



Le développement des champignons pathogènes foliaires répond à la température, mais à quelle température ?

Frédéric Bernard

► To cite this version:

Frédéric Bernard. Le développement des champignons pathogènes foliaires répond à la température, mais à quelle température?. Sciences agricoles. AgroParisTech, 2012. Français. NNT : 2012AGPT0085 . pastel-00909360

HAL Id: pastel-00909360

<https://pastel.hal.science/pastel-00909360>

Submitted on 26 Nov 2013

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.



Doctorat ParisTech

THÈSE

pour obtenir le grade de docteur délivré par

L'Institut des Sciences et Industries du Vivant et de l'Environnement (AgroParisTech)

Spécialité : Sciences agronomiques et écologiques

présentée et soutenue publiquement par

Frédéric BERNARD

The development of a foliar fungal pathogen does react to temperature, but to which temperature?

Directeur de thèse : **Michaël CHELLE**

Co-encadrants de la thèse : **Ivan SACHE et Frédéric SUFFERT**

Jury

M. Jérôme CASAS	Professeur, IRBI, Université de Tours	Rapporteur
M. Michael SHAW	Professor, University of Reading, UK	Rapporteur
M. Bertrand NEY	Professeur, AgroParisTech	Examineur
M. Philippe GATE	Directeur scientifique, ARVALIS - Institut du Végétal	Examineur
M. Michaël CHELLE	Directeur de recherche, INRA UMR 1091 EGC	Examineur
M. Ivan SACHE	Chargé de recherche, INRA UR 1290 BIOGER	Examineur
M. Frédéric SUFFERT	Ingénieur de recherche, INRA UR 1290 BIOGER	Examineur



Doctorat ParisTech

THÈSE

pour obtenir le grade de docteur délivré par

L'Institut des Sciences et Industries du Vivant et de l'Environnement (AgroParisTech)

Spécialité : Sciences agronomiques et écologiques

présentée et soutenue publiquement par

Frédéric BERNARD

The development of a foliar fungal pathogen does react to temperature, but to which temperature?

Directeur de thèse : **Michaël CHELLE**

Co-encadrants de la thèse : **Ivan SACHE et Frédéric SUFFERT**

Jury

M. Jérôme CASAS	Professeur, IRBI, Université de Tours	Rapporteur
M. Michael SHAW	Professor, University of Reading, UK	Rapporteur
M. Bertrand NEY	Professeur, AgroParisTech	Examineur
M. Philippe GATE	Directeur scientifique, ARVALIS - Institut du Végétal	Examineur
M. Michaël CHELLE	Directeur de recherche, INRA UMR 1091 EGC	Examineur
M. Ivan SACHE	Chargé de recherche, INRA UR 1290 BIOGER	Examineur
M. Frédéric SUFFERT	Ingénieur de recherche, INRA UR 1290 BIOGER	Examineur

Remerciements

Tout d'abord, je tiens à remercier très sincèrement et chaleureusement mes trois encadrants : Michaël Chelle, Ivan Sache et Frédéric Suffert. Vous avez su, chacun, apporter votre contribution à ma thèse tout en me laissant la mener avec autonomie. Nos réunions à quatre ont été pour moi l'occasion de discussions toujours très passionnantes et enrichissantes (souvent au-delà du sujet de thèse), favorisant le partage des expériences de chacun et l'émulsion d'idées nouvelles. Michaël, je te remercie particulièrement pour avoir été présent au quotidien, mais également pour ta vision de la pédagogie qui m'a permis de m'épanouir pleinement au cours de ces trois années. Ivan, tes conseils avisés, tes remarques éclairées, tes relectures pointilleuses, auront été pour moi les fils conducteurs de ma compréhension et de mon goût pour la recherche. Lorsqu'on arrive en thèse pour étudier un pathogène, sans jamais avoir pratiqué l'épidémiologie, le défi semble grand. Frédéric, grâce à ta grande rigueur scientifique et à ta maîtrise des techniques expérimentales, tu as largement contribué au succès des expérimentations. Grâce à vous, ces trois années auront été pour moi une période épanouissante et riche d'enseignements.

Ensuite, je souhaite remercier Jérôme Casas et Michael Shaw pour avoir accepté d'être les rapporteurs de mon travail et Philippe Gate pour avoir accepté de faire partie du jury en tant qu'examinateur. Je remercie également les membres de mon comité de pilotage : Thierry Boulard, David Gouache, Patrice Halama, Ludovic Hailleret, Bertrand Ney et Sylvain Pincebourde. Vous avez su faire en sorte que ces « Copil » soient l'occasion pour moi de prendre du recul sur la thèse et d'y apporter de nouvelles impulsions.

Durant ces trois années, j'ai eu la chance de partager le quotidien de l'UFR Environnement et Grandes Cultures au sein de l'équipe Plante. Je remercie Enrique Barriuso directeur de l'unité. Je remercie à nouveau les chefs d'équipe « Plante », Bertrand Ney et Michaël Chelle. Je souhaite remercier l'ensemble des chercheurs, ingénieurs et maîtres de

conférences de l'équipe avec qui j'ai apprécié discuter et échanger sur des sujets souvent très divers. L'ensemble des manips qui ont été réalisées dans le cadre de ma thèse n'auraient pu se faire sans les compétences de l'équipe technique. Alain Fortineau et Fabrice Duhamel, je vous remercie tout particulièrement pour m'avoir permis de réaliser ces manips dans de très bonnes conditions. Votre expérience technique et votre adaptabilité ont été essentielles au succès des expérimentations. Je remercie également Nathalie Galet, technicienne de l'unité BioGer, pour avoir participé aux manips en serre. Cupid, Python, etc., merci Camille de m'avoir permis de donner un sens à ces mots et d'avoir toujours été très réactif et efficace pour répondre à mes multiples demandes. Je remercie également Olivier Haury de l'équipe « Atmosphère » pour avoir conçu et réglé les bugs de la base de données. Je tiens également à remercier l'ensemble du personnel du « service commun » et notamment Claudine Lauransot, bibliothécaire, pour avoir su trouver toutes les publis dont j'avais besoin, même celles datant de presque 300 ans ! Enfin, je remercie particulièrement Marie-Odile Bancal, Amélie Mathieu et Sébastien Saint-Jean pour m'avoir permis de dispenser quelques heures de cours et TD. Merci enfin à tous mes collègues et amis doctorant d'EGC. Merci Amélie, ma voisine judoctorante, experte en thyrpsp, comme promis, tu auras l'occasion de me « voir tout en bas de l'amphi » le jour de ma soutenance et à bientôt sur Angers. Enfin, je remercie très sincèrement Ons Riahi et Kamel que j'ai encadrée dans le cadre de son stage de M2. Ton travail rigoureux témoigne de ton sérieux et de tes compétences.

Une thèse est également l'occasion de tisser des liens avec d'autres chercheurs ayant des compétences complémentaires. À cette occasion, je souhaite remercier très chaleureusement Sylvain Pincebourde, chercheur au CNRS, pour sa contribution d'écologie, notamment pour le chapitre III. Merci également à Marc Saudreau du PIAF de Clermont pour avoir mis à disposition de façon régulière la caméra thermique.

Je remercie également Arvalis et le département Environnement et Agronomie de L'INRA pour avoir financé ma thèse. Merci à la Société Française de Phytopathologie pour avoir contribué financièrement à ma participation au colloque international sur la septoriose à Mexico.

J'ai enfin une pensée particulière pour mes parents, mes deux sœurs, et toute ma famille ;
merci pour votre soutien. Merci également à tous mes amis, Esaiens, Angevins, Hélusins qui
m'ont permis de décrocher régulièrement.

Je dédie ce travail à Léo, Chloé, Lilou et Louane.

TABLE DES MATIÈRES

Introduction générale.....	1
Chapitre I – Contexte, enjeux et objectifs de la thèse.....	7
La température : variable clé des modèles épidémiologiques foliaires	8
La température dans les modèles biologiques	9
Les sommes de degrés-jours.....	9
Réponse non-linéaire à la température	10
Prise en compte de la température dans les modèles épidémiologiques en pathologie végétale	11
Qu'est-ce qu'une épidémie ?	11
Principes généraux des modèles épidémiologiques	12
Le concept de pathochrone.....	13
Impact de la non-linéarité de la réponse à la température pour la prise en compte des fluctuations de températures	14
La température de feuille : mesure et modélisation	17
Pilote de la température de feuille : le bilan d'énergie.....	17
Température de feuille vs. température d'air	19
Les stomates : moteurs de la régulation thermique.....	19
Les différences de température entre la plante et l'air en conditions naturelles	19
La notion de phylloclimat.....	22
La modélisation de la température de feuille : les modèles SVAT.....	23
Modèle expérimental : la septoriose du blé	24
Cycle annuel de <i>M. graminicola</i>	24
Influence de la température sur les processus épidémiques et les composantes d'agressivité de la septoriose.....	25
Infection	25
Incubation	27
Latence : la composante d'agressivité la plus significative	29
Les modèles de développement épidémique de septoriose	32
Généalogie des modèles de septoriose	33
Prise en compte de la température dans les modèles de septoriose	35

Les sommes de températures	35
La non-linéarité	37
La prise en compte du phylloclimat.....	37
Le projet de thèse	39
Les enjeux.....	39
Objectifs de la thèse	41
Choix du contour de l'étude.....	41
Objectifs	41
Stratégie de la thèse.....	42
Le volet expérimental	42
Le volet modélisation et simulations	43

Chapitre II – The development of a foliar fungal pathogen does react to leaf temperature!..... 45

Abstract 47

Introduction 48

Materials and Methods 50

Plant material.....	50
Fungal material and leaf inoculation.....	50
Leaf temperature measurements	52
Lesion development	52
Curve fitting and disease assessment.....	52
Lesion and sporulating areas	52
Incubation and latent periods	53
Establishment of thermal performance curves.....	53
Analysis of leaf layer effect on latent period	54
Statistical analysis	54

Results 54

Disease dynamics.....	54
Latent period.....	58
Between-isolates variability	58
Effect of leaf layer on latent period	60

Discussion 60

Acknowledgments 63

Chapitre III – Leaf temperature fluctuation regime influences a leaf pathogen development: implications for epidemiological models..... 65

Introduction 67

Materials and Methods 68

Plant material 68

Fungal material and leaf inoculation 68

Leaf temperature fluctuations patterns 69

Leaf and air temperatures measurements 70

Lesion development and pycnidia density 70

Assessment of incubation and latent periods 70

Simulated latent period 71

Results 72

Effect of the leaf temperature fluctuation regime on the overall lesion development 72

Epidemiological variables 73

Comparison between simulated and observed latent periods 75

Discussion 77

Acknowledgments 80

Chapitre IV – How the spatial and temporal scales of temperature impact simulated foliar fungal disease: the case study of *Mycosphaerella graminicola* on wheat 81

Introduction 83

Materials and methods 84

Field experiment 84

Experimental setup 84

Field temperature measurements 85

Simulation of leaf and canopy air temperatures 85

Input data and parameters 86

Canopy structure 86

Septoria tritici blotch (STB) disease simulation 87

Results 88

Differences between types of temperature 88

Field temperature measurements 88

Simulated leaf and in-canopy air temperatures 92

Simulated disease 95

Effect of the time step on the simulated disease.....	95
Effect of the type of temperature on the simulated disease.....	95
Discussion	98
Acknowledgements	100
 <i>Conclusion Générale et Perspectives</i>	 <i>101</i>
Le développement des champignons pathogènes foliaires répond à la température, mais à quelle température ?	102
Revisiter le statut de la température en épidémiologie végétale	104
Comment établir une courbe de réponse d'un pathogène foliaire à la température de feuille ?.....	104
Modélisation de l'effet température en épidémiologie	105
Rétroaction de la maladie sur la température de feuille	108
Écologie : des méthodes pour étudier l'adaptation des champignons au changement climatique	109
 <i>Références Bibliographiques</i>	 <i>115</i>
 <i>Résumé</i>	 <i>131</i>
 <i>Abstract</i>	 <i>132</i>

INTRODUCTION

GÉNÉRALE

L'impact du climat sur les plantes cultivées est pour partie direct (température, rayonnement, précipitations etc.) mais également indirect de par son action sur le développement des autres espèces appartenant au même écosystème : agents pathogènes, insectes et adventices qui peuvent affecter le rendement des cultures (Coakley, 1988). La température notamment influence fortement la plupart des processus métaboliques des organismes vivants, et affecte donc presque tous les aspects de leur croissance et de leur développement (Campbell & Norman, 1998).

En épidémiologie végétale, une maladie est communément déterminée par une interaction tripartite entre un **peuplement végétal** (cultivé ou non), une **population parasite** et l'**environnement** dans lequel ces entités évoluent. Ce "triangle de maladie" (Mc New, 1960) se transforme en tétraèdre dès lors que l'on considère l'**homme** en tant qu'intervenant et gestionnaire des espèces cultivées (Zadocks & Schein, 1979). Le climat étant la composante essentielle de l'entité "environnement", il est essentiel d'analyser et de quantifier son influence au sein du triangle de maladie (Friesland & Schrödter, 1988). L'action du climat est complexe car il agit à la fois directement et indirectement par l'intermédiaire de nombreuses interactions ; la température, l'humidité ou le vent dépendent, par exemple, du mésoclimat (climat régional) qui va déterminer le microclimat (climat au sein du couvert végétal - Perrier, 1979). Dès lors, le climat ressenti par l'organisme étudié doit être parfaitement identifié et connu.

Cette thèse vise à étudier l'influence de la température sur les maladies fongiques foliaires. Dans ce cadre, étant donné que les organismes phytopathogènes se développent dans un premier temps à la surface des feuilles puis à l'intérieur des tissus végétaux, c'est la température de feuille qui pilote leur développement. Cependant, que ce soit lors d'études en conditions contrôlées ou au champ, ce constat a été largement ignoré par les épidémiologistes qui utilisent ou mesurent des températures d'air dans les enceintes à climat contrôlé ou utilisent celles mesurées par des stations météorologiques pour les expérimentations menées au champ. La température mesurées n'est alors qu'une approximation de la température de l'environnement plus ou moins proche de l'agent pathogène étudié. **Quel est l'impact de cette approximation pour l'étude et la compréhension du développement des agents pathogènes foliaires ?**

La température de feuille est-elle différente de la température de l'air (qui elle-même varie en fonction du lieu de mesure : dans le couvert ou de manière standard par une station

météorologique) ? La température de feuille résulte d'échanges d'énergie entre la feuille et son environnement. La température d'air (à proximité de la feuille) n'est qu'une des variables du bilan d'énergie qui déterminent la température de feuille. D'autres variables climatiques telles que le rayonnement solaire, le vent et l'humidité entrent en jeu. Des variables propres à la culture vont également influencer la température de feuille : l'état hydrique qui conditionne l'ouverture stomatique, la couleur des feuilles, etc. D'autre part, l'hétérogénéité spatiale (verticale notamment) d'une culture entraîne une hétérogénéité des environnements perçus par chaque feuille. Par exemple, les feuilles situées dans la partie haute du couvert reçoivent une quantité de rayonnement solaire plus importante que les feuilles situées dans le bas du couvert, qui sont pour la plupart ombrées par les étages supérieurs. En fonction de l'architecture du couvert (orientation des feuilles, longueur des entre-nœuds etc.), cette hétérogénéité est plus ou moins importante. L'ensemble des feuilles d'un couvert végétal constituent donc un environnement physique hétérogène générant une certaine gamme de températures de feuilles.

Par conséquent, la prise en compte d'une température d'air (dans le couvert ou par une station météorologique) pour étudier des agents pathogènes foliaires comporte potentiellement deux biais : (i) la température mesurée n'est pas celle réellement perçue par l'agent pathogène et (ii) l'hétérogénéité spatiale des températures au sein du peuplement n'est pas prise en compte.

Le modèle expérimental : la septoriose du blé

La production de blé dans le monde a atteint 696 millions de tonnes en 2010, faisant ainsi du blé la 4^e culture la plus produite dans le monde derrière la canne à sucre, le maïs et le riz (source : FAOSTAT). Elle se place au 1^{er} rang dans l'Union Européenne (139 millions de tonnes) et en France (41 millions de tonnes), qui est le 5^e producteur mondial derrière la Chine, l'Inde les États-Unis et la Russie.

L'appellation générique « septoriose du blé » regroupe en fait deux maladies fongiques foliaires responsables de pertes de rendement importantes dans toutes les zones de production céréalière. Le modèle expérimental de cette thèse est la septoriose (en anglais, *septoria tritici blotch*, STB) causée par le champignon ascomycète *Mycosphaerella graminicola* / *Septoria tritici* (récemment renommé *Zymoseptoria tritici*, encadré 1), qui attaque les feuilles et les gaines du blé. La septoriose (en anglais, *septoria glume blotch*), causée par *Phaeosphaeria nodorum* /

Septoria nodorum, attaque les feuilles mais aussi les épis et les grains de blé. En Europe du nord-ouest, la septoriose à *P. nodorum* a été dominante jusque dans les années 1980, lorsqu'elle a été supplantée par la septoriose à *S. tritici* ; l'évolution de la prévalence respective des deux maladies au Royaume-Uni, suivie sur une période de 160 ans, apparaît liée à la pollution atmosphérique, notamment par les émissions de dioxyde de soufre (Bearchell *et al.*, 2005).

ENCADRÉ 1. *Mycosphaerella graminicola* devient *Zymoseptoria tritici*.

La septoriose du blé étudiée dans cette thèse est causée par un champignon ascomycète, connu jusqu'à récemment sous les deux noms binomiaux de *Mycosphaerella graminicola* Fuckel (J. Schröt.) (téléomorphe - forme sexuée) et *Septoria tritici* Berk. & M.A. Curtis (anamorphe - forme asexuée). Une révision récente de la taxonomie du genre *Mycosphaerella*, basée sur le séquençage de l'ADN ribosomique 28S, a motivé la création du nouveau nom binomial *Zymoseptoria tritici* (Desm.) Quaedvlieg & Crous (Quaedvlieg *et al.*, 2011). Selon la dernière version de l'ICN (*International Code of Nomenclature for algae, fungi, and plants*), adoptée en juillet 2011 à Melbourne lors de l'*International Congress of Botany* et validant le principe *One fungus, one name* (Déclaration d'Amsterdam - Hawksworth *et al.*, 2011), le champignon devrait, dans le futur, être connu sous le seul nom de *Zymoseptoria tritici*. Cette nouvelle appellation étant encore peu répandue et n'ayant pas encore été incluse dans l'*Index Fungorum* (consulté le 16/10/2012), j'ai choisi de conserver l'appellation *Mycosphaerella graminicola* tout au long du manuscrit

En raison de son importance économique pour la production de blé et de certaines de ses caractéristiques intrinsèques, *M. graminicola* apparaît comme un champignon modèle, notamment pour l'étude de la dynamique et de l'évolution des populations pathogènes, de la génétique et de la génomique des interactions hôte-pathogène (Lucas *et al.*, 1999; Dean *et al.*, 2012). Également l'objet de nombreuses études épidémiologiques (Lucas *et al.*, 1999), *M. graminicola* est présent partout où le blé est cultivé et sur l'ensemble de son cycle de culture ; ainsi exposé à une très large gamme de températures, le champignon constitue un bon modèle d'étude de la réponse d'un agent pathogène à la température.

M. graminicola provoque l'apparition de tâches foliaires qui réduisent le potentiel photosynthétique des feuilles de blé par la réduction de la surface foliaire verte (Shaw & Royle, 1989; Parker *et al.*, 2004; Serrago *et al.*, 2009) et donc une diminution de l'assimilation de carbone nécessaire au remplissage des grains. Dans le cas de variétés de blé très sensibles, la septoriose peut ainsi occasionner des pertes de rendement de l'ordre de 20 à 50 % (Eyal, 1981; Simon *et al.*, 2002). Les variétés sensibles à *M. graminicola* ont été introduites dans les années 1970 (Shaw, 2009). Tandis que la superficie emblavée en blé a augmenté de 62 % en France entre 1970 (3,7 millions d'ha) et 2010 (5,9 millions d'ha), les traitements fongicides (enrobage des semences et pulvérisations foliaires) sont alors devenus la norme. Aucun cultivar de blé n'est totalement résistant à la septoriose. Par conséquent, la stratégie de lutte actuelle consiste à appliquer des fongicides appartenant principalement à deux familles : les strobilurines et les triazoles. On observe, depuis les années 2000, le développement de résistances aux strobilurines (Fraaije *et al.*, 2005) et une diminution de l'efficacité des triazoles (Clark, 2006; Jørgensen & Thygesen, 2006), rendant difficile la lutte contre la maladie. Le contexte politique et législatif français tend à favoriser une réduction de l'emploi des pesticides dans le cadre du plan Ecophyto 2018, qui a été mis en place par le ministère de l'agriculture et de la pêche à la suite du Grenelle Environnement, initié en mai 2007. Ce plan vise à "réduire de 50 % l'usage des produits phytosanitaires en agriculture, à l'horizon 2018, si possible", rendant nécessaire le développement de méthodes de lutte alternatives.

Afin d'améliorer la lutte contre la septoriose, il est donc indispensable de développer des méthodes complémentaires à la lutte chimique. Pour cela, il est serait intéressant d'améliorer les connaissances concernant l'influence de l'environnement physique sur les interactions hôte-pathogène.

La première partie du chapitre introductif de ce manuscrit fait le point sur les avancées et réflexions actuelles sur la prise en compte de la température dans les études épidémiologiques, les biais identifiés et les pistes proposées pour les résoudre. Il est l'occasion de se focaliser sur le pathosystème étudié. Enfin, l'objectif général de la thèse est décliné en sous-objectifs qui introduisent l'enchaînement des chapitres suivants.

Chapitre I

CONTEXTE, ENJEUX ET OBJECTIFS DE LA THÈSE

Cette étude bibliographique est constituée de quatre parties permettant d'illustrer et d'introduire l'ensemble des chapitres qui suivent. La **première partie** vise à démontrer que la température est un des principaux facteurs pilotant le développement des épidémies. La prise en compte de la température dans les modèles épidémiologique, ses limites et biais seront également détaillés. La **seconde partie** de cette étude bibliographique vise à justifier le choix de la température de feuille plutôt que celle de l'air en tant que variable pour étudier les épidémies foliaires et aborde la modélisation de la température de feuille. La **troisième partie** décrit dans un premier temps le pathosystème blé-septoriose qui est le modèle d'étude sélectionné puis fait l'état des lieux des connaissances sur l'impact de la température sur le développement de la maladie et les nombreux travaux de modélisation qui ont déjà été réalisés sur ce pathosystème. Enfin, la **quatrième partie** de ce chapitre détaille les enjeux, les objectifs de la thèse, ainsi que la stratégie adoptée pour les atteindre.

LA TEMPÉRATURE : VARIABLE CLÉ DES MODÈLES ÉPIDÉMIOLOGIQUES FOLIAIRES

Une épidémie est la progression d'une maladie dans le temps et l'espace, au sein d'un peuplement végétal¹ (Zadocks & Schein, 1979). Chaque épidémie a une structure dont les dynamiques spatiale et temporelle sont déterminées conjointement par les caractéristiques du pathosystème et les conditions environnementales (van Maanen & Xu, 2003). L'un des objectifs de l'épidémiologie végétale est de comprendre ces dynamiques spatio-temporelles via la modélisation mathématique et statistique (van Maanen & Xu, 2003). En tant que facteur important qui influence le développement des organismes, **la température est une variable clé pour leur modélisation.**

La modélisation des phénomènes biologiques, en tant qu'outil, introduit des concepts généraux qui sont applicables à de nombreux objets. Dans un premier temps, j'expliquerai comment, de manière générale, est prise en compte la température dans les modèles biologiques (plantes notamment) pour ensuite focaliser sur les modèles épidémiologiques. Les modèles spécifiques à la septoriose seront détaillés dans la troisième partie de ce chapitre.

¹ Une définition plus complète d'« épidémie » sera donnée plus loin dans ce document.

La température dans les modèles biologiques

Les sommes de degrés-jours

Depuis des siècles, des savants tels que René-Antoine Ferchault de Réaumur (1735) ont constaté l'influence de la température sur les cultures : *"On fait des récoltes des mêmes grains dans des climats de température fort différente ; on verra avec plaisir la comparaison de la somme des degrés de chaleur des mois pendant lesquels les blés prennent la plus grande partie de leur accroissement, et parviennent à une parfaite maturité dans les pays chauds, comme en Espagne, en Afrique, dans les pays tempérés, comme en France, et dans les pays froids, comme ceux du Nord".* On constate ici l'introduction du concept de "somme de degrés de chaleur" qui fut une avancée majeure pour la compréhension et la prévision du développement des cultures en fonction du climat (McMaster, 2005). Réaumur définit la somme de degrés de chaleur en prenant *"pour chaque jour un degré de chaleur moyenne ; et cela en ajoutant les degrés du thermomètre qui ont exprimé la plus petite chaleur du matin, aux degrés qui ont exprimé la plus grande chaleur de l'après-midi ; la moitié de cette somme m'a paru pouvoir être prise pour le degré de chaleur moyenne"*. Ce concept de "somme de degrés de chaleur", aujourd'hui appelé somme de degrés-jours ($\Sigma^{\circ}\text{J}$), est toujours d'actualité ; il s'agit de la méthode la plus couramment utilisée, notamment en agronomie, pour estimer et modéliser la longueur des phases de développement physiologique des cultures en fonction de la température (Bonhomme, 2000).

Cependant, cette méthode comporte certains biais, notamment en ce qui concerne les températures négatives, qui correspondraient théoriquement à un développement négatif. On considéra d'abord ces valeurs comme nulles (Durand, 1969). Plus tard, le concept de température de base (T_{base}) vint enrichir le calcul. La température de base est la température au-dessous de laquelle le phénomène biologique considéré n'évolue pas. De nombreuses études ont ensuite cherché à améliorer les prévisions à partir des sommes de degrés-jour, notamment en diminuant le pas de temps pris en compte pour le calcul des sommes de températures (McMaster, 2005).

Il existe deux techniques de calcul des sommes de degrés-jours qui diffèrent par la prise en compte de la température de base. La méthode utilisée n'est pas toujours explicitée dans les articles scientifiques, alors que, pour le blé, la somme de degrés-jours peut par exemple varier de 10 % selon la méthode utilisée (McMaster & Wilhelm, 1997). Cependant, l'un des principaux biais liés à l'utilisation des sommes de degrés-jours résulte de l'hypothèse d'une relation linéaire entre la température et le phénomène biologique (Bonhomme, 2000) ; ceci requiert

des précautions d'utilisation en fonction des gammes de températures dans lesquelles la relation linéaire est utilisée.

Réponse non-linéaire à la température

La température agit sur le fonctionnement des plantes en modifiant les activités enzymatiques (Bonhomme, 2000). Les courbes de réponse à la température ont généralement deux phases (Fig. I.1) : une partie croissante pour laquelle l'activation thermique des molécules augmente l'efficacité de la réaction et une partie décroissante rapide pour laquelle les hautes températures désactivent certaines enzymes (Bonhomme, 2000). La température optimale (T_{opt}) correspond au moment, entre les deux phases, où la vitesse de la réaction est la plus élevée. Les trois températures : minimale, optimale et maximale sont les températures dites cardinales.

La courbe de réponse à la température ne peut être considérée comme linéaire que sur une certaine gamme de températures (droite en tirets rouges – Fig. I.1). Selon Bonhomme (2000), l'erreur due au calcul des sommes de température dépend (i) de la gamme de température dans laquelle se produit la réaction et (ii) de l'amplitude des températures dans la journée.

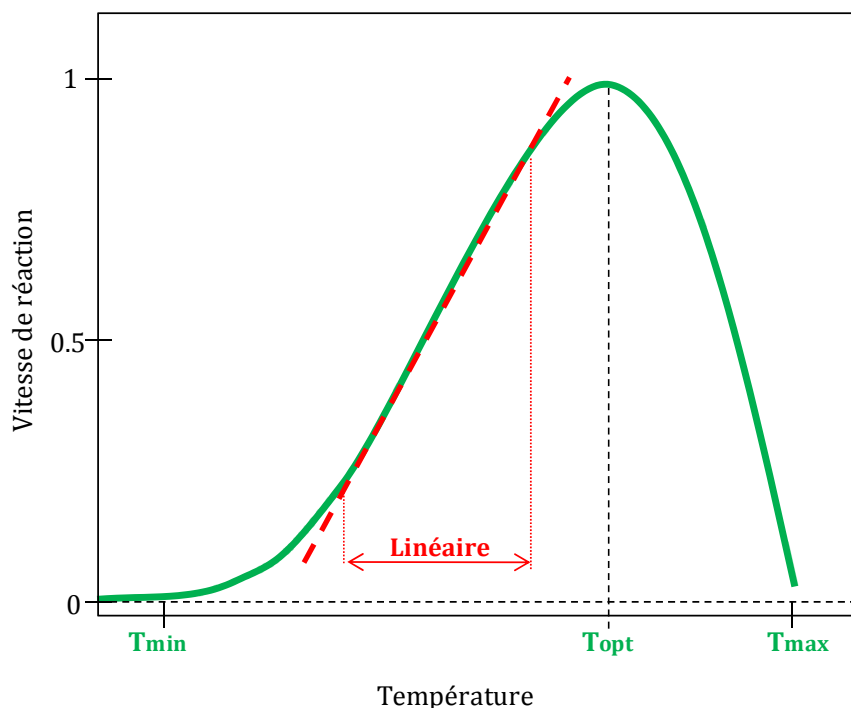


Fig. I.1 : Courbe de réponse classique (en vert) d'un phénomène biologique à la température.

À partir de cette constatation, de nombreux autres types de modèles s'ajustant mieux à la courbe de réponse ont été proposés : les modèles bilinéaires, multilinéaires, exponentiels, polynomiaux, fonction puissance, logistique, beta distribution (courbe verte de la figure 1) etc. (Yan & Hunt, 1999; Li *et al.*, 2008). Ces modèles sont plus ou moins précis. Ceux tels que le modèle de bêta distribution incorporent la réponse du taux de développement observé à la température de façon plus précise (McMaster, 2005) : leurs paramètres sont en nombre restreint (Yin *et al.*, 1995) et ont généralement une signification physiologique (Li *et al.*, 2008).

Prise en compte de la température dans les modèles épidémiologiques en pathologie végétale

Qu'est-ce qu'une épidémie ?

Une épidémie est la progression d'une maladie dans le temps et dans l'espace (Zadocks & Schein, 1979; Kranz, 1990). De par sa nature même, une épidémie est donc un phénomène dynamique (Rapilly & Jolivet, 1976). Elle peut résulter d'un seul cycle de développement du parasite; la dynamique est alors dite monocyclique. Pour de nombreuses maladies, cependant, la dynamique épidémique résulte d'une succession et une juxtaposition de plusieurs cycles de développement; la dynamique est alors dite polycyclique. L'étude de la structure temporelle d'une épidémie passe par la caractérisation de différentes étapes du **cycle parasitaire** et par l'étude du ou des facteurs affectant chacune de ses étapes (Savary, 1995). Ces étapes du cycle sont également appelées **processus épidémiques**. Un cycle est donc un ensemble de processus qui se succèdent dans le temps (Fig. 1.2). L'infection, le développement et la sporulation ont une dimension essentiellement temporelle et se passent à l'interface feuille - champignon, alors que la dispersion a une dimension spatio-temporelle et se passe à des échelles d'espace, voire de temps beaucoup plus étendues.

Le terme processus sous-entend un changement d'état total ou partiel de l'agent pathogène. Dans le cas de la septoriose et d'autres maladies foliaires, quatre processus peuvent être formalisés : l'**infection** (germination des spores et pénétration dans la feuille), le **développement des lésions** (croissance de l'agent pathogène au sein de la feuille), la **sporulation** (formation des spores) et la **dispersion** (libération, transport et dépôt des spores). Bien qu'il soit aisé de concevoir les différences d'état de l'agent pathogène entre chaque processus épidémique, il n'est pas aussi aisé de les distinguer visuellement. Ainsi, des

composantes d'agressivité (Pariaud *et al.*, 2009; Suffert *et al.*, 2011a), ont été définies par les épidémiologistes : périodes d'incubation et de latence notamment (Lannou, 2012).

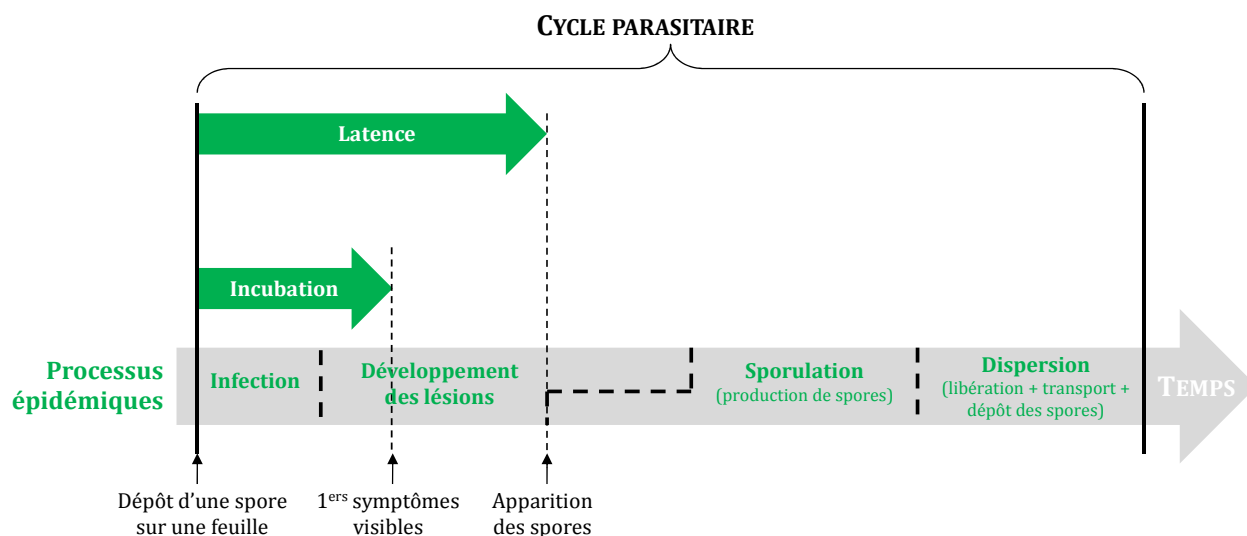


Fig. I.2 : Schéma du cycle parasitaire et de ses composantes.

Principes généraux des modèles épidémiologiques

Les modèles épidémiologiques ont été développés beaucoup plus récemment que les modèles agronomiques. Cependant, le lien entre l'incidence des maladies et les conditions climatiques a suscité la recherche de méthodes de prévision basées sur des données météorologiques (Schrödter, 1975). La température joue un rôle clé pour la plupart des phases de développement des champignons pathogènes (Tab. I.1).

De nombreux modèles épidémiologiques utilisent le temps physique (nombre d'heures, de jours) pour étudier le développement des agents pathogènes (Lovell *et al.*, 2004c) ; d'autres, s'inspirant des modèles agronomiques, utilisent les sommes de degrés-jours pour prendre en compte l'impact de la température sur le développement des maladies. Compte tenu de la durée du cycle de développement des agents pathogènes, Friesland et Schrödter (1988) conseillent d'utiliser au minimum des données horaires. Ils précisent que la variation de température au cours de la journée ne suit pas une loi normale et proposent donc, dans le cas où seules les températures minimales et maximales sont disponibles, de réaliser une

transformation afin d'ajuster au mieux la transformation à la courbe de température réelle. Malgré cela, les périodes d'incubation et de latence sont souvent exprimées en degrés-jour, faisant l'hypothèse d'une relation linéaire entre la température et le développement de l'agent pathogène, et sans prise en compte les fluctuations de températures.

Tab. I.1 : Facteurs météorologiques influençant les phases du cycle des maladies fongiques (d'après Friesland & Schrödter, 1988).

PHASES	FACTEURS MÉTÉOROLOGIQUES
Infection (dont germination)	Pour la plupart des champignons, toute source d'eau libre sur les feuilles (hormis pour les oïdiums) : pluie, rosée, brouillard, irrigation ou guttation ; <u>température</u> ; <i>lumière</i> (?)
Incubation, latence et croissance des lésions	Durée des <u>températures</u> favorables
Sporulation	Pour la plupart des champignons, eau libre sur les feuilles (inhibe la sporulation pour les rouilles et les oïdiums) et/ou humidité relative élevée ; <u>température</u> ; lumière dans certains cas
Dispersion des spores	Vitesse du vent ; <u>température</u> ; humidité relative ; pluie ou arrosage pour la dispersion par splash
Survie des spores et intersaison	<u>Température</u> (gel notamment) ; humidité relative ; rayonnement (notamment UV)

Le concept de pathochrone

Pour les maladies foliaires qui se développent et montent dans le couvert parallèlement à la croissance de l'hôte, la synchronie entre le développement de la plante et celui de l'agent pathogène est primordiale. En effet, plus une maladie se développe rapidement (cycle infectieux rapide), plus l'agent pathogène peut coloniser rapidement les étages foliaires supérieurs. C'est en étudiant la relation entre la vitesse d'apparition des feuilles (phyllochrone : durée entre l'apparition de deux feuilles successives) chez l'orge et la période de latence de *Puccinia hordei* (agent responsable de la rouille brune de l'orge) que Beresford et Royle (1988) ont défini le concept de **pathochrone**, qui correspond au nombre de phyllochrones par période de latence. Ainsi, plus la valeur du pathochrone est élevée, plus la distance à parcourir pour l'agent pathogène est importante, rendant plus difficile la contamination des étages supérieurs.

Pour la rouille brune de l'orge, le pathochrome est de l'ordre de 2 à 3 : entre 2 et 3 feuilles apparaissent le temps d'une génération de l'agent pathogène.

Cet indicateur peut être très utile pour étudier la dynamique de nombreux pathosystèmes. En règle générale, plus l'expansion des feuilles est rapide et la période de latence longue, plus la croissance du peuplement limitera l'expression de la maladie (Royle, 1994). Selon un modèle simulant le développement de la septoriose, proposé par Lovell *et al.* (1997), lorsque la température de l'environnement augmente, le risque de transfert d'inoculum vers les étages foliaires supérieurs diminue car le pathochrome augmente. Le nombre d'étages foliaires qui émergent pendant la période de latence de la septoriose (Fig. I.3) varie ainsi entre 1,7 et 2,9 en fonction de la température moyenne (Lovell *et al.*, 1997).

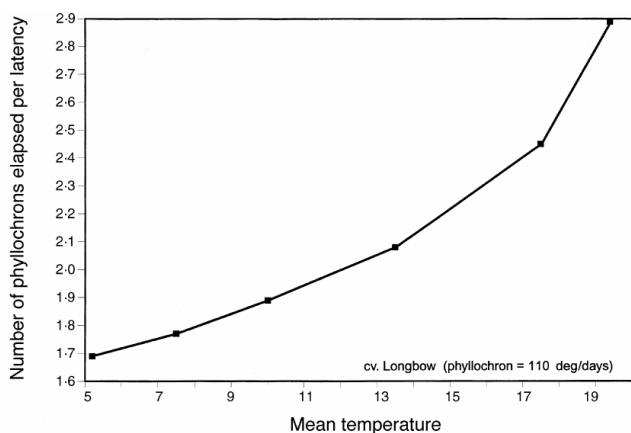


Fig. I.3 : Variation du pathochrome pour *M. graminicola* en fonction de la température moyenne pour la variété Longbow (phyllochrone = 110°J) (Lovell *et al.*, 1997)

Impact de la non-linéarité de la réponse à la température pour la prise en compte des fluctuations de températures

Les interactions thermiques hôte-pathogène se produisent à des échelles de temps inférieures à la journée : par exemple, les spores de nombreux champignons pathogènes peuvent germer en moins de 12 h (Scherm & van Bruggen, 1994b). Ainsi, l'utilisation de températures journalières pour simuler ce type de processus est inadaptée. Il est fondamental d'adapter le pas de temps au processus étudié. De plus, la majorité des travaux visant à étudier l'impact de la température sur les maladies démontrent une relation non-linéaire à la température ; cependant, cette non-linéarité a souvent été ignorée par les auteurs (Xu, 1996).

Afin d'étudier l'impact de la prise en compte des températures moyennes dans le cas de températures fluctuantes (telles qu'on peut les rencontrer au champ), Scherm et van Bruggen (1994b) ont réalisé une étude théorique sur le développement d'un agent pathogène en faisant varier trois paramètres d'une courbe de réponse classique à la température : l'amplitude des fluctuations de température (fluctuations sinusoïdales autour d'une moyenne), les températures cardinales et le degré de non-linéarité de la courbe de réponse. Deux conclusions peuvent être tirées de cette étude : (i) il peut y avoir des différences substantielles entre le développement des agents phytopathogènes à des températures constantes et leur développement à des températures fluctuantes, et (ii) des données de température moyenne, sans information sur l'amplitude des fluctuations de température, peuvent ne pas être suffisantes pour simuler précisément leur développement. De manière générale, les auteurs constatent que les différences de développement entre températures constantes et fluctuantes augmentent lorsque la température moyenne est proche des températures cardinales (zone de non-linéarité importante) et lorsque la gamme de températures pour laquelle le développement peut être considéré comme linéaire est étroite. De plus, la prise en compte de températures fluctuantes a tendance à aplatir la courbe de réponse à la température et donc à diminuer l'effet de la température (Scherm & van Bruggen, 1994b). Cela a également été observé par les mêmes auteurs (Scherm & van Bruggen, 1994a) lors d'une expérimentation sur le mildiou de la laitue (*Bremia lactucae*) démontrant une accélération du développement lorsque les températures sont fluctuantes. Compte tenu de ces résultats, les auteurs remettent en question l'utilité des courbes de réponses établies à température constante dans des modèles utilisant des données de températures fluctuantes (données météorologiques).

En écologie, la prise en compte de la variance des variables explicatives (« predictor variables ») et des variables à expliquer (« response variables ») s'est faite plus tôt et de façon plus importante (Fig. 1.4). C'est surtout la variance des variables de réponse, le plus souvent en association avec des changements de moyenne, qui a attiré l'attention des écologues (Benedetti-Cecchi, 2003). En revanche, moins d'études ont considéré la variance des variables explicatives pour expliquer les tendances observées (Butler, 1989; Benedetti-Cecchi, 2001). Cet écart reflète les difficultés de conception et d'exécution des expériences pour tester des hypothèses de variation des processus écologiques.

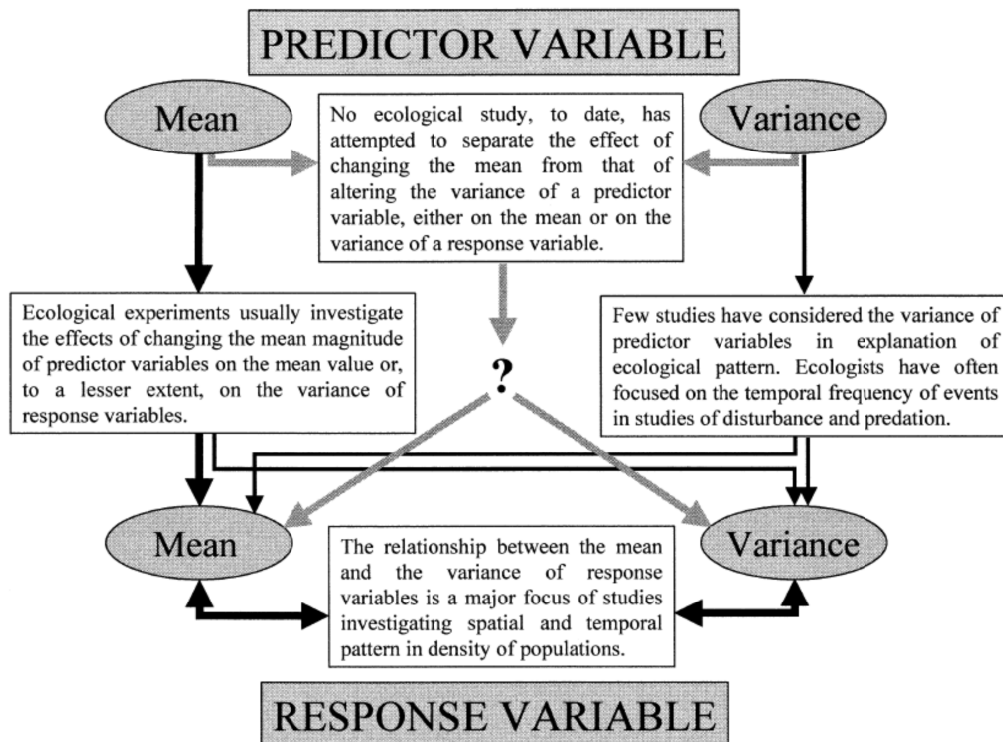


Fig. 1.4 : Distinction entre moyenne et variance des variables explicatives et de réponse et comment elles sont traitées dans les études écologiques. L'épaisseur des flèches noires est proportionnelle à leur importance relative (quantité d'études qui les considèrent). Les flèches grises et le point d'interrogation identifient les lacunes de la recherche en écologie (identifiées en 2003 par Benedetti-Cecchi).

ENCADRÉ 2. Synthèse des biais identifiés

Les principaux biais identifiés dans la prise en compte de la température au sein des modèles biologiques sont (i) l'utilisation des sommes de degrés-jours, qui ne permet pas de prendre en compte la réponse non linéaire des processus biologiques à la température, et (ii) l'utilisation des températures moyennes journalières, qui fait abstraction du régime journalier de fluctuation des températures.

Cette thèse vise à étudier l'influence de la température sur les maladies fongiques foliaires. Dans ce cadre, étant donné que ces organismes se développent dans un premier temps à la surface des feuilles puis à l'intérieur des tissus végétaux, c'est la température de feuille qui pilote leur développement. Pourtant, c'est toujours la température d'air qui est considérée pour l'étude et la modélisation des maladies foliaires. Comment la température de feuille diffère-t-elle de la température d'air ? Est-il justifié de la prendre en compte ?

LA TEMPÉRATURE DE FEUILLE : MESURE ET MODÉLISATION

Pilote de la température de feuille : le bilan d'énergie

La température est un indicateur de la quantité d'énergie thermique dans un système (Sutcliffe, 1977). Elle affecte l'ensemble des processus physiologiques d'une plante depuis les réactions enzymatiques jusqu'aux processus physiques tels que la transpiration (Lambers *et al.*, 2008). Même si la température est un excellent outil pour l'étude des processus physiologiques en général, ses effets ne sont pas spécifiques puisque pratiquement tous les processus sont influencés simultanément par la température et d'autres facteurs générant des interactions (Went, 1957; Colhoun, 1973). En raison de leur production de chaleur relativement faible par rapport à leur masse, et d'une surface importante et peu isolée contre les pertes de chaleur, les plantes sont essentiellement poïkilothermes ou ectothermes : leur température évolue au gré des changements de température extérieure (Sutcliffe, 1977). La température de l'air au sein d'un couvert végétal peut toutefois être sensiblement différente de la température de l'air mesurée par les méthodes météorologiques standards. De plus, la température d'un organe de plante peut elle-même être différente de la température de l'air environnant (e.g. Linacre, 1964; Smith, 1978; Helmuth, 2002; Lambers *et al.*, 2008). Ainsi, il est indispensable de différencier le microclimat et le phylloclimat² (Chelle, 2005), notamment à travers le **bilan d'énergie** des organes pour comprendre la réponse physiologique des plantes à leur « vrai » environnement.

Un organisme vivant est rarement à l'équilibre thermique avec son microenvironnement, donc la température de l'environnement n'est qu'un des facteurs qui détermine la température d'un organisme (Campbell & Norman, 1998). Les autres facteurs qui l'influencent sont les flux de chaleur rayonnante sensible et latente vers et à partir de l'organisme et le stockage de chaleur (Campbell & Norman, 1998). L'application du premier principe de la thermodynamique à une feuille implique que la différence entre l'ensemble des flux d'énergie qui entrent et sortent d'un système est nulle (Gates, 1968). Ainsi, la température foliaire résulte des échanges de matière (eau et CO₂) et d'énergie entre la feuille et son environnement. La température est particulièrement critique pour les feuilles, siège de la photosynthèse et exposées directement aux variations climatiques. La température d'une feuille est déterminée par son **bilan d'énergie**

² Cette notion sera développée plus loin dans ce document.

qui prend de nombreuses formes selon les auteurs. J'ai choisi celle proposée par Campbell et Norman (1998) adaptée à une feuille :

$$R_{abs} - L_{oe} - H - \lambda E = 0 \quad \text{Eqn. I.1}$$

Avec R_{abs} le rayonnement absorbé par la feuille qui provient directement ou indirectement du soleil (rayonnement transmis par les nuages, réfléchi par le sol), L_{oe} le rayonnement émis par la feuille dans les grandes longueurs d'ondes, H les pertes et gains de chaleur sensible qui dépendent de la différence de température entre la feuille et l'air, du vent (perte d'énergie par convection forcée) et des caractéristiques physiques de la feuille, λE les pertes ou gains de chaleur latente dus aux changements d'états de l'eau (transpiration, rosée, gel...). Le stockage de chaleur ainsi que les chaleurs métaboliques (respiration et photosynthèse) sont ignorés car négligeables dans le cas d'une feuille.

Soit une fois l'équation I.1 développée :

$$R_{abs} - \varepsilon_s \sigma T_L^4 - c_p g_{Ha} (T_L - T_a) - \lambda g_v \frac{e_s(T_L) - e_a}{p_a} = 0 \quad \text{Eqn. I.2}$$

Avec ε_s l'émissivité de la surface de la feuille, σ la constante de Boltzmann, T_L la température de la feuille, c_p la chaleur spécifique de l'air à pression constante, g_{Ha} la conductance de la couche limite, T_a la température de l'air, λ la chaleur latente de vaporisation de l'eau, g_v la conductance de la vapeur qui inclut la conductance de la couche limite et la conductance stomatique, $e_s(T_L)$ la pression de vapeur saturante de l'eau à la température T_L , e_a la pression de vapeur partielle de l'eau dans l'air, et p_a la pression atmosphérique.

L'expression détaillée des composantes du bilan d'énergie de la feuille (Eqn. I.2) montre que toute modification d'une des composantes du bilan d'énergie modifie la température de feuille (Lambers *et al.*, 2008). Ainsi, le calcul du bilan d'énergie d'une feuille permet finalement de déterminer la température d'une feuille à partir de quatre variables : le rayonnement net, la

température de l'air, le vent et le déficit de pression de vapeur. Ces variables impactent la température de feuille de façon directe et indirecte. Par exemple, le rayonnement influence l'ouverture stomatique qui dépend également d'autres variables, notamment le statut hydrique de la culture. La détermination de la température de feuille par le bilan d'énergie démontre que celle-ci est différente de la température de l'air, plus ou moins en fonction des conditions climatiques et des caractéristiques de la feuille.

Température de feuille vs. température d'air

Les stomates : moteurs de la régulation thermique

Plus une plante transpire, plus sa température diminue via les pertes de chaleur latente. C'est par le processus de transpiration au travers des stomates que la plante régule sa température et les échanges gazeux pour la photosynthèse (Campbell, 1995). La conductance stomatique constitue le principal moyen de contrôle rapide pour réduire la transpiration. Sensibles à de multiples facteurs tant externes (lumière, état hydrique de l'air, température, teneurs en CO₂ et O₂ de l'air) qu'interne (acide abscissique et autres composés chimiques, état hydrique de la feuille, stade de développement etc.), les stomates ont tendance à se fermer lorsque l'air est sec, la température de l'air trop élevée et l'état hydrique des feuilles insuffisant (Cruiziat, 1997). Lorsque l'ouverture stomatique est maximale (en l'absence de déficit hydrique), l'essentiel de l'énergie absorbée par le couvert est dissipé par transpiration et l'élévation de la température du couvert est alors limitée. En situation de déficit hydrique, la fermeture des stomates réduit le flux transpiratoire entraînant alors une augmentation de la température de feuille (Ehrler *et al.*, 1978b; Shahenshah & Isoda, 2010).

Les différences de température entre la plante et l'air en conditions naturelles

Dans des conditions climatiques extrêmes, les différences de températures entre une feuille et l'air peuvent être importantes. Smith (1978) a mesuré dans le désert du Sonora en Californie des températures de feuille pour diverses plantes pérennes jusqu'à 20°C supérieures et 18°C inférieures à la température d'air. À Taiwan, pour deux espèces de plantes de prairies subalpines à 2600 mètres d'altitude, la différence de température de feuille et d'air peut atteindre 15°C et est proportionnelle à la quantité de rayonnement PAR (Weng & Liao, 2001).

Selon Ehler *et al.* (1978b), cette différence dépend également du potentiel hydrique de la plante, qui dépend lui-même de la teneur en eau du sol. Sous nos latitudes, bien que le climat tempéré ne permette pas d'atteindre de telles différences, les différences à l'échelle d'une parcelle peuvent atteindre plusieurs degrés (Fig. I.5).

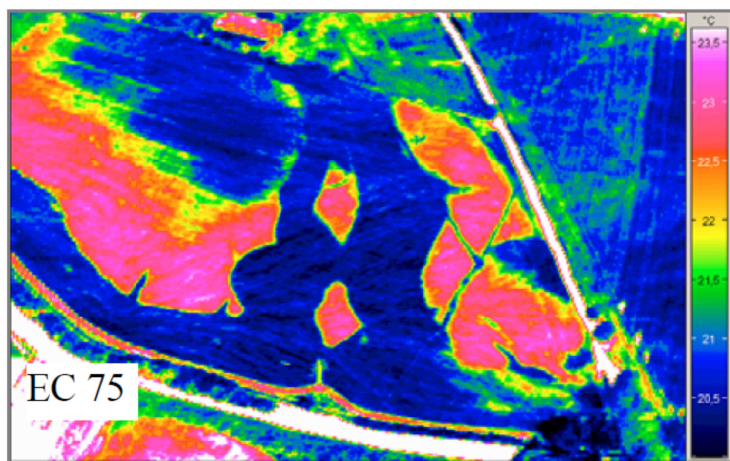


Fig. I.5 : Image thermographique d'un champ de blé en Allemagne (Lenthe *et al.*, 2007).

De manière générale, les signes des composantes du bilan d'énergie d'une feuille s'inversent la journée par rapport à la nuit. En journée, en conditions ensoleillées, les températures de feuilles sont généralement supérieures à celle de l'air. Cependant, si la température d'air est très élevée (de l'ordre de 30-35°C), les feuilles deviennent plus froides que l'air, à condition que la disponibilité en eau soit suffisante pour la transpiration (Drake *et al.*, 1970). L'orientation des feuilles et le taux d'humidité ont également un impact sur la différence de température entre l'air et la feuille. La nuit, par ciel clair, les feuilles ont tendance à être plus froides que l'air (Sutcliffe, 1977; Shaw & Decker, 1979). En conditions nuageuses, les feuilles sont à une température proche de celle de l'air (Shaw & Decker, 1979).

J'ai mené en 2010 une expérimentation consistant à mesurer des températures dans une parcelle de blé (cv. Soisson) à Grignon. L'objectif de ces mesures était d'avoir un aperçu des différences de températures entre (i) la température de l'air mesurée par une station météorologique, (ii) la température de l'air mesurée dans un couvert de blé et (iii) la température des feuilles des étages supérieures. Les résultats confirment les observations des auteurs précédemment cités, à savoir que la différence entre la température d'air et de feuille peut atteindre plusieurs degrés (Fig. I.6 a). Cette différence est plus importante par ciel clair que par ciel couvert (Fig. I.7 a-b). Enfin, la différence absolue entre la température de l'air et des feuilles mesurées sur une période d'un mois et demi est supérieure à 1°C dans 50 % des cas

(Fig. I.6 b). L'intérêt d'utiliser la température de feuille pour étudier le développement des agents pathogènes foliaires est donc avéré.

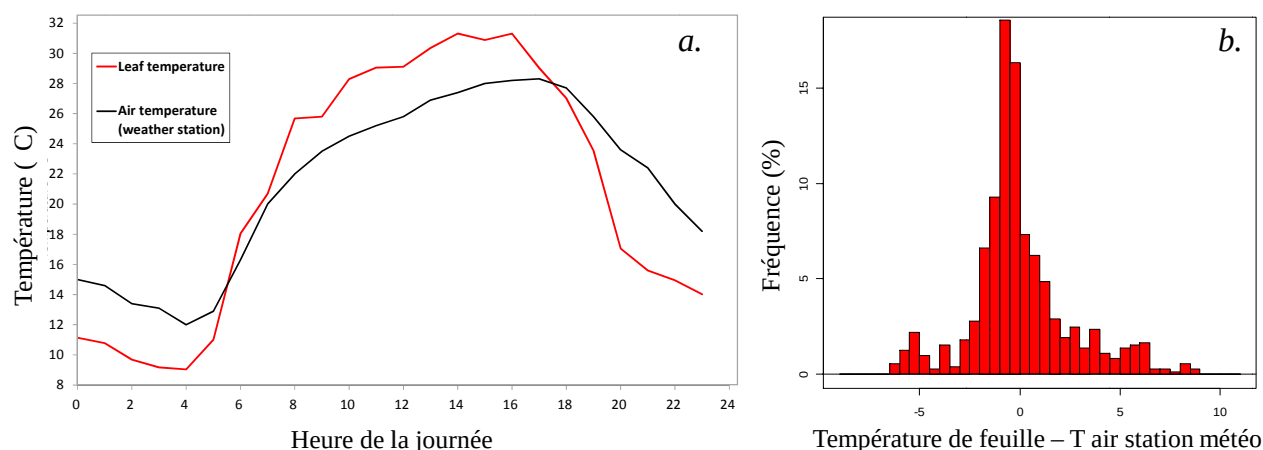


Fig. I.6 : *a.* Évolution des températures de feuille et d'air (station météorologique) au court d'une journée ensoleillée. *b.* Distribution des fréquences des différences de température entre la feuille drapeau et la température de l'air mesurée par une station météorologique positionnée à 1 km de la parcelle entre le 2 juin et le 15 juillet 2010. Expérimentation menée dans une parcelle de blé (cv. Soisson) à Grignon, France.

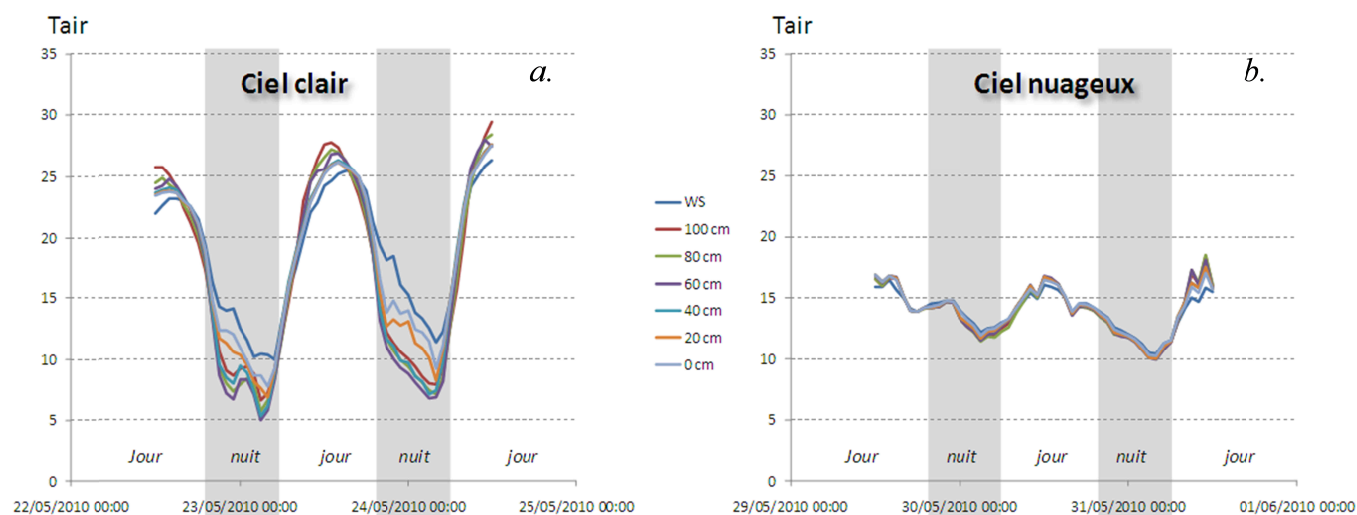


Fig. I.7 : Évolution des températures d'air mesurées à 6 hauteurs (0 à 100 cm, tous les 20 cm) dans un couvert de blé et par une station météorologique (WS) placée à 1 km de la parcelle. *a.* Condition de ciel clair (mesures entre le 22/05/2010 à 12h et le 24/05/2010 à 12h). *b.* Condition de ciel nuageux (mesures entre le 29/05/2010 à 12h et le 31/05/2010 à 12h). Expérimentation menée dans une parcelle de blé (cv. Soisson) à Grignon, France.

La notion de phylloclimat

Les mesures normalisées des stations météorologiques sont représentatives du climat local (mésoclimat), qui concerne une surface plus ou moins large autour de la station de mesure (Lhomme, 1995). La mesure du climat est standardisée : l'ensemble des variables climatiques doit être mesuré à 2 m de hauteur au-dessus d'un gazon. Le microclimat correspond à ces mêmes variables climatiques telles qu'elles peuvent être observées à tous les niveaux dans une tranche d'air donnée, à l'intérieur ou au-dessus d'un couvert végétal (Hallaire *et al.*, 1969). Au même niveau dans le couvert végétal, la température ou l'humidité moyenne dans l'air constituent des données microclimatiques tandis que la température ou l'humidité à la surface même d'une feuille, ou d'un fruit, constituent des données "micro-microclimatiques". Ce sont ces dernières auxquelles se trouvent généralement soumis les microorganismes à certaines phases de leur développement, et qu'en toute rigueur les phytopathologistes doivent prendre en considération (Hallaire *et al.*, 1969).

Pour prendre en compte la forte hétérogénéité microclimatique, tant spatiale que temporelle, des organes végétaux au sein d'un couvert évoquée précédemment, Chelle (2005) introduit le concept de **phylloclimat** qu'il définit comme étant l'environnement physique réellement perçu par chacun des organes aériens d'un peuplement végétal. Le phylloclimat est décrit par des variables physiques telles que l'éclairement, la température, la présence d'eau sur les organes et les caractéristiques de l'air au voisinage des organes (vitesse du vent, température, humidité relative). Plusieurs auteurs ont déjà démontré la pertinence d'utiliser une autre variable que la température de l'air pour modéliser la croissance aérienne des végétaux. Citons par exemple les travaux de Duburcq *et al.* (1983), qui montrent que la vitesse de développement du maïs jusqu'à l'initiation de la floraison mâle est mieux corrélée à la température du sol mesurée à 10 cm de profondeur qu'à celle de l'air mesurée à 2 m sous abri (méthode standard). Vinocur et Ritchie (2001) confirment qu'il existe des différences importantes entre la température de l'air et celle de l'apex et que l'utilisation de la température du sol permet d'améliorer les simulations de croissance du maïs entre le semis et l'apparition de la 9^e feuille. Jamieson *et al.* (1995) démontrent qu'un modèle d'apparition des feuilles de blé basé sur l'estimation de la température du sol et du peuplement permet une meilleure prévision que les modèles basés sur la température de l'air. Enfin, en pathologie végétale, selon les travaux de Jiménez (1996), l'utilisation de la température de l'air au lieu de la température de la dernière feuille formée du bananier plantain conduit à sous-estimer les conditions

défavorables à la germination des ascospores et au développement des tubes germinatifs du champignon *Mycosphaerella fijiensis*, agent de la maladie des raies noires du bananier. À l'inverse, Bonde *et al.* (2012) ont étudié l'effet des fluctuations de température sur le champignon *Phakopsora pachyrhizi*, responsable de la rouille du soja, en mesurant simultanément les températures d'air et de feuilles dans des chambres de culture. Constatant que les températures de l'air et de feuilles étaient presque identiques, les auteurs concluent que l'utilisation de la température d'air est pertinente. Leurs résultats font toutefois figure d'exception ; il a été largement prouvé que les variations environnementales non contrôlées dans des chambres de culture et les serres génèrent une hétérogénéité des températures de l'air (Potvin *et al.*, 1990; Demrati *et al.*, 2007) et des feuilles (Kichah *et al.*, 2012).

La caractérisation expérimentale du phylloclimat et notamment la température de feuille, est difficile et nécessite de nombreux instruments. Il est donc illusoire de l'envisager comme une opération de routine pour étudier les plantes et leurs interactions avec leur environnement (Chelle, 2005). Pour cette raison, la modélisation de la température de feuille couplée à la caractérisation de lois de réponse à cette variable phylloclimatique semble une étape indispensable pour l'étude de phénomènes à cette échelle.

La modélisation de la température de feuille : les modèles SVAT

La végétation joue un rôle important en météorologie et en hydrologie par son impact sur les flux d'eau verticaux et latéraux qui dépendent non seulement de la nature du couvert végétal, mais également de l'évolution saisonnière et interannuelle de sa photosynthèse et de sa transpiration (Rivalland, 2003). Les modèles SVAT (Soil-Vegetation-Atmosphere Transfer) simulent les transferts d'énergie et de matière qui s'opèrent entre le sol, la végétation et l'atmosphère. De très nombreux modèles SVAT ont été développés au cours des 30 dernières années (Oliosio *et al.*, 2002) ; certains, tels que les modèles SHAW (Simultaneous Heat And Water) (Simultaneous Heat And Water - Flerchinger & Saxton, 1989) et CUPID (Norman, 1979) ont été testés pour leur aptitude à simuler les températures de feuilles (Xiao *et al.*, 2006; Huang *et al.*, 2011).

MODÈLE EXPÉRIMENTAL : LA SEPTORIOSE DU BLÉ

Cycle annuel de *M. graminicola*

M. graminicola est un champignon parasite hémibiotrophe : il se développe à l'intérieur des feuilles de blé vivantes puis entraîne la destruction des cellules végétales dans lesquelles il termine son développement.

Une revue sur la phase précoce du développement de *M. graminicola* réalisée par Suffert *et al.* (2011b) suggère qu'une épidémie de septoriose du blé est plus complexe que généralement admis. L'inoculum primaire, essentiellement constitué d'ascospores provenant de la reproduction sexuée, est responsable des infections précoces des semis de blé (Fig. 1.8). Il provient des débris de blé de l'année précédente et est dispersé par le vent sur les semis à la fin de l'automne et au début de l'hiver, période correspondant au pic de production des ascospores (Shaw & Royle, 1989; Hunter *et al.*, 1999). La quantité d'inoculum primaire présent dans les résidus conditionne donc fortement le potentiel de développement de la maladie pendant ses phases les plus précoces (Royle *et al.*, 1986; Suffert & Sache, 2011).

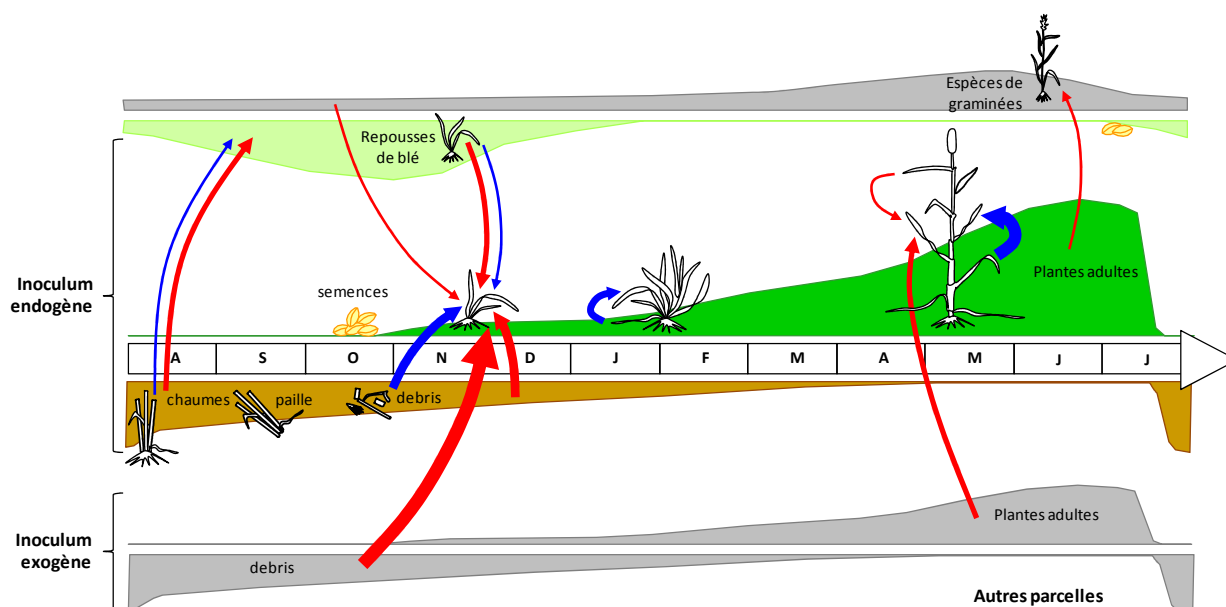


Fig. 1.8 : Cycle de développement annuel de *M. graminicola* (d'après Suffert *et al.*, 2011b). Les flèches rouges représentent les flux d'ascospores et les flèches bleues les flux de pycnidiospores. La largeur des flèches est proportionnelle à l'importance quantitative des processus de contamination.

Une fois la septoriose installée sur les plantules, la propagation verticale de la maladie, vers les étages supérieurs du couvert, se fait par "splashing" de pycnidiospores produites et libérées depuis les feuilles malades des étages foliaires inférieurs. Les organes sporifères, les pycnides, abritent les pycnidiospores au sein d'un gel constitué de substances hydrosolubles. Seule l'extrémité de la pycnide pointe hors de la feuille, formant un cirrhe par exsudation. Lorsqu'une goutte d'eau frappe le cirrhe, les spores sont incorporées au sein d'un film d'eau s'étendant à la surface de la feuille et mettant en suspension le contenu des cirrhes voisins. Les gouttelettes d'éclaboussure issues de la fragmentation des gouttes incidentes sont alors capables d'incorporer des spores et de les "splasher" vers d'autres parties du couvert végétal, généralement assez proches (Rapilly, 1991). Au cours de la vie de la feuille, les lésions primaires produisent des spores qui assurent le développement des lésions secondaires (Shaw & Royle, 1993). Ces spores sont majoritairement des pycnidiospores issues de la reproduction asexuée. Lovell *et al.* (2004b) ont cependant démontré que l'infection des trois derniers étages foliaires du blé peut se produire en l'absence de pluies (splash), soit par des ascospores (transport éolien), soit par contact direct avec des feuilles malades (favorisé par le vent). Cependant, compte tenu de leur plus longue période de latence par rapport aux pycnidiospores, les ascospores affectent peu la sévérité finale d'une épidémie de septoriose (Eriksen *et al.*, 2001).

Influence de la température sur les processus épidémiques et les composantes d'agressivité de la septoriose

Infection

Pour qu'une infection se produise, un agent pathogène foliaire biotrophe doit arriver sur une feuille, pénétrer et coloniser des tissus vivants, puis résister à un environnement hostile qui comprend notamment les mécanismes de défense de l'hôte (Lucas, 2004). Le processus d'infection de *M. graminicola* est caractérisé par la germination des spores entraînant la formation d'hyphes mycéliens (Fig. I.9), lesquels pénètrent dans la feuille essentiellement (voire exclusivement selon les auteurs) via les stomates (Cohen & Eyal, 1993; Kema *et al.*, 1996; Cunfer, 1999; Rohel *et al.*, 2001; Palmer & Skinner, 2002). La capacité germinative des spores de *M. graminicola* est très élevée. À 22°C et en conditions humides, Cohen et Eyal (1993) rapportent que 85 à 90 % des spores présentes sur des feuilles de blé ont germé seulement 24

heures après l'inoculation. Plusieurs hyphes mycéliens peuvent pénétrer la feuille par le même stomate (Kema *et al.*, 1996).

Les spores initient leur développement uniquement si elles se trouvent dans un environnement qui satisfait certaines conditions (Lucas, 2004). Dans le cas de *M. graminicola*, la température et l'humidité sont les variables majeures qui conditionnent cette initiation.

La température affecte la germination des spores et la croissance des hyphes mycéliens (Holmes & Colhoun, 1974; Guo & Verreet, 2008). Selon Renfro et Young (1956) et Magboul *et al.* (1992), les températures optimales pour l'infection sont respectivement de 21 et 18°C. L'infection est fortement ralentie à une température supérieure à 29-30°C (Wainshilbaum & Lipps, 1991; Guo & Verreet, 2008) et est inhibée en-dessous de 7°C (Renfro & Young, 1956).

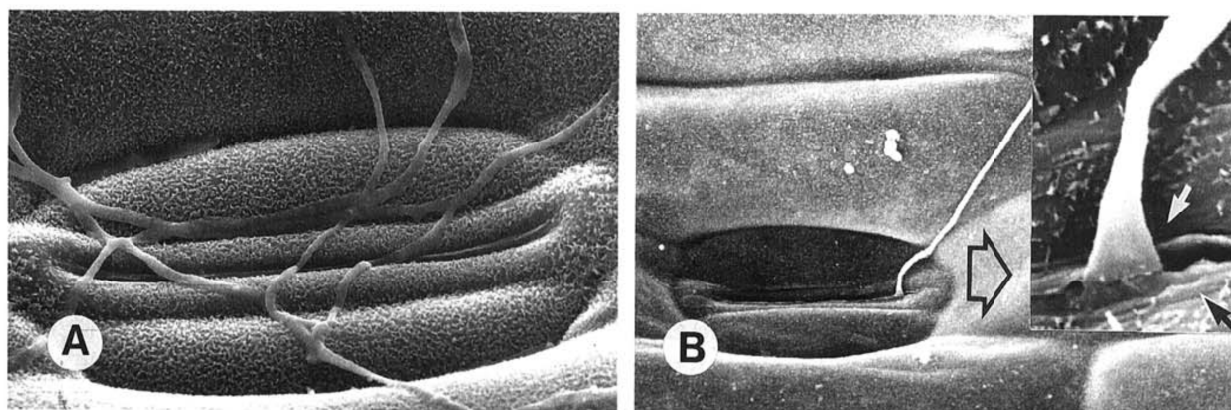


Fig. 1.9 : *a.* Tubes germinatifs de la souche IPO87016 traversant un stomate, sans le pénétrer, observé 48 h après l'inoculation. *b.* Pénétration d'un stomate par une spore de la souche IPO235 observé 12 jours après l'inoculation, notons l'aspect aplati du tube germinatif, qui est causé par la fermeture des cellules de gardes (Kema *et al.*, 1996).

Pour germer, les spores des *M. graminicola* ont impérativement besoin d'eau. Des incertitudes subsistent quant à la forme de l'eau (eau libre et/ou vapeur) qui permet l'infection. De nombreuses observations, parfois contradictoires ont été faites. Selon Renfro et Young (1956), les conditions optimales pour l'infection sont la présence d'eau libre pendant 35 h et une forte humidité les deux jours suivants ; l'infection est inhibée lorsque la présence d'eau libre sur la feuille est inférieure à 15 h. Selon Holmes et Colhoun (1974), en conditions d'humidité "élevée" (sans plus de précision), la durée minimale pour que *M. graminicola* développe des symptômes est de 20 h à 25°C. Cette durée augmente avec la diminution de la

température. Chungu *et al.* (2001) ont constaté en conditions contrôlées que la sévérité de la maladie augmente lorsque la durée d'humectation pendant l'infection dépasse 48 heures. Ils ont également observé la quasi absence de pycnides lorsque la période d'humectation a été interrompue durant 1 h ou plus, démontrant l'importance de la présence continue d'un film d'eau sur la feuille pendant la période d'infection. Malgré l'absence d'investigations microscopiques supplémentaires, les auteurs estiment que l'interruption de la période d'humectation pourrait avoir déshydraté les hyphes, les rendant incapables de pénétrer les stomates. À l'inverse, Shaw (1991) démontre que si la période à 100 % d'humidité relative (HR) est interrompue par des périodes de plus de 48 heures à une HR de 75 %, l'infection de *M. graminicola* n'est que faiblement réduite. Des périodes à une HR de 50 % ont un impact plus important, sans pour autant inhiber complètement l'infection. L'auteur en conclut que *M. graminicola* est adapté à l'interruption de périodes humides par des périodes sèches.

L'impact de la lumière sur le développement de la septoriose a été peu étudié et les quelques résultats obtenus sont contradictoires. Une première étude menée par Fellows (1962) démontre une augmentation de la proportion de feuilles de blé infectées et du nombre de lésions par feuille lorsque l'intensité lumineuse augmente. Selon Shaw (1991), la lumière pendant la période d'infection inhibe la germination des spores alors que plus tard dans le cycle, elle semble stimuler le développement des lésions. Knights et Lucas (1981) ayant observé le même phénomène pour les spores de rouille noire du blé (*Puccinia graminis* f. sp. *tritici*), suggèrent que la germination est favorisée lorsque l'intensité lumineuse diminue, soit la nuit en conditions réelles, période pour laquelle la présence d'eau à la surface des feuilles (rosée) est la plus fréquente. Dans le cas de la rouille jaune du blé (*Puccinia striiformis*), la quantité de lumière avant l'inoculation conditionne l'efficacité de l'infection (de Vallavieille-Pope *et al.*, 2002) ; aucune étude de ce type n'a été faite sur *M. graminicola* mais comme pour les autres phases de développement, il semble important de dissocier les différentes étapes de développement pour étudier l'impact de la lumière.

Incubation

La phase d'incubation correspond au développement cryptique de l'agent pathogène entre sa pénétration dans les tissus foliaires et l'apparition des premiers symptômes visibles (chloroses puis nécroses, Fig. I.10). Pendant cette phase, le champignon colonise les tissus foliaires et dégrade les parois cellulaires. La comparaison du pouvoir pathogène de huit souches

de *M. graminicola* et leur capacité à synthétiser certaines enzymes en conditions *in vitro* démontre le rôle de la synthèse de xylanase et pectinase dans la dégradation des parois cellulaires (Douaiher *et al.*, 2007). La présence de spores entraîne une augmentation de la production de peroxyde d'hydrogène et de l'activité chitinase de la plante ; ainsi l'activité protéolytique de l'espace extracellulaire des feuilles pourrait participer à la défense du blé contre cet agent pathogène (Segarra *et al.*, 2002).



Fig. I.10 : Symptômes de septoriose sur feuille de blé (jaune : chlorose, brun : nécrose, points noirs : pycnides).

La durée de la période d'incubation est généralement exprimée en degrés-jour. Elle est très variable selon les conditions expérimentales, les variétés de blé et la méthode de calcul. Selon les auteurs, elle est comprise entre 9,5 et 30 jours ou entre 142 et 496°J (Tab. I.2).

La longueur de la période d'incubation est, de plus, très variable entre lésions placées dans les mêmes conditions (Royle *et al.*, 1986). Elle varie également en fonction du stade phénologique de la plante : pour une même température, la période d'incubation est plus longue sur les plantules que sur les plantes adultes (Brokenshire, 1976). La durée d'humectation des feuilles, estimée en conditions contrôlées (Hess & Shaner, 1987a) ou au champ (Hess & Shaner, 1987b), semble également jouer un rôle sur la longueur de la période d'incubation.

Tab. I.2 : Comparaison des résultats d'expérimentations sur la mesure de la période d'incubation de *M. graminicola* issus de la littérature scientifique.

RÉFÉRENCE BIBLIOGRAPHIQUE	VARIÉTÉ DE BLÉ	CONDITIONS EXPÉRIMENTALES	TYPE DE TEMPÉRATURE	MÉTHODE D'INOCULATION	MÉTHODE DE CALCUL	DURÉE D'INCUBATION
(Brokenshire, 1976)	17 var. de blé d'hiver et 12 de printemps	En serre, sur plantules et plantes adultes	T _{air} de la serre à 15°C	6 souches Artificielle, 10 ⁶ spores.ml ⁻¹	Apparition des symptômes	Très variables selon variétés de blé et stade du blé, entre 9.5 (142°J) et 20 jours (300°J)
(Royle <i>et al.</i> , 1986)	12 variétés*	Ouest de l'Europe entre 1981 et 1983, au champ	WS à une distance inférieure à 2 km pour chaque site	Naturelle	Apparition des pycnides, surface foliaire infectée, nombre de lésions par feuille	3 à 5 semaines
(Hess & Shaner, 1987a)	Arthur Auburn Beau Morocco	Chambre d'humidité (durée variable) puis chambres de cultures (T° variables)	Température des chambres de culture	Artificielle, 10 ⁶ spores.ml ⁻¹	Mesure à 23 dpi	13 à 21 jours à 25°C 16 à 25 jours à 18°C 23 à 30 jours à 11°C
(Thomas <i>et al.</i> , 1989)	Avalon Brock Hustler Longbow	Champ, 5 sites différents (sud-est de l'Angleterre)	Selon site dans la parcelle ou WS – T _{base} = 0°C	Inoculation naturelle	1 ^{er} symptômes visibles sur les 3 dernières feuilles	Gamme très large (min = 223°J ; max = 713°J) En moyenne entre 396 et 496°J
(Magboul <i>et al.</i> , 1992)	Anza	Chambre d'humidité (durée variable) puis chambres de cultures	T _{air} seulement à l'infection, ensuite même T _{air}	Artificielle, 10 ⁶ spores.ml ⁻¹	Présence de pycnides	9 à 12 jours à 20°C
(Douaiher <i>et al.</i> , 2007)	Soissons	Sur plantules (10j) En boîte de Pétri	N.S.	8 souches 10 ⁷ spores.ml ⁻¹	Nombre de jours post-inoculation pour que 50 % des feuilles présentent une lésion	m = 17,2 jours 11 à 21 jours selon les isolats

N.S. : non spécifié

WS : station météorologique

dpi : nombre de jours après inoculation (Days Post-Inoculation)

* Avalon, Bounty, Brigand, Caribo, Copain, Disponent, Flanders, Hunstman, Kolibri, Mardler, Okapi, Virtue.

Latence : la composante d'agressivité la plus significative

L'une des variables les plus importantes pour caractériser la progression d'une épidémie est la période de latence (de Vallavieille-Pope *et al.*, 2000). Elle correspond au délai nécessaire à l'accomplissement d'une génération de l'agent pathogène (Rapilly & Jolivet, 1976). En conséquence, plus la période de latence est courte, plus l'agent pathogène peut réaliser un nombre élevé de cycles en une saison culturale. Les phytopathologistes ont utilisé différentes définitions de la période de latence (Viljanen-Rollinson *et al.*, 2005). La plus utilisée est celle proposée par Van der Plank (1963) qui la définit comme l'intervalle entre l'infection et l'apparition des structures sporulantes. Dans le cas de la septoriose, les structures sporulantes sont les pycnides qui contiennent plusieurs milliers de pycnidiospores (Eyal, 1971; Shearer & Zadoks, 1972; Ohm & Shaner, 1975).

Cependant, cette définition pose problème si cet intervalle n'est pas le même pour toutes les lésions (Shaw, 1990). Une formulation alternative (Johnson, 1980; Shaw, 1986; Douaiher *et*

al., 2007) définit la période de latence comme le temps nécessaire pour que 50 % des feuilles (dans une parcelle par exemple) présentent des pycnides.

M. graminicola est caractérisé par une période de latence longue en comparaison avec d'autres maladies telles que les rouilles (Royle, 1994). L'allongement de la période de latence permet de réduire significativement la vitesse de développement des épidémies (Viljanen-Rollinson *et al.*, 2005). La période de latence est une des composantes quantitatives de la résistance aux maladies des plantes. Viljanen-Rollinson *et al.* (2005) ont testé dix variétés de blé en conditions réelles en Nouvelle-Zélande. Dans les mêmes conditions de culture, le nombre de jours qui séparent l'inoculation de l'apparition des premières pycnides varie entre 22,7 et 31,7 jours en fonction des variétés (Fig. I.11). Des différences significatives entre variétés de blé ont également été démontrées (Brokenshire, 1976; Shaw, 1990; Wainshilbaum & Lipps, 1991; Leyva-Mir *et al.*, 2008). Comme pour l'incubation, selon Brokenshire (1976), la période de latence est plus longue sur les plantules de blé que sur les plantes adultes ; en revanche, selon Shaw (1990), la période de latence sur plantule est la même que sur plante adulte.

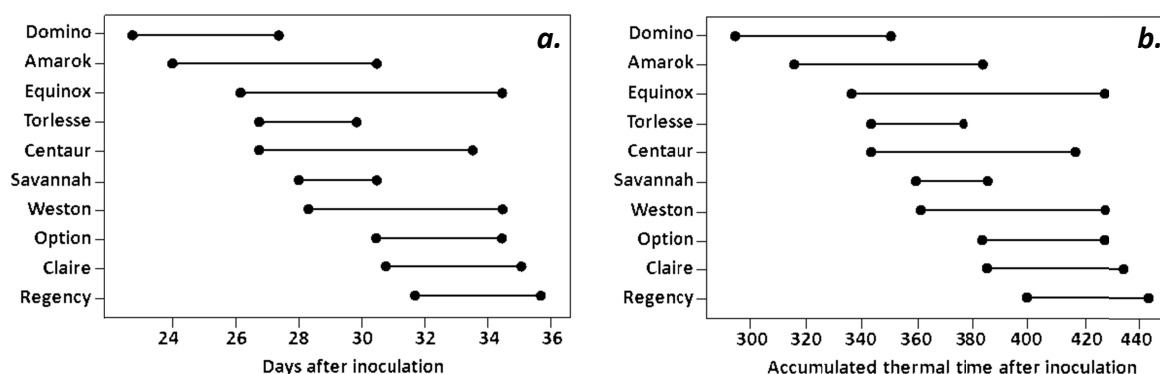


Fig. I.11 : Durée moyenne d'expression des symptômes pour 10 variétés de blé. Le premier point de chaque barre indique le nombre de jours (a.) et la somme de températures (b.) post-inoculation nécessaires pour voir apparaître les premiers pycnides, la barre représente la durée de production de pycnides (Viljanen-Rollinson *et al.*, 2005).

Dans des conditions de densité d'inoculum et de durée d'humectation des feuilles non limitantes, la température d'incubation influence significativement le développement des pycnides de *M. graminicola* (Chungu *et al.*, 2001). La période de latence est minimale à une température d'air de 17°C, en régime constant (Shaw, 1990). Afin de représenter la très grande

variabilité (i) des méthodes utilisées pour mesurer la période de latence, (ii) des conditions expérimentales et (iii) des résultats obtenus, le tableau I.3 présente un inventaire non exhaustif des résultats d'expérimentations.

Tab. I.3 : Comparaison des résultats d'expérimentations sur la mesure de la période de latence de *M. graminicola* issus de la littérature scientifique.

RÉFÉRENCE BIBLIOGRAPHIQUE	VARIÉTÉ DE BLÉ	CONDITIONS EXPÉRIMENTALES	TYPE DE TEMPÉRATURE	MÉTHODE D'INOCULATION	MÉTHODE DE CALCUL	DURÉE LATENCE OBSERVÉE
(Brokenshire, 1976)	17 var. de blé d'hiver et 12 de printemps	En serre, sur plantules et plantes adultes	T _{air} de la serre à 15°C	6 souches Artificielle, 10 ⁶ spores.ml ⁻¹	Apparition des pycnides	Très variables selon variétés de blé et stade du blé, entre 13 (195°J) et 25 (375°J) jours
(Shaw, 1990)	Avalon Longbow	(i) Plante adulte, en chambre de cultures. 2 durées de périodes d'humectations	2 thermocouples par chambre pour mesure de T _{air}	Artificielle, selon les cas 11 doses différentes entre 10 ³ et 10 ⁶	1 ^{ère} apparition des structures sporulantes	La durée de latence diminue avec l'élévation de la température De 15 à 35 jours selon température ambiante
	Avalon Longbow	(ii) Au champ	WS à 1 km	Artificielle 10 ⁶ spores.ml ⁻¹	1 ^{ère} apparition des structures sporulantes	Pas de différences plantule vs. adulte et entre étages foliaires Entre 21 et 23j à 10,6°C soit entre 222 et 244°J Entre 17 et 20j à 16,4°C soit entre 279 et 328°J
	Comparaison de 14 variétés*	(iii) Au champ	Température non enregistrée	Artificielle 10 ⁶ spores.ml ⁻¹	1 ^{ère} apparition des structures sporulantes	Entre 17 et 29 jours selon l'étage foliaire et la variété
(Wainshilbaum & Lipps, 1991)	AGRA GR855 Caldwell	Chambre de culture	19, 24 et 29°C (en régime constant)	Artificielle 10 ⁷ spores.ml ⁻¹ À différents stades du blé	Pourcentage de surface feuille couverte par des pycnides mesuré 11, 16 et 21 dpi	16 jours en général
(Chungu <i>et al.</i> , 2001)	Kaptewa 6 Lacos-78	Chambre de culture	T _{chambre} (3 niveaux)	Artificielle 10 ⁶ , 2.10 ⁶ , 10 ⁷ , 2.10 ⁷ spores.ml ⁻¹	Pourcentage de feuille sporulante 21 dpi	N.S.
(Armour <i>et al.</i> , 2004)	Consort	Champ (Nouvelle-Zélande)	WS (1 km) T _{base} = 0°C	Artificielle, F1 à F3 10 ⁷ spores.ml ⁻¹	Apparition des premiers symptômes	m = 21,3 jours (291°J) extre = [20,5-23,0]j ([249,2-365,0])°J
(Lovell <i>et al.</i> , 2004a)	Apollo Riband	À l'extérieur (Angleterre), en pots	Thermistance positionnée 25 cm au-dessus du couvert. Données horaires	Artificielle 5.10 ⁵ spores.ml ⁻¹	5 définitions différentes afin de comparer à d'autres études. Les symptômes sont définis comme étant les lésions portant des pycnides. Plusieurs T _{base}	Entre 138 et 277°J (≈20j) (T _{base} = 0°C) pour 1 ^{ère} apparition symptômes Entre 250 et 301°J
(Viljanen-Rollinson <i>et al.</i> , 2005)	10 variétés**	Champ (Nouvelle-Zélande)	N.S. T _{base} = 0°C	3 souches Artificielle, F1 10 ⁷ spores.ml ⁻¹	(i) apparition des pycnides (ii) temps pour que toutes les feuilles du traitement aient des pycnides	(i) entre 21 et 37j (273 - 459°J) – m = 27,5j (353°J) (ii) entre 26 et 37j (337 - 459°J) – m = 32,5j (407°J)
(Douaiher <i>et al.</i> , 2007)	Soissons	Sur plantules (10j) En boîtes de Pétri	N.S.	8 souches 10 ⁷ spores.ml ⁻¹	Nombre de jours post-inoculation pour que 50 % des feuilles présentent des pycnides	20 à 40 jours selon les isolats
(Henze <i>et al.</i> , 2007)	Ritmo	Champ (Allemagne)	20 cm au-dessus du sol	Naturelle	Déclenchement de l'épidémie	m = 20,3 jours extre = [10-32]j
(Leyva-Mir <i>et al.</i> , 2008)	9 variétés***	Champ (Mexique)	N.S.	Artificielle, 3 souches 10 ⁶ spores.ml ⁻¹	Date d'apparition des pycnides	m = 11,7 jours extre = [9,6-18,1]j

N.S. : non spécifié

WS : station météorologique

dpi : nombre de jours après inoculation (Days Post-Inoculation)

* Avalon, Brigand, Brimstone, Brock, Fenman, Gawain, Galahad, Longbow, Mission, Moulin, Norman, Rapier, Rendezvous et Virtue.

** Amarok, Centaur, Claire, Domino, Equinox, Option, Regency, Savannah, Torlesse et Weston.

*** Bagula, Don Ernesto Inta, Kauz, KVZ/K4500.L.6.A.4, LFN/II58.57//PRL/3/HAHN, Mayor, SUZ6//ALD/PVN, THB//IAS20/H567.71 et TRAP#1/BOW.

On constate selon les études une très forte hétérogénéité des périodes de latence qui varient en fonction :

- de la température pour les périodes de latence exprimées en nombre de jours
- de l'intensité lumineuse
- de la méthode de calcul de la période de latence
- des conditions d'inoculation
- des variétés de blé et des isolats de *M. graminicola*
- des conditions expérimentales (champ, serre, chambre climatique)

Les modèles de développement épidémique de septoriose

Les variations annuelles de développement de la septoriose dans l'ouest de l'Europe ainsi que les préoccupations environnementales et l'évolution du ratio coût de production / prix de vente ont augmenté la demande de démarches d'évaluation spécifique des risques de septoriose et à l'utilisation d'Outils d'Aide à la Décision (OAD) pour l'application de fongicides (Mahtour *et al.*, 2011). En tant que facteur important pilotant le développement de la septoriose, la température est une variable clé de la plupart des modèles de prévision. Les modélisateurs ont donc utilisé les relations établies expérimentalement pour prévoir et simuler son développement en les intégrant dans des modèles épidémiologiques qui prennent en compte d'autres variables climatiques (précipitations, humidité relative etc.), mais également des caractéristiques du couvert (variété de blé). Dans cette partie, l'évolution de la modélisation de la septoriose est détaillée en focalisant sur la prise en compte de la température.

Comme rapporté précédemment, avant les années 1970, la prévalence de *P. nodorum* était supérieure à celle de *M. graminicola* puis la tendance s'est inversée. Ainsi, les premières études sur la septoriose s'attachaient en priorité à l'étude de *P. nodorum*. Pour cette raison, certains modèles anciens de *P. nodorum* tel que celui développé par Rapilly & Jolivet (1976) qui ont servi de base à des modèles de *M. graminicola* sont également étudiés.

Généalogie des modèles de septoriose

Le premier modèle de septoriose sur blé a été proposé par Rapilly et Jolivet en 1976. Ce modèle nommé Episept concerne *P. nodorum* et avait pour objectif de "*rechercher les facteurs propres à la plante, mais aussi à la structure de la population-hôte qui permettent de freiner le plus possible la vitesse de progression de l'épidémie*" (Rapilly & Jolivet, 1976). Dans ce modèle, la température agit sur (i) la germination des spores (possible uniquement entre 5 et 30°C), (ii) la période de latence (proportionnelle à l'inverse de la température moyenne), et (iii) la vitesse de développement des symptômes (nécrose et pycnides : relation polynomiale du 3^e degré). Le premier modèle concernant *M. graminicola* a été publié en 1985 par Coakley *et al.* (Fig. I.12). C'est un modèle statistique qui simule la sévérité de la maladie à partir du calcul du nombre de jours consécutif entre le 4 avril et le 3 mai pour lesquels la température minimale de l'air est inférieure ou égale à 7°C. Ce type de modèle (appelés ici modèles de séquences de temps) est construit à partir d'analyses statistiques d'occurrence d'événements climatiques sur les périodes automnale, hivernale et/ou printanière précédentes (températures faibles, cumul de précipitations, vent etc.). La température y est toujours considérée comme une variable discrète (nombre de jours supérieur ou inférieur à une température seuil). D'autres modèles de ce type, prenant en compte ou non la température ont été développés par la suite (Murray *et al.*, 1990; Hansen *et al.*, 1994; Gladders *et al.*, 2001; Beest *et al.*, 2009).

D'autres modèles de septoriose de type mécaniste mettent en relation les variables explicatives (continues) et les variables à expliquer via des équations (courbes de réponse). Nombre d'entre eux prennent en compte la température pour modéliser le développement d'une épidémie (Magboul *et al.*, 1992; O'Callaghan *et al.*, 1994; Audsley *et al.*, 2005; Robert *et al.*, 2008). Ces modèles divergent par leurs objectifs d'application. Certains ont plutôt une vocation de recherche et de compréhension des mécanismes, alors que d'autres sont explicitement tournés vers des applications de terrain. Ces Outils d'Aide à la Décision (OAD) sont des modèles destinés aux agriculteurs ou techniciens conseils afin de prévoir les risques de développement de la septoriose et ainsi les orienter dans les choix d'itinéraires techniques (traitements fongiques, dates de semis). En France, Arvalis a développé l'outil SEPTO-LIS® à partir du modèle d'Audsley (D. Gouache, com. pers.) et le Service de la Protection des Végétaux (SPV) le modèle PRESEPT. D'autres modèles de ce type ont été développés en Europe : EPIPRE aux Pays-Bas (Reinink, 1986), PROCULTURE (Moreau & Maraite, 2000) en Belgique et au Luxembourg, SIMSEPT (Rossberg *et al.*, 2003) et PROPLANT en Allemagne (Newe *et al.*, 2003).

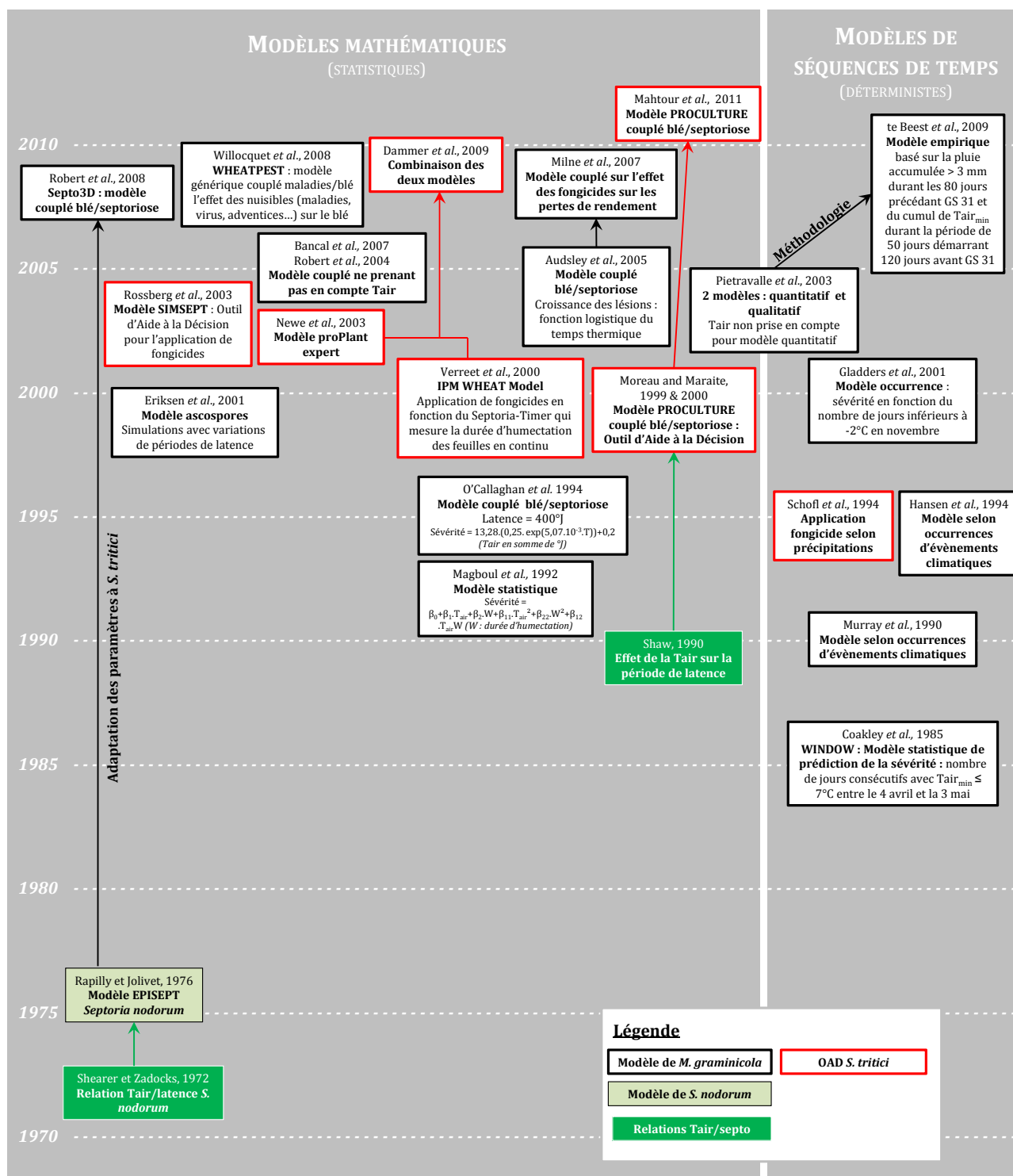


Fig. I.12 : Généalogie des principaux modèles de *M. graminicola* développés depuis les années 1970 (sources : Shearer & Zadocks, 1972; Rapilly & Jolivet, 1976; Coakley et al., 1985; Murray et al., 1990; Shaw, 1990; Magboul et al., 1992; Hansen et al., 1994; O'Callaghan et al., 1994; Schofl et al., 1994; Moreau & Maraite, 1999; Moreau & Maraite, 2000; Verreet et al., 2000; Eriksen et al., 2001; Gladders et al., 2001; Newe et al., 2003; Pietravalle et al., 2003; Rossberg et al., 2003; Robert et al., 2004; Audsley et al., 2005; Bancal et al., 2007; Milne et al., 2007; Robert et al., 2008; Willocquet et al., 2008; Beest et al., 2009; Dammer et al., 2009; Mahtour et al., 2011).

Enfin, certains modèles ne se limitent pas à la septoriose et intègrent l'impact de plusieurs maladies foliaires et leurs interactions (Audsley *et al.*, 2005; Bancal *et al.*, 2007), voire prennent en compte d'autres organismes nuisibles : agents pathogènes (champignons et virus), ravageurs et adventices (Willoquet *et al.*, 2008).

Prise en compte de la température dans les modèles de septoriose

L'inventaire des modèles de septoriose (Fig. I.12) montre qu'il en existe plus d'une vingtaine dont la plupart prennent en compte la température. La comparaison des relations entre la température et la septoriose entre les différents modèles n'est pas aisée car ils diffèrent par plusieurs points :

- leur objectif : scientifique, technique (OAD)
- leur schéma d'organisation : modèles simples ou couplés
- les variables d'entrées, pour la température : données horaires, journalières
- les variables de sortie : sévérité, rendement du blé, conseil d'application de fongicide
- les autres variables prises en compte : précipitations, humidité relative, vent
- leur origine géographique qui définit également leur zone de validité

À l'image de ce qui a été fait précédemment de façon plus générale pour les modèles épidémiologiques, les différents biais et limites identifiés dans la prise en compte de la température dans ces modèles de septoriose vont être développés.

Les sommes de températures

La méthode des sommes de températures est très largement utilisée pour caractériser le développement de la septoriose (Tab. I.2 et I.3). Cependant, certaines études utilisent le temps physique (nombre de jours) pour décrire les phases de développement de la maladie telles que la latence ou l'incubation. Or, comme le démontrent Lovell *et al.* (2004a), l'utilisation du temps thermique (ou somme de températures - Fig. I.13 a) par rapport au temps physique (Fig. I.13 b) permet d'uniformiser les dynamiques de développement des lésions quelles que soient les températures auxquelles ont été établies les courbes de réponse. De plus, on observe qu'en

ajustant la température de base à -2.4°C (Fig. I.13 c), le modèle est encore amélioré. Ayant déterminé cette température de base, les auteurs précisent que compte tenu de la température de base inférieure de la septoriose par rapport à celle du blé (0°C), la possibilité pour le blé à croître plus vite que la maladie est d'autant plus faible qu'il existe de longues périodes de froid. Autrement dit, pour une certaine gamme de températures (approximativement entre -2 et 0°C), la septoriose continue à se développer lentement alors que parallèlement, le blé ne se développe plus. Lovell *et al.* (2004a) ajoutent que la température de base négative peut également s'expliquer par la prise en compte de la température d'air et non de la température de feuille.

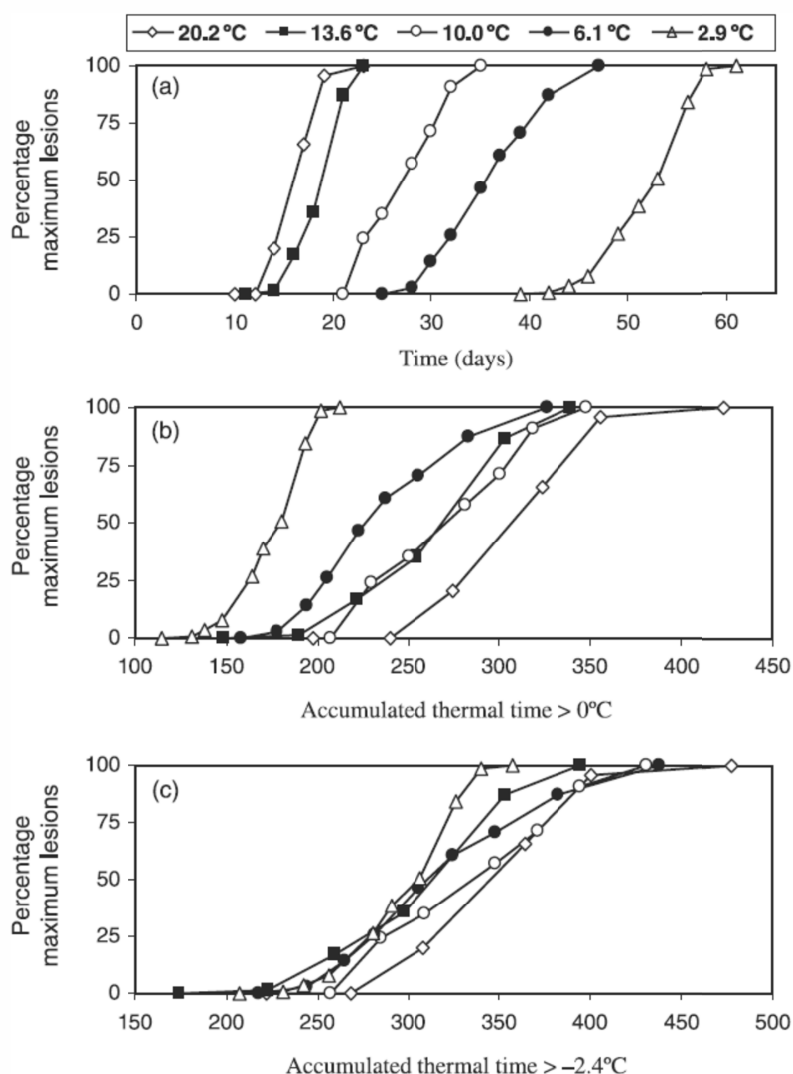


Fig. I.13 : Augmentation du développement des symptômes de septoriose (en pourcentage du nombre maximum de lésions observées) en fonction du temps pour les cinq lots de la variété Apollo entre mai 1995 et mai 1997. Les lots ont été sélectionnés pour représenter la gamme des températures d'exposition moyenne et comprennent les deux expositions les plus extrêmes (2,9 et $20,2^{\circ}\text{C}$). Les données sont présentées sur trois échelles de temps: (a) nombre de jours, (b) somme de températures en base 0°C , (c) somme de températures en base $-2,37^{\circ}\text{C}$ (Lovell *et al.*, 2004a).

La non-linéarité

La relation entre la température et le développement de la septoriose n'est pas linéaire (Shaw, 1990) ; par conséquent, un simple calcul de temps thermique ne peut suffire pour décrire la période de latence sur une gamme entière de températures (Shaw, 1990; Royle, 1994). La relation entre l'inverse de la période de latence et la température (Fig. 1.14) est curvilinéaire (Shaw, 1990). Or, dans la plupart des modèles cités précédemment, les sommes de températures utilisées impliquent la linéarité de la réponse à la température. Cependant, lors d'une expérimentation menée en conditions naturelles par Henze *et al.* (2007), le coefficient de variation de la période de latence calculée en somme de degrés-jours avec une température de base de 0°C (23 %) était supérieure à celui calculé en nombre de jours (20 %). Selon ces données, il ne semblait donc pas être avantageux d'utiliser le temps thermique par rapport au temps physique pour définir la période de latence.

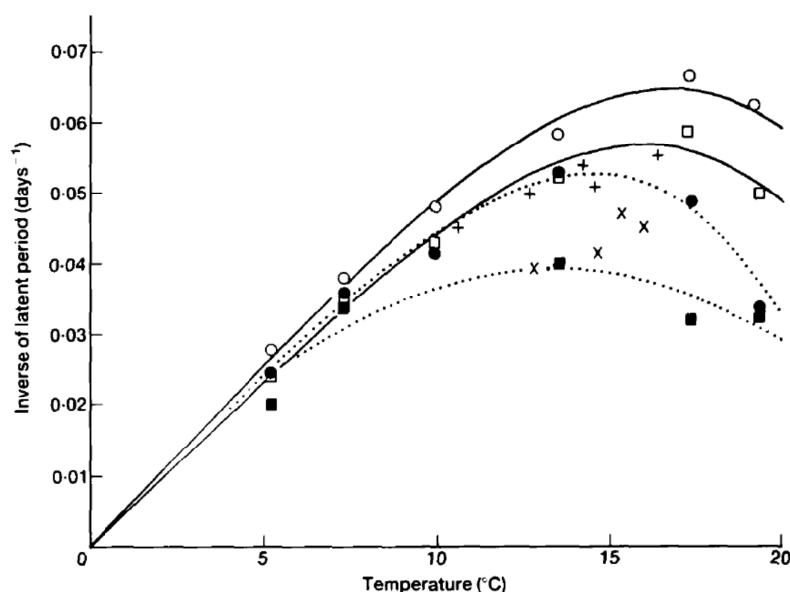


Fig. 1.14 : Relation entre la température et l'inverse de la période de latence de *M. graminicola* pour les variétés Longbow (□) et Avalon (○). Les symboles vides correspondent aux premières lésions observées et les symboles pleins au moment où 37 % des symptômes finaux sont observés en conditions contrôlées. + et x représentent les données au champs (1985) respectivement pour les variétés Longbow et Avalon (Shaw, 1990).

La prise en compte du phylloclimat

Dans le cas de la septoriose, comme pour toutes les autres maladies foliaires, la température mesurée à l'intérieur ou à la surface d'une feuille, qui peut être différente de la température de l'air, est plus à même de piloter la croissance de l'agent pathogène (Lovell *et al.*, 2004a). En effet, nous avons vu dans ce chapitre que le fonctionnement des plantes tel que la photosynthèse, la respiration et la transpiration contribuent à réguler la température des

feuilles. De plus, les évènements climatiques tels que la formation de rosée ou de givre sur les feuilles ou le dépôt d'une couche de neige peuvent jouer un rôle d'isolant contre des températures extrêmes (Lovell *et al.*, 2004a).

Une première étude de caractérisation du lien entre la température du peuplement et la sévérité de la septoriose réalisée entre 1985 et 1987 (Eyal & Blum, 1989) a permis de mettre en évidence que la température (mesurée par thermomètre infrarouge) du peuplement augmente proportionnellement avec la proportion de couvert malade (Fig. I.15). Les auteurs en concluent que la thermographie infrarouge peut être un outil pour la prévision de la surface verte restante.

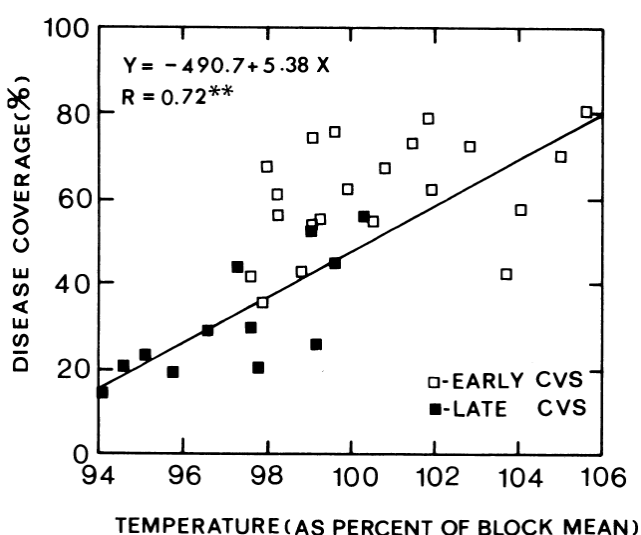


Fig. I.15 : Lien pour 33 variétés de blé entre le pourcentage de feuille couverte par la maladie et la température du peuplement (en pourcentage de la température du bloc moyen) mesurée en 1987, 130 jours après la levée. (■) Variétés tardives (□) variétés précoces (Eyal & Blum, 1989).

L'étude d'Eyal et Blum (1989) démontre que plus un couvert est atteint par la septoriose, plus sa température est élevée. Cependant, cette mesure n'a été effectuée qu'à un seul moment, 130 jours après la levée sur 33 variétés de blé. Aussi, elle ne permet pas de déterminer l'origine de l'élévation de la température en présence de septoriose. Qui de la septoriose ou de la plante en est à l'origine ? Est-ce la septoriose qui, par sa présence et la destruction des tissus qu'elle induit, augmente la température des feuilles infectées et donc la température moyenne du peuplement ; ou est-ce le couvert qui, ayant une température plus élevée par exemple en raison de son architecture, a provoqué une accélération du développement de la septoriose ? Autrement dit, quelle relation existe-t-il entre le développement de la septoriose et la température de la feuille de blé ? C'est à cette question et à l'étude de ses conséquences que cette thèse vise à répondre.

LE PROJET DE THÈSE

Les enjeux

❖ Scientifiques

Dans les années 1960, Van der Plank (1963) a défini, dans son premier livre intitulé : *Plant disease: epidemics and control*, un solide cadre théorique pour l'épidémiologie végétale (Rapilly, 1991; Drenth, 2004). L'objectif principal de l'épidémiologie végétale est d'améliorer la compréhension des causes et effets des maladies afin de mieux les maîtriser dans les agrosystèmes. La température est l'une des composantes essentielles qui pilote le développement des champignons phytopathogènes. De ce fait, de nombreuses études ont caractérisé les lois de réponse des épidémies à la température. La 2^e partie de ce chapitre identifie trois des principales faiblesses communes à la plupart de ces études. Tout d'abord, l'utilisation massive des sommes de degrés-jours (à l'image de l'agronomie) ne permet pas de prendre en compte la **non-linéarité** de la réponse des agents pathogènes à la température. Ensuite, des études sur divers pathosystèmes et d'autres organismes ectothermes montrent que les **fluctuations de températures** qui se produisent en conditions réelles au champ ne sont que rarement prises en compte dans les expérimentations visant à construire les courbes de réponse, induisant des erreurs de prévisions. Enfin, la donnée d'entrée température communément utilisée dans les modèles épidémiologiques et pour l'établissement des lois de réponse est la température d'air, généralement mesurée par les stations météorologiques. Comme cela a été illustré dans la première partie de ce chapitre, en fonction de la structure du couvert (hauteur, densité), la température de l'air au sein de la culture (température microclimatique) diffère plus ou moins de la température de l'air mesurée par la station météorologique (température mésoclimatique – Fig. I.16). Or, dans le cas d'une maladie foliaire telle que la septoriose, la température réellement ressentie par l'agent pathogène est la **température de la feuille** qui est elle-même sensiblement différente de la température d'air microclimatique.

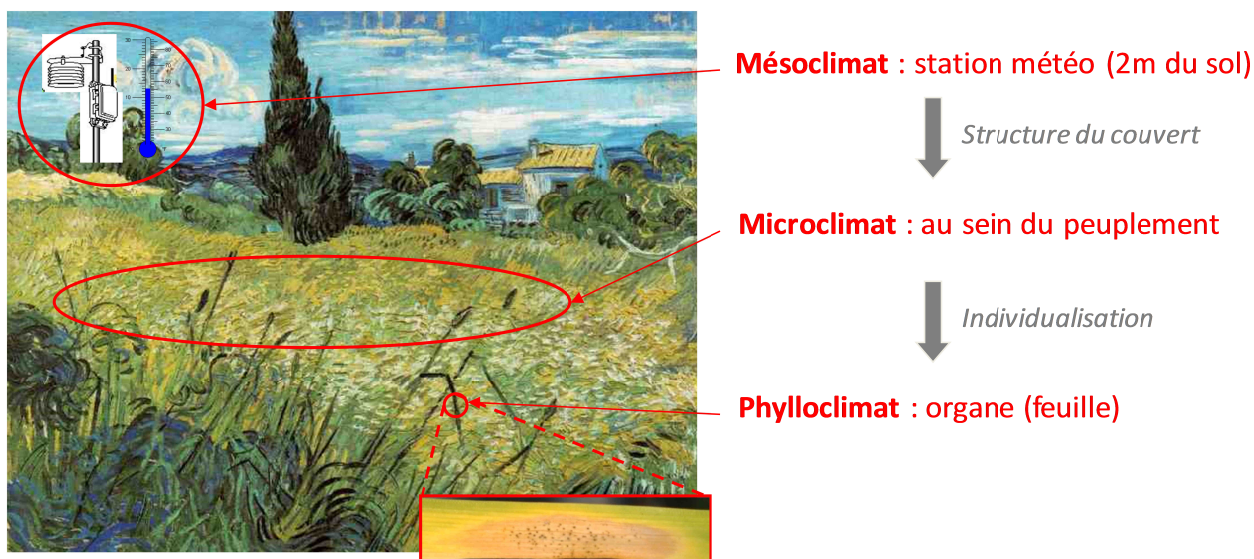


Fig. I.16 : Illustration des différents types de températures pouvant être mesurées afin d'établir la relation entre la température et le développement d'un agent pathogène foliaire ou utilisées en tant que donnée d'entrée des modèles épidémiologiques (illustration : Vincent Van Gogh, *Le champ de blé vert avec cyprès*, 1889).

❖ Agronomiques et techniques

L'utilisation massive des fongicides a entraîné l'apparition de résistances à des matières actives chez certains agents pathogènes. Le contexte politique (Grenelle Environnement), économique (coût des pesticides et réduction des marges brutes des cultures) et la demande sociétale rendent nécessaire le développement d'outils et techniques complémentaires à la lutte chimique pour la maîtrise des maladies. De ce fait, de nombreux outils ont été développés afin de venir en appui aux agriculteurs pour améliorer la gestion de l'état sanitaire de leurs cultures. Ces outils, souvent sous forme d'OAD et basés sur des modèles scientifiques, prennent en compte les principaux facteurs qui impactent le développement des maladies. Ces facteurs sont de deux types : l'itinéraire technique de la culture (choix variétal, dates de semis, traitements, opérations culturales) et le climat qui agit sur la culture mais également sur les agents pathogènes. Cependant, certains de ces modèles souffrent d'un manque de fiabilité dans certaines conditions, une amélioration des prévisions est donc nécessaire (com. pers. D. Gouache). L'amélioration de la prise en compte de l'effet de la température, en reconsidérant les biais identifiés précédemment, peut être un levier pour le perfectionnement de ces modèles. Qui plus est, la perspective de changement climatique questionne sur la durabilité de ces modèles.

Objectifs de la thèse

Choix du contour de l'étude

Pour les raisons évoquées précédemment, j'ai choisi d'étudier le pathosystème blé-*M. graminicola* ; la démarche proposée est toutefois applicable plus largement à d'autres agents pathogènes foliaires. Le cycle biologique d'un agent pathogène est constitué de différentes étapes. Bien que de nombreux autres facteurs influencent le développement de la septoriose, notamment la durée d'humectation de la feuille, seul l'effet de la température sera ici étudié. Pendant la courte phase d'infection (germination puis pénétration des spores), la durée d'humectation est un facteur très important. Pour cette raison, j'ai choisi de réaliser les expérimentations dans des conditions d'infection optimales (température et durée d'humectation) pour me focaliser sur l'impact de la température sur le développement post-infection de l'agent pathogène.

Objectifs

L'objectif général de la thèse est de **reconsidérer la prise en compte de la température pour l'établissement et l'utilisation des lois de réponse d'un agent pathogène foliaire à la température**, en s'appuyant sur le pathosystème blé - *M. graminicola*. L'objectif général peut être décliné en plusieurs objectifs intermédiaires.

Étant donné que la température de feuille est celle qui est ressentie par un agent pathogène foliaire, et donc qui pilote son développement, le premier objectif consiste à **caractériser la relation entre le développement des symptômes de septoriose et la température de feuille**.

Les symptômes de septoriose sont les repères utilisés afin de décrire, entre autre, les périodes d'incubation et de latence. Pour rappel, la période d'**incubation** est le délai qui sépare l'infection de l'apparition des lésions (chloroses). La période de **latence** est le délai qui sépare l'infection de la sporulation (apparition des premières pycnides). Comme précisé précédemment, il existe différentes façons de les définir, par exemple, apparition des tous premiers symptômes, 5 %, ou 50 % des symptômes finaux. Quelle que soit la méthode de calcul retenue, ces deux composantes d'agressivité seront caractérisées par une somme de degrés jours (voire selon les cas un nombre de jours, une date calendaire etc.). Ces méthodes d'estimation des périodes de latence et d'incubation n'intègrent donc pas l'aspect dynamique de **la croissance des lésions** et **la non-linéarité** de la loi de réponse. C'est pourquoi, j'étudierai

également cet aspect dynamique qui présente de plus l'avantage de décrire l'évolution de la surface verte des feuillées infectées qui détermine le potentiel photosynthétique d'une feuille.

Le second objectif est d'**évaluer l'effet des fluctuations naturelles de températures sur la loi de réponse des processus épidémiques à la température de feuille**. Comme établi précédemment, l'utilisation de températures moyennes sans indications sur le niveau de fluctuations peut induire des erreurs de prévisions. Pour quantifier ces erreurs, les lois de réponse établies à deux niveaux de fluctuations seront comparées. Une étude par simulation permettra de constater comment il pourrait être possible de prendre en compte ces fluctuations.

Enfin, le troisième objectif vise, à partir de la réalisation des deux premiers objectifs, à construire un modèle simple de développement de la septoriose à l'échelle foliaire en intégrant l'aspect polycyclique de son développement. L'objectif des simulations sera de comparer les différences de prévisions en fonction du type de température utilisé (meso-, micro-, ou phylloclimatique) et du pas de temps des simulations. Cette partie permettra de répondre à la question : **l'utilisation de la température de feuille en tant que donnée d'entrée des modèles épidémiologiques plutôt que la température d'air permet-elle d'induire des écarts de prévision du potentiel de développement d'une épidémie ?**

Stratégie de la thèse

La stratégie adoptée pour atteindre les objectifs de la thèse combine deux approches complémentaires : **l'expérimentation** et la **modélisation**.

Le volet expérimental

Le **volet expérimental** vise dans un premier temps à établir la loi de réponse de la septoriose à la température de feuille. Parmi les multiples variables épidémiologiques possibles, il a été choisi de mettre l'accent sur la période de latence. Les expérimentations ont été menées de façon à obtenir la courbe de réponse pour une gamme de température la plus large possible (Fig. I.17).

Dans un second temps, une série de deux expérimentations en chambre de culture, menées en conditions de températures moyennes optimales (18°C), permettra de comparer les lois de réponse établies pour une même température de feuille moyenne mais sous deux régimes de fluctuations de température foliaire différents ($\pm 2^\circ\text{C}$ et $\pm 5^\circ\text{C}$).

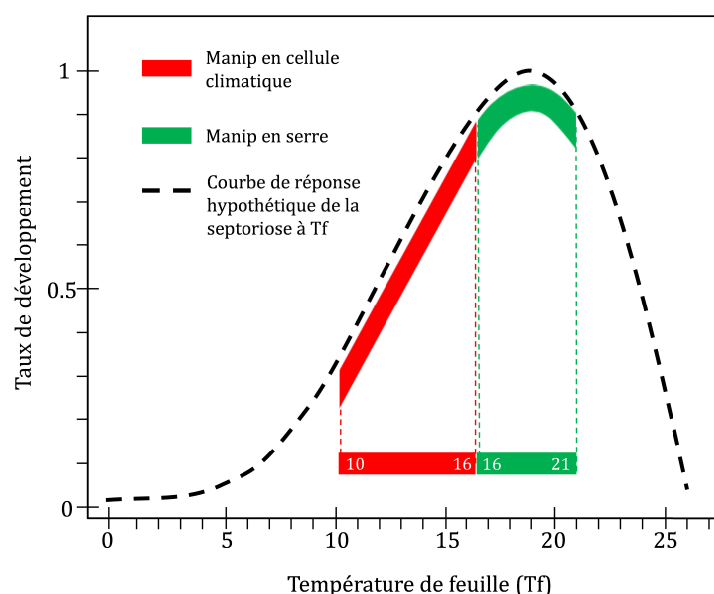


Fig. I.17 : Courbe hypothétique, établie à partir des données de la littérature, de la réponse de la septoriose à la température de feuille (trait noir en pointillés) et répartition des gammes de températures de feuilles étudiées au cours des manip en chambre climatique (■) et en serre (■) en 2010 et 2011.

Le volet modélisation et simulations

Le **volet modélisation** s'inscrit dans la continuité de la première expérimentation en l'extrapolant à l'échelle polycyclique. La stratégie consiste, à l'aide d'un modèle SVAT et de la loi de réponse de la septoriose à la température de feuille, à caractériser et décrire les différences de sorties obtenues selon que la température de feuille ou d'air est utilisée en donnée d'entrée. L'effet des fluctuations de température sera également évalué en réalisant les simulations à divers pas de temps.

Chapitre II

THE DEVELOPMENT OF A FOLIAR FUNGAL PATHOGEN DOES REACT TO LEAF TEMPERATURE!

*« Invariablement le fond de l'air est en contradiction avec la température :
si elle est chaude, il est froid, et l'inverse. »*

Gustave Flaubert

The development of a foliar fungal pathogen does react to leaf temperature!

Frédéric BERNARD^{1,2}, Ivan SACHE³, Frédéric SUFFERT³, Michaël CHELLE¹.

¹ INRA, UMR1091 EGC, F-78850 Thiverval-Grignon, France

² ARVALIS – Institut du Végétal, F-91405 Orsay, France

³ INRA, UR1290 BIOGER, F-78850 Thiverval-Grignon, France

Article à paraître dans la revue *New Phytologist*.

ABSTRACT

- The thermal performance curve is an ecological concept relating the phenotype of organisms and temperature. It requires the characterization of the leaf temperature for foliar fungal pathogens. Epidemiologists, however, use air temperature to assess the impacts of temperature on such pathogens. Leaf temperature can differ greatly from air temperature, either in controlled or field conditions. This leads to a misunderstanding of such impacts.
- Experiments were carried out in controlled conditions on adult wheat plants to characterize the response of *Mycosphaerella graminicola* to a wide range of leaf temperatures. Three fungal isolates were used. Lesion development was assessed twice a week, whereas the temperature of each leaf was monitored continuously.
- Leaf temperature impacts disease dynamics. The latent period of *M. graminicola* was related to leaf temperature by a quadratic relationship. The establishment of thermal performance curves demonstrated differences among isolates as well as among leaf layers.
- For the first time, the thermal performance curve of a foliar fungal pathogen has been established using leaf temperature. The experimental setup we propose is applicable and efficient for other foliar fungal pathogens. Results have shown the necessity of such an approach, when studying the acclimatization and acclimation of foliar fungal pathogens.

Key words: temperature, fungal pathogen, *Mycosphaerella graminicola*, thermal performance curve, reaction norm, wheat, phylloclimate, latent period.

INTRODUCTION

Among climatic variables, temperature is a major driving force in physiological processes affecting the development of living organisms (Belehradek, 1926; Campbell & Norman, 1998). The biological processes involved in development are driven by the organism's temperature, called "body temperature" in ecology (Brown *et al.*, 2004; Huey & Kingsolver, 2011). Widely used by ecologists in the study of ectotherm organisms, the concept of body temperature has been largely ignored by agronomists and epidemiologists. For fungal pathogens that develop mainly onto and into leaves, the body temperature is the leaf temperature, the temperature they actually perceive (Lovell *et al.*, 2004a).

Plants attempt to maintain a leaf temperature equilibrium, which would make metabolic functions operate at nearly optimal temperatures (Helliker & Richter, 2008). For a leaf at equilibrium, the amount of energy that enters via solar radiation and ambient heat is equal to that which exits the leaf *via* heat loss, scattered light and transpired water. If the leaf is not at equilibrium with its environment, the leaf temperature will change until equilibrium is achieved. Equilibrium for leaves is usually attained in less than one minute (Linacre, 1966; Kitano *et al.*, 1983). The energy budget equation of a single leaf (Gates, 1980) can be expanded to:

$$\text{absorbed radiation} = \text{reradiation} + \text{convection} + \text{transpiration} \quad \text{Eqn II.1}$$

where reradiation depends on leaf temperature, convection depends on the temperature gradient between leaf and air, and transpiration depends on the gradient of vapor pressure between leaf and air, which in turn depends on the leaf and air temperatures.

To characterize the climate of a leaf within a plant population, Chelle (2005) defined the "phylloclimate". Phylloclimate is characterized by a high temporal and spatial variability, due to the heterogeneity of microclimatic conditions (wind, radiation, humidity and air temperature) mainly generated by the canopy architecture. Because of the leaf energy balance (Eqn II.1), phylloclimate differs from local microclimate, which corresponds to the climate at the scale of a (layer) canopy. Microclimate itself differs from the regional climate (mesoclimate) occurring around a given canopy (Lhomme, 1995), because of the complex interaction between the

energy fluxes and the canopy structure. Mesoclimatic variables are often used as measured by the network of weather stations.

Moreover, the difference between air and leaf temperatures depends on the enclosure used for experiments (*e.g.* Linacre, 1964; Smith, 1978; Weng & Liao, 2001). For the same air temperature, the difference in leaf temperature between field and controlled environment can be higher than 3°C (De Boeck *et al.*, 2012). In addition, the growing environment in a growth chamber or a greenhouse usually has a nonuniform spatial pattern of air temperature (Potvin *et al.*, 1990; Demrati *et al.*, 2007) as well as of leaf temperatures (Kichah *et al.*, 2012). These patterns consistently differ from the pattern in the field.

Thermal performance curves (TPCs), which comprise a special case of reaction norm for phenotypic traits related to fitness, are used to assess the response of organism development to temperature (Kingsolver *et al.*, 2004; Schulte *et al.*, 2011). They have recently re-emerged as a central tool in ecological studies. The TPCs provide objective estimates of optimal temperature, ‘performance breadth’ – the range of temperature with high performance (Huey & Stevenson, 1979; Gilchrist, 1995; Angilletta *et al.*, 2002), and ‘tolerance zone’ – the temperature range of survival of the organism (Jobling, 1981; Huey & Kingsolver, 1989). The TPCs are strongly non-linear (Angilletta, 2006).

The difference between air and leaf temperatures combined with the non-linearity of TPCs lead to errors when using air temperature to estimate the development of organisms onto or into leaves (Helmuth *et al.*, 2010; Pincebourde & Woods, 2012). This has already been reported for insects (Pincebourde *et al.*, 2007; Potter *et al.*, 2009; Park *et al.*, 2011), but not for foliar fungal pathogens. Such studies on such pathogens have only considered air temperature, whatever the growing system (field, greenhouse, growth chamber).

The aim of this study is to quantify the effect of leaf temperature on the development of a foliar fungal pathogen using a TPC-based approach. To this end, we grew adult wheat plants in a growth chamber or in a greenhouse and inoculated their leaves with the fungus *Mycosphaerella graminicola*. During the course of infection, we measured the temperature of each leaf and assessed disease on the same leaf. The data were used to establish the TPC for the latent period (generation time). The fungus *M. graminicola* is the causal agent of the septoria tritici blotch (STB) disease on wheat. Present wherever wheat is grown, and developing throughout the wheat growing season, this pathogen is exposed to a wide range of temperatures. Thermal adaptation, achieved through both phenotypic plasticity and genetic

differentiation, has been demonstrated for *M. graminicola* grown on artificial media (Zhan & McDonald, 2011). The effect of air temperature on the development of *M. graminicola* on wheat leaves is well-known (Hess & Shaner, 1987a; Shaw, 1990; Magboul *et al.*, 1992; Chungu *et al.*, 2001), but experiments addressing the effect of leaf temperature have not been reported yet.

MATERIALS AND METHODS

Plant material

Wheat seeds (cv. Apache) were sown in Jiffy® peat pots (Jiffy Strip Planter®, Stange, Norway). Two weeks after sowing, when coleoptiles emerged, plants were vernalized in a growth chamber (Strader, France), equipped with HPI-T PLUS lamps (400 W, Philips, Netherlands) for eight weeks at 6°C with a 10 h light period and a 14 h dark period. Seedlings were subsequently transplanted into 1 liter pots filled with commercial potting soil mixed with 5 g of fertilizer (Osmocote Exact®, Scotts®, Heerlen, Netherlands). Plants were sprayed with spiroxamine (Aquarelle SF at 2 ml l⁻¹, Bayer CropScience, Lyon, France) as a preventive measure to control powdery mildew (*Blumeria graminis* f.sp. *tritici*). Plants were then separated into two groups, placed either in a greenhouse or in a growth chamber. Plants were grown under long day conditions (15 h day / 9 h night). The average air temperature measured above plants was 11.4°C in the growth chamber and 18.4°C in the greenhouse. Throughout the experiment, tillers were eliminated weekly to end up with only three stems per plot.

Fungal material and leaf inoculation

Three isolates of *M. graminicola*, aggressive on wheat cv. Apache (Suffert *et al.*, 2011a), were used: INRA08-FS0001 (isolate 1), INRA08-FS0002 (isolate 2) and INRA08-FS0003 (isolate 3). Isolates 1 and 2 were isolated in France in 2008 from a wheat field located in Grignon (48° 50' 43" N, +1° 56' 45"); isolate 3 was isolated the same year from a wheat field located in Le Rheu (+48° 5' 54" N, -1° 47' 52"). Grignon and Le Rheu are under mid-latitude continental and true temperate maritime climates, respectively. Inoculation was performed at growth stage 39 (Zadoks *et al.*, 1974) when the flag leaf was fully emerged, as described in detail by Suffert *et al.* (2011a). Each leaf was inoculated with a single isolate. Conidia suspensions were prepared the

day of inoculation by flooding the surface of 5-day-old culture on Petri dishes with water and then scraping the Potato Dextrose Agar (PDA) surface with a glass rod to release conidia. Concentration was adjusted to 10^5 conidia ml^{-1} . Three drops (around 0.15 ml) of Tween[®] 20 were added into 50 ml of inoculum solution to prevent drift of inoculum. The suspension was applied with a paintbrush over a length of 25 mm on penultimate (F2) and flag (F1) leaves of the main tiller. Inoculated leaves were enclosed in a transparent polyethylene bag for 72 h moistened with distilled water to provide humidity conditions optimal for infection. Once the infection was completed, to avoid lighting artifacts, inoculated leaves were maintained horizontally with nylon wires at the height of each leaf layer (Fig. II.1). The number of inoculated leaves for each enclosure, leaf rank and isolate is given in Table II.1.

Table II.1: Number of leaves inoculated with three *M. graminicola* isolates.

Location Leaf layer	Growth chamber		Greenhouse	
	F1	F2	F1	F2
<i>INRA08-FS0001</i> (isolate 1)	17	19	12	20
<i>INRA08-FS0002</i> (isolate 2)	18	16	8	20
<i>INRA08-FS0003</i> (isolate 3)	14	20	9	18

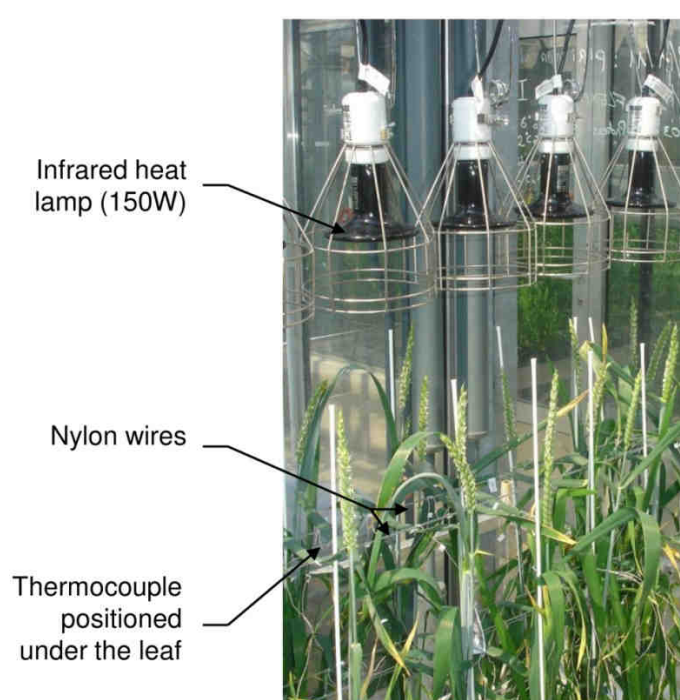


Fig. II.1: Close-up of the experimental set-up in greenhouse. Inoculated leaves (F1 and F2 of the main tiller) were maintained horizontally with nylon wires. The range of leaf temperature was increased using various densities of black infrared heat lamps (150 W) positioned 40 cm above the leaves. Leaf temperatures were measured by thermocouples positioned under the leaves in contact with the inoculated areas.

Leaf temperature measurements

The temperature of each leaf was measured with thin T-type thermocouples (diameter 0.2 mm) positioned under the leaf in contact with the inoculated area. Each thermocouple was connected to a datalogger (Campbell Scientific®, North Logan, USA), recording leaf temperature every 20 s, averaged over 15 min. Due to the high number of leaves, five dataloggers were used. The contact of thermocouples with leaves was checked three times a week. The thermocouples were calibrated before and after the experiment. To avoid bias from using multiple dataloggers, the temperature of a single brass block was continuously measured by each datalogger. Temperature data homogenization was performed based on brass block temperature measurements and on results of pre- and post-experiment calibrations. The range of leaf temperature was increased, without altering light incidence, using black infrared heat lamps (ceramic heat emitter 150 W, Hagen®, Baie d'Urfé, Canada) positioned in groups of three lamps above 33 % of the leaves and five lamps above 33 % of the leaves. No lamp was positioned above the remaining leaves.

Lesion development

From 12 to 78 days post-inoculation (dpi), lesion development was assessed on each leaf every 2 to 4 days. The proportions of the inoculated area covered by chlorosis, necrosis, and pycnidia (spore-bearing organs) were estimated visually by the same assessor. In the following, we call “disease dynamics” the temporal progress of chlorotic and necrotic areas, and we call “sporulating area dynamics” the temporal progress of the area covered by pycnidia. Disease assessment ended when the leaf apical senescent area coalesced with the diseased area.

Curve fitting and disease assessment

Lesion and sporulating areas

We called LES_{max} the maximum percentage of the inoculated area covered by chlorosis and necrosis together, and SPO_{max} the maximum percentage of the inoculated area covered by spores. For each leaf, a Gompertz growth curve (Hunt, 1982) was fitted to the sporulating area dynamics, $SPO(t)$.

$$SPO(t) = SPO_{max} \times e^{(c \times e^{(d-t)})} \quad \text{Eqn II.2}$$

Parameter c is the growth rate at the inflection point, and parameter d is the time (in dpi) at inflection point.

Incubation and latent periods

Incubation period, the time needed for lesions to appear, was defined as the time to reach 50 % of leaves with visible lesions (Johnson, 1980; Shaw, 1986; Douaiher *et al.*, 2007). Latent period, LP, the time needed for a generation of the pathogen, was defined as the time elapsed from inoculation to 37 % of the maximum sporulating area (SPO_{max}), assessed from the sporulation area fitted curve (Suffert *et al.*, 2011a). The value of 37 % corresponds to the ordinate at the point of inflection of Gompertz curve (Winsor, 1932). Incubation and latent periods were expressed in dpi. Once the latent period had been determined for all leaves, a quadratic function (Eqn II.3) was fitted to the relationship between leaf temperature and latent period:

$$LP(T_l) = LP_{min} + Curv \times (T_l - T_{l,opt})^2 \quad \text{Eqn II.3}$$

LP_{min} is the minimal latent period at optimal leaf temperature ($T_{l,opt}$), $Curv$ is a shape parameter and T_l is the mean leaf temperature during the experiment.

Establishment of thermal performance curves

As proposed by Shaw (1990), we expressed the performance as the inverse of the latent period. Equation II.4 corresponds to the TPC of *M. graminicola* latent period to leaf temperature.

$$TPC(T_l) = 1 / (LP_{min} + Curv \times (T_l - T_{l,opt})^2) \quad \text{Eqn II.4}$$

Analysis of leaf layer effect on latent period

Because of the unequal distribution of mean leaf temperatures between flag leaves (F1) and second leaves (F2), the analysis of leaf layer effect was performed on the subsample that included all the leaves having a mean leaf temperature between 17.0 and 17.5°C. For this temperature range, mean leaf temperature for F1 (n = 12) and F2 (n = 12) groups is equal ($P = 0.44$).

Statistical analysis

Disease curve fitting and subsequent statistical analysis were performed using R statistical software v. 2.12.1 (R Development Core Team, 2010). Mean leaf temperatures ranged from 10.1 to 16.4°C in the growth chamber and from 16.3 to 20.9°C in the greenhouse. For sake of clarity, the disease dynamics was analyzed by grouping leaves in classes according to their mean leaf temperature. Hence, leaves were grouped in 5 classes of equal amplitude: C1 from 10.1 to 12.3°C (n = 83), C2 from 12.3 to 14.4°C (n = 17), C3 from 14.4 to 16.6°C (n = 12), C4 from 16.6 to 18.7°C (n = 69), and C5 from 18.7 to 20.9°C (n = 10). Hereafter, C1_L, C2_L, C3_L, C4_L, and C5_L will refer to leaves having mean leaf temperatures in classes C1, C2, C3, C4, and C5, respectively.

RESULTS

Disease dynamics

Lesions appeared on all inoculated leaves except for five leaves which were excluded from the dataset. Disease assessment was carried out until 61 dpi on C3_L, C4_L and C5_L and until 78 dpi on C1_L and C2_L, depending on leaf senescence and disease dynamics. The first visible lesions (Fig. II.2a) appeared 15 dpi on C4_L and C5_L, with respectively 17 % and 70 % of the leaves having visible lesions (chlorosis and/or necrosis areas). The occurrence of the first lesions was delayed until 18 dpi for 13 %, 71 %, and 67 % of C1_L, C2_L, and C3_L, respectively (Fig. II.2b). Incubation period lasted 15 days on C5_L, 18 days on C2_L, C3_L, and C4_L, and 25 days on C1_L. The incubation period was delayed by 10 dpi between leaves of the two extreme leaf temperature classes (C1 and C5).

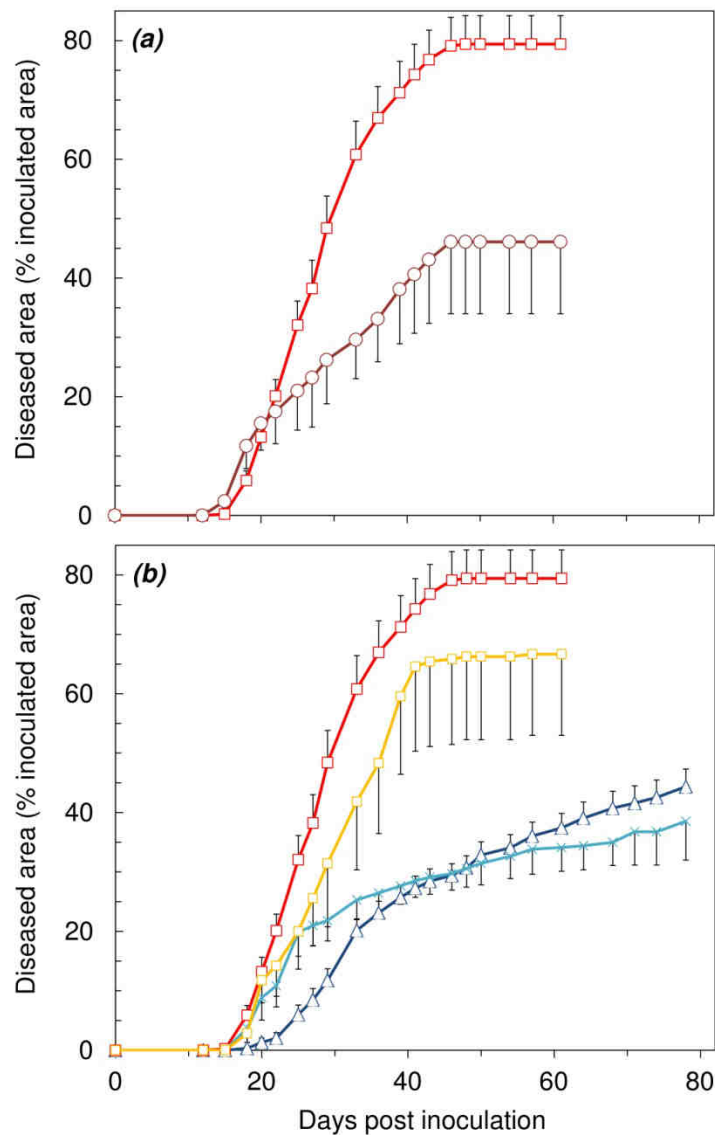


Fig. II.2: Disease dynamics (percentage of the inoculated area) of *M. graminicola* on wheat leaves (cv. Apache) in five leaf temperature classes. (a) Optimal and supraoptimal leaf temperature classes C4 (□) and C5 (○). (b) Optimal and suboptimal leaf temperature classes C1 (△), C2 (×), C3 (□) and C4 (□). Error bars are confidence interval (95 %), for the sake of clarity, only one-half of the error bars are shown.

Lesions developed more slowly on C1_L than on other leaf classes (Fig. II.2b). Differences between mean diseased area on C1_L compared to C3_L, C4_L, and C5_L remained highly significant from 15 to 78 dpi. Lesions developed similarly on C2_L and C3_L until 27 dpi. From 29 dpi to the end of the disease assessment period, lesions on C2_L developed more slowly to reach a disease level similar to C1_L. Disease dynamics was similar on C3_L and C4_L throughout most of the experiment. Confidence intervals of C3_L were large due to the low number of leaves ($n = 12$), which prevented demonstration of differences between C3_L and C4_L, except from 27 to 36 dpi, a time span that corresponds to lesion expansion. The mean area of lesions developed on the hottest leaves (C5_L) increased significantly more rapidly than on C4_L from 15 to 18 dpi (Fig. II.2a). Then, lesions developed similarly until 22 dpi. Finally, from 25 dpi to the end of the disease assessment period (61 dpi for both classes), lesion development was higher on C4_L than

on C5_L. The leaf temperature class C4, from 16.6 to 18.7°C, appeared to be the optimal range for the development of *M. graminicola* in our experimental conditions.

We expressed the normalized disease dynamic as the increase of the lesion area (covered by chlorosis and necrosis) relative to the final lesion area (LES_{max}) (Fig. II.3). The differences in normalized disease dynamics between leaf temperature classes were less marked (Fig. II.3) than for absolute disease dynamics (Fig. II.2 *a,b*). Lesions on C5_L developed first more rapidly than on other classes ($P < 0.001$). Then, normalized disease dynamics were similar for C3_L C4_L and C5_L. Normalized disease dynamics on C2_L, C3_L, and C4_L were similar until 36 dpi. From 39 to 61 dpi, normalized disease dynamics was slower on C2_L and similar on C3_L and C4_L. Finally, from 64 to 82 dpi, normalized disease dynamics was similar on C1_L and C2_L. Before 64 dpi, normalized disease dynamics was slower on C1_L than on other classes ($P < 0.03$).

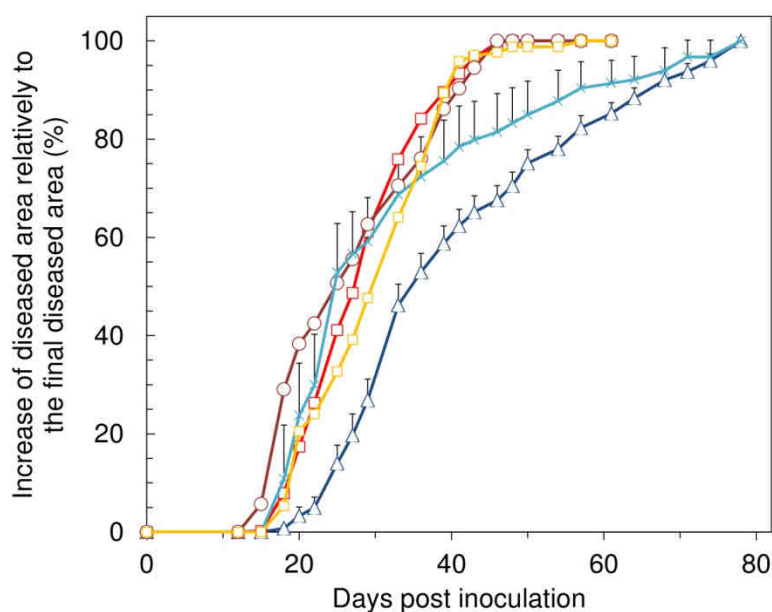


Fig. II.3: Normalized disease dynamics of *M. graminicola* on wheat leaves (cv. Apache) in five leaf temperature classes: C1 ($\triangle$), C2 ($\times$), C3 ($\square$), C4 ($\square$) and C5 ($\circ$). Error bars are confidence intervals (95%); for the sake of clarity, only one-half of each error bar is shown.

The final diseased area (LES_{max}) very much depended on the leaf temperature classes (Fig. II.4a). The leaves of the two lowest classes and the highest class (C1, C2, and C5) had the lowest LES_{max} (38.5 % to 51.9 % of the inoculated area). LES_{max} was higher on C4_L (79.4 %) than on

leaves of previously cited classes ($P < 0.001$). Class $C3_L$ had an intermediate final diseased area that was significantly different from that of $C2_L$ only ($P \leq 0.005$).

Differences in SPO_{max} between classes were even more marked than for LES_{max} (Fig. II.4b). As for LES_{max} , SPO_{max} was also maximal on leaves in the optimal temperature class ($C4_L$: 68.4 %, $P < 0.003$). Classes $C1_L$ (14.0 %), $C2_L$ (9.2 %), and $C5_L$ (24.6 %) had the lowest SPO_{max} ($P < 0.034$). On $C3_L$, SPO_{max} was intermediate (47.1 %) and significantly different from other classes. The ratio SPO_{max}/LES_{max} , which represents the proportion of the diseased area developing spores, was lower for $C1_L$ (0.27), $C2_L$ (0.24), and $C5_L$ (0.53) than for $C4_L$ (0.86) and $C3_L$ (0.71).

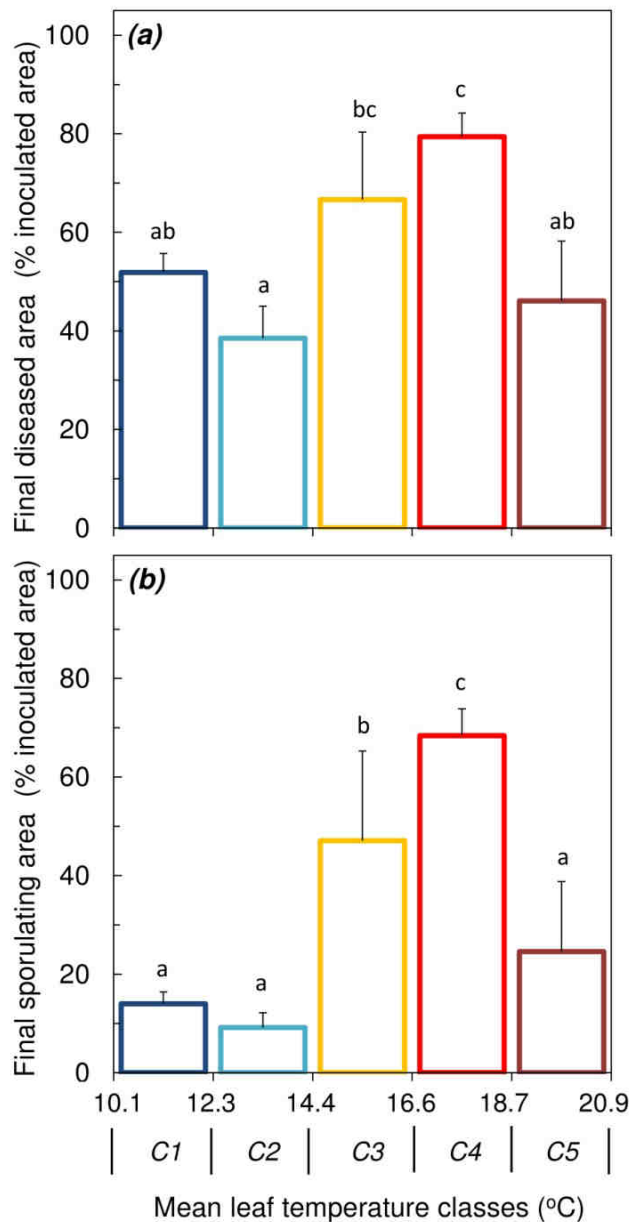


Fig. II.4: (a) Final diseased area (LES_{max}) and (b) sporulating area (SPO_{max}) on wheat leaves (cv. Apache) infected by *M. graminicola* in five mean leaf temperature classes. Values are means $\pm$ confidence interval (95 %); letters represent significant differences by the t-test ($P \leq 0.05$).

Latent period

Latent period ranged from 19 to 102 dpi (Fig. II.5): from 19 to 90 dpi for isolate 1, from 24 to 102 dpi for isolate 2, and from 25 to 102 dpi for isolate 3. The variability of the response of the latent period to leaf temperature was higher at low leaf temperature: at leaf temperature between 10 and 12°C, latent period varied between 51 and 102 dpi while at leaf temperature from 17 to 19°C, latent period varied between 23 and 39 dpi. For the three isolates studied, the latent period decreased with increasing mean leaf temperature, reached a minimum and eventually increased slightly beyond 20°C. From equation 3, a minimal latent period of 28.8 dpi was reached for a temperature of 18.4°C.

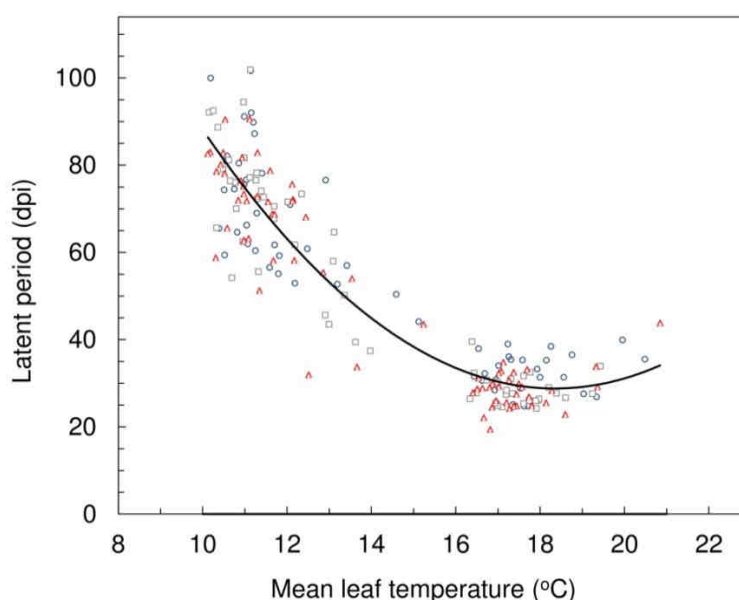


Fig. II.5: Effect of mean temperature of wheat leaves (cv. Apache) on the latent period (number of days post-inoculation (dpi) to reach 37% of final sporulating area) of three isolates of *M. graminicola* (Δ) isolate 1, ($\square$) isolate 2, ($\circ$) isolate 3. The curve represents the fitting of equation 2 to the data pooled for the three isolates.

Between-isolates variability

The TPCs of the three tested isolates suggested a differential response of *M. graminicola* isolates to leaf temperature (Fig. II.6). The fit of equation 4 to the data, which describes the performance of latent period of *M. graminicola* depending on mean leaf temperature, was highly significant for the three isolates (R^2 from 0.83 to 0.89 – Tab. II.2). The values of parameter *Curv* for isolates 1 and 2 were not significantly different ($P = 0.35$) from each other

but differed from the value for isolate 3 ($P < 0.001$). The values of the other two parameters were different for the three isolates ($P < 0.02$ – Tab. II.2). Consequently, each isolate has its own TPC. The optimal mean leaf temperatures calculated from the TPCs were 18.1, 18.5 and 18.9°C for isolates 1, 2, and 3, respectively. The optima were significantly different between isolates ($P < 0.02$). Latent period at optimal mean leaf temperature was 28.0, 26.9, and 31.1 dpi for isolates 1, 2 and 3 respectively (Tab. II.2).

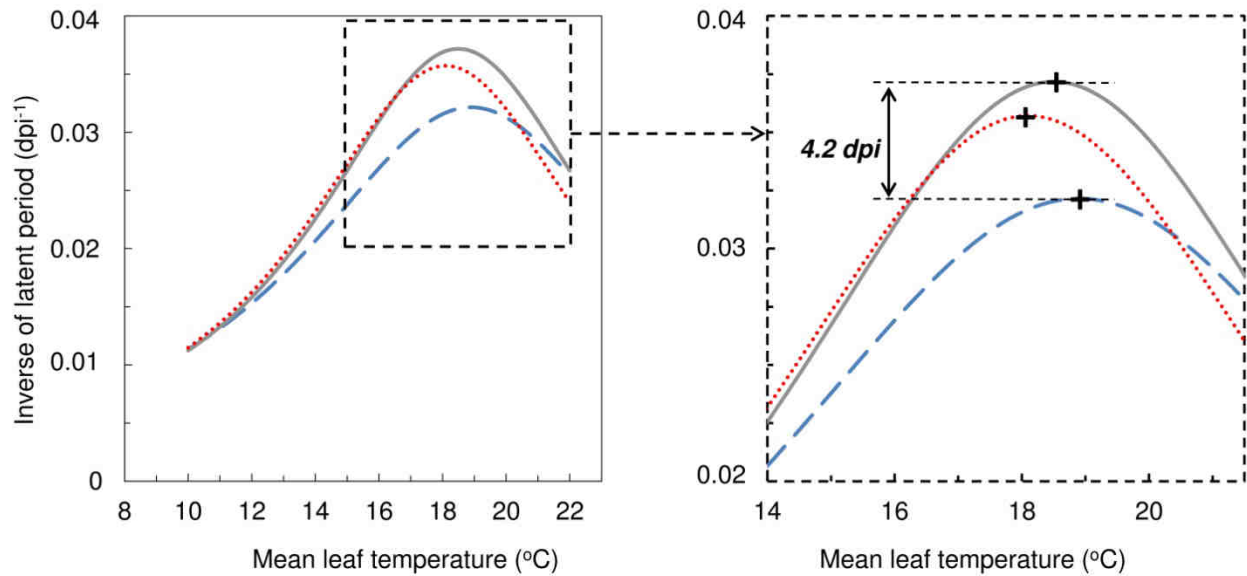


Fig. II.6: Thermal performance curves (TPC) for latent period of three *M. graminicola* isolates infecting wheat leaves (cv. Apache): (.....) INRA08-FS0001 (isolate 1), (---) INRA08-FS0002 (isolate 2), and (—) INRA08-FS0003 (isolate 3). Latent period is the number of dpi to reach 37 % of final sporulating area; “+” symbols represent optimal mean leaf temperatures determined for each isolate (see Tab. II.2 for parameter values). dpi: days post-inoculation.

Table II.2: Fitting of equation II.4 to TPCs obtained for three isolates of *M. graminicola*. Equation: $TPC(T_l) = 1 / (LP_{min} + Curv \times (T_l - T_{l,opt})^2)$ (Eqn II.4). LP: latent period (dpi), LP_{min} : Minimum latent period at optimal temperature (dpi), T_l : mean leaf temperature (°C), $T_{l,opt}$: optimal mean leaf temperature (°C), dpi: days post inoculation. Values are means $\pm$ sd. Letters represent significant differences of parameter values between isolates: t-test ($P \leq 0.05$).

Isolates	Parameters				R ²
	n	LP_{min} (dpi)	$Curv$ (dpi °C ⁻²)	$T_{l,opt}$ (°C)	
isolate 1	61	28.0 $\pm$ 1.6 (a)	0.90 $\pm$ 0.16 (a)	18.1 $\pm$ 0.7 (a)	0.88
isolate 2	62	26.9 $\pm$ 2.2 (b)	0.86 $\pm$ 0.20 (a)	18.5 $\pm$ 0.9 (b)	0.89
isolate 3	68	31.1 $\pm$ 2.5 (c)	0.72 $\pm$ 0.19 (b)	18.9 $\pm$ 1.2 (c)	0.83
isolates pooled	191	28.8 $\pm$ 1.2	0.85 $\pm$ 0.11	18.4 $\pm$ 0.5	0.86

Effect of leaf layer on latent period

The latent period was significantly longer on F1 leaves (31.9 ± 3.4 dpi) than on F2 leaves (27.1 ± 3.7 dpi) at mean leaf temperature between 17.0 and 17.5°C ($P = 0.004$). The latent period was up to 4 days longer on F1 leaves than on F2 leaves.

DISCUSSION

To the best of our knowledge, we have established the first thermal performance curve (TPC) of a foliar fungal pathogen using the temperature actually perceived by the fungus, which is the temperature of the infected leaf. The previously published TPCs (*e.g.* Maziero *et al.*, 2009; Milus *et al.*, 2009) were based on the air temperature, which is an unreliable indicator of the leaf temperature. This may lead to erroneous results and interpretations, as shown by ecologists for trees (Helliker & Richter, 2008), insects (Potter *et al.*, 2009), and intertidal organisms (Helmuth *et al.*, 2010). In parallel to our study, Bonde *et al.* (2012) have studied the effect of temperature fluctuations on a foliar fungal pathogen, measuring simultaneously leaf and air temperatures in growth chambers. In their specific experiments, they have found that leaf and air temperatures in their growth chambers were nearly equal, concluding that the use of air temperature was relevant. Their results were probably an exception, as it has been largely proved that uncontrolled environmental variations in growth chambers and greenhouse generate an heterogeneous pattern of air (Potvin *et al.*, 1990; Demrati *et al.*, 2007) and leaf (Kichah *et al.*, 2012) temperatures. To ensure that no effect of such heterogeneities occurs when establishing TPC, we propose the necessity of measurement of the temperature actually perceived by foliar pathogens, *i.e.* the temperature of each individual diseased leaf. In this study, we have thus continuously measured the temperature of 191 wheat leaves to establish the TPC of *M. graminicola* characterizing its latent period.

The methodology, we set up, is relevant for studies on other foliar fungal pathogens. Wherever the experiment is carried out (growth chamber, greenhouse, or field) the temperature measured will be the body temperature of fungus. Thus, results obtained in controlled conditions can be transposed to field conditions, since the variables of the leaf energy balance (radiation, wind etc.) are implicitly considered when measuring the leaf temperature. This setup has allowed the generation of TPCs for a wide range of leaf temperatures (from 10.1 to 20.9°C) using infrared heat lamps. Such a range of leaf temperature

only necessitated two experiments in standard growth chambers that were set up with two different air temperatures. To get the same results but for air temperature would have required several experiments (one for each air temperature). Moreover, as the use of infrared heat lamps can modify the humidity and vapor air pressure gradient between sub-stomatal cavities and atmospheric (Amthor *et al.*, 2010), we have avoided possible artifacts by having well-watered plants during our experiments, following the conclusion of Wall *et al.* (2011), who have found that no effect on gas exchange or water relations was associated with the infrared warming lamps when a supplemental irrigation minimized plant-to-air water vapor pressure differences between infrared-warmed and non-warmed plots.

The optimal mean leaf temperature for the latent period of *M. graminicola* varied significantly between 18.1 and 18.9°C, depending on isolates, in our experimental conditions (Fig. II.6, Tab. II.2). The reported optimal air temperature for the latent period of *M. graminicola* varies between 15 and 25°C, both in field (Shaw, 1990; Lovell *et al.*, 2004a) and controlled conditions (Hess & Shaner, 1987a; Shaw, 1990; Magboul *et al.*, 1992). However, optimal temperatures obtained with air temperature and leaf temperature should not be compared directly, as the difference between the two temperatures varies, depending on the growing conditions through the leaf energy budget (Eqn. I.1). A similar increase in latent period as we observed for supraoptimal temperatures has been previously described for *M. graminicola* (Shaw, 1990) and *P. infestans* (Andrade-Piedra *et al.*, 2005), but using air temperature.

Latent period was significantly longer on flag leaves (F1) than on second leaves (F2) at equal leaf temperature. In contrast, Shaw (1990), also experimenting in growth chambers, found a longer latent period on F2. The difference between Shaw's result and ours illustrates the possible error in the interpretation of results when measuring air temperature instead of leaf temperature for foliar fungal epidemics studies. As F2 leaves are lower than F1 leaves inside the canopy, they are further from the light sources and can be shaded by F1 leaves and stems and thus receive less light irradiance. Thus, in a growth chamber, leaf temperature is higher on F1 than on F2 for a given air temperature. As a consequence of the higher leaf temperature, latent period on F1, if deduced from air temperature measurements, is reduced. This may explain the results observed by Shaw. The difference of latent period we have observed between F1 and F2 leaves at equal leaf temperatures may be explained by other factors known to influence fungal development, such as morphology, age, and physiology of the leaves (Lovell *et al.*, 2004a). Further experiments are required, involving inoculation on other leaf layers submitted to

temperature ranges consistent with the wheat growth stage, including for example the lowest leaf layers at seedling stage under winter conditions.

Formulating the TPC of latent period as a function of leaf temperature should improve the models of plant disease epidemics. Indeed, as pointed out by Shaw (1990), the relationship between temperature and latent period of *M. graminicola* is not linear (Fig. II.5). Thus, regarding the range of temperature perceived by the fungal pathogen, latent period cannot be summarized as a single thermal time value, although this is commonly done in experimental studies (Thomas *et al.*, 1989; Lovell *et al.*, 2004a) and models (O'Callaghan *et al.*, 1994; Audsley *et al.*, 2005; Robert *et al.*, 2008). Moreover, leaf temperature instead of air temperature and related TPCs ought to be considered when simulating the interaction between canopy architecture and foliar fungal epidemics (Pangga *et al.*, 2011). Admittedly, leaf temperature may appear less easily accessible to measurement than air temperature. However, it can be indirectly estimated by providing Soil-Vegetation-Atmosphere transfer (SVAT) models with data recorded by standard weather stations. These models, such as CUPID (Norman, 1979), dynamically simulate the temperature of each leaf layer. A similar approach allowed the simulation of the leaf wetness duration (LWD), another climatic variable that drives foliar fungal epidemics, whose estimation was preferred to direct measurement of air humidity that introduced some artifacts into epidemics models (Dalla Marta *et al.*, 2005).

The sensitivity of physiological and ecological traits of fungi to temperature has been widely studied (Dell *et al.*, 2011). Some studies have measured the TPCs of different fungi for a wide range of temperatures (Shaw, 1990; Fargues *et al.*, 1992; McLean *et al.*, 2005) but never for foliar pathogens while measuring the leaf temperature. We have found that the TPCs of *M. graminicola* for latent period based on leaf temperature varied significantly between the three isolates (Tab. II.2). The identification of diverse TPCs for each isolate is a characterization of *M. graminicola* phenotypic plasticity. Measuring the growth on artificial media of *M. graminicola* isolates sampled from five host populations in four locations, Zhan & Mc Donald (2011) have shown a local adaptation of the fungus, concluding that temperature is the selective agent responsible for the adaptation of *M. graminicola*. In contrast to the method of Zhan & Mc Donald (2011), who studied the adaptation of the fungus to air temperature in agar medium, our device made it possible to study the effect of temperature on the fungus development while accounting for its interactions with the leaf physiology. To identify and quantify the thermal adaptation of *M. graminicola*, a higher number of isolates should be grown on living leaves. This should require the use of adult plant leaves to consider the

physiological aspects of the plant-pathogen interaction (Wang *et al.*, 2009; Diamond & Kingsolver, 2012). Finally, TPCs are known to have much potential for predicting the responses of populations or species to climate change, as they can be incorporated into mechanistic models of response of organisms to climate change (Schulte *et al.*, 2011). Here, we have made a first step toward a new way for the study of the adaptation of *M. graminicola* (and other foliar fungal pathogens) to climate change.

ACKNOWLEDGMENTS

We thank Fabrice Duhamel, Alain Fortineau, and Nathalie Galet for technical assistance, Robert Faivre (INRA, Toulouse, France) for statistical advice, and Sylvain Pincebourde (CNRS, Tours, France) for helpful discussions on physical ecology. We are also grateful to Prof. Vince P. Gutschick from NMSU for his critical reading of the manuscript. This study was funded by INRA (“Plant Health and Environment” and “Environment and Agronomy” Divisions) and ARVALIS – Institut du Végétal.

Chapitre III

LEAF TEMPERATURE FLUCTUATION REGIME INFLUENCES A LEAF PATHOGEN DEVELOPMENT: IMPLICATIONS FOR EPIDEMIOLOGICAL MODELS

« Il n'existe rien de constant, si ce n'est le changement. »

Bouddha

Leaf temperature fluctuation regime influences a leaf pathogen development: implications for epidemiological models

Frédéric BERNARD^{1,2}, Michaël CHELLE¹, Ons RIAHI EL KAMEL¹, Sylvain PINCEBOURDE³, Ivan SACHE⁴, Frédéric SUFFERT⁴

¹INRA, UMR1091 EGC, F-78850 Thiverval-Grignon, France

²ARVALIS – Institut du Végétal, F-91405 Orsay, France

³CNRS, UMR 7261, Institut de Recherche sur la Biologie de l’Insecte (IRBI), Université François Rabelais, F-37200 Tours, France

⁴INRA, UR 1290 BIOGER-CPP, F-78850 Thiverval-Grignon, France

INTRODUCTION

Fluctuating temperatures are characteristic of the environment of most organisms (Du & Ji, 2006) including plant pathogens (Scherin & van Bruggen, 1994a). Although many biologists recognize that environmental variance can exert important effects on patterns and processes in nature that are independent of average conditions (Ruel & Ayres, 1999), constant temperatures are most frequently used for laboratory studies (Hagstrum & Hagstrum, 1970; Scherin & van Bruggen, 1994a).

In a theoretical study, Scherin and van Bruggen (1994b) demonstrated that difference between growth of organisms at constant versus fluctuating temperatures is maximized when the mean temperature is close to the cardinal temperatures and / or when the temperature range over which the growth response is approximately linear is narrow. Thus, mean temperature can be an uninformative, even misleading, measurement of the thermal environment (Kingsolver *et al.*, 2004). As an example, the use of daily mean temperature to predict incubation and latent periods under field conditions may result in errors when the underlying rate function is non-linear (Xu, 1996). Environmental sampling rates, such as the frequency at which temperature is sampled, is therefore crucial when predicting organism performance, yet few studies have quantified its importance.

Tiny leaf-dwelling organisms, as foliar fungal pathogens, should experience leaf temperature surface variations rather than ambient air directly (Pincebourde & Woods, 2012). Leaf temperature depends on climatic conditions and is regulated by stomata through transpiration. Consequently, leaf temperature can differ greatly from air temperature (*e.g.* Linacre, 1964; Smith, 1978; Weng & Liao, 2001). Moreover, the temperature of a leaf subjected to solar radiations is expected to fluctuate more rapidly than air temperature. The potential effects of such an increased thermal variance on biological processes at the leaf surface are largely ignored.

The purpose of this study was (i) to compare the development of a fungal foliar pathogen under two treatments differing in their leaf temperature fluctuation regimes but with equal mean leaf temperatures, (ii) to assess the relevance of integrating at various time steps a thermal reaction norm, obtained in a fluctuating environment, to simulate the latent period at two leaf temperature fluctuation regimes. As a case study, we used the fungus *Mycosphaerella graminicola*, the causal agent of septoria tritici blotch (STB) disease on wheat. The two most important environmental factors affecting a *M. graminicola* lesion development are humidity

during infection (Holmes & Colhoun, 1974; Shaw, 1991; Chungu *et al.*, 2001) and temperature for post-infection development (Shaw, 1990; Lovell *et al.*, 2004a). Present wherever wheat is grown and developing throughout the wheat growing season, this pathogen is exposed to a wide range of mean and variance temperatures.

MATERIALS AND METHODS

Plant material

Wheat seeds cv. Apache were sown in Jiffy® peat pots (Jiffy Strip Planter®, Stange, Norway). Two weeks after seedling, when coleoptiles emerged, plants were vernalized in a growth chamber for eight weeks at 5°C with a 10 h light period and a 14 h dark period. Seedlings were subsequently transplanted into 1 liter pots filled with commercial potting soil mixed with 5 g of fertilizer (Osmocote Exact®, Scotts®, Heerlen, Netherlands) and placed in a growth chamber at 16°C with a 14 h light period and a 9 h dark period. Plants were sprayed with Spiroxamine (Aquarelle SF at 2 ml l⁻¹, Bayer CropScience, France) as a preventive measure to control powdery mildew (*Blumeria graminis*). Before inoculation, plants were then separated into two groups and placed in two growth chambers. Throughout the experiment, tillers were eliminated weekly to end up with only three stems per plot.

Fungal material and leaf inoculation

Three reference *M. graminicola* isolates were used: INRA08-FS0001, INRA08-FS0002, and INRA08-FS0003 (hereafter referred to as FS1, FS2, and FS3, respectively) (Suffert *et al.*, 2011a). Inoculation of wheat leaves was performed at growth stage 39 (Zadoks *et al.*, 1974) when the flag leaf was fully emerged; following the procedure set up by Suffert *et al.* (2011a).

In each growth chamber, 144 leaves were inoculated. Conidia suspensions were prepared the day of inoculation by flooding the surface of 5-day-old culture on Petri dishes with water and then scraping the PDA surface with a glass rod to release conidia. Concentration was adjusted to 10⁵ conidia ml⁻¹ and three drops of Tween 20® were added to the suspension to prevent the drift of inoculum. Each leaf was inoculated with a single isolate, as many leaves were inoculated for each isolate. The suspension was applied with a paint brush over a length

of 25 mm on penultimate (F2) and flag (F1) leaves of the main tiller (Suffert *et al.*, 2011a). Inoculated leaves were enclosed in a transparent polyethylene bag for 72 h moistened with water to provide humidity conditions optimal for infection. Once the infection was completed, to avoid lighting artifacts, inoculated leaves were maintained horizontally with nylon wires at the height of each leaf layer (Fig. III.1).

Leaf temperature fluctuations patterns

Traditionally, such studies have been conducted by raising closely related individuals over a range of constant temperatures (Niehaus *et al.*, 2012). Here we decided not to experiment in constant temperature conditions as it is never the case in natural environments. We applied two different treatments differing in their daily leaf temperature fluctuation regimes and a mean leaf temperature of 18°C in both cases. Such mean temperature and daily fluctuations were selected to be close to those usually registered under spring conditions in Western Europe fields. During the 72 h infection period in bag, plants were maintained at equal temperatures in both growth chambers ($18 \pm 2^\circ\text{C}$) to ensure similar and optimal infection. Then, 3 days post-inoculation (dpi), the daily leaf temperature fluctuation regimes were generated: $\pm 2^\circ\text{C}$ and $\pm 5^\circ\text{C}$ with a mean leaf temperature of 18°C (Fig. III.1).

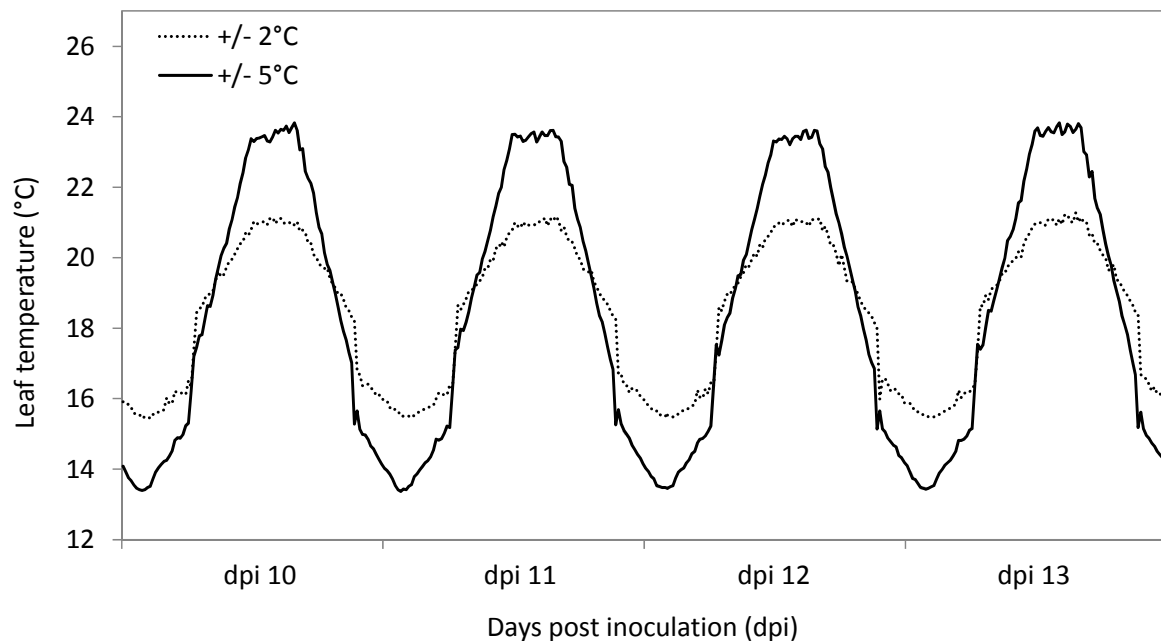


Fig. III.1: Example of leaf temperatures evolution recorded from 10 to 13 days post inoculation (dpi) for two leaves having similar mean leaf temperatures but distinct fluctuation regimes: $\pm 2^\circ\text{C}$ (dashed line) and $\pm 5^\circ\text{C}$ (solid line). The same pattern of leaf temperature fluctuation regime is repeated every day.

Leaf and air temperatures measurements

The temperature of each leaf ($n = 144$ in each growth chamber) was continuously measured with thin T-type thermocouples (diameter 0.2 mm) positioned under the leaf in contact with the inoculated area. Each thermocouple was connected to a data-logger (Campbell Scientific®, USA), recording leaf temperature every 20 s, averaged per 15 min. Due to the high number of leaves, four data-loggers were used. The contact of thermocouples with leaves was checked three times a week. The thermocouples were calibrated before and after the experiment. To avoid bias from using multiple data-loggers, the temperature of a single brass block was continuously measured by each data-logger. Temperature data homogenization was performed based on brass block temperature measurements and on results of pre and post experiment calibrations.

Lesion development and pycnidia density

From 11 to 61 dpi, lesion development was assessed 16 times on each leaf, every 2 to 4 days. The percentages of the inoculated area covered by chlorosis, necrosis and pycnidia (spore-bearing organs) were estimated visually by the same assessor. Disease assessment ended when the leaf apical senescent area coalesced with the diseased area. Finally, the number of pycnidia was then determined visually by the same assessor, after the adaxial side of each leaf was digitalized with a sufficient resolution to perform the count of pycnidia. The pycnidia density was obtained by dividing the number of pycnidia counted by the area inoculated.

Assessment of incubation and latent periods

Incubation period, defined as the time needed for first symptoms to appear, was estimated for each leaf by the time elapsed from inoculation to the first day with visible chlorosis, earliest expression of the infection. Latent period, defined as the time needed for a generation of the pathogen, was estimated by the time elapsed from inoculation to 37 % of the maximum sporulating area, assessed by fitting a Gompertz model to the area covered by pycnidia (Suffert *et al.*, 2011a). The value 37 % corresponds to the ordinate at the point of inflection of Gompertz curve (Winsor, 1932). Incubation and latent period were expressed in dpi. Disease curve fitting

and subsequent statistical analysis (ANOVA and Student's t-test) were performed using R statistical software v. 2.12.1 (R Development Core Team, 2010).

Simulated latent period

We simulated the pathogen development to assess whether a reaction norm accurately predict the variance effect we observed. The developmental rate of latent period (r_{LP}) expressed in dpi for each leaf was simulated using equation of chapter II (Tab. II.2).

$$r_{LP}(T_l) = 1 / (LP_{min} + Curv \times (T_l - T_{l,opt})^2) \quad \text{Eqn III.1}$$

Where LP_{min} is the minimal latent period at optimal leaf temperature ($T_{l,opt}$), $Curv$ is a shape parameter and T_l is the mean leaf temperature during the experiment. This equation was obtained using daily mean leaf temperature data. Coefficient differed between isolates. To account for the variability of the response of *M. graminicola* to leaf temperature, for each leaf independently, the coefficient values were determined stochastically. To this end, coefficients were determined using a normal distribution with the means and variances as parameters specified for each isolate in chapter II.

Once parameters were determined for each leaf, simulations were performed using 7 time steps (TS) of temperature data input: 15 min, 1 h, 3 h, 6 h, 12 h(I), 12 h(II), and 24 h. Leaf temperature recorded by the data loggers was at a 15 min time step (temperatures determined by averaging 20 s interval measurements each 15 min). For higher time steps than 15 min, leaf temperature used to perform simulations were obtained by averaging temperatures values at 15 min time step within the time step (e.g. for the 1 h TS, 4 leaf temperature values at 15 min interval were averaged). Time steps 12 h(I) and 12 h(II) differed in the timing of the ranges at which temperature were sampled. For the time step 12 h(I), leaf temperature data were averaged from 0:00 a.m. to 11:45 a.m. and from 12:00 a.m. to 11:45 p.m. For time step 12 h(II), leaf temperature data at 15 min interval were averaged from 6:00 a.m. to 5:45 a.m. and from 6:00 p.m. to 5:45 a.m. (day +1). Then, the results of simulation were divided by the number of time steps in 24 h (e.g. dividing by 4 for the time step 6 h). Finally, simulated results at each time step were summed and the latent period was considered achieved at the time (in dpi) when the sum of simulated latent period at each time step equaled 1.

RESULTS

Effect of the leaf temperature fluctuation regime on the overall lesion development

Whatever the isolate, the dynamics of necrosis were very similar between $\pm 2^\circ\text{C}$ and $\pm 5^\circ\text{C}$ fluctuation regimes (Fig. III.2 *a-c*). Necrosis appeared first 20 dpi for all isolates and both fluctuation regimes, on 27.8 % and 15.6 % of the leaves (all isolates together) under $\pm 2^\circ\text{C}$ and $\pm 5^\circ\text{C}$ fluctuation regimes respectively. The mean area with necrosis was lower for the $\pm 5^\circ\text{C}$ fluctuation regime for the three isolates; but, the difference between both fluctuation regimes at 20 dpi was significant for isolate FS1 only. From 20 to 61 dpi, which corresponded to the expanding of necrosis, whatever the isolate, differences between fluctuation regimes were mostly not significant. Final mean necrotic areas for both fluctuation regimes were similar for all isolates and reached more than 98 % of the inoculated areas.

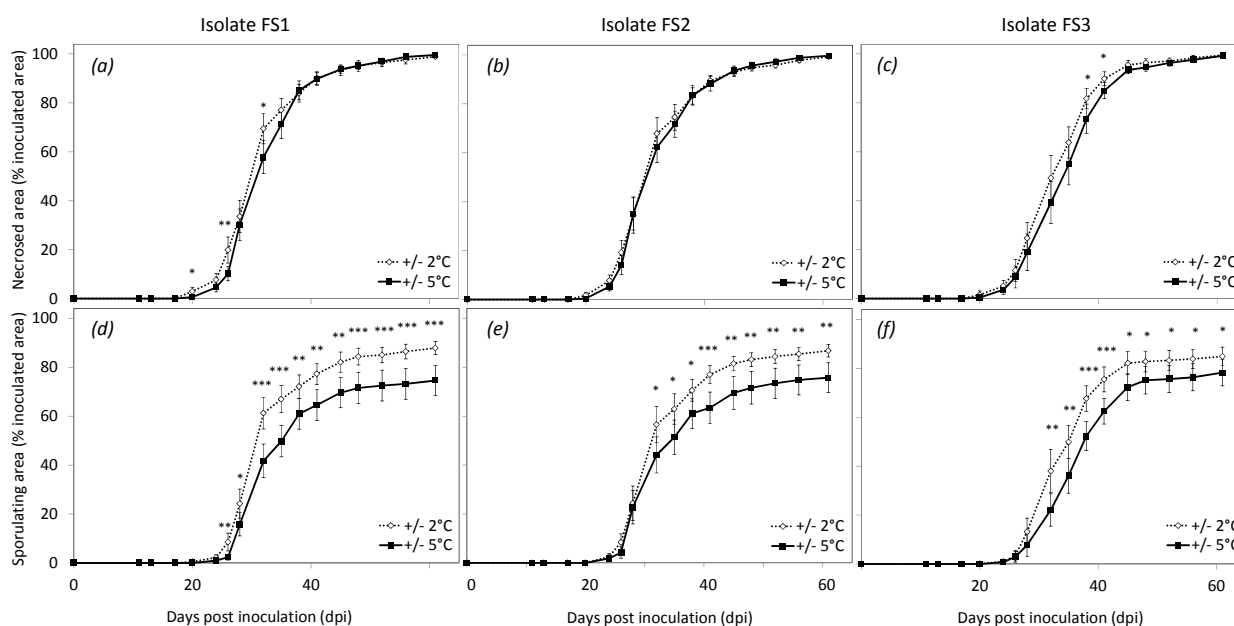


Fig. III.2: Dynamics of necrosis (*a-c*), and sporulating area (*d-f*) for isolates FS1 (*a, d*), FS2 (*b, e*), and FS3 (*c, f*), from 0 to 61 days post inoculation for two leaf temperature fluctuation regimes: $\pm 2^\circ\text{C}$ (dashed lines) and $\pm 5^\circ\text{C}$ (solid lines). Error bars are confidence interval (95 %). *P*-values: **P* < 0.05, ***P* < 0.01, ****P* < 0.001, determined from the Student's *t*-test.

The dynamics of sporulating area and differences between both fluctuation regimes were very similar between isolates. All isolates together, pycnidia appeared 20 dpi on 3.5 % of the leaves under $\pm 2^{\circ}\text{C}$ fluctuation regime and 24 dpi on 19.1 % of the leaves under $\pm 5^{\circ}\text{C}$ fluctuation regime (Fig. III.2 *d-f*). From 24 to 61 dpi, the mean sporulating area was higher for the $\pm 2^{\circ}\text{C}$ fluctuation regime than for the $\pm 5^{\circ}\text{C}$ fluctuation regime. This difference was significant from 26 to 61 dpi for isolate FS1 and from 32 to 61 dpi for isolates FS2 and FS3. For all isolates, the final sporulating area was significantly higher for the $\pm 2^{\circ}\text{C}$ fluctuation regime. Sporulating area was 18 %, 15 %, and 9 % wider on leaves under $\pm 2^{\circ}\text{C}$ fluctuation regime than on leaves under $\pm 5^{\circ}\text{C}$ fluctuation regime for isolates FS1, FS2, and FS3 respectively.

Epidemiological variables

The mean incubation period was shorter on leaves under $\pm 2^{\circ}\text{C}$ fluctuation regime than on leaves under $\pm 5^{\circ}\text{C}$ fluctuation regime in all cases (Fig. III.3 *a-d*). The difference was significant for isolates FS1 ($P < 0.001$) and FS3 ($P < 0.001$) and all isolates pooled ($P < 0.001$). Incubation period was delayed by 1.4, 0.8, and 1.8 dpi on average for isolates FS1, FS2 and FS3 respectively, and by 1.3 dpi if considering all isolates together.

The mean latent period was also shorter on leaves under $\pm 2^{\circ}\text{C}$ fluctuation regime than on leaves under $\pm 5^{\circ}\text{C}$ fluctuation regime in all cases (Fig. III.3 *e-h*). The difference was significant for isolate FS1 ($P = 0.046$) and all isolates pooled ($P = 0.002$). Latent period was delayed by 1.3, 0.7, and 1.4 dpi on average for isolates FS1, FS2 and FS3 respectively, and by 1.2 dpi if considering all isolates together.

The pycnidia density was also influenced by the leaf temperature fluctuation regime (Fig. III.3 *i-l*). The difference was significant for isolates FS1 ($P < 0.001$) and FS3 ($P = 0.039$) and all isolates pooled ($P < 0.001$). The pycnidia density was on average 32 % higher on leaves under $\pm 2^{\circ}\text{C}$ fluctuation regime than on leaves under $\pm 5^{\circ}\text{C}$ fluctuation regime with respectively 32.3 and 24.5 pycnidia.cm⁻¹ (Fig. III.3 *l*). The decrease of pycnidia density at $\pm 5^{\circ}\text{C}$ fluctuation regime compared to that at $\pm 2^{\circ}\text{C}$ fluctuation regime was about 59 %, 13 % and 33 % for isolates FS1, FS2 and FS3 respectively.

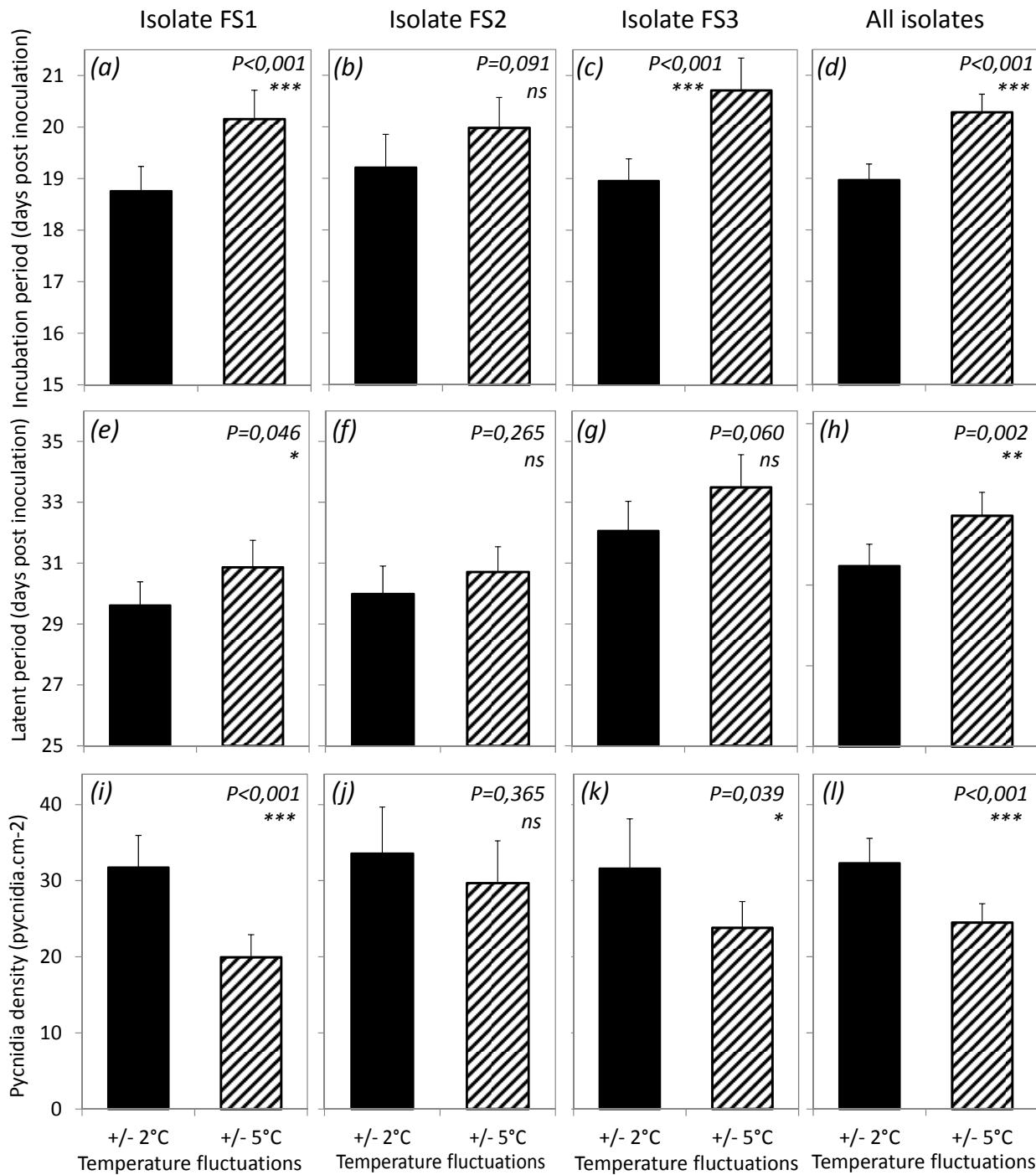


Fig. III.3: Effect of two leaf temperature fluctuation regimes ($\pm 2^{\circ}\text{C}$ and $\pm 5^{\circ}\text{C}$) on epidemiological variables: incubation period (a-d), latent period (e-h), and pycnidia density (i-l) for isolates FS1 (a, e, i), FS2 (b, f, j), FS3 (c, g, k), and all isolates confounded (d, h, l). Incubation period is the time elapsed from inoculation to the first with visible chlorosis. Latent period is the time elapsed from inoculation to 37 % of the maximum sporulating area, estimated by fitting the data to a Gompertz growth curve. Values are means. Error bars are confidence interval (95 %). P-values: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$, ns: not significant, determined from the Student's *t*-test.

Comparison between simulated and observed latent periods

Among all the time steps tested for the simulation of latent period, none has given results significantly equivalent to observed latent periods in all cases (fluctuation regimes $\times$ isolates). On leaves under $\pm 2^{\circ}\text{C}$ temperature fluctuation regime and whatever the isolate, the simulated latent periods at time steps 15 min, 1 h, 3 h, and 6 h were significantly similar (Fig. III.4 *a,c,e*). At these time steps, the latent period was overestimated and differed significantly from the observed latent period for isolates FS1 and FS3. In contrast, for isolate FS2, at time steps from 0.25 h to 6 h, the simulated latent period was similar to the observed one ($P > 0.36$). On leaves under $\pm 5^{\circ}\text{C}$ temperature fluctuation regime and whatever the isolate, the simulated latent periods at time steps from 15 min to 6 h were significantly similar (Fig. III.4 *a,c,e*), except for isolate FS1 for which simulated latent periods at 0.25 h and 6 h differed significantly ($P = 0.041$). At these time steps, for all isolates the latent periods were even more overestimated than for $\pm 2^{\circ}\text{C}$ temperature fluctuation regime, and significantly different from the observed latent period.

Among all tested time steps, the two 12 h time steps gave significantly different results for all isolates and fluctuation regimes, except for isolate FS3 under $\pm 2^{\circ}\text{C}$ temperature fluctuation regime ($P=0.20$). Under $\pm 2^{\circ}\text{C}$ temperature fluctuation regime, the time step 12 h(I) gave similar results than that observed for isolate FS3 only while the time step 12 h(II) gave similar results than that observed for all isolates. Under $\pm 5^{\circ}\text{C}$ temperature fluctuation regime, the time step 12 h(II) gave similar results than that observed for isolates FS1 and FS3 while the time step 12 h(I) gave different results from that observed for all isolates. These results demonstrate the importance of the moment in the day for grouping temperature data for the 12 h time steps.

As detailed previously, whatever the tested isolate, observed latent period was higher on leaves under $\pm 5^{\circ}\text{C}$ temperature fluctuation regime than on leaves under $\pm 2^{\circ}\text{C}$ temperature fluctuation regime (Fig. III.3 *e-h*). This difference was significant for isolate FS1 only (Fig. III.5 *a*). The experimental device was designed to obtain equal mean leaf temperatures for both fluctuation regimes. Consequently, latent periods simulated at a daily time step were equal for both leaf temperature fluctuation regimes (Fig. III.5 *c*, $P = 0.80$) while results of simulations using a 15 min time step differed between both leaf temperature fluctuation regimes (Fig. III.5 *b*, $P < 0.001$) as it was observed experimentally. However, at a 15 min time step, the difference for latent periods simulated between fluctuation regimes was overestimated. The delay of latent period observed between $\pm 2^{\circ}\text{C}$ and $\pm 5^{\circ}\text{C}$ reached 1.1 dpi while the simulated delay at a 0.25 h time step reached 5.8 dpi.

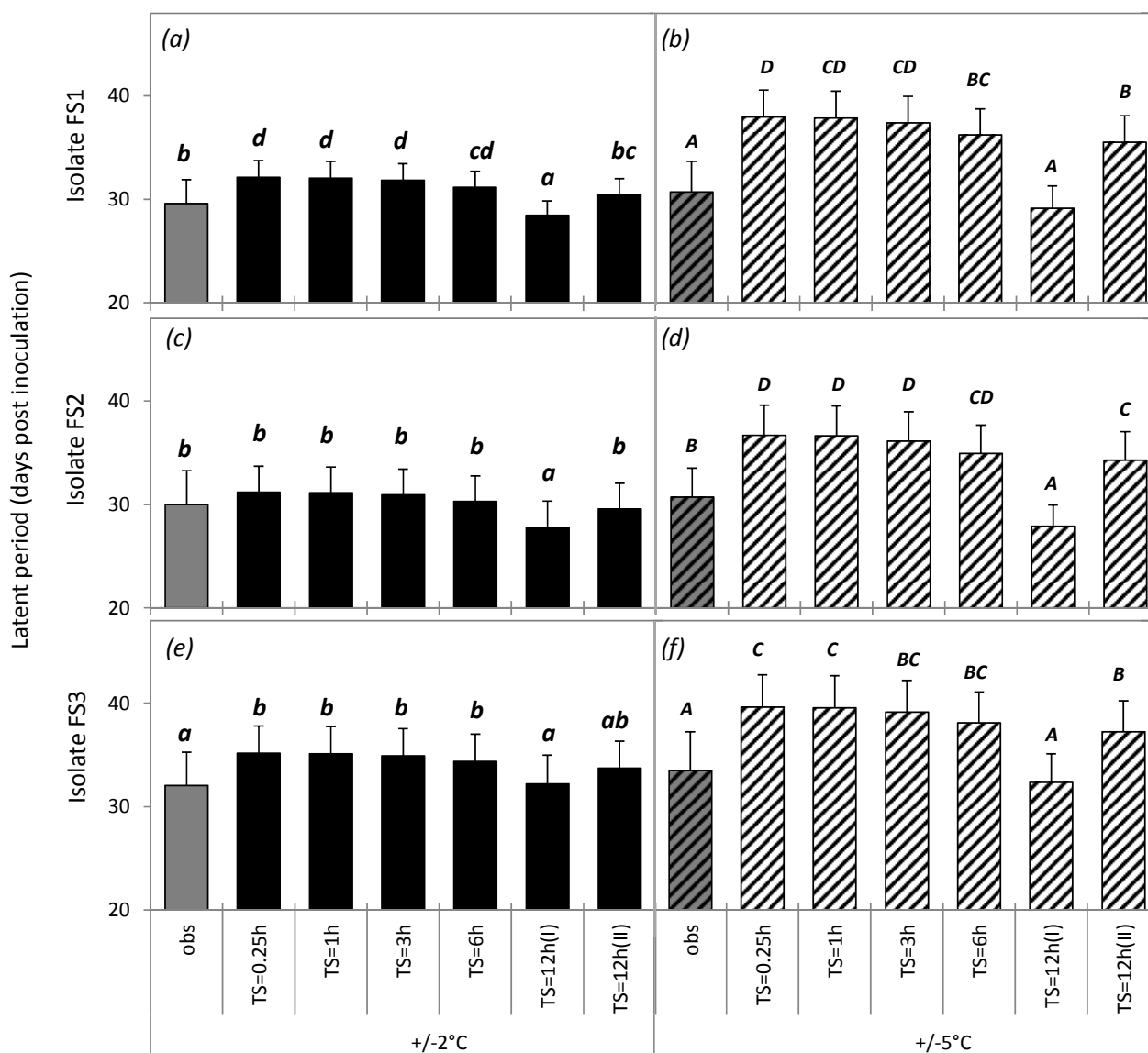


Fig. III.4: Comparison between mean observed (obs) and simulated latent periods at 6 time steps (TS) under two leaf temperature fluctuation regimes: $\pm 2^{\circ}\text{C}$ (a, c, e) and $\pm 5^{\circ}\text{C}$ (b, d, f) and for three isolates: FS1 (a, b), FS2 (c, d), and FS3 (e, f). Time steps 12 h(I) and 12 h(II) differed in the hours determining the limits of each of the two daily interval. For the time step 12 h(I), leaf temperature data at 15 min interval were averaged from 0:00 a.m. to 11:45 a.m. and from 12:00 a.m. to 11:45 p.m. For the time step 12 h(II), leaf temperature data at 15 min interval were averaged from 6:00 a.m. to 5:45 a.m. and from 6:00 p.m. to 5:45 a.m. (day +1). Values are means. Error bars are confidence interval (95 %). Lower case ($\pm 2^{\circ}\text{C}$) and upper case ($\pm 5^{\circ}\text{C}$) letters represent significant differences (t-test, $P \leq 0.05$).

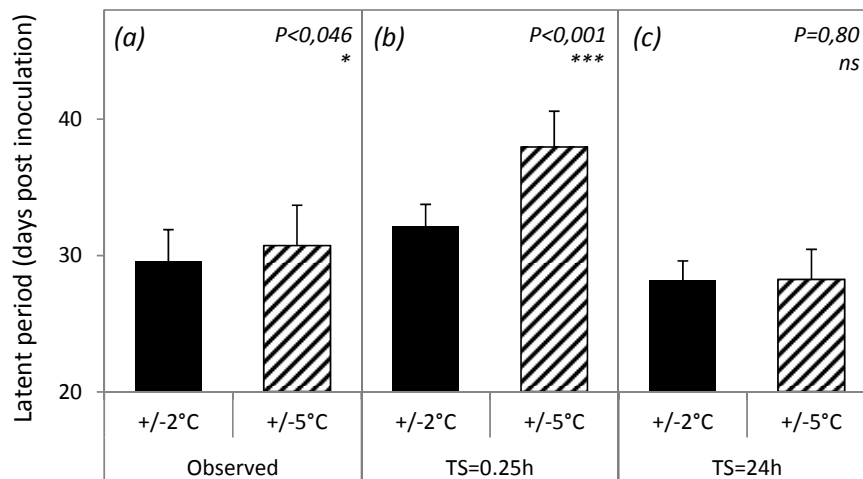


Fig. III.5: Comparison of mean observed latent periods (a) and mean simulated latent periods using 0.25 h (b) and 24 h (c) time steps for isolate FS1. Values are means. Error bars are confidence interval (95 %). P-values: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$, ns: not significant, determined from the Student's *t*-test.

DISCUSSION

The first purpose of our study was to compare the development of a fungal foliar pathogen under two fluctuation regimes of leaf temperatures. As demonstrated for other organisms (Ragland & Kingsolver, 2008; Bouamama *et al.*, 2010; Legler *et al.*, 2012), the fluctuation regime of leaf temperature impacted the development of *M. graminicola*. Here, however, we reported that the effect of fluctuation regime of leaf temperature depended on the *M. graminicola* development variable considered. While the dynamics of necrosis were not affected by the fluctuation regime of leaf temperature (Fig. III.2 a-b), the dynamics of sporulating area (Fig. III.2 d-f) and the three epidemiological variables (Fig. III.3) were affected by the fluctuation regime of leaf temperatures. In general, the high fluctuation regime ($\pm 5^{\circ}\text{C}$) resulted in a lower pathogen performance. At a $\pm 5^{\circ}\text{C}$ fluctuation regime, the dynamic of the sporulating area was slowed down and its final value was significantly reduced, the incubation and latent periods were significantly lengthened (by 7 % and 4 % respectively) and, more pronounced, the pycnidia density was significantly reduced by 24 %. Thus a higher temperature fluctuation regime resulted in multiple negative effects: the increase of the pathogen cycle duration and a decrease in the density of fruiting body produced (pycnidia).

We compared the development of a foliar fungal pathogen at various fluctuation regimes of leaf temperature which corresponds to the pathogen's body temperature. To our knowledge, the study by Bonde *et al.* (2012) was the first to measure simultaneously leaf and air temperatures for the study of temperature variance effect on a foliar fungal pathogen. The authors concluded that leaf and air temperatures in growth chambers were nearly equal. However, they measured the temperature of a single leaf at a time during a period of 3 days for each test in growth chambers. In the field, and even in growth chambers equipped with lamps emitting thermal infrared radiations, however, leaf temperature can differ greatly from ambient air temperature (Chelle, 2005; Pincebourde & Woods, 2012). In the case of wheat, leaf temperature is heterogeneous at the canopy scale. The leaves in the shade remain colder than those leaves receiving direct radiation. The thermal variance of leaves exposed is expected to be larger than the leaves in the shade. Therefore, we expect differences in natural populations of the pathogen in terms of epidemiological parameters.

To perform simulations accounting for the two levels of temperature variances, as proposed by Xu (1996), we integrated the developmental rate function of latent period at small time intervals. As previously observed by Niehaus *et al.* (2012), predictions were less accurate for the high level of variance than they were for low level of variance. The simulations using various time steps demonstrated how it can influence the output. The difference of simulated results between the two 12 h time steps showed that the choice of cutting the day in two 12 h time steps for averaging temperature data strongly influences the average temperature and thus the simulated disease. Consequently, this time step appeared too wide for simulations. Xu (1996) suggested that an interval up to 4 h is small enough to account for the diurnal fluctuating temperatures. By contrast, our simulations using 15 min, 1 h, 3 h, or 6 h time steps gave similar results whatever the amplitude of temperature fluctuations. Our device consisted in a regular fluctuation during the day. It did not account for punctual temperature extremes that can also influence the development of fungus (Bonde *et al.*, 2012). Accounting for temperature extremes necessitates decreasing the time step of temperature used for simulations.

To explain the differences of development of organisms under constant and fluctuating environments, Kaufmann (1932) proposed an explanation, called the "rate summation" effect or "Kaufmann" effect, derived from the Jensen's inequality (Jensen, 1906). This inequality is not a biological phenomenon *per se* but a mathematical consequence of the nonlinear and asymmetric form of many biological functions and the variance inherent in many environmental factors (Scherer & van Bruggen, 1994a; Ruel & Ayres, 1999; Bozinovic *et al.*,

2011). As the relationship between leaf temperature and the development of *M. graminicola* is nonlinear (chapter II), the difference of development observed under two variances of temperatures is partly due to the Kaufmann effect. In our study, as proposed by Scherm and van Bruggen (1994b), we compared development near the optimal mean leaf temperature to maximize the effect of temperature fluctuations on *M. graminicola* development. The high temperatures reached by leaves under the $\pm 5^{\circ}\text{C}$ fluctuation regime probably lead to reduce or even stop the development of the fungus for several hours each day. In addition, during the night, when temperatures were the lowest, the pathogens under $\pm 5^{\circ}\text{C}$ fluctuation regime developed less than pathogens under $\pm 2^{\circ}\text{C}$ fluctuation regime. As a mathematical consequence, we observed higher latent period duration, due to lower development rates, under $\pm 5^{\circ}\text{C}$ than under $\pm 2^{\circ}\text{C}$ fluctuation regime of leaf temperature. The difference of latent period between both fluctuation regimes was not always significant (Fig. III.3 e-h). However, as septoria tritici blotch is a polycyclic disease, the difference between latent periods observed on a single cycle could result in a higher (and may-be significant) difference at a polycyclic scale. Otherwise, our results confirm the statements of Ruel & Ayres (1999) that whenever biological systems involve nonlinear response, the description and interpretation of environmental data should include an explicit consideration of the variance. This will have necessarily consequences for the simulation of foliar fungal diseases that must account for the variance of temperatures, in addition to the mean temperature.

The overestimation of simulated latent periods compared to observed latent periods can be explained in two ways. First, the coefficients of equation III.1 were determined for daily mean leaf temperature ranging from 10.1 to 20.9°C (chapter II) and a leaf temperature variance of about $\pm 4.5^{\circ}\text{C}$ while here leaf temperatures ranged from 12.5°C and 28.9°C. Thus, differences between observed and simulated latent period could be partly due to a poor estimate of developmental rate at supraoptimal leaf temperatures. Second, in addition to the Kaufmann effect, possible physiological mechanisms leading to an acceleration or a retardation of the development under fluctuating temperature conditions have been suggested on insects (Worner, 1992). According to Niehaus *et al.* (2012), two biological phenomena can generate a mismatch between the predicted and actual performances in fluctuating environments: (i) chronic exposure to an extreme temperature could have a deleterious effect on performance, referred to as thermal stress ; (ii) chronic exposure could trigger a beneficial response, referred to as thermal acclimation. In this study, latent period determined experimentally was lower than simulated latent period accounting for mathematical properties of the Kaufmann effect.

This tends to demonstrate a beneficial response to high leaf temperature fluctuations in *M. graminicola*.

This study demonstrates the relevance of considering leaf temperature fluctuation when studying the development of foliar fungal pathogens. Epidemiological models need to keep a high temporal resolution as the choice of time step is crucial to obtain accurate simulations. Future model of pathogen development should also integrate the spatial heterogeneity in leaf temperatures in the field as the thermal variance can differ according to leaf micro-environment in plant canopies.

ACKNOWLEDGMENTS

We thank Fabrice Duhamel and Alain Fortineau for technical assistance. This study was funded by INRA (“Plant Health and Environment” and “Environment and Agronomy” Divisions) and ARVALIS – Institut du Végétal.

Chapitre IV

HOW THE SPATIAL AND TEMPORAL SCALES OF TEMPERATURE IMPACT SIMULATED FOLIAR FUNGAL DISEASE: THE CASE STUDY OF *MYCOSPHAERELLA GRAMINICOLA* ON WHEAT

How the spatial and temporal scales of temperature impact simulated foliar fungal disease: the case study of *Mycosphaerella graminicola* on wheat

Frédéric BERNARD^{1,2}, Camille CHAMBON¹, Alain FORTINEAU¹, Ivan SACHE³, Frédéric SUFFERT³, Michaël CHELLE¹

¹INRA, UMR1091 EGC, F-78850 Thiverval-Grignon, France

²ARVALIS – Institut du Végétal, F-91405 Orsay, France

³INRA, UR 1290 BIOGER-CPP, F-78850 Thiverval-Grignon, France

INTRODUCTION

Temperature is one of the most important climatic variables used in plant disease models as it drives many processes. Thus, temperature has to be measured precisely enough to ensure disease models accuracy. Disease management decision aids are commonly implemented based on daily or hourly weather measurements made from sensors located at a standard placement of 1.5 or 2 m above the ground or are estimated from off-site weather measurements (Pfender *et al.*, 2012). Such measurements can differ from the in-canopy air temperature. To argue on the relevance of using in-canopy air temperature rather than temperatures measured by standard weather stations, Magarey *et al.* (2001) stated that canopy microclimate may modify environmental conditions greatly compared with a turf surface where standard weather station measurements have to be made. For example, canopy microclimates with high leaf densities and poor air circulation are generally more prone to disease (Sutton *et al.*, 1984). Thus, the difference of temperature because of sensor location (in-canopy vs. standard placement) could impact management decision aids (Pfender *et al.*, 2012). The acquisition of on-farm or site-specific weather data seems impossible as the purchasing and maintaining of farm-based automated weather stations is too expensive (Magarey *et al.*, 2001). One solution is a simulation approach that can scale weather information from the global down to the plant scale (Seem *et al.*, 2000; Magarey *et al.*, 2001; Seem, 2004).

Moreover, foliar fungal pathogens develop mainly onto and into leaves. Thus, their development is driven by the leaf temperature (Lovell *et al.*, 2004a). It is well known, because of the leaf energy budget, that air temperature can differ greatly from leaf temperature depending on climatic conditions (Drake *et al.*, 1970; Sutcliffe, 1977; Ehrler *et al.*, 1978b; Smith, 1978; Shaw & Decker, 1979; Weng & Liao, 2001). However, this has been largely ignored in plant foliar disease models that commonly use air temperature measured by weather stations (mesoclimatic temperature) or more rarely into the canopy (microclimatic temperature). Thus, the use of leaf temperature instead of air temperature should improve foliar disease model predictions. A similar approach allowed the simulation of the leaf wetness duration, another climatic variable that drives foliar fungal epidemics, whose estimation was preferred to direct measurement of air humidity that introduced some artifacts in epidemic models (Dalla Marta *et al.*, 2005). The down scaling from meteorological temperature to leaf temperature, as it has been previously made for in-canopy air temperature, is a way to test this hypothesis.

One promising approach for spanning this diverse range of scales lies in the application of biophysics, which accounts for heat, mass, and exchange between organisms and their physical environment (Helmuth *et al.*, 2005). The leaf temperature can be estimated by Soil-Vegetation-Atmosphere transfer (SVAT) models using data recorded by standard weather stations. Such models, as CUPID (Norman, 1979), dynamically simulate the leaf temperature for each leaf layer.

This study aims at assessing the impact of the types of temperature and the time resolution (time step) on simulation outputs. To this end, the first purpose was to analyze the relationship between the three types of temperature (corresponding to three climate scales: mesoclimate, microclimate and phylloclimate) measured experimentally in wheat fields. The phylloclimate corresponds to the physical environment actually perceived by each individual aerial organ of a plant population (Chelle, 2005). Then, the second purpose was to compare these relationships to that established with simulation to ensure that temperatures are simulated accurately enough for simulating epidemics. The final purpose was to assess the impact of the type of temperature and the time step on the simulated epidemics. As a case study, we used the fungus *Mycosphaerella graminicola*, the causal agent of septoria tritici blotch (STB) on wheat. Present wherever wheat is grown and developing throughout the wheat growing season, this pathogen is exposed to a wide range of temperatures.

MATERIALS AND METHODS

Field experiment

Experimental setup

Experiments were conducted in two non-irrigated winter wheat (cv Tremie) plots, characterized by a deep silt loam soil, at INRA Grignon, France (48° 50' 43" N, +1° 56' 45"). In order to generate two different canopy architectures, the two winter plots differed by the sowing density and the nitrogen supplies. In the first field (field 1), winter wheat was conducted as an extensive crop with low sowing density (180 grains.m⁻²) and low nitrogen supplies (65 kg.ha⁻¹). The second wheat field (field 2) was conducted as an intensive crop with higher sowing density (250 grains.m⁻²) and nitrogen supply (210 kg.ha⁻¹).

Field temperature measurements

During the whole growing season, from November 2011 to July 2012, the temperature was measured simultaneously at three levels: (i) the air temperature of a meteorological station located less than 1 km from the field experiment (mesoclimatic temperature), (ii) the in-canopy air temperature (microclimatic temperature), and (iii) the wheat green leaves temperature (phylloclimatic temperature - Chelle, 2005). The mesoclimatic temperature was measured at an hourly time step by a standardized weather station (model Enerco 516i, CIMEL Electronique, Paris, France). The standard mesoclimatic temperature was measured at 2 m height above a grass canopy. The microclimatic temperature was measured with thin T-type thermocouples (diameter 0.06 mm) in each of the two wheat plots at five heights: every 25 cm from 0 to 100 cm. Finally, leaf temperature was measured on nine plants for each plot. For each plant, the temperatures of three green leaves of the main tiller were measured simultaneously with thin T-type thermocouples (diameter 0.2 mm) positioned under and in contact with the abaxial surface of leaf. In parallel to the crop growth, leaf temperature thermocouples were removed from the lower senescing leaves to the upper emerging leaves. The contact of thermocouples with leaves was checked three times a week. Thermocouples used for microclimatic and phylloclimatic temperatures were connected to a datalogger (Campbell Scientific®, USA) for each plot, recording leaf temperature every 20 s. The thermocouples and data-loggers were calibrated before and after the experiment.

Simulation of leaf and canopy air temperatures

Simulation of microclimatic air temperature and leaf temperature were performed using the CUPID model (Norman, 1979) that has already been used for pest simulations (Toole *et al.*, 1984; Rickman & Klepper, 1991). CUPID is a Soil-Vegetation-Atmosphere Transfer (SVAT) model that simulates energy fluxes between soil, vegetation and atmosphere. It uses weather, canopy (*e.g.* leaf physiological, canopy architecture), soil (heat and water properties) and site (*e.g.* latitude, longitude) characteristics as inputs (Fig. IV.1).

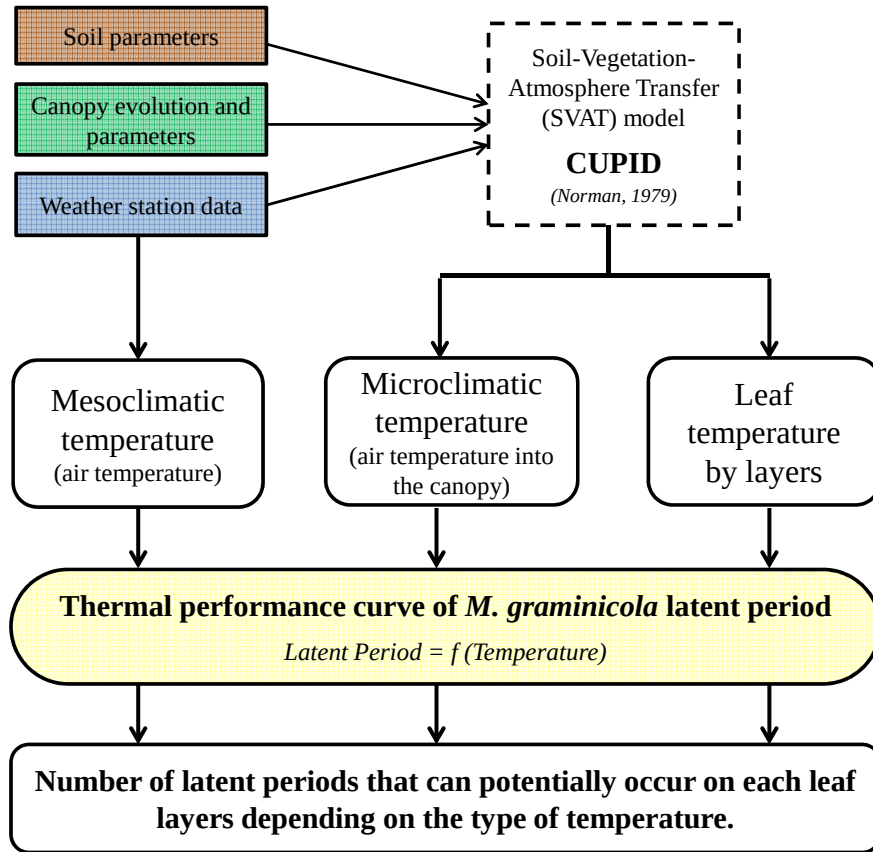


Fig. IV.1: An overview of the simulation process.

Input data and parameters

Simulations were performed using mesoclimatic weather data from the weather station previously described in the field experiment section. All simulations were performed from November 1 to June 15 of the next year which corresponds approximately to the wheat growing season in Northern France. Eleven years were used to simulate microclimatic air and leaf temperatures of wheat crop using weather data from the year 2001-2002 to the year 2011-2012. For wheat canopies parameterization, we adapted CUPID input parameters validated by Huang *et al.* (2010) to our geographical context.

Canopy structure

In CUPID, the canopy is divided in different leaf layers. The height of each layer is characterized by its mean height. We grouped microclimatic air temperature and leaf temperature results of each sub-layer in 7 layers of 10 cm height from 0 to 70 cm. The

simulated result of a layer corresponds to the mean temperature of each sub-layer belonging to the corresponding layer.

Septoria tritici blotch (STB) disease simulation

As STB is a polycyclic disease, the number of cycles that can occur on each leaf will determine the aggressiveness of the disease. This disease spreads vertically from the leaves in the lower canopy to the upper leaves by splashing asexual spores through raindrops. Thus, the more there are leaf layers between sporulating leaves and emerging leaves, the less disease can disperse. This is an aspect of the wheat resistance to STB. Thus, to characterize the disease aggressiveness, the ratio between the number of latent periods that can occur on each leaf until its senescence was considered. This ratio corresponds to the inverse of the “pathochron” defined by Beresford & Royle (1988).

The STB disease simulation was performed using the relationship (eqn. IV.1) between temperature and the rate (r_{LP}) of STB latent period (chapter II). r_{LP} corresponds to the inverse of latent period. This relationship was obtained using daily mean leaf temperature data.

$$r_{LP}(T) = 1 / (28.8 + 0.85 \times (T - 18.4)^2) \quad \text{Eqn. IV.1}$$

Where T is the temperature. To account for the variability of the response of *M. graminicola* to leaf temperature, for each leaf independently, the coefficient values were determined stochastically. To this end, coefficients were determined using a normal distribution with the means specified in Eqn. IV.1 and variances specified in chapter II (Tab. II.2). Finally, 100 simulations were performed.

Once parameters were determined for each leaf, simulations were performed using 8 time steps (intervals) of temperature data input: 1 h, 2 h, 3 h, 4 h, 6 h, 8 h, 12 h, and 24 h. For each time step the rate of latent period was determined using Eqn. IV.1 and then, the results of simulation were divided by the number of time steps in 24 h (e.g. dividing by 4 for the time step 6 h). Finally, simulated results at each time step were summed. A value of 1 means that the sporulating area progress is at 37 % of the final area (chapter II).

RESULTS

Differences between types of temperature

Field temperature measurements

From 30 November, 2011 to 11 July, 2012 the air temperature measured by the weather station (mesoclimatic temperature) was generally higher than the air temperature measured at various heights into the canopy (microclimatic temperature). All heights confounded, the mesoclimatic temperature was higher than the microclimatic temperature for 71.3 % and 77.9 % of the cases for fields 1 and 2 respectively. Whatever the field, this difference between both air temperatures was, on average, the lowest at 0 cm and the highest at 25 cm. Considering the distribution of differences between mesoclimatic and microclimatic temperatures, we observed that the more the microclimatic temperature was measured near the soil surface, the wider was the spread of the distribution of differences between the two types of air temperatures (Fig. IV.2 *a-j*). In addition, whatever the height of microclimatic temperature measurements, the differences with weather station air temperatures was significantly higher in field 2 than in field 1 ($P < 0.001$). The difference between mesoclimatic and microclimatic temperatures was up to 1°C in absolute for 48 %, 31 %, 18 %, 11 %, and 7 % for heights 0, 25, 50, 75, and 100 cm respectively for field 1; and, for 43 %, 32 %, 24 %, 18 %, and 9 % for heights 0, 25, 50, 75, and 100 cm respectively for field 2.

Daily mean mesoclimatic and phylloclimatic temperatures were very similar whatever the leaf number (Fig. IV.3 *a-l*). Although the general tendency was that the daily mean phylloclimatic temperature was very close to the daily mean mesoclimatic temperature, we observed that for leaves 12 to 8, the daily mean phylloclimatic temperature was slightly lower than the daily mean mesoclimatic temperature (Fig. IV.3 *a-e*). The same pattern of results was observed for all plants sampled in both fields. The daily differences between maximal and minimal temperatures, which we called hereafter the daily amplitude of temperature fluctuations, differed between both types of temperatures (Fig. IV.4 *a-l*). For all leaves, the daily amplitudes of leaf temperature fluctuations were higher than the daily amplitudes of mesoclimatic temperature fluctuations. The higher was the daily amplitudes of leaf temperature fluctuations, the higher was the difference between both daily temperature fluctuations. This demonstrated that mean mesoclimatic and phylloclimatic temperatures were similar but the amplitude of fluctuations differed between both types of temperatures.

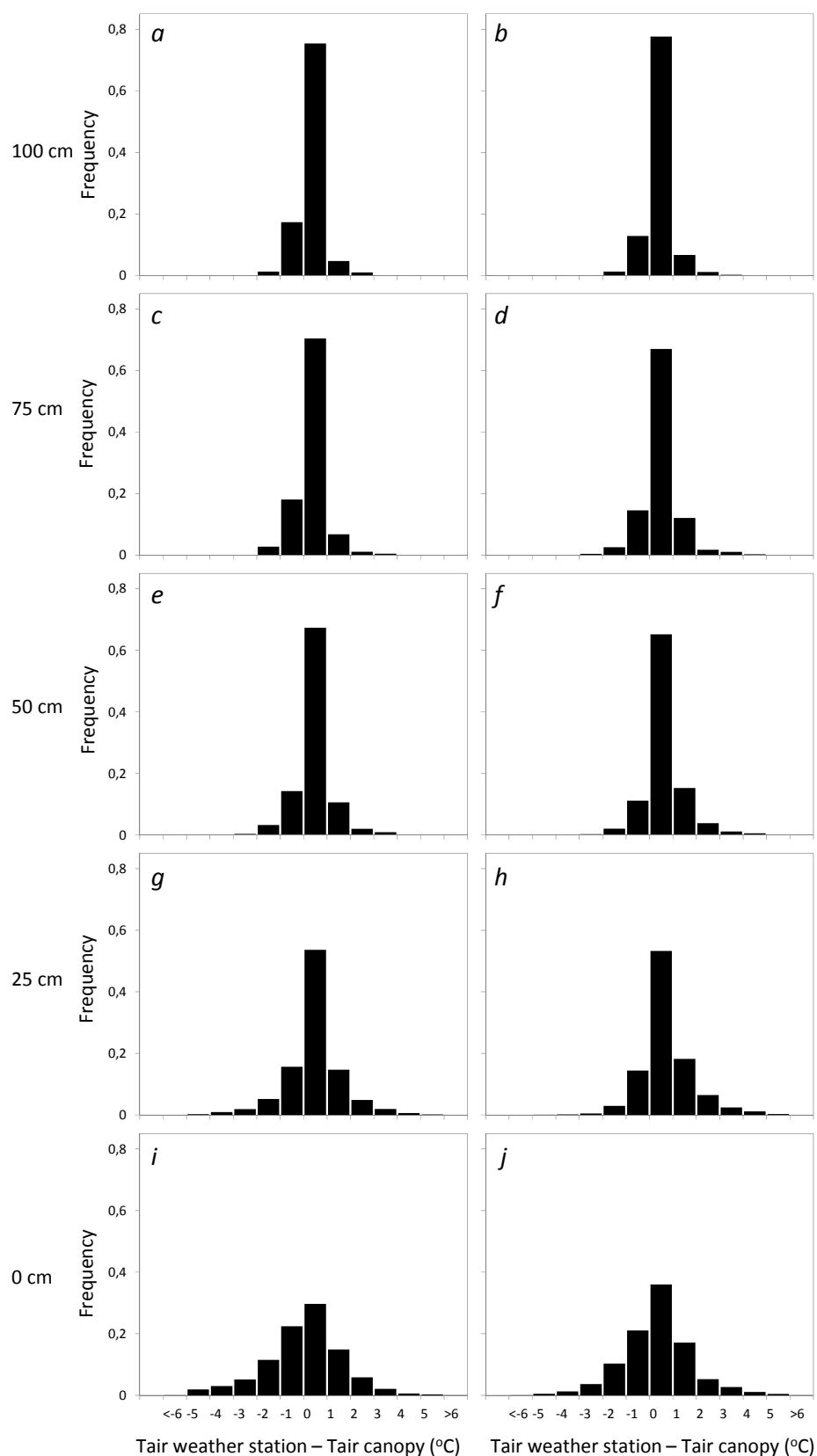


Fig. IV.2: Frequency of differences between air temperature measured by the weather station and air temperature measured into the canopy of field 1 (*a, c, e, g, i*) and field 2 (*b, d, f, h, j*) at 5 heights: 0 cm (*i, j*), 25 cm (*g, h*), 50 cm (*e, f*), 75 cm (*c, d*), and 100 cm (*a, b*). Hourly data recorded from 2011-11-30 to 2012-07-11.

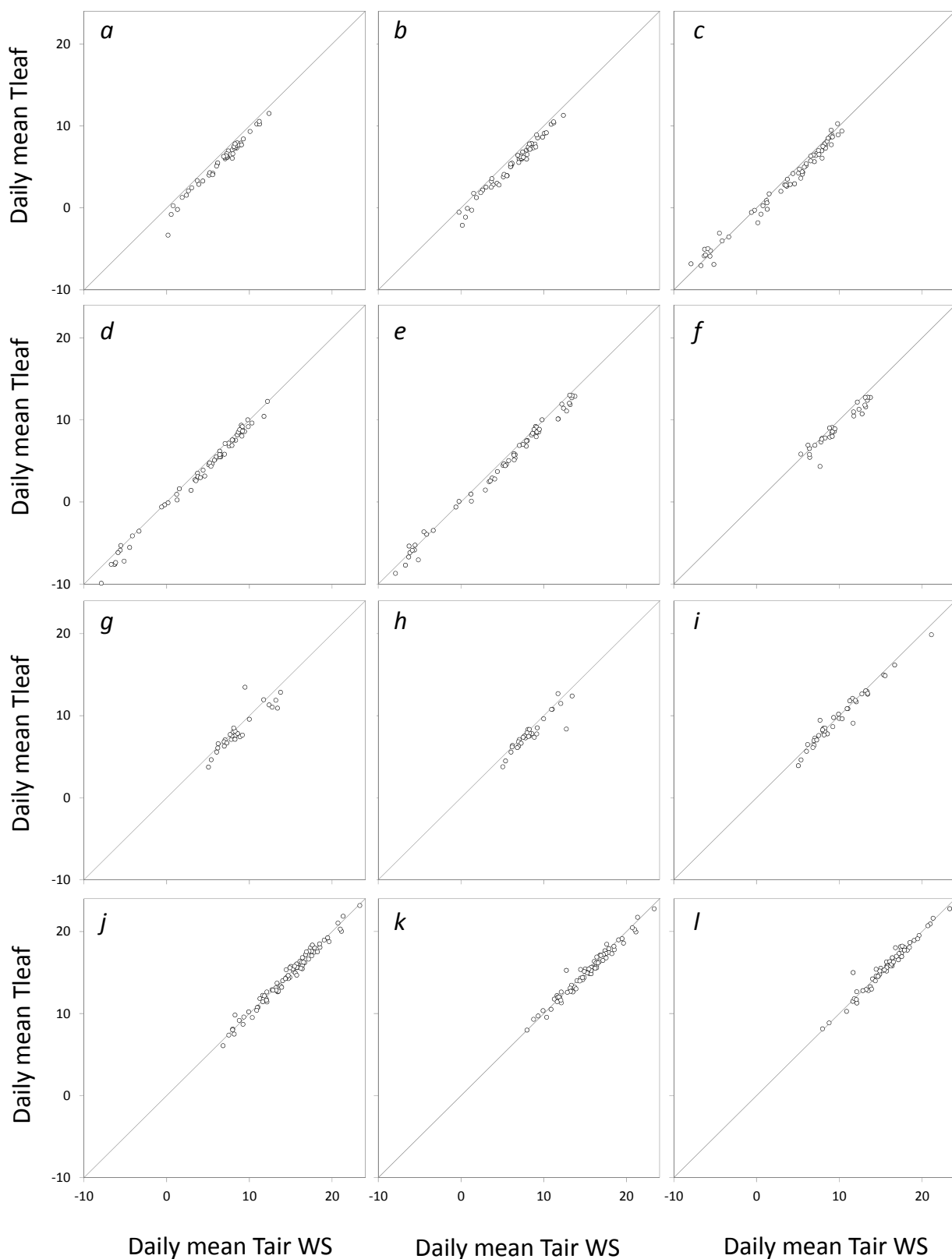


Fig. IV.3: Relationship between daily mean leaf temperature (Tleaf) and daily mean air temperature measured by a weather station (Tair WS) for the 12 leaves of the main stem : leaves 12 (*a*), 11 (*b*), 10 (*c*), 9(*d*), 8 (*e*), 7 (*f*), 6 (*g*), 5 (*h*), 4 (*i*), 3 (*j*), 2 (*k*), and 1 (*l*). Leaves were numbered in reverse order of their date of appearance.

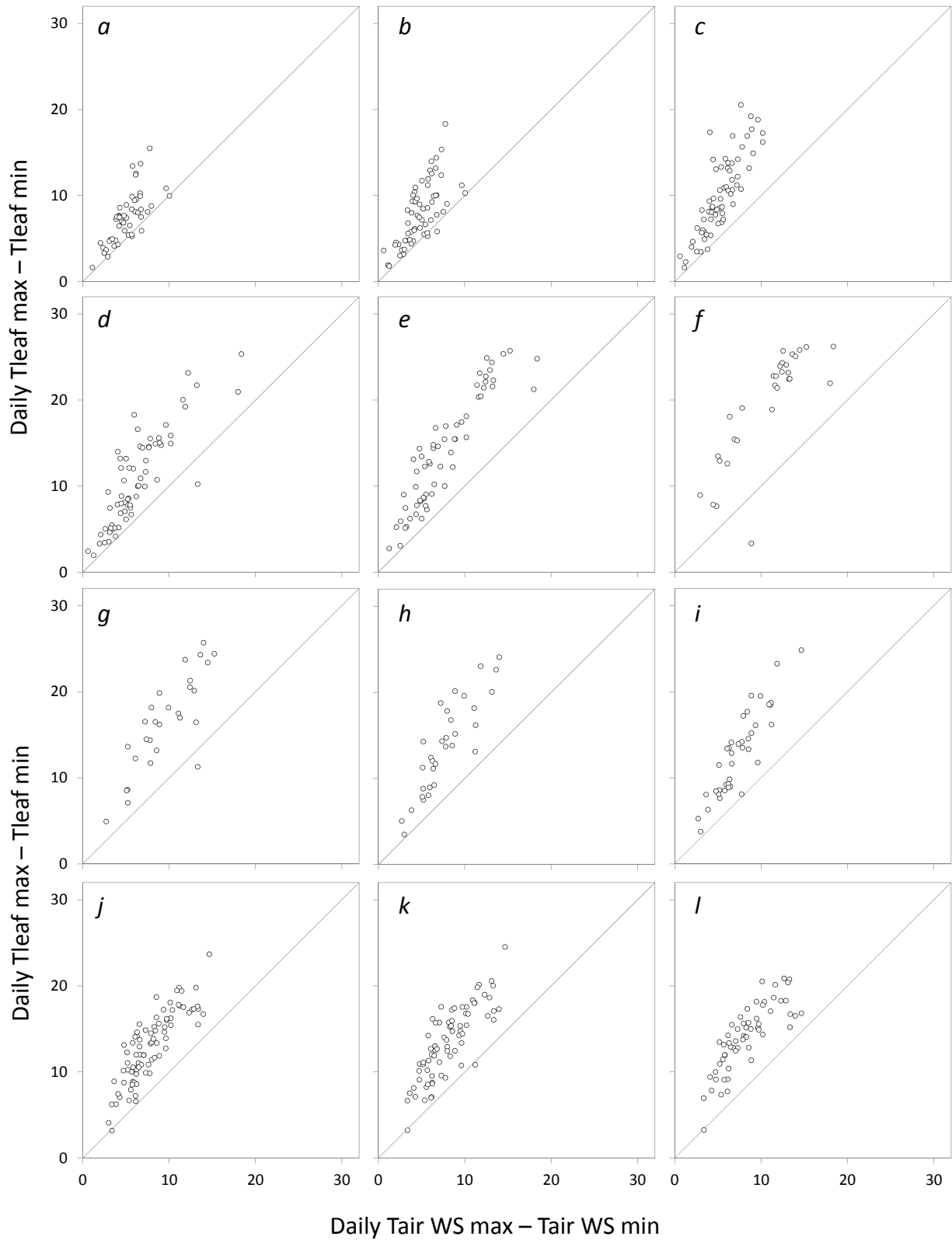


Fig. IV.4: Relationship between the daily difference between the maximal and minimal air temperatures measured by a weather station (Tair WS) and the daily difference between the maximal and minimal leaf temperatures (Tleaf) for the 12 leaves of the main stem : leaves 12 (*a*), 11 (*b*), 10 (*c*), 9(*d*), 8 (*e*), 7 (*f*), 6 (*g*), 5 (*h*), 4 (*i*), 3 (*j*), 2 (*k*), and 1 (*l*). Leaves were numbered in reverse order of their date of appearance. Leaf temperature data corresponds to one plant in field 1. The pattern of results was similar for all plants in both fields.

Simulated leaf and in-canopy air temperatures

Conversely to experimental data, we noted no differences between heights (from 0 to 70 cm) for simulated distributions of differences between mesoclimatic and microclimatic temperatures (Fig. IV.5 *a-g*). In addition, for simulated data, the mesoclimatic air temperature was generally higher than the microclimatic temperature while for measured microclimatic temperatures, the frequency of positive and negative differences was roughly similar, whatever the height.

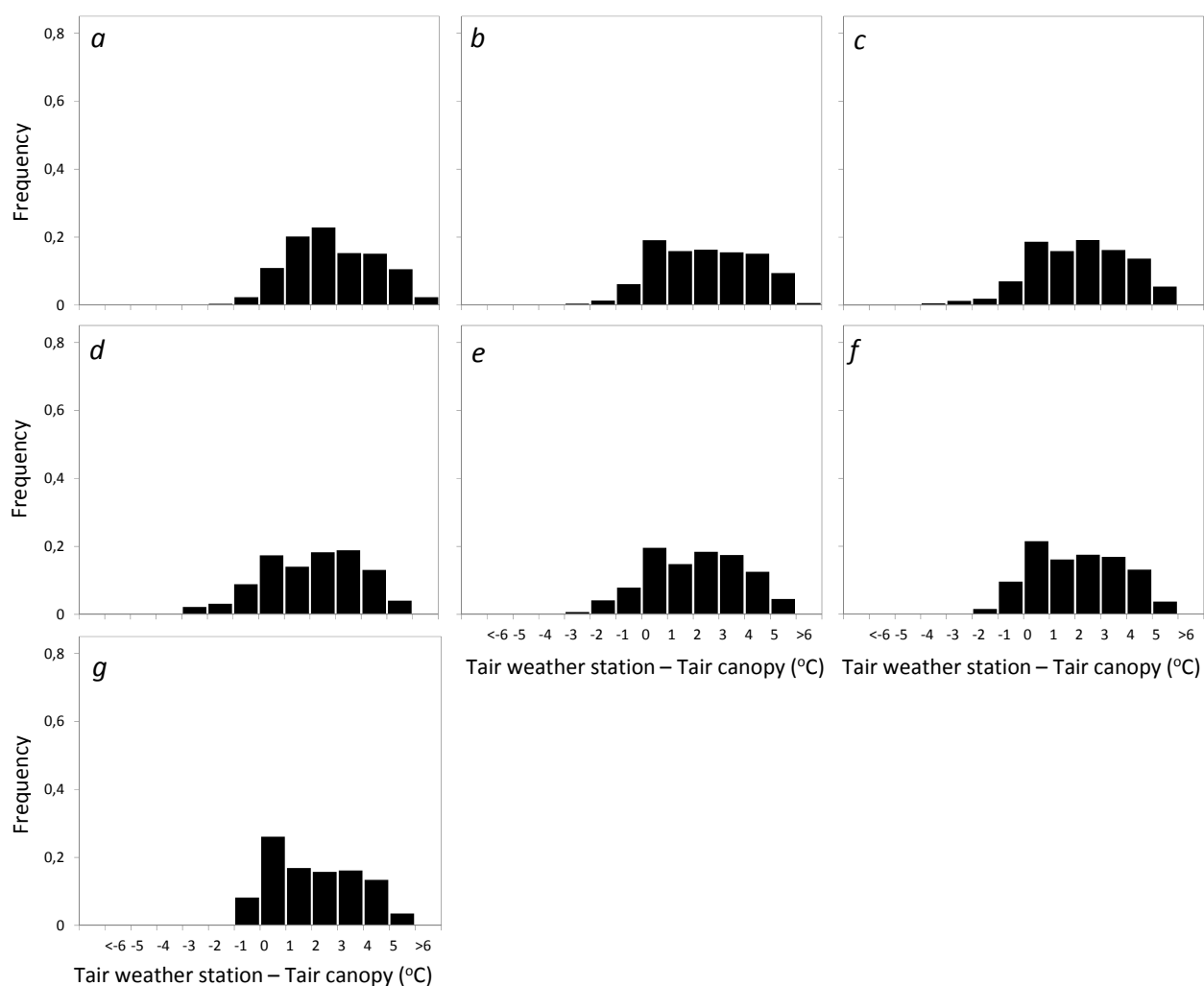


Fig. IV.5: Frequency of differences between air temperature measured by the weather station and air temperature into the canopy simulated by CUPID for the 7 leaf layers: [0 cm;10 cm[(*a*), [10 cm;20 cm[(*b*), [20 cm;30 cm[(*c*), [30 cm;40 cm[(*d*), [40 cm;50 cm[(*e*), [50 cm;60 cm[(*f*), and [60 cm;70 cm[(*g*).

Simulated daily mean phylloclimatic temperatures were strongly correlated to daily mean mesoclimatic temperatures (Fig. IV.6 *a-g*). Experimental data showed that for leaves 12 to 8, the daily mean phylloclimatic temperature was slightly lower than the daily mean mesoclimatic temperature (Fig. IV.3 *a-e*). For simulated data, this observation concerned all the leaf layers. The differences between both temperatures were similar to that experimentally observed on leaves 12 to 8.

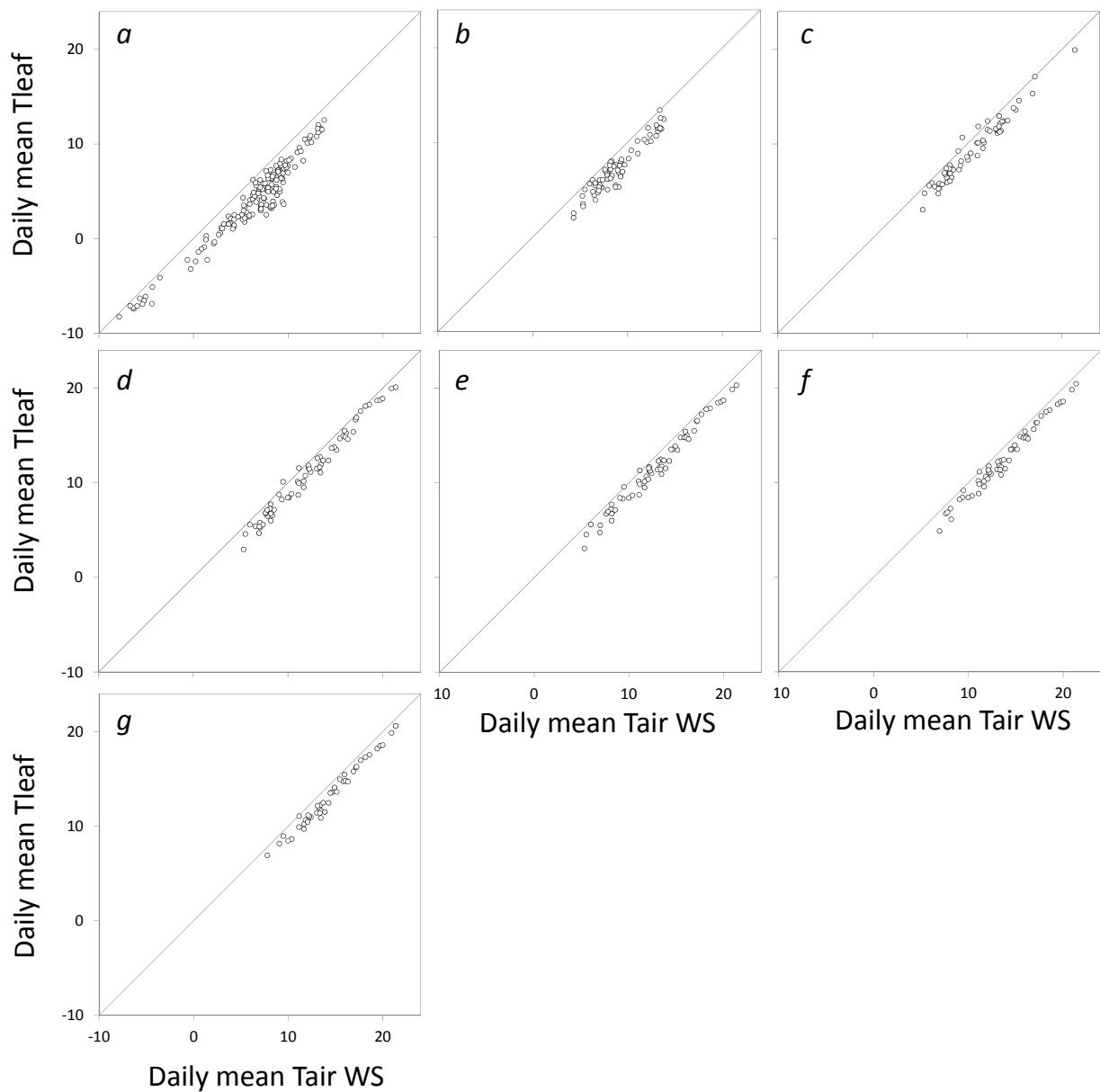


Fig. IV.6: Relationship between daily mean leaf temperature (Tleaf) simulated by the model CUPID and daily mean air temperature measured by a weather station (Tair WS) for the 7 leaf layers: [0 cm;10 cm[(*a*), [10 cm;20 cm[(*b*), [20 cm;30 cm[(*c*), [30 cm;40 cm[(*d*), [40 cm;50 cm[(*e*), [50 cm;60 cm[(*f*), and [60 cm;70 cm[(*g*).

As for experimental data, the daily amplitude of temperature fluctuations differed between both types of temperatures (Fig. IV.7 *a-g*): the amplitude of temperature fluctuation was generally higher for phylloclimatic temperatures than for mesoclimatic temperatures. For experimental data, we observed that the higher was the daily amplitudes of leaf temperature fluctuations, the higher was the difference between both daily temperature fluctuations (Fig. IV.4). For simulation, this was not as clear as for the observed data. However, the range of variation of simulated leaf temperature fluctuations was similar to that observed.

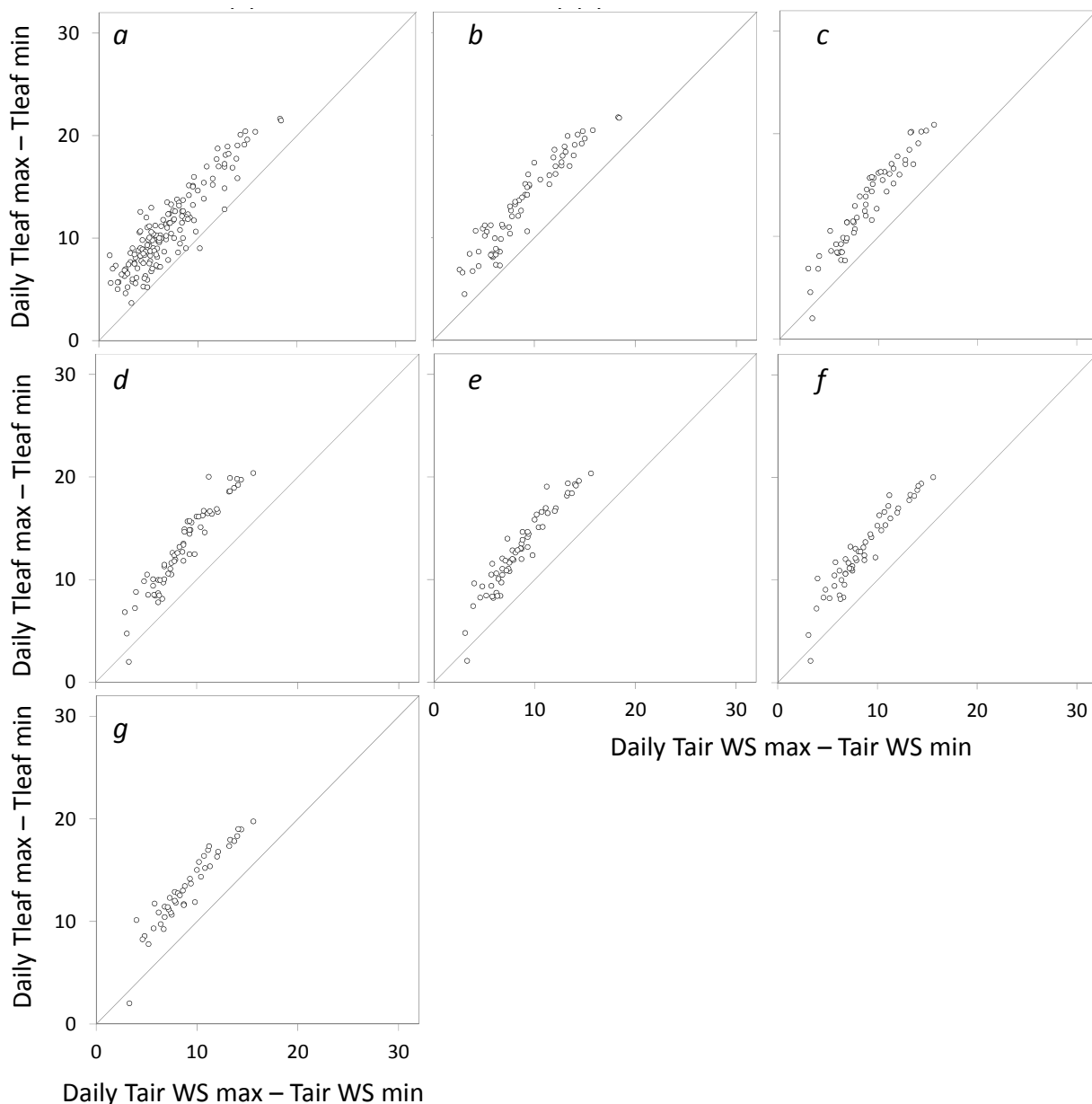


Fig. IV.7: Relationship between the daily difference between the maximal and minimal air temperatures measured by a weather station (Tair WS) and the daily difference between the simulated maximal and minimal leaf temperatures (Tleaf) the 7 leaf layers: [0 cm;10 cm[(*a*), [10 cm;20 cm[(*b*), [20 cm;30 cm[(*c*), [30 cm;40 cm[(*d*), [40 cm;50 cm[(*e*), [50 cm;60 cm[(*f*), and [60 cm;70 cm[(*g*).

Simulated disease

Effect of the time step on the simulated disease

Whatever the type of temperature used, the leaf layer, and the year, simulations performed at 2 h, 3 h, 4 h, and 6 h time steps gave similar results ($p > 0.05$) than simulation performed at a 1 h time step (Fig. IV.8); except during the year 2001-2002 for the 6 h time step ($p = 0.040$). For simulation performed at higher time steps (8 h, 12 h, and 24 h), in general, differences between results of simulations at a 1 h time step were higher for the upper leaf layers. In addition, we observed fewer differences at a 12 h time step than at 8 h and 24 h time steps. Differences observed were similar for phylloclimatic and microclimatic temperatures but were lower when performing simulations using the mesoclimatic temperature. The frequency of significant differences varies between years; as an example, there were fewer differences for the years 2004/2005 and 2009/2010 than for the years 2006/2007 and 2010/2011.

Effect of the type of temperature on the simulated disease

Whatever the leaf layer, the year, and the time step, simulations performed with microclimatic temperature gave similar results than simulations performed with phylloclimatic temperature (Fig. IV.9). Conversely, simulations performed with mesoclimatic temperature gave in most cases results significantly different than simulation performed with phylloclimatic temperature. We observed fewer differences between simulations using mesoclimatic and phylloclimatic temperatures for lower leaf layers than for upper leaf layers. The years for which the differences between the types of temperature were less pronounced were the same as for the effect of time step on simulations.

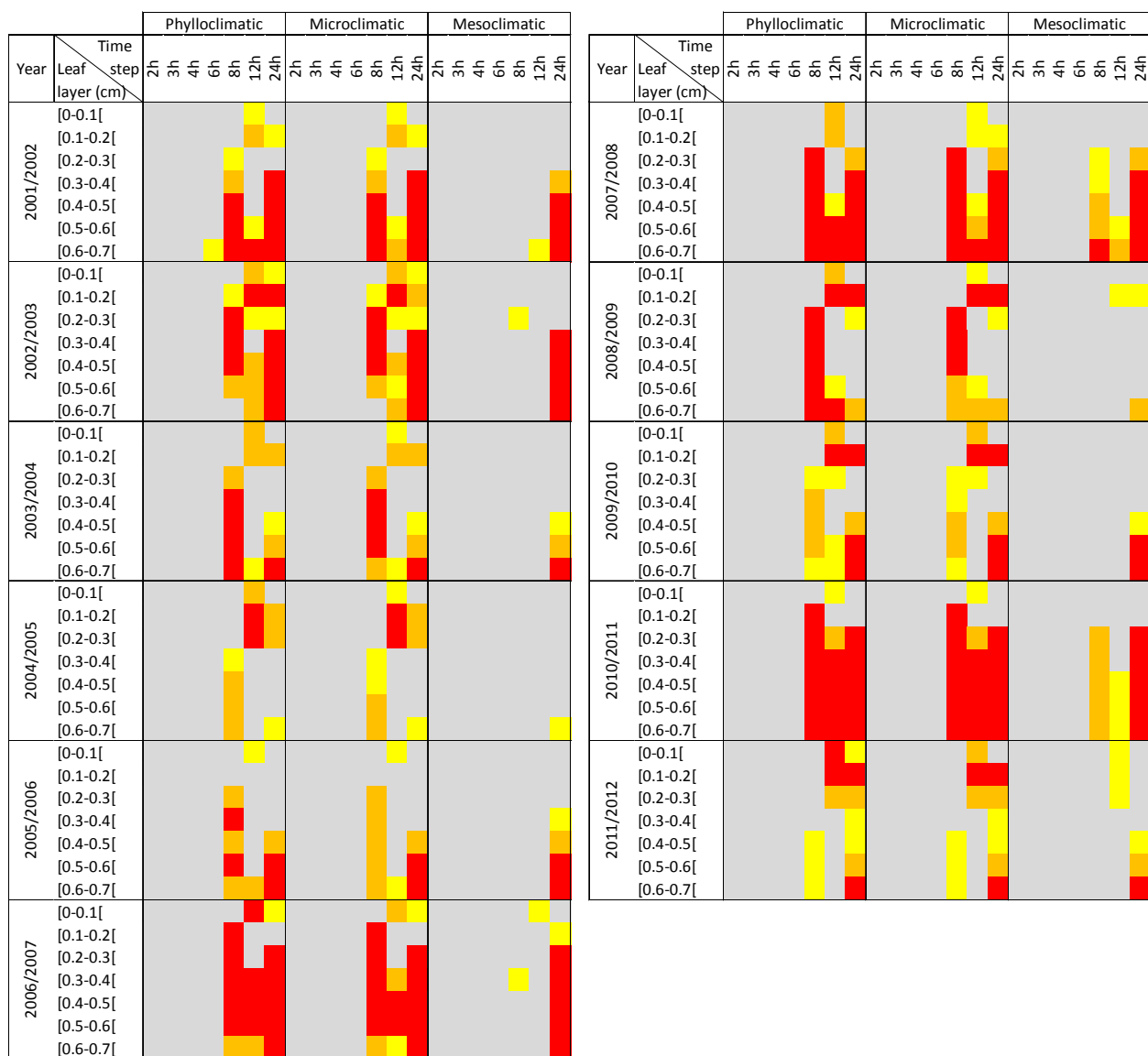


Fig. IV.8: *P*-values of Student's t-test comparing results of simulations performed at 2 h, 3 h, 4 h, 6 h, 8 h, 12 h, and 24 h time steps to results of simulations performed at a 1 h time step using phylloclimatic, microclimatic and mesoclimatic temperatures ($n = 100$) from 2001/2002 to 2011/2012. ■ *p*-value < 1 %, ■ *p*-value < 5 %, ■ *p*-value > 5 %.

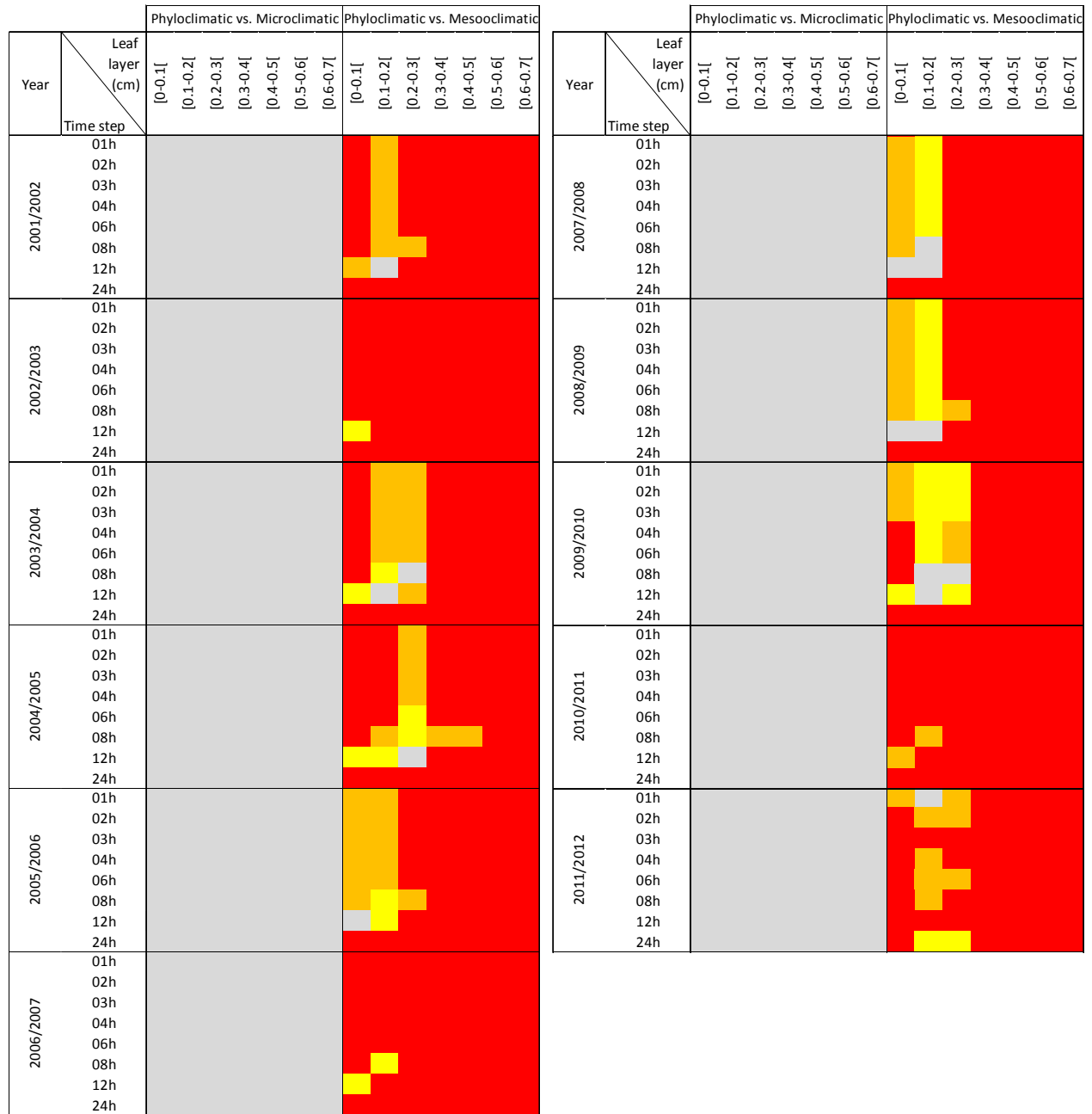


Fig. IV.9: *P*-values of Student's *t*-test comparing simulations performed using leaf temperature to results of simulations performed using microclimatic and mesoclimatic temperatures at 1 h, 2 h, 3 h, 4 h, 6 h, 8 h, 12 h, and 24 h time steps (*n* = 100) from 2001/2002 to 2011/2012. ■ *p*-value < 1%, ■ *p*-value < 1 %, ■ *p*-value < 5 %, ■ *p*-value > 5 %.

DISCUSSION

The first purpose of this study was to analyze the differences between three types of temperatures: mesoclimatic (standard air temperature measured by a weather station), microclimatic (air temperature into the canopy) and phylloclimatic (leaf temperature) temperatures which were experimentally measured throughout the wheat growing season in 2011/2012. First, differences between both types of air temperatures (meso- and microclimatic temperatures) could reach several degrees being either positive (mesoclimatic temperature > microclimatic temperature) or negative (mesoclimatic temperature < microclimatic temperature). The frequency of both positive and negative differences decreased gradually from the ground level to 100 cm high (Fig. IV.2). Consequently, differences were more pronounced at ground level than at 100 cm. These differences can be easily explained by the soil energy budget. Negative differences can be explained by the heat losses that are dissipated from the soil during the night (Denmead, 1969). Positive differences in the lower layers of the canopy can be explained by the physical barrier created by the canopy which decreased wind into the canopy and consequently decreased convective heat losses. Second, the comparison of phylloclimatic and mesoclimatic temperatures showed that mean temperatures were very similar for both types of temperatures (Fig. IV.3). However, the daily amplitudes of temperature fluctuations were higher for phylloclimatic temperatures than for mesoclimatic temperatures (Fig. IV.4). The amplitude of phylloclimatic temperature fluctuations was more than 10°C higher than for the mesoclimatic temperature in several cases. In a similar way to what we have explained previously for the soil energy budget, these observations can be explained by the leaf energy budget (Gates, 1980). During daytime, with relatively low air temperature, the leaf was warmer than the air due to solar radiations (Haseba & Ito, 1980). During nighttime, with clear sky conditions, leaves tended to be cooler than air temperature, while under cloudy conditions, leaf and air temperatures were little different (Ehrler *et al.*, 1978a; Shaw & Decker, 1979).

Foliar fungal pathogens development is driven by the leaf temperature. The relationship between temperature and the development of foliar fungal pathogen, as *M. graminicola*, is highly nonlinear (Shaw, 1990; Chapter II). Consequently, differences of daily amplitude of temperature fluctuations between the types of temperatures will have impact on the growth of *M. graminicola* (Chapter III). This is due the “Kaufmann” effect or “rate summation effect” (1932), derived from the Jensen’s inequality (Jensen, 1906). This inequality is not a biological phenomenon *per se* but a mathematical consequence of the nonlinear and asymmetric form of

many biological functions and the variance inherent in many environmental factors (Scherin & van Bruggen, 1994a; Ruel & Ayres, 1999; Bozinovic *et al.*, 2011). Thus, to assess the effect of the types of temperature on the disease development, it seems essential to measure microclimatic and phylloclimatic temperatures or to ensure that these temperatures are well simulated with respect to mesoclimatic temperature.

Consequently, the second purpose of this study was to ensure that microclimatic and phylloclimatic temperatures were simulated accurately enough to be used for simulating STB disease over several years. The difference between values for the several types of temperature is the cause of possible differences in prediction of the disease. Thus, we focused the analysis on the analogy of differences between simulated and observed differences between the types of temperature. The distribution of differences between mesoclimatic and simulated microclimatic temperatures differed from that observed experimentally (Fig. IV.2 & IV.5). In the case of simulated microclimatic temperatures, the distribution had skewed to the right, which corresponds to an underestimation of microclimatic temperatures. In addition, we did not observe the bell-shaped distribution as observed for measured air temperatures (Fig. IV.2). In contrast, CUPID simulations gave a result closer to those observed for the difference between mesoclimatic and phylloclimatic temperatures (Fig. IV.3 & IV.6). As for measured phylloclimatic temperatures, there were few differences between daily mean mesoclimatic and simulated phylloclimatic temperatures. In addition, the relationship between the amplitude of mesoclimatic and phylloclimatic temperatures were similar for simulated and measured phylloclimatic temperature (Fig. IV.4 & IV.7). Thus, CUPID succeeded in simulating the equal mean mesoclimatic and phylloclimatic temperatures and the higher daily amplitude of fluctuations for phylloclimatic temperature.

Once the validation of simulated temperatures achieved, the third purpose of this study was to assess the impact of the type of temperature and the time step on the simulated disease. Results revealed that, whatever the type of temperature, in almost all cases, simulations performed at 2 h, 3 h, 4 h, and 6 h time steps gave significantly similar results than simulations performed at 1 h time step (Fig. IV.8). Thus, we can conclude that for *M. graminicola*, a time step of 6 h for temperature measurement seemed sufficient to account for effect of naturally fluctuating temperatures. Xu (1996) suggested that an interval up to 4 h is small enough to account for the diurnal fluctuating temperatures. Conversely, 8 h, 12 h, and 24 h time steps frequently lead to biased simulations. More importantly, results from disease simulations demonstrated that, other things being equal, in almost all cases, simulations performed with

mesoclimatic temperatures gave significantly different results than simulations performed with phylloclimatic temperatures (Fig. IV.9). Although the results of simulations using microclimatic and phylloclimatic temperatures were not significantly different, the simulation of microclimatic temperatures were not efficient. Thus, we cannot conclude that microclimatic temperature can be used instead of phylloclimatic temperature for simulating STB development.

To our knowledge, this study was the first to measure and simulate simultaneously leaf temperatures for comparing simulated foliar disease development using various types of temperature. Disease simulation performed with phylloclimatic temperatures differed significantly from simulations performed with mesoclimatic temperatures but did not differed from simulation performed with microclimatic temperatures. Thus, we demonstrated that the type of temperature is an important variable to consider for performing foliar disease simulations. The use of leaf temperature instead of air temperature could be a way to improve foliar disease models accuracy. This particularly may be relevant for climate change simulations, for which the change of climate features may play a role equivalent to the increase of mean temperature.

ACKNOWLEDGEMENTS

We thank Alain Fortineau and Olivier Maury for assistance in generating and analyzing the database. This study was funded by INRA (“Plant Health and Environment” and “Environment and Agronomy” Divisions) and ARVALIS – Institut du Végétal.

CONCLUSION GÉNÉRALE ET PERSPECTIVES

LE DÉVELOPPEMENT DES CHAMPIGNONS PATHOGÈNES FOLIAIRES RÉPOND À LA TEMPÉRATURE, MAIS À QUELLE TEMPÉRATURE ?

L'objectif général de la thèse était de **reconsidérer la prise en compte de la température pour l'établissement et l'utilisation des lois de réponse à la température des champignons pathogènes foliaires**. L'état de l'art de la bibliographie (Chapitre I) a permis d'identifier les principaux biais existants en épidémiologie végétale pour les études d'impact de la température sur les agents pathogènes foliaires. Le champignon étant localisé sur ou dans la feuille, son développement est piloté par la température de feuille qui, du fait du bilan d'énergie, diffère de la température de l'air. Par conséquent, le premier biais identifié est que la température d'air est un indicateur imparfait de la température ressentie par les agents pathogènes foliaires. Ainsi, **l'originalité de ce travail est de considérer la température de feuille**, tant pour les approches expérimentales que pour la modélisation. Par ailleurs, une autre approximation récurrente en épidémiologie végétale (et en agronomie) est l'emploi des sommes de degrés-jours pour caractériser le développement des agents pathogènes (foliaires ou non). Ceci requiert en effet de faire l'hypothèse de la linéarité de la relation entre la température et le développement des agents phytopathogènes, alors que ce n'est le cas que pour une certaine gamme de températures, plus ou moins étroite en fonction de l'agent et du processus concernés. De plus, les sommes de degré-jours sont généralement déterminées à partir de températures journalières moyennes qui ne permettent pas de prendre en compte le régime de fluctuation des températures (Scherin & van Bruggen, 1994b). **Ces constats ont permis de définir les objectifs de la thèse afin de construire une stratégie cohérente combinant travaux expérimentaux et simulations** (Fig. V.1).

Initialement à l'interface entre deux disciplines, la **bioclimatologie** et **l'épidémiologie**, l'analyse et la discussion des résultats de cette thèse ont été largement inspirées par des concepts et outils d'analyses développés en **écologie**, notamment sur les insectes (« body température » et « TPC » par exemple) offrant des perspectives de discussion applicables à l'ensemble des microorganismes foliaires (parasites ou non). De ce fait, j'ai choisi de présenter cette discussion générale et les perspectives qui en résultent en fonction de chaque utilisation potentielle dans ces disciplines.

Chapitre I

Constat 1

La température de feuille est celle qui pilote le développement des organismes foliaires

Constat 2

La température moyenne ne permet pas de prendre en compte le régime de température
Les sommes de degrés-jours ignorent la non linéarité de la réponse à la température

Expérimentation 1

Influence de la température de feuille sur le développement de *M. graminicola*

Résultat 1

La loi de réponse de la période de latence de la septoriose à la température de feuille est non linéaire

Expérimentation 2

Développement de *M. graminicola* sous deux régimes de fluctuation ($\pm 2^{\circ}\text{C}$ et $\pm 5^{\circ}\text{C}$)

Résultat 2

Pour une même température moyenne, le niveau de fluctuation influence le développement de *M. graminicola*

Chapitre II

Chapitre IV

Simulation 2

Simulation à l'échelle polycyclique en utilisant 3 échelles de températures (més-, micro- et phylloclimatiques) et différents pas de temps

Résultat 4

Les simulations réalisées à partir des températures mésoclimatiques sont significativement différentes des simulations réalisées à partir des températures phylloclimatiques. Le pas de temps des mesures doit être de 6 h maximum.

Simulation 1

Simulation de la période de latence de *M. graminicola* sous deux régimes de fluctuation à partir de la TPC

Résultat 3

Importance du pas de temps des simulations + nécessité d'améliorer la TPC aux températures supraoptimales pour vérifier l'effet bénéfique des températures élevées

Chapitre III

Fig. V.1 : Schéma d'organisation et de cohérence de la thèse.

REVISITER LE STATUT DE LA TEMPÉRATURE EN ÉPIDÉMIOLOGIE VÉGÉTALE

La mesure de la « body temperature », très largement répandue en écologie pour l'étude des organismes ectothermes, n'avait jusqu'alors jamais été appliquée en tant que telle en épidémiologie végétale ou en agronomie, disciplines pour lesquelles la température d'air reste la référence. Plusieurs études, notamment agronomiques, ont pourtant démontré que la température d'air est, dans certains cas, un indicateur imparfait du développement ou de la croissance des plantes (Duburcq *et al.*, 1983; Vinocur & Ritchie, 2001). L'intérêt de l'utilisation de la température de feuille plutôt que celle de l'air pour l'étude des agents pathogènes foliaires avait déjà été suggéré (Lovell *et al.*, 2004a) mais aucun cadre expérimental ou de modélisation n'avait jusqu'alors été proposé.

Comment établir une courbe de réponse d'un pathogène foliaire à la température de feuille ?

Au-delà des résultats concrets obtenus sur le pathosystème blé-*M. graminicola*, **cette étude est la première à établir la relation entre un agent pathogène foliaire et la température de feuille**. Le chapitre II propose un cadre expérimental permettant d'établir la loi de réponse des champignons pathogènes foliaires à la température de feuille. Lorsque la température d'air est mesurée, celle-ci n'est qu'un indicateur imparfait de la température de feuille. Or, en fonction des conditions expérimentales (chambre climatique, serre ou champ), la relation entre la température d'air et de feuille varie. Par conséquent, la réponse d'un agent pathogène à la température d'air ne peut être utilisée ou extrapolée qu'avec précautions à des conditions autres que celles ayant servi à son établissement. Le dispositif expérimental proposé ici permet de mesurer la véritable température de l'agent pathogène. De plus, étant donné que cette étude est réalisée sur de vraies feuilles (en opposition à des feuilles détachées ou *in vitro*), elle permet de prendre en compte de façon réaliste les interactions de l'agent pathogène avec la plante. Il a par exemple été démontré que le rang foliaire a un impact sur la période de latence de *M. graminicola* (chapitre II). **La relation établie est donc transposable à un couvert végétal en conditions naturelles** (champ) à condition d'être en mesure de déterminer expérimentalement ou par modélisation les températures de feuilles.

Le protocole conçu pour cette étude est applicable à de nombreux autres microorganismes foliaires (parasites ou non) et permet de limiter le nombre d'expérimentations requises. En

effet, ce dispositif expérimental en conditions contrôlées permet de diminuer le nombre d'expérimentations par un système de forçage thermique infrarouge, déjà utilisé dans les systèmes T-FACE³ pour les plantes (Kimball, 2005), aboutissant à une gamme de températures de feuilles de plusieurs degrés dans une même enceinte alors qu'une seule température d'air y est possible. Il est aisé d'imaginer que les économies de temps et de coûts expérimentaux générés par ce dispositif peuvent être conséquentes.

Par ailleurs, outre la question de savoir quelle **température** doit être mesurée, se pose également la question du **pas de temps** auquel elle doit être mesurée. De façon prévisible, la septoriose est influencée par le régime de fluctuation des températures de feuille (chapitre III). **Une amplitude de fluctuation plus élevée a conduit à plusieurs effets négatifs pour le développement de *M. graminicola* : l'augmentation de la période de latence (cycle allongé), la diminution de la surface sporulante des lésions et de la densité de pycnides (diminution de la capacité à provoquer des infections secondaires).** Cette étude a donc permis de démontrer la pertinence de considérer les amplitudes de fluctuation des températures de feuilles (en plus de la température de feuille moyenne) pour étudier le développement des champignons pathogènes foliaires.

Modélisation de l'effet température en épidémiologie

Dans le chapitre IV est proposé un schéma de modélisation et de simulation permettant de prendre en compte la température réellement ressentie par les agents pathogènes foliaires, tout en évitant la mesure systématique et laborieuse de la température de feuille. Il démontre, à l'aide d'un modèle épidémique simple couplé à un modèle de Transfert Sol-Végétation-Atmosphère (SVAT), qu'à l'échelle d'une épidémie, **la simulation du développement de la septoriose à partir de données de températures foliaires diffère significativement des simulations réalisées à partir de températures d'air mesurées de façon standard (station météorologique hors parcelle).** Pour étayer ce constat, il serait souhaitable de tester les résultats obtenus sur des modèles de septoriose couramment utilisés tels que Septo-Lis® développé par Arvalis-Institut du Végétal ou le modèle d'Audsley *et al.* (2005). Cependant, de tels modèles reposent sur des processus qui sont en majorité interdépendants et fortement influencés par la température, et sont généralement établis par des corrélations statistiques.

³ T-FACE : Temperature Free-Air Controlled Enhancement

Ceci rend non trivial le remplacement de la réponse à la température d'air par une réponse à la température de feuille, le risque des effets de bord étant important. La complexité de cette tâche, apparue au cours de la thèse, m'a conduit à la mettre en perspective, pour qu'elle puisse être rigoureusement traitée. Par ailleurs, comme l'ont souligné Pangga *et al.* (2011), en dépit des progrès récents en modélisation 3D architecturée des plantes, les liens entre structure du couvert, microclimat et cycle de vie des agents pathogènes font encore défaut. Des travaux récents ont permis de réaliser le couplage de modèles de maladies avec des modèles 3D architecturaux (Calonnec *et al.*, 2008; Robert *et al.*, 2008). Prendre en compte le phylloclimat semble être une voie pour améliorer la modélisation spatiale des épidémies au sein des couverts végétaux. De plus, l'augmentation de la concentration en CO₂, dans le cadre du changement climatique, devrait stimuler la croissance et la productivité des plantes et modifier la morphologie des plantes, l'architecture du couvert, l'anatomie, la physiologie, la composition chimique et le profil d'expression génique (Chakraborty *et al.*, 2000; Matros *et al.*, 2006). Les changements morphologiques du couvert devraient, par exemple, se traduire par une réduction de la densité des stomates et une augmentation de la taille du couvert végétal et de la densité du couvert (West *et al.*, 2012). Cela aurait alors pour conséquence de modifier l'environnement des microorganismes foliaires à travers une modification du microclimat et donc du phylloclimat. Pour cette raison, il est important d'analyser les effets des variations des variables environnementale à une échelle qui soit réellement pertinente pour l'organisme étudié (Helmuth *et al.*, 2010; Pangga *et al.*, 2011).

La loi de réponse de la période de latence de la septoriose à la température de feuille est non linéaire sur l'ensemble de la gamme de température étudiée (10 à 21°C - Chapitre II). Cette loi de réponse peut être considérée comme linéaire uniquement entre 10 et 16°C (Fig. II.6). Or, la mesure des températures foliaires en conditions naturelles (chapitre IV) montre que pour l'année 2011-2012, celles-ci fluctuaient entre des valeurs très largement négatives (parfois même en deçà de -10°C) pour lesquelles le taux de développement est considéré comme nul, et plus de 33°C. Par conséquent, la gamme de température ressentie par l'agent pathogène est beaucoup plus large que le domaine de validité pour lequel la courbe de réponse peut être considérée comme linéaire. En fonction de la gamme de température, l'utilisation des sommes de degrés-jours (temps thermique) pour prédire la latence de la septoriose peut donc induire des erreurs de prévision (Shaw, 1990; Royle, 1994).

Le régime de fluctuation influence le développement de la septoriose ; il représente donc une autre voie d'amélioration de la précision des modèles épidémiologiques (Ruel & Ayres,

1999). Pour cela, une solution proposée par Xu (1996) est de diminuer l'intervalle de temps de mesure de la température, ce qui correspond à l'intégration à un pas de temps plus court de la relation entre la température et le développement de l'agent pathogène foliaire. Le chapitre III intègre une étude par simulation dont l'objectif était d'évaluer la pertinence de l'intégration d'une loi de réponse à la température, obtenue dans un environnement fluctuant, à différents pas de temps pour simuler la période de latence sous deux régimes de fluctuations. Les périodes de latence simulées sont apparues surestimées par rapport aux périodes de latence observées. Cela peut s'expliquer de deux façons. Tout d'abord, les coefficients de l'équation de la TPC ont été déterminés pour des températures de feuille journalières moyennes comprises entre 10,1 et 20,9°C (Chapitre II) et une amplitude de fluctuation journalière de $\pm 4,5^{\circ}\text{C}$ alors que dans le cas de cette expérimentation, les températures de feuilles instantanées variaient entre 12,5°C et 28,9°C. Par conséquent, les différences entre les périodes de latence observées et simulées pourraient être partiellement dues à une estimation imparfaite des taux de développement aux températures de feuilles supraoptimales. Ensuite, en plus de l'effet Kaufmann purement mathématique (chapitre III), l'occurrence de mécanismes physiologiques conduisant à une accélération ou un ralentissement du développement dans des conditions de températures fluctuantes a déjà été démontrée sur des insectes (Worner, 1992). Selon Niehaus *et al.* (2012), deux phénomènes biologiques peuvent générer un décalage entre les performances prédites et observées dans des environnements fluctuants : l'exposition chronique à une température extrême peut soit avoir un effet délétère sur la performance, soit déclencher une réponse bénéfique, appelée « acclimatation thermique ». Dans le chapitre III, la période de latence simulée en tenant compte de l'effet Kaufmann était supérieure à celle déterminée expérimentalement. Ceci suggère une réponse positive de *M. graminicola* à une amplitude de fluctuation élevé. Pour confirmer cet effet, il est essentiel de vérifier la validité de la TPC dans les gammes de températures autres que celles qui ont servi à son élaboration (pour les températures de feuilles supérieures à 21°C). **Les simulations ont souligné l'importance de considérer le pas de temps.** Des expérimentations supplémentaires sont nécessaires pour améliorer la prédiction des périodes de latence à des températures de feuilles élevées. Dans ce but, l'effet des températures foliaires supraoptimales sur la période de latence de *M. graminicola* devra être caractérisé plus précisément.

Rétroaction de la maladie sur la température de feuille

Quelques études ont documenté l'impact de maladies (foliaires et racinaires) sur la température des feuilles (Tu & Tan, 1985; Smith *et al.*, 1986; Mengistu *et al.*, 1987). Au cours de cette thèse, les résultats d'une expérimentation menée avec une caméra thermique infrarouge en 2011, ont montré que la température de la zone inoculée par *M. graminicola* est différente de celle de la zone saine (Fig. V.2).

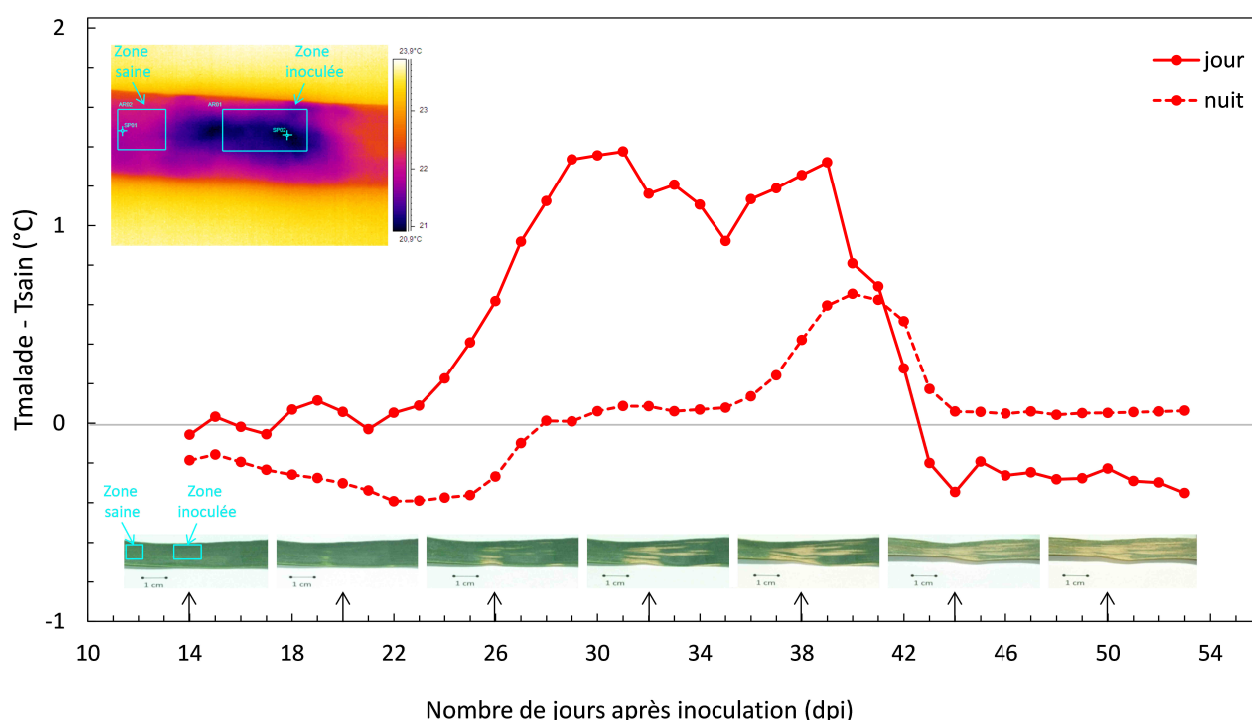


Fig. V.2 : Évolution de la différence de température entre les zones inoculée et saine, le jour et la nuit, entre 14 dpi et 53 dpi.

Pendant la journée, la température foliaire de la zone inoculée peut être jusqu'à 1,5°C supérieure à celle de la zone saine (Fig. V.2), ce qui, compte tenu de la non-linéarité de la réponse de la septoriose à la température de feuille, peut représenter une différence de taux de développement importante (Fig. II.6). Au cours de cette thèse, la température de feuille mesurée correspondait toujours à la température de feuille développant la maladie (partie inoculée). Ces résultats, qui doivent encore être confirmés, mettent l'accent sur la modélisation de la température de la feuille malade en interaction avec le développement de la maladie, qui

n'est encore pas prise en compte dans les modèles SVAT tel que CUPID. Une étude équivalente à celle réalisée dans le chapitre IV, consistant à comparer les simulations à partir de températures de feuilles saines et malades, devrait permettre d'estimer la pertinence de prendre en compte l'impact de la maladie sur la température de feuille et d'évaluer l'impact de cette rétroaction sur la sortie des modèles. Le schéma de modélisation de la température de feuille malade dans un couvert végétal proposé par Pincebourde *et al.* (2007), appliqué au cas de la mineuse du pommier, serait un point de départ intéressant pour cette tâche.

ÉCOLOGIE : DES MÉTHODES POUR ÉTUDIER L'ADAPTATION DES CHAMPIGNONS AU CHANGEMENT CLIMATIQUE

Les concepts de l'écologie

Cette thèse s'est fortement inspirée de concepts développés en écologie pour l'étude de l'influence de la température sur les organismes ectothermes. La loi de réponse de la période de latence de *M. graminicola* à la température foliaire s'apparente aux TPCs (« Thermal Performance Curves »), développées en écologie. Les TPCs sont un cas particulier de norme de réaction pour les caractères phénotypiques liées à la fitness (valeur adaptative) de l'organisme, utilisées pour évaluer la réponse du développement d'un organisme à la température (Kingsolver *et al.*, 2004; Schulte *et al.*, 2011). Plusieurs études ont élaboré la TPC de champignons pour une large gamme de température (Shaw, 1990; Fargues *et al.*, 1992), mais jamais en mesurant la température de feuille.

Considérer l'adaptation au changement climatique, par quelles méthodes ?

Le grand nombre de revues bibliographiques concernant l'impact du changement climatique sur les maladies des plantes (e.g., Coakley *et al.*, 1999; Garrett *et al.*, 2006; Chakraborty & Newton, 2011; Pautasso *et al.*, 2012) témoigne de la nécessité de mener des recherches permettant de se préparer aux dérèglements climatiques futurs. Dans leur papier d'opinion, Rohr *et al.* (2011) font un état des lieux des lacunes de la recherche sur l'effet du changement climatique sur les maladies. Ces auteurs suggèrent que les prévisions des impacts du changement climatique sur les maladies peuvent être améliorées par davantage de collaborations interdisciplinaires et une meilleure articulation des données et des modèles.

Dans ce sens, cette thèse démontre que l'utilisation de concepts développés en écologie et d'un modèle bioclimatologique peuvent être des moyens pour améliorer les modèles épidémiques.

Le 95^e colloque annuel de la Société Américaine d'Écologie qui s'est tenu en 2010 a permis de mettre en avant l'état des connaissances sur l'impact du changement climatique sur les maladies infectieuses et de proposer des orientations de recherche afin d'améliorer ces connaissances. Le consensus général à l'issue de ce colloque (Rohr *et al.*, 2010) est que de nombreuses questions demeurent sur la façon dont les modifications du climat pourraient influencer les maladies infectieuses, et que la capacité à en prédire les impacts est limitée par plusieurs défis importants regroupés en quatre items permettant d'orienter les recherches futures :

- Item 1** Créer de meilleurs modèles pour relier les données sur le terrain aux expérimentations.
- Item 2** Comprendre et prendre en compte les effets de la variabilité climatique, en plus des moyennes.
- Item 3** Identifier les tendances générales et les principes de la physiologie thermique des maladies.
- Item 4** Déterminer quels pathosystèmes vont être influencés par le changement climatique et quelles zones géographiques seront concernées.

Les résultats et les perspectives de cette thèse s'inscrivent dans ce cadre. Le couplage entre une loi de réponse à la température réellement perçue par le pathogène et l'utilisation d'un modèle SVAT peut être un moyen pour améliorer la transposition de lois de réponses établies expérimentalement (en conditions contrôlées) aux conditions naturelles (**Item 1**). De nombreux chercheurs utilisent pour leurs expérimentations une seule enceinte climatique contrôlée pour chaque traitement thermique, en réalisant plusieurs répétitions dans chacune de ces enceintes (Rohr *et al.*, 2010). Il est donc difficile de déterminer si les effets observés sont vraiment dus à la température et non pas à des différences entre les enceintes climatiques. Cette thèse propose un dispositif expérimental utilisant un système de forçage thermique permettant d'obtenir une large gamme de température de feuille dans une seule enceinte climatique. Par

conséquent, pour augmenter encore davantage la gamme de températures de feuille, il est possible de dupliquer le dispositif dans plusieurs enceintes climatiques, en veillant à ce que les gammes de températures se chevauchent partiellement afin de s'assurer de l'homogénéité des résultats.

Selon les prévisions du GIEC (2007), l'impact du changement climatique ne se limitera pas au climat moyen, mais il modifierait également les fluctuations de températures, les précipitations et la nébulosité. De ce fait, il est important, pour pouvoir prévoir l'évolution des maladies à long terme, de comprendre et prendre en compte les fluctuations de températures dans les modèles épidémiologiques (**Item 2**). L'établissement des réponses non linéaires à la température (chapitre II) est une première étape dans la prise en compte de ces fluctuations (Rohr *et al.*, 2010). Si le chapitre III permet de constater que le développement de *M. graminicola* est sensible aux fluctuations de températures, il ne permet cependant pas de comprendre leur impact. L'effet mathématique démontré par Kaufmann ne semble pas suffire à expliquer les différences de développement en fonction des régimes de fluctuations. Les réponses d'acclimation à des variations de température constituent un défi particulièrement important pour le développement de modèles de maladies. En effet, l'estimation du potentiel d'acclimation requiert des modèles expérimentaux complexes pour tenir compte de l'échelle de temps de la variabilité et de la prévisibilité de température dans le système (Angilletta, 2009). La compréhension des mécanismes sous-jacents responsables des réponses aux fluctuations permettrait de déduire des lois de réponse générale. Pour cela, il serait intéressant de réaliser une série d'expérimentations à plusieurs températures moyennes et niveaux de fluctuation, mais également d'identifier les processus physiologiques engagés à des échelles inférieures : cellulaire, moléculaire, etc. (**Item 3**).

L'adaptation des performances des espèces à des changements environnementaux peut résulter de processus biologiques qui se produisent à échelles de temps plus ou moins longues (**Item 4** - Angilletta *et al.*, 2002). L'un des facteurs agissant sur le potentiel d'adaptation des microorganismes aux changements environnementaux est sa plasticité phénotypique. La plasticité phénotypique est la capacité d'un organisme à exprimer différents phénotypes à partir d'un génotype donné selon des conditions biotiques et/ou abiotiques environnementales (Agrawal, 2001). Une TPC, telle que celle déterminée pour la période de latence de *M. graminicola* à la température de feuille (chapitre II), est un exemple de représentation de la plasticité de la performance d'un organisme à la température. Par ailleurs, l'évolution adaptative peut modifier une TPC en modifiant (i) sa hauteur (par un déplacement vertical de la

courbe – Fig. V.3 a), (ii) la valeur de la température optimale (par un déplacement horizontal de la courbe – Fig. V.3 b), ou (iii) la largeur de la courbe et modification de la forme de la courbe dans les phases de croissance et décroissance des courbes (Fig. V.3 c). Ces différentes déformations d'une TPC correspondent aux différentes stratégies d'adaptation thermique (Schulte *et al.*, 2011).

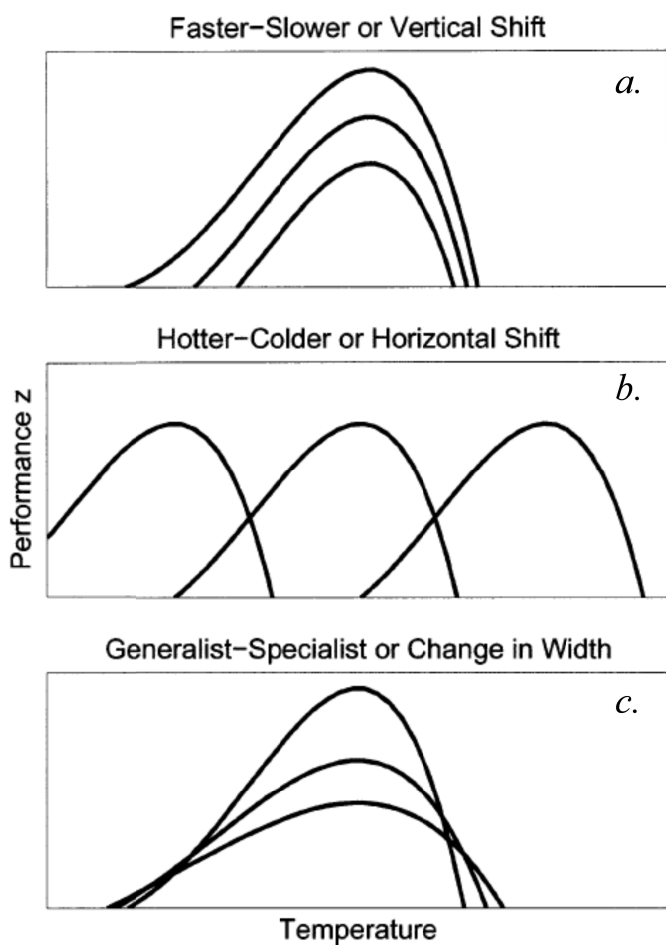


Fig. V.3 : Schémas de variation des courbes de performances thermiques non linéaires. *a.* : déplacement vertical, dans lequel il existe une variation génétique dans les performances à toutes les températures. *b.* : décalage horizontal, dans lequel il existe une variation génétique dans la position de la courbe de rendement le long de l'axe des températures. *c.* : généraliste-spécialiste, dans lequel il existe un compromis entre la performance maximale génétique et l'étendue des performances (Kingsolver *et al.*, 2004).

Ces stratégies d'adaptation s'appuient à la fois sur l'évolution génétique des individus et / ou sur la sélection des individus les plus adaptés au sein d'une population. Elles prévalent pour de nombreux organismes mais demeurent peu étudiées pour de nombreux champignons phytopathogènes (Dell *et al.*, 2011). Par ailleurs, ces organismes évoluent dans des écosystèmes, ce qui ajoute un niveau de complexité si l'on veut également étudier l'impact indirect du changement climatique sur leurs stratégies d'adaptation. Tout d'abord, l'hôte et le pathogène étant en interaction, ces deux organismes évoluent l'un par rapport à l'autre, c'est la

co-évolution. Le potentiel d'adaptation des plantes et des agents pathogènes est un facteur qui a été souvent ignoré dans les modèles étudiant l'effet du changement climatique (Garrett *et al.*, 2006). Compte tenu de leur durée de cycle plus courte, il est maintenant largement reconnu que la plupart des pathogènes ont la possibilité de s'adapter plus rapidement que leurs hôtes (Garrett *et al.*, 2006; Rohr *et al.*, 2011). Pour le pathosystème blé - *M. graminicola*, le changement climatique va notamment modifier la physiologie, la morphologie et l'architecture du blé (également par des modifications anthropiques, par la sélection). De plus, les organismes sont souvent en concurrence avec d'autres espèces pour les mêmes ressources. Ainsi, par exemple, *M. graminicola* devra également s'adapter en fonction d'autres maladies telles que les rouilles avec lesquelles elle est en concurrence (Robert *et al.*, 2004).

Finalement, de nombreux facteurs sont susceptibles de jouer un rôle déterminant dans les réponses des organismes aux changements climatiques. Le développement d'une meilleure compréhension des mécanismes par lesquels l'environnement affecte les organismes à tous les niveaux de l'organisation et à différentes échelles de temps devrait contribuer au développement de modèles mécanistes de réponses possibles au changement climatique (Nicotra *et al.*, 2010; Schulte *et al.*, 2011).

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Agrawal AA. 2001.** Phenotypic plasticity in the interactions and evolution of species. *Science* **294**(5541): 321-326.
- Amthor JS, Hanson PJ, Norby RJ, Wullschlegel SD. 2010.** A comment on "Appropriate experimental ecosystem warming methods by ecosystem, objective, and practicality" by Aronson and McNulty. *Agricultural and Forest Meteorology* **150**(3): 497-498.
- Andrade-Piedra JL, Hijmans RJ, Forbes GA, Fry WE, Nelson RJ. 2005.** Simulation of potato late blight in the Andes. I: Modification and parameterization of the LATEBLIGHT model. *Phytopathology* **95**(10): 1191-1199.
- Angilletta MJ. 2006.** Estimating and comparing thermal performance curves. *Journal of Thermal Biology* **31**(7): 541-545.
- Angilletta MJ. 2009.** *Thermal adaptation. A theoretical and empirical synthesis.* Oxford, UK: Oxford University Press.
- Angilletta MJ, Niewiarowski PH, Navas CA. 2002.** The evolution of thermal physiology in ectotherms. *Journal of Thermal Biology* **27**(4): 249-268.
- Armour T, Viljanen-Rollinson SLH, Chng S, Butler RC, Jamieson PD, Zyskowski RF. 2004.** Examining the latent period of septoria tritici blotch in a field trial of winter wheat. *New Zealand Plant Protection, Vol 57*: 116-120.
- Audsley E, Milne A, Paveley N. 2005.** A foliar disease model for use in wheat disease management decision support systems. *Annals of Applied Biology* **147**(2): 161-172.
- Bancal MO, Robert C, Ney B. 2007.** Modelling wheat growth and yield losses from late epidemics of foliar diseases using loss of green leaf area per layer and pre-anthesis reserves. *Annals of Botany* **100**(4): 777-789.
- Bearchell SJ, Fraaije BA, Shaw MW, Fitt BDL. 2005.** Wheat archive links long-term fungal pathogen population dynamics to air pollution. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **102**(15): 5438-5442.
- Beest DET, Shaw MW, Pietravalle S, Bosch Fvd. 2009.** A predictive model for early-warning of Septoria leaf blotch on winter wheat. *European Journal of Plant Pathology* **124**(3): 413-425.
- Belehradek J. 1926.** Influence of temperature on biological processes. *Nature* **118**: 117-118.
- Benedetti-Cecchi L. 2001.** Variability in abundance of algae and invertebrates at different spatial scales on rocky sea shores. *Marine Ecology-Progress Series* **215**: 79-92.
- Benedetti-Cecchi L. 2003.** The importance of the variance around the mean effect size of ecological processes. *Ecology* **84**(9): 2335-2346.
- Beresford RM, Royle DJ. 1988.** Relationships between leaf emergence and latent period for leaf rust (*Puccinia hordei*) on spring barley, and their significance for disease monitoring. *Zeitschrift Fur Pflanzenkrankheiten Und Pflanzenschutz-Journal of Plant Diseases and Protection* **95**(4): 361-371.
- Bonde MR, Nester SE, Berner DK. 2012.** Effects of daily temperature highs on development of *Phakopsora pachyrhizi* on soybean. *Phytopathology* **102**(8): 761-768.
- Bonhomme R. 2000.** Bases and limits to using 'degree.day' units. *European Journal of Agronomy* **13**(1): 1-10.
- Bouamama N, Vidal C, Fargues J. 2010.** Effects of fluctuating moisture and temperature regimes on the persistence of quiescent conidia of *Isaria fumosorosea*. *Journal of Invertebrate Pathology* **105**(2): 139-144.
- Bozinovic F, Bastias DA, Boher F, Clavijo-Baquet S, Estay SA, Angilletta MJ, Jr.**

- 2011.** The mean and variance of environmental temperature interact to determine physiological tolerance and fitness. *Physiological and Biochemical Zoology* **84**(6): 543-552.
- Brokenshire T. 1976.** Reaction of wheat genotypes to *Septoria tritici*. *Annals of Applied Biology* **82**(3): 415-423.
- Brown JH, Gillooly JF, Allen AP, Savage VM, West GB. 2004.** Toward a metabolic theory of ecology. *Ecology* **85**(7): 1771-1789.
- Butler MJ. 1989.** Community responses to variable predation: field studies with sunfish and fresh-water macroinvertebrates. *Ecological Monographs* **59**(3): 311-328.
- Calonnec A, Cartolaro P, Naulin JM, Bailey D, Langlais M. 2008.** A host-pathogen simulation model: powdery mildew of grapevine. *Plant Pathology* **57**(3): 493-508.
- Campbell GS, Norman JM. 1998.** *An introduction to environmental biophysics*. New York, USA: Springer; 2nd edition.
- Campbell N. 1995.** *Biologie*. Bruxelles: DeBoeck Editions.
- Chakraborty S, Newton AC. 2011.** Climate change, plant diseases and food security: an overview. *Plant Pathology* **60**(1): 2-14.
- Chakraborty S, Tiedemann AV, Teng PS. 2000.** Climate change: potential impact on plant diseases. *Environmental Pollution* **108**(3): 317-326.
- Chelle M. 2005.** Phylloclimate or the climate perceived by individual plant organs: What is it? How to model it? What for? *New Phytologist* **166**(3): 781-790.
- Chungu C, Gilbert J, Townley-Smith F. 2001.** *Septoria tritici* blotch development as affected by temperature, duration of leaf wetness, inoculum concentration, and host. *Plant Disease* **85**(4): 430-435.
- Clark WS 2006.** *Septoria tritici* and azole performance. In. *Proceedings of the Association of Applied Biologists Meeting, "Fungicide resistance: are we winning the battle but losing the war?"*, Edinburgh, UK, 7-8 September, 2006.: Association of Applied Biologists. 127-132.
- Coakley SM. 1988.** Variation in climate and prediction of disease in plants. *Annual Review of Phytopathology* **26**: 163-181.
- Coakley SM, McDaniel LR, Shaner G. 1985.** Model for predicting severity of *Septoria tritici* blotch on winter wheat. *Phytopathology* **75**(11): 1245-1251.
- Coakley SM, Scherm H, Chakraborty S. 1999.** Climate change and plant disease management. *Annual Review of Phytopathology* **37**: 399-426.
- Cohen L, Eyal Z. 1993.** The histology of processes associated with the infection of resistant and susceptible wheat cultivars with *Septoria tritici*. *Plant Pathology* **42**(5): 737-743.
- Colhoun J. 1973.** Effects of environmental factors on plant disease. *Annual Review of Phytopathology* **11**: 343-364.
- Cruiziat P 1997.** Les relations plante-eau, de la cellule à la plante entière. In: Riou C, Bonhomme R, Chassin P, Neveu A, Papy F eds. *L'eau dans l'espace rural - production végétale et qualité de l'eau*. Paris: INRA Editions.
- Cunfer BM 1999.** *Stagonospora* and *Septoria* pathogens of cereals: the infection process. In: van Ginkel M, McNab A, Krupinsky J eds. *Septoria and Stagonospora diseases of cereals: a compilation of global research*. Mexico, D.F.: CIMMYT.
- Dalla Marta A, Magarey RD, Orlandini S. 2005.** Modelling leaf wetness duration and downy mildew simulation on

- grapevine in Italy. *Agricultural and Forest Meteorology* **132**(1-2): 84-95.
- Dammer KH, Thoele H, Volk T, Hau B. 2009.** Variable-rate fungicide spraying in real time by combining a plant cover sensor and a decision support system. *Precision Agriculture* **10**(5): 431-442.
- De Boeck HJ, De Groote T, Nijs I. 2012.** Leaf temperatures in glasshouses and open-top chambers. *New Phytologist* **194**(4): 1155-1164.
- de Vallavieille-Pope C, Giosue S, Munk L, Newton AC, Niks RE, Ostergard H, Pons-Kuhnemann J, Rossi V, Sache I. 2000.** Assessment of epidemiological parameters and their use in epidemiological and forecasting models of cereal airborne diseases. *Agronomie* **20**(7): 715-727.
- de Vallavieille-Pope C, Huber L, Leconte M, Bethenod O. 2002.** Preinoculation effects of light quantity on infection efficiency of *Puccinia striiformis* and *P. tritricina* on wheat seedlings. *Phytopathology* **92**(12): 1308-1314.
- Dean R, Van Kan JAL, Pretorius ZA, Hammond-Kosack KE, Di Pietro A, Spanu PD, Rudd JJ, Dickman M, Kahmann R, Ellis J, Foster GD. 2012.** The Top 10 fungal pathogens in molecular plant pathology. *Molecular Plant Pathology* **13**(4): 414-430.
- Dell AI, Pawar S, Savage VM. 2011.** Systematic variation in the temperature dependence of physiological and ecological traits. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **108**(26): 10591-10596.
- Demrati H, Boulard T, Fatnassi H, Bekkaoui A, Majdoubi H, Elattir H, Bouirden L. 2007.** Microclimate and transpiration of a greenhouse banana crop. *Biosystems Engineering* **98**(1): 66-78.
- Denmead OT. 1969.** Comparative micrometeorology of a wheat field and a forest of *Pinus radiata*. *Agr. Meteorol.* **6**(5): 357-371.
- Diamond SE, Kingsolver JG. 2012.** Host plant adaptation and the evolution of thermal reaction norms. *Oecologia* **169**(2): 353-360.
- Douaiher MN, Nowak E, Durand R, Halama P, Reignault P. 2007.** Correlative analysis of *Mycosphaerella graminicola* pathogenicity and cell wall-degrading enzymes produced in vitro: the importance of xylanase and polygalacturonase. *Plant Pathology* **56**(1): 79-86.
- Drake BG, Raschke K, Salisbury FB. 1970.** Temperature and transpiration resistances of xanthium leaves as affected by air temperature, humidity, and wind speed. *Plant Physiology* **46**(2): 324-330.
- Drenth A. 2004.** Fungal epidemics - does spatial structure matter? *New Phytologist* **163**(1): 4-7.
- Du WG, Ji X. 2006.** Effects of constant and fluctuating temperatures on egg survival and hatchling traits in the northern grass lizard (*Takydromus septentrionalis*, Lacertidae). *Journal of Experimental Zoology Part a-Comparative Experimental Biology* **305A**(1): 47-54.
- Duburcq JB, Bonhomme R, Derieux M. 1983.** Duration of the vegetative and reproductive periods in maize. Genotypic and environmental effects. *Agronomie* **3**(10): 941-946.
- Durand R. 1969.** Signification et portée des sommes de températures. *Bulletin Technique Information* **238**: 185-190.
- Ehrler WL, Idso SB, Jackson RD, Reginato RJ. 1978a.** Diurnal changes in plant water potential and canopy temperature of wheat as affected by drought. *Agronomy Journal* **70**(6): 999-1004.
- Ehrler WL, Idso SB, Jackson RD, Reginato RJ. 1978b.** Wheat canopy temperature -

- Relation to plant water potential. *Agronomy Journal* **70**(2): 251-256.
- Eriksen L, Shaw MW, Ostergard H. 2001.** A model of the effect of pseudothecia on genetic recombination and epidemic development in populations of *Mycosphaerella graminicola*. *Phytopathology* **91**(3): 240-248.
- Eyal Z. 1971.** The kinetics of pycnidiospores liberation in *Septoria tritici*. *Can. J. Bot.* **49**: 1095-1099.
- Eyal Z. 1981.** Integrated control of septoria diseases of wheat. *Plant Disease* **65**(9): 763-768.
- Eyal Z, Blum A. 1989.** Canopy temperature as a correlative measure for assessing host response to septoria tritici blotch of wheat. *Plant Disease* **73**(6): 468-471.
- Fargues J, Maniania NK, Delmas JC, Smits N. 1992.** Influence of temperature on in vitro growth of entomopathogenic hyphomycetes. *Agronomie* **12**(7): 557-564.
- Fellows H. 1962.** Effects of light, temperature, and fertilizer on infection of wheat leaves by *Septoria tritici*. *Plant Disease Reporter* **46**(12): 846-848.
- Flerchinger GN, Saxton KE. 1989.** Simultaneous heat and water model of a freezing snow-residue-soil system .1. Theory and development. *Transactions of the Asae* **32**(2): 565-571.
- Fraaije BA, Cools HJ, Fountaine J, Lovell DJ, Motteram J, West JS, Lucas JA. 2005.** Role of ascospores in further spread of Qol-resistant cytochrome b alleles (G143A) in field populations of *Mycosphaerella graminicola*. *Phytopathology* **95**(8): 933-941.
- Friesland H, Schrödter H 1988.** The analysis of weather factors in epidemiology. In: Kranz JR, J. (Eds) ed. *Experimental techniques in plant disease epidemiology*: Springer-Verlag, Berlin.
- Garrett KA, Dendy SP, Frank EE, Rouse MN, Travers SE 2006.** Climate change effects on plant disease: Genomes to ecosystems. *Annual Review of Phytopathology*, 489-509.
- Gates DM. 1968.** Transpiration and leaf temperature. *Annual Review of Plant Physiology* **19**: 211-238.
- Gates DM. 1980.** *Biophysical ecology*. New-York: Springer-Verlag
- GIEC. 2007.** *Bilan 2007 des changements climatiques : rapport de synthèse*: GIEC, Genève, Suisse, 103 pages.
- Gilchrist GW. 1995.** Specialists and generalists in changing environments - 1. Fitness landscapes of thermal sensitivity. *American Naturalist* **146**(2): 252-270.
- Gladders P, Paveley ND, Barrie IA, Hardwick NV, Hims MJ, Langton S, Taylor MC. 2001.** Agronomic and meteorological factors affecting the severity of leaf blotch caused by *Mycosphaerella graminicola* in commercial wheat crops in England. *Annals of Applied Biology* **138**(3): 301-311.
- Guo J, Verreet JA. 2008.** Formation and germination of *Septoria tritici* secondary conidia as affected by environmental factors. *Journal of Phytopathology* **156**(10): 635-637.
- Hagstrum DW, Hagstrum WR. 1970.** A simple device for producing fluctuating temperatures, with an evaluation of the ecological significance of fluctuating temperatures. *Annals of the Entomological Society of America* **63**(5): 1385-1389.
- Hallaire M, Rapilly F, Pauvert P. 1969.** Effets de l'irrigation, sous ses différents modes, sur la biologie, l'étiologie et l'épidémiologie des maladies des plantes. *Annales de Phytopathologie* **1**: 9-29.
- Hansen JG, Secher BJM, Jorgensen LN, Welling B. 1994.** Thresholds for control of *Septoria* spp in winter wheat based

- on precipitation and growth stage. *Plant Pathology* **43**(1): 183-189.
- Haseba T, Ito D. 1980.** Leaf temperature in relation to meteorological factors (1). Leaf temperature variation with wind speed and solar radiation. *Memoirs of the College of Agriculture, Ehime University* **25**(1): 29-42.
- Hawksworth DL, Crous PW, Redhead SA, Reynolds DR, Samson RA, Seifert KA, Taylor JW, Wingfield MJ, Abaci O, Aime C, Asan A, Bai F-Y, de Beer ZW, Begerow D, Berikten D, Boekhout T, Buchanan PK, Burgess T, Buzina W, Cai L, Cannon PF, Crane JL, Damm U, Daniel H-M, van Diepeningen AD, Druzhinina I, Dyer PS, Eberhardt U, Fell JW, Frisvad JC, Geiser DM, Geml J, Glienke C, Grafenhan T, Groenewald JZ, Groenewald M, de Gruyter J, Gueho-Kellermann E, Guo L-D, Hibbett DS, Hong S-B, de Hoog GS, Houbroken J, Huhndorf SM, Hyde KD, Ismail A, Johnston PR, Kadaifciler DG, Kirk PM, Koljalg U, Kurtzman CP, Lagneau P-E, Levesque CA, Liu X, Lombard L, Meyer W, Miller A, Minter DW, Najafzadeh MJ, Norvell L, Ozerskaya SM, Ozic R, Pennycook SR, Peterson SW, Pettersson OV, Quaedyvlieg W, Robert VA, Ruibal C, Schnurer J, Schroers H-J, Shivas R, Slippers B, Spierenburg H, Takashima M, Taskin E, Thines M, Thrane U, Uztan AH, van Raak M, Varga J, Vasco A, Verkley G, Videira SIR, de Vries RP, Weir BS, Yilmaz N, Yurkov A, Zhang N. 2011.** The amsterdam declaration on fungal nomenclature. *IMA fungus* **2**(1): 105-112.
- Helliker BR, Richter SL. 2008.** Subtropical to boreal convergence of tree-leaf temperatures. *Nature* **454**(7203): 511-516.
- Helmuth B. 2002.** How do we measure the environment? Linking intertidal thermal physiology and ecology through biophysics. *Integrative and Comparative Biology* **42**(4): 837-845.
- Helmuth B, Broitman BR, Yamane L, Gilman SE, Mach K, Mislan KAS, Denny MW. 2010.** Organismal climatology: analyzing environmental variability at scales relevant to physiological stress. *Journal of Experimental Biology* **213**(6): 995-1003.
- Helmuth B, Kingsolver JG, Carrington E. 2005.** Biophysics, physiological ecology, and climate change: Does mechanism matter? *Annual Review of Physiology*, 177-201.
- Henze M, Beyer M, Klink H, Verreet JA. 2007.** Characterizing meteorological scenarios favorable for *Septoria tritici* infections in wheat and estimation of latent periods. *Plant Disease* **91**: 1445-1449.
- Hess DE, Shaner G. 1987a.** Effect of moisture and temperature on development of septoria tritici blotch in wheat. *Phytopathology* **77**(2): 215-219.
- Hess DE, Shaner G. 1987b.** Effect of moisture on septoria tritici blotch development on wheat in the field. *Phytopathology* **77**(2): 220-226.
- Holmes SJI, Colhoun J. 1974.** Infection of wheat by *Septoria nodorum* and *Septoria tritici* in relation to plant age, air temperature and relative humidity. *Transactions of the British Mycological Society* **63**(OCT): 329-338.
- Huang H, Liu Q, Qin W. 2010.** Thermal Emission Hot-Spot Effect of Crop Canopies-Part I: Simulation. *Ieee Journal of Selected Topics in Applied Earth Observations and Remote Sensing* **3**(3): 313-322.
- Huang HG, Liu QH, Qin WH, Du YM, Li XW. 2011.** Temporal patterns of thermal emission directionality of crop canopies. *Journal of Geophysical Research-Atmospheres* **116**.

- Huey RB, Kingsolver JG. 1989.** Evolution of thermal sensitivity of ectotherm performance. *Trends in Ecology & Evolution* **4**(5): 131-135.
- Huey RB, Kingsolver JG. 2011.** Variation in universal temperature dependence of biological rates. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **108**(26): 10377-10378.
- Huey RB, Stevenson RD. 1979.** Integrating thermal physiology and ecology of ectotherms - Discussion of approaches. *American Zoologist* **19**(1): 357-366.
- Hunt R. 1982.** *Plant growth curves - The functional approach to plant growth analysis*: Cambridge University Press.
- Hunter T, Coker RR, Royle DJ. 1999.** The teleomorph stage, *Mycosphaerella graminicola*, in epidemics of septoria tritici blotch on winter wheat in the UK. *Plant Pathology* **48**(1): 51-57.
- Jamieson PD, Brooking IR, Porter JR, Wilson DR. 1995.** Prediction of leaf appearance in wheat - A question of temperature. *Field Crops Research* **41**(1): 35-44.
- Jensen JL. 1906.** Sur les fonctions convexes et les inégalités entre les valeurs moyenne. *Acta Math.* **30**: 175-193.
- Jiménez OF. 1996.** Relationship between air temperature and the temperature of the youngest leaf in plantain (*Musa AAB*). An analysis applied to black sigatoka (*Mycosphaerella fijiensis*). *Corbana* **21**(46): 115-127.
- Jobling M. 1981.** Temperature tolerance and the final preferendum - Rapid methods for the assessment of optimum growth temperatures. *Journal of Fish Biology* **19**(4): 439-455.
- Johnson DA. 1980.** Effect of low temperature on the latent period of slow and fast rusting water wheat *Triticum aestivum* genotypes. *Plant Disease* **64**(11): 1006-1008.
- Jørgensen LN, Thygesen K 2006.** Fungicide resistance and its impact on recommendations to farmers - experiences from Denmark. In. *Proceedings of the Association of Applied Biologists Meeting, "Fungicide Resistance: Are we Winning the Battle but Losing the War?"*, Edinburgh, UK, 7-8 September, 2006.: Association of Applied Biologists. 65-70.
- Kaufmann O. 1932.** Einige bemerkungen über den einfluss von temperaturschwankungen auf die entwicklungsdauer und streuung bei insekten und seine graphische darstellung durch kettenlinie und hyperbel. *Zoomorphology* **25**(2): 353-361.
- Kema GHJ, Yu DZ, Rijkenberg FHJ, Shaw MW, Baayen RP. 1996.** Histology of the pathogenesis of *Mycosphaerella graminicola* in wheat. *Phytopathology* **86**(7): 777-786.
- Kichah A, Bournet P-E, Migeon C, Boulard T. 2012.** Measurement and CFD simulation of microclimate characteristics and transpiration of an Impatiens pot plant crop in a greenhouse. *Biosystems Engineering* **112**(1): 22-34.
- Kimball BA. 2005.** Theory and performance of an infrared heater for ecosystem warming. *Global Change Biology* **11**(11): 2041-2056.
- Kingsolver JG, Izem R, Ragland GJ. 2004.** Plasticity of size and growth in fluctuating thermal environments: Comparing reaction norms and performance curves. *Integrative and Comparative Biology* **44**(6): 450-460.
- Kitano M, Eguchi H, Matsui T. 1983.** Analysis of heat balance of leaf with reference to stomatal responses to environmental factors. *Biotronics* **12**: 19-27.

- Knights IK, Lucas JA. 1981.** Photocontrol of *Puccinia graminis* f.sp. *tritici* urediniospore germination in the field. *Transactions of the British Mycological Society* **77**(DEC): 519-527.
- Kranz K 1990.** I Epidemics, their mathematical analysis and modeling: an introduction. . In: Kranz J ed. *Epidemics of plant diseases*. Berlin: Springer-Verlag, 1-11.
- Lambers H, Chapin FS, Pons TL. 2008.** *Plant physiological ecology*: Springer Editions.
- Lannou C. 2012.** Variation and selection of quantitative traits in plant pathogens. *Annual Review of Phytopathology* **50**: 319-338.
- Legler SE, Caffi T, Rossi V. 2012.** A nonlinear model for temperature-dependent development of *Erysiphe necator* chasmothecia on grapevine leaves. *Plant Pathology* **61**(1): 96-105.
- Lenthe JH, Oerke EC, Dehne HW. 2007.** Digital infrared thermography for monitoring canopy health of wheat. *Precision Agriculture* **8**(1-2): 15-26.
- Leyva-Mir G, Gilchrist-Saavedra L, Zavaleta-Mejia E, Khairallah M. 2008.** Interaction of components of resistance and inocule in bread wheat (*Triticum aestivum* L.) with foliar blight (*Septoria tritici* Rog. Ex. Desm). *Agrociencia* **42**(3): 313-325.
- Lhomme JP 1995.** Modélisation du microclimat végétal en relation avec l'épidémiologie. In: Savary S ed. *Modélisation en protection des cultures*. Paris : ORSTOM, 73-80.
- Li LH, McMaster GS, Yu Q, Du J. 2008.** Simulating winter wheat development response to temperature: Modifying Malo's exponential sine equation. *Computers and Electronics in Agriculture* **63**(2): 274-281.
- Linacre ET. 1964.** A note on a feature of leaf and air temperatures. *Agr. Meteorol.* **1**: 66-72.
- Linacre ET. 1966.** *Resistances impeding the diffusion of water vapour from leaves and crops*. London.
- Lovell DJ, Hunter T, Powers SJ, Parker SR, Van den Bosch F. 2004a.** Effect of temperature on latent period of septoria leaf blotch on winter wheat under outdoor conditions. *Plant Pathology* **53**(2): 170-181.
- Lovell DJ, Parker SR, Hunter T, Royle DJ, Coker RR. 1997.** Influence of crop growth and structure on the risk of epidemics by *Mycosphaerella graminicola* (*Septoria tritici*) in winter wheat. *Plant Pathology* **46**(1): 126-138.
- Lovell DJ, Parker SR, Hunter T, Welham SJ, Nichols AR. 2004b.** Position of inoculum in the canopy affects the risk of septoria tritici blotch epidemics in winter wheat. *Plant Pathology* **53**(1): 11-21.
- Lovell DJ, Powers SJ, Welham SJ, Parker SR. 2004c.** A perspective on the measurement of time in plant disease epidemiology. *Plant Pathology* **53**(6): 705-712.
- Lucas JA. 2004.** Survival, surfaces and susceptibility - the sensory biology of pathogens. *Plant Pathology* **53**(6): 679-691.
- Lucas JA, Bowyer P, Anderson HM. 1999.** *Septoria on cereals: a study of pathosystems*. Wallingford: CABI Publishing.
- Magarey RD, Seem RC, Russo JM, Zack JW, Waight KT, Travis JW, Oudemans PV. 2001.** Site-specific weather information without on-site sensors. *Plant Disease* **85**(12): 1216-1226.
- Magboul AM, Geng S, Gilchrist DG, Jackson LF. 1992.** Environmental influence on the infection of wheat by *Mycosphaerella graminicola*. *Phytopathology* **82**(12): 1407-1413.
- Mahtour A, El Jarroudi M, Delobbe L, Hoffmann L, Maraite H, Tychon B. 2011.** Site-specific septoria leaf blotch risk

- assessment in winter wheat using weather-radar rainfall estimates. *Plant Disease* **95**(4): 384-393.
- Matros A, Amme S, Kettig B, Buck-Sorlin GH, Sonnewald U, Mock HP. 2006.** Growth at elevated CO₂ concentrations leads to modified profiles of secondary metabolites in tobacco cv. SamsunNN and to increased resistance against infection with *potato virus Y*. *Plant Cell and Environment* **29**(1): 126-137.
- Maziero JMN, Maffia LA, Mizubuti ESG. 2009.** Effects of temperature on events in the infection cycle of two clonal lineages of *Phytophthora infestans* causing late blight on tomato and potato in Brazil. *Plant Disease* **93**(5): 459-466.
- Mc New GL 1960.** The nature, origin and evolution of parasitism. In: Horfall JG, Dimond AE eds. *Plant Pathology*. New York: Academic Press.
- McLean MA, Angilletta MJ, Williams KS. 2005.** If you can't stand the heat, stay out of the city: Thermal reaction norms of chitinolytic fungi in an urban heat island. *Journal of Thermal Biology* **30**(5): 384-391.
- McMaster GS. 2005.** Phytomers, phyllochrons, phenology and temperate cereal development. *Journal of Agricultural Science* **143**: 137-150.
- McMaster GS, Wilhelm WW. 1997.** Growing degree-days: one equation, two interpretations. *Agricultural and Forest Meteorology* **87**(4): 291-300.
- Mengistu A, Tachibana H, Epstein AH, Bidne KG, Hatfield JD. 1987.** Use of leaf temperature to measure the effect of brown stem rot and soil moisture stress and its relation to yields of soybeans. *Plant Disease* **71**(7): 632-634.
- Milne A, Paveley N, Aucsley E, Parsons D. 2007.** A model of the effect of fungicides on disease-induced yield loss, for use in wheat disease management decision support systems. *Annals of Applied Biology* **151**(1): 113-125.
- Milus EA, Kristensen K, Hovmoller MS. 2009.** Evidence for increased aggressiveness in a recent widespread strain of *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici* causing stripe rust of wheat. *Phytopathology* **99**(1): 89-94.
- Moreau JM, Maraite H. 1999.** Integration of knowledge on wheat phenology and *Septoria tritici* epidemiology into a disease risk simulation model validated in Belgium. *Aspects of Applied Biology*(55): 1-6.
- Moreau JM, Maraite H. 2000.** Development of an interactive decision-support system on a Web site for control of *Mycosphaerella graminicola* in winter wheat. *Bulletin OEPP* **30**(1): 161-163.
- Murray GM, Martin RH, Cullis BR. 1990.** Relationship for the severity of septoria tritici blotch of wheat to sowing time, rainfall at heading and average susceptibility of wheat cultivars in the area. *Australian Journal of Agricultural Research* **41**(2): 307-315.
- Newe M, Meier H, Johnen A, Volk T. 2003.** proPlant expert.com - an online consultation system on crop protection in cereals, rape, potatoes and sugarbeet. *Bulletin OEPP* **33**(3): 443-449.
- Nicotra AB, Atkin OK, Bonser SP, Davidson AM, Finnegan EJ, Mathesius U, Poot P, Purugganan MD, Richards CL, Valladares F, van Kleunen M. 2010.** Plant phenotypic plasticity in a changing climate. *Trends in Plant Science* **15**(12): 684-692.
- Niehaus AC, Angilletta MJ, Sears MW, Franklin CE, Wilson RS. 2012.** Predicting the physiological performance of ectotherms in fluctuating thermal environments. *Journal of Experimental Biology* **215**(4): 694-701.
- Norman JM 1979.** Modeling the complete crop canopy. In: Barfield BJ, Gerber, J.F.

- ed. *Modification of the aerial environment of plants*. St Joseph, Michigan: American Society of Agricultural Engineers, 249-277.
- O'Callaghan JR, Dahab MH, Hossain AHMS, Wyseure GCL. 1994.** Simulation of *Septoria tritici*-winter wheat interactions. *Computers and Electronics in Agriculture* **11**(4): 309-321.
- Ohm HW, Shaner G. 1975.** Segregation for slow leaf rusting in wheat. *Agron. Abstr.* **67**(59).
- Olioso A, Braud I, Chanzy A, Courault D, Demarty J, Kergoat L, Lewan E, Otte C, Prevot L, Zhao WGG, Calvet JC, Cayrol P, Jongschaap R, Moulin S, Noilhan J, Wigneron JP. 2002.** SVAT modeling over the Alpilles-ReSeDA experiment: comparing SVAT models over wheat fields. *Agronomie* **22**(6): 651-668.
- Palmer CL, Skinner W. 2002.** *Mycosphaerella graminicola*: latent infection, crop devastation and genomics. *Molecular Plant Pathology* **3**(2): 63-70.
- Pangga IB, Hanan J, Chakraborty S. 2011.** Pathogen dynamics in a crop canopy and their evolution under changing climate. *Plant Pathology* **60**(1): 70-81.
- Pariaud B, Ravigne V, Halkett F, Goyeau H, Carlier J, Lannou C. 2009.** Aggressiveness and its role in the adaptation of plant pathogens. *Plant Pathology* **58**(3): 409-424.
- Park J-J, Park KW, Shin K-I, Cho K. 2011.** Evaluation and comparison of effects of air and tomato leaf temperatures on the population dynamics of greenhouse whitefly (*Trialeurodes vaporariorum*) in cherry tomato grown in greenhouses. *Korean Journal of Horticultural Science & Technology* **29**(5): 420-432.
- Parker SR, Welham S, Paveley ND, Foulkes J, Scott RK. 2004.** Tolerance of septoria leaf blotch in winter wheat. *Plant Pathology* **53**(1): 1-10.
- Pautasso M, Doering TF, Garbelotto M, Pellis L, Jeger MJ. 2012.** Impacts of climate change on plant diseases-opinions and trends. *European Journal of Plant Pathology* **133**(1): 295-313.
- Perrier A. 1979.** Variation du microclimat d'une culture en fonction de ses caractéristiques biologiques. *Bull. O.E.P.P.* **9**(3): 187-204.
- Pfender WF, Gent DH, Mahaffee WF. 2012.** Sensitivity of disease management decision aids to temperature input errors associated with sampling interval and out-of-canopy sensor placement. *Plant Disease* **96**(5): 726-736.
- Pietravalle S, Shaw MW, Parker SR, van den Bosch F. 2003.** Modeling of relationships between weather and *Septoria tritici* epidemics on winter wheat: A critical approach. *Phytopathology* **93**(10): 1329-1339.
- Pincebourde S, Sinoquet H, Combes D, Casas J. 2007.** Regional climate modulates the canopy mosaic of favourable and risky microclimates for insects. *Journal of Animal Ecology* **76**(3): 424-438.
- Pincebourde S, Woods HA. 2012.** Climate uncertainty on leaf surfaces: the biophysics of leaf microclimates and their consequences for leaf-dwelling organisms. *Functional Ecology* **26**(4): 844-853.
- Potter K, Davidowitz G, Woods HA. 2009.** Insect eggs protected from high temperatures by limited homeothermy of plant leaves. *Journal of Experimental Biology* **212**(21): 3448-3454.
- Potvin C, Lechowicz MJ, Bell G, Schoen D. 1990.** Spatial, temporal, and species-specific patterns of heterogeneity in growth chamber experiments *Can. J. Bot* **68**: 499-504.
- Quaedvlieg W, Kema GHJ, Groenewald JZ, Verkley GJM, Seifbarghi S, Razavi M, Gohari AM, Mehrabi R, Crous PW.**

- 2011.** *Zymoseptoria* gen. nov.: a new genus to accommodate *Septoria*-like species occurring on graminicolous hosts. *Persoonia* **26**: 57-69.
- R Development Core Team 2010.** R: A language and environment for statistical computing. In. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0, URL <http://www.R-project.org/>.
- Ragland GJ, Kingsolver JG. 2008.** The effect of fluctuating temperatures on ectotherm life-history traits: comparisons among geographic populations of *Wyeomyia smithii*. *Evolutionary Ecology Research* **10**(1): 29-44.
- Rapilly F. 1991.** *L'épidémiologie en pathologie végétale : mycoses aériennes.*: INRA Editions.
- Rapilly F, Jolivet E. 1976.** Construction of a model (EPISEPT) allowing simulation of an epidemic of *Septoria nodorum* Berk. on wheat. *Revue de Statistique Appliquée* **24**(3): 31-60.
- Réaumur RA. 1735.** Observations du thermomètre faites à Paris pendant l'année 1735. . *Mémoires de l'Académie des Sciences*: 545-576.
- Reinink K. 1986.** Experimental verification and development of EPIPRE, a supervised disease and pest management system for wheat. *Netherlands Journal of Plant Pathology* **92**(1): 3-14.
- Renfro BL, Young HC. 1956.** Techniques for studying varietal response to *Septoria* leaf blotch of wheat. *Phytopathology* **46**: 23-24.
- Rickman RW, Klepper B. 1991.** Environmentally driven cereal crop growth models. *Annual Review of Phytopathology* **29**: 361-380.
- Rivalland V. 2003.** *Amélioration et validation du modèle de fonctionnement de la végétation ISBA-A-gs : stress hydrique et flux de CO₂*. Thèse de doctorat de l'Université Toulouse III Paul Sabatier.
- Robert C, Bancal MO, Nicolas P, Lannou C, Ney B. 2004.** Analysis and modelling of effects of leaf rust and *Septoria tritici* blotch on wheat growth. *Journal of Experimental Botany* **55**(399): 1079-1094.
- Robert C, Fournier C, Andrieu B, Ney B. 2008.** Coupling a 3D virtual wheat (*Triticum aestivum*) plant model with a *Septoria tritici* epidemic model (Septo3D): a new approach to investigate plant-pathogen interactions linked to canopy architecture. *Functional Plant Biology* **35**(9-10): 997-1013.
- Rohel EA, Payne AC, Fraaije BA, Hollomon DW. 2001.** Exploring infection of wheat and carbohydrate metabolism in *Mycosphaerella graminicola* transformants with differentially regulated green fluorescent protein expression. *Molecular Plant-Microbe Interactions* **14**(2): 156-163.
- Rohr JR, Dobson AP, Johnson PTJ, Kilpatrick AM, Paull SH, Raffel TR, Ruiz-Moreno D, Thomas MB. 2011.** Frontiers in climate change-disease research. *Trends in Ecology & Evolution* **26**(6): 270-277.
- Rohr JR, Ruiz Moreno DH, Thomas MB, Paull SH, Dobson AP, Kilpatrick AM, Pascual M, Raffel TR. 2010.** Toward a general theory for how climate change will affect infectious disease. *Bulletin of the Ecological Society of America* **91**: 467-473.
- Rossberg D, Kluge E, Jorg E. 2003.** SIMSEPT - a new forecasting model for the occurrence of *Septoria tritici* and *Septoria nodorum*. *Gesunde Pflanzen* **55**(1): 8-12.
- Royle DJ. 1994.** Understanding and predicting epidemics - A commentary

- based on selected pathosystems. *Plant Pathology* **43**(5): 777-789.
- Royle DJ, Shaw MW, Cook RJ. 1986.** Patterns of development of *Septoria nodorum* and *Septoria tritici* in some winter wheat crops in Western Europe, 1981-83. *Plant Pathology* **35**(4): 466-476.
- Ruel JJ, Ayres MP. 1999.** Jensen's inequality predicts effects of environmental variation. *Trends in Ecology & Evolution* **14**(9): 361-366.
- Savary S 1995.** Structure temporelle d'une épidémie : processus monocycliques et polycycliques. In Savary S. *Modélisation en protection des cultures, Séminaire International*. Mai 1994, Montpellier, France: ORSTOM. 53-65.
- Scherm H, van Bruggen AHC. 1994a.** Effects of fluctuating temperatures on the latent period of lettuce downy mildew (*Bremia lactucae*). *Phytopathology* **84**(8): 853-859.
- Scherm H, van Bruggen AHC. 1994b.** Global warming and nonlinear growth - How important are changes in average temperature. *Phytopathology* **84**(12): 1380-1384.
- Schofl UA, Morris DB, Verreet JA. 1994.** *The development of an integrated decision model based on disease threshold to control Septoria tritici on winter wheat.*
- Schrödter H 1975.** Weather and plant diseases. In: Smith LP ed. *Progress in Biometeorology. The effect of weather and climate on plants.*, 279-286.
- Schulte PM, Healy TM, Fangue NA. 2011.** Thermal performance curves, phenotypic plasticity, and the time scales of temperature exposure. *Integrative and Comparative Biology* **51**(5): 691-702.
- Seem RC. 2004.** Forecasting plant disease in a changing climate: a question of scale. *Canadian Journal of Plant Pathology- Revue Canadienne De Phytopathologie* **26**(3): 274-283.
- Seem RC, Magarey RD, Zack JW, Russo JM. 2000.** Estimating disease risk at the whole plant level with General Circulation Models. *Environmental Pollution* **108**(3): 389-395.
- Segarra CI, Casalongue CA, Pinedo ML, Cordo CA, Conde RD. 2002.** Changes in wheat leaf extracellular proteolytic activity after infection with *Septoria tritici*. *Journal of Phytopathology-Phytopathologische Zeitschrift* **150**(3): 105-111.
- Serrago RA, Carretero R, Bancal MO, Miralles DJ. 2009.** Foliar diseases affect the eco-physiological attributes linked with yield and biomass in wheat (*Triticum aestivum* L.). *European Journal of Agronomy* **31**(4): 195-203.
- Shahenshah, Isoda A. 2010.** Effects of water stress on leaf temperature and chlorophyll fluorescence parameters in cotton and peanut. *Plant Production Science* **13**(3): 269-278.
- Shaw MW. 1986.** Effects of temperature and leaf wetness on *Pyrenophora teres* growing on barley cv. sonja. *Plant Pathology* **35**(3): 294-309.
- Shaw MW. 1990.** Effects of temperature, leaf wetness and cultivar on the latent period of *Mycosphaerella graminicola* on winter wheat. *Plant Pathology* **39**(2): 255-268.
- Shaw MW. 1991.** Interacting effects of interrupted humid periods and light on infection of wheat leaves by *Mycosphaerella graminicola* (*Septoria tritici*). *Plant Pathology* **40**(4): 595-607.
- Shaw MW. 2009.** Preparing for changes in plant disease due to climate change. *Plant Protection Science* **45**(Special Issue): S3-S10.
- Shaw MW, Royle DJ. 1989.** Airborne inoculum as a major source of *Septoria tritici* (*Mycosphaerella graminicola*)

- infections in winter wheat crops in the UK. *Plant Pathology* **38**(1): 35-43.
- Shaw MW, Royle DJ. 1993.** Factors determining the severity of epidemics of *Mycosphaerella graminicola* (*Septoria tritici*) on winter wheat in the UK. *Plant Pathology* **42**(6): 882-899.
- Shaw RH, Decker WL 1979.** The general heat budget of canopies. In: (Eds.) BJBaJFG ed. *Modification of the aerial environment of plants*, 141-155.
- Shearer BJ, Zadoks JC. 1972.** The latent period of *Septoria nodorum* in wheat. I. The effect of temperature and moisture treatments under controlled conditions *Netherlands Journal of Plant Pathology* **78**: 231-241.
- Simon MR, Perello AE, Cordo CA, Struik PC. 2002.** Influence of *Septoria tritici* on yield, yield components, and test weight of wheat under two nitrogen fertilization conditions. *Crop Science* **42**(6): 1974-1981.
- Smith RCG, Heritage AD, Stapper M, Barrs HD. 1986.** Effect of stripe rust (*Puccinia striiformis* West) and irrigation on the yield and foliage temperature of wheat. *Field Crops Research* **14**(1): 39-51.
- Smith WK. 1978.** Temperatures of desert plants - Another perspective on adaptability of leaf size. *Science* **201**(4356): 614-616.
- Suffert F, Bernard F, Galet N, Chelle M, Sache I, Lannou C 2011a.** Assessment of aggressiveness components of *Mycosphaerella graminicola* on adult wheat plants. In Duveiller E, Singh PK. *8th international symposium on Mycosphaerella and Stragonospora diseases of cereals*. Mexico City, Mexico. p.10.
- Suffert F, Sache I. 2011.** Relative importance of different types of inoculum to the establishment of *Mycosphaerella graminicola* in wheat crops in north-west Europe. *Plant Pathology* **60**(5): 878-889.
- Suffert F, Sache I, Lannou C. 2011b.** Early stages of septoria tritici blotch epidemics of winter wheat: build-up, overseasoning, and release of primary inoculum. *Plant Pathology* **60**(2): 166-177.
- Sutcliffe JF. 1977.** *Plants and temperature*.: E. Arnold (London).
- Sutton JC, Gillespie TJ, Hildebrand PD. 1984.** Monitoring weather factors in relation to plant disease. *Plant Disease* **68**(1): 78-84.
- Thomas MR, Cook RJ, King JE. 1989.** Factors affecting development of *Septoria tritici* in winter wheat and its effect on yield. *Plant Pathology* **38**(2): 246-257.
- Toole JL, Norman JM, Holtzer TO, Perring TM. 1984.** Simulating banks grass mite (Acari: Tetranychidae) population dynamics as a subsystem of a crop canopy-microenvironment model. *Environmental Entomology* **13**(2): 329-337.
- Tu JC, Tan CS. 1985.** Infrared thermometry for determination of root-rot severity in beans. *Phytopathology* **75**(7): 840-844.
- Van der Plank JE. 1963.** *Plant diseases: epidemics and control*. New York, USA: Academic Press.
- van Maanen A, Xu XM. 2003.** Modelling plant disease epidemics. *European Journal of Plant Pathology* **109**(7): 669-682.
- Verreet JA, Klink H, Hoffmann GM. 2000.** Regional monitoring for disease prediction and optimization of plant protection measures: The IPM wheat model. *Plant Disease* **84**(8): 816-826.
- Viljanen-Rollinson SLH, Marroni MV, Butler RC, Deng Y, Armour T. 2005.** Latent periods of septoria tritici blotch on ten cultivars of wheat. *New Zealand Plant Protection* **58**: 256-260.

- Vinocur MG, Ritchie JT. 2001.** Maize leaf development biases caused by air-apex temperature differences. *Agronomy Journal* **93**(4): 767-772.
- Wainshilbaum SJ, Lipps PE. 1991.** Effect of temperature and growth stage of wheat on development of leaf and glume blotch caused by *Septoria tritici* and *S. nodorum*. *Plant Disease* **75**(10): 993-998.
- Wall GW, Kimball BA, White JW, Ottman MJ. 2011.** Gas exchange and water relations of spring wheat under full-season infrared warming. *Global Change Biology* **17**(6): 2113-2133.
- Wang Y, Bao Z, Zhu Y, Hua J. 2009.** Analysis of temperature modulation of plant defense against biotrophic microbes. *Molecular Plant-Microbe Interactions* **22**(5): 498-506.
- Weng J, Liao T. 2001.** Effect of microclimate on leaf temperature of two subalpine grassland plants in Tachia area. *Journal of the Experimental Forest of National Taiwan University* **15**(2): 95-107.
- Went FW 1957.** Some theoretical aspects of effects of temperature on plants. In: Editor FHJ ed. *Influence of temperature on biological systems*. Washington, D.C.: American Physiological Society, 163-174.
- West JS, Townsend JA, Stevens M, Fitt BDL. 2012.** Comparative biology of different plant pathogens to estimate effects of climate change on crop diseases in Europe. *European Journal of Plant Pathology* **133**: 315-331.
- Willcoquet L, Aubertot JN, Lebard S, Robert C, Lannou C, Savary S. 2008.** Simulating multiple pest damage in varying winter wheat production situations. *Field Crops Research* **107**(1): 12-28.
- Winsor CP. 1932.** The Gompertz curve as a growth curve. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **18**(1): 1-8.
- Worner SP. 1992.** Performance of phenological models under variable temperature regimes: consequences of the Kaufmann or rate summation effect. *Environmental Entomology* **21**(4): 689-699.
- Xiao W, Yu Q, Flerchinger GN, Zheng YF. 2006.** Evaluation of SHAW model in simulating energy balance, leaf temperature, and micrometeorological variables within a maize canopy. *Agronomy Journal* **98**(3): 722-729.
- Xu XM. 1996.** On estimating non-linear response of fungal development under fluctuating temperatures. *Plant Pathology* **45**(2): 163-171.
- Yan WK, Hunt LA. 1999.** An equation for modelling the temperature response of plants using only the cardinal temperatures. *Annals of Botany* **84**(5): 607-614.
- Yin XY, Kropff MJ, McLaren G, Visperas RM. 1995.** A nonlinear model for crop development as a function of temperature. *Agricultural and Forest Meteorology* **77**(1-2): 1-16.
- Zadocks JC, Schein RD. 1979.** *Epidemiology and plant disease management*. New York: Oxford University Press.
- Zadoks JC, Chang TT, Konzak CF. 1974.** A decimal code for the growth stages of cereals. *Weed Research* **14**(6): 415-421.
- Zhan J, McDonald BA. 2011.** Thermal adaptation in the fungal pathogen *Mycosphaerella graminicola*. *Molecular Ecology* **20**(8): 1689-1701.

RÉSUMÉ

LE DÉVELOPPEMENT DES CHAMPIGNONS PATHOGÈNES FOLIAIRES RÉPOND À LA TEMPÉRATURE, MAIS À QUELLE TEMPÉRATURE ?

La température est un des principaux facteurs climatiques pilotant le développement des champignons pathogènes foliaires pendant les différentes étapes de leur cycle parasitaire. Puisque ces microorganismes se développent à la surface, puis à l'intérieur des feuilles, c'est la température de feuille (« body temperature » en écologie) qui pilote leur développement. En épidémiologie végétale, c'est toutefois la température d'air qui est utilisée pour caractériser l'effet de la température sur le développement des agents pathogènes foliaires. Or, la température de feuille peut différer significativement de la température d'air en fonction des conditions climatiques. La prise en compte de la température d'air pour étudier la dynamique des maladies foliaires ne peut donc s'affranchir de deux biais : la température mesurée n'est pas celle qui est réellement perçue par l'agent pathogène et l'hétérogénéité spatiale des températures au sein du peuplement n'est pas prise en compte. De plus, la relation entre la température et le développement des agents pathogènes est non linéaire, ce qui limite la gamme de validité autorisant l'utilisation des sommes de températures, pourtant largement employées en protection des cultures. L'objectif général de cette thèse est de reconsidérer la prise en compte de la température pour l'étude du développement des champignons pathogènes foliaires.

Le pathosystème blé-*Mycosphaerella graminicola* a été choisi en tant qu'objet d'étude. La stratégie adoptée pour atteindre les objectifs de la thèse combine deux approches complémentaires, l'expérimentation et la modélisation. Pour la première fois, la loi de réponse d'un agent pathogène foliaire à la température de feuille a été établie. Un dispositif expérimental innovant a permis d'établir la loi de réponse pour trois isolats sur une large gamme de températures foliaires, via la mesure en continu de la température de 191 feuilles (F1 et F2) inoculées et l'utilisation d'un système de forçage thermique par lampe infrarouge. La loi de réponse de la période de latence de la septoriose à la température de feuille s'apparente au concept de courbe de performance thermique développé en écologie. Celle-ci étant non linéaire sur l'ensemble de la gamme de température étudiée, l'impact de l'amplitude des fluctuations de température de feuille a été caractérisé. Une amplitude élevée a conduit à plusieurs effets négatifs pour le développement de *M. graminicola* : l'augmentation de la durée du cycle de l'agent pathogène, la diminution de la surface sporulante des lésions et de la densité de pycnides. Les différences de cinétique de développement en fonction de l'amplitude des fluctuations ne sont que partiellement expliquées par l'effet Kaufmann (purement mathématique), suggérant que *M. graminicola* atténue les conséquences négatives d'amplitudes de fluctuation plus élevées. Enfin, les simulations du développement de la septoriose réalisées à partir de données de températures foliaires diffèrent significativement de celles réalisées à partir de températures d'air mesurées de façon standard par une station météorologique. Ces simulations ont également souligné le caractère déterminant du pas de temps considéré.

Par le transfert de concepts d'écologie vers l'épidémiologie, cette thèse ouvre des pistes pour améliorer la prise en compte de la température dans les modèles épidémiologiques. Elle contribue au développement d'une meilleure compréhension des mécanismes par lesquels l'environnement affecte les microorganismes, point clé pour le développement de modèles mécanistes de réponses possibles au changement climatique.

Mots-clés : température de feuille, phylloclimat, bilan d'énergie, fluctuation de température, champignon pathogène foliaire, période de latence, norme de réaction, *Mycosphaerella graminicola* (*Zymoseptoria tritici*), *Septoria tritici*, blé, rang foliaire, simulation, modélisation, changement climatique.

ABSTRACT

THE DEVELOPMENT OF A FOLIAR FUNGAL PATHOGEN DOES REACT TO TEMPERATURE, BUT TO WHICH TEMPERATURE?

Temperature is a major driving force for the development of foliar fungal pathogens. Such organisms develop onto and into leaves during their growth cycle. Thus, leaf temperature is the temperature they actually perceive ("body temperature"). However, air temperature has always been used by plant pathologists to study the effect of temperature on the development of foliar fungal pathogens. Leaf temperature may significantly differ from the air temperature according to weather conditions. Therefore, considering the air temperature to study foliar pathogens can potentially cause two biases: the measured temperature is not the temperature such pathogens actually perceive and the spatial heterogeneity of leaf temperatures within the plant canopy is ignored. In addition, the relationship between temperature and the development of foliar pathogens is nonlinear. This challenges the immoderate use of degree-day sums in plant disease epidemiology. The main objective of this thesis is to reconsider the use of temperature for the study of the development of foliar fungal pathogens.

The wheat-*Mycosphaerella graminicola* pathosystem was chosen as the model of study. The strategy to achieve the objectives of the thesis combines two complementary approaches: experimentation and modeling. For the first time, the impact of leaf temperature on the development of a leaf pathogen was characterized. An original experimental device allowed determining the response law for three isolates over a wide range of leaf temperature, using thermal infrared lamps and measuring continuously the temperature of 191 inoculated leaves (F1 and F2). The response law of *M. graminicola* latent period to leaf temperature is similar to the concept of thermal performance curve (TPC) developed in ecology. As this TPC is non-linear over the entire leaf temperature range investigated, the impact of the amplitude of leaf temperature fluctuations has been characterized. A high amplitude led to several negative effects on *M. graminicola* development: an increase in the duration of the pathogen cycle, a decrease in the final sporulating area and in the pycnidium density. Differences in kinetics of development depending on the amplitude of the fluctuations were only partially explained by the Kaufmann effect (purely mathematical), suggesting that *M. graminicola* mitigates the negative consequences of higher amplitudes of temperature fluctuation. Finally, simulations of the development of *M. graminicola* performed using leaf temperature data differed significantly from those performed using air temperatures measured in a standard way, by a weather station. Simulations also underlined the importance of the time step considered.

By transferring concepts from ecology to epidemiology, this thesis provided guidelines to better take into account temperature in epidemiological models. It helped to develop a better understanding of the mechanisms by which the environment affects microorganisms, the cornerstone for the development of mechanistic models of possible responses to climate change.

Keywords: leaf temperature, phylloclimate, leaf energy budget, body temperature, fluctuating temperatures, foliar fungal pathogen, latent period, reaction norm, thermal performance curve, *Mycosphaerella graminicola* (*Zymoseptoria tritici*), *Septoria tritici*, wheat, leaf layer, simulation, modeling, global change.