a homogenous area). At the beginning of each cultural year, source fields (fields cultivated with oilseed rape the previous year) and target fields (fields cultivated with oilseed rape the considered year) are tagged. Ascospores are dispersed daily from source to target pixels, given the wind conditions (direction and speed). The stochastic dispersal model presented by Diggle *et al.* (2002) was transformed to a deterministic one to limit computation times. The dispersion is calculated for each source-target pixels couple. All spores are supposed to be released from the centre of the source pixel. The probability for a target pixel to be reached depends on the wind direction, which determines the intersection with target pixel, and on the wind intensity. The dispersion function follows a half-Cauchy-Lorentz density probability function (Diggle *et al.*, 2002). If l_i and l_f are designated as the distances between the centre of the source pixel and the intersections with the target pixel borders ($[l_i] = [l_f] = L$), the probability that a spore lands in the target pixel at a distance l_s ($[l_s] = L$) is therefore:

$$p(l_i \leq l_s \leq l_f) = \int_{l_i}^{l_f} \frac{2dl}{\pi\gamma \left(1 + \frac{l^2}{\gamma^2}\right)} \quad \text{Eq.6}$$

This probability therefore depends on the scale parameter γ which is directly proportional to wind intensity: $\gamma = \mu_{\text{cauchy}} * \text{wind speed}$ ($[\gamma] = L$; $[\mu_{\text{cauchy}}] = T$; $[\text{wind speed}] = L.T^{-1}$) (Diggle *et al.*, 2002). The estimation of the parameter μ_{cauchy} has been carried out for spores of *L. maculans* in Australian conditions (Salam, unpublished data). An evaluation of this dispersion (depicted in the model AnthracnoseTracer) has been carried out in two contrasted rainfall situations and for 5 infection levels and show similar patterns of dispersion between simulations and observations of *Colletotrichum gloeosporioides* spores (Diggle *et al.*, 2002).

1.5.3. Dynamic crop growth sub-model

Simultaneously to ascospores production and dispersion, a dynamic crop growth sub-model simulates, for each target field, the growth stage of the crop when the ascospores are deposited and calculates the attainable yield (*i.e.* yield only limited by the physical environment of the crop). The prediction of the daily leaf area during the infecting period (used in the infection sub-model) and the biomass at the beginning and end of winter (used for the calculation of the disease index and of the attainable yield) is based on Azodyn-rape (Jeuffroy *et al.*, 2003). Input variables are sowing density and date, organic nitrogen applied before sowing, soil characteristics and weather (rain, ETP, temperature, radiation). The number of leaves, also used in the infection sub-model, depends on the cumulated positive temperatures since the emergence of the crop, the phyllochron and the life duration of a leaf. Calculations for each target field are made daily, from emergence to the end of the winter.

¹ L'annexe 4 présente des détails supplémentaires sur ce module et sa programmation

The attainable yield is derived from the potential yield of the cultivar ($[YieldPot_{cultivar}] = M.L^{-2}$), from yield loss due to water stress (calculated from climatic deficit ($[DC]=L$) and maximum water storage ($[HS]=L$) of the soil), and from yield loss due to plant growth (biomass at the end of winter, BMEW), as proposed in the “simple-balance” described by Makowski *et al.* (2005). The attainable yield ($[YieldAtt] = M.L^{-2}$) is therefore:

$$YieldAtt = YieldPot_{cultivar} * relativeYieldLoss_{HS,DC} * relativeYieldLoss_{BMEW}$$

$$YieldAtt = YieldPot_{cultivar} * (a_1 DC + a_2 HS + a_3 DC * HS + a_4) * b_0 (BMEW / BMEW_0)^{b_1} \exp(b_2 BMEW)$$

Eq. 7

With DC: climatic deficit calculated between the end of winter and the harvest:

$$DC = \sum_d (ETPd - Rd) \text{ (ETPd: daily evapotranspiration of the plant-soil system, [ETP] = L;}$$

Rd: daily rainfall, $[Rd] = L$), HS: maximum hydric storage in soil ($[HS] = L$), BMEW: crop biomass per surface unit at the end of winter, $BMEW_0$: unit of crop biomass per surface unit at the end of winter ($[BMEW] = [BMEW_0] = M.L^{-2}$). $[a_1] = [a_2] = L^{-1}$, $[a_3] = L^{-2}$, $[a_4] = 1$, $[b_0] = [b_1] = 1$, $[b_2] = M^{-1}.L^2$.

Parameters have been separately estimated to describe the relative yield loss due to water stress and relative yield loss due to plant growth. Data from East France (provided by E. Hance, unpublished data) have been used to estimate the linear regression to calculate yield loss due to water deficit, based on the algorithm proposed by Limaux (1999) for wheat. This relationship has been cross validated (RRMSEP = 0.07). Parameters values are: $a_1 = -1.7.10^{-3} \text{ mm}^{-1}$, $a_2 = 2.2.10^{-3} \text{ mm}^{-1}$, $a_3 = 6.1.10^{-6} \text{ mm}^{-2}$ and $a_4 = 0.644$. Data from CETIOM have been used to estimate the parameters of the calculation of the yield loss due to plant growth, based on a boundary line relationship (Makowski *et al.*, 2007). Parameters values are: $b_0 = 3.84.10^{-2}$, $b_1 = 0.467$, $b_2 = -1.9.10^{-4} \text{ kg}^{-1}.\text{ha}$.

The predictive quality of the overall relationship (Equation 7) has been evaluated with independent data from France (provided by M. Morison, unpublished data). The predictive quality was acceptable (RRMSEP = 0.28), even though the attainable yield was underestimated (bias: 4q/ha).

1.5.4. Genetic sub-model

The number of considered avirulence (pathogen) or resistance (cultivar) genes (nvir) is an input variable. All the possible pathotypes (all possible combination of avirulence genes) are represented by a 2^{nvir} length vector, where each element is coded 1 if the pathotype has the considered avirulence gene, 0 if not. The frequency of each pathotype is initialized in each source pixel and can be calculated as an average over all pixels of a given field. Similarly, cultivars of target pixels are represented by a nvir length vector, coded 1 if the cultivar has the considered resistant gene, 0 if not. The compatibility between source and target pixels is calculated at the beginning of each year of simulation (genetic filter). The compatibility does not exist (and the infection is not possible) if the pathotype has an avirulence gene

corresponding to a resistant gene (gene-for-gene relationship, Flor, 1971). Frequencies of pathotypes are applied to the number of produced ascospores (primary inoculum production sub-model). Ascospores from source pixel not compatible with the cultivar of the target pixel die. At the end of the dispersion season, new frequencies of pathotypes are calculated for each target pixel considering only effectively infecting ascospores (infection sub-model).

Recombination between pathotypes can be optionally simulated in SIPPOM for 2 or 3 avirulence genes. For two avirulence genes, the physical genetic linkage between genes can be chosen from complete linkage to complete independence. In the second case (recombination with $n_{vir} = 3$), avirulence genes are considered independent. Recombination between higher numbers of avirulence genes would be difficult to represent and to analyse in terms of consequences for outputs, and thus are not considered in the model.

Ascospores can be produced only if mycelia of opposite mating type meet on the same plant, as *L. maculans* is a heterothallic obligatory pathogen. A pathotype in a very low frequency in a pathogen population was hypothesised to be not able to reproduce (the encounter between two partners is unlikely in a very small population) and therefore to disappear (Allee effect, Allee, 1931). Few data are available to represent the Allee effect, particularly to quantify the low frequency that hinders reproduction. However, the Allee effect can be optionally simulated in SIPPOM. The crown of a plant is considered to be composed of N_s sites of encounter between individuals ($[N_s] = 1$). In a pixel, the number of encounter sites per surface unit is obtained by multiplying N_s by the density of the crop ($[Density] = L^{-2}$). A number of n individuals are supposed to reach the considered space, and an individual can reach any of the encounter sites randomly with the same probability. The sexual reproduction takes place if at least two individuals reach the same site. Under these simple hypotheses, the probability that a sexual reproduction occurs between n individuals over a surface unit S ($[S] = L^2$) is:

$$P(n) = 1 - \frac{(N_s * Density * S)!}{((N_s * Density * S) - n)! (N_s * Density * S)^n} \quad \text{Eq. 8}$$

This algorithm is quite simple as it only requires one parameter (N_s). However, as there is no data yet to estimate this parameter, its value was set to 100, the same order of magnitude of the maximum cumulated number of leaf spots per plant (*i.e.* the maximum number of individuals in a plant). Indeed, it is almost certain that sexual reproduction will occur in this case ($P(100) \cong 1$ with $N_s=100$). This algorithm of the Allee effect has not been evaluated yet.

1.5.5. Infection and relative yield loss sub-model

The infection sub-model is based on the SimCanker model (Aubertot *et al.*, 2004c). It provides the severity of disease (DI, Equation 9) and the yield loss due to infection (Equation 10).

$$DI = \alpha_{RQ} \frac{DI_{\max} \exp(a_0 + a_1 N_{\max} + a_2 TT + a_3 BMBW)}{1 + \exp(a_0 + a_1 N_{\max} + a_2 TT + a_3 BMBW)} \quad \text{Eq. 9}$$

$$YieldLoss = aDI^2 + bDI \quad \text{Eq.10}$$

The DI, or G₂ disease index (Aubertot *et al.*, 2004b; [DI] = 1) is calculated from the maximum number of leaf spots per plant ([N_{max}] = 1) during the infection season (from emergence to December 31st), the thermal time for the last trimester ([TT] = $\theta.T$, with 0°C base temperature) and the fresh aerial biomass per surface unit at the beginning of winter ([BMBW] = M.L⁻²), calculated by the dynamic crop growth sub-model ([α_{RQ}] = [a_0] = [a_1] = [a] = [b] = 1, [a_2] = θ^{-1} , [a_3] = M⁻¹.L²). Quantitative resistances in cultivars limit canker severity and therefore yield loss. As few data are available to describe the mechanisms of action, the effect of quantitative resistances has been simply represented in SIPPOM: cultivars are either with a quantitative resistance, or without. The quantitative resistance is supposed to not alter the number of leaf spots (the effectiveness of infection by a spore is only due to the specific resistance and there is no effect on aggressiveness as no data were available) but hinders the development of canker (Delourme *et al.*, 2006). For a cultivar with a quantitative resistance, the DI is therefore decreased ($\alpha_{RQ} < 1$). The yield of each oilseed rape field is calculated according to equations 7 and 10.

The increase of the mean number of phoma leaf spots per plant (ΔN , [N] = 1) during Δt ([t] = $\theta.T$) is therefore (analogy with Monteith's equation, derived from Aubertot *et al.*, 2004):

$$\frac{\Delta N(t+L)}{\Delta t} = \epsilon_{\text{int}} \epsilon_{\text{gen}} \epsilon_{\text{inf}} \frac{NbSpores}{Density} \quad \text{Eq. 11}$$

The daily increase of leaf spots per plant depends on the latency of apparition of a leaf spot ([L] = $\theta.T$), the genetic efficiency ([ϵ_{gen}] = 1), the interception efficiency of spores by plants in a pixel ([ϵ_{int}] = L²), the infection efficiency ([ϵ_{inf}] = 1), the number of ascospores landing per thermal time unit and per surface unit ([NbSpores] = L⁻². θ^{-1} .T⁻¹) and the crop density at emergence ([Density] = L⁻²). The secondary infections by conidia are not taken into account, as the impact of secondary infections on disease severity is not well known (Li *et al.*, 2006). The daily number of leaf spot is the difference between the number of appearing leaf spots (Equation 11) and the number of dying leaf spot: leaf spot life duration has been fixed at the half of the life duration of a leaf.

The interception efficiency of ascospores by plants depends on the leaf area index ([LAI] = 1) of the crop calculated in the crop-growth sub-model (analogy with Monteith's equation):

$$\epsilon_{\text{int}} = 1 - \exp[-kLAI] \quad \text{Eq. 12}$$

with k: extinction coefficient ([k] = 1).

In the genetic sub-model, the genetic efficiency is calculated as:

$$\mathcal{E}_{gen} = 1 - \sum_{i=1}^{i=n_p} f_i I_i \quad \text{Eq. 13}$$

where n_p is the number of pathotypes ($n_p=2^{n_{vir}}$), f_i is the frequency of pathotype i within the incoming ascospores, and I_i is the incompatibility for pathotype i ($I_i=1$ if pathotype i has an avirulence gene corresponding to a specific resistance present in the considered cultivar, else $I_i=0$).

The infection efficiency takes into account the phenology of the crop and fungicide applications. It is calculated as follows:

$$\mathcal{E}_{inf} = \mathcal{E}_j (1 - \mathcal{E}_{fung}) \quad \text{Eq. 14}$$

where $\mathcal{E}_j$ is the probability that a spore creates a leaf spot at the j -leaf stage ($[\mathcal{E}_j] = 1$), and $\mathcal{E}_{fung}$ is the efficiency of the fungicide ($[\mathcal{E}_{fung}] = 1$). Brunin and Lacoste (1970) performed an experiment where the infection efficiency was measured at different phenological stages. These results were used to develop a relationship between infection efficiency and phenological stage at inoculation. Three sets of observations allow hypothesizing a relationship between the observed disease incidence I_j and the phenological stage (inoculation at the j -leaf stage ($[I_j] = 1$)):

$$I_j = I_{min} + (I_{max} - I_{min}) e^{-\alpha_1 j^{\alpha_2}} \quad \text{Eq. 15}$$

with I_{max} and I_{min} : maximum and minimum incidence of the disease ($[I_{min}] = [I_{max}] = 1$), j : number of leaves ($[j] = 1$) and α_1 and α_2 : phenological parameters ($[\alpha_1] = [\alpha_2] = 1$). In order to develop a relationship between the infection efficiency and the phenological stage during inoculation, the number of phoma leaf spots observed in the Brunin and Lacoste's experiment was supposed to follow a Poisson distribution. Under these assumptions, it can be shown that the phenological infection efficiency can be written as:

$$\mathcal{E}_j(t) = -\alpha_3 \ln \left[1 - (I_{min} - (I_{max} - I_{min}) \exp(-\alpha_1 j(t)^{\alpha_2})) \right] \quad \text{Eq. 16}$$

where α_3 is a dimensionless coefficient.

The equation representing the fungicide efficiency is based on Wermelinger *et al.* (1992): if the fungicide is applied at t_{fung} ($[t_{fung}] = T$), $\mathcal{E}_{fung} = 0$ for $t < t_{fung}$ and $t > t_{fung} + r_{fung}$, r_{fung} being

the fungicide remanence ($[r_{fung}] = T$). Otherwise, $\mathcal{E}_{fung}(t) = 1 - \left(\frac{t}{r_{fung}} \right)^2$.

The estimation of α_{RQ} ($\alpha_{RQ} = 0.65$. Equation 9) was based on data collected in an experimental trial in Grignon (48.9°N, 1.9°E, 130 m elevation, Ile-de-France, 40 km west from Paris), with two cultivars, Aviso (with a quantitative resistance) and Bristol (susceptible). Estimation of other parameters of Equation 9 and parameters of Equation 10 is based on data from French trials (Aubertot *et al.*, 2004c). The latency of apparition of a leaf spot was taken as $L = 250^\circ\text{C}.\text{day}$ (Brunin and Lacoste, 1970). Parameters of equation 13 were

Table 3.1. Definition of two contrasted crop managements for winter oilseed rape fields. Practices that have an impact on blackleg are presented in *italic*.

Cultural practice	Intensive crop management	Integrated crop management
<i>Sowing density</i>	<i>60 plants.m⁻²</i>	<i>30 plants.m⁻²</i>
<i>Sowing date</i>	<i>1/09</i>	<i>15/08</i>
<i>Fungicide</i>	<i>1 fungicide</i>	<i>No fungicide</i>
Other pesticides	1 herbicide 2 insecticides	No other pesticide
<i>Organic nitrogen</i>	<i>Orgafor (50 kg.ha⁻¹)</i>	<i>Orgafor (50 kg.ha⁻¹)</i>
Mineral nitrogen	180 units	180 units
<i>Tillage operations</i>	<i>Chiselling (20/07)</i> <i>Rotary harrowing (1/10)</i> <i>Wheat sowing (2/10)</i>	<i>Chiselling (20/07)</i> <i>Mouldboard ploughing (20/09)</i> <i>Rotary harrowing (1/10)</i> <i>Wheat sowing (2/10)</i>

Figure 3.2. Distribution over years of WOSR fields and cultivars in the simulated region (3*3 km²). Each square is a field (250 m * 250 m). Gray squares represent fields with susceptible cultivars. Gray squares with thick borders represent fields with resistant cultivar.

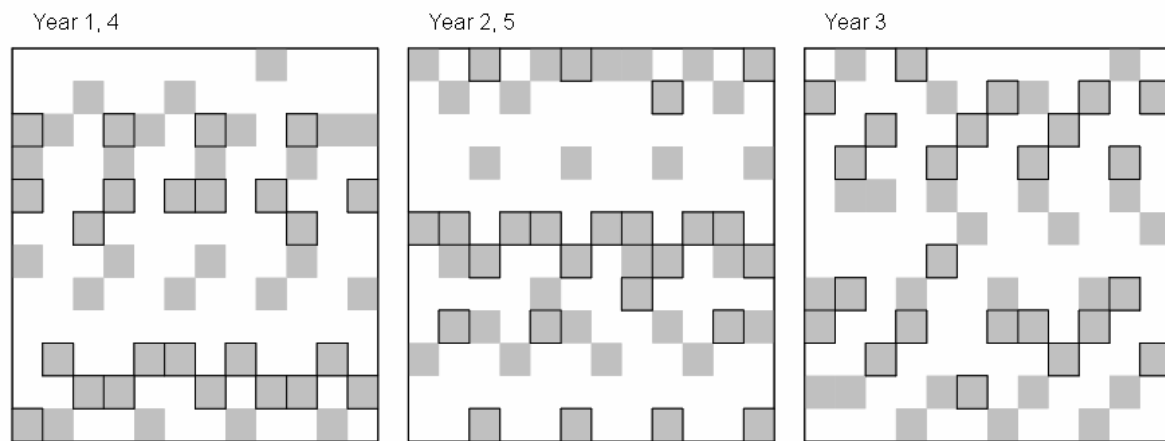


Table 3.2. Five-year simulations performed with SIPPOM-WOSR.

Simulation	Cultivar management	Crop management
1	Cultivar management 1 50 % WOSR fields with a specific resistant cultivar 50 % WOSR fields with a susceptible cultivar	Intensive Intensive
2	Cultivar management 2 50 % WOSR fields with a specific and quantitative resistant cultivar 50 % WOSR fields with a susceptible cultivar	Intensive Intensive
3	Cultivar management 3 100 % WOSR fields with a susceptible cultivar	Intensive
4	Cultivar management 1 50 % WOSR fields with a specific resistant cultivar 50 % WOSR fields with a susceptible cultivar	Integrated Integrated
5	Cultivar management 2 50 % WOSR fields with a specific and quantitative resistant cultivar 50 % WOSR fields with a susceptible cultivar	Integrated Integrated
6	Cultivar management 3 100 % WOSR fields with a susceptible cultivar	Integrated
7	50 % WOSR fields with a specific resistant cultivar 50 % WOSR fields with a susceptible cultivar	Integrated Intensive

estimated based on Brunin and Lacoste (1970): $I_{\max} = 0.9996$, $I_{\min} = 0.1000$, $\alpha_1 = 5.773 \cdot 10^{-2}$, $\alpha_2 = 3.220$. Using equation 16 with these parameters, data from Biddulph *et al.* (1999) were used to estimate $\alpha_3 = 0.13$. The remanence of the fungicide was set to 2 weeks (Penaud, Pers. Com.).

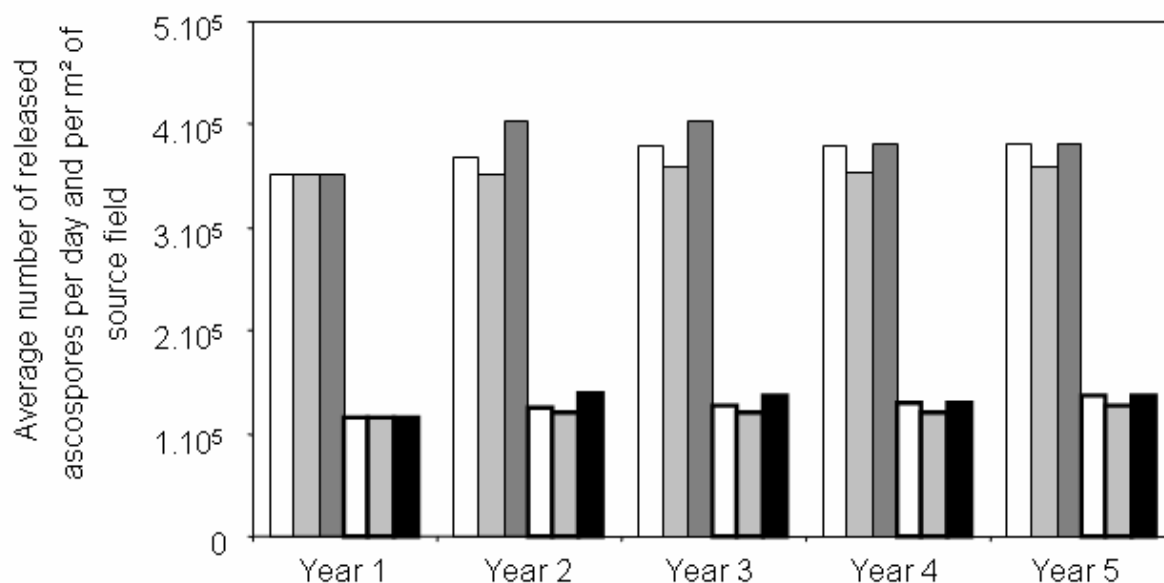
A cross-validation of Equation 9 (without α_{RQ}) and equation 10 was carried out with RMSEP = 0.96 DI unit for equation 9 and RMSEP = 0.08 for equation 10 (Aubertot *et al.*, 2004c).

1.6. Examples of simulation with SIPPOM-WOSR

In order to illustrate the potential use of SIPPOM, simulations were carried out in 6 situations, combining two crop management strategies with three cultivar management strategies. Two contrasted crop management plans were defined: intensive or integrated (Table 3.1). A 3 km x 3 km simplified region has been defined, with 144 square fields of 6.25 ha each (Figure 3.2). Soil conditions for all fields were considered identical. The crop sequence in all fields was WOSR-wheat-barley. The number of fields of each of the 3 crops was the same each year, and the spatial distribution of WOSR fields was set at random (Figure 3.2). Three types of cultivar management were chosen for WOSR fields: situation 1: 50% of WOSR fields had a cultivar with one specific resistance gene, 50% had a susceptible cultivar; situation 2: 50% of WOSR fields had a cultivar with a specific resistance gene and a quantitative resistance, 50% had a susceptible cultivar; situation 3: 100% of WOSR fields had a susceptible cultivar. Potential yield was assumed to be equal for all cultivars (50 q.ha^{-1}), in order to analyse the effect of crop management on attainable yield and yield loss (usually, susceptible cultivars have a higher potential yield). An annual climatic dataset (selected among the previous 20 years in Grignon, France) was repeated over years of simulation. Wind direction was between 0° (north) and 90° (east) and wind intensity was constant (5 m.s^{-1}). A five-year simulation was run for each cultivar management*crop management plan combination (Table 3.2). Cultural practices were considered similar in all WOSR fields over years. Two avirulence genes were considered (4 possible pathotypes: one double virulent, two simple virulent and one avirulent) in order to analyse the effect of recombination. Initial frequencies of pathotypes were set to 0 for the double virulent pathotype, 10^{-4} (Lannou and Mundt, 1997) for both simple virulent and 0.9998 for the avirulent pathotype. The Allee effect was also simulated. The beginning and end of winter were set to 1/12 and 15/02. The harvest date was set to 15/07.

The strategies analysed here only limit the pathogen population size (mostly because of ploughing or quantitative resistances, Table 3.1) but do not limit the selection pressure exerted on pathogen populations. An additional five year simulation was carried out with a strategy that is thought to reduce the selection pressure and therefore enhance the durability of the specific resistance genes (Table 3.2): the integrated crop management was associated to the fields with a specific resistant cultivar (to limit the number of virulent pathotypes on these field) whereas the intensive crop management was associated with a susceptible cultivar.

Figure 3.3. Simulated numbers of released ascospores per day and per squared meter averaged over all source fields each year of simulation, and over rainy (ascospores are released) or non-rainy (no ascospore released) days. White bar: cultivar management 1 (50 % specific resistant cultivar, 50 % susceptible cultivar), intensive crop management (Table 3.1); gray bar: cultivar management 2 (50 % specific and quantitative resistant cultivar, 50 % susceptible cultivar), intensive crop management; dark gray bar: cultivar management 3 (100 % susceptible cultivar), intensive crop management; white bar thick border: cultivar management 1, integrated crop management (Table 3.1); gray bar thick border: cultivar management 2, integrated crop management; black bar: cultivar management 3, integrated crop management

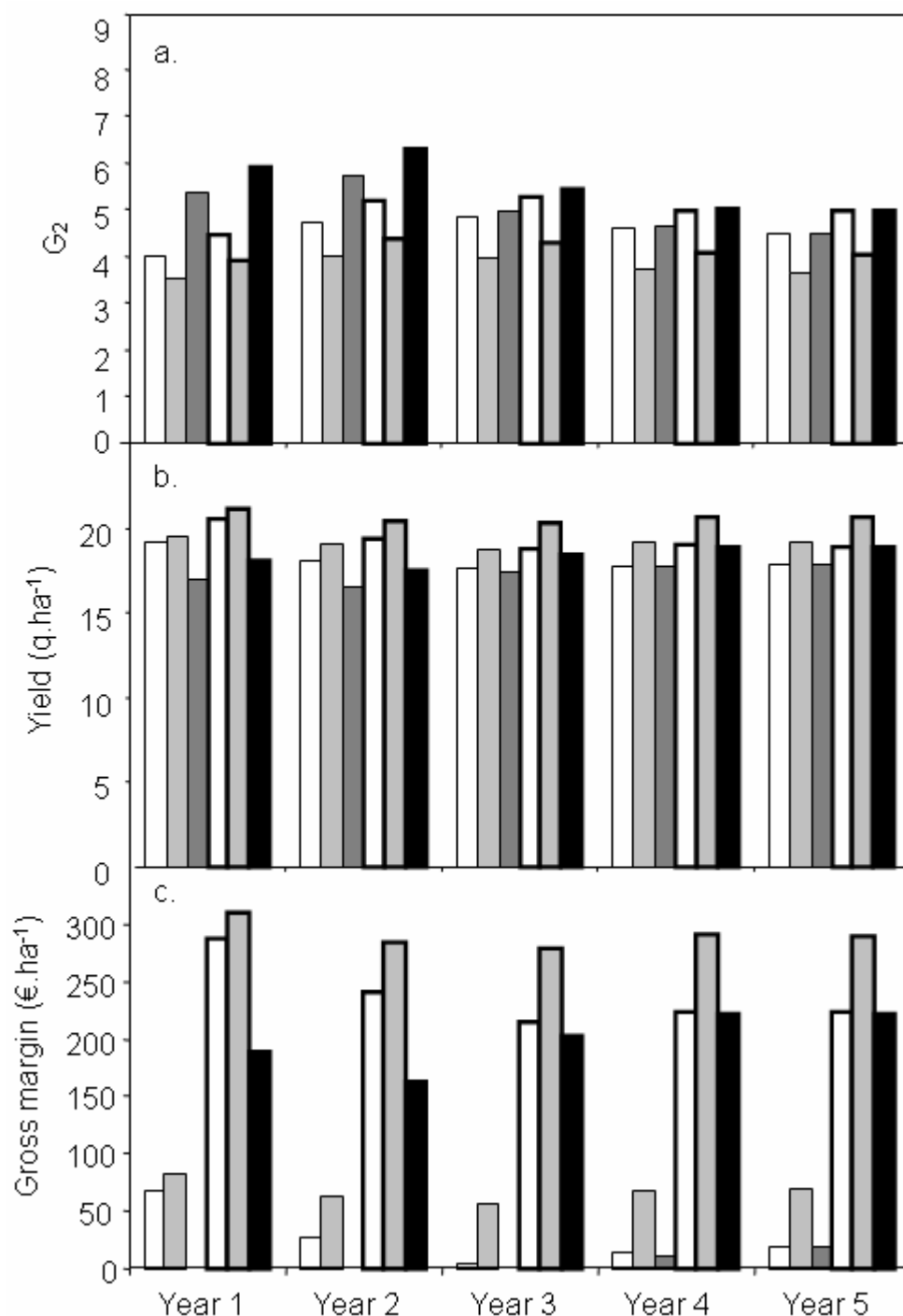


Results

The number of released ascospores per squared meter averaged over all source fields each year (Figure 3.3) was higher for the intensive WOSR crop management plan (without ploughing, Table 3.2) than for the integrated one. The intensive crop management led to lower infection (Figure 3.4a) but also to slightly lower yield (Figure 3.4b) because of a lower attainable yield (data not shown), linked to a later sowing date and thus to a lower crop biomass at the end of winter. In addition, the intensive WOSR management had higher costs and therefore led to lower pseudo gross margins, and even to a null pseudo gross margin for cultivar management 3 for years 1 to 3 (Figure 3.4c). The use of a cultivar with a specific resistance in 50 % of the region led to lower infections (higher yields and pseudo-gross margin) and therefore to a lower quantity of inoculum in comparison with the use of a susceptible cultivar in the entire region. The use of a cultivar cumulating a specific and a quantitative resistance was more efficient than the specific resistance only to reduce the disease. After three years of simulation, no difference (G_2 index, yield and pseudo-gross margin) occurred between cultivar management 1 and cultivar management 3. The specific resistance became totally inefficient. Pathotype frequencies (Figure 3.5) evolved similarly in the different cultivar management*crop management situations where the specific resistant cultivar was used. The pathogen population size uniformly decreased in the region but no discrepancy occurred in terms of frequencies as there was no difference in the selection pressure exerted. Concerning the environmental outputs, the yearly energetic cost of both crop management were almost the same ($12,700 \text{ MJ.ha}^{-1}$ for the integrated WOSR management and $12,500 \text{ MJ.ha}^{-1}$ for the intensive WOSR management) as the energetic cost of ploughing in the integrated WOSR management was compensated by the energetic costs of treatments production in the intensive WOSR management (Table 3.1). The Treatment Frequency Index (IFT, Champeaux, 2006) was 4 for the intensive WOSR management (4 treatments applied at the homologated dose) but 0 for the integrated WOSR management (no treatment).

The pluri-annual simulations with the strategy that limits the selection pressure exerted on pathogen population (Table 3.2) presented differences with previous simulations in terms of pathotypes frequencies (Figure 3.6). The frequency of the virulent pathotype was significantly lower over years and the presence of the avirulent pathotype in the populations was therefore maintained one more year (Figure 3.5, 3.6).

Figure 3.4. Simulated G_2 disease index (a.), yield (b.) and pseudo-gross margin (c.) averaged over all target fields (cultivated with WOSR) each year of simulation. White bar: cultivar management 1 (50 % specific resistant cultivar, 50 % susceptible cultivar), intensive crop management (Table 3.1); gray bar: cultivar management 2 (50 % specific and quantitative resistant cultivar, 50 % susceptible cultivar), intensive crop management; dark gray bar: cultivar management 3 (100 % susceptible cultivar), intensive crop management; white bar thick border: cultivar management 1, integrated crop management (Table 3.1); gray bar thick border: cultivar management 2, integrated crop management; black bar: cultivar management 3, integrated crop management.



1.7. Discussion

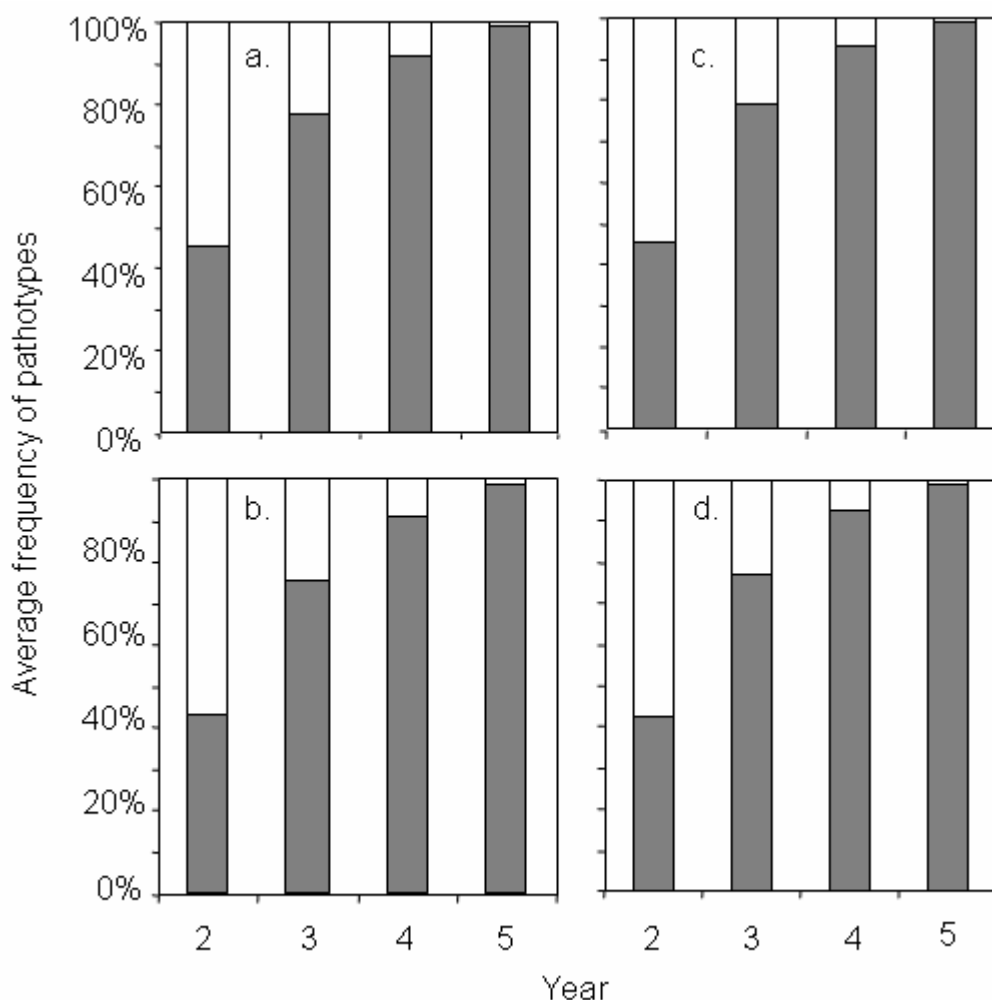
1.7.1. Examples of simulation: consequences for the structure of SIPPOM-WOSR

These simulations show that SIPPOM-WOSR is able to represent the effects of crop management on yield, disease severity and economic return (with the six crop management * cultivars situations). This tool can also display the impact of cultivar deployment in association with crop management on disease and pathogen population structure evolution. In particular, the last simulation demonstrates that it is possible to enhance the durability of a specific resistance gene only if cultivar management is adequately combined with other control methods. The efficiency of the specific resistance is maintained when the pathogen population size on the fields with the specific resistant cultivar is reduced: the number of virulent pathotypes is limited and their regional frequency is lowered.

The average number of released ascospores per day and per squared meter was between 100,000 and 400,000 (Figure 3.3). This number is an average over rainy days (when ascospores are released) and non-rainy days (when no ascospores are release). It is of the same order of magnitude than the number reported by Petrie (1995) or Marcroft *et al.* (2003) for example, who trapped 1,000 ascospores per hour and per 10 g of stubble, thus 1.2 million spores per rainy day (day of ascospores release only) and per squared meter (0.5 kg of stubble per m² in SIPPOM). On the other hand, these pluri-annual simulations show a trend of SIPPOM to over-estimate disease severity (G_2 index) when the number of infecting ascospores is low. The beneficial effect of the specific resistance or the effect of ploughing (that significantly diminish ascospores quantity, Figure 3.3) was therefore attenuated: the number of leaf spots was significantly smaller with the specific resistant cultivar but the G_2 remained quite high, data not shown). An early sowing date (integrated WOSR management) tends to increase the disease severity contrarily to what has been experimentally observed in France (Aubertot *et al.*, 2004a). However, the relationship between sowing date and severity of blackleg depends on the context: early sowing date has been reported to limit the disease severity in England (Gladders and Musa, 1980), whereas late sowing date limit stem canker development in Australia (McGee and Emmett, 1977). The correlation between the number of leaf spots per plant and the disease severity has been shown to be variable (Sun *et al.*, 2000), and the primary infections and their impacts on yield loss depend on the plant development (Steed *et al.*, 2007), in turn depending on cultural practices. Further research and experimentations are needed to improve the comprehension and representation of the relationship between number of ascospores, number of leaf spots and canker severity.

The integrated crop management plan led to a higher yield because of a higher attainable yield. The early sowings produce greater biomasses at the end of winter. SIPPOM systematically predicts a higher attainable yield when the sowing is earlier, whereas Dejoux *et al.* (2003) could not find a relationship between early sowing and higher yield. Whatever the crop management, estimated yields were low (even though other biotic pressures such as weeds or insects were not taken into account), because of the under-estimation of the attainable yield as well as the over-estimation of G_2 and subsequent yield loss. Two parts of

Figure 3.5. Average frequency of pathotypes over the region at the beginning of each epidemic year, depending on the cultivar and crop management situation. Avirulent pathotype in white and simple virulent pathotype corresponding to the specific resistant gene deployed in gray. Frequencies of other pathotypes were very low (less than 10^{-4} for the other simple virulent pathotype and less than 10^{-5} for the double virulent pathotype). a. cultivar management 1 (50 % specific resistant cultivar, 50 % susceptible cultivar), intensive crop management (Table 3.1); b. cultivar management 2 (50 % specific and quantitative resistant cultivar, 50 % susceptible cultivar), intensive crop management; c. cultivar management 1, integrated crop management (Table 3.1); d. cultivar management 2, integrated crop management.



the model need therefore to be improved, the attainable yield calculation in the crop growth sub-model and the calculation of the disease index in the infection sub-model.

The economic cost of intensive crop management plan leads to very low pseudo-gross margin, mostly because of pesticides use. It is worth noting that tillage or harvest economic costs are taken into account in the calculation of the pseudo-gross margin. This can explain its low value whatever the crop management. Economical, as well as energetic costs of practices have been simply estimated and this could be improved in the model. However, results permit to compare economic as well as energetic costs of control strategies, even if all the complexity of a cultivated field was not taken into account yet.

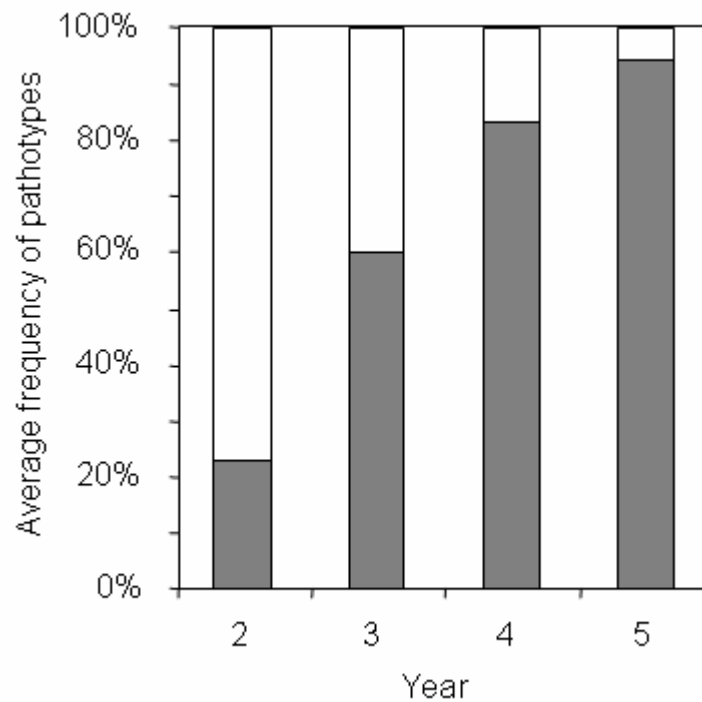
A border effect in the model was observed. Dispersion of ascospores in the same direction (between north and east) during 5 years causes decrease of disease severity from year 3 as the spores went out of the region. The border effect would be attenuated with real wind data that would not be so unidirectional. However, this could be improved by simulating wider regions and considering only the central fields of the region, or by making spores symmetrically re-entering the region.

Simulations show that the classification of control strategies depends on the output considered, *e.g.* disease severity, genetic, economical or environmental criteria, but SIPPOM is a good tool to cope with this difficulty. It would be possible to simulate more realistic cropping systems with different crop sequences and cultural practices in each field, in a real region instead of that considered in the simulations. Even if some aspects in the model need improvement, these simulations show the potential use of SIPPOM to test and rank integrated control strategies taking into account several control methods.

1.7.2. Simplifications and limits

Given the complexity of the system that one would opt to model, it needs to set hypotheses to begin with. The development of a framework was attempted, linking available knowledge in various scientific fields (agronomy, botanical epidemiology and genetics), keeping in mind that it could be refined in further versions for the most important mechanisms. In the inoculum production sub-model, the only practice considered to reduce the quantity of surface stubble is tillage because the model has been developed for northern European conditions (practices and climate), where burning is not allowed and flooding practice does not exist. Moreover, chemical treatment of stubble seems excessive in view of the ecological requirements of integrated pest management. Of course, additional practices could be implemented for use in areas where other techniques are applied. For pseudothecial maturation, the cumulative number of favourable days to maturation is the same for all the residues on surface of the soil, even if some residues are buried and thereafter brought back to the surface by tillage, whereas others stay on soil surface. With this simplification, the quantity of primary inoculum may be slightly over-estimated, and if necessary a further version could be implemented by considering separately all groups of residues, which will increase the time of calculation. As it has been shown that the quantity of inoculum produced on older residues is negligible in comparison with the quantity produced on stubble from the

Figure 3.6. Average frequency of pathotypes over the region at the beginning of each epidemic year, for the following cultivar and crop management situation: integrated crop management (Table 3.1) was performed in field with the specific resistant cultivar (50 % of WOSR fields) whereas intensive crop management (Table 3.1) was performed in field with a susceptible cultivar (50 % of WOSR fields). Avirulent pathotype is represented in white and simple virulent pathotype corresponding to the specific resistant gene deployed is in gray. Frequencies of other pathotypes were very low (less than 10^{-4} for the other simple virulent pathotype and less than 10^{-5} for the double virulent pathotype).



previous year (Khangura *et al.*, 2007), the primary inoculum production sub-model simulates inoculum production on stubble from the previous year only. SIPPOM does not take into account dispersion modifications due to landscape topography or vertical elements, such as hedges or trees. Thus, the only environmental factor that influences the dispersion of spores is the wind. As said before, each biological, chemical and physical components of the system cannot be represented, and the development of a more detailed dispersion algorithm does not appear of primary importance to test control strategies. Actually, all sub-models could be more detailed if needed.

Söchting and Verreet (2004) showed that spring mineral nitrogen fertilisation has no effect on blackleg. Mineral nitrogen was considered to be applied optimally in spring and therefore does not reduce yield. Spring fertilisation is therefore only used to calculate the economical output but not considered in the calculation of the attainable yield.

In the genetic sub-model, evolutionary forces represented in SIPPOM are migration, selection and recombination, as well as Allee effect. As virulent *L. maculans* isolates can be found in fields as soon as a new resistant gene is introduced in cultivars (Brun *et al.*, 2001), we hypothesized that in the case of blackleg, mutation is indeed the cause of apparition of new virulence, but in this pathosystem strategies aiming at delaying the apparition of first mutants are not appropriate. In SIPPOM, all pathotypes are present in a population at the beginning of a simulation, new virulence against an introduced resistance gene being at very low frequency (less than 10^{-4} , Lannou and Mundt, 1997). If necessary, mutation as well as genetic drift could be easily implemented in the model.

1.7.3. Evaluation and sensitivity analysis

Because of the model's complexity, the temporal and spatial scales considered, and the type of simulated variables, evaluating the overall model is difficult. As presented before, most sub-models (or part of them) were evaluated independently, when data collection was possible. Even though it is nearly impossible to evaluate the predictive quality *sensu stricto* of such a model, it is essential to emphasize that the model was created not to predict absolute values of variables such as yield, pseudo-gross margin, or even pathotype frequencies, but to rank control strategies. It will be possible to confront ranking of contrasted cropping situations simulated by the model with experts' appreciation. Moreover, since 2006, data (cultural practices, disease severity, genetic sampling) are being collected in a small region (3*3 km²) in central France where cultivars with a new specific resistant gene have been introduced (Penaud *et al.*, 2006). Simulations will be performed with this initial situation, and output variables of the model will be compared with field observations. This will not in any case permit to evaluate the predictive quality of the model *sensu stricto*, as all necessary input variables can not be collected (*e.g.* very low initial pathotype frequencies cannot be measured), but it will be a way to assess the general behaviour of SIPPOM. Data from other field experiments could also be used for that purpose. A sensitivity analysis is being carried out in order to identify parameters which variation leads to a modification of the ranking of control strategies, and results will be published in a companion paper.

1.8. Conclusion and perspectives

SIPPOM is the first spatially explicit model that takes into account genetic, cultural and chemical control methods together, and the spatial distribution of cropping systems to evaluate management strategies of specific resistances. One of its originalities is to link a crop model with an epidemiological model and a population model. It also considers environmental conditions (climate and soil) and their impacts on yield and disease severity. As showed in the simulation examples, SIPPOM can be used to rank integrated management strategies of a disease according to how well they maintain efficiency of specific resistances against blackleg, and how well they limit environmental costs and enhance economical profits. SIPPOM-WOSR can also be used as a demonstrative tool for farmers and all the stake-holders concerned by the evolution of practices on oilseed rape for increasing resistance durability.

At this stage, SIPPOM has been developed for winter oilseed rape cultivated in northern European climatic conditions. This explains the fact that tillage is an important cause of reduction of quantity of inoculum, or why the emergence mortality due to phoma in Australia or other regions of the world (West *et al.*, 2001) is not taken into account. However, SIPPOM could be easily adapted to other climatic conditions and to spring oilseed rape, even if the infection sub-model for example would have to be modified. Besides this fact, the structure of the model and development of the code have been thought and done in order to make it possible to adapt the model to other pathosystems. SIPPOM could therefore be used in various climatic situations, in landscape schemes and for various pathosystems to study strategies of control of a disease maintaining the durability of control methods. It can also help organize the control of a disease at the farm scale or even the collective control of the disease at the regional scale.

1.9. Acknowledgments

Authors would like to thank E. Hance and M. Morison for providing data for estimation of parameters. This work was carried out with the financial support of the « ANR- Agence Nationale de la Recherche - The French National Research Agency » under the « Programme Agriculture et Développement Durable », project « ANR-05-PADD-05, CEDRE », of the Ministère de l'Agriculture et de la Pêche (CTPS 05-02 Phoma) and of the Agence pour le Développement Agricole et Rural (BioViResDur). This study took place in the UMT Pivert. This work is part of a Ph.D. project co-funded by INRA and CETIOM.

2. Analyse de sensibilité de SIPPOM-WOSR, simulateur pour la gestion intégrée des populations pathogènes adapté au Phoma du colza

Sensitivity analysis of SIPPOM-WOSR, a Simulator for Integrated Pathogen POpulation Management adapted to phoma stem canker on Winter OilSeed Rape

2.1. Résumé / Abstract

Résumé. À cause des impacts environnementaux de l'agriculture intensive, il est indispensable de concevoir des systèmes de culture innovants permettant le contrôle des bioagresseurs, mais moins consommateurs de pesticides et où l'efficacité des méthodes de lutte est conservée. La production intégrée nécessite de combiner les différentes méthodes de lutte pour répondre à des exigences économiques, écologiques et toxicologiques. Les expérimentations au champ sont difficiles pour tester des stratégies de production intégrée aux échelles régionales et pluriannuelles. SIPPOM-WOSR, *Simulator for Integrated Pathogen Population Management for Winter OilSeed Rape*, a été développé pour tester et hiérarchiser des stratégies de contrôle du phoma du colza, préservant l'efficacité des résistances spécifiques. Les variables d'entrée sont les pratiques culturales (dont le choix des variétés) et leur répartition spatiale, la quantité initiale, la répartition et la structure génétique initiale de l'inoculum primaire, ainsi que les conditions pédoclimatiques. Le modèle simule la sévérité de la maladie et les dommages associés pour chaque parcelle de la région, de même que les rendements, la marge brute et le coût environnemental des pratiques. Préalablement à l'utilisation du modèle pour aider à la conception de stratégies de production, il est nécessaire d'analyser la sensibilité du modèle aux variations des paramètres et des variables d'entrée. L'objectif de l'analyse de sensibilité présentée était de tester la sensibilité des variables d'état de SIPPOM (variables de sortie de chaque module) aux variations des paramètres. Un plan factoriel complet a été choisi pour analyser l'effet des variations des paramètres : trois valeurs de chaque paramètre ont été définies et testées sous des combinaisons de variables d'entrée contrastées, choisies selon leur impact attendu ou supposé sur le rendement et sur la maladie. L'analyse de sensibilité présente des variations des sorties attendues (à dire d'expert) en fonction des variations de entrées et paramètres. Les paramètres ayant le plus d'impact sur les sorties et qui nécessitent d'être estimé plus précisément ont été identifiés. Des améliorations possibles du modèle sont proposées. Les résultats de l'analyse de sensibilité montrent que SIPPOM peut être utilisé pour hiérarchiser des stratégies de contrôle, malgré l'incertitude de certains paramètres.

Abstract. Because of environmental impacts of intensive agriculture, there is a need to find alternative cropping systems for pest management, limiting pesticide use and preserving the efficiency of control methods over time. Integrated Pest Management consists in combining different control methods to satisfy economic, ecological and toxicological requirements. Field experiments are difficult to set up to test IPM strategies at pluriannual and regional scales. SIPPOM-WOSR, a Simulator for Integrated Pathogen Population Management for Winter OilSeed Rape, has been developed to test and rank strategies according to their ability

to control Phoma stem canker, also known as blackleg, and to maintain the efficiency of specific resistances. Input variables consist of cultural practices (including cultivar choice for WOSR) and their spatial distribution, the quantity, spatial distribution, and genetic structure of the initial primary inoculum, as well as pedo-climatic conditions. The model simulates the disease severity and the related damage in each plot of the considered region, as well as yields, gross margins and environmental costs of the cultural practices. Prior to using the model to help design production strategies, it is necessary to analyse its sensitivity to both parameters and input variables. The aim of the presented sensitivity analysis was to test the sensitivity of the state variables (sub-models output) to variation of parameters. A complete factorial design was chosen for the analysed parameters: three values of each parameter were tested under contrasted input variables situations, chosen according to their expected/known impact on disease and yield. The sensitivity analysis showed that the sub-model output variables behave as expected when the input variables and parameters vary, as regards experts' point of view. Parameters that have the greatest impact on state variables and that need to be estimated more accurately were identified. Required improvements of parts of the model were proposed. Results of the sensitivity analysis demonstrated that SIPPOM could be used to rank control strategies, in spite of uncertainty on several parameters.

2.2. Key words

Blackleg; modelling; sensitivity analysis; parameters;

2.3. Introduction

Agriculture in the last century has faced environmental problems such as soil erosion, as well as pollution of soil, water and air (Tilman *et al.*, 2002). One of the major sources of pollution is the excessive use of pesticides in crop protection (Aubertot *et al.*, 2005). A major concern for the agronomical research in the beginning of the 21st century is thus to find alternative cropping systems for pest management, limiting the use of pesticides and preserving the efficiency of control methods over time. Integrated Pest Management necessitates combining different control methods to satisfy economical, ecological and toxicological requirements (OILB/SROP, 1973). Control methods consist of chemical, genetic, cultural, biological and physical control methods (Aubertot *et al.*, 2006a). In the case of disease management, genetic control method faces the problem of poor resistance durability. Because of the selection pressure exerted by the use of numerous cultivars with the same specific resistant gene, pathogen populations adapt to the specific resistant gene: virulent pathotypes become predominant in the pathogen population (McDonald and Linde, 2002). This can lead to the complete loss of efficiency of the resistance within a few years (*e.g.* the breakdown of the Rlm1 resistance gene against phoma stem canker of winter oilseed rape, Rouxel *et al.*, 2003). The spatial and temporal deployment of cultivars makes it possible to limit this selection pressure exerted on pathogen populations (McDonald and Linde, 2002). Limiting the exerted selection pressure and, at the same time, combining control methods to reduce the size of pathogen populations should therefore enhance resistance durability (Integrated Avirulence Management; Aubertot *et al.*, 2006a).

Dispersion of inoculum often exceeds the field scale in the case of airborne diseases. Moreover, epidemic cycles of diseases are often polyetic. It is therefore necessary to consider combinations of control methods at the regional scale rather than at the field scale, and at a pluriannual scale rather than an annual scale (Aubertot *et al.*, 2006a). Field experiments are difficult to set up at these scales of time and space, and a simulation model can be a good tool for proposing durable control methods. SIPPOM-WOSR, a Simulator for Integrated Pathogen Population Management for Winter OilSeed Rape (Lô-Pelzer *et al.*, 2008c¹), has been developed to test *ex ante* and rank control strategies according to their ability to limit pathogen populations through the adaptation of cultural practices, cultivar choice and chemical control at the regional scale. This model has been developed for phoma stem canker of winter oilseed rape, also known as blackleg, one of the major diseases of oilseed rape world-wide (Fitt *et al.*, 2006). The model simulates the disease severity in each plot of the considered region, as well as yields, gross margins and environmental costs of the cultural practices.

Even if preliminary simulations showed a sound behaviour of the model (Lô-Pelzer *et al.*, 2008c), it is necessary to analyse its sensitivity to both parameters and input variables, because both are always quantified with uncertainties. It can be useful to identify parameters that must be estimated with a higher precision (Ruget *et al.*, 2002; Makowski *et al.*, 2006), in order to improve the predictive quality of the model. This is particularly helpful for complex models with a high number of parameters, when parameters estimation necessitates specific experiments (Makowski *et al.*, 2006). The sensitivity analysis is therefore an essential step before using a model, particularly for a complex model such as SIPPOM, that has more than 200 parameters.

The sensitivity analysis aims at determining how sensitive the outputs of a model are to the variability of various elements of the model (Monod *et al.*, 2006). Several sources of variability exist: the structure of the model (and the functional relationships between input variables and state or output variables), the values of the parameters and the input variables. Several methods exist to analyse the sensitivity of a model to these variability sources. The choice of the method mainly depends on the objective of the sensitivity analysis, the number of input factors (parameters or input variables) that will be tested and the computing time of the model. The simplest method is to vary one input factor at a time, keeping the others fixed (Monod *et al.*, 2006). However, this method does not take into account interactions between the tested factors, and would neither be adapted nor feasible for a complex model such as SIPPOM. Another method consists in defining probability distributions of input factors and generating a large number of input factors (*e.g.* Monte Carlo random sampling). This method was used for instance for the sensitivity analysis of GeneSys (Colbach *et al.*, 2004) to generate technical input variables situations, and for the sensitivity analysis of a static denitrification model (Gabrielle, 2006) to generate random samples of parameter values and input variables. However, this method requires a large number of simulations that would not be possible with SIPPOM because of its computing time. A third method consists in fixing few values of each input factor (2 or 3) and to test all the combinations of the tested input

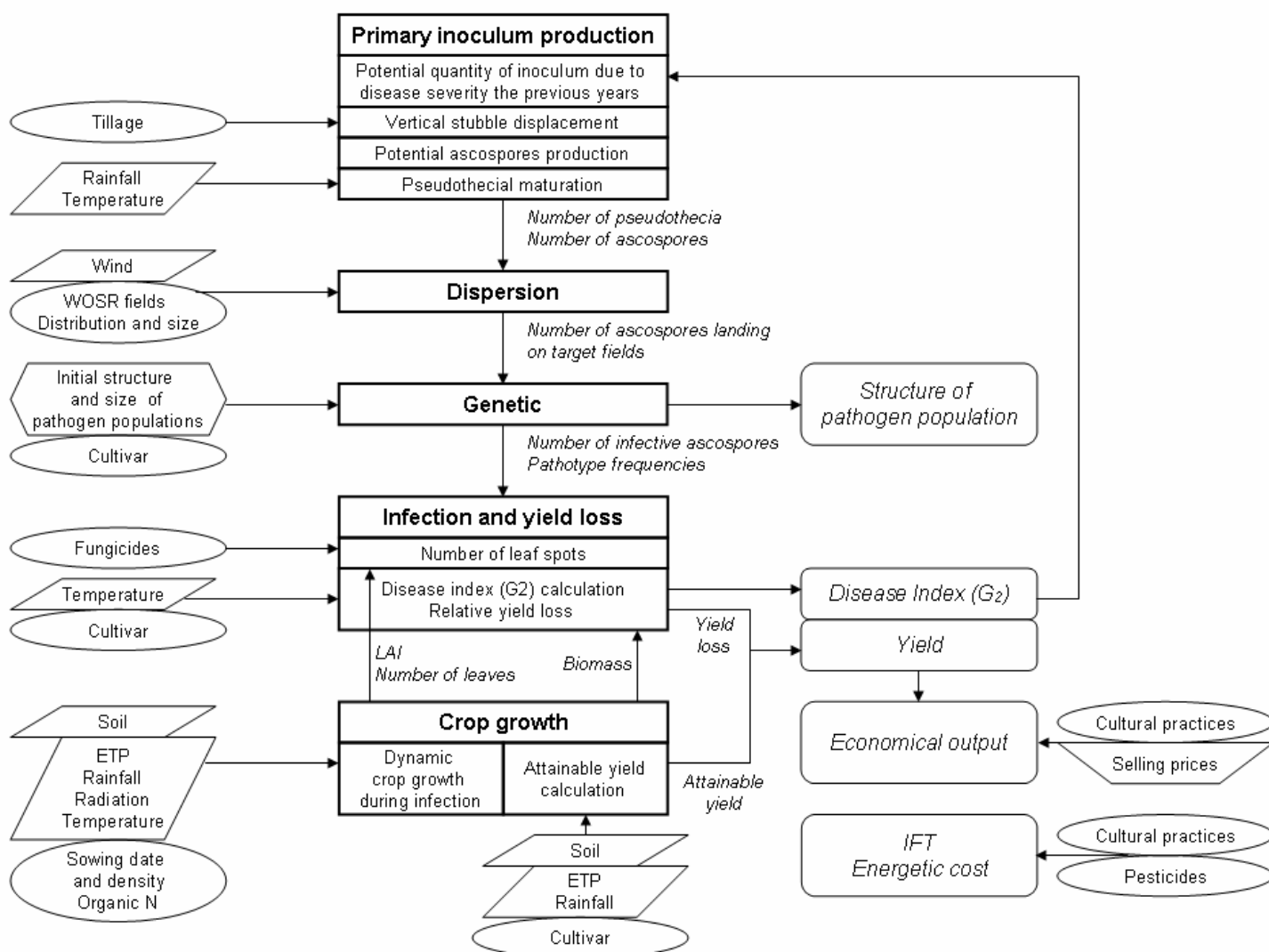
¹ Cette référence correspond à la première partie de ce chapitre

factors in a complete factorial design. This method is well adapted to screen for the most influent input factors. It was used for the sensitivity analysis of Genesys (Colbach *et al.*, 2004) to test the sensitivity of the model to variations of parameters. It makes it possible to evaluate simultaneously the influence of many factors, and statistical methods such as ANOVA are readily usable in statistical software to analyse the data (Monod *et al.*, 2006). However, it only gives information on the model behaviour for a few numbers of input factors values that have thus to be chosen carefully. Moreover, it necessitates numerous simulations when the number of input factors tested is large. Finally, another sensitivity analysis method, the variance based technique, makes it possible to consider the impact of each input factor on output variables as well as the overall impact of the input factor in interaction with the other input factors (Crosetto *et al.*, 2000; Salvador *et al.*, 2001; Monod *et al.*, 2006; Makowski *et al.*, 2006). This technique does not require an intermediate simplified model as the variance analysis model or the linear regression model, but it necessitates a large number of simulations to calculate variance due to each input factor and interactions.

The aim of the first sensitivity analysis of SIPPOM was to test the sensitivity of the model to variations of parameters. Because of computing time of SIPPOM, methods based on intensive random sampling are not adapted. The complete factorial design was therefore chosen. If the number of parameters tested is s and the number of modalities per parameter is m , the number of required simulations will be m^s (Monod *et al.*, 2006). Because of the high number of parameters of the model, it was not possible to realize the sensitivity analysis of the overall model. Therefore a sensitivity analysis of each sub-model was performed. The sensitivity of a model to variations of its parameters depends on the values of input variables (Ruget *et al.*, 2002; Monod *et al.*, 2006). Contrasted input variables situations were therefore defined. Spores flow between a source and a target field as well as the sensitivity of the pathogen population structure to the initial structure, recombination and Allee effect were tested. It necessitated testing the sensitivity of sub-model outputs to both variations of parameters and input variables.

The aim of this paper is to present the sensitivity analysis of SIPPOM. In a first part, the structure of SIPPOM-WOSR is shortly described and the approach chosen for the sensitivity analysis of each sub-model is detailed: input variables situations, choice of parameters and their values, and output variables tested are listed. Significant parameters as well as behaviour of sub-models under contrasted input variables are then presented. Finally, a discussion about the results and the approach used is conducted.

Figure 3.7. Flow chart of SIPPOM-WOSR. Sub-models, as well as parts of submodels for the sensitivity analysis, are represented in squares, climatic and soil inputs data in diamonds, technical inputs data in ovals, and outputs data in rounded squares. Output variables of each sub-model (state variables of SIPPOM) are presented in *italics*. The structure of pathogen populations is an input variable (initial structure), a state variable (simulated each year) as well as an output variable. Selling prices as well as economical and environmental cost of practices are fixed over years of simulation.



2.4. Materials and methods

2.4.1. Description of the SIPPOM-WOSR model

SIPPOM is composed of 5 sub-models (Figure 3.7; Lô-Pelzer *et al.* 2008c).

- The first sub-model simulates the **primary inoculum production** of *Leptophtheria maculans*, the causal agent of phoma stem canker. Pseudothecia mature on stubble left in fields after harvest are produce ascospores that are considered to be the main primary inoculum (Hall, 1992). This sub model simulates the impact of soil tillage operations on stubble vertical displacements in soil, the subsequent potential density of pseudothecia on stubble present at soil surface, the effect of climate conditions on pseudothecial maturation and the release of ascospores. Ascospores production is simulated from harvest to the beginning of winter. The quantity of inoculum also depends on the severity of the disease the previous year (Lô-Pelzer *et al.*, 2008b¹; 2008a²).
- After a rainfall event, ascospores are released and wind-dispersed over several kilometres (West *et al.*, 2001). The **dispersion** sub model simulates the flow of ascospores in the region, and thus the number of ascospores on each field of the region. The model is spatially explicit through the use of a raster with 50 m * 50 m pixels.
- Cultural practices, such as sowing date, sowing density or nitrogen management have an impact on the leaf area receiving ascospores (Aubertot *et al.*, 2004a). Moreover, in Europe sowing dates affect the coincidence between ascospore release and the most sensitive stage of oilseed rape to infection (Aubertot *et al.*, 2004a). The dynamic **crop growth** sub-model simulates the development stages and the growth of the crop from emergence to the end of winter. It takes into account the influential cultural practices as well as pedo-climatic conditions. It also simulates attainable yields.
- The main efficient control method against phoma stem canker is genetic through the use of cultivars with specific or quantitative resistances (Delourme *et al.*, 2006), but specific resistances lack durability (Rouxel *et al.*, 2003). The **genetic** sub-model takes into account pathotype frequencies in each pathogen population and simulates the possibility for pathotypes to infect cultivars with a specific resistance. Evolutionary forces represented in SIPPOM are migration, selection, recombination between 2 or 3 avirulence genes, as well as the Allee effect (Allee, 1931).
- Ascospores germinate and can infect seedlings by entering plant tissues *via* wounds and stomata. If the infection is effective, the first symptoms, phoma leaf-spots, appear. Primary infections cause higher yield loss when they occur before the 6-leaf stage (Brunin and Lacoste, 1970; Poisson and Pérès, 1999b). They can be limited by fungicide treatments (Penaud *et al.*, 1999; West *et al.*, 2002). During spring, the fungus follows a systemic pathway from the leaves to the stem base, where the second symptom, the basal stem canker, appears and produces yield loss. Quantitative resistances can limit the systemic growth of the fungus (Delourme *et al.*, 2006). The **infection** sub-model simulates the severity of the disease (*i.e.* the

¹ Cette référence correspond à la partie 1.1.1 du chapitre 2.

² Cette référence correspond à la partie 1.1.2 du chapitre 2

Table 3.3. Definition of two contrasted successions of cultural practices for winter oilseed rape fields according to their impact on disease severity and yield.

Cultural practice	Intensive crop management	Integrated crop management
Sowing density	60 plants.m ⁻²	30 plants.m ⁻²
Sowing date	1/09	15/08
Cultivar	High potential yield (56 q.ha ⁻¹) No quantitative resistance	Medium potential yield (46 q.ha ⁻¹) Quantitative resistance
Fungicide	1 fungicide	No fungicide
Organic nitrogen	Orgafor (100 kg N.ha ⁻¹)	No Organic nitrogen
Tillage	Chiselling (20/07-20/08; <i>primary inoculum production sub-model</i>) Rotary harrowing (1/10) Sowing (2/10)	Chiselling (20/07-20/08; <i>primary inoculum production sub-model</i>) Mouldboard Ploughing (20/09) Rotary harrowing (1/10) Sowing (2/10)

Table 3.4. Climatic conditions chosen among the last 20 years in Grignon (France), according to their impact on disease and yield.

Period	Variable	Year 1 (dry and cold)	Year 2 (wet and warm)
Cultural cycle from sowing to harvest	Average Temperature	8,9 °C	10,0 °C
	Total rainfall	288 mm	791 mm
	Average daily radiation	1018 J.cm ⁻² .j ⁻¹	1123 J.cm ⁻² .j ⁻¹
From sowing to the end of winter	Average Temperature	8,5 °C	9,4 °C
	Total rainfall	206 mm	403 mm
	Average daily radiation	678 J.cm ⁻² .j ⁻¹	798 J.cm ⁻² .j ⁻¹
From the end of winter to harvest	Climatic deficit (DC)	346 mm	73 mm
From harvest to the beginning of winter	Cumulated favourable days to pseudothecial maturation	79	97

- dynamic of the mean number of phoma leaf spots per plant and an index that characterises canker severity at crop maturity, Aubertot *et al.*, 2004c) according to the number of ascospores that can infect the cultivar (virulent ascospores), the state of the crop, the fungicide treatments and the quantitative resistance of the cultivar. It also simulates yield losses.

Pseudothecial maturation, ascospore release and dispersion, leaf infections, as well as crop growth are daily simulated. Calculations of canker severity, attainable yield and yield loss are static. All formalisms are deterministic. Input variables of SIPPOM are technical (description of the cultural practices, including the cultivar choice), epidemiological (description of the quantity and the genetic structure of initial primary inoculum), and environmental (description of soil and climate characteristics). These data are spatialised. The model allows pluriannual and regional simulations in order to cover the dispersion scale, to follow disease epidemics in the region and the loss of efficiency of specific resistance. Output variables are epidemiologic, agronomic, economic, environmental and genetic (Figure 3.7). Epidemiologic outputs are a disease severity index (G_2 index, Aubertot *et al.*, 2004b) and the associated yield loss. The agronomic outputs are yields. The economic outputs are simplified “gross margins” (€/ha) that take into account the cost of cultural practices and crop prices. The environmental outputs are treatment frequency indexes (Champeaux, 2006) and energetic costs of the cultural practices (MJ/ha). The genetic outputs are the structure of the pathogen populations (one population corresponds to one field) described by the frequency of each pathotype.

2.4.2. Sensitivity analysis method

Parameters have been selected and three values have been defined for each one: a nominal value and 2 bound values. Two situations with contrasted input variables have been defined to test the impact of parameters under different conditions. For each sub-model, the three modalities of each parameter were tested according to a complete factorial design. Sensitivity to parameters (and input variables for the dispersion and genetic sub-models) was tested.

2.4.2.1. Input variables

The sensitivity analysis of the primary inoculum production, plant growth and infection sub-models has been conducted on contrasted crop managements as well as contrasted climatic situations.

Two contrasted crop management for WOSR were defined according to their expected impact on both disease severity and attainable yield (Table 3.3). The intensive crop management aims at a high attainable yield (cultivar with a high yield potential, high sowing density, organic nitrogen supply before sowing, one fungicide application, and simplified tillage). The integrated crop management has been defined for an average attainable yield (cultivar with an average potential yield, no organic nitrogen supply before sowing) but with adapted cultural practices to limit the disease (ploughing after the harvest of WOSR, early sowing date, low sowing density, quantitative resistance of the cultivar). The effects of the date of chiselling was analysed only for the primary inoculum production sub-model, as this variation should modify the number of days for ascospore production and release.

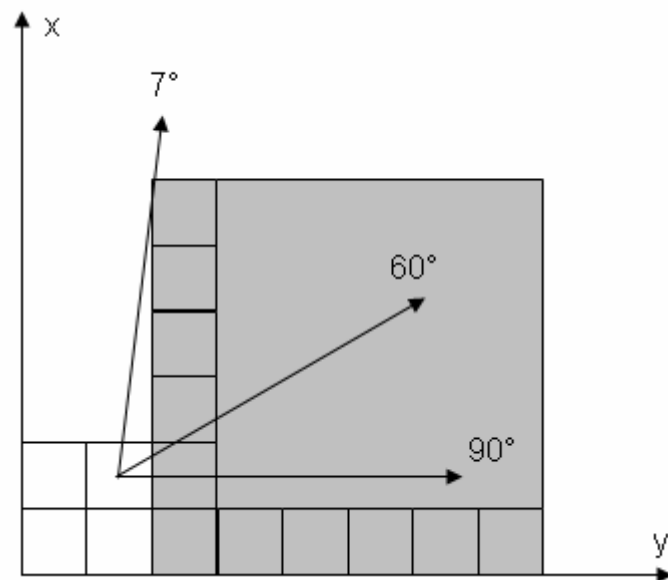
Table 3.5. Number of required simulations for each sub-model according to the input variables and parameters situations, and output variables analysed.

Sub-model	Process	Number of Input variables situations	Number of parameters	Number of required simulations	Output variables tested
Crop growth	Crop growth during infections	2 crop managements 2 Climatic years	3^9	$4 \times 3^9 = 78732$	Nb days to reach the 6-leaf stage LAI 6-leaf stage Biomass beginning/end winter Attainable yield
	Attainable yield	2 crop managements 2 Climatic years	3^7	$4 \times 3^7 = 8748$	Attainable yield
Primary inoculum production	Potential ascospores production	4 crop managements 2 Climatic years 3 G_2 value	3^9	$24 \times 3^9 = 472392$	Cumulated number of pseudothecia
	Pseudothecial maturation	4 crop managements 2 Climatic years 3 G_2 value	3^7	$24 \times 3^7 = 52488$	Cumulated number of released ascospores
	Vertical stubble displacement in soil layers	4 crop managements 2 Climatic years 3 G_2 value	3 matrices per tillage tool 4 tillage tools	$24 \times 3^4 = 1944$	
	Potential quantity of inoculum due to disease severity the previous years	4 crop managements 2 Climatic years 9 G_2 value	3^4 values of a_i 3 values of $prop_i$ per G_2 value	$8 \times 9 \times 3^4 \times 3 = 17496$	
Infection and yield loss	Number of leaf spots	2 crop managements 2 Climatic years	3^9	$4 \times 3^9 = 78732$	Maximum number of leaf spots G_2 Yield loss Yield
	Disease index and relative yield loss	2 crop managements 2 Climatic years	3^8	$4 \times 3^8 = 26244$	G_2 Yield loss Yield
Dispersion		4 distances 3 source/target field sizes 3 wind directions/intensities	3^2	$324 \times 3^2 = 2916$	Number of spores landing in target field
Genetic		40 initial frequencies 3 population sizes	3^2	$120 \times 3^2 = 1080$	Double virulent pathotype frequency

Climatic data from the 20 last years in Grignon (48.9°N, 1.9°E, 130 m elevation, 40 km West from Paris) have been analysed and two contrasted years have been chosen according to their predictable impact on the disease (year 1 and year 2, Table 3.4). Four critical periods for the disease and yield development have been scrutinized: the period of pseudothecial maturation (from WOSR harvest to the beginning of winter), the period of crop growth during primary infections (from WOSR sowing to the end of winter), the period considered in SIPPOM to calculate the attainable yield (from the end of winter to harvest) and the whole cultural cycle. Year 1 was less favourable to phoma stem canker than year 2 and, in addition, led to lower attainable yields. Soil conditions were identical for all situations, except for the maximum water storage that was associated with each crop management: high for the intensive crop management (180 mm) and low for the integrated crop management (60 mm). The beginning and the end of winter, as well as harvest dates were identical whatever the climatic year and the crop management: December 1st, February 15th and July 15th, respectively.

For the infection sub-model analysis, the number of spores landing on each target pixel was fixed. Crop growth input variables necessary for this sub-model (biomass, leaf area index, phenological stage) were averaged from all simulations of the crop-growth sub-model sensitivity analysis (first part), even if bounds values of parameters for this part sometimes led to extreme values of biomass. An input variable variation was added for the primary inoculum production sub-model: three disease index values were tested ($G_2 = 1$, $G_2 = 4.5$ and $G_2 = 8$) for the recurrence of the disease (relationship between the severity of the disease the previous year and the quantity of primary inoculum produced for the next crop cycle). The number of tested situations was therefore 4 for the crop growth and infection sub models, but 24 for the primary inoculum production sub-model, as two dates for chiselling, as well as 3 G_2 values were added (Table 3.5).

Figure 3.8. Distribution of source (white) and target (gray) fields, and wind directions tested chosen according to the adjacent fields in the smallest source field-biggest target field situation (50 m * 50 m pixels). The angle 60° has been chosen as intermediate.



Concerning the dispersion sub-model, daily ascospore flow was tested between a source field and a target field. Four values of distance between fields were chosen: 0 km (adjacent), 1 km, 5 km and 10 km. Three sizes of source and target fields were also tested: 1, 4 and 9 ha. Climatic input variables were tested: three contrasted wind intensities were chosen (low: 1 m.s^{-1} , medium: 5 m.s^{-1} and high: 10 m.s^{-1}), as well as three wind directions (7° , 60° and 90° from North; Figure 3.8). Wind directions have been chosen according to the disposition of the fields: “direct dispersion” (90°) and “biased” dispersion (7° and 60°), 7° being chosen as an “extreme” angle according to the situation of adjacent fields, smallest source field-biggest target field (Figure 3.8). There is no need to test the effect of the pathogen population size in source pixels because the number of ascospores landing in a target pixel and coming from a given source pixel is proportional to the number of ascospores released in this source pixel. The number of tested input variables situations for this sub-model was 324 (Table 3.5).

Finally, the sensitivity analysis of the genetic sub-model was carried out for 2 avirulence genes (4 possible pathotypes: a double virulent, two simple virulent and a double avirulent pathotype). Input variables tested were initial size of pathogen population (1,000, 10,000 and 100,000 ascospores per squared meter and per day) and initial frequencies of pathotypes: 0 (for double virulent only), very low: 10^{-4} (Lannou and Mundt, 1997), low: 1 %, medium: 10 % and equiprobable, the frequency of the avirulent pathotype being fixed as the difference between 1 and the sum of the frequencies of simple and double virulent pathotypes. As both simple virulences are symmetric, all the combinations of frequencies were not tested. Moreover, the cases where the initial frequency of the double virulent pathotype was higher than the frequencies of the simple virulent pathotypes were not considered. Finally, 40 values of initial frequencies were tested. The number of tested input situations for this sub-model was therefore 120 (Table 3.5).

2.4.2.2. Choice of parameters

Parameters likely to be important in the different processes have been selected for each sub-model. Three values of parameters have been tested. The nominal value (VN) corresponds to the initial parameterisation of SIPPOM (Lô-Pelzer *et al.*, 2008c), and the two bound values have been chosen according to the literature, or fixed at $\text{VN} \pm 50 \%$ of VN when data on their variability were not available (following Colbach *et al.*, 2004). The amplitude of the uncertainty range has an impact on the effect of the considered parameter: a greater amplitude leads to a probable higher impact of the parameter in the sensitivity analysis. Amplitudes of uncertainty ranges determined from bibliographic data were similar to amplitudes fixed at $\text{VN} \pm 50 \%$ of VN. Parameters modalities (and input variables modalities or situations) were tested in a complete factorial design. When the number of required simulations (3^p if the number of tested parameters is p) was too high, the sensitivity analysis of the corresponding sub-model was divided in several parts (Figure 3.7; Table 3.5, 3.6). In that case, non-currently-tested parameters were fixed at their nominal value.

All parameters could not be tested for the crop growth sub-model as the total number of parameters is 70. Sensitivity analysis of this sub model was therefore carried out in two parts: crop growth during fall and attainable yield calculation during spring. Parameters that are

Table 3.6. Description of parameters tested and their values. The base for thermal times is 0°C.

Sub-Model	Process	Parameter	Description	Nominal value	Bound values	Reference
Crop growth	Crop growth during infections	dfj	Leaf life duration	550°C.d	450; 650	Dejoux, 1999;
		phyll	phyllochron	75°C.d	60; 80	Triboï-Blondel, 1988
		C _{Density}	Proportion of sown plants that germinates	0.85	0,7; 0,9	Grandeau; Saulas, unpublished data
		SF _{Coty}	Cotyledons surface at emergence	5.10 ⁻⁴ m ²	3.10 ⁻⁴ ; 7.10 ⁻⁴	Triboï-Blondel, 1988
		SLA _{Coty}	Dry biomass at emergence	36 g.m ⁻²	33; 40	Triboï-Blondel, 1988
		P _{Leaf}	Proportion of leafs in aerial part of plant	0.887	VN ±50%	Lô-Pelzer, based on data from UMR Environnement et grandes cultures, INRA
		V _{absMax}	Maximum Nitrogen absorption speed	0.5 kg.ha ⁻¹ .(°C.d) ⁻¹	VN ±50%	Jeuffroy and Recous, 1999
		V _{absMin}	Minimum Nitrogen absorption speed	0.02 kg.ha ⁻¹ .(°C.d) ⁻¹	VN ±50%	
		f _{MinHum}	Humus mineralisation	0.9	0.8; 1.3	Azobil, Machet <i>et al.</i> , 1990
	Attainable yield	a _{1RdtAtt}	Relative yield loss due to soil hydric storage and climatic deficit	- 1.7.10 ⁻³ mm ⁻¹	VN ±20%	Lô-Pelzer <i>et al.</i> , 2008c
		a _{2RdtAtt}		2.2.10 ⁻³ mm ⁻¹	VN ±20%	
		a _{3RdtAtt}		6.110 ⁻⁶ mm ⁻²	VN ±20%	
		a _{4RdtAtt}		0.644	VN ±20%	
		β _{0RdtAtt}	Relative yield loss due to crop growth	3.84.10 ⁻² kg ⁻¹ .ha ²	VN ±20%	
		β _{1RdtAtt}		0.467	VN ±20%	
		β _{2RdtAtt}		-1.9.10 ⁻⁴	VN ±20%	
Primary inoculum production	Potential ascospore production	α _{Surf}	Surface stubble decomposition rate	1.24 year ⁻¹	VN ±50%	Schneider, 2005
		α _{Bur}	Buried stubble decomposition rate	2 year ⁻¹	VN ±50%	Schneider, 2005
		m _{surface}	Surface stubble weight after harvest	0.5 kg.m ⁻²	0.25; 1	Schneider, 2005
		d _a	Number of ascospores per pseudothecia	1000	100; 10 000	Lô-Pelzer <i>et al.</i> , 2008a
		τ _{max}	Maximum recovering rate of stubble by pseudothecia	0.5	0.1; 0.8	Schneider, 2005
		d _p	Maximum density of pseudothecia on 1 m ² of stubble	1.4.10 ⁷ m ⁻²	1.10 ⁷ ; 2.10 ⁷	Schneider, 2005 Lô-Pelzer, unpublished data
		β	Decrease of pseudothecia abundance due to age of stubble	1.1 year ⁻¹	VN ±50%	Schneider, 2005
		ρ	Average volumic mass of stubble	150 kg.m ⁻³	40; 1400	Schneider, 2005
		d	Average diameter of stubble	0.01 m	0.005; 0.05	Lô-Pelzer, unpublished data

supposed to have a great impact on crop growth were chosen for the first part, according to experts' advices (Table 3.6). All parameters used for the attainable yield calculation (Lô-Pelzer *et al.*, 2008c) were tested (Table 3.6).

All the parameters of the primary inoculum production sub-model were tested. Sensitivity analysis of this sub model was divided in four parts: vertical stubble displacement in soil layers, potential quantity of inoculum due to disease severity the previous year, potential ascospores production, and pseudothecial maturation.

The vertical displacement of stubble is represented according to four layers of soil (soil surface, 0-10 cm, 10-20 cm, 20-30 cm). Each tillage operation (sowing, rotary harrowing, stubble disking, chiselling, mouldboard ploughing) is represented by a 4*4 matrix¹ (Schneider, 2005). Instead of varying each parameter of the matrices with restriction, two contrasted bound matrices were defined from the nominal matrix for each tillage tool according to the following decision rule: the proportion of stubble arriving in the surface layer from other layers is increased or decreased of 50 % and the difference is affected uniformly to the other layers (the sum of the parameter of each column of the considered matrix is 1). If the proportion of stubble arriving in surface layer exceeds 1, it is fixed at 1 and the others are fixed at 0. If a proportion is below 0 in other layers, it is fixed at 0 and other layers proportions, except the surface layer, are decreased uniformly. Stubble disking (that can be simulated in SIPPOM) was not considered in the sensitivity analysis as its matrix value is quite similar to the chiselling one

The relationship between the disease severity and the subsequent production of inoculum is calculated from the distribution of plants in each class of canker severity given the disease severity index G_2 (Lô-Pelzer *et al.*, 2008 c, b) and from the potential production of inoculum per stubble given the canker severity (Lô-Pelzer *et al.*, 2008 c, a). For this part of sensitivity analysis, all the integer G_2 values different from 0 were tested (from 1 to 9). The nominal value of distributions of each G_2 -interval as well as two bound values corresponding to the previous and next intervals (Lô-Pelzer *et al.*, 2008b²) were tested. For intervals 1 and 9, lower (interval 1) and higher (interval 9) bound values were fixed as follows: the greatest proportions were increased of 20 % of their value and other proportions were uniformly decreased. In SIPPOM, the production of inoculum per canker severity class is related to the most severe class (class 6). Nominal values of relative coefficients were used, and two bound values were fixed as follows: all canker severity classes produce as much as the class 6 (all the coefficients are fixed at 1); the relationship between canker severity class and production of inoculum is linear and corresponds to the average necrosed surface: coefficients are 0 for class 1, 0.125 for class 2, 0.5 for class 3 and 4 that are not significantly different (Lô-Pelzer *et al.*, 2008a), 0.875 for class 5 and 1 for class 6 (Table 3.6).

All parameters of the infection sub-model were tested in two parts: number of leaf spots calculation and calculation of G_2 and relative yield loss (Table 3.6). Extreme values were

¹ Les valeurs des matrices des différents outils sont données dans l'annexe 3

² D'après la partie 1.1.1 du chapitre 2, correspondant à cette référence, les distributions moyennes des intervalles de proche en proche n'étaient pas significativement différentes, d'où le choix de ces valeurs bornes pour chaque intervalle de note G_2 .

Table 3.6 (Continued). Description of parameters tested and their values. The base for thermal times is 0°C.

Sub-Model	Process	Parameter	Description	Nominal value	Bound values	Reference
Primary inoculum production	Pseudothecial maturation	$\theta_{\max}$	Maximum temperature for favourable day	22 °C	VN $\pm$ 50%	Aubertot <i>et al.</i> , 2006c
		$\theta_{\min}$	Minimum temperature for favourable day	5 °C	VN $\pm$ 50%	Salam <i>et al.</i> , 2003
		$R_{\min}$	Cumulated rain threshold for favourable day	4 mm	VN $\pm$ 50%	
		n_d	Number of days of cumulated rain	14	VN $\pm$ 50%	
		x_0	Number of favourable days to maturation	65	VN $\pm$ 50%	
		σ	Ecart type nombre de jours favorables	18.54	VN $\pm$ 50%	
		C_{vid}	Released ascospore coefficient	$4,59.10^{-2} \text{ mm}^{-1}$	VN $\pm$ 50%	
	Vertical stubble displacement in soil layers	Matrix 4*4	One matrix per tillage tool, describing vertical movement of stubble in 4 layers			Schneider, 2005
	Potential quantity of inoculum due to disease severity the previous year	$(\text{prop}_i)_{G2=j}$	Proportion of plant in each canker severity class i (one distribution per integer G2 value j)	$(\text{prop}_i)_{G2=j}$	$(\text{prop}_i)_{G2=j-1}$ $(\text{prop}_i)_{G2=j+1}$	Lô-Pelzer <i>et al.</i> , 2008b
		a_i	Production of inoculum depending on canker severity class i relative to the more severe class (6)	$a_1 = 0.18$ $a_2 = 0.54$ $a_{34} = 0.76$ $a_5 = 0.91$ $a_6 = 1$	$a_1 = 0; 1$ $a_2 = 0.125; 1$ $a_{34} = 0.5; 1$ $a_5 = 0.875; 1$ $a_6 = 1$	Lô-Pelzer <i>et al.</i> , 2008a

generally fixed at $VN \pm 50\% VN$ as no data are available in the literature. Concerning the dispersion sub-model, three values of the parameter associated with the dispersion function (μ_{Cauchy}) were tested: the nominal value corresponding to spores of *L. maculans* is 10 s. The value reported by Diggle *et al.* (2002) for spores of *Colletotrichum* (50 s) was also tested as well as a smaller value (5 s; chosen as $VN - 50\% VN$). The pixel size of the raster was also tested. It is fixed at 50 m * 50 m in SIPPOM-WOSR. We also tested 10 m * 10 m and 100 m * 100 m. Because of calculation time, the test of the 10 km distance between source and target field was not possible with a 10 m*10 m pixel. Finally, the genetic sub-model parameters associated to recombination and Allee effect were tested. We used three values of the parameter representing physical genetic linkage between avirulence genes, from almost complete linkage to complete independence (Table 3.6). As no data are available for the parameter associated to Allee effect, the bound values were fixed at $VN \pm 50\% VN$.

2.4.2.3. State and output variables tested

Analysed output variables of each sub-model (that are state variables of the overall model) were chosen according to their impact on global output variables of SIPPOM (Table 3.5). The number of leaves as well as the leaf area has an impact on the receptivity of spores, whereas the biomass is used in SIPPOM to calculate the disease index and the attainable yield. As the crop is more susceptible to infection before the 6-leaf stage (Brunin and Lacoste, 1970), the number of days to reach the 6-leaf stage was chosen, as well as the leaf area at this stage. The biomass of crop at the beginning and end of winter, and the attainable yield were also used. The cumulated numbers of produced pseudothecia as well as the cumulated numbers of released ascospores every 30 day from harvest to the end of winter (approximately 180 days after harvest) were chosen for the primary inoculum production sub-model. Concerning the infection sub-model, the maximum number of leaf spots per plant during the vegetative stage, disease index, yield loss and actual yield were used. The other output variables used were the number of ascospores per m² on target field for the dispersion sub-model and the frequency of the double virulent pathotype for the genetic sub-model (Table 3.5).

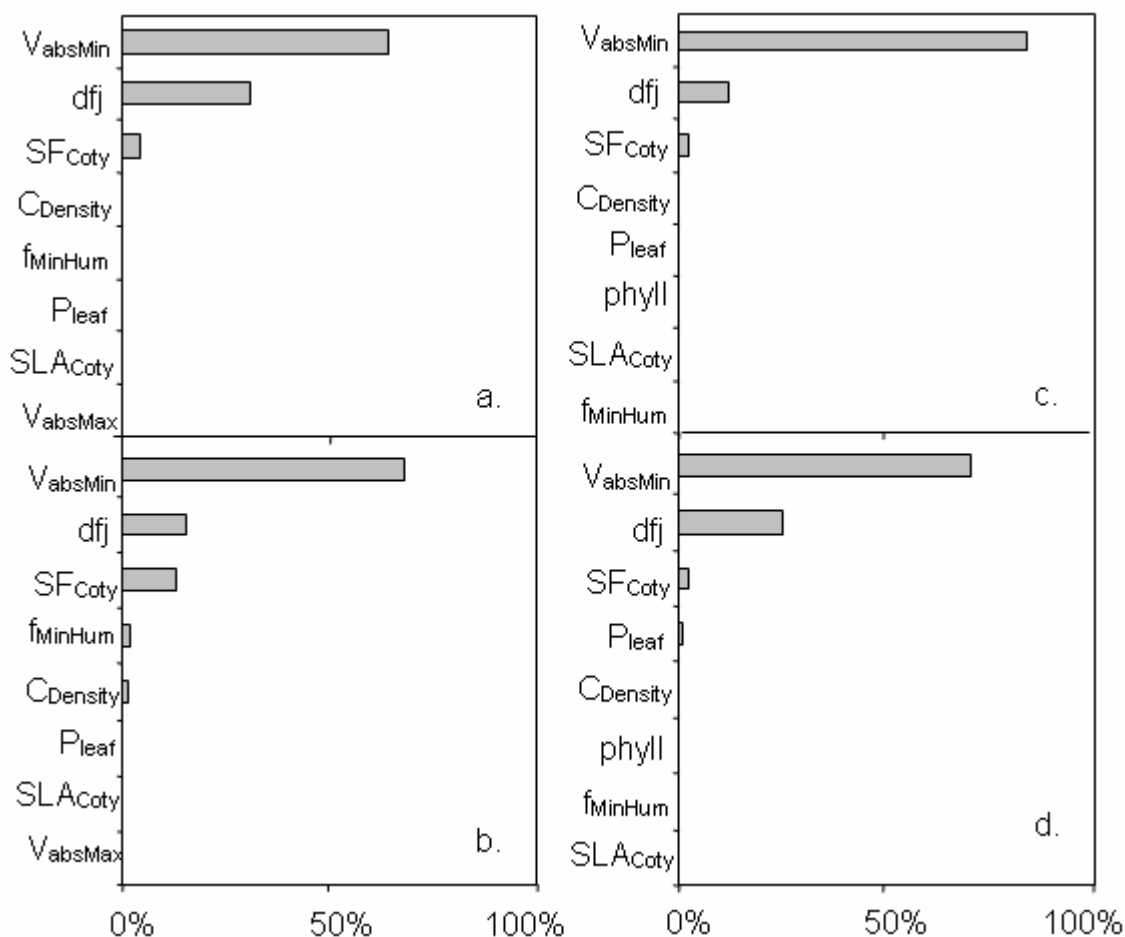
Table 3.6 (Continued). Description of parameters tested and their values. The base for thermal times is 0°C.

Sub-Model	Process	Parameter	Description	Nominal value	Bound values	Reference
Infection and yield loss	Number of phoma leaf spots per plant	k	Coefficient of interception of ascospores	0.73	VN ±50%	Gabrielle <i>et al.</i> , 1998a ; b
		r _{fung}	Fungicide remanence	21 day	14; 28	Penaud, unpublished data
		I _{max}	Efficiency of infection	0.9996	VN ±50%	Aubertot, unpublished data
		I _{min}		0.1	VN ±50%	
		α ₁		5.773.10 ⁻²	VN ±50%	
		α ₂		3.22	VN ±50%	
		α ₃		0.13	VN ±50%	
		L	Latency of apparition of leaf spot	250°C.d	VN ±50%	Biddulph <i>et al.</i> , 1999
						Brunin and Lacoste, 1970
						Biddulph <i>et al.</i> , 1999
						Huang <i>et al.</i> , 2007b
		Life _{LS}	Leaf spot duration	220°C.d	VN ±50%	Derived from Triboï-Blondel, 1988
	Disease index and relative yield loss	C _{MS}	Conversion of dry biomass in fresh biomass	0.14	VN ±50%	Morison, unpublished data
		a	Relative yield loss	0.0056	VN ±50%	Aubertot <i>et al.</i> , 2004c
		b		0.0077	VN ±50%	
		DI _{max}	Disease index calculation	9	Fixed	
		a ₀		9.93	VN ±50%	
		a ₁		0.09	VN ±50%	
		a ₂		-4.19.10 ⁻¹ (°C.d) ⁻¹	VN ±50%	
		a ₃		5.51.10 ⁻⁴ m ² .g ⁻¹	VN ±50%	
		α _{RQ}	Effect of quantitative resistance	0.65	VN ±50%	Lô-Pelzer <i>et al.</i> , 2008c
Dispersion		μ _{cauchy}	Parameter associated with wind intensity	10 s	5; 50	Diggle <i>et al.</i> , 2002
		Pixel size	Size of each pixel of the grid	50 m	10; 100	
Genetic		C _{linkage}	Genetic linkage between avirulence gene (Recombination)	0.25	0.05; 0.5	Lô-Pelzer <i>et al.</i> , 2008c
		N _s	Number of encounter sites (Allee effect)	100	VN ±50%	

2.4.2.4. Statistical analysis

Statistical analyses were carried out using procedures from SAS[®] V8 for Windows (SAS Institute Inc., 1999). In order to study the effect of the variation of the parameters, a variance analysis (proc GLM) was carried out with all the output variables chosen. Parameters that were used in the calculation of the considered output were entered in the variance analysis model. When the determination coefficient was low (below 0.6), interactions between parameters were added in the variance analysis model. The proportion of the determination coefficient explained by each parameter (interaction) was used as the index of sensitivity of outputs to each parameter (interaction). When the sensitivity analysis was carried out with the contrasted climatic*crop management situations, the analysis of variance was done for each input situation. Moreover, the stability of ranking of the contrasted input situations when parameters vary was evaluated: for each parameter combination, the climatic*crop management situations were ranked according to the output variables presented in the previous section. The proportion of the parameter combinations leading to the more frequent ranking was assessed, as well as the proportion where 1, 2 or more changes occurred in the ranking. The more frequent ranking was confronted to experts' point of view (agronomists from the French National Institute for Research in Agronomy, INRA, and from the French technical centre for oilseeds crops, CETIOM). For the genetic and dispersion sub-models, the effect of variations of parameters, as well as the effect of input variable variations (and interactions) were entered in the variance analysis.

Figure 3.9. Sensitivity analysis of the crop-growth calculation during infections in the crop-growth sub-model. Sensitivity of the output “attainable yield” to parameter variations: percentage of the determination coefficient explained by each parameter as a function of the simulated situation. a. Intensive crop management – year 1; b. Intensive crop management – year 2; c. Integrated crop management – year 1; d. Integrated crop management – year 2. Crop managements and climatic years are described in Tables 3.3 and 3.4. Parameters are described in Table 3.6.



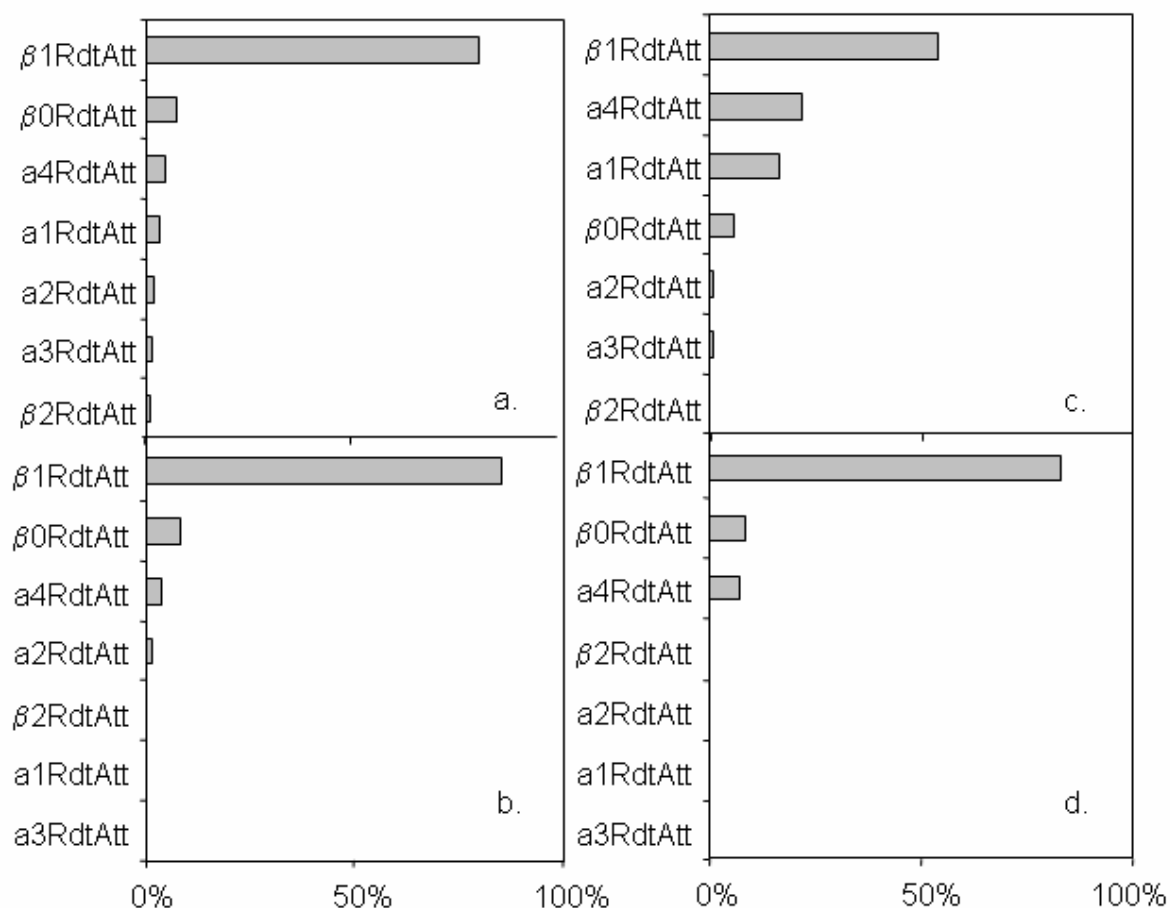
2.5. Results

2.5.1. Crop growth sub-model

The effect of parameters were introduced in the variance analysis model for the “crop growth during infections”, and the R^2 ranged from 67 to 99.9 % depending on the output variable and the crop management * climatic situation considered. V_{absMin} (minimum Nitrogen absorption speed; Table 3.6) was an important parameter as it explained the majority of the determination coefficient for the output variables “biomass at the beginning of winter” (57 to 83 % of the R^2 explained), “biomass at the end of winter” (55 to 93 % of the R^2 explained), and “attainable yield” (64 to 85 % of the R^2 explained, Figure 3.9). Variations of parameters dfj and SF_{Coty} (leaf life duration and cotyledons surface at emergence; Table 3.6) had also a significant impact on these three output variables. Only two parameters are used in the calculation of the output variable “number of days to reach the 6-leaf stage”, the phyllochron and the leaf life duration. Variations of phyllochron explained 96 to 98 % of the determination coefficient depending on the crop management * climatic situation. This parameter had also a great impact on the “leaf area” (LAI) (43 to 68 % of the R^2 explained), as well as V_{absMin} and SF_{Coty} parameters. Finally, four parameters were important in this part: V_{absMin} , dfj , SF_{Coty} and phyllochron (Table 3.8).

Variations of the output variables “attainable yield” and “number of days to reach the 6-leaf stage” were small but variations of other output variables were quite high when parameters varied. There was no clear difference between climatic * crop management situations for the output variables “biomass at the beginning of winter” and “number of days to reach the 6-leaf stage”. The ranking of situations according to both variables was not really stable. The most frequent ranking for the “biomass at the beginning of winter” was (from the lowest to the highest) Intensive-year 2, Intensive-year 1, Integrated-year 1 and Integrated-year 2 but this ranking occurred only for 24 % of the combinations of parameters. In 22 % of cases, one inversion appeared, and in 54 % of cases, two inversions or more were observed. The ranking of the “number of days to reach the 6-leaf stage” was more stable, as only 2 parameters were concerned. The most frequent ranking was Integrated-year 2, Intensive-year 1, Integrated-year 1 and Intensive-year 2. This ranking occurred for 56 % of the combinations of parameters. In 44 % of cases, one inversion appeared. On the contrary, distinction between crop management (and years for the attainable yield) appeared clearly for the other output variables. The intensive crop management favoured higher “biomass at the end of winter” and higher “leaf area” (and thus higher ascospore intercepting area). No tendency in the classification of years appeared for these output variables. The most frequent ranking for the “biomass at the end of winter” was (from the lowest to the highest) Integrated-year 1, Integrated-year 2, Intensive-year 2 and Intensive-year 1. This ranking occurred for 39 % of the combinations of parameters. In 31 % of cases, one inversion appeared, and in 30 % of cases, two inversions or more were observed. The most frequent ranking for the “leaf area” was (from the lowest to the highest) Integrated-year 2, Integrated-year 1, Intensive-year 2 and Intensive-year 1. This ranking occurred for 57 % of the combinations of parameters. In 40 % of cases, one inversion appeared, and in 3 % of cases, two inversions or more were observed. The ranking of the

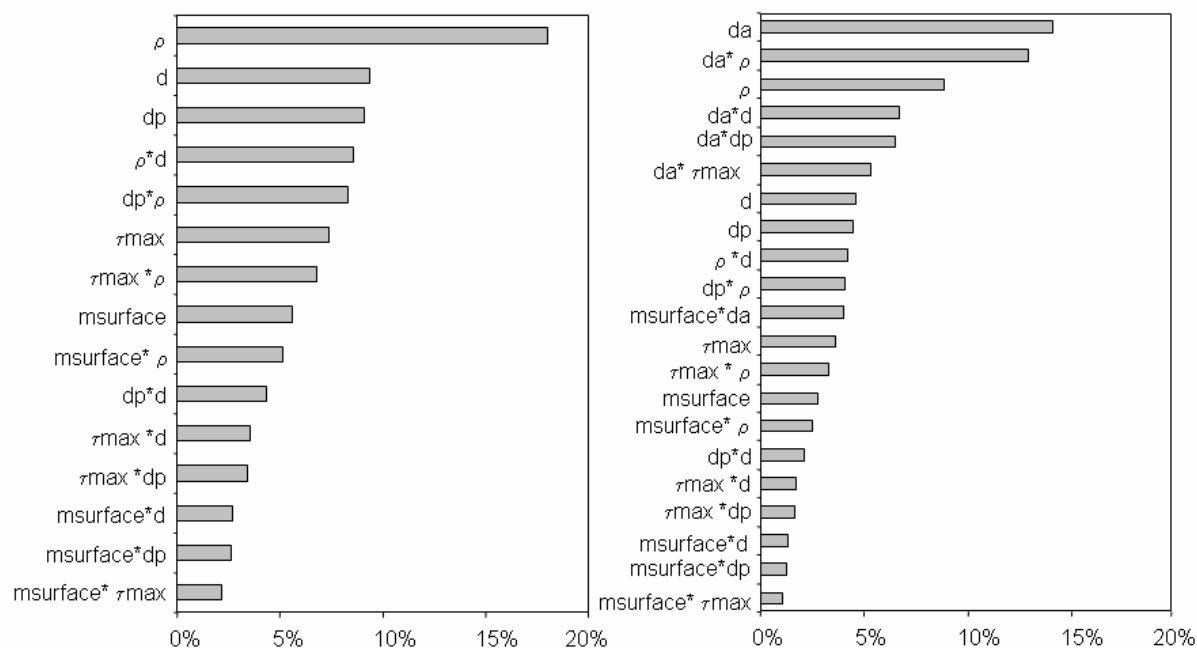
Figure 3.10. Sensitivity analysis of the calculation of the attainable yield in the crop-growth sub-model. Sensitivity of the “attainable yield” output to parameter variations: percentage of the determination coefficient explained by each parameter as a function of the simulated situation. a. Intensive crop management - year 1; b. Intensive crop management – year 2; c. Integrated crop management – year 1; d. Integrated crop management – year 2. Crop managements and climatic years are described in Tables 3.3 and 3.4. Parameters are described in Table 3.6.



“attainable yield” was very stable. The intensive crop-management and the second year lead to a higher “attainable yield”. The most frequent ranking was (from the lowest to the highest) Integrated-year 1, Integrated-year 2, Intensive-year 1 and Intensive-year 2. This ranking occurred for 96 % of the combinations of parameters and in 4 % of cases, one inversion appeared.

The bound values of parameters of the “calculation of the attainable yield” part were fixed at $VN \pm 20\%$, instead of $VN \pm 50\%$, because the variability of “attainable yield” was extremely high. The effects of parameters were introduced in the variance analysis model: R^2 ranged from 89 to 96 % depending on the crop management * climatic situation considered. The parameter $\beta_{1RdtAtt}$ (parameter used in the calculation of the relative yield loss due to crop growth; Table 3.6) was important as it explained the majority of the determination coefficient for the “attainable yield” (54 to 86 % of the R^2 explained; Figure 3.10). Parameters $\beta_{0RdtAtt}$ (parameter used in the calculation of the relative yield loss due to crop growth; Table 3.6) and $a_{4RdtAtt}$ (parameter used in the calculation of the relative yield loss due to soil hydric storage and climatic deficit; Table 3.6) were also important, as well as the parameter $a_{1RdtAtt}$ (parameter used in the calculation of the relative yield loss due to soil hydric storage and climatic deficit; Table 3.6) for the integrated crop management-year 1 situation (Figure 3.10). Variations of the “attainable yield” remained high when parameters varied, even if bound values had been reduced to $VN \pm 20\%$. However, as in the first part of the crop-growth sub-model sensitivity analysis, the ranking of the “attainable yield” was stable. Intensive crop-management and the second year led to a higher “attainable yield”. The most frequent ranking was (from the lowest to the highest) Integrated-year 1, Integrated-year 2, Intensive-year 1 and Intensive-year 2. This ranking occurred for 93 % of the combinations of parameters and in 7 % of cases, 1 inversion appeared.

Figure 3.11. Sensitivity analysis of the calculation of the potential ascospore production in the primary inoculum production sub-model. Sensitivity of the output variables “cumulated number of pseudothecia over 180 days” (a. $R^2 = 77\%$) and “cumulated number of released ascospores over 180 days” (b. $R^2 = 57\%$) to parameter variations, for intensive crop management, early chiselling, G2 = 4.5, year 1. Results were similar for other simulated situations. Parameters or interactions that are not presented explained less than 1% of the determination coefficient. Crop managements and climatic years are described in Tables 3.3 and 3.4. Parameters are described in Table 3.6.



2.5.2. Primary inoculum production sub-model

Concerning the “potential ascospore production” part of the sensitivity analysis, the effects of parameters and interactions between them were introduced in the variance analysis model: R^2 ranged from 57 to 78 % depending on the output variable and the crop management * climatic * G_2 notation situation considered. For the “cumulated number of pseudothecia”, the variation of parameter ρ (average volumic mass of stubble; Table 3.6) explained 18 % of the determination coefficients (Figure 3.11) whatever the cumulated number of days and the input situation. Parameters d and d_p (average diameter of stubble and maximum density of pseudothecia on 1 m² of stubble; Table 3.6) and interactions between these three parameters had also an impact on the “cumulated number of pseudothecia”. For the “cumulated number of released ascospores”, the variation of parameter d_a (number of ascospores per pseudothecia; Table 3.6) explained 13 to 15 % of the determination coefficients (Figure 3.11) whatever the cumulated number of days and the input situation. Parameters ρ , d , d_p (Table 3.6), and interactions between these parameters and d_a , also had an important impact on the “cumulated number of released ascospores”.

The effects of parameters were introduced in the variance analysis model in the “pseudothecial maturation” part: R^2 ranged from 64 to 85 % depending on the output variable and the crop management * climatic * G_2 notation situation considered. The sensitivity analysis showed that the parameters $\theta_{\max}$ and x_0 had a great impact on “cumulated number of pseudothecia” as well as “cumulated number of released ascospores” whatever the input situation (Figure 3.12, 3.13).

Figure 3.12. Sensitivity analysis of the calculation of the pseudothecial maturation in the primary inoculum production sub-model. Sensitivity of the output variable “cumulated number of pseudothecia over 180 days” to parameter variations for $G2 = 4.5$, depending on the simulated situation. a. Intensive crop management, early chiselling, year 1. b. Intensive crop management, late chiselling, year 1. c. Intensive crop management, early chiselling, year 2. d. Intensive crop management, late chiselling, year 2. e. Integrated crop management, early chiselling, year 1. f. Integrated crop management, late chiselling, year 1. g. Integrated crop management, early chiselling, year 2. h. Integrated crop management, late chiselling, year 2. Crop managements and climatic years are described in Tables 3.3 and 3.4. Parameters are described in Table 3.6.

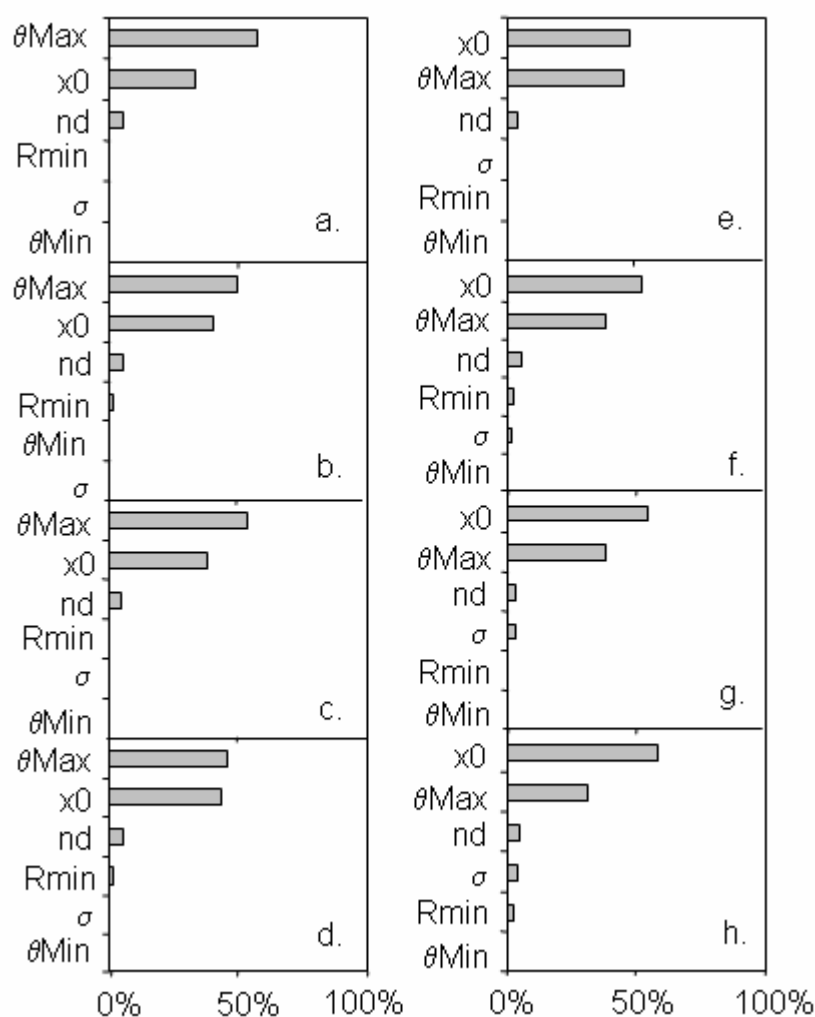


Figure 3.13. Sensitivity analysis of the calculation of the pseudothecial maturation in the primary inoculum production sub-model. Sensitivity of the output variable “cumulated number of released ascospores over 180 days” to parameter variations for $G2 = 4.5$, as a function of the simulated situation. a. Intensive crop management, early chiselling, year 1. b. Intensive crop management, late chiselling, year 1. c. Intensive crop management, early chiselling, year 2. d. Intensive crop management, late chiselling, year 2. e. Integrated crop management, early chiselling, year 1. f. Integrated crop management, late chiselling, year 1. g. Integrated crop management, early chiselling, year 2. h. Integrated crop management, late chiselling, year 2. Crop managements and climatic years are described in Tables 3.3 and 3.4. Parameters are described in Table 3.6.

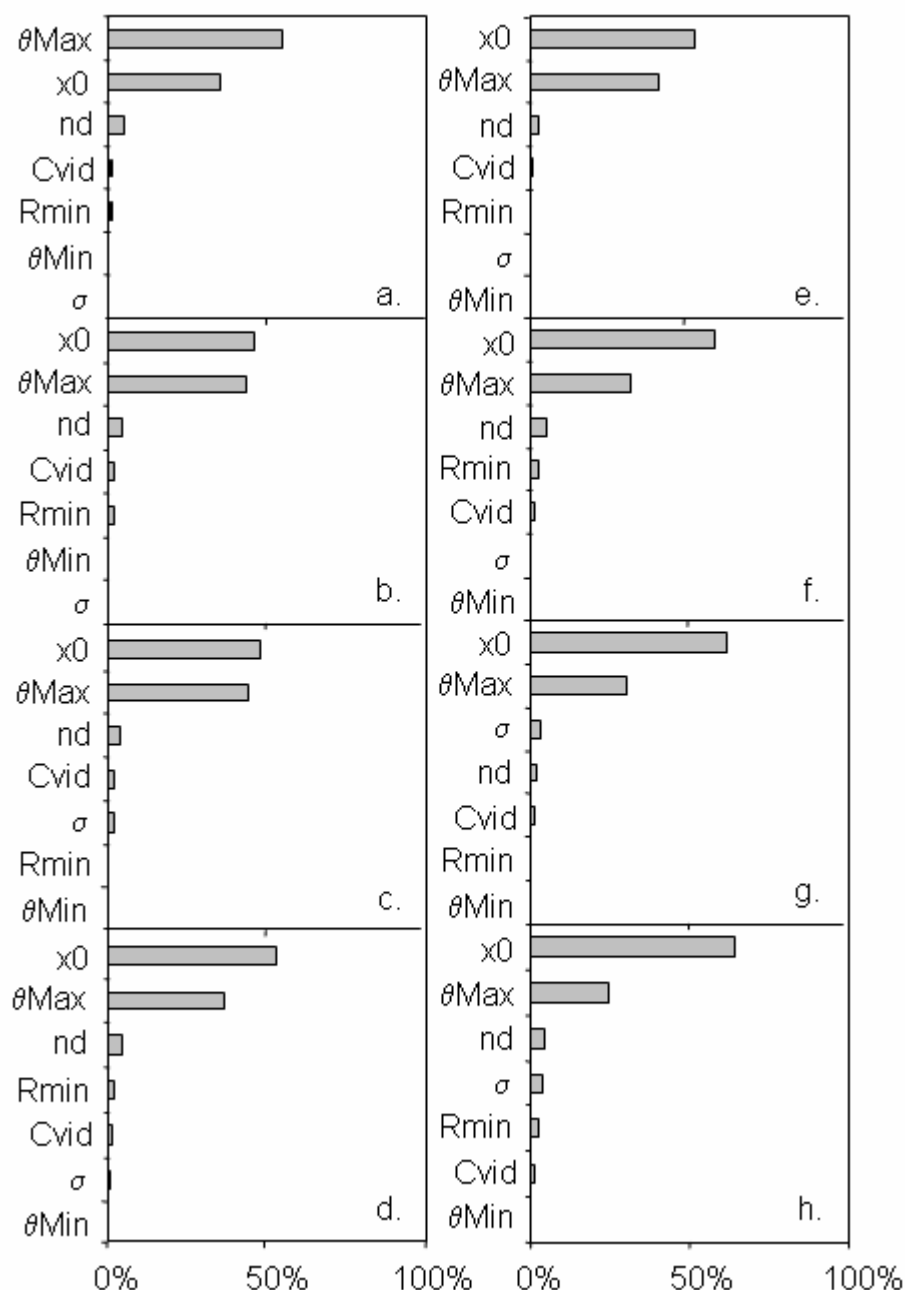
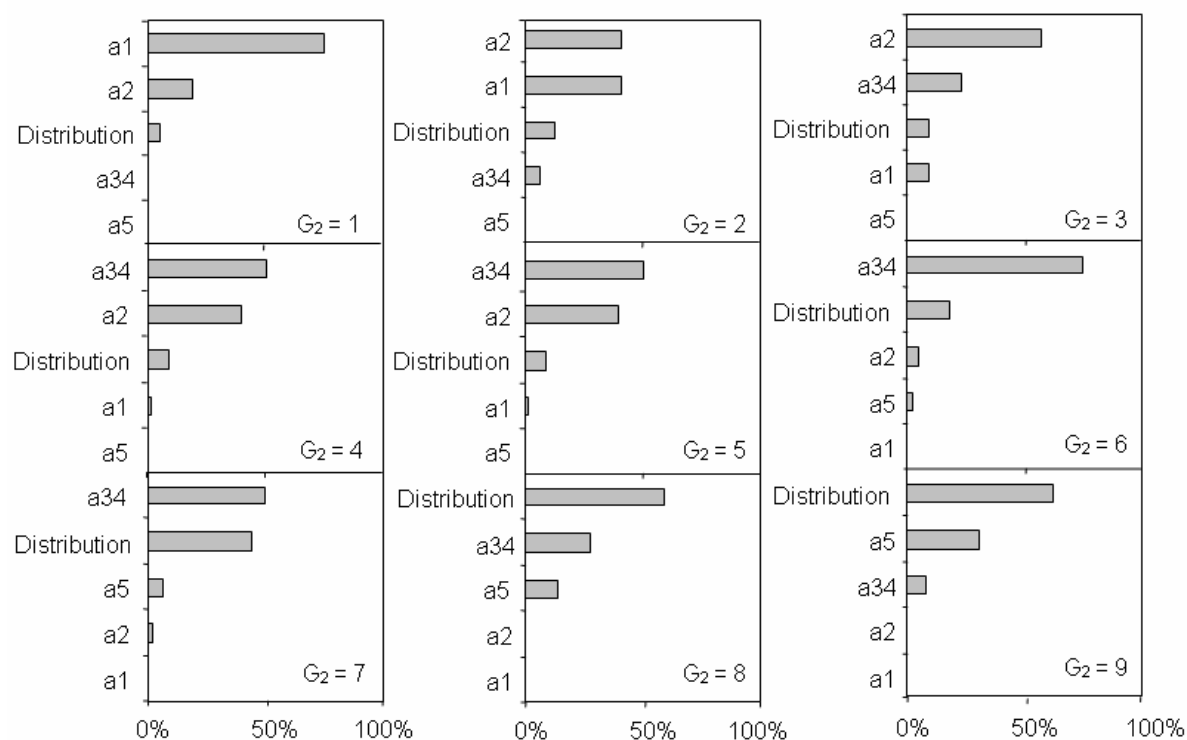


Table 3.7. Impact of the variations of the tillage operation matrices on the cumulated number of pseudothecia and ascospores over 90 to 180 days from harvest depending on the crop management * climatic input variables. The tillage operation that had the most impact is represented as well as the proportion of the determination coefficient explained (between brackets). Results were similar whatever the G₂ value and the date of chiselling.

		Intensive crop management		Integrated crop management	
		Year 1	Year 2	Year 1	Year 2
Cumulated number of pseudothecia	90 days	Chiselling (39-51 %)		Rotary harrowing (40-46 %)	
	120-180 days	Rotary harrowing (41-44 %) Sowing (40-44 %)		Sowing (40-43 %)	
Cumulated number of ascospores	90 days	Chiselling (51-76 %)		Chiselling (78-81 %)	Rotary harrowing (59-60 %)
	120 days	Chiselling (37-40 %)	Harrow (47-48 %)	Rotary harrowing (35-47 %)	
	150 days				
	180 days	Rotary harrowing (37-48 %)		Sowing (46 %)	Rotary harrowing (45-46 %)

For the “vertical stubble displacement” part, matrices were considered as qualitative variables in the variance analysis model. Effects of parameters were introduced and the determination coefficient ranged from 91 to 97 % depending on the output variable and the crop management * climatic * G₂ notation situation considered. Because of the date of application of tillage operations, only the output variables “cumulated number of pseudothecia and ascospores over 90 days and more” were considered, as all tillage operation were conducted between harvest and the 90th day after harvest. Whatever the G₂ notation and the date of chiselling, results were similar (Table 3.7). The impact of different tillage tools depended on the considered output variable. The chisel had more impact than other tools on the “cumulated number of pseudothecia or ascospores over 90 days”, as its application date was early in the season, whereas rotary harrowing and sowing had more impact than other tools on the “cumulated number of pseudothecia or ascospores over 120 days and more” (Table 3.7). Mouldboard ploughing had a small impact on output variables for the integrated crop management, but the number of released ascospores with this crop management was significantly smaller than the number of released ascospores with the intensive crop management because of this tillage operation. Differences between years, revealed by the interaction between climatic conditions and tillage operations, appeared for the “cumulated number of ascospores” (Table 3.7), as the rain has a great importance for ascospore release.

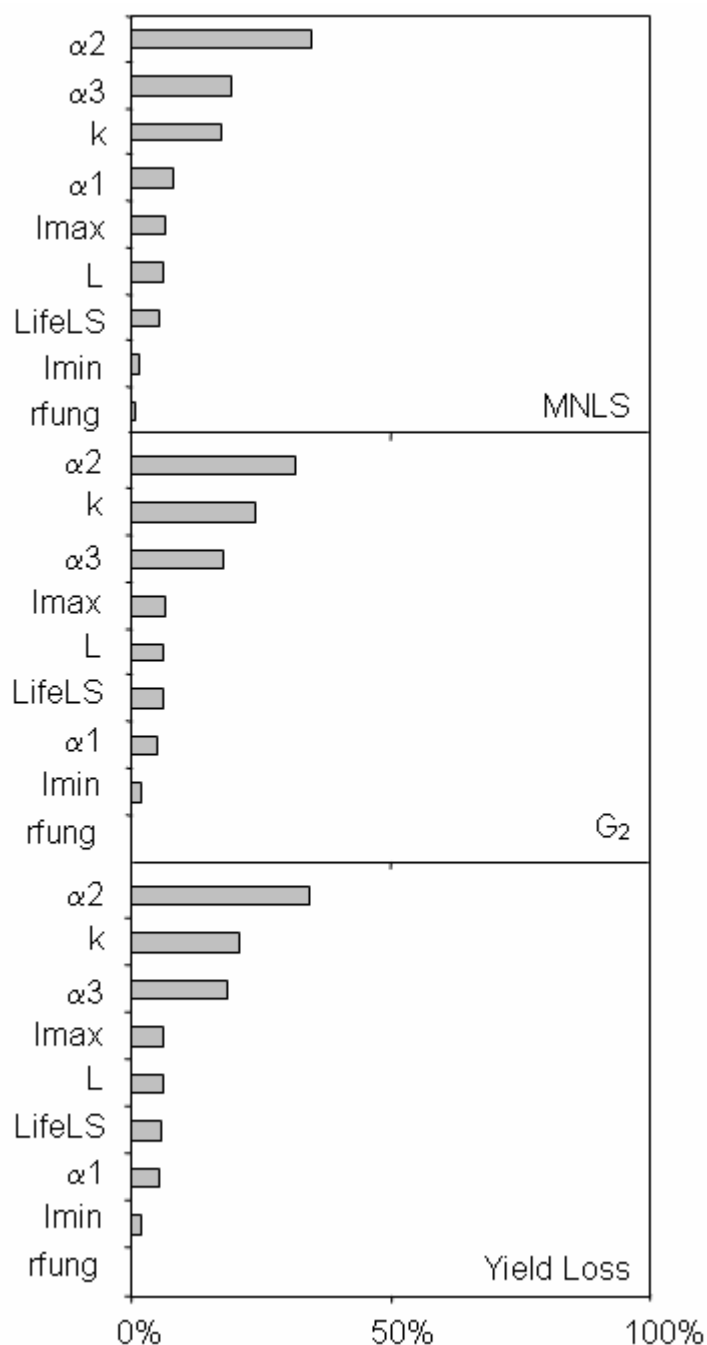
Figure 3.14. Sensitivity analysis of the calculation of the potential quantity of inoculum due to disease severity the previous year in the primary inoculum production sub-model. Sensitivity of the output variable “cumulated number of released ascospores over 180 days” to parameter variations as a function of the G2 disease index. Results were the same whatever the simulated situation. Crop managements and climatic years are described in Tables 3.3 and 3.4. Parameters are described in Table 3.6. Parameter Distribution correspond to $(prop_i)_{G2=j}$.



For the part “potential quantity of inoculum due to disease severity the previous year”, effects of parameters were introduced in the variance analysis model and the determination coefficient ranged from 80 to 94 % depending on the G_2 notation situation considered. The results were similar whatever the crop-management * climatic situation. Variations of coefficients a_i representing the production of inoculum depending on canker severity class (Table 3.6) was more important for lower G_2 notations (1 to 6, Figure 3.14) whereas the variation of distribution of plants in each canker severity class (considered as a qualitative variable) had more impact on the output variables for higher G_2 notations (7 to 9, Figure 3.14).

Concerning the ranking and whatever the part of the sensitivity analysis of the primary inoculum production sub-model, the average “cumulated number of pseudothecia or released ascospores” increased with the initial G_2 notation, whatever the crop-management * climatic situation. At a given G_2 score, the integrated crop management led to a much lower “cumulated number of pseudothecia and released ascospores”. This is mostly due to mouldboard ploughing. The later application of the chisel implied a small increase of the “cumulated number of pseudothecia and released ascospores”. Even if the number of favourable days to maturation was higher in year 2 than in year 1, the “cumulated number of pseudothecia” was a bit smaller in year 2. However, the “cumulated number of released ascospores” was higher as the number of rainy day was higher (ascospores are released as soon as it rains). The number of possible ranking of the 24 input situations (8 for part 4 as each G_2 notation value is considered independently) was high (factorial[24]). Only the output variables “cumulated number of pseudothecia and ascospores over 90 and 180 days” were considered. The number of rankings occurring as well as the proportion of the parameter combinations leading to the more frequent ranking was considered. The ranking was very stable for the “potential ascospores production” part, for the “vertical stubble displacement” part and for the “potential quantity of inoculum due to disease severity the previous year” part, particularly for the output variable “cumulated number of pseudothecia” (less dependant on climatic conditions than the other variables). It was a bit less stable for the “pseudothecial maturation” part (data not shown).

Figure 3.15. Sensitivity of the calculation of the number of phoma leaf spots per plant in the infection sub-model. Sensitivity of the maximum number of phoma leaf spots per plant (MNLS), the G2 disease index and Yield loss output variables to parameter variations, for the intensive crop management, year 1 situation ($R^2 = 56; 81; 76 \%$). Results were similar for all simulated situations. Crop managements and climatic years are described in Tables 3.3 and 3.4. Parameters are described in Table 3.6.

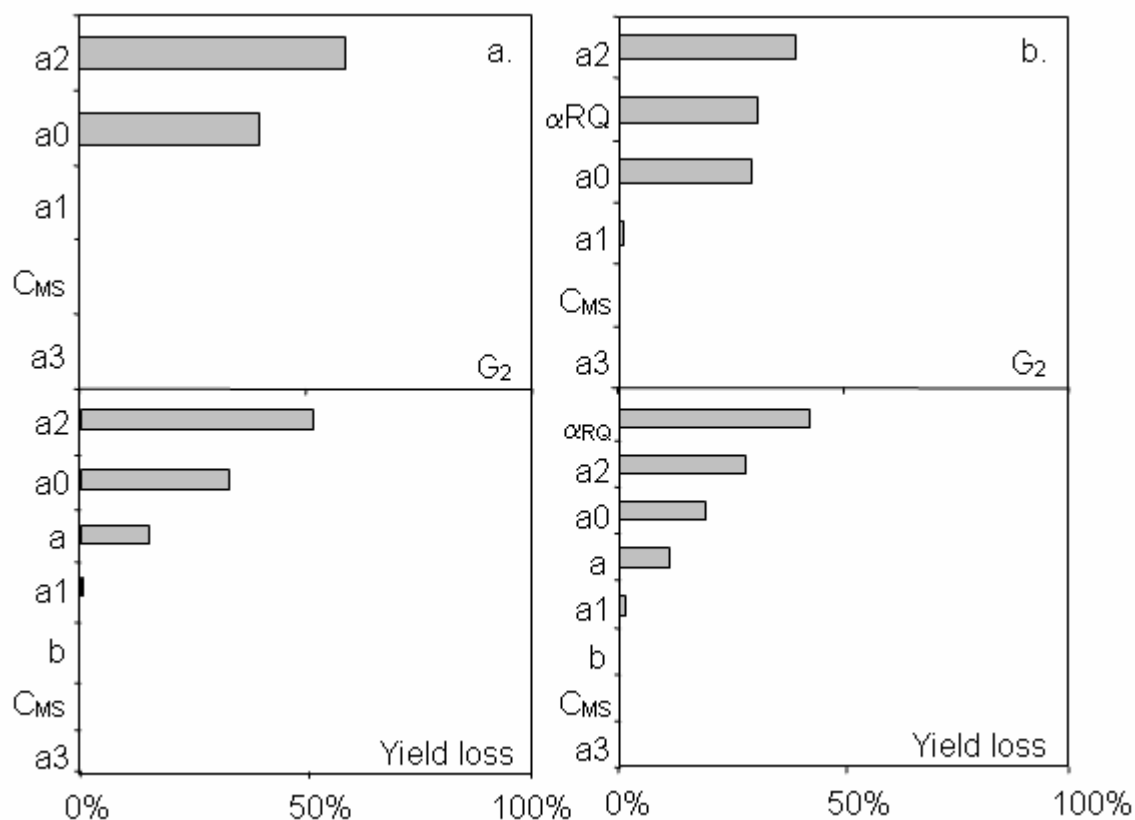


2.5.3. Infection sub-model

The effects of parameters were introduced in the variance analysis model for the “number of phoma leaf spots” part. The determination coefficient was 56 % for the “maximum number of leaf spots” and ranged from 75 to 85 % for the other output variables (Table 3.5) depending on the crop management * climatic input situation. Parameter selection was the same whatever the input situation. Variations of parameters α_1 , α_3 (parameters used in the calculation of the efficiency of infection; Table 3.6) and k (coefficient of interception of spores; Table 3.6) had the greatest impact on the “maximum number of phoma leaf spots” whereas variations of parameters α_2 , k and α_3 had the greatest impact on “ G_2 ”, “yield loss” and “yield” (Figure 3.15 for the integrated crop management-year 1).

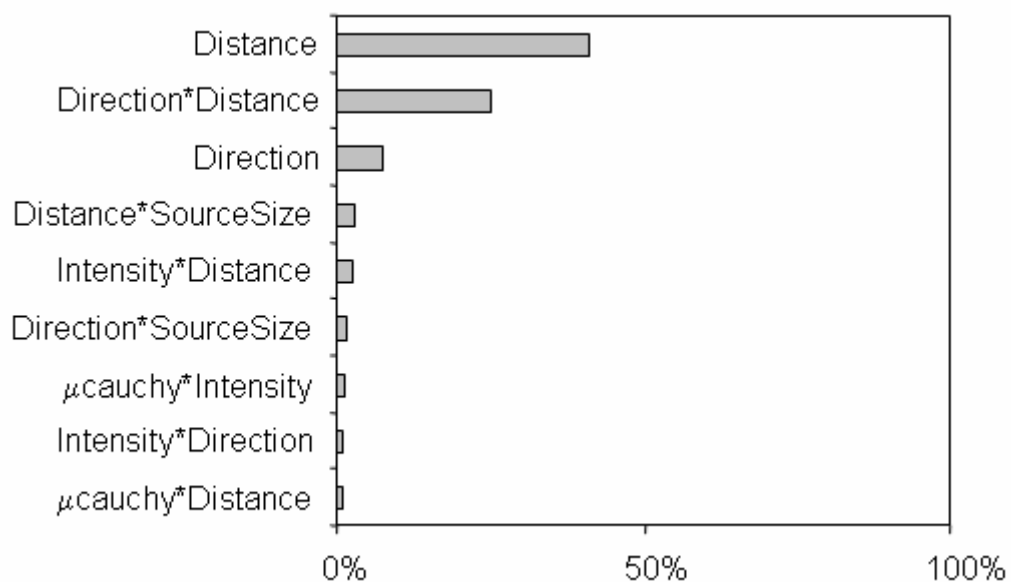
The effect of parameters was introduced in the variance analysis model for the “disease index and relative yield loss” part, and the determination coefficient ranged from 66 to 89 % depending on the output variable and on the crop management * climatic input situation. Variations of parameters a_2 and a_0 (parameters used in the G_2 disease index calculation; Table 3.6) had the greatest impact on “ G_2 ” for intensive crop management (Figure 3.16a for year 1) whereas variations of parameters a_2 , α_{RQ} (quantitative resistance; Table 3.6) and a_0 had the greatest impact on “ G_2 ” for integrated crop management, whatever the year (Figure 3.16a for year 1). Variations of parameters a_2 , a_0 (parameters used in the G_2 disease index calculation; Table 3.6) and a (parameter used in the relative yield loss calculation; Table 3.6) had the greatest impact on the “yield loss” and “yield” for intensive crop management (Figure 3.16b for yield loss, year 1) whereas variations of parameters α_{RQ} , a_2 and a_0 had the greatest impact on the “yield loss” and “actual yield” for integrated crop management, whatever the year (Figure 3.16b for yield loss, year 1).

Figure 3.16. Sensitivity of the calculation of the disease index and relative yield loss in the infection sub-model. Sensitivity of the G2 disease index and Yield loss output variables to parameters variation, as a function of the simulated situation. a. Intensive crop management year 1 ($R^2 = 87$; 80 %). b. Integrated crop management year 1 ($R^2 = 77$; 67 %). Crop managements and climatic years are described in Tables 3.3 and 3.4. Parameters are described in Table 3.6.



The “maximum number of leaf spots” was very variable in the “number of leaf spots” part. It was lower with the intensive crop management, but no difference appeared between years. The “G₂”, “yield loss” and “actual yield” were less variable in the first part of the sensitivity analysis but very variable in the second part. Even if the “maximum number of phoma leaf spots” was smaller, the intensive crop management led to a greater “G₂” in average and a greater “yield loss”. It is mostly due to the quantitative resistance of the cultivar used in the integrated crop management. However, the “actual yield” of the intensive crop management was greater in average as the potential yield of the cultivar was greater (Table 3.3). “G₂” and “yield loss” were greater in average in year 2, but so was the “yield” (due to a greater attainable yield during this year). The ranking of input situations was quite stable for the first part and really stable for the “disease index and relative yield loss” part when the parameters varied. The most frequent ranking of the “maximum number of leaf spots” was (from the lowest to the highest) Intensive-year 1, Intensive-year 2, Integrated-year 2 and Integrated-year 1 for the first part. This ranking occurred for 50 % of the combinations of parameters. In 49 % of cases, one inversion appeared and in 1 % of cases, two inversions or more appeared. The ranking of input situations was the same for other output variables in both parts of the sensitivity analysis of this sub-model: Integrated-year 1, Intensive-year 1, Integrated-year 2 and Intensive-year 2. This ranking occurred for 31 % (“G₂” and “yield loss”) and 90 % (“yield”) of cases in the first part (one inversion appeared in 67 and 10 % of cases respectively) and for 51 % (“G₂” and “yield loss”) and 80 % (“yield”) of cases in the second part (one inversion appears in 10 and 17 % of cases respectively).

Figure 3.17. Sensitivity of the dispersion sub-model to several variables or parameters: Distance: distance between source and target fields, SourceSize: source field size, Direction/Intensity: wind direction/intensity, μ Cauchy: parameter of the dispersion function (Table 3.6). Sensitivity of the output variable “number of ascospores per target field surface unit” to parameter and input variable variations ($R^2 = 77\%$).



2.5.4. Dispersion sub-model

The effects of parameters and input variables as well as their interactions were introduced in the variance analysis model ($R^2 = 77\%$). The variation of distance between source and target fields had the greatest impact on the “number of spores landing on target field”, as well as the interaction between distance and wind direction, and the wind direction (Figure 3.17). The effects of both parameters μ_{Cauchy} and pixel size were negligible.

2.5.5. Genetic sub-model

The effects of parameters and input variables were introduced in the variance analysis model ($R^2 = 98\%$). The effect of the initial frequency of the double virulent pathotype had the greatest impact on the “final frequency of the double virulent pathotype” ($P < 0.0001$) and the variation of this input variable explained 94% of the coefficient of determination. Effects of initial population size, frequency of the simple pathotype and genetic linkage between avirulence gene were also significant ($P < 0.0001$, $P < 0.0001$ and $P = 0.0002$, respectively). On the contrary, the effect of the Allee parameter was not significant, which means that the Allee effect should not have an impact on frequencies in SIPPOM. This shows that the initial frequencies of pathotypes have a great impact on their final frequencies during a year.

Table 3.8. Summary of the most influent parameters (or input variables) and associated figures or table where results are presented.

Sub-model	Process	Parameter / input variable	Description	Figure / Table
Crop growth	Crop growth during infections	V_{absMin}	Minimum Nitrogen absorption speed ($kg \cdot ha^{-1} \cdot (^{\circ}C \cdot d)^{-1}$)	Figure 3.9 for output variable “attainable yield”
		dfj	Leaf life duration ($^{\circ}C \cdot d$)	
		SF_{Coty}	Cotyledons surface at emergence (m^2)	
		$phyll$	Phyllochron ($^{\circ}C \cdot d$)	
	Attainable yield	$\beta_{1RdtAtt}$	Relative yield loss due to crop growth (dimensionless and $(kg^{-1} \cdot ha^2)$)	Figure 3.10
		$\beta_{0RdtAtt}$		
		$a_{1RdtAtt}$	Relative yield loss due to soil hydric storage and climatic deficit (mm^{-1} and dimensionless)	
		$a_{4RdtAtt}$		
Primary inoculum production	Potential ascospores production	ρ	Average volumic mass of stubble ($kg \cdot m^{-3}$)	Figure 3.11 for Intensive crop management, early chiselling, G2 = 4.5, year 1
		d	Average diameter of stubble (m)	
		d_p	Maximum density of pseudothecia on 1 m^2 of stubble (m^{-2})	
		d_a	Number of ascospores per pseudothecia	
	Pseudothecial maturation	θ_{max}	Maximum temperature for favourable day ($^{\circ}C$)	Figure 3.12, 3.13
		x_0	Number of favourable days to maturation	
	Vertical stubble displacement in soil layers	Chiseling Harrow Sowing		Table 3.7
	Potential quantity of inoculum due to disease severity the previous years	$(prop_i)_{G2=j}$	Proportion of plant in each canker severity class	Figure 3.14
		a_i	Production of inoculum depending on canker severity	
Infection and yield loss	Number of leaf spots	α_1	Efficiency of infection	Figure 3.15 for intensive crop management year 1
		α_2		
		α_3		
		k	Coefficient of interception of spores	
	Disease index and relative yield loss	a_0	Disease index calculation (dimensionless and $(^{\circ}C \cdot d)^{-1}$)	Figure 3.16 for Intensive and Integrated crop management year 1
		a_2		
		α_{RQ}	Effect of quantitative resistance	
Dispersion		Distance	Between source and target field (m)	Figure 3.17
		Wind direction		
Genetic		Initial frequencies of pathotypes		

2.6. Discussion

Ranking of input situations for the crop growth, inoculum and infection sub-models were in accordance with experts' point of view. Year 2, with more rain and higher temperatures, led to a greater attainable yield than year 1 in the crop-growth sub-model. Intensive crop management also implied higher yield because the potential yield of the cultivar used as well as the sowing density were higher, and because organic nitrogen after the harvest of the preceding crop was applied in this crop management¹. Organic nitrogen supply and higher sowing density in the intensive crop management implied higher leaf area and higher biomass at the end of winter. It is worth noticing that all the effects of cultural practices on crop growth and development are not taken into account in SIPPOM. For instance, a high sowing density leads to thinner and higher plants in comparison to low sowing density, and thus could lead to smaller LAI and biomass per plant. Sowing density has also an impact on microclimate for pathogen development (Aubertot *et al.*, 2006a). All these effects of sowing density are not taken into account in SIPPOM.

The number of pseudothecia or released ascospores increased with the severity of disease the previous year. Moreover, the quantity of buried stubble was higher in the integrated crop management because of the mouldboard ploughing, and the number of released ascospores under this crop management was thus lower. Year 2, which was chosen as more favourable to disease, led to a greater number of released ascospores. The intensive crop management presented a smaller number of phoma leaf spots, this was mostly due to the fungicide treatment used in this crop management. A lower disease severity (G_2) as well as a smaller yield loss was observed under the integrated crop management because of the quantitative resistance of the cultivar chosen for this crop management (Table 3.3). However, as the attainable yield was also smaller under this crop management, it led to a smaller yield. Similarly, year 1, less favourable to disease, also led to a lower G_2 and yield loss, as well as to a smaller yield because of a smaller attainable yield. These results show the difficulty to design integrated cropping systems. Contradictions in terms of impact on disease severity and on yield exist: a crop management can lead to more disease but also to a greater yield, and this is in interaction with climatic conditions.

The classifications of input situations were generally stable whatever the parts of sub-models, even if some showed a great variability of output variables (attainable yield calculation, disease index and relative yield loss calculation). In view of the range of variation of parameters (not too large), and because the input situations were contrasted, this stability is crucial, as SIPPOM should be used to rank control strategies.

Contrasted input variables were fixed to test the effect of parameters variation (Ruget *et al.*, 2002; Colbach *et al.*, 2004). Parameters selected for their impact on output variables were generally the same whatever the input situation. Some of them were already well estimated

¹ Les itinéraires techniques (ITK) définis dans cette partie ne sont pas les mêmes que ceux définis dans la première partie de ce chapitre (Tableaux 3.1 et 3.3). Dans la première partie, les rendements potentiels, les apports en azote organique et la réserve utile (RU) sont égaux quelque soit l'ITK, alors qu'ici, le rendement potentiel, la RU et l'azote organique sont supérieurs pour l'ITK intensif par rapport à l'ITK intégré, ce qui conduit à une biomasse et un rendement accessible supérieur pour l'itinéraire intensif.

whereas other will require more experiments or data analysis. In the crop growth sub-model, df_j , SF_{Coty} or $phyll$ (Table 3.8) have already been estimated accurately by Triboï-Blondel (1988) or Dejoux (1999). However, their impact on output variables has to be taken carefully into account, as these parameter values are very variable according to climate and crop management (included the choice of the cultivar). Eventually, the values could be fixed in SIPPOM according to the cultivar or climatic and soil conditions, for a better accuracy. On the contrary, V_{absMin} has not been estimated for winter oilseed rape but we used the value corresponding to wheat crop (Jeuffroy and Recous; 1999). This parameter should be estimated for WOSR but this requires long and difficult physiological experiments. Lô-Pelzer *et al.* (2008c) have already shown that the predictive quality of the calculation of the attainable yield part was passable. In view of the extreme variability of outputs when parameters vary, it would be necessary to carry out more experiments to improve this part of the model. However, SIPPOM calculated stable classifications of crop management * climatic situations, proving that it is a worthy tool to design durable control strategies of phoma stem canker on oilseed rape.

The sensitivity analysis of the primary inoculum production sub-model showed the importance of the parameters ρ , d and d_p (Table 3.8). These parameters have been properly estimated by Schneider (2005) and Lô-Pelzer *et al.* (2008a; unpublished data). On the contrary, Lô-Pelzer *et al.* (2008a) showed the difficulty to estimate d_a that ranges between 100 and 10,000. Further experiments could be conducted to estimate this parameter more accurately. Parameters θ_{max} and x_0 have been estimated by Aubertot *et al.* (2006c) based on initial values proposed by Salam *et al.* (2003). The predictive quality of this part of the model was good, and parameters' nominal values can therefore be used with confidence. Impact of tillage operations on the number of released ascospores depended on the date of application as well as climatic conditions. Parameters of matrices have been accurately estimated by Schneider (2005). The sensitivity analysis showed a greater impact of superficial tillage tool rather than mouldboard ploughing. Even if ploughing reduced significantly the number of pseudothecia and ascospores, the variation of the corresponding matrix had a small impact on the output variables. This does not correspond to experts' expectation, and may be mostly due to the chosen decision rule for variation of matrices (± 50 % of the stubble displaced on the surface layer from other layers). Chiselling before ploughing (Table 3.3) mostly buried stubble on layer 2 or left stubble on surface whereas the stubble displaced on the surface layer from these layers is small with the ploughing tillage tool (stubble displaced on the surface layer from layer 3 is the highest; Schneider, 2005). The variation of the ploughing matrix had therefore small impact on output variables. A proper sensitivity analysis of this part making all parameters of matrices vary and taking into account interaction with several climatic conditions could be interesting, but difficult to carry out (16 parameters per matrix). On the other hand, this simplified sensitivity analysis indeed showed the stability of classifications. Parameters concerning the part that links disease severity to the quantity of primary inoculum were estimated accurately (Lô-Pelzer *et al.*, 2008b; 2008a). It is not surprising that distributions had more impact than the coefficients of production of inoculum depending on canker severity class for higher G_2 , as the sixth class coefficient was more involved for these G_2 values, and it did not vary.

Values of parameters α_1 , α_2 , α_3 and k (Table 3.8) are based on data from Lacoste and Brunin (1970) and Biddulph *et al.* (1999). This part of the model has not been evaluated. Moreover, disease index calculations are statistically fitted models and estimation of parameters has been carried out in four climatic * site situations. The range of values for which the relationship is valid is therefore restricted: the thermal time of the last trimester (base 0 °C) should be between 742 and 836 °C. As already mentioned by Lô-Pelzer *et al.* (2008c), this sub-model should be improved, for both calculation of the number of phoma leaf spots per plant and the calculation of the disease index. Further experiments would be necessary. Even if the variation of output variables was great when parameters vary, the behaviour of the sub-model as well as the stability of ranking was correct.

Distances between fields as well as wind direction had a great impact on spores flow between two fields, which was expected. Even at the highest distance (10 km), the number of dispersed ascospores was not null. This implies the necessity to consider a wide region for simulation. The variation of the parameter μ_{Cauchy} , which is difficult to estimate experimentally (difficulty to trap spores at high distances as they are diluted in the air), had a small impact on the number of spores landing on target field. The effect of pixel size was also negligible and it has been fixed at 50*50 m² in SIPPOM (Lô-Pelzer *et al.*, 2008c). Finally, the initial frequencies of pathotypes had a great impact on the final frequencies. This implies the necessity to enter proper initial frequencies at the beginning of simulations, in order to follow the breakdown of a specific resistance. Nevertheless, this data is inaccessible to experimentation when frequencies are very low, which is for example the case for frequencies of virulent pathotypes when a new resistance gene is introduced in a region. On the other hand, the great sensitivity of the final frequencies to the initial frequencies highlights the importance of considering this as a lever in management strategies and especially to target the period of time when frequencies are very low, even before the detection threshold is reached. The value of the Allee effect parameter was uncertain but this parameter had no impact on the output variable for the range of values tested.

More generally, interactions between input variables and parameter were considered with the complete factorial design approach for parameter values, under contrasted input situations. Variation ranges of climatic input variables could have been wider (analysis of frequencies over 30 years for example), as well as technical input variables (random sampling of a large number of input values) but again, this would have required too many simulations that are not possible with SIPPOM. Even if interactions between parameters could have been systematically added in the variance analysis models (Salvador *et al.*, 2001; Gabrielle, 2006; Monod *et al.*, 2006), determination coefficients were high, and in view of the number of considered parameters in each part, the interpretation of the results would have been more difficult with interactions. The variance based technique reveals the impact of each input factor separately and in interaction with the other input factors. It would be possible to use these techniques if the computing time of the model was reduced. This is the case for all sensitivity analysing methods necessitating intensive random sampling. That is why the methods based on a complete factorial design for parameters variation was chosen, and why the sensitivity analysis was realised step by step.

Interactions between sub-models were not taken into account with this approach. It would be necessary to test the sensitivity of the overall model to both input variables and parameters variation, testing technical, soil and climate input variables as well as their spatial distribution in the region. However, the complexity and the computing time of SIPPOM render it impossible at the moment. Methods based on Bayesian statistics (O'Hagan, 2006) are currently being developed. These approaches are based on the development of an emulator that is a statistical approximation of the model (O'Hagan, 2006). They are not yet already available for complex models, but could be used later for the sensitivity analysis of the overall model, as they limit the number of necessary runs.

The sensitivity analysis of SIPPOM-WOSR presented here demonstrates that the state and output variables behave as expected when the input variables and parameters vary. It is of great importance as SIPPOM should be used to rank control strategies, besides an uncertainty in the parameter values. It allowed identifying which parameters have the greater impact on state variables and which need to be estimated more accurately. Finally, improvement of parts of the model could improve the overall model. However, given the stability of classifications, the current version of SIPPOM can be used confidently.

2.7. Acknowledgments

The authors would like to thank N. Colbach, H. Monod and D. Makowski for their constructive advices. This work was carried out with the financial support of the « ANR-Agence Nationale de la Recherche » - The French National Research Agency under the « Programme Agriculture et Développement Durable », project « ANR-05-PADD-05, CEDRE », of the Ministère de l'Agriculture et de la Pêche (CTPS 05-02 Phoma) and of the Agence pour le Développement Agricole et Rural (BioViResDur). This study took place in the UMT Pivert. It is part of a Ph.D. project co-funded by INRA and CETIOM.

Tableau 3.9. Récapitulatif des simulations réalisées avec SIPPOM, combinant les itinéraires techniques (I : intensif ; i : intégré) et le déploiement variétal (Rs : variété avec un gène de résistance spécifique ; Rq : variété avec une résistance quantitative ; S : variété sensible).

Simulation	Code	Proportion des parcelles de colza avec les variétés		Itinéraire technique	Figures
1	I[Rs / S]	50 % avec résistance spécifique	50 % sensibles	Intensif	3.18, 3.19a/b, 3.20
2	I[(Rs+Rq) / S]	50 % avec résistance spécifique et quantitative	50 % sensibles	Intensif	3.18, 3.19a/b, 3.20
3	I[S / S]	100 % sensibles		Intensif	3.18, 3.19, 3.20
4	i[Rs / S]	50 % avec résistance spécifique	50 % sensibles	Intégré	3.18, 3.19a/b, 3.20
5	i[(Rs+Rq) / S]	50 % avec résistance spécifique et quantitative	50 % sensibles	Intégré	3.18, 3.19a/b, 3.20
6	i[S / S]	100 % sensibles		Intégré	3.18, 3.19, 3.20
1bis	I[Rs / Rq]	50 % avec résistance spécifique	50 % avec résistance quantitative	Intensif	3.21, 3.22a/b, 3.23
2bis	I[(Rs+Rq) / Rq]	50 % avec résistance spécifique et quantitative	50 % avec résistance quantitative	Intensif	3.21, 3.22a/b, 3.23
3bis	I[Rq / Rq]	100 % sensibles		Intensif	3.21, 3.22, 3.23
4bis	i[Rs / Rq]	50 % avec résistance spécifique	50 % avec résistance quantitative	Intégré	3.21, 3.22a/b, 3.23
5bis	i[(Rs+Rq) / Rq]	50 % avec résistance spécifique et quantitative	50 % avec résistance quantitative	Intégré	3.21, 3.22a/b, 3.23
6bis	i[Rq / Rq]	100 % sensibles		Intégré	3.21, 3.22, 3.23
7	i[Rs] / I[S]	50 % avec résistance spécifique	50 % sensibles	Intégré / Intensif	3.24a/b, 3.25
8	i[Rs+Rq] / I[S]	50 % avec résistance spécifique et quantitative	50 % sensibles	Intégré / Intensif	3.24a/b, 3.25
7bis	i[Rs] / I[Rq]	50 % avec résistance spécifique	50 % avec résistance quantitative	Intégré / Intensif	3.24a/b, 3.25
8bis	i[Rs+Rq] / I[Rq]	50 % avec résistance spécifique et quantitative	50 % avec résistance quantitative	Intégré / Intensif	3.24a/b, 3.25
9	(i[Rs] / I[S]) 10^{-7}	50 % avec résistance spécifique	50 % des parcelles sensibles	Intégré / Intensif	3.24a/b, 3.25
Fréquence initiale des pathotypes simple virulents à 10^{-7} au lieu de 10^{-4}					

3. Autres exemples de simulation avec SIPPOM-WOSR

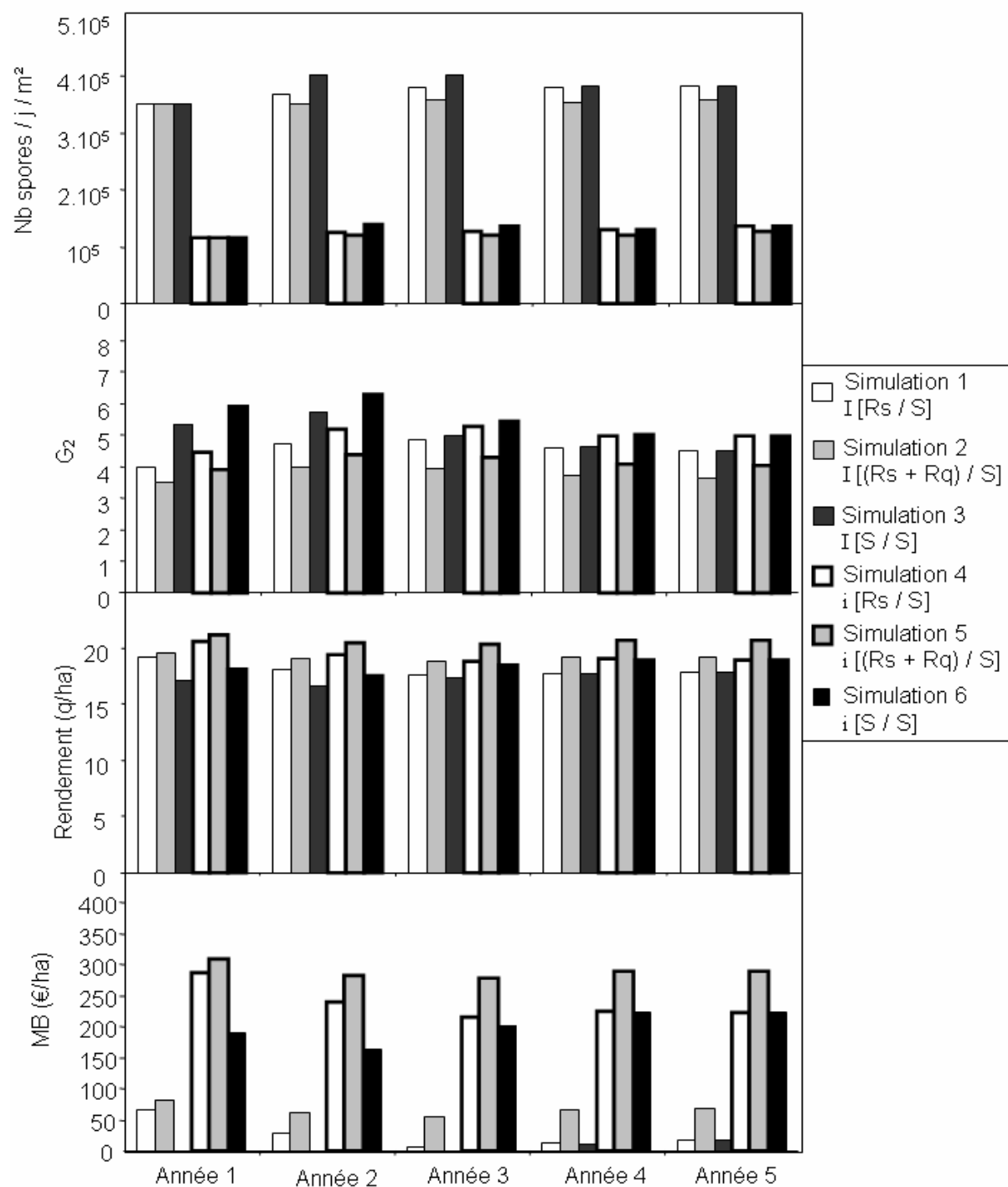
3.1. Matériels et méthodes

Le tableau 3.9 récapitule les simulations réalisées avec SIPPOM. Le parcellaire utilisé est un parcellaire de 3 km * 3 km de 144 parcelles, décrit dans la première partie de ce chapitre (Figure 3.2). La succession de cultures est colza-blé-orge. Les deux itinéraires techniques (ITK) pour le colza, intégré (i) ou intensif (I), sont ceux décrits dans la première partie de ce chapitre (Tableau 3.1). Une seule année climatique a été simulée (et répétée au cours des années de simulation). Cette année est l'année 1 décrite dans la deuxième partie de ce chapitre (Tableau 3.4), l'année la moins favorable au phoma mais qui est plus adaptée au domaine de validité du module infection (la somme de température du dernier trimestre, base 0 °C, doit être comprise entre 742 et 836 °C.j). Une situation de référence a été définie pour la culture du colza, puis plusieurs hypothèses sur l'effet de stratégies alternatives ont été testées (Tableau 3.9).

Situation de référence : la situation de culture standard consiste à appliquer un itinéraire technique qualifié d'intensif (Tableau 3.1) sans systématiquement privilégier une variété résistante. Notre situation de référence a donc été choisie en associant itinéraire technique intensif (I) et la variété sensible (S) soit I [S / S]. Ceci correspond à la simulation 3 (Tableau 3.9).

Hypothèse 1 : par rapport à la situation de référence, l'utilisation de variétés résistantes (résistance spécifique seule Rs et/ou quantitative Rq) permettrait de limiter les dégâts et les dommages engendrés par le phoma. Pour ceci, 3 situations variétales ont été comparées : [Rs / S] : 50 % de parcelles de colza avec une résistance spécifique - 50 % de parcelles de colza avec une variété sensible (simulation 1) ; [(Rs+Rq) / S] : 50 % de parcelles de colza avec une résistance spécifique et quantitative - 50 % de parcelles de colza sensible (simulation 2) ; [S / S] : 100 % de parcelles sensibles (simulation 3, situation de référence).

Figure 3.18. Nombre moyen de spores libérés par jour, note G2 moyenne, rendement moyen et marge brute moyenne pour l'ensemble de la région, obtenues avec les simulations 1 à 6 (Tableau 3.9), combinant les itinéraires techniques (I : intensif ; i : intégré) et le déploiement variétal (Rs : variété avec un gène de résistance spécifique ; Rq : variété avec une résistance quantitative ; S : variété sensible).



Hypothèse 2 : adopter un itinéraire technique intégré permettrait de limiter les dégâts et dommages dus au phoma et d'augmenter les profits économiques dégagés. En particulier, l'utilisation du labour devrait limiter la quantité d'ascospores et donc la récurrence des épidémies. Deux itinéraires techniques (ITK) ont été comparés, intégré (i) ou intensif (I) (Tableau 3.1), et combinés ces ITK aux trois situations variétales. Ceci correspond aux simulations 4, 5, 6 comparées aux simulations 1, 2, 3.

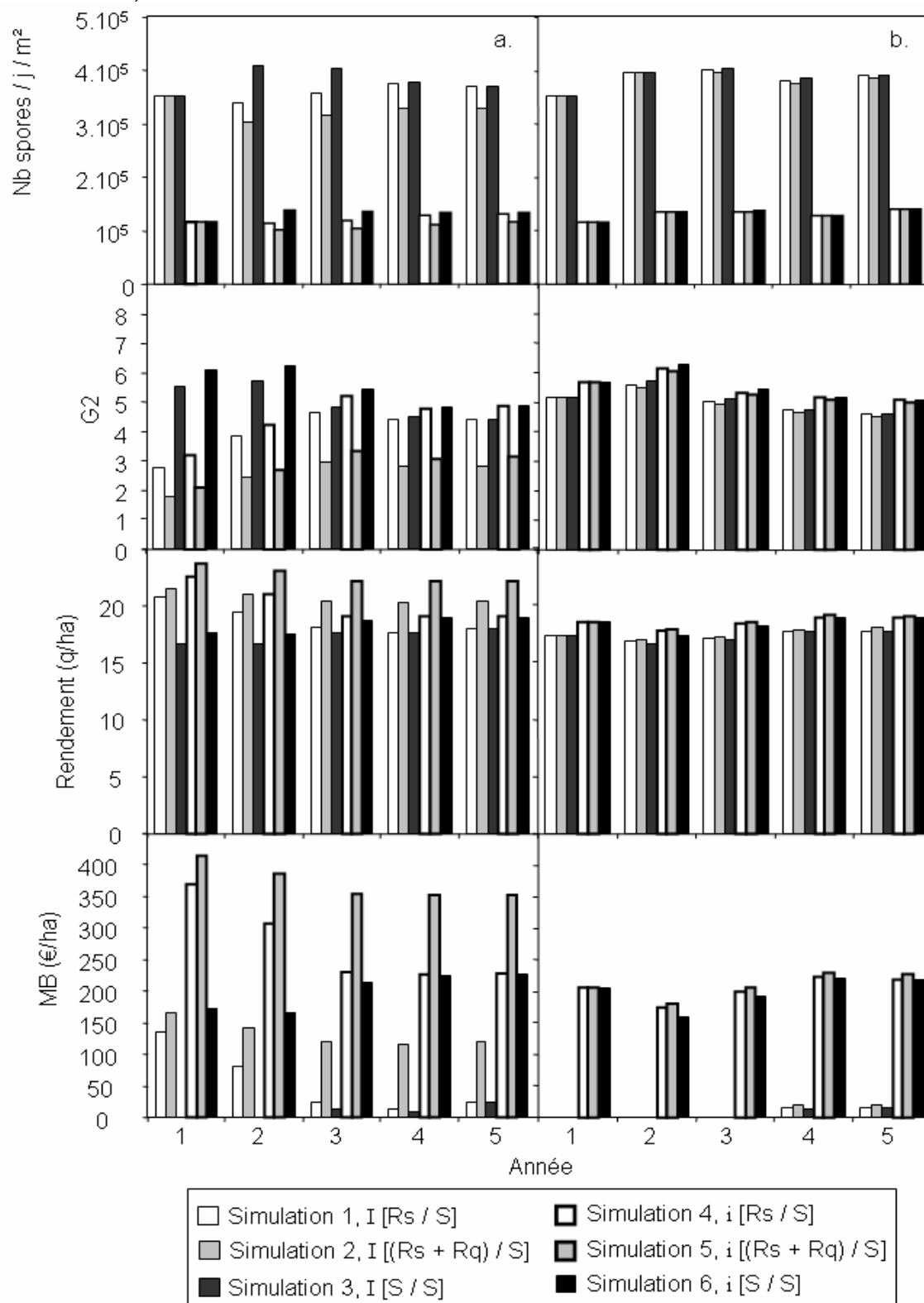
Hypothèse 3 : remplacer les variétés sensibles par des variétés à résistance quantitative sur l'ensemble de la région permettrait de limiter la taille des populations pathogènes donc la récurrence des épidémies. Ceci correspond aux simulations 1bis à 6bis comparées aux simulations 1 à 6.

Cependant, lorsque ces stratégies sont appliquées sur l'ensemble de la région, leur efficacité à limiter les épidémies n'est pas associée à une cinétique différente de contournement des résistances, puisque la taille des populations pathogènes est diminuée uniformément sur l'ensemble de la région. Nous avons par conséquent réalisé des simulations supplémentaires visant à réduire la pression de sélection exercée par les variétés à résistance spécifique.

Hypothèse 4 : associer l'itinéraire technique intégré (i) aux parcelles où la résistance spécifique est utilisée seule (Rs) ou en combinaison avec la résistance quantitative (Rs+Rq) en maintenant l'itinéraire technique intensif (I) sur les autres parcelles permettrait de retarder la cinétique de contournement de la résistance spécifique, puisque l'itinéraire technique intégré conduit à une diminution de la taille des populations pathogènes, donc du nombre de pathotype virulents dans la région. Ceci correspond aux simulations 7, 8 comparées aux simulations 1, 2 et aux simulations 7bis, 8bis comparées aux simulations 1bis, 2bis.

Hypothèse 5 : réduire la fréquence initiale en pathotypes simple virulents (10^{-7} au lieu de 10^{-4} dans toutes les autres simulations) permettrait de retarder le contournement de la résistance spécifique. Ceci correspond à la simulation 9 comparée à la simulation 7.

Figure 3.19. Nombre moyen de spores libérées par jour, note G2 moyenne, rendement moyen et marge brute moyenne pour (a.) les parcelles avec résistance spécifique ou équivalentes sensibles (simulations 3 et 6), et (b.) les parcelles sensibles, obtenues avec les simulations 1 à 6 (Tableau 3.9), combinant les itinéraires techniques (I : intensif ; i : intégré) et le déploiement variétal (Rs : variété avec un gène de résistance spécifique ; Rq : variété avec une résistance quantitative ; S : variété sensible).



3.2. Résultats et discussion

L'hypothèse 1 est confirmée : l'utilisation de variétés résistantes permet de limiter les dégâts et dommages dus au phoma. Les simulations 1 à 6 ont été décrites dans la première partie de ce chapitre. On remarque que la note G_2 est plus faible pendant les trois premières années dans le cas de l'utilisation d'une résistance spécifique seule en comparaison avec les parcelles sensibles (simulation 1 ; Figure 3.19). L'efficacité de la résistance spécifique est ensuite perdue (les notes G_2 sont équivalentes entre les parcelles résistantes et sensibles). L'utilisation d'une variété avec résistance quantitative en plus de la résistance spécifique est plus efficace (simulation 2 et 5). On remarque que la diminution de la quantité d'inoculum due à l'utilisation de cette résistance quantitative se répercute sur les parcelles sensibles (Figure 3.19b) dans le cadre de l'ITK intensif (simulation 2).

Figure 3.20. Fréquences parmi les ascospores libérées en début d'année culturale du pathotype simple virulent correspondant à la résistance spécifique introduite (en gris) et des pathotypes avirulents (en blanc) selon la simulation : a. simulation 1, b. simulation 2, c. simulation 4, d. simulation 5 (Tableau 3.9).

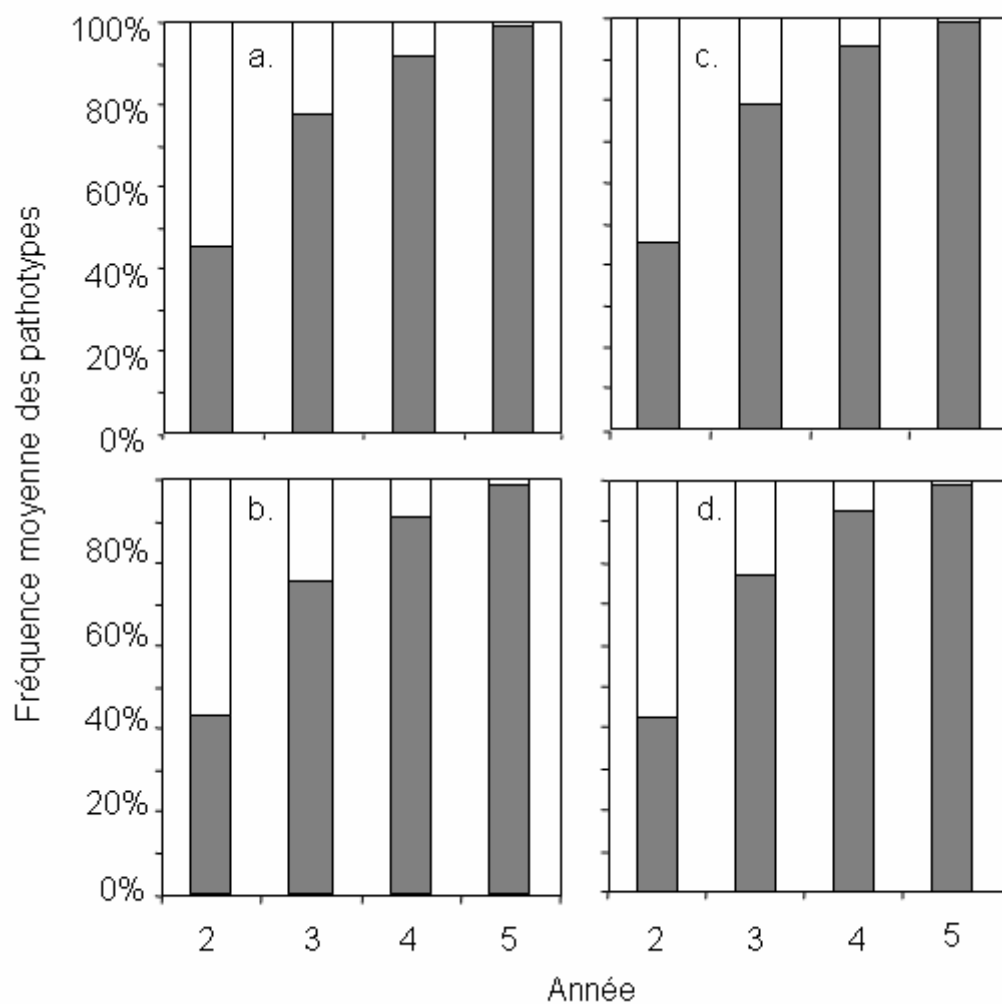


Figure 3.21. Nombre moyen de spores libérés par jour, note G2 moyenne, rendement moyen et marge brute moyenne pour l'ensemble de la région, obtenues avec les simulations 1bis à 6bis (Tableau 3.9), combinant les itinéraires techniques (I : intensif ; i : intégré) et le déploiement variétal (Rs : variété avec un gène de résistance spécifique ; Rq : variété avec une résistance quantitative).

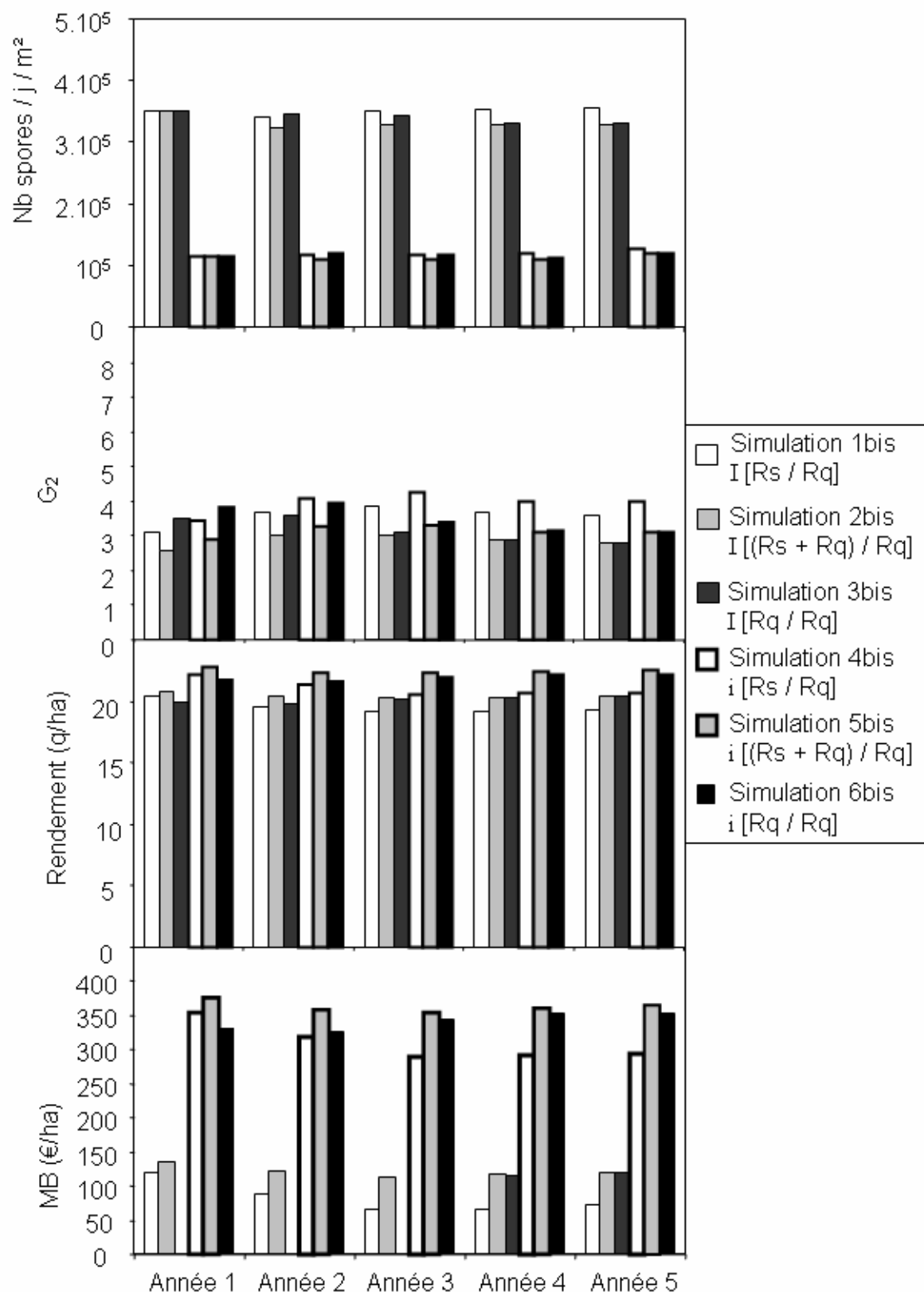
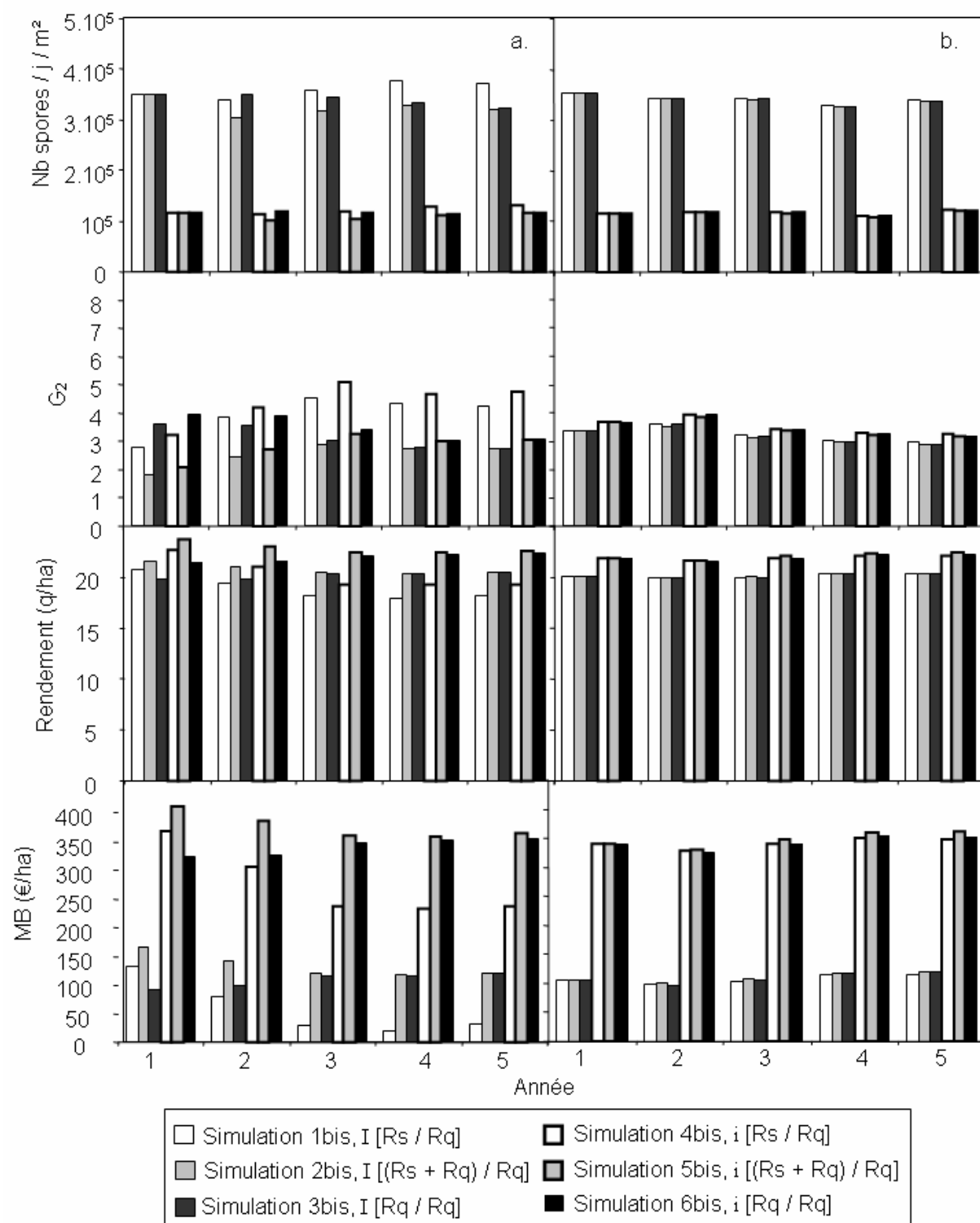


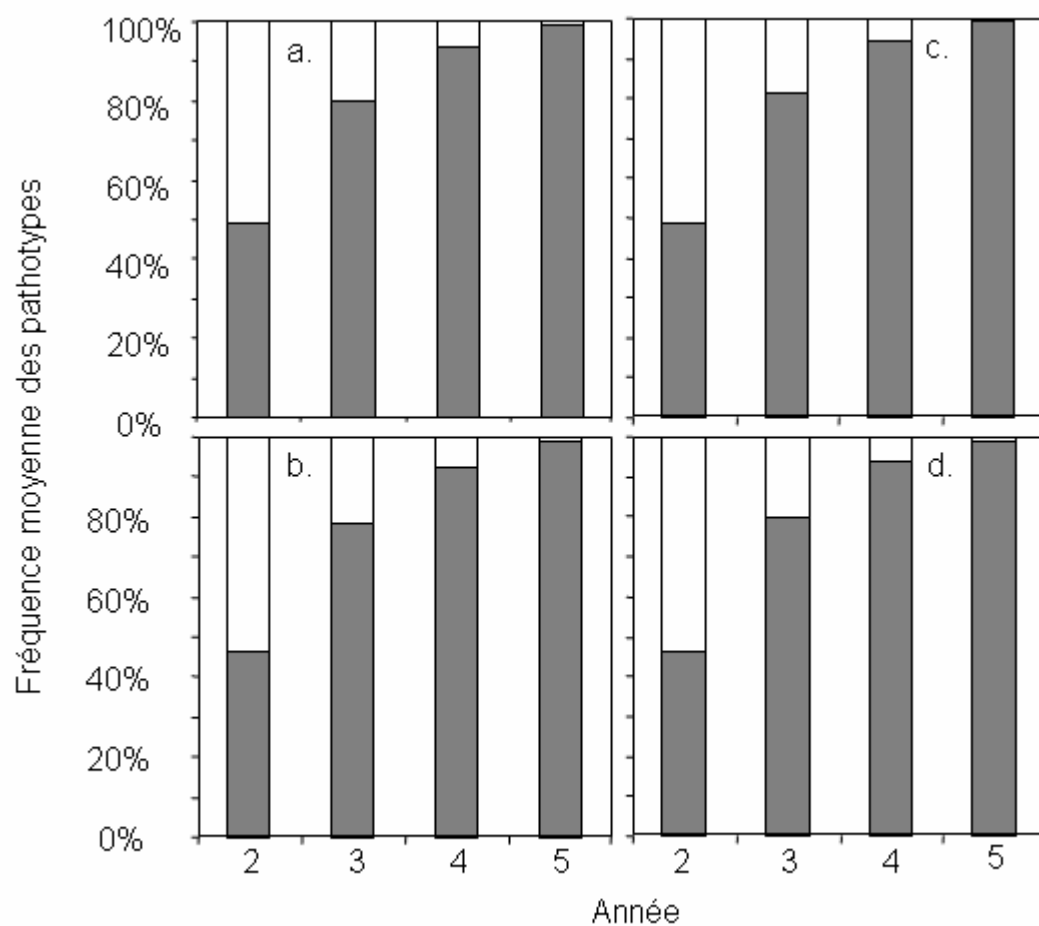
Figure 3.22. Nombre moyen de spores libérées par jour, note G2 moyenne, rendement moyen et marge brute moyenne pour (a.) les parcelles avec résistance spécifique ou équivalentes avec résistance quantitatives (simulations 3 et 6), et (b.) les parcelles avec résistance quantitatives, obtenues avec les simulations 1bis à 6bis (Tableau 3.9), combinant les itinéraires techniques (I : intensif ; i : intégré) et le déploiement variétal (Rs : variété avec un gène de résistance spécifique ; Rq : variété avec une résistance quantitative).



L'hypothèse 2 est partiellement confirmée : l'observation des parcelles sensibles (Figure 3.19b) dans le cadre des simulations 1 à 6 confirme l'effet de l'ITK intégré observé dans la première partie de ce chapitre : la quantité d'ascospores libérées est plus faible, mais la note G_2 est plus élevée, et le rendement est également plus élevé (à cause du rendement accessible plus élevé avec cet itinéraire technique dans SIPPOM), ce qui conduit à une marge brute beaucoup plus élevée pour cet ITK. Selon ces simulations, adopter un itinéraire technique intégré ne permettrait pas de limiter les dégâts et dommages dus au phoma mais entraînerait tout de même un rendement et des profits dégagés plus élevés. Plus généralement pour l'ensemble des simulations, l'itinéraire technique intégré (simulations 4, 5, 6, 4bis, 5bis, 6bis et 7-9) diminue de façon significative la quantité d'ascospores libérées sur l'ensemble de la région (Figures 3.18, 3.21), ou sur les parcelles concernées (Figures 3.19, 3.22 et 3.24a), par le labour, qui permet d'enfouir une partie importante des résidus. Cependant, cet itinéraire entraîne une note G_2 plus élevée, que l'on considère la moyenne sur l'ensemble de la région (Figures 3.18, 3.21), ou sur les parcelles concernées (Figures 3.19, 3.22).

Ceci souligne deux limites de SIPPOM déjà relevées dans la première partie de ce chapitre : le modèle surestime la note G_2 pour des nombre faibles d'ascospores. L'effet de la diminution de la quantité d'ascospores due au labour est donc minimisé. Le semis précoce augmente la valeur de la biomasse entrée hiver, donc de la note G_2 du fait du calcul de cet indice de sévérité dans SIPPOM. Ceci renforce la surestimation de la note G_2 dans le cadre de l'ITK intégré. Cependant, les rendements obtenus avec l'ITK intégré sont supérieurs aux rendements obtenus avec l'ITK intensif. Avec l'ITK intégré, encore une fois, la biomasse sortie hiver plus élevée à cause du semis précoce conduit à un rendement accessible plus élevé. La différence de coût économique entre les deux ITK renforce de façon excessive la différence de rendement et conduit à des marges brutes beaucoup plus élevées pour l'itinéraire intégré.

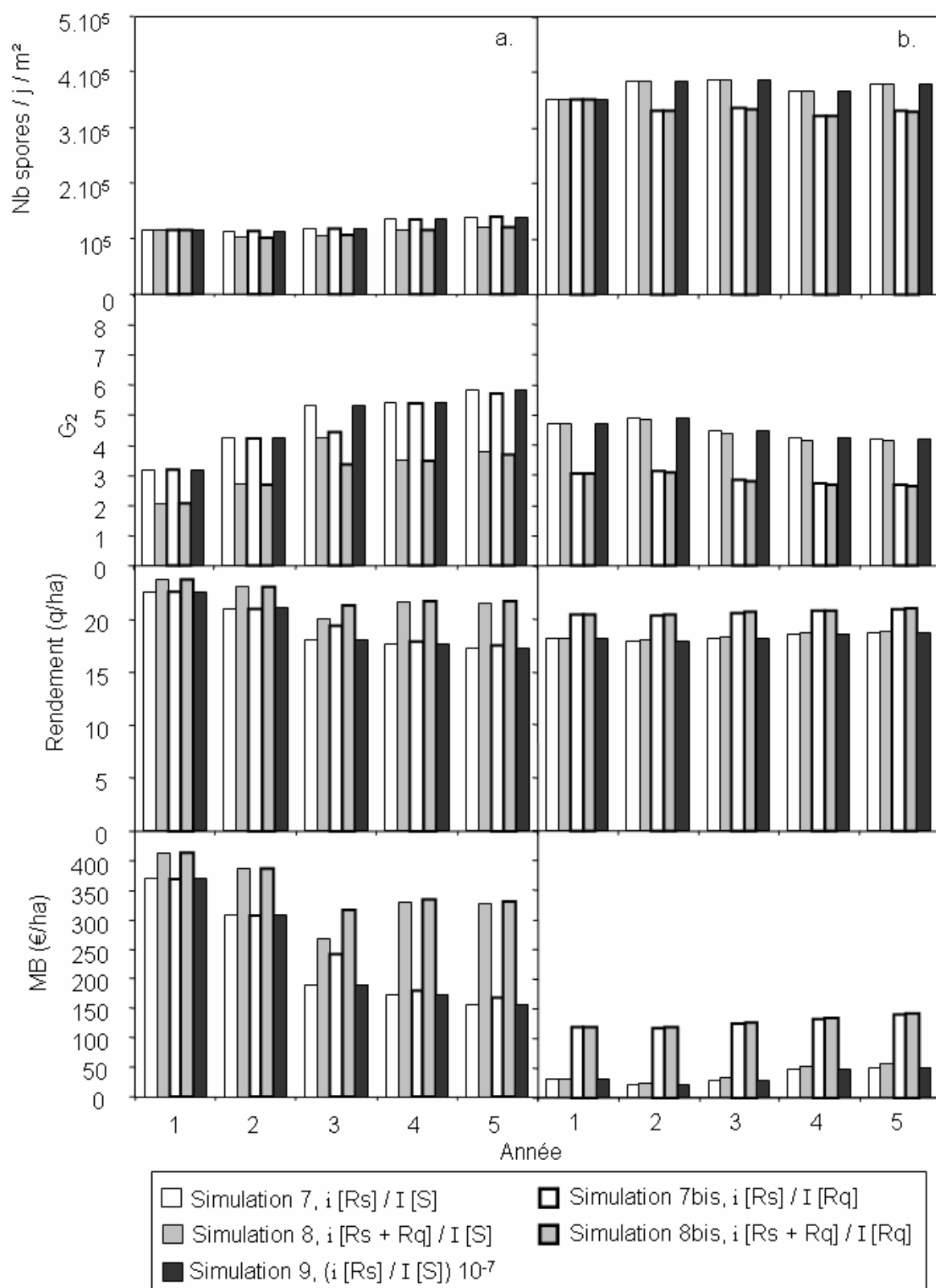
Figure 3.23. Fréquences parmi les ascospores libérées en début d'année culturale du pathotype simple virulent correspondant à la résistance spécifique introduite (en gris) et des pathotypes avirulents (en blanc) selon la simulation : a. simulation 1bis, b. simulation 2bis, c. simulation 4bis, d. simulation 5bis (Tableau 3.9).



L'hypothèse 3 est confirmée : remplacer les variétés sensibles par des variétés à résistance quantitative permet de limiter la sévérité donc la récurrence des épidémies. Si l'on remplace la variété sensible des simulations 1 à 6 (Figure 3.18, 3.19) par une variété possédant une résistance quantitative (Figures 3.21, 3.22), on remarque que l'utilisation dans la région d'une variété avec résistance quantitative à la place d'une variété sensible diminue la quantité d'ascospores libérées sur ces parcelles (figure 3.19b et 3.22b). Dès la deuxième année, la résistance quantitative seule est plus efficace que la résistance spécifique seule : la note G_2 sur les parcelles correspondantes devient plus élevée, et le rendement (et la marge brute) plus faible à même itinéraire technique (Figure 3.22, simulations 1bis et 4bis). De même, globalement à l'échelle de la région et dès la deuxième année, la note G_2 , quand 50 % des surfaces sont cultivées avec la variété avec résistance spécifique seule, dépasse la note G_2 , quand 100 % des surfaces sont cultivées avec la variété avec résistance quantitative seule, à ITK égal (simulations 1bis et 3bis pour l'ITK intensif, et 4bis et 6bis pour l'intégré). Par contre, l'utilisation d'une variété avec cumul des résistances spécifiques et quantitatives reste plus efficace pendant les 5 années de simulations que l'utilisation d'une variété avec résistance quantitative seule, quand on compare les parcelles correspondantes (Figure 3.22, simulation 2bis et 5bis), ou à l'échelle de la région (simulations 2bis et 3bis pour l'ITK intensif, et 5bis et 6bis pour l'intégré).

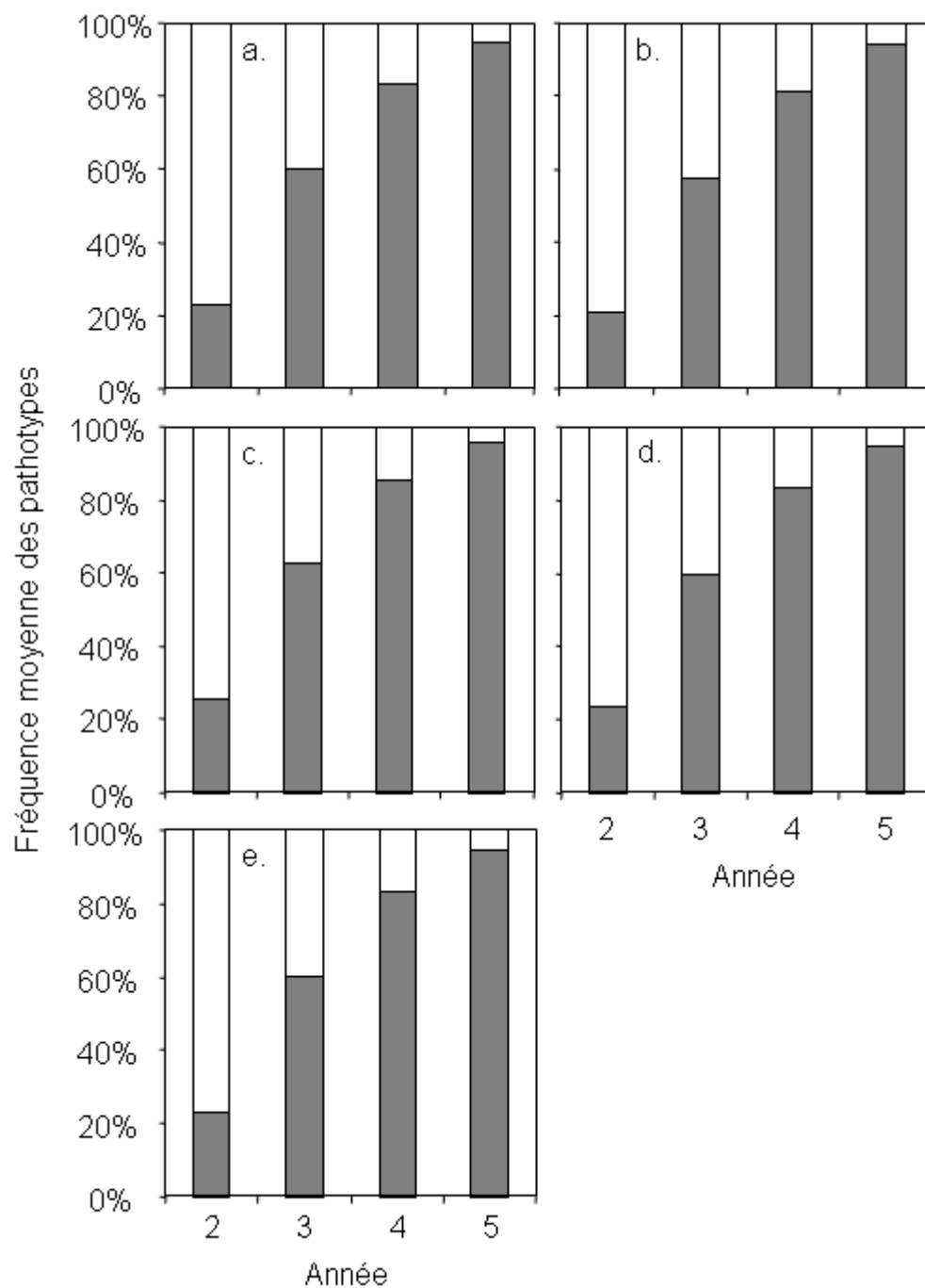
Comme observé dans la première partie de ce chapitre 3, les simulations 1bis-6bis ne conduisent pas à des structures de populations pathogènes différentes (Figure 3.23), puisque la taille des populations est diminuée uniformément sur les parcelles, donc les fréquences ne changent pas. De même, il n'y a pas de différence de fréquences entre les simulations 1-6 et 1bis-6bis (Figures 3.20, 3.23) : l'utilisation d'une variété avec résistance quantitative à la place d'une variété sensible ne fait que diminuer la taille des populations uniformément à l'échelle de la région, sans changer les fréquences.

Figure 3.24. Nombre moyen de spores libérés par jour, note G2 moyenne, rendement moyen et marge brute moyenne pour (a.) les parcelles avec résistance spécifiques, et (b.) les parcelles sensibles (7-9) ou avec résistances quantitatives seules (7bis et 8bis) (Tableau 3.9). Les simulations combinent les itinéraires techniques (I : intensif ; i : intégré) et le déploiement variétal (Rs : variété avec un gène de résistance spécifique ; Rq : variété avec une résistance quantitative ; S : variété sensible).



L'hypothèse 4 est confirmée : associer l'itinéraire technique intégré (i) aux parcelles où la résistance spécifique est utilisée en maintenant l'itinéraire technique intensif sur les autres permet de retarder la cinétique de contournement de la résistance spécifique (Figure 3.25 comparée aux figures 3.20 et 3.23). Les stratégies limitant la taille de populations pathogènes sur les parcelles avec la résistance spécifique permettent de retarder d'une année la prédominance du pathotype virulent dans la population pathogène (Figure 3.25 par rapport aux figures 3.20 et 3.23). Comme précédemment, le cumul d'une résistance spécifique et quantitative permet d'augmenter très légèrement la fréquence du double avirulent (Figure 3.25b en comparaison avec Figure 3.25a, et 3.25d en comparaison avec 3.25c). Concernant les notes G_2 , rendements et marges brutes pour les simulations 7-9 et 7bis, 8bis, où l'itinéraire intégré est associé aux parcelles où la résistance spécifique est utilisée, dès la troisième année, les notes G_2 sont plus élevées sur les parcelles avec la résistance spécifique seule que sur les parcelles sensibles (Figure 3.24, simulation 7). Ceci est dû au fait que l'ITK intégré associé à ces parcelles entraîne des notes G_2 plus élevées. Les rendements (et les marges brutes) sont plus faibles pour les parcelles sensibles malgré des notes G_2 plus faibles à partir de la troisième année (Figure 3.24), à cause de l'effet de la date de semis qui implique des rendements accessibles plus faibles pour l'ITK intensif, du fait du formalisme introduit dans SIPPOM.

Figure 3.25. Fréquences parmi les ascospores libérées en début d'année culturale du pathotype simple virulent correspondant à la résistance spécifique introduite (en gris) et des pathotypes avirulents (en blanc) selon la simulation : a. simulation 7, b. simulation 8, c. simulation 7bis, d. simulation 8bis, e. simulation 9 (Tableau 3.9).



L'hypothèse 5 n'est pas confirmée avec SIPPOM : réduire la fréquence initiale en pathotypes simple virulents (10^{-7} au lieu de 10^{-4}) ne permet pas de retarder significativement le contournement de la résistance spécifique. Cependant, si l'effet de ces conditions initiales ne se traduit pas par des fréquences de virulences différentes, il modifie la composition des populations. Les fréquences du double avirulent sont très légèrement plus élevées pour la simulation 9 que pour la simulation 7 (non apparent sur les Figures 3.25a et 3.25e), alors que les fréquences du pathotype double virulent sont beaucoup plus faibles pour la simulation 9 que pour la simulation 7 (de l'ordre de 10^{-9} au lieu de 10^{-6} , données non présentées), probablement à cause de l'effet Allee. Dans le cas du déploiement simultané de deux gènes de résistance différents, ceci pourrait avoir des conséquences sur leur durabilité. Cette hypothèse pourra être testée à l'aide de SIPPOM. Concernant les sorties épidémique, agronomique et économique, il y a très peu de différences entre les simulations 7 et 9 (note G_2 légèrement plus faible la première année, Figure 3.24), malgré une fréquence initiale des pathotypes simple virulents plus faible (10^{-7} au lieu de 10^{-4}). Ceci est certainement dû à la surestimation des notes G_2 par SIPPOM quand le nombre d'ascospores est très faible.

Ces simulations renforcent l'idée que SIPPOM est un outil puissant pour classer des stratégies selon leur capacité à contrôler la maladie et à assurer des rendements et la rentabilité économique aux agriculteurs, mais aussi des stratégies qui permettraient d'augmenter la durabilité des résistances spécifiques. Des ajustements seraient nécessaires pour rendre l'outil plus réaliste. Par exemple, la surestimation de la note G_2 dans SIPPOM atténue l'effet bénéfique du labour, de la résistance spécifique et des valeurs de fréquence faibles des pathotypes virulent. A partir de la troisième année, les notes G_2 ont tendance à diminuer et les rendements et marges brutes à augmenter du fait des effets de bord : les ascospores « sortent » de la région simulée. A condition de tenir compte de ces éléments dans l'interprétation des résultats, SIPPOM peut d'ores et déjà être utilisé pour des simulations.

Chapitre 4. Discussion générale

Tableau 4.1. Structure de SIPPOM, mobilisation de données et apports

Module	Sous-module	Origine(s)	Source de données	Contribution du travail de thèse
Production d'inoculum primaire	Réurrence	Production du travail de thèse	Expérimentation CETIOM-GEVES	Formalisation Codage sous Mathematica
	Déplacement vertical des résidus	SimInoc	Schneider, 2005	Codage sous Mathematica
	Production d'inoculum	SimInoc	Schneider, 2005	Ré-estimation de paramètres
		Production du travail de thèse	Expérimentation	Codage sous Mathematica
	Maturation des périthèces	SimMat	Aubertot <i>et al.</i> , 2006c	Codage sous Mathematica
Dispersion	Sporulation	SimInoc	Schneider, 2005	Ré-estimation de paramètres
		Production du travail de thèse	Expérimentation	Codage sous Mathematica
	Dispersion	Anthraxe Tracer	Diggle <i>et al.</i> , 2002	Modification du formalisme stochastique en formalisme déterministe
Peuplement	Croissance	Azodyn	Jeuffroy <i>et al.</i> , 2003	Simplification Codage sous Mathematica
	Rendement accessible	Production du travail de thèse	CETIOM E. Hance (chambre d'agriculture de Lorraine) M. Morison (UMR d'Agronomie, INRA Grignon)	Formalisation (régression linéaire, régression quantile et courbe enveloppe) Codage sous Mathematica
Génétique	Sélection Recombinaison Effet Allee	Production du travail de thèse	Pas de recours à des données	Formalisation Codage sous Mathematica
Infection	Sévérité/perte de rendement	SimCanker	Aubertot <i>et al.</i> , 2004c	Codage sous Mathematica
	Effet résistance quantitative	Production du travail de thèse	UMR d'Agronomie, INRA Grignon	Formalisation Codage sous Mathematica

Chapitre 4. Discussion générale

1. Rappel de l'objectif et bilan des tâches réalisées

L'objectif de mon travail de thèse était de réaliser un outil permettant de tester des stratégies de contrôle du phoma du colza à l'échelle régionale, et de hiérarchiser ces stratégies selon des critères agronomiques, économiques, environnementaux et épidémiques, en intégrant de manière explicite la durabilité de l'efficacité des résistances spécifiques. SIPPOM a été créé pour répondre à cet objectif. Afin de construire ce modèle, des modules existants ont été mobilisés, et de nouveaux modules ont été créés, grâce à l'analyse de données antérieures et à la réalisation d'une expérimentation (Tableau 4.1). L'expérimentation étudiant le lien entre la sévérité de la maladie une année donnée et la quantité d'inoculum produite l'année suivant a permis de produire une relation quantitative caractérisant la récurrence de l'épidémie. Cette relation n'existait pas pour le phoma du colza, et est très rarement proposée quelle que soit la maladie considérée. Cette expérimentation est donc originale, et indispensable pour compléter le modèle SIPPOM. Ce travail de thèse a permis de regrouper ou de compléter l'ensemble des données concernant le cycle épidémique du phoma et l'impact des pratiques sur ce cycle, nécessaires pour créer un modèle tel que SIPPOM. C'est donc le premier modèle prenant en compte les méthodes de lutte génétique, culturale et chimique ainsi que leur répartition spatiale pour tester des stratégies de contrôle d'une maladie. La diversité des sorties simulées permet d'évaluer ces stratégies non pas sur un critère unique, mais bien sur un ensemble de critères. Cette analyse multicritère est indispensable pour la conception de systèmes de cultures innovants (Reau et Doré, 2008).

Concernant le choix des modules existants, plusieurs modules utilisés dans le modèle SIPPOM ont été produits dans l'UMR d'agronomie de Grignon (Tableau 4.1). Le module de déplacement vertical des résidus, essentiel pour simuler l'effet de différents types d'opération de travail du sol sur l'enfouissement des résidus (Schneider, 2005), est unique. Au contraire, le module SimMat (pour la maturation des pseudothèces, Aubertot *et al.*, 2006c) pourrait être remplacé par d'autres modèles de maturation comme ceux développés par Salam *et al.* (2007 ; le formalisme de ce modèle est similaire à celui de SimMat, c'est-à-dire basé sur les jours favorables à la maturation, mais le paramétrage est différent) ou Huang *et al.* (2007b ; le formalisme de ce modèle est différent de celui de SimMat), qui seraient peut-être mieux adaptés pour une utilisation de SIPPOM dans d'autres conditions climatiques (australiennes ou anglaises respectivement)¹. Concernant le module infection, Wherret *et al.* (2004) proposent une relation entre la quantité de spores arrivant sur le peuplement et la sévérité du phoma, en prenant en compte l'effet des traitements fongicides. Ce modèle aurait pu être utilisé dans SIPPOM, mais l'effet de la résistance quantitative aurait également dû être ajouté. D'autres modèles de croissance du peuplement de colza existent, tels que STICS (Brisson *et al.*, 2003) ou CERES (Gabrielle *et al.*, 1998b), mais ils sont plus compliqués qu'Azodyn et nécessitent de

¹ Le code de SIPPOM est d'ailleurs basé sur un code australien (module dispersion), et le *Centre for Cropping Systems, Department of Agriculture and Food, Western Australia*, avec qui des relations ont été entretenues tout au long de ce travail de thèse, souhaitera certainement adapter l'ensemble du modèle aux conditions australiennes.

renseigner un grand nombre de variables d'entrée et de paramètres. Ils sont donc moins adaptés à l'utilisation qui en est faite dans SIPPOM.

Contrairement aux modèles pour l'étude de la durabilité des résistances spécifiques présentées dans le premier chapitre, SIPPOM permet non seulement d'étudier de façon explicite le déploiement des variétés dans le territoire, mais aussi d'évaluer l'impact des pratiques sur la taille des populations pathogènes, donc sur l'effet des forces évolutives sur la structure de ces populations. Par rapport aux modèles pour le contrôle d'une maladie présentés, l'ensemble des pratiques sont prises en compte dans SIPPOM, aux échelles régionale et pluriannuelle. La prise en compte de ces échelles ainsi que de l'ensemble des méthodes de lutte est indispensable pour étudier des stratégies de production intégrée permettant le contrôle d'une maladie.

La qualité prédictive du modèle, *sensu stricto*, n'est pas facilement évaluable, pour des raisons expérimentales. Il faudrait en effet mettre en place des expérimentations pour lesquelles des espaces agricoles, de taille suffisamment grande (de l'ordre de plusieurs dizaines de kilomètres carrés) et spatialement disjoints (de l'ordre de plusieurs kilomètres), soient gérés selon des stratégies contrastées pendant plusieurs années et que ces zones soient caractérisées de manière à pouvoir renseigner les variables d'entrée de SIPPOM. Ceci entraînerait des coûts expérimentaux démesurés. Plus que la qualité prédictive, il serait plus intéressant d'évaluer la qualité d'aide à la décision de SIPPOM (Jeuffroy *et al.*, 2008), puisque le modèle est destiné à hiérarchiser des stratégies de contrôle et non à prédire des valeurs absolues de rendements ou de marges brutes. Le développement de méthodes statistiques pour évaluer la capacité d'un modèle à hiérarchiser des stratégies (basées sur les méthodes ROC, de Spearman ou de Wilcoxon ; Comm. Pers. Makowski) serait utile pour des modèles complexes tels que SIPPOM.

Même si SIPPOM n'a pas été évalué dans sa globalité, chaque module a été évalué, et la qualité prédictive des modules est en générale satisfaisante. De plus, une méthode originale d'analyse de sensibilité d'un modèle complexe a été mise au point, là où les techniques statistiques habituelles ne sont pas applicables à un modèle présentant autant d'équations, de paramètres et de variables d'entrée, d'état ou de sortie. Cette analyse de sensibilité ne remplace en aucun cas l'évaluation du modèle, mais a permis de montrer que les modules sont généralement peu sensibles à la variation des paramètres dans leur capacité à classer des scénarios.

Les simulations réalisées montrent des résultats attendus (la résistance quantitative permet de diminuer de façon significative la sévérité de la maladie, le labour permet de diminuer de façon significative la quantité d'inoculum primaire) mais également des résultats pressentis mais non démontré expérimentalement à ces échelles de temps et d'espace : la réalisation d'un itinéraire technique favorisant la limitation de la taille des populations pathogènes sur les parcelles avec des variétés possédant des gènes de résistances spécifique permet d'augmenter la période d'efficacité de ces résistances à l'échelle de la région. Des résultats similaires ont été observés lors d'une expérimentation en cours (UMR Agronomie, Grignon, UMR Bioger, Versailles-Grignon) sur deux parcelles semées avec une variété possédant le gènes de résistance non contourné Rlm7 : une parcelle à Versailles avec un itinéraire technique « prudent », favorisant

la limitation de la taille des populations pathogènes (fréquence de retour du colza faible, tous les 4 ans, labour systématique après la récolte du colza), et une parcelle à Grignon avec itinéraire technique « à risque », supposé peu propice à la durabilité des résistances spécifiques (monoculture, travail du sol superficiel). Concernant les autres pratiques, les mêmes règles de décision ont été appliquées pour les deux itinéraires techniques. Les virulences ont été caractérisées sur des variétés sensibles à proximité des parcelles. Après deux années de culture, la fréquence des individus virulents avrLm7 était significativement plus élevée sur la parcelle de Grignon, ce qui prouve que le système de culture influence la vitesse d'adaptation d'une population pathogène. Cependant, SIPPOM permet d'étendre cette observation à l'échelle régionale, ce qui serait quasiment impossible à démontrer par l'expérimentation.

2. Evolutions possibles de SIPPOM

Plusieurs éléments de discussion présentés succinctement précédemment sont repris dans cette partie. D'abord, les exemples de simulation réalisés avec SIPPOM ainsi que les résultats de l'analyse de sensibilité ont montré que deux modules du modèle sont à améliorer : le rendement accessible est mal estimé (et très sensible aux variations des paramètres), et les notes G_2 sont surestimées, ce qui empêche de mettre en évidence l'effet de certaines pratiques telles que le labour dans SIPPOM. De plus, il est nécessaire d'améliorer le problème des effets de bord existant dans la version actuelle de SIPPOM, si le vent a tendance à être unidirectionnel (comme dans les exemples de simulation présentés dans le chapitre 3). Enfin, des éléments de discussion complémentaires sont présentés.

2.1. Amélioration du module peuplement

La biomasse intervient dans le formalisme du calcul du rendement accessible (biomasse sortie hiver) et de la note G_2 (biomasse entrée hiver), ce qui nécessite que celle-ci soit bien simulée. Or, le semis précoce conduit systématiquement à une biomasse entrée et sortie hiver simulée plus importante par rapport à un semis normal, alors que ce n'est pas forcément le cas dans la réalité. En effet, un semis précoce entraîne une absorption d'azote plus importante en automne, donc potentiellement une biomasse plus élevée, mais cette absorption d'azote peut conduire à une augmentation de la chute des feuilles, qui diminue alors la biomasse (Dejoux, 1999 ; 2003). L'accélération de la sénescence provoquée par les excès d'azote n'est pas considérée dans la version actuelle de SIPPOM. De plus, le gel n'est pas pris en compte dans le module peuplement alors qu'il peut provoquer la destruction d'une partie du couvert en hiver, particulièrement si celui-ci est plus développé dans le cas d'un semis précoce (Dejoux, 1999 ; 2003). Ainsi, le semis précoce conduit systématiquement à un rendement accessible plus important que le semis normal dans SIPPOM (toutes entrées techniques et climatiques égales par ailleurs) alors que Dejoux (1999) n'a pas observé de tendances quant à la conséquence du semis précoce sur le rendement, beaucoup d'autres facteurs limitants pouvant intervenir. Cependant, le module peuplement, dérivé du modèle Azodyn (Jeuffroy *et al.*, 2003) est déjà très complexe par rapport aux autres modules en terme de variables d'entrée nécessaires et de nombre de paramètres. L'amélioration de l'estimation des paramètres ou des formalismes semble donc être difficile. L'estimation dynamique de la biomasse, du nombre

de feuilles et de la surface foliaire est pourtant nécessaire pour prédire les risques d'infection par le phoma.

Par ailleurs, le module permettant de calculer le rendement accessible en fonction de la réserve utile du sol, du déficit climatique et de la biomasse sortie hiver présente une qualité prédictive assez médiocre, ainsi qu'une forte variabilité quand les paramètres varient. En particulier, on peut obtenir, dans des cas extrêmes, des rendements accessibles négatifs ou très élevés (plusieurs centaines de quintaux). Le module actuel pourrait être amélioré en bornant les rendements entre 0 et le rendement potentiel de la variété, mais il semble nécessaire de conduire de nouvelles expérimentations pour affiner l'estimation des paramètres, voire pour modifier le formalisme du calcul du rendement accessible.

2.2. Amélioration du module infection

La partie du module infection qui permet de calculer le nombre de macules qui apparaissent n'a pas été évaluée. Les simulations montrent que le nombre maximum de macules par plante est bien corrélé au nombre de spores virulentes parvenant sur un pixel donné. Par contre, ce nombre est très variable quand les paramètres varient. Il serait nécessaire d'évaluer cette partie du module, mais aucun jeu de données complet n'est disponible actuellement pour cette évaluation. De nouvelles expérimentations pourraient être mises en place pour établir la relation entre le nombre de spores interceptées au niveau d'une parcelle de colza et le nombre de macules relevé.

La prédiction de la note G_2 (après normalisation et transformation logit) a été obtenue par régression stepwise à partir de données relevées sur 127 parcelles élémentaires ayant des conduites très contrastées (date et densité de semis, niveau de disponibilité en azote, variété) réparties sur 4 sites*années (Aubertot *et al.*, 2004c). Un ensemble de 34 variables décrivant la sensibilité variétale, l'inoculum primaire (concentration atmosphérique en ascospores), le climat (pluie et température moyenne journalière), les infections foliaires (incidence et nombre moyen de macules par plante), et les états de peuplement (densité de plantes et biomasse), a été considéré pour prévoir la sévérité des nécroses à maturité physiologique du colza. Trois variables ont été sélectionnées pour leur impact sur la note G_2 : le nombre maximum de macules par plante ($R^2_p = 0,68$), le temps thermique calculé sur le dernier trimestre ($R^2_p = 0,17$) et la biomasse fraîche entrée hiver ($R^2_p = 0,02$). Même si l'évaluation de cette relation conduit à des valeurs de critères statiques satisfaisantes (RMSEP = 0,96 ; MAE = 0,71, biais = 0,16) en validation croisée, plusieurs limites apparaissent, d'autant plus que la note G_2 est très variable quand les paramètres varient (analyse de sensibilité, chapitre 3). On peut s'étonner d'abord que certaines variables n'aient pas été sélectionnées, comme la pluie par exemple. Ainsi, l'humidité au niveau des feuilles (dépendant de la pluie) conditionnerait l'établissement du champignon dans la plante et donc la phase initiale de la croissance systémique (Travadon, INRA Rennes, Comm. Pers.). De plus, la pluie conditionne l'humidité du sol et doit donc jouer un rôle au cours de la croissance systémique du champignon dans la plante si elle dépend de l'alimentation hydrique des plantes. Cependant, aucune étude n'a été conduite pour analyser l'effet de la phase initiale de colonisation par le champignon, ou l'effet des conditions de nutrition hydrique, sur la croissance systémique.

Enfin, le domaine de validité de la relation est restreint puisqu'elle n'a été obtenue que pour quatre sites*années. Le temps thermique au dernier trimestre de l'année civile correspondant à ces situations était relativement élevé et des temps thermiques plus faibles impliquent une augmentation importante de la note G_2 . La méthode de sélection des variables par régression stepwise serait donc plus robuste si l'on disposait de données sur un plus grand nombre de situations. Un tel jeu de données n'est pas disponible actuellement.

Finalement, on a observé lors des simulations que, du fait du formalisme, un nombre très faible de macules peut entraîner une note G_2 importante par exemple si le temps thermique est assez faible (la note G_2 est tout de même fixée à 0 quand le nombre de macules est nul). Le module actuel tend donc à surestimer la note G_2 en particulier pour des nombres de macules très faibles. Il serait nécessaire d'améliorer cette partie du modèle en mettant en place de nouvelles expérimentations pour analyser les mécanismes impliqués dans les dégâts et dommages causés par la maladie, en interaction avec la phase systémique du champignon (Travadon *et al.*, 2008a ; 2008b). Ces expérimentations pourraient inclure une étude des résistances quantitatives, qui ont pour le moment été intégrées dans SIPPOM de façon très simplifiée, puisque leurs mécanismes de fonctionnement ne sont pas connus.

2.3. Prise en compte des effets de bord

Dans sa version actuelle, SIPPOM considère le parcellaire étudié isolé du monde extérieur, c'est-à-dire qu'aucune spore ne provient de l'extérieur de la région, et que les spores qui sortent de la région simulée sont « perdues ». Cela n'est pas forcément problématique pour l'interprétation des sorties dans le cas d'un vent isotrope. Par contre, les exemples de simulations ont montré que dans le cas d'un vent unidirectionnel (soufflant vers le nord-est), les spores « quittent la région », ce qui provoque au bout de quelques années de simulation une diminution de la maladie qui n'existerait pas dans la réalité. Il faut noter que l'effet de bord est exacerbé dans les exemples de simulations, puisque l'on a volontairement fixé un vent unidirectionnel (de façon à pouvoir mieux interpréter les sorties spatialisées obtenues), alors que dans la réalité, l'orientation du vent serait plus variable. Dans le cas d'un vent qui a tendance à souffler dans une direction préférentielle, il serait nécessaire de résoudre le problème des effets de bord.

Plusieurs solutions sont possibles pour améliorer ce point. On peut, par exemple, réaliser les simulations sur une région plus étendue et ne considérer que les parcelles au centre de cette région. L'analyse de sensibilité du module dispersion a montré la nécessité de considérer un parcellaire étendu, puisque le nombre de spores arrivant sur une parcelle située à 10 km d'une parcelle source n'est pas nul. Ainsi, il semble raisonnable de considérer une région de 10 km*10 km pour l'étude des stratégies. Il faudrait donc réaliser les simulations sur une région encore plus grande pour éviter les effets de bord. Cependant, le module dispersion et en particulier le pré-calcul des intégrales en C++ pour un raster de 200 pixels * 200 pixels¹ ne permet pas pour le moment de réaliser des simulations supérieures à 10 km*10 km avec une taille de pixels de 50 m * 50 m (cette taille de pixel peut cependant être modifiée dans

¹ Voir l'annexe 4

SIPPOM si l'on veut simuler des parcellaires plus étendus, les flux de spores seront alors représentés moins précisément). De plus, les temps de calcul actuels du modèle ne permettent pas de réaliser des simulations sur une région trop étendue. Et la question reste entière sur la taille de la marge à considérer. D'autres solutions sont envisageables, comme faire entrer les spores dans la région de façon symétrique par rapport à leur sortie (symétrie centrale par exemple), ou en les faisant « rebondir » sur les bords de la région considérée (Vacher *et al.*, 2003), même si la dispersion des spores contre la direction du vent est discutable. Ces solutions sont par contre un peu plus compliquées à mettre en œuvre que la première, même si cette première solution implique de considérer une région restreinte pour l'analyse des impacts des stratégies de contrôle.

Outre un problème d'effet de bord, le défaut souligné précédemment dans le cas d'un vent unidirectionnel (sortie des spores de la région) peut également mettre en évidence un problème de résolution temporelle élevée du module dispersion (pas de temps journalier). Les effets de bord suggèrent qu'il faudrait considérer une région infiniment étendue pour ne pas perdre des spores, ce qui est impossible. Le problème vient plutôt du fait que l'on ne considère qu'un vent moyen journalier, alors qu'il faudrait considérer l'intensité et l'orientation du vent au moment des émissions. Dans la version actuelle, on néglige les « effets bourrasques » ou les changements d'orientation du vent au cours d'une journée. Le module dispersion pourrait être complexifié, par exemple en considérant une « rosace de dispersion » et non une dispersion unidirectionnelle chaque jour. Cependant, dans sa version actuelle, le module dispersion permet déjà de bien représenter les flux de spores dans une région et les conséquences de ces flux sur la sévérité des épidémies et la cinétique de contournements des résistances spécifiques.

2.4. Prise en compte d'éléments omis dans la version actuelle de SIPPOM

SIPPOM ne prend pas en compte les repousses de colza dans les bordures ou dans les champs cultivés, ni les hôtes alternatifs de *Leptosphaeria maculans* : les cultures intermédiaires comme la moutarde (*Synapis alba*, *Synapis arvensis* ; Petrie et Vanterpool, 1965), de plus en plus présentes en France dans les paysages, ou les espèces sauvages hôtes de *L. maculans*, comme le radis sauvage (*Raphanus raphanistrum*, Barbetti, 1978), ou d'autres espèces, le plus souvent de crucifères (Hall, 1992). On considère que la quantité d'inoculum produite sur les repousses de bord de champs, sur les espèces sauvages hôtes ou sur les cultures intermédiaires est négligeable. Ceci n'est *a priori* pas une hypothèse forte pour l'aspect quantité de maladie, puisque le nombre de repousses et d'espèces sauvages hôtes est probablement très inférieur aux résidus infectés présents dans un champ (on pourrait confirmer cette hypothèse à l'aide du modèle GeneSys ; Colbach *et al.*, 2001a ; 2001b). De plus, pour la production d'ascospores, il est nécessaire que le champignon complète son cycle (c'est-à-dire qu'il parvienne au collet et s'y reproduise), et ceci ne se passe pas systématiquement dans le cas de repousses de bord de champs ou des espèces sauvages hôtes, du fait de la gestion des bordures (fauches, traitement herbicides...). Dans le cas des cultures intermédiaires en place pendant l'hiver, les conditions climatiques de contre saison ne sont

pas favorables à la maturation des pseudothèces : les résidus infectés de ces cultures sont laissés en surface au printemps, où les températures pourraient être trop élevées, et l'humidité trop faible pour des conditions optimales à la maturation des pseudothèces. Si des pseudothèces se forment néanmoins, la culture de colza n'est plus dans sa période sensible à l'infection. Enfin, les résidus des cultures intermédiaires sont enfouis rapidement puisque les nouvelles cultures sont en général implantées directement après le fauchage des cultures intermédiaires. Par contre, on peut se demander le rôle de relai que les repousses de bordure, les espèces sauvages ou les cultures intermédiaires ont dans le maintien de la diversité chez les populations de *L. maculans*, en particulier le maintien de certaines virulences (Burdon et Thrall, 2008). Des expérimentations pourraient être mises en place pour étudier ce rôle de relai dans le maintien de virulences dans une région par exemple.

Les repousses de colza dans un champ de colza peuvent être issues de la culture précédente dans le cas d'une monoculture de colza sur une parcelle, ou des champs adjacents à la parcelle considérée, cultivés en colza l'année précédente. Dans ce cas, le champignon peut finir son cycle et produire des ascospores sur les résidus issus de ces repousses. Si la quantité de repousses est non négligeable, cela peut contribuer au maintien de certaines virulences dans les populations pathogènes. Il faudrait déterminer la quantité de repousses provenant de parcelles adjacentes ou en fonction du délai de retour, en utilisant par exemple le modèle GeneSys (Colbach *et al.*, 2001a ; 2001b), et éventuellement, si cette quantité est non négligeable, programmer dans le modèle la prise en compte des repousses dans les parcelles de colza, sous forme d'un mélange variétal entre la variété semée et les variétés des repousses.

Dans la version actuelle de SIPPOM, pour des raisons de temps de calcul, on ne considère que l'inoculum produit sur les résidus de l'année antérieure (n-1). On fait donc l'hypothèse que la quantité d'inoculum produit sur les résidus des années n-2, n-3... remontés à la surface est négligeable. La biomasse de résidus diminue considérablement entre l'année d'incorporation et l'année de remontée, à cause de la dégradation de ces résidus. Ceci est peut-être moins vrai pour des résidus qui resteraient en surface pendant les différentes années, par exemple en cas de semis direct (Schneider, 2005), ou si les conditions pédoclimatiques sont moins favorables à la décomposition des résidus (Baird *et al.*, 1999 ; Turkington *et al.*, 2000). L'hypothèse que la quantité d'inoculum produit sur les résidus âgés est négligeable a été testée à l'aide du module production d'inoculum de SIPPOM : la quantité d'inoculum issue des résidus de l'année n-2 est égale à moins de 5 % de la quantité d'inoculum issue des résidus de l'année n-1, que ce soit en travail du sol superficiel (chisel et herse) ou profond (labour). Cependant, avec ce module, on ne teste pas l'effet du type de sol ou du climat sur la décomposition, qui ont pourtant un impact sur la dégradation des résidus. Ces aspects sont d'autant plus importants que l'on assiste en France à une tendance à la simplification du travail du sol (40 % des parcelles de colza seraient concernées, Comm. Pers. Flénet). Il serait donc intéressant de tester l'effet de ces changements de pratiques sur la maladie avec le modèle. Il faudrait également tester l'impact sur la quantité d'inoculum et sur l'infection de la proximité de parcelles source n-2, n-3... par rapport à des parcelles n-1 plus éloignées. Enfin, l'inoculum issu de résidus âgés peut contribuer au maintien de virulences dans une région, et cela pourrait

également être étudié. L'idéal serait donc de conserver l'effet des résidus n-2, n-3... et de tester spécifiquement leur impact, si les temps de calcul le permettaient.

2.5. Amélioration des temps de calcul

L'utilisation du langage Mathematica[®] m'a permis de réaliser le codage de SIPPOM sans grande difficulté alors que je n'avais jamais codé auparavant. Cependant, ce langage, comme tous les langages haut niveau, a montré des limites en terme de temps de calcul. Le temps d'exécution correspondant aux exemples de simulation présentés dans le chapitre 3 (région de 3 km*3 km, 144 parcelles, 5 ans) est d'environ 8 h (Dell Precision workstation 380, Intel Pentium Core Duo 3 GHz, 2046 MB RAM). Il pourra être utile de traduire l'ensemble du code de SIPPOM en C++ pour améliorer le temps de calcul. Néanmoins, le calcul d'une partie des convolutions a déjà été programmé en C++ (couplage d'un langage haut niveau avec un langage bas niveau pour le module dispersion), le gain ne serait peut être pas significatif par rapport à la version actuelle. Le calcul au début de chaque année des relations (distance et orientation) entre les pixels source et les pixels cible sont assez long et on gagnerait probablement à les traduire en C++ puisque ces calculs sont également des convolutions. Quelle que soit la solution choisie, on pourra également paralléliser les calculs pour gagner en temps d'exécution du modèle (*e.g.* Mathematica Parallel Toolkit[®], Wolfram Research).

3. Représentation de l'évolution de la structure des populations pathogènes

Le modèle créé est capable de simuler l'évolution de la structure des populations pathogènes sous l'effet de plusieurs forces évolutives : la sélection, la migration, la recombinaison et l'effet Allee. Cependant, les simulations ont montré que la version actuelle de SIPPOM ne permet pas de considérer l'impact des valeurs de fréquences très faibles pour le pathotype virulent correspondant à la nouvelle variété résistante introduite. En effet, la note G₂ est surestimée et ne permet pas de différencier des fréquences très faibles de fréquences faibles. L'impact n'est visible que sur la fréquence du pathotype double virulent. L'analyse de sensibilité a montré que le modèle est très sensible aux valeurs de fréquences initiales, mais la gamme de variation testée était très large (de 10⁻⁴ à 0,25) et ne prenait pas en compte des valeurs plus faibles (de l'ordre de 10⁻⁷ comme dans les exemples de simulation). L'analyse de l'évolution de la structure des populations pathogènes selon les stratégies, et la sensibilité de cette structure aux valeurs de fréquence initiale sera donc plus fine quand SIPPOM aura été amélioré, même si la version actuelle permet déjà cette analyse.

Introduire explicitement les mécanismes de mutation dans le modèle demande au préalable de réfléchir aux objectifs d'utilisation. Les mécanismes de mutation conduisant à la virulence chez *L. maculans* sont divers et complexes. De plus, une mutation pourrait avoir un coût pour le champignon qu'il serait nécessaire de prendre en compte, et qui n'est pas le même, pour *L. maculans*, en fonction du gène considéré (la perte de certains gènes d'avirulence peut n'avoir aucun impact pour le champignon, alors que la perte d'autres gènes peut altérer la valeur sélective du pathotype). D'autre part, une mutation est un phénomène aléatoire, ce qui impliquerait que les sorties du modèle soient différentes à chaque simulation. L'analyse des

sorties de SIPPOM nécessiterait de réaliser un grand nombre de simulations pour pouvoir tirer des conclusions. On pourrait aussi envisager un formalisme complètement déterministe pour représenter la mutation, en introduisant la mutation à l'aide de son espérance et de sa variance. Cependant, il n'est pas indispensable d'introduire cette force évolutive dans le modèle pour analyser l'effet des pratiques sur la dynamique de contournement des résistances spécifiques. L'introduction de virulences grâce à l'initialisation des fréquences à des valeurs très faibles (de l'ordre de 10^{-4}) est tout à fait adaptée aux objectifs d'utilisation du modèle.

Compte tenu des connaissances actuelles, il ne nous a pas été possible de formaliser la sélection exercée par les résistances quantitatives puisque nous ne disposons pas des données nécessaires pour proposer, quantifier et évaluer un formalisme de sélection par ces résistances. Dans SIPPOM, toutes les souches sont égales sur la variété partiellement résistante, il ne peut donc pas y avoir érosion de son efficacité au cours du temps. Dès que les connaissances auront progressé sur ce point, il sera important de caractériser les individus par leur niveau d'agressivité sur la variété partiellement résistante afin de pouvoir étudier l'effet des stratégies de gestion simulées sur l'adaptation des populations.

En ce qui concerne la recombinaison, les gènes d'avirulence de *Leptosphaeria maculans* sont organisés en cluster, et des liaisons entre les différents gènes d'avirulence existent. Il serait donc difficile de représenter la recombinaison réelle entre l'ensemble de gènes, mais il était nécessaire de programmer la recombinaison pour analyser son impact sur les contournements. La recombinaison peut être simulée dans le cas de deux gènes (avec prise en compte de la liaison) ou trois gènes, ce qui permet déjà de comparer des stratégies de construction et de déploiement de variétés. Ce module pourrait être complexifié si besoin.

L'effet Allee est apparu comme non significatif dans l'analyse de sensibilité du module génétique. Cependant, il est observé dans les exemples de simulations quand la fréquence initiale des pathotypes simple virulents est plus faible : la fréquence finale du pathotype double virulent est beaucoup plus faible. On peut mettre en cause le formalisme de l'effet Allee dans SIPPOM, trop simple et difficile à paramétrer faute de données disponibles. Une expérimentation est en cours dans l'UMR BiO3P, INRA Rennes (Bousset, non publié) pour étudier la relation entre la taille des populations de *L. maculans* et la transmission de descendants. Si une relation est établie, elle pourra être utilisée pour améliorer le réalisme du formalisme de l'effet Allee dans SIPPOM.

L'effet des bordures sur la structure des populations pathogènes a pu être établi pour certains pathosystèmes (Burdon et Thrall, 2008) : les espèces hôtes sauvages ou repousses de culture contribueraient au maintien de la diversité des populations pathogènes, dans la mesure où des échanges sont possibles entre les populations pathogènes de bordure et les populations pathogènes des parcelles cultivées. Peu de données sont disponibles, mais si cet effet s'avère significatif, la gestion des bordures (fauchage...) pourrait avoir un impact sur l'évolution de la structure des populations pathogènes, et cela pourrait être introduit dans SIPPOM.

4. Stratégies de gestion durable des résistances spécifiques

Même si les exemples de simulation ont montré que le modèle nécessite d'être amélioré, des éléments de réponse concernant les stratégies de contrôle permettant d'augmenter la durabilité des résistances spécifiques ont pu être apportés au cours de ce travail de thèse. Les stratégies visant à limiter la taille des populations pathogènes sur les parcelles où la variété contenant le ou les gènes de résistance spécifique est utilisée, semblent favoriser l'augmentation de la durée d'efficacité du gène de résistance spécifique. L'utilisation de résistances quantitatives semble être efficace et stable¹, et le développement de nouvelles résistances quantitatives, ainsi que la compréhension de leurs mécanismes d'action, semble être un front de recherche intéressant à mener en parallèle avec la recherche de nouveaux gènes de résistance spécifique.

Il serait intéressant de vérifier avec SIPPOM les recommandations habituellement préconisées pour limiter les risques de maladie : un éloignement d'au moins 500 m entre les parcelles de colza deux années successives (Marcroft *et al.*, 2004a), un délai de retour du colza de 4 ans (West *et al.*, 2001) dans le cas où l'on considérerait dans SIPPOM l'inoculum formé sur les résidus âgés de plus d'un an. Enfin, si le formalisme de SIPPOM est amélioré en ce qui concerne l'effet du semis précoce, le modèle pourra être utilisé pour trancher sur l'effet de la date de semis.

D'autres stratégies plus élaborées pourront être testées à l'aide du modèle, associant divers déploiements de variétés sensibles et résistantes (spécifiques ou quantitatives) à plusieurs itinéraires techniques. En particulier, la prochaine étape pourra être d'étudier les stratégies de construction de variétés (pyramidage) et de déploiement de ces variétés dans le parcellaire lorsque deux gènes différents sont disponibles. L'acceptabilité de ces stratégies devra ensuite être discutée avec les agriculteurs, avant leur diffusion.

¹ On rappelle cependant que l'érosion de ces résistances n'est pas représentée dans SIPPOM.

Conclusion et perspectives

Conclusion et perspectives

Ce travail de thèse a abouti à la création de SIPPOM. Le modèle permet de tester des stratégies de contrôle, mais aussi de mettre en évidence des expérimentations nécessaires pour mieux comprendre certains mécanismes du cycle épidémique de la maladie et du développement de la culture de colza, et éventuellement d'améliorer les formalismes, en particulier le mécanisme d'action des résistances quantitatives, la relation entre le nombre de spores, le nombre de macules et la sévérité de la maladie, ou l'estimation du rendement accessible de la culture de colza. Ce travail de thèse a permis d'appréhender les échelles supraparcellaire et pluriannuelle, alors que les échelles de la parcelle et de l'année culturale sont le plus souvent utilisées dans les modèles de culture ou les modèles épidémiologiques. La nécessité d'une gestion de la maladie et des résistances spécifiques à l'échelle régionale a été confirmée. La prise en compte de la récurrence de l'épidémie, et de l'effet de l'ensemble des pratiques culturales sur la sévérité de la maladie est originale. La variabilité des sorties proposées permet d'analyser les stratégies selon plusieurs critères. SIPPOM est donc le premier modèle disponible pour tester des stratégies de production intégrée prenant en compte l'ensemble des méthodes de lutte disponibles, aux échelles régionale et pluriannuelle.

Comme précisé dans le chapitre 3, SIPPOM est difficilement évaluable du fait du nombre de variables d'entrée nécessaires, ainsi que des échelles de temps et d'espace considérées. Cependant, un suivi du contournement est réalisé depuis quelques années dans la région Centre (Penaud *et al.*, 2006). Dans le cadre d'un apprentissage au CETIOM (Marie Boillot, cursus ingénieur, AgrosParisTech, encadrement Xavier Pinochet), un relevé des pratiques culturales a été réalisé depuis 2006 sur une région continue de 4,5 km*4,5 km. Les notes G₂ de certaines parcelles ainsi que des nombres de macules (et parfois leur caractérisation en terme de virulences) ont également été relevés. Ces données vont être utilisées pour évaluer le comportement du modèle dans une situation où l'on dispose de données à une échelle régionale, et sur plusieurs années, en testant plusieurs fréquences initiales de pathotype avrLm7 puisque ces fréquences sont trop faibles pour être mesurées. Par ailleurs, SIPPOM a été pris en main par le CETIOM pour tester des stratégies de contrôle du phoma. La réflexion sur les stratégies innovantes permettant d'augmenter la durabilité des résistances va être poursuivie, et des simulations de ces stratégies avec SIPPOM vont être réalisées.

D'autres méthodes que la modélisation ont été proposées pour la conception de systèmes de culture intégrés. Par exemple, Lançon *et al.* (2007), dans le cas de la culture de coton en Afrique, proposent de réaliser un diagnostic agronomique des contraintes techniques et de milieu de la culture (qui peuvent dépendre de la région), puis de proposer des nouveaux systèmes répondant à ces contraintes. Des indicateurs pertinents sont sélectionnés pour évaluer ces nouveaux systèmes selon les trois piliers de la durabilité (économique, environnemental et social). Enfin, les nouveaux systèmes sont évalués expérimentalement sur plusieurs sites, puis en exploitation agricole. Même si cette approche est intéressante, d'autant plus qu'elle intègre l'ensemble des acteurs de la filière concernée, la conception de systèmes innovants par modélisation est en comparaison beaucoup moins lourde, en particulier en terme d'expérimentation, et permet d'explorer un espace de solutions technique beaucoup plus grand que la seule expérimentation.

L'approche à l'échelle régionale nécessite de mettre en place des stratégies de contrôle collectif d'une maladie. Des exemples de contrôle collectif assisté par des modèles spatiaux ont déjà été présentés, comme le cas de la gestion des repousses de colza OGM à l'échelle régionale avec le modèle GeneSys (Colbach *et al.*, 2001a ; 2001b). SIPPOM pourra être utilisé pour démontrer l'effet bénéfique de stratégies de contrôle collectif d'une maladie. L'échelle de l'exploitation agricole n'a pour le moment pas été intégrée dans le modèle mais pourra être considérée dans le cadre de la mise en place de stratégies de contrôle à l'échelle régionale, en particulier pour les calculs de la sortie économique. Le modèle a été développé en collaboration avec le CETIOM, et sera utilisé pour le conseil. Il n'est donc pas uniquement destiné à la recherche, mais également au développement. En vue de cette utilisation, SIPPOM autorise des sorties graphiques spatialement explicites, telles que la représentation dynamique des flux de spores au cours de l'infection. L'outil devient alors plus démonstratif sur l'effet des pratiques à l'échelle régionale. Il est nécessaire que les stratégies efficaces résultant des simulations soient discutées avec ceux qui seraient susceptibles de les mettre en œuvre et ceux qui les recommanderont, si elles sont réalisables pour les agriculteurs (Gladders *et al.*, 2006). SIPPOM pourrait être utilisé en jeux de rôles, pour définir des stratégies acceptables par différents types d'acteurs : conseillers agricoles, agriculteurs, pouvoirs publics, sélectionneurs (qui pourraient ne pas avoir intérêt à ce que la durabilité des résistances spécifique soit augmentée, puisque les nouvelles variétés résistantes seraient moins facilement commercialisables, Comm. Pers. Coleno). On peut aussi imaginer que des associations de défense de l'environnement (qui vont vouloir réduire l'utilisation des pesticides) puissent participer aux débats. Les coopératives également ont un rôle central, puisqu'elles pourraient établir dans les cahiers des charges une réglementation sur la proximité de parcelles de colza (donc avoir un impact direct sur la répartition des parcelles de colza dans le paysage), ou imposer une certaine proportion de variétés dans une région donnée. Ces différents types d'acteurs devront discuter entre eux pour s'accorder sur les stratégies acceptables par tous, et SIPPOM peut être un outil important et démonstratif dans ce type de discussions.

La problématique de recherche qui consiste à construire un outil permettant d'étudier des systèmes de culture intégrés à des échelles régionale et pluriannuelle s'applique à d'autres pathosystèmes et d'autres couples hôtes-agresseurs, et la mise au point de stratégies intégrant la maîtrise de la durabilité des résistances est commune à de nombreux pathosystèmes. Le phoma du colza est un pathosystème assez bien connu et qui a ainsi pu être utilisé pour étudier la meilleure façon de combiner des méthodes de lutte afin de concevoir et d'évaluer des stratégies de contrôle d'un bioagresseur. SIPPOM a donc été construit pour ce pathosystème. Cependant, au cours de la réflexion sur sa structure et au cours de la programmation, la généricité de l'approche a été prise en compte. Une maladie peut être en générale décomposée en différentes étapes, comme c'est le cas dans SIPPOM : production d'inoculum primaire, dispersion, efficacité d'infection (qui inclue la compatibilité génétique et l'état du peuplement), et récurrence d'une année à l'autre. Le modèle devrait pouvoir être adapté à d'autres pathosystèmes, il est d'ailleurs en cours d'adaptation pour le mildiou de la pomme de terre (*Phytophthora infestans* ; stage de master de recherche, UMR AGIR, INRA Toulouse). Une autre approche de la modélisation de la durabilité des résistances pour cette maladie est

développée dans le cadre d'une thèse débutée en janvier 2008 (Julie Clément, UMR Bio3P, INRA Rennes, encadrement Didier Andrivon), et ces approches pourront être comparées. On peut noter aussi la nécessité d'une approche pluridisciplinaire pour la conception de tels modèles. Plusieurs disciplines sont mobilisées pour la conception (agronomie, pathologie végétale, épidémiologie végétale, génétique des populations, biométrie), ou concernées indirectement dans l'utilisation du modèle (amélioration des plantes, économie...).

Plus généralement, la nécessité de discuter de stratégies de lutte à l'échelle du paysage implique qu'il faudrait tenir compte aussi des autres bioagresseurs de la culture de colza, et des autres cultures en place dans la région. SIPPOM pourrait être adapté pour simuler des profils de bioagresseurs, même si encore peu de données sont disponibles concernant les interactions entre populations de bioagresseurs, ou les dommages engendrés par des profils de dégâts. Par ailleurs, la prise en compte de l'effet des bordures de champ sur la dynamique des populations est encore peu exploitée pour le cas des populations pathogènes (Burdon et Thrall, 2008), mais pourrait également être envisagée dans SIPPOM. En effet, dans le cadre de la production intégrée, la gestion des bioagresseurs implique l'agro-écosystème dans son ensemble, comprenant les parcelles et leurs bordures. Les modèles deviennent alors un outil indispensable pour la conception de systèmes de culture, mais d'autant plus difficiles à développer et à paramétrer. Cependant, disposer d'un modèle tel que SIPPOM sur plusieurs bioagresseurs et plusieurs cultures et les utiliser simultanément pour simuler les stratégies globalement efficaces pour des SDC à l'échelle régionale est une perspective à très long terme. Elle nécessitera de développer des approches de modélisation novatrices, certainement issues de l'interaction entre plusieurs champs disciplinaires (*e.g.* écologie, science des systèmes complexes).

Enfin, dans le cadre du projet ANR CEDRE, une version simplifiée de SIPPOM (regroupant les parties production d'inoculum, dispersion, infection et récurrence de l'épidémie) a été utilisée (unité de Biométrie et Intelligence Artificielle et UMR AGIR, INRA Toulouse ; Peyrard *et al.*, 2007) pour créer un nouveau modèle d'optimisation des règles de décision basée sur les processus décisionnels de Markov sur graphe. Les variables d'état considérées sont l'espèce présente sur chaque parcelle, la note G_2 et la fréquence de pathotype virulent, les actions possibles sont le choix variétal pour les parcelles de colza et le travail du sol. L'optimisation est basée sur la marge brute pour les agriculteurs. Ce modèle est en cours de développement pour un parcellaire de 50 parcelles.

Ainsi, le modèle développé au cours de ce travail de thèse a déjà été repris par des équipes de recherche et par le CETIOM, et est susceptible d'être adapté pour diverses utilisations complémentaires, tant pour la recherche que pour le développement, comme outil de négociation auprès des différents acteurs concernés.

Références

Références

- ADEME, AGPB, AGPM, CETIOM, CGB, groupe PLANETE, INRA, ITB, ITCF, Ministère de l'Agriculture, Ministère de l'Industrie, ONIDOL, SOFTDEAL, 1999. Référentiel pour le calcul des bilans énergétiques.
- Allee, W.C., 1931. Animal aggregations, a study in general sociology. The University of Chicago Press, Illinois.
- Arrouays, D., Balesdent, J., Germon, J.C., Jayet, P.A., Soussana, J.F., Stengel, P., 2002. Contribution à la lutte contre l'effet de serre: stocker du carbone dans les sols agricoles de France ? Rapport d'expertise scientifique collective INRA.
- Aubertot, J.N., Pinochet, X., Doré, T., 2004a. The effects of sowing date and nitrogen availability during vegetative stages on *Leptosphaeria maculans* development on winter oilseed rape. Crop Protection 23, 635-645.
- Aubertot, J.N., Schott, J.J., Penaud, A., Brun, H., Doré, T., 2004b. Methods for sampling and assessment in relation to the spatial pattern of phoma stem canker (*Leptosphaeria maculans*) in oilseed rape. European Journal of Plant Pathology 110, 183-192.
- Aubertot, J.N., Pinochet, X., Reau, R., Doré, T., 2004c. SimCanker: a simulation model for containing phoma stem canker of oilseed rape through cultural practices. Proceedings of the 4th international crop science congress. Brisbane, Australia.
- Aubertot, J.N., Barbier, J.M., Carpentier, A., Gril, J.J., Guichard, L., Lucas, P., Savary, S., Savini, I., Voltz, M., 2005. Pesticides, agriculture et environnement. Réduire l'utilisation des pesticides et limiter leurs impacts environnementaux. Rapport d'expertise scientifique collective, INRA et CEMAGREF.
- Aubertot, J.N., West, J.S., Bousset-Vaslin, L., Salam, M.U., Barbetti, M.J., Diggle, A.J., 2006a. Improved resistance management for durable disease control: A case study of phoma stem canker of oilseed rape (*Brassica napus*). European Journal of Plant Pathology 114, 91-106.
- Aubertot, J.N., Colbach, N., Félix, I., Munier-Jolain, N., Roger-Estrade, J., 2006b. La composante biologique. In Doré, T., Le Bail, M., Martin, P., Ney, B. and Roger-Estrade, J. (Eds), L'agronomie aujourd'hui. Synthèses, Editions Quae, Versailles, pp.199-224.
- Aubertot, J.N., Salam, M.U., Diggle, A.J., Dakowska, S., Jedryczka, M., 2006c. SimMat, a new dynamic module of blackleg sporacle for the prediction of pseudothecial maturation of *L. maculans*/*L. biglobosa* species complex. Parameterisation and evaluation under Polish conditions. Integrated control in oilseed crops, IOBC/wprs Bulletin 29, 277-285.
- Baird, R.E., Phillips, D.V., Mullinix, B.G., Alt, P.J., 1999. Relative longevity of *Leptosphaeria maculans* and associated mycobiota on canola debris. Phytoprotection 80, 1-11.
- Balesdent, M.H., Louvard, K., Pinochet, X., Rouxel, T., 2006. A large-scale survey of races of *Leptosphaeria maculans* occurring in oilseed rape in France. European Journal of Plant Pathology 114, 53-65.
- Balesdent, M.H., Rouxel, T., Gout, L., Fudal, I., Parlange, F., 2008. Les gènes d'avirulence de *L. maculans*: diversité des mécanismes conduisant de l'état d'avirulent à celui de virulent. Carrefour Colza, Nantes, France.
- Barbetti, M.J., 1978. Infection of oilseed rape and cruciferous weeds with *Leptosphaeria maculans* isolates from oilseed rape and wild radish. Australian Plant Pathology Society Newsletter 7, 3-5.
- Bayles, R.A., Flath, K., Hovmøller, M.S., Vallavieille-Pope, C., 2000. Breakdown of the Yr17 resistance to yellow rust of wheat in northern Europe. Agronomie 20, 805-811.
- Bedos, C., Rousseau-Djabri, M.F., Gabrielle, B., Flura, D., Durand, B., Barriuso, E., Cellier, P., 2006. Measurement of trifluralin volatilization in the field: Relation to soil residu and effect of soil incorporation. Environmental Pollution 144, 958-966.

- Belhaj Fraj, M., 2003. Evaluation de la stabilité et de la faisabilité des associations variétales de blé tendre d'hiver à destination meunière en conditions agricoles: application aux conditions de culture du nord de la France. Mémoire de thèse, ENSAR, Rennes, France.
- Bernard, C., Maisonneuve, C., Poisson, B., Pérès, A., Penaud, A., Pilorgé-Putte, B.V., 1999. *Leptosphaeria maculans* (*Phoma lingam*): first results of development of a forecasting climatological system. Proceedings of the 10th International Rapeseed Congress. Canberra, Australia.
- Biddulph, J.E., Fitt, B.D.L., Leech, P.K., Welham, S.J., Gladders, P., 1999. Effects of temperature and wetness duration on infection of oilseed rape leaves by ascospores of *Leptosphaeria maculans* (stem canker). European Journal of Plant Pathology 105, 769-781.
- Bockstaller, C., Galan, M.B., Capitaine, M., Colomb, B., Mousset, J., Viaux, P., 2008. Comment évaluer la durabilité des systèmes en production végétale. In Reau, R. and Doré, T. (Eds), Systèmes de culture innovants et durables: quelles méthodes pour les mettre au point et les évaluer. Educagri, Paris, pp 29-51.
- Brisson, N., Gary, C., Juste, E., Roche, R., Mary, B., Ripoche, D., Zimmer, D., Sierra, J., Bertuzzi, P., Burger, P., Bussiere, F., Cabidoche, Y.M., Cellier, P., Debaeke, P., Gaudillere, J.P., Henault, C., Maraux, F., Seguin, B., Sinoquet, H., 2003. An overview of the crop model STICS. European Journal of Agronomy 18, 309-332.
- Brown, J.K.M., 1995. Recombination and selection in populations of plant pathogens. Plant Pathology 44, 279-293.
- Brun, H., Ruer, D., Levivier, S., Somda, I., chèvre, A.M., Renard, M., 2001. Presence in *Leptosphaeria maculans* populations of isolates virulent on resistance introgressed into *Brassica napus* from *B. nigra* B. genome. Plant Pathology 50, 69-74.
- Brunin, B., Lacoste, L., 1970. Recherches sur la maladie du colza due à *Leptosphaeria maculans* (Desm.) Ces. et de Not., II: pouvoir pathogène des ascospores. Annals of Phytopathology 2, 477-488.
- Burdon, J.J., Thrall, P.H., 2008. Pathogen evolution accross the agro-ecological interface: implications for disease management. Evolutionary Applications, Blackwell Publishing Ltd 1, 57-65.
- Cade, B.S., Guo, Q., 2000. Estimating effects of constraints on plant performance with regression quantiles. OIKOS 91, 245-254.
- Cerda, H., Wright, D.J., 2004. Modeling the spatial and temporal location of refugia to manage resistance in *Bt* transgenics crops. Agriculture, Ecosystems and Environment 102, 163-174.
- CETIOM, 2001. Le colza dans les systèmes de culture. Oleoscope 62, 9-24.
- Chakraborty, B.N., Chakraborty, U., Basu, K., 1994. Antagonism of *Erwinia herbicola* towards *Leptosphaeria maculans* causing blackleg disease of *Brassica napus*. Letters in Applied Microbiology 18, 74-76.
- Champeaux, C., 2006. Recours à l'utilisation de pesticides en grandes cultures: évolution de l'indicateurs de fréquence de traitements au travers des enquêtes « pratiques culturales » du SCEES entre 1994 et 2001. Rapport INRA-Ministère de l'agriculture et de la pêche.
- Colbach, N., Lucas, P., Cavelier, N., 1994. Influence des successions culturales sur les maladies du pied et des racines du blé d'hiver. Agronomie 14, 525-540.
- Colbach, N., Clermont-Dauphin, C., Meynard, J., 2001a. GENESYS: a model of the influence of cropping system on gene escape from herbicide tolerant rapeseed crops to rape volunteers. I. Temporal evolution of a population of rapeseed volunteers in a field. Agriculture, Ecosystems and Environment 83, 235-253.
- Colbach, N., Clermont-Dauphin, C., Meynard, J., 2001b. GENESYS: a model of the influence of cropping system on gene escape from herbicide tolerant rapeseed crops to rape volunteers. II. Genetic exchanges among volunteer and cropped populations in a small region. Agriculture, Ecosystems and Environment 83, 255-270.

- Colbach, N., Molinari, N., Clermont-Dauphin, C., 2004. Sensitivity analyses for a model simulating demography and genotype evolution with time application to GENESYS modelling gene flow between rape seed varieties and volunteers. *Ecological Modelling* 179, 91-113.
- Connel, D.W., 2005. Basic concepts of environmental chemistry. CRC Press Inc.; Boca Raton; USA.
- Crosetto, M., Tarantola, S., Saltelli, A., 2000. Sensitivity and uncertainty analysis in spatial modelling based on GIS. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 81, 71-79.
- Darwin, c., Wallace, A.R., 1858. On the tendency of species to form varieties, and on the perpetuation of varieties by natural means of selection. *Journal of Proceedings of the Linnean Society of London (Zoology)* 3, 1-62.
- David, C., Jeuffroy, M.H., Laurent, F., Mangin, M., Meynard, J.M., 2005. The assessment of Azodyn-Org model for managing nitrogen fertilization of organic winter wheat. *European Journal of Agronomy* 23, 225-242.
- Dejoux, J.F., 1999. Evaluation d'itinéraires techniques du colza d'hiver en semis très précoces. Analyse agronomique, conséquences environnementales et économiques. Mémoire de thèse, INA P-G, Paris, France.
- Dejoux, J.F., Meynard, J.M., Reau, R., Roche, R., Saulas, P., 2003. Evaluation of environmentally-friendly crop managements systems based on very early sowing dates for winter oilseed rape in France. *Agronomie* 23, 725-736.
- Delourme, R., Chèvre, A.M., Brun, H., Rouxel, T., Balesdent, M.H., Dias, J.S., Salisbury, P.A., Renard, M., Rimmer, S.R., 2006. Major gene and polygenic resistance to *Leptosphaeria maculans* in oilseed rape (*Brassica napus*). *European Journal of Plant Pathology* 114, 41-52.
- Diggle, A.J., Salam, M.U., Thomas, G.J., Yang, H.A., O'Connell, M., Sweetingham, M.W., 2002. AnthracnoseTracer: a spatiotemporal model for simulating the spread of anthracnose in a lupin field. *Phytopathology* 92, 1110-1121.
- Doré, T., Sebillotte, M., Meynard, J.M., 1997. A diagnostic method for assessing regional variations in crop yield. *Agricultural Systems* 54, 169-188.
- Ferron, P., Deguine, J.P., 2005. Vers une conception agroécologique de la protection des cultures. In Regnault-Roger, C. (Ed), *Enjeux phytosanitaires pour l'agriculture et l'environnement*. Lavoisier Tec. And Doc., Paris, pp 347-366.
- Finckh, M.R., Wolfe, M.S., 1998. Diversification strategies. In Jones, D.G. (Ed), *The epidemiology of plant diseases*. Kluwer Publishers, Dordrecht, pp 231-259.
- Fitt, B.D.L., Brun, H., Barbetti, M.J., Rimmer, S.R., 2006. World-wide importance of phoma stem canker (*Leptosphaeria maculans* and *L. biglobosa*) on oilseed rape (*Brassica napus*). *European Journal of Plant Pathology* 114, 3-15.
- Flor, H.H., 1955. Host-parasite interaction in flax rust-Its genetic and other implications. *Phytopathology* 45, 680-685.
- Flor, H.H., 1971. Current status of the gene-for-gene concept. *Annual Review of Phytopathology* 9, 275-296.
- Forster, G.A., Gilligan, C.A., 2007. Optimizing the control of disease infestation at the landscape scale. *PNAS* 104, 4984-4989.
- Gabrielle, B., Denoroy, P., Gosse, G., Justes, E., Andersen, M.N., 1998a. A model of leaf area development and senescence for winter oilseed rape. *Field Crops Research* 57, 209-222.
- Gabrielle, B., Denoroy, P., Gosse, G., Justes, E., Andersen, M.N., 1998b. Development and evaluation of a CERES-type model for winter oilseed rape. *Field Crops Research* 57, 95-111.

- Gabrielle, B., 2006. Sensitivity and uncertainty analysis of a static denitrification model. In Wallach, D., Makowski, D. and Jones, J.W. (Eds), Working with dynamic crop models. Elsevier, Amsterdam, pp 359-366.
- Gardner, J., Hoffmann, M.P., Cheever, S.A., Seaman, A.J., Westgate, P., Hazzard, R.V., 2007. Large-scale releases of *Trichogramma ostrinae* to suppress *Ostrinia nubilalis* in commercially grown processing and fresh market sweet corn. *Journal of Applied Entomology* 131, 432-440.
- Garrett, K.A., Bowden, R.L., 2002. An Allee effect reduces the invasive potential of *Tilletia indica*. *Phytopathology* 92, 1152-1159.
- Gladders, P., Musa, T.M., 1980. Observations on the epidemiology of *Leptosphaeria maculans* stem canker in winter oilseed rape. *Plant Pathology* 29, 28-37.
- Gladders, P., Evans, N., Marcroft, S.J., Pinochet, X., 2006. Dissemination of informations about management strategies and changes in farming practices for the exploitation of resistances to *Leptosphaeria maculans* (phoma stem canker) in oilseed rape cultivars. *European Journal of Plant Pathology* 114, 117-126.
- Gosende, S., Penaud, A., Aubertot, J.N., Schneider, O., Pinochet, X., 2003. Evolution of soil surface oilseed rape residues and their ability to produce spores of *Leptosphaeria maculans*: preliminary results. Proceeding of the 11th International Rapeseed Congress. Copenhagen, Denmark.
- Gout, L., Kuhn, M.L., Vincenot, L., Bernard-Samin, S., Cattolico, L., Barbetti, M.J., Moreno-Rico, O., Balesdent, M.H., Rouxel, T., 2007. Genome structure impacts molecular evolution at the AvrLm1 avirulence locus of the plant pathogen *Leptosphaeria maculans*. *Environmental Microbiology* 9, 2978-2992.
- Guo, X.W., Fernando, W.G.D., 2005. Seasonal and diurnal patterns of spore dispersal by *Leptosphaeria maculans* from canola stubble in relation to environmental conditions. *Plant Disease* 89, 97-104.
- Hall, R., 1992. Epidemiology of blackleg of oilseed rape. *Canadian Journal of Plant Pathology* 14, 46-55.
- Harper, F.R., Berkenkamp, B., 1975. Revised growth-stage key for *Brassica campestris* and *B. napus*. *Canadian Journal of Plant Sciences* 55, 657-658.
- Henry, J.P., Gouyon, P.H., 1999. Précis de génétique des populations. Dunod, Paris.
- Holt, J., Chancellor, T.C.B., 1999. Modelling the spatio-temporal deployment of resistant varieties to reduce the incidence of rice tungro disease in a dynamic cropping system. *Plant Pathology* 48, 453-461.
- Hovmøller, M.S., Østergård, H., Munk, L., 1997. Modelling virulence dynamics of airborne plant pathogens in relation to selection by host resistance in agricultural crop. In Crute, I.R., Burdon, J.J. and Holub, E.B. (Eds), The gene-for-gene relationship in host-parasite interactions. CAB international, Oxon, 173-190.
- Howlett, B.J., 2004. Current knowledge of the interaction between *Brassica napus* and *Leptosphaeria maculans*. *Canadian Journal of Plant Pathology*. 26, 245-252.
- Huang, Y.J., Fitt, B.D.L., Hall, A.M., 2003. Survival of A-group and B-group *Leptosphaeria maculans* (Phoma stem canker) ascospores in air and mycelium on oilseed rape debris. *Association of Applied Biology* 143, 359-369.
- Huang, Y.J., Fitt, B.D.L., Jedryczka, M., Dakowska, S., West, J.S., Gladders, P., Steed, J.M., Li, Z.Q., 2005. Patterns of ascospores release in relation to phoma stem canker epidemiology in England (*Leptosphaeria maculans*) and Poland (*Leptosphaeria biglobosa*). *European Journal of Plant Pathology* 111, 263-277.

- Huang, Y.J., Li, Z.Q., Evans, N., Rouxel, T., Fitt, B.D.L., Balesdent, M.H., 2006. Fitness cost associated with loss of the AvrLm4 avirulence function in *Leptosphaeria maculans* (phoma stem canker of oilseed rape). *European Journal of Plant Pathology* 114, 77-89.
- Huang, S., Pirie, E., Delourme, R., King, G.J., Fitt, B.D.L., 2007a. Understanding symptomless growth of *Leptosphaeria maculans* in *Brassica napus* (oilseed rape) to manage phoma stem canker. *Proceedings of the 12th International Rapeseed Congress*. Wuhan, China.
- Huang, Y.J., Liu, Z., West, J.S., Todd, A.D., Hall, A.M., Fitt, B.D.L., 2007b. Effects of temperature and rainfall on date of release of ascospores of *Leptosphaeria maculans* (phoma stem canker) from winter oilseed rape (*Brassica napus*) debris in the UK. *Annals of Applied Biology* 151, 99-111.
- Hysek, J., Vach, M., Brozova, J., Civinova, M., Nedelnik, J., Hruby, J., 2002. The influence of the application of mineral fertilizers with the biopreparation supresivit (*Trichoderma harzianum*) on the health and the yield of different crops. *Archives of Phytopathology and Plant Protection* 35, 115-124.
- IFEN, 2004. L'état des eaux souterraines en France: Aspects quantitatifs et qualitatifs. *Etudes et Travaux IFEN* 43.
- IFEN, 2007. Les pesticides dans les eaux. Données 2005. Les dossiers IFEN 9.
- Jeuffroy, M.H., Recous, S., 1999. Azodyn: a simple model simulating the date of nitrogen deficiency for decision support in wheat fertilization. *European Journal of Agronomy* 10, 129-144.
- Jeuffroy, M.H., Valantin-Morison, M., Saulas, L., Champolivier, L., 2003. Azodyn-Rape: a simple model for decision support in rapeseed nitrogen fertilisation. *Proceedings of the 11th International Rapeseed Congress*, Copenhagen, Denmark.
- Jeuffroy, M.H., Bergez, J.E., David, C., Flénet, F., Gate, P., Loyce, C., Maupas, F., Meynard, J.M., Reau, R., Surleau-Chambenoit, C., 2008. Utilisation des modèles pour l'aide à la conception et à l'évaluation d'innovations techniques en production végétale: bilan et perspectives. In Reau, R. and Doré, T. (Eds), *Systèmes de culture innovants et durables: quelles méthodes pour les mettre au point et les évaluer*. Educagri, Paris, pp 109-128.
- Johnson, R., 1981. Durable resistance: definition of, genetic control, and attainment in plant breeding. *Phytopathology* 71, 567-568.
- Johnson, R., 1984. A critical analysis of durable resistance. *Annual Review of Phytopathology* 22, 309-330.
- Khangura, R., Speijers, J., Barbetti, M.J., Salam, M.U., Diggle, A.J., 2007. Epidemiology of Blackleg (*Leptosphaeria maculans*) of Canola (*Brassica napus*) in relation to maturation of pseudothecia and discharge of ascospores in Western Australia. *Phytopathology* 97, 1011-1021.
- Kharbanda, P.D., Yang, J., Beatty, P., Jensen, S., Tewari, J.P., 1999. Biocontrol of *Leptosphaeria maculans* and other pathogens of canola with *Paenibacillus polymyxa* PKB1. *Proceedings of the 10th International Rapeseed Congress*. Canberra, Australia.
- Kirkegaard, J.A., Sarwar, M., 1999. Glucosinolate profiles of Australian canola (*Brassica napus annua* L.) and Indian mustard (*Brassica juncea* L.) cultivars: implications for biofumigation. *Australian Journal of Agricultural Research* 50, 315-324.
- Kiyosawa, S., 1982. Genetics and epidemiological modeling of breakdown of plant disease resistance. *Annual Review of Phytopathology* 20, 93-117.
- Lançon, J., Wery, J., Rapidel, B., Angokaye, M., Gérardaux, E., Gaborel, C., Ballo, D., Fadenon, B., 2007. An improved methodology for integrated crop management systems. *Agronomy for Sustainable Development* 27, 101-110.
- Lannou, C., Mundt, C.C., 1997. Evolution of a pathogen population in host mixtures: rate of emergence of complex races. *Theoretical Applied Genetics* 94, 991-999.
- Laxminarayan, R., Simpson, R.D., 2002. Refuge strategies for managing pest resistance in transgenic agriculture. *Environmental and Resource Economics* 22, 521-536.

- Leonard, K.J., 1969. Factors affecting rates of stem rust increase in mixed planting of susceptible and resistant oat varieties. *Phytopathology* 59, 1845-1850.
- Leonard, K.J., 1993. Stability of equilibria in a gene-for-gene coevolution model of host-parasite interactions. *Phytopathology* 84, 70-77.
- Li, H., Sivasithamparam, K., Barbetti, M.J., 2006. Evidence supporting the polycyclic nature of blackleg disease (*Leptosphaeria maculans*) of oilseed rape in Australia, and implications for disease management. *Brassica* 8, 65-69.
- Limaux, F., 1999. Modélisation des besoins du blé en azote, de la fourniture du sol et de l'utilisation de l'engrais. Application au raisonnement de la fertilisation en Lorraine. Mémoire de thèse, Institut National Polytechnique de Lorraine, France.
- Lô-Pelzer, E., Aubertot, J.N., Bousset, L., Jeuffroy, M.H., Salam, M.U., 2007. Modelling for durable resistance of canola to blackleg: combining management strategies for a collective disease control at a regional scale. Proceedings of the APS-SON Joint Meeting. San Diego, USA.
- Lô-Pelzer, E., Aubertot, J.N., David, O., Jeuffroy, M.H., Bousset, L., 2008a. Relationship between the severity of blackleg (*Leptosphaeria maculans*/L *biglobosa* species complex) and subsequent primary inoculum production on oilseed rape stubble. *Plant Pathology* In press.
- Lô-Pelzer, E., Aubertot, J.N., Bousset, L., Pinochet, X., Jeuffroy, M.H., 2008b. Phoma stem canker (*Leptosphaeria maculans*/L *Biglobosa*) of oilseed rape (*Brassica napus*): is the G₂ Disease Index a good indicator of the distribution of the observed canker severities? *European Journal of Plant Pathology*, Submitted.
- Lô-Pelzer, E., Bousset, L., Jeuffroy, M.H., Salam, M.U., Aubertot, J.N., 2008c. SIPPOM-WOSR: a Simulator for Integrated Pathogen POPulation Management applied to study blackleg on Winter OilSeed Rape. *Field Crops Research*, Submitted.
- Machet, J.M., Dubrulle, P., Louis, P., 1990. AZOBIL. First congress of the European Society of Agronomy, Paris, France.
- Makowski, D., Maltas, A., Morison, M., Reau, R., 2005. Calculating N fertilizer doses for oil-seed rape using plant and soil data. *Agronomy for Sustainable Development* 25, 159-161.
- Makowski, D., Naud, C., Jeuffroy, M.H., Barbottin, A., Monod, H., 2006. Global sensitivity analysis for calculating the contribution of genetic parameters to the variance of crop model prediction. *Reliability Engineering and System Safety* 91, 1142-1147.
- Makowski, D., Doré, T., Monod, H., 2007. A new method to analyse relationships between yield components with boundary lines. *Agronomy for Sustainable Development* 27, 119-128.
- Marcroft, S.J., Sprague, S.J., Pymer, S.J., Salisbury, P.A., Howlett, B.J., 2003. Factors affecting production of inoculum of the blackleg fungus (*Leptosphaeria maculans*) in south-eastern Australia. *Australian Journal of Experimental Agriculture* 43, 1231-1236.
- Marcroft, S.J., Sprague, S.J., Pymer, S.J., Salisbury, P.A., Howlett, B.J., 2004a. Crop isolation, not extended rotation length, reduces blackleg (*Leptosphaeria maculans*) severity of canola (*Brassica napus*) in south-eastern Australia. *Australian Journal of Experimental Agriculture* 44, 601-606.
- Marcroft, S.J., Sprague, S.J., Salisbury, P.A., Howlett, B.J., 2004b. Potential for using host resistance to reduce production of pseudothecia and ascospores of *Leptosphaeria maculans*, the blackleg pathogen of *Brassica napus*. *Plant Pathology* 53, 468-474.
- Marquard, R., Walker, K.C., 1995. Environmental impact of rapeseed production. In production and utilization of *Brassica* oilseeds. In Kimber, D.S. and McGregor, D.I. (Eds), Production and utilization of *Brassica* oilseeds. CAB International, Oxford, 195-213.
- Matasci, C.L., Gobbin, D., Scharer, H.J., Tamm, L., Gessler, C., 2008. Selection for fungicide resistance throughout a growing season in populations of *Plasmopara viticola*. *European Journal of Plant Pathology* 120, 79-83.

- McCartney, H.A., Fitt, B.D.L., 1998. Dispersal of foliar fungal plant pathogens: mechanisms, gradients and spatial patterns. In Gareth Jones, D. (Ed), The epidemiology of plant diseases. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, pp 138-160.
- McDonald, B.A., Linde, C., 2002. Pathogen population genetics, evolutionary potential, durable resistance. Annual Review of Phytopathology 40, 349-379.
- McGee, D.C., 1973. How to assess the severity of blackleg disease and predict yeild. Journal of Agriculture, Victoria 71, 241-242.
- McGee, D.C., 1977. Black leg (*Leptosphaeria maculans* (Desm.) Ces. et de Not.) of rapeseed in Victoria: sources of infection and relationships between inoculum, environmental factors and disease severity. Australian Journal of Agricultural Research 28, 53-62.
- McGee, D.C., Emmet, R.W., 1977. Black leg (*Leptosphaeria maculans* (Desm.) Ces. et de Not.) of rapeseed in Victoria: crop losses and factors which affect disease severity. Australian Journal of Agricultural Research 28, 47-51.
- McGee, D.C., Petrie, G.A., 1979. Seasonal patterns of ascospores discharge by *Leptosphaeria maculans* in relation to blackleg of oilseed rape. Phytopathology 69, 586-589.
- Ministère de l'écologie, du développement et de l'aménagement durables, 2007. Le Grenelle de l'environnement. Document récapitulatif des tables rondes tenues à l'hotel de Roquelaure les 24, 25 et 26 Octobre 2007. <http://www.legrenelle-environnement.fr/grenelle-environnement/>.
- Monod, H., Naud, C., Makowski, D., 2006. Uncertainty and sensitivity analysis for crop models. In Wallach, D., Makowski, D. and Jones, J.W. (Eds), Working with dynamic crop models. Elsevier, Amsterdam, pp 55-99.
- Mundt, C.C., Cowger, C., Garrett, K.A., 2002. Relevance of integrated disease management to resistance durability. Euphytica 124, 245-252.
- O'Hagan, A., 2006. Bayesian analysis of computer code outputs: a tutorial. Reliability Engineering and System Safety 91, 1290-1300.
- OILB-SROP, 1973. Statuts. Srop 1, 25p.
- Palti, J., 1981. Cultural practices and infectious crop diseases. Berlin, Springer-Verlag.
- Panneton, B., Vincent, C., Fleurat-Lessard, F., 2000. La lutte physique en phytoprotection. INRA Editions, Versailles, France.
- Parlange, F., 2006. Analyse de l'environnement et clonage du gène *AvrLm4-7* chez l'ascomycète *Leptosphaeria maculans*. Mémoire de thèse, Université Paris XI, France.
- Penaud, A., Bernard, C., Maisonneuve, C., Pérès, A., Pilorgé, E., 1999. Decision rules for a chemical control of *Leptosphaeria maculans*. Proceeding of the 10th international rapeseed congress, Canberra, Australia.
- Penaud, A., Mestries, E., Sauzet, G., Pinochet, X., 2006. Controlling the deployment of a new specific resistance Rlm7 to *Leptosphaeria maculans* in a small production area, in the centre of France. Bulletin OILB/SROP 29, 301-306.
- Pérès, A., Poisson, B., Le Sourne, V., Maisonneuve, C., 1999. *Leptosphaeria maculans*: effect of temperature, rainfall and humidity on the formation of pseudothecia. Proceedings of the 10th International Rapeseed Congress. Canberra, Australia.
- Petrie, G.A., Vanterpool, T.C., 1965. Diseases of rape and cruciferous weeds in Saskatchewan in 1965. Canadian Plant Disease Survey 45, 111-112.
- Petrie, G.A., 1995. Long-term survival and sporulation of *Leptosphaeria maculans* (blackleg) on naturally-infected rapeseed/canola stubble in Saskatchewan. Canadian plant disease survey 75, 23-34.

- Peyrard, N., Sabbadin R, Lô-Pelzer, E., Aubertot, J.N., 2007. A Graph-based Markov Decision Process framework for Optimising Collective Management of Diseases in Agriculture: Application to Blackleg on Canola. Proceedings of the 17th International Congress on Modelling and Simulation (MODSIM'07), Christchurch, New-Zealand.
- Pierre, J.G., Regnault, Y., 1982. Contribution à la mise au point d'une méthode de plein champ destinée à mesurer la sensibilité des variétés de colza au phoma. Informations Techniques CETIOM 81, 3-18.
- Pietravalle, S., Lemarié, S., Van den Bosch, F., 2006. Durability of resistance and cost of virulence. European Journal of Plant Pathology 114, 107-116.
- Pilet, M.L., Delourme, R., Foisset, N., Renard, M., 1998. Identification of loci contributing to quantitative field resistance to blackleg disease, causal agent *Leptosphaeria maculans* (Desm.) Ces. Et de Not., in winter rapeseed (*Brassica napus* L.). Theoretical and Applied Genetics 96, 23-30.
- Pinochet, X., Balesdent, M.H., Salvi, F., Mestries, E., Rouxel, T., 2004. Identification of specific plant resistance factors to Phoma (*Leptosphaeria maculans*) among winter oilseed rape varieties: interest for variety testing and for the promotion of a first step of a durable management of resistances. Bulletin OILB 27, 101-108.
- Poisson, B., Pérès, A., 1999a. Studies related to maturation of *Leptosphaeria maculans* pseudothecia on rapeseed stubbles infected by stem canker. Proceedings of the 10th International Rapeseed Congress. Canberra, Australia.
- Poisson, B., Pérès, A., 1999b. Study of rapeseed susceptibility to primary contamination of *Leptosphaeria maculans* in relation to the plant vegetative stage. Proceedings of the 10th International Rapeseed Congress. Canberra, Australia.
- Reau, R., Wagner, D., 1998. Les préconisations du CETIOM. Oléoscope 48, 10-13.
- Reau, R., Bodet, J.M., Bordes, J.P., Doré, T., Ennaifar, S., Moussart, A., Nicolardot, B., Pellerin, S., Plenchette, C., Quinsac, A., Sausse, C., Seguin, B., Tivoli, B., 2005. Effets allélopathiques des brassicacées via leurs actions sur les agents pathogènes telluriques et les mycorhizes: analyse bibliographique. Partie 1. OCL 12, 261-271.
- Reau, R., Doré, T., 2008. Systèmes de culture innovants et durables: quelles méthodes pour les mettre au point et les évaluer. Educagri Editions, Paris.
- Rempel, C.B., Hall, R., 1996. Comparison of disease measures for assessing resistance in canola (*Brassica napus*) to blackleg (*Leptosphaeria maculans*). Canadian Journal of Botany 74, 1930-1936.
- Richter, O., Zwerger, P., Böttcher, U., 2002. Modelling spatio-temporal dynamics of herbicide resistance. Weed Research 42, 52-64.
- Roux, F., Paris, M., Reboud, X., 2008. Delaying weed adaptation to herbicide by environmental heterogeneity: a simulation approach. Pest Management Science 64, 16-29.
- Rouxel, T., Penaud, A., Pinochet, X., Brun, H., Gout, L., Delourme, R., Schmit, J., Balesdent, M.H., 2003. A 10-year survey of populations of *Leptosphaeria maculans* in France indicates a rapid adaptation towards the *Rlm1* resistance gene of oilseed rape. European Journal of Plant Pathology 109, 871-881.
- Ruget, F., Brisson, N., Delécolle, R., Faivre, R., 2002. Sensitivity analysis of a crop simulation model, STICS, in order to choose the main parameter to be estimated. Agronomie 22, 133-158.
- Salam, M.U., Galloway, J., Khangura, R., Diggle, A.J., MacLeod, W.J., Barbetti, M.J., 2001. Spatial spread of blackleg in canola - a regional scale simulation model. Proceedings of the 12th Australian Research Assembly on Brassicas.
- Salam, M.U., Khangura, R.K., Diggle, A.J., Barbetti, M.J., 2003. Blackleg Sporacle: a model for predicting onset of pseudothecia maturity and seasonal ascospore showers in relation to blackleg of canola. Phytopathology 93, 1073-1081.

- Salam, M.U., Fitt, B.D.L., Aubertot, J.N., Diggle, A.J., Huang, S., Barbetti, M.J., Gladders, P., Jedryczka, M., Khangura, R., Wratten, N., Fernando, W.G.D., Penaud, A., Pinochet, X., Sivasithamparam, K., 2007. Two weather-based models for predicting the onset of seasonal release of ascospores of *Leptosphaeria maculans* or *L. biglobosa*. *Plant Pathology* 56, 412-423.
- Salisbury, P.A., Ballinger, D.J., Wratten, N., Plummer, K.M., Howlett, B.J., 1995. Blackleg disease on oilseed Brassica in Australia: a review. *Australian Journal of Experimental Agriculture* 35, 665-672.
- Salvador, R., Piñol, J., Tarantola, S., Pla, E., 2001. Global sensitivity analysis and scale effects of a fire propagation model used over Mediterranean shrublands. *Ecological Modelling* 136, 175-189.
- Savary, S., Teng, P.S., Willocquet, L., Nutter, F.W.J., 2006. Quantification and modeling of crop losses: a review of purposes. *Annual Review of Phytopathology* 44, 89-112.
- Schmit, J., West, J.S., Narcy, J., Roux, J., Balesdent, M.H., Rouxel, T., Gout, L., 2002. La nécrose du collet du colza: analyse de la distribution du champignon dans la plante à l'aide d'outils moléculaires. *Oléagineux Corps gras Lipides* 9, 2-3.
- Schneider, O., 2005. Analyse du mode de gestion des résidus de colza sur l'initiation du cycle de *Leptosphaeria maculans* (Desm.) Ces et de Not. Mémoire de thèse, INA P-G, paris, France.
- Schneider, O., Roger-Estrade, J., Aubertot, J.N., Doré, T., 2006. Effect of seeders and tillage equipment on the vertical distribution of oilseedrape stubble. *Soil and Tillage Research* 85, 115-122.
- Sebillote, M., 1978. Itinéraires techniques et évolution de la pensée agronomique. *C.R. Académie d'Agriculture Française* 11, 906-913.
- Sebillote, M., 1990. Système de culture, un concept opératoire pour les agronomes. In Combe, L. and Picard, D. (Eds), *Les systèmes de culture*. INRA, Paris, pp 165-196.
- Shi-Mai, Z., 1991. PANCRIN, a prototype model of the pandemic cultivar-race interaction of yellow rust on wheat in China. *Plant Pathology* 40, 287-295.
- Shoemaker, R.A., Brun, H., 2001. The teleomorph of the weakly aggressive segregate of *Leptosphaeria maculans*. *Canadian Journal of Botany* 79, 412-419.
- Smith, B.J., Sarwar, M., Wong, P.T.W., Kirkegaard, J.A., 1999. Suppression of cereal pathogens by canola root tissues in soil. *Proceedings of the 10th International Rapeseed Congress*. Canberra, Australia.
- Söchting, H.P., Verreet, J.A., 2004. Effects of different cultivation systems (soil management, nitrogen fertilisation) on the epidemics of fungal diseases in oilseed rape (*Brassica napus* L. var. *napus*). *Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz-Journal of Plant Disease and Protection* 111, 1-29.
- Sprague, S.J., Balesdent, M.H., Brun, H., Hayden, H.L., Marcroft, S.J., Pinochet, X., Rouxel, T., Howlett, B.J., 2006. Major gene resistance in *Brassica napus* (oilseed rape) is overcome by changes in virulence of populations of *Leptosphaeria maculans* in France and Australia. *European Journal of Plant Pathology* 114, 33-40.
- Stacey, A.J., Truscott, J.E., Asher, M.J.C., Gilligan, C.A., 2004. A model for the invasion and spread of rhizomania in the United Kingdom: implication for disease control strategies. *Phytopathology* 94, 209-215.
- Stachowiak, A., Olechnowicz, J., Jedryczka, M., Rouxel, T., Balesdent, M.H., Happstad, I., Gladders, P., Latunde-Dada, A., Evans, N., 2006. Frequency of avirulence alleles in field populations of *Leptosphaeria maculans* in Europe. *European Journal of Plant Pathology* 114, 67-75.
- Steed, J.M., Baierl, A., Fitt, B.D.L., 2007. Relating plant and pathogen development to optimise fungicide control of phoma stem canker (*Leptosphaeria maculans*) on winter oilseed rape (*Brassica napus*). *European Journal of Plant Pathology* 118, 359-373.
- Stern, V.M., Smith, R.F., Van den Bosch, F., Hagen, K.S., 1959. The integrated control concept. *Hilgardia* 29, 81-101.

- Sun, P., Fitt, B.D.L., Gladders, P., Welham, S.J., 2000. Relationships between phoma leaf spot and development of stem canker (*Leptosphaeria maculans*) on winter oilseed rape (*brassica napus*) in southern England. *Annals of Applied Biology* 137, 113-125.
- Tilman, D., Cassman, K.G., PMatson, P.A., Naylor, R., Polasky, S., 2002. Agricultural sustainability and intensive production practices. *Nature* 418, 671-677.
- Tixier, P., Ridsède, J.M., Dorel, M., Malézieux, Z., 2006. Modelling population dynamics of banana plant-parasitic nematodes: a contribution to the design of sustainable cropping systems. *Ecological Modelling* 198, 321-331.
- Toscano-Underwood, C., Huang, Y.J., Fitt, B.D.L., A.M. Hall, 2003. Effects of temperature on maturation of pseudothecia of *Leptosphaeria maculans* and *L. Biglobosa* on oilseed rape stem debris. *Plant Pathology* 52, 726-736.
- Travadon, R., Bousset, L., Saint-Jean, S., Brun, H., Sache, I., 2007. Splash dispersal of *Leptosphaeria maculans* pycnidiospores and the spread of blackleg on oilseed rape. *Plant Pathology* 56, 595-603.
- Travadon, R., Marquer, B., Ribulé, A., Sache, I., Brun, H., Bousset, L., 2008a. Etude de la progression systémique de *Leptosphaeria maculans* des infections cotylédonaire aux collets des plantes de colza (*Brassica napus*). Journées Jean Chevaugnon. 7emes Rencontres de Phytopathologie/ Mycologie de la Société Française de Phytopathologie, Aussois, France, 20-24 janvier 2008.
- Travadon, R., Marquer, B., Ribulé, A., Sache, I., Brun, H., Delourme, R., Bousset, L., 2008b. Systemic progress of *Leptosphaeria maculans* from cotyledons to hypocotyle in oilseed rape: influence of the number of infection sites, of intraspecific competition and of host polygenic resistance. *Plant Pathology*, Submitted.
- Triboï-Blondel, A.M., 1988. Mise en place et fonctionnement des feuilles de colza d'hiver: relation azote-carbone et sénescence. *Agronomie* 8, 37-44.
- Tron, I., Piquet, O., Cohuet, S., 2001. Effets chroniques des pesticides sur la santé: état actuel des connaissances. ORS Bretagne, France.
- Turkington, T.K., Clayton, G.W., Klein-Gebbinck, H., Woods, D.L., 2000. The impact of soil incorporation of canola residues and stubble application of chemicals on decomposition and inoculum production by *Leptosphaeria maculans*. *Canadian Journal of Plant Pathology* 22, 155-159.
- Turner, J.A., Elcock, S.J., Hardwick, N.V., Gladders, P., 2000. Changes in fungicides use on winter oilseed rape in England and Wales. *Proceedings of the BCPC Conference - Pests and Disease* 2, 865-870.
- Vacher, C., Bourguet, D., Rousset, F., Chevillon, C., Hochberg, M.E., 2003. Modelling the spatial configuration of refuges for a sustainable control of pests: a case study of Bt cotton. *Journal of Evolutionary Biology* 16, 378-387.
- Van den Berg, C.G.J., Rimmer, S.R., Parks, P., 1993. Comparison of scales for rating severity of blackleg in canola. *Canadian Journal of Plant Pathology* 15, 49-53.
- Van den Bosch, F., Gilligan, C.A., 2003. Measures of durability of resistance. *Phytopathology* 93, 616-625.
- Van den Bosch, F., Akudibilah, G., Seal, S., Jeger, M., 2006. Host resistance and the evolutionary response of plant viruses. *Journal of Applied Ecology* 43, 506-516.
- Wallach, D., Makowski, D., Jones, J.W., 2006. *Working with Dynamic Crop Models*. Elsevier, Amsterdam.
- Wermelinger, B., Candolfi, M.P., Baumgartner, J., 1992. A model of the European red mite (*Acaris, Tetranychidae*) population dynamics and its linkage to grapevine growth and development. *Journal of Applied Entomology* 114, 155-166.

- West, J.S., Kharbanda, P.D., Barbetti, M.J., Fitt, B.D.L., 2001. Epidemiology and management of *Leptosphaeria maculans* (phoma stem canker) on oilseed rape in Australia, Canada and Europe. *Plant Pathology* 50, 10-27.
- West, J.S., Fitt, B.D.L., Leech, P.K., Biddulph, J.E., Huang, Y.J., Balesdent, M.H., 2002. Effect of timing of *Leptosphaeria maculans* ascospore release and fungicide regime on phoma leaf spot and phoma stem canker development on winter oilseed rape (*Brassica napus*) in southern England. *Plant Pathology* 51, 454-463.
- Wherrett, A.D., Sivasithamparam, K., Barbetti, M.J., 2003. Chemical manipulation of *Leptosphaeria maculans* (blackleg disease) pseudothecial development and timing of ascospore discharge from canola (*Brassica napus*) residues. *Australian Journal of Agriculture Research* 54, 837-848.
- Yang, R., Han, Y., Li, G., Jiang, D., Huang, H., 2007. Suppression of *Sclerotinia sclerotiorum* by antifungal substances produced by the mycoparasite *Coniothyrium minitans*. *European Journal of Plant Pathology* 119, 411-420.
- Zadoks, J.C., 1989. EIPRE, a computer-based decision support system for pest and disease control in wheat: its development and implementation in Europe. In Leonard, K.J. and Fry, W.E. (Eds), *Plant disease epidemiology. Vol. 2: Genetics, resistance, and management*. Mc Graw-Hill, New York, pp 3-29.
- Zadoks, J.C., 1993. Cultural methods. In Zadoks, J.C. (Ed), *Modern crop protection: development and perspectives*. Wageningen Pers, Wageningen, pp 163-170.
- Zhu, Y., Chen, H., Fan, J., Wang, Y., Li, Y., Chen, J., Fan, J., Yang, S., Hu, L., Loung, H., Mow, T.W., Teng, P.S., Wang, Z., Mundt, C.C., 2000. Genetic diversity and disease control in rice. *Nature (London)* 406, 718-722.

Sigles et abbreviations

Annexes

Sigles et abréviations

ADEME : Agence de l'Environnement et de la Maitrise de l'Energie

AvrLm : allèle avirulent chez *Leptosphaeria maculans*

avrLm : allèle virulent chez *Leptosphaeria maculans*

CEDRE : Comment Exploiter Durablement les RESistances variétales, projet ANR-ADD
2005-2008

CETIOM : Centre Technique Interprofessionnel des Oléagineux Métropolitains

DI : *Disease Index*

FAO : *Food and Agriculture Organization*

GEVES : Groupe d'Etude et de contrôle des Variétés et des Semences

GFP : *Green Fluorescent Protein*

Grenelle de l'environnement : ensemble de rencontres politiques organisées en France en octobre 2007, visant à prendre des décisions à long terme en matière d'environnement et de développement durable.

IAM : *Integrated Avirulence Management*

IFEN : Institut Français de l'ENVironnement

IFT : Indice de Fréquence de Traitements

IPM : *Integrated Pest Management*

ITK : Itinéraire Technique

LAI : *Leaf Area Index*

OGM : Organisme Génétiquement Modifié

OILB : Organisation Internationales de Lutte Biologique et intégrée

ONIGC : Office National Interprofessionnel des Grandes Cultures

PROLEA : Filière françaises des huiles et protéines végétales

RIP : *Repeat Induced Point Mutation*

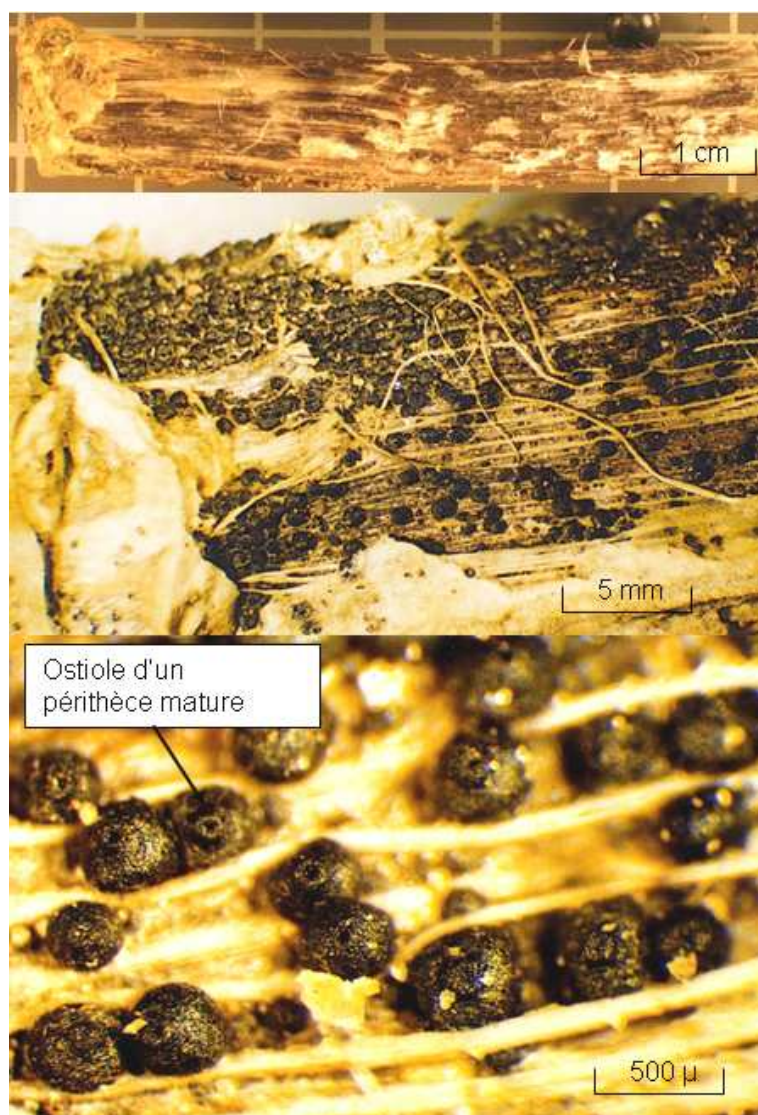
Rlm : gènes de résistance spécifiques contre le phoma du colza

RMSEP : *Root Means Square Error of Prediction*

SDC : Système de Culture

SIPPOM-WOSR : Simulator for Itegrated Pathogen Population Management adapted to
Winter OilSeed Rape

Figure A1.1. Observation des résidus incubés (source : Lô-Pelzer, CETIOM)



Annexes

1. Annexe 1. Classes de sévérité de nécrose évaluées à l'échelle de la plante, calcul de l'indice de sévérité à l'échelle de la parcelle, biologie et observation des pseudothèces

Echelle de sévérité des nécroses, évaluées sur une section transversale du collet de la plante

Les classes ont été définies en fonction de la proportion de la surface de la section transversale (section au niveau du collet) nécrosée.



Classe	1	2	3	4	5	6
Nécrose	0	]0-25%]	]25-50%]	]50-75%]	]75-100%]	100% tige rompue

Formule de calcul de la note G_2 à partir des effectifs de plantes dans chacune des classes de nécrose (Pierre et Regnault, 1982 ; Aubertot *et al.*, 2004b)

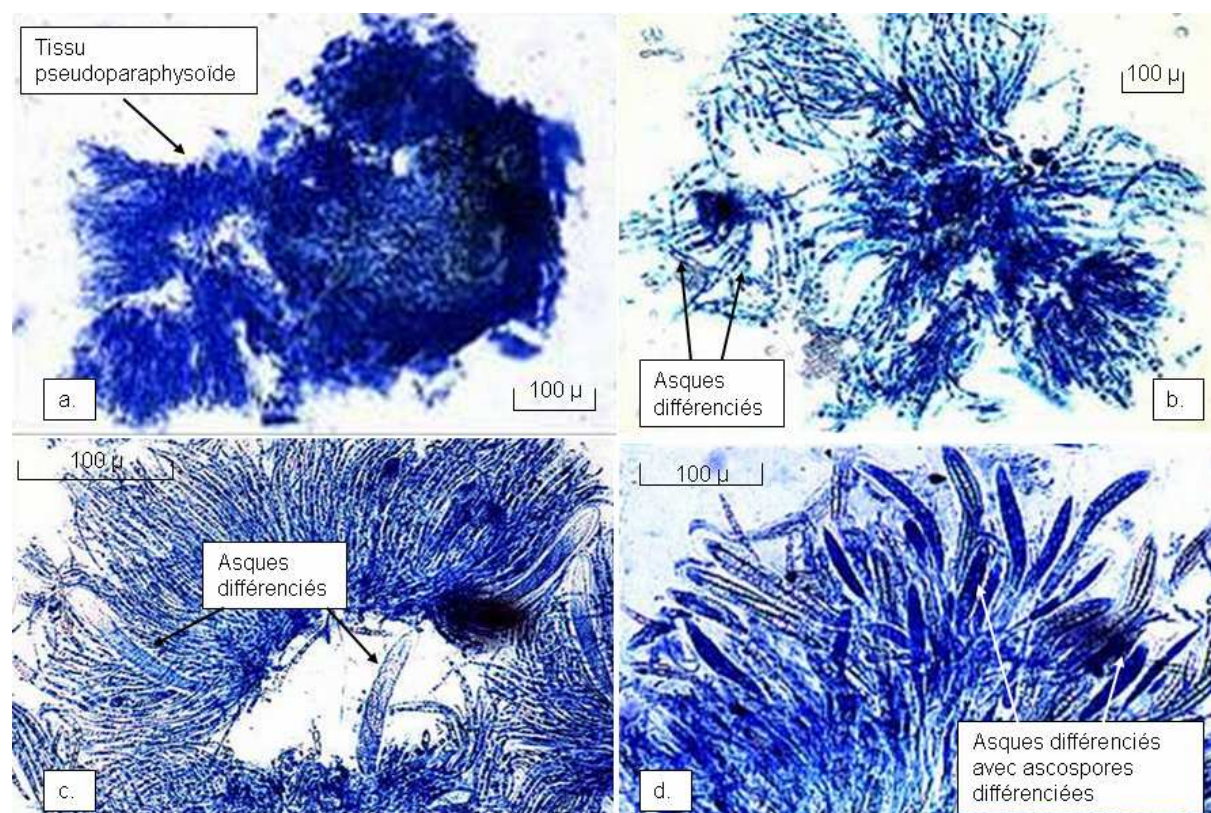
$$G_2 = \frac{\sum_{i=2}^6 [2(i-2) + 1] n_i}{\sum_{i=1}^6 n_i}$$

Où n_i est le nombre de plantes qui ont été notées avec la classe de nécrose i . La note G_2 varie entre 0 (toutes les plantes saines) et 9 (toutes les plantes notées 6).

Biologie et observation des pseudothèces de *L. maculans*/ *L. biglobosa*

Les espèces *Leptosphaeria maculans* et *Leptosphaeria biglobosa* sont des ascomycètes. Deux types de fructification peuvent donc être observés, les pycnides, issues de la multiplication asexuée, et les pseudothèces (également souvent appelé périthèces ; Figure A1.1), issus de la reproduction sexuée, et qui produisent les ascospores, inoculum primaire responsable de la majorité des infections (Brunin et Lacoste, 1970). Les pseudothèces à maturité sont de taille variable, 300 à 500 μm de diamètre (CMI descriptions of pathogenic fungi and bacteria n° 331), en général plus gros que les pycnides. Ils contiennent des asques (80-125×15-22 μm^2), qui contiennent eux même à maturité 8 ascospores. Chaque ascospore (35-70×5-8 μm^2) est composée à maturité de 6 cellules. Il est possible d'estimer le nombre d'ascospores par pseudothèce en calculant les volumes d'un pseudothèce (considéré comme une sphère) et d'un asque (considéré comme un ellipsoïde). En considérant que chaque asque contient 8 ascospores, le nombre d'ascospores par pseudothèce serait donc compris entre 890 et 13890, sachant que l'on surestime ce nombre étant donné que l'on ne prend pas en compte les volumes occupés par les enveloppes. Le nombre d'ascospores par pseudothèce serait donc finalement de l'ordre de 1000 à 10000.

Figure A1.2. Observation au microscope de pseudothèces de *Leptosphaeria maculans*/ *L. biglobosa* a. en classe A de maturation, b. en classe B de maturation, c. en classe C de maturation et d. en classe D de maturation (source : CETIOM)



Les pseudothèces se développent sur les résidus laissés à la surface du champ après récolte (Hall, 1992; West *et al.*, 2001). La maturation des pseudothèces dépend des conditions climatiques, en particulier de la température et de l'humidité (Salam *et al.*, 2003, 2007). Pérès *et al.* (1999), qui ont étudié l'effet de différents scénarios climatiques sur l'apparition des premiers pseudothèces matures, ont montré que la température optimale pour la maturation des pseudothèces est de 14°C, alors que plus la fréquence des événements pluvieux est importante (2,5 mm tous les 3 jours), plus la maturation est favorisée. De plus, une humidité relative élevée (95-100%) sans pluie suffit pour obtenir des pseudothèces matures. De même, Toscano-Underwood *et al.* (2003) et Huang *et al.* (2005) ont montré que la maturation des pseudothèces est possible en conditions contrôlées (aspersion des résidus avec de l'eau de pluie deux fois par jour) pour une température comprise entre 5 à 20 °C, mais qu'elle est favorisée pour les températures plus élevées (15-20°C). Des températures très basses (<0°C) peuvent conduire à l'arrêt de la maturation (Salam *et al.*, 2007). En conditions naturelles, la maturation est plus lente, ce qui prouve l'importance de la pluie et de l'humidité (non limitantes dans l'étude de Toscano-Underwood *et al.*, (2003) en conditions contrôlées) pour la maturation des pseudothèces. La température semble affecter la vitesse de maturation des pseudothèces mais pas la densité de pseudothèces observée sur les résidus (Toscano-Underwood *et al.*, 2003). Par contre, la pluie influence la dynamique de maturation mais aussi le nombre d'ascospores libérées (Marcroft *et al.*, 2003).

Outre l'importance des conditions de température et d'humidité, la lumière est également nécessaire à la maturation, puisque les résidus enfouis dans le sol ne produisent pas de pseudothèces. Une photopériode de 12h est décrite comme optimale en conditions contrôlées (Toscano-Underwood *et al.*, 2003), mais peu de données sont disponibles sur le type de lumière nécessaire ou favorable à la maturations des pseudothèces.

La dynamique de maturation des pseudothèces peut être suivie grâce à des observations au microscope. On prélève le pseudothèce à l'aide d'une pince et on le dépose dans une goutte d'eau sur une lame. A l'aide de deux aiguilles fines, on sépare le contenu du pseudothèce de son enveloppe. On ajoute une goutte de bleu de méthyle avant de placer la lamelle (exercer une légère pression sur la lamelle afin d'éclater les asques et de chasser les bulles d'air) et on observe au microscope (Poisson et Pérès, 1999). Cette observation peut conduire à la répartition des fructifications en cinq classes de maturation, en fonction de la différenciation des asques et des ascospores (Bernard *et al.*, 1999; Toscano-Underwood *et al.*, 2003; Khangura *et al.*, 2007). A la loupe, les pseudothèces des classes de maturation les moins avancées sont plus petits (semblables aux pycnides). Les pseudothèces des classes de maturation les plus avancées (pseudothèces matures) présentent un ostiole (Figure A1.1). Les pseudothèces sont de classe A (Figure A1.2.a) quand ils sont non mûrs, avec asques et ascospores indifférenciés (on note la présence de tissu pseudoparaphysoïde). Ils sont de classe B (Figure A1.2.b) quand ils sont non mûrs, avec asques différenciés mais ascospores indifférenciées. Les pseudothèces de classe C (Figure A1.2.c) sont non mûrs, avec asques différenciés (mais moins de 8 ascospores par asque) et ascospores indifférenciées (moins de 4 cellules par ascospore). Enfin, les pseudothèces de classe D (Figure A1.2.d) sont mûrs, avec asques différenciés (8 ascospores par asque) et ascospores différenciées (6 cellules par ascospore), et les pseudothèces de classe E sont vides (on peut observer le tissu pseudoparaphysoïde désorganisé et parfois quelques ascospores isolées et âgées).

2. Annexe 2. Calculs de la sortie économique et des sorties environnementales dans SIPPOM

Le calcul des sorties économiques (Tableau A2.1) et environnementales (Tableau A2.2) est réalisé de façon très simplifiée dans la version actuelle de SIPPOM.

1. Sortie économique

La sortie économique de SIPPOM est une pseudo marge brute. La marge brute réelle est égale au produit (rendement $\times$ prix de vente) diminué du prix des intrants (semences, fertilisation et traitements). Dans SIPPOM, le prix de vente ainsi que le prix des intrants est constant au cours des années de simulation. Concernant la fertilisation, seul le prix de la fertilisation azotée est introduit dans le calcul de la sortie économique. Le prix des semences est constant quelque soit la variété semée. Enfin, le coût de mécanisation (travail du sol, récolte épandage) est considéré dans le calcul de la sortie économique de SIPPOM, alors qu'il est normalement pris en compte dans le calcul de la marge semi-nette.

Même si le **prix de vente** des trois cultures en rotation dans les exemples de simulation peut varier en fonction des années et des débouchés, il est constant dans SIPPOM : 40 € par quintal pour le colza, 230 € par quintal pour le blé et 200 € par quintal pour l'orge (campagne 2007-2008).

Le coût des semences est fixé pour chaque culture, même si il est très variable d'une variété et d'un fournisseur à l'autre : semences colza, 45 €/ha pour un semis de 35 plantes/m², semences blé, 60 €/ha pour un semis de 200 plantes/m², semences orge, 82 €/ha pour un semis de 260 plantes/m² (prix constatés dans l'EARL-SCEA de Marie-Hélène Jeuffroy en 2006, exploitation représentative d'une exploitation céréalière française). Les coûts sont calculés en fonction de la densité de semis réelle, en entrée dans SIPPOM.

Les coûts des opérations de travail du sol sont issus du barème BCMA, Bureau de Coordination du Machinisme Agricole (2005). Ils prennent en compte le prix du carburant, de l'huile, et l'amortissement à partir du prix moyen hors taxe du matériel neuf.

Le prix des traitements pour la culture de colza est calculé sans prendre en compte la nature du produit ou la dose appliquée. Il représente la moyenne des prix indiqués dans la brochure technique CETIOM colza 2006, les produits étant appliqués aux doses homologuées. Les coûts obtenus ont été comparés aux moyennes des coûts de traitements réalisés dans l'EARL-SCEA de Marie-Hélène Jeuffroy en 2006. Les moyennes des coûts de traitements réalisés dans l'EARL-SCEA entrent dans la gamme de variation des coûts de traitement présentés dans la brochure CETIOM, mais les moyennes sont assez différentes puisque les coûts sont très variables d'un traitement à l'autre et que le nombre de traitements considérés pour l'EARL est très inférieur à celui de la brochure. Nous avons donc choisi de conserver les moyennes de coûts de traitement de la brochure technique CETIOM 2006.

Le prix des traitements pour les cultures de blé et d'orge a été calculé de la même façon (moyenne des coûts quelle que soit la nature du produit, appliqué à la dose homologuée) à partir des traitements réalisés dans l'EARL-SCEA de Marie-Hélène Jeuffroy en 2006.

La brochure CETIOM colza 2006 indique un coût de la **fertilisation minérale azotée** de 30 € pour 50 unités, soit 0,6 € / unité d'azote minéral apportée. Les données issues de l'EARL-SCEA confirment cette valeur. Le coût de la **fertilisation organique azotée** varie entre 1,7 et 4,5 € / unité (David *et al.*, 2005). La moyenne est utilisée dans SIPPOM. La **fertilisation en autres éléments minéraux** n'est pas prise en compte dans le calcul de la sortie économique, puisqu'elle n'est pas décrite dans les itinéraires techniques de la version actuelle de SIPPOM.

Tableau A2.1. Coût économique des pratiques

Pratique		Coût	Source
Travail sol	Labour	31,44 €/ha	Barème BCMA
	Herse rotative	28,32 €/ha	
	Chisel	18,39 €/ha	
	Covercrop	19,51 €/ha	
	Semis (en ligne)	15,08 €/ha	
Traitements	Pulvérisateur	7,24 €/ha	Barème BCMA
Récolte	Moissonneuse	132 €/ha	Barème BCMA
Semis	Colza	1,29 €/pl/m ² /ha	EARL-SCEA M.H. Jeuffroy (2006)
	Blé	0,3 €/pl/m ² /ha	
	Orge	0,28 €/pl/m ² /ha	
Traitements colza	Herbicide	55 €/ha	Brochure CETIOM colza 2006
	Insecticide pulvérisateur	11 €/ha	EARL-SCEA M.H. Jeuffroy (2006)
	Insecticide granulés	33,5 €/ha	
	Fongicide	37 €/ha	
	Antilimace	24 €/ha	
	Régulateur de croissance	25 €/ha	
Traitements blé	Herbicide	26,72 €/ha	EARL-SCEA M.H. Jeuffroy (2006)
	Fongicide	40,26 €/ha	
	Régulateur de croissance	4,24 €/ha	
Traitements orge	Herbicide	37,09 €/ha	EARL-SCEA M.H. Jeuffroy (2006)
	Fongicide	45,29 €/ha	
	Régulateur de croissance	24,48 €/ha	
Fertilisation	Azote minéral	0,6 € / unité / ha	Brochure CETIOM colza 2006, EARL-SCEA M.H. Jeuffroy (2006)
	Azote organique	3,1 € / unité / ha	David <i>et al.</i> , 2005

Tableau A2.2. Coût énergétiques des pratiques

Pratique		Coût	Source
Travail du sol	Labour	1122 MJ/ha	Flénet, Comm. Pers. Enquêtes CETIOM 2005
	Herse rotative	438 MJ/ha	
	Chisel	463 MJ/ha	
	Covercrop	365 MJ/ha	
	Semis (en ligne)	188 MJ/ha	
Récolte		863 MJ/ha	Flénet, Comm. Pers. Enquêtes CETIOM 2005
Traitements colza	Herbicide	321 MJ/ha	Flénet (outil)
	Insecticide	246 MJ/ha	
	Fongicide	119 MJ/ha	
	Antilimace	191 MJ/ha	
	Régulateur de croissance	79 MJ/ha	
Fertilisation	Azote minéral	52,1 MJ/ha/unité	Flénet, Comm. Pers. Enquêtes CETIOM 2005

Comme le montrent les exemples de simulations (Chapitre 3) où les marges brutes obtenues sont faibles, en particulier pour l'itinéraire technique intensif, il pourrait être nécessaire d'évaluer de façon plus précise le coût des pratiques, en particuliers pour les traitements phytosanitaires, et l'azote organique qui représente un coût important, mais qui ne prend pas en compte les apports organiques moins coûteux issus des exploitations d'élevage (voir gratuit pour les exploitations de polyculture-élevage).

2. Indice de fréquence des traitements

L'indice de fréquence de traitement (Champeaux, 2006) est un indicateur simple de l'impact environnemental (Bockstaller *et al.*, 2008) qui représente le nombre de doses homologuées de traitements appliquées sur une parcelle. Si un produit est appliqué à la dose homologuée, l'IFT vaut 1, s'il est appliqué à une dose supérieure, deux fois la dose homologuée par exemple, l'IFT vaut 2. Si deux traitements sont appliqués à la dose homologuée, l'IFT vaut 2 également. Cet indice permet donc de prendre en compte non seulement le nombre de traitements mais aussi la dose à laquelle ils ont été appliqués. Dans la version actuelle de SIPPOM, on considère que tous les traitements sont appliqués à la dose homologuée. L'IFT correspond donc au nombre de traitements.

3. Coût énergétique des pratiques

De nombreuses méthodes existent pour évaluer l'impact environnemental des systèmes de culture (citées par Bockstaller *et al.*, 2008), à l'échelle de la parcelle ou de l'exploitation (par exemple DAEG ; Agro-Transfert, INDIGO ; INRA Colmar), voir de la filière de production (par exemple SALCA ; Agroscope Zurich). Ces méthodes prennent en compte l'impact des pratiques, parfois en fonction de la sensibilité du milieu (DAEG, INDIGO). Elles proposent de calculer plusieurs indicateurs, parfois agrégés (DAEG, SALCA). Ces méthodes requièrent un nombre important de données d'entrées, et ne sont donc pas directement utilisables dans SIPPOM, où l'on cherche dans un premier temps à évaluer de façon assez simple le coût énergétique des itinéraires techniques appliqués. On pourra réfléchir ultérieurement à améliorer la sortie environnementale de SIPPOM en utilisant éventuellement des indicateurs d'impact environnementaux proposées dans les différentes méthodes existantes.

Francis Flénet (CETIOM, Thiverval-Grignon) a produit un outil qui permet de calculer le bilan énergétique d'une culture de colza, basé sur un référentiel de calcul des bilans énergétiques (ADEME *et al.*, 1999), et nous nous sommes basés sur cet outil pour le calcul du coût énergétique des pratiques. Dans cet outil, le coût énergétique des différentes pratiques est très détaillé. Par exemple, l'utilisateur doit renseigner la nature du ou des tracteurs utilisés (nombre de chevaux ou de roues motrices), la nature des outils de travail du sol ou d'épandage, les distances entre le bâtiment de l'exploitation et la parcelle de colza ou entre l'exploitation et la coopérative où la récolte est livrée, la taille des parcelles, la nature des traitements réalisés (matière active, type de formulation), mais aussi la dose (produit commercial et matière active). Cet outil est très précis mais trop détaillé pour son utilisation dans le modèle SIPPOM.

A partir d'enquêtes sur les pratiques, réalisées en 2005 par le CETIOM, un coût énergétique moyen a pu être établi pour certaines pratiques. Ces valeurs moyennes ont été retenues pour SIPPOM, elles sont valables quelle que soit la culture. **Le coût de passage d'outil de travail du sol** est un coût moyen pour un sol intermédiaire entre un sol argileux et un sol limoneux. De la même façon, le **coût de l'azote minéral** est une valeur moyenne quelles que soient la nature du produit (épandage inclus), et le **coût de l'azote organique** est une valeur moyenne

quelles que soient la nature du produit et la dose appliquée (épandage inclus). Une valeur forfaitaire est utilisée pour la **récolte**, et prend en compte la livraison.

Le coût énergétique des traitements, qui prend aussi en compte leur fabrication, est extrêmement variable en fonction de leur nature et de la dose appliquée. Les calculs de coût énergétique des traitements ont été réalisés avec l'outil développé par F. Flénet pour une situation moyenne : la taille des parcelles a été fixée à 6,25 ha, ce qui correspond à la taille des parcelles dans les exemples de simulation (Chapitre 3). La distance pour accéder à la parcelle a été fixée à 2 km. Des caractéristiques moyennes ont été choisies pour le tracteur utilisé pour les épandages et l'épandeur : 100 chevaux, 2 roues motrices, pulvérisateur trainé 24 m, 30 hl. Les produits, appliqués à la dose homologuée, ont été choisis dans la brochure CETIOM colza 2006, et les matières actives relevées dans l'index phytosanitaire 2006 : herbicide Nimbus (Clomazone et Metazachlore 0,28 kg/l), dose 3 l/ha, insecticide Techn'ufan (Endosulfan 0,35 kg/l), dose 1,5 l/ha, fongicide Punch CS (Flusilazole et Carbendazime 0,375 kg/l), dose 0,8 l/ha, molluscicide Extralugéc SR (metaldehyde 5 %), dose 7 kg/ha, régulateur de croissance Horizon EW (tebuconazole 0,25 kg/l), dose 0,5 l/ha. Ces valeurs ne sont valables que pour la culture de colza, et calculées pour une taille de parcelle particulière.

Cette partie du modèle pourra être améliorée, en particulier pour le coût énergétique des traitements.

3. Annexe 3. Module déplacement vertical des résidus (d'après Schneider, 2005)

Le sol a été découpé en 4 horizons, surface (H₁), 0-10 cm (H₂), 10-20 cm (H₃), et 20-30 cm (H₄), et le déplacement vertical est renseigné pour cinq outils de travail du sol dans SIPPOM : semoir, labour, herse rotative, chisel et cover-crop. Chaque outil est caractérisé par une matrice de transfert 4 x 4, qui représente la proportion de résidus transférée de chaque horizon vers les autres.

	H ₁	H ₂	H ₃	H ₄
H ₁				
H ₂				
H ₃				
H ₄				

 $u_{i,j}$

Le coefficient $u_{i,j}$ (colonne i, ligne j) représente la proportion de résidus initialement dans l'horizon i et qui a été déplacée dans l'horizon j après le passage de l'outil. La somme des coefficients d'une colonne est donc égale à 1.

La masse des résidus dans chaque horizon est représentée par un vecteur $m = \begin{pmatrix} m_{H1} \\ m_{H2} \\ m_{H3} \\ m_{H4} \end{pmatrix}$.

Le mouvement vertical des résidus suite à un passage d'outil est donc représenté ainsi dans SIPPOM :

$$\begin{pmatrix} u_{1,1} & u_{2,1} & u_{3,1} & u_{4,1} \\ u_{1,2} & u_{2,2} & u_{3,2} & u_{4,2} \\ u_{1,3} & u_{2,3} & u_{3,3} & u_{4,3} \\ u_{1,4} & u_{2,4} & u_{3,4} & u_{4,4} \end{pmatrix} \times \begin{pmatrix} m_{H1} \\ m_{H2} \\ m_{H3} \\ m_{H4} \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} m'_{H1} \\ m'_{H2} \\ m'_{H3} \\ m'_{H4} \end{pmatrix}$$

La première ligne de la matrice représente en fait la proportion de résidus de l'horizon H₁ (première colonne), H₂ (deuxième colonne), H₃ (troisième colonne) et H₄ (quatrième colonne) qui arrivent sur l'horizon de surface. La deuxième ligne représente la proportion de résidus de l'horizon H₁ (première colonne), H₂ (deuxième colonne), H₃ (troisième colonne) et H₄ (quatrième colonne) qui arrivent sur l'horizon 2, et ainsi de suite.

Les valeurs des matrices des outils de travail du sol représentés dans SIPPOM sont présentées dans le tableau suivant.

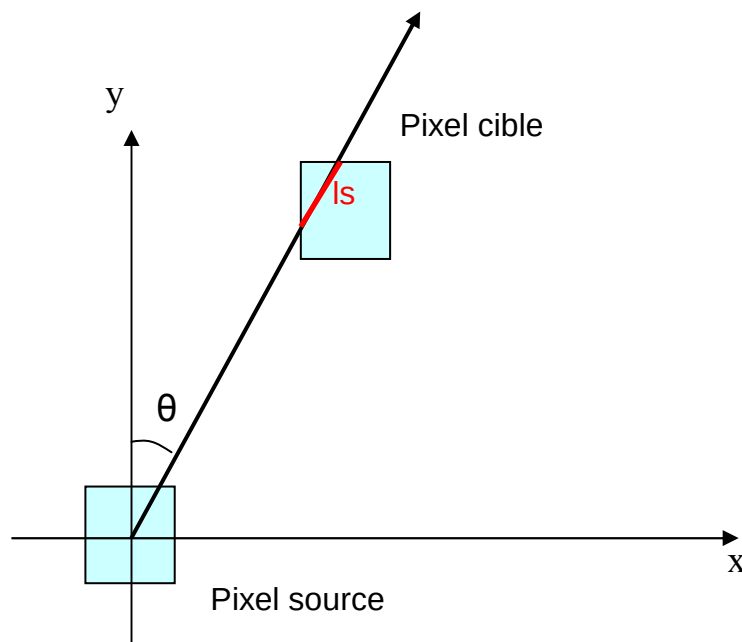
Semoir					Labour					Herse				
	H ₁	H ₂	H ₃	H ₄		H ₁	H ₂	H ₃	H ₄		H ₁	H ₂	H ₃	H ₄
H ₁	0,957	0,2	0	0	H ₁	0	0,05	0,417	0,1	H ₁	0,779	0,449	0	0
H ₂	0,043	0,8	0,017	0	H ₂	0,017	0,3	0,333	0,05	H ₂	0,212	0,36	0,019	0
H ₃	0	0	0,983	0,017	H ₃	0,8	0,517	0,117	0,05	H ₃	0,009	0,17	0,787	0
H ₄	0	0	0	0,983	H ₄	0,183	0,133	0,133	0,8	H ₄	0	0,021	0,194	1

Chisel					Cover-crop				
	H ₁	H ₂	H ₃	H ₄		H ₁	H ₂	H ₃	H ₄
H ₁	0,306	0,163	0	0	H ₁	0,361	0,14	0	0
H ₂	0,623	0,475	0,017	0	H ₂	0,518	0,392	0	0
H ₃	0,051	0,345	0,715	0	H ₃	0,121	0,468	0,7	0
H ₄	0,02	0,017	0,268	1	H ₄	0	0	0,3	1

4. Annexe 4. Module Dispersion

Le module dispersion est basé sur le modèle Australien Anthracnose Tracer (Diggle *et al.*, 2002), mais de nombreuses transformations ont été réalisées. Le modèle était initialement stochastique : il prenait en compte la direction du vent ainsi que l'écart type autour de cette direction. De plus, le pas de temps initial était l'heure. Pour minimiser les temps de calcul, ce modèle a été rendu déterministe, avec un pas de temps journalier.

Comme précisé dans le chapitre 3, l'espace est représenté par un raster dont les pixels représentent une surface de 50 m*50 m. Chaque pixel est attribué à une parcelle. Afin de limiter les temps de calcul, et de ne pas simuler la dispersion des spores vers des parcelles qui ne sont pas semées en colza, les pixels sources d'ascospores (parcelles de colza l'année n-1) et les pixels cibles (parcelles de colza l'année n) sont repérées au début de chaque année culturale. La dispersion n'est calculée que pour les couples de pixels source/cible. Comme dans le modèle Anthracnose Tracer, on considère que les ascospores produites partent du centre du pixel source (ici l'origine du schéma). La probabilité que le pixel cible soit atteint dépend de la taille du segment intercepté au niveau du pixel cible (l_s) donc de l'angle de dispersion θ (direction du vent), et de la position respective du pixel source et du pixel cible. On considère que le nombre de spores parvenant sur le transect (segment l_s) correspond au nombre de spores parvenant sur l'ensemble du pixel.



Nous considérons que les ascospores sont dispersées selon une densité de probabilité semi-Cauchy :

$$f(l; \gamma) = \frac{2}{\pi \gamma \left(1 + \frac{l^2}{\gamma^2} \right)}.$$

Avec l : distance à la source, γ : facteur d'échelle, qui prend en compte la vitesse du vent de la façon suivante : $\gamma = \mu_{\text{cauchy}} * \text{vitesse}$.

Si on appelle l_i et l_f ($l_s = l_f - l_i$) les distances entre le centre du pixel source et les deux intersections avec le pixel cible (fonction de θ), la probabilité qu'une spore tombe entre l_i et l_f est donc :

$$p(l_i \leq l_s \leq l_f) = \int_{l_i}^{l_f} \frac{2dl}{\pi\gamma \left(1 + \frac{l^2}{\gamma^2}\right)}$$

Ce module, codé initialement sous Mathematica[®], était très couteux en temps de calcul. Il a donc été traduit en C++. La fonction est appelée directement à partir de Mathematica[®] grâce à l'interface Mathlink. De plus, afin de gagner encore en temps de calcul, les valeurs des bornes des intégrales sont calculées sous C++ une fois pour toutes en début de simulation pour un raster de 200*200 pixels : les bornes minimales et maximales de l'intégrale sont calculées pour toutes les valeurs des angles (par pas de 1°, soit 360 valeurs) et pour l'ensemble des valeurs des écarts entre pixel source et pixel cible (exprimées en nombre de pixel). Au cours d'une année de simulation, les valeurs des bornes stockées dans le tableau sont multipliées par la taille du pixel, et intégrées en fonction de l'intensité du vent. Le tableau ainsi créé permet de gagner en temps de calcul puisque le calcul des bornes n'est réalisé qu'une seule fois. Cependant, il occupe une place importante dans la mémoire, ce qui peut entraîner un ralentissement des autres calculs effectués sous Mathematica[®]. Dans le cas de simulations sur une région moins étendue, ce tableau pourrait être réduit pour améliorer les temps de calcul.

5. Annexe 5. Définition de critères statistiques d'évaluation de la qualité prédictive d'un modèle

Soient I le nombre d'observations, O_i la valeur observée à la $i^{\text{ème}}$ observation, S_i la valeur simulée correspondante, alors :

$$Biais = \frac{1}{I} \sum_{i=1}^I (O_i - S_i)$$

$$RMSE = \sqrt{\frac{1}{I} \sum_{i=1}^I (O_i - S_i)^2} \quad \text{Root Mean Square Error}$$

$$MAE = \frac{1}{I} \sum_{i=1}^I |O_i - S_i| \quad \text{Mean Absolute Error}$$

6. Annexe 6. Liste des publications scientifiques et communications associées au travail de thèse

Publications scientifiques

Lô-Pelzer E, Aubertot, JN, David O, Jeuffroy MH & Bousset L, 2008a. Experimental evidence for a relationship between the severity of phoma stem canker (*Leptosphaeria maculans*/*L. biglobosa* species complex) and subsequent primary inoculum production on oilseed rape stubble. Plant Pathology, sous presse.

Lô-Pelzer E, Aubertot, JN, Bousset L, Pinochet X, Jeuffroy MH, 2008b. Phoma stem canker (*Leptosphaeria maculans*/*L. biglobosa*) of oilseed rape (*Brassica napus*): is the G2 Disease Index a good indicator of the distribution of the observed canker severities? European Journal of Plant Pathology, soumise (Décembre 2007).

Lô-Pelzer E, Bousset L, Jeuffroy MH, Salam MU and Aubertot JN, 2008c. SIPPOM-WOSR: a Simulator for Integrated Pathogen POpulation Management adapted to study blackleg on Winter OilSeed Rape. Field Crops Research, soumise (Février 2008).

Lô-Pelzer E, Aubertot JN, Bousset L, Salam MU and Jeuffroy MH, 2008d. Sensitivity analysis of SIPPOM-WOSR, a Simulator for Integrated Pathogen POpulation Management adapted to phoma stem canker on Winter OilSeed Rape. Field Crops Research, soumise (Avril 2008).

Aubertot JN, Lescourret F, Bonato O, Colbach N, Debaeke P, Doré T, Fargues J, **Lô-Pelzer E**, Loyce C, Sauphanor B, 2008. How to improve pest management in cropping systems. I. Effects of cultural practices on pest development. A review. Agronomy for Sustainable Development, à soumettre.

Aubertot JN, Lescourret F, Bonato O, Colbach N, Debaeke P, Doré T, Fargues J, **Lô-Pelzer E**, Loyce C, Sauphanor B, 2008. How to improve pest management in cropping systems. II. Role of simulation models. Agronomy for Sustainable Development, à soumettre.

Présentations à des Congrès

Lô-Pelzer E, Aubertot JN, Jeuffroy MH, Bousset L, 2008. La quantité d'inoculum primaire produite sur les résidus de colza augmente avec la sévérité de la nécrose du collet (*Leptosphaeria maculans*/*L. biglobosa*). JJC, VIIe rencontres de phytopathologie/mycologie de la SFP, 20-24 janvier 2008 (Poster).

Lô-Pelzer E, Aubertot JN, Bousset L, Jeuffroy MH & Salam MU, 2007. Modelling for durable resistance of canola to blackleg: combining management strategies for a collective disease control at a regional scale. Proceedings of the APS-SON joint meeting. San Diego, USA (communication orale, Elise Lô-Pelzer).

Peyrard N, Sabbadin R, **Lô-Pelzer E** et Aubertot JN, 2007. A Graph-based Markov Decision Process framework for Optimising Collective Management of Diseases in Agriculture: Application to Blackleg on Canola. 17th International Congress on Modelling and Simulation (MODSIM'07), Christchurch, New-Zealand.

Peyrard N, Sabbadin R, **Lô-Pelzer E** et Aubertot JN, 2007. A Graph-based Markov Decision Process framework applied to the optimization of strategies for integrated management of diseases. Proceedings of the APS-SON joint meeting. San Diego, USA

Aubertot JN, **Lô-Pelzer E**, Peyrard N, Sabbadin R, 2008. A graph-based Markov decision process framework: application to the long term collective management of phoma stem canker (*Leptosphaeria maculans*) on oilseed rape. 7th French-Danish Workshop on Spatial Statistics and Image Analysis in Biology. Toulouse.

Articles à destination du développement

Lô-Pelzer E, Penaud A, 2008. Epidémiologie et méthodes de contrôle - Maturation des périthèces. In : Le point sur le Phoma. In Pinochet X (Ed), Quae editions (à paraître en 2008)

Lô-Pelzer E, Bousset L, 2008. Epidémiologie et méthodes de contrôle - Modes de dispersion des ascospores. In : Le point sur le Phoma. In Pinochet X (Ed), Quae editions (à paraître en 2008)

Lô-Pelzer E, Aubertot JN, Bousset L, 2008. La gestion durable des résistances – Les modèles. In : Le point sur le Phoma. In Pinochet X (Ed), Quae editions (à paraître en 2008)

Résumé : Une des principales méthodes de lutte efficace contre le phoma du colza, appelé également nécrose du collet du colza, est l'utilisation de variétés résistantes mais l'efficacité des résistances spécifiques est peu durable. D'autres méthodes de lutte peuvent être mobilisées : lutte chimique et contrôle cultural (adaptation du travail du sol pour limiter la quantité d'inoculum primaire formé sur les résidus infectés, adaptation de la date et de la densité de semis, gestion de l'azote organique à l'échelle de la succession des cultures pour limiter la réceptivité du couvert aux infections). En fait, c'est véritablement la combinaison spatiale et temporelle des méthodes de lutte génétique, culturale et chimique dans le paysage qui permet de mieux contrôler la maladie et de préserver l'efficacité des résistances spécifiques et la rentabilité économique, tout en répondant aux exigences environnementales et toxicologiques de la production intégrée. Etant données les échelles d'espace et de temps considérées et la multiplicité des techniques, il est difficile, voire impossible, de tester expérimentalement ces stratégies. Un modèle permettant de tester des systèmes de culture répondant à ces enjeux a donc été développé : SIPPOM-WOSR, *a Simulator for Integrated Pathogen Population Management, for Winter OilSeed Rape*. SIPPOM est composé de 5 modules simulant i) la production d'inoculum, ii) la dispersion des ascospores, iii) la croissance du peuplement végétal et le rendement accessible, iv) l'évolution de la structure génétique des populations pathogènes, et v) l'infection et les pertes de rendement associées. Les sorties sont l'indice de sévérité de la maladie et les pertes de rendement liées à la maladie, le rendement, la marge brute, le coût énergétique des pratiques et l'indice de fréquence de traitement, ainsi que la structure des populations pathogènes, dépendant de quatre forces évolutives (migration, sélection, recombinaison et effet Allee). Une expérimentation a été réalisée pour acquérir des connaissances sur la récurrence de l'épidémie. Certains formalismes, tels que l'effet de la résistance quantitative sur la sévérité de la maladie ou le calcul du rendement accessible, ont été complétés grâce à des jeux de données issus d'expérimentations antérieures. Une analyse de sensibilité a été réalisée pour étudier la sensibilité des différents modules aux variations des paramètres. Des exemples de simulation montrent l'intérêt de SIPPOM pour tester des stratégies de gestion intégrée et durable d'une maladie.

Mots clés : *Leptosphaeria maculans* ; *Phoma lingam* ; *Brassica napus* ; Contrôle cultural ; Protection Intégrée ; Production intégrée ; Durabilité des résistances.

Modelling the effects of cropping systems and their spatial distribution on phoma stem canker on Winter OilSeed Rape and the adaptation of fungal pathogen populations responsible for the disease (*Leptosphaeria maculans*) to cultivar resistances.

Abstract: One of the main control methods to manage phoma stem canker is the use of cultivars with specific or quantitative resistances. However, specific resistances lack durability. Other control methods can be used to manage the disease: chemical and cultural control methods (tillage to limit the quantity of primary inoculum on infected stubble, adaptation of the sowing date and rate, organic nitrogen supply to limit crop's receptivity to infections). The spatial and temporal combination of genetic, cultural and chemical control methods in a region makes it possible to better control the disease, to preserve the efficiency of specific resistant cultivars as well as economic profit for farmers, and to satisfy environmental and toxicological exigencies of integrated crop management. Given the considered scales and the number of technical operations that have to be taken into account, experiments are difficult, or simply impossible to set up to test control strategies. A model has been developed to test cropping systems that address these issues: SIPPOM-WOSR, *a Simulator for Integrated Pathogen Population Management, for Winter OilSeed Rape*. SIPPOM consists of 5 sub-models simulating i) primary inoculum production, ii) ascospore dispersal, iii) crop growth and attainable yield, iv) dynamics of pathogen population genetic structure, and v) infection and relative yield loss. Output variables are disease severity index and the associated yield loss, yield, gross margin, energetic cost of cultural practices and Treatments Frequency Index, as well as the genetic structure of pathogen populations, under the effect of four evolutionary forces (migration, selection, recombination, and Allee effect). An experiment has been set up to collect data on disease recurrence, and formalisms, as effect of quantitative resistance on disease severity or attainable yield calculation, have been completed with data from other experimentations. A sensitivity analysis has been carried out to study the sensitivity of sub-models to parameter variations. Examples of simulation illustrate how SIPPOM can be used to test integrated and durable disease control strategies.

Key words: *Leptosphaeria maculans*; *Phoma lingam*; *Brassica napus*; Cultural control; Integrated Pest Management; Integrated Crop Management; Resistance Durability.