

50376
1972
23

UNIVERSITE DES SCIENCES ET TECHNIQUES DE LILLE 50376
1972
23

THESE

présentée à

l'Université des Sciences et Techniques de Lille

pour obtenir le grade de

Docteur-Ingénieur

par

Madame Niki PETSİKOS-PANAYOTAROU

MODE D'ACTION ET EFFICACITE DU BENOMYL, FONGICIDE SYSTEMIQUE,
VIS-A-VIS DE SPHAEROTHECA FULIGINEA (SCHLECH.) POLLACI,
PARASITE DE CUCUMIS SATIVUS L.



Membres du Jury: MM. R. BOURIQUET, Président

L. LACOSTE,

G. VIENNOT-BOURGIN,

G. VIEL,

} Examineurs

Soutenu le 14 mars 1972

AVANT - PROPOS.

Avant de présenter ce mémoire, je tiens à témoigner ma profonde reconnaissance à tous ceux qui m'ont accueilli en France et ont mis à ma disposition les moyens nécessaires pour réaliser ce travail. Tout particulièrement ma pensée va d'abord à Monsieur VIEL, Directeur du Laboratoire de Phytopharmacie du C.N.R.A. à Versailles, qui m'a si aimablement ouvert toutes grandes les portes de son Laboratoire. Il m'a conseillée et encouragée tout au long de mon stage et a bien voulu me mettre en relation avec des personnes compétentes pour réaliser cette thèse. De plus, il m'a fait l'honneur de participer à mon Jury et c'est avec respect que je lui présente mes plus vifs remerciements.

J'adresse les sentiments de ma très profonde gratitude à Monsieur LACOSTE, Professeur à l'Université de Lille et Directeur du Laboratoire de Cryptogamie. Il a bien voulu assumer la responsabilité de cette thèse et il n'a cessé de me conseiller tout au long de mes travaux ; il a toujours suivi avec attention, bienveillance et intérêt mes expériences. Sa gentillesse à mon égard a toujours été pour moi une source d'encouragements. Qu'il lui soit assuré que je n'oublierai jamais ses témoignages de sympathie.

Monsieur BOURIQUET, Professeur à l'Université de Lille, a bien voulu me faire l'honneur de présider mon Jury. Qu'il trouve ici le témoignage de mes plus vifs remerciements.

Monsieur le Professeur VIENNOT-BOURGIN, titulaire de la chaire de Botanique et Pathologie végétale à l'Institut National Agronomique, malgré ses nombreuses occupations, m'a reçu très souvent dans son Laboratoire et m'a fait profiter de sa grande expérience et de ses conseils précieux ; il a bien voulu me faire l'honneur de participer à mon Jury de thèse. Je tiens à lui exprimer mes sentiments de très vive et très respectueuse reconnaissance.

Je voudrais ici évoquer la mémoire de Mademoiselle CHANCOGNE qui m'a si aimablement accueillie lors de mon arrivée en France ; elle m'a initiée aux méthodes utilisées en matière de fongicide et m'a très vivement encouragée à persévérer dans l'effort. Sa disparition brutale m'a profondément affectée.

Mes plus sincères remerciements vont à Monsieur FAIVRE, Maître de recherches au Laboratoire de pathologie végétale au C.N.R.A., ainsi qu'à Monsieur HASCOET, Maître de recherches au Laboratoire de phytopharmacie. Tous deux m'ont conseillée et aidée à plusieurs reprises.

Mon Collègue Bernard BRUNIN, Assistant à l'Université de Lille, m'a offert sa collaboration en matière de cytologie végétale, pour l'étude de la 3ème partie de mon travail et son aide très fructueuse pour la réalisation des dessins et la présentation de ma thèse. Je lui adresse mes plus sincères remerciements et l'assurance de mon amitié.

Mes très chaleureux remerciements vont encore à Monsieur LEROUX, Assistant au C.N.R.A., pour ses conseils, pour son dévouement pendant la rédaction de ma thèse et pour l'ambiance amicale qu'il sait faire régner dans le Laboratoire des fongicides du C.N.R.A.

Je remercie de même, MM. FRITZ et GREDT, pour leurs conseils et l'aide qu'ils m'ont apportée à plusieurs occasions.

Bien sûr je ne pourrai me passer de remercier tous mes collègues et amis du C.N.R.A. et de l'Université de Lille pour leur appui moral, ainsi que la sympathique atmosphère et amitié qu'ils ont contribué à faire régner pendant les deux années de mon séjour en France dont je garderai un souvenir très agréable.

Enfin, je voudrais exprimer ma reconnaissance au Ministère de l'Agriculture de Grèce ainsi que mes remerciements respectueux à la Direction de l'Institut Phytopathologique Benaki qui m'ont accordé une permission de longue durée pour séjourner en France.

Cette thèse n'aurait pu être réalisée sans l'aide financière de l'O.C.D.E. la première année et du Gouvernement français la deuxième année. Ils m'ont permis de mener à terme les travaux et d'atteindre les buts que je m'étais fixés. Qu'ils trouvent ici le témoignage de ma plus profonde reconnaissance.

TABLE DES MATIERES.

	Pages.
INTRODUCTION	1
1ère PARTIE : LA MALADIE : L'OIDIUM DES CUCURBITACEES.	
<u>CHAPITRE I : DONNEES GENERALES.</u>	
A - Symptômes.	5
B - Importance économique.	5
C - Morphologie et biologie du parasite.	6
D - Epidémiologie du parasite.	7
E - Methodes et moyen de lutte.	12
<u>CHAPITRE II : IDENTIFICATION DU CHAMPIGNONS SUR CUCUMIS SATIVUS L.</u>	
A - Champignons mentionnés sur les cucurbitacées.	23
B - Matériel et techniques utilisés.	
1) Type de conidiophore.	24
2) Forme et dimension des conidies.	25
3) Forme du tube germinatif.	25
4) Présence et forme des inclusions de fibrosine.	25
5) Suçoirs du champignon .	25
C - Résultats.	26
D - Conclusions.	27
2ème PARTIE : ACTIVITE SYSTEMIQUE DU BENOMYL.	
INTRODUCTION.	34.
<u>CHAPITRE I : ETUDE DE L'ACTIVITE SYSTEMIQUE DU BENOMYL UTILISE EN TRAITEMENT DES SEMENCES.</u>	
A - Protection des concombres vis a vis des attaques de <u>S. fuli- ginea.</u>	
1) Matériel et méthodes.	35
2) Résultats et discussion.	36

B - Activité fongitoxique présente dans les différents fragments de <u>C. sativus L.</u>	
1) Matériel et méthodes.	39
2) Résultats et discussion.	41
C - Estimation quantitative de l'activité fongitoxique retrouvée dans les plantes.	
1) Matériel.	44
2) Méthodes.	45
3) Résultats.	46
4) Discussion.	49
D - Nature de la (ou des) substance(s) responsable(s) de l'activité fongitoxique présente dans les plantes.	50
1) Matériel et méthodes utilisés.	
a - Chromatographie sur papier.	51
b - Chromatographie sur gel de silice.	52
2) Résultats.	52
3) Conclusions et discussion.	53

CHAPITRE II : VOIE DE PENETRATION DU BENOMYL DANS LA
PLANTE A LA SUITE D'UN TRAITEMENT DES
SEMENCES.

A - Matériel et méthodes.	
1) Matériel.	56
2) Méthodes.	
a - Observations des attaques de <u>S. fuliginea</u> sur des plantes issues de semences décortiquées ou non.	56
b - Recherche d'une activité fongitoxique dans des fragments de semences.	57
c - Estimation quantitative du produit fongitoxique présent à l'intérieur des semences.	57
B - Résultats et conclusions.	58
C - Discussion.	60

CHAPITRE III : ETUDE DES FACTEUR AGISSANT SUR L'ACTIVITE
SYSTEMIQUE DU BENOMYL UTILISE EN CULTURE
HYDROPONIQUE.

INTRODUCTION.

A - Influence de la concentration de bénomyl et de la durée d'absorption racinaire sur la quantité de fongicide retrouvée à l'intérieur des plantes.	66
--	----

1) Mise en évidence et répartition de l'activité fongitoxique présente dans les fragments de plantes.	67
2) Estimation quantitative et nature du composé fongitoxique présent dans les plantes de concombres.	76
B - Influence du stade végétatif des concombres.	
1) Matériel et méthodes utilisés.	84
2) Résultats.	84
3) Conclusions.	85
C - Comportement du benomyl dans l'eau.	
1) Matériel et méthodes.	89
2) Résultats.	89
3) Discussion.	90
3ème PARTIE : MODE D'ACTION DU BENOMYL SUR <u>S. FULIGINEA</u> .	
INTRODUCTION.	94
A - Matériel et méthodes.	
1) Etude in vitro.	
a - Préparation des lames de verre.	94
b - Origine des conidies.	95
c - Mise en évidence in vitro de la germination des conidies.	
2) Etude in vivo.	
a - Prélèvement de l'épiderme.	96
b - Empreinte de collodion.	96
3) Observations sur matériel fixé.	97
B - Résultats.	
1) Action du benomyl sur la germination des conidies.	
a - Etude in vitro.	97
b - Etude in vivo.	99
2) Action du benomyl ou du BMC sur l'extension des hypes de <u>S. fuliginea</u> .	100
3) Action du BMC sur la formation de l'appressorium, la pénétration du parasite et la formation de suçoirs.	102
C - Conclusions et discussion.	
	108
CONCLUSIONS GENERALES.	109
BIBLIOGRAPHIE.	112.

I N T R O D U C T I O N .

D'après CRAMER (1967) les pertes causées aux cultures par les champignons sont estimées à 25.000 millions de dollars par an, ce qui représente 18 % de la production agricole mondiale annuelle. L'exemple bien connu de l'épidémie due à Phytophthora infestans sur la pomme de terre qui provoqua en Irlande pendant les années 1845-46 la mort d'1 million d'habitants et l'émigration de 1.500.000 Irlandais justifie l'inquiétude des hommes face à ce fléau. Pourtant la lutte contre les maladies des plantes, selon HORSFALL (1956), a commencé depuis que l'homme a cessé d'être arboricole pour devenir cultivateur.

Le premier produit utilisé pour lutter contre les ravageurs des plantes est sans doute le soufre (McCALLAN, 1967 ; TWEEDE, 1967). D'après ces mêmes auteurs, la première utilisation de ce produit n'est pas datée mais ils prétendent que ses propriétés pesticides étaient bien connues des anciens grecs depuis 1.000 avant J. -C. environ, fait rapporté par HOMERE. Jusqu'au 18 ème siècle le soufre n'est plus mentionné mais différentes autres recettes comme l'urine, la chaux, le fumier et la cendre sont proposées pour se débarrasser des parasites des cultures, sans toutefois avoir identifié pendant cette période les champignons comme organismes pathogènes responsables des maladies des plantes.

C'est pour la première fois, après les anciens temps qu'en l'an 1802 FORSYTH recommande le soufre pour lutter contre les "blancs" des arbres fruitiers. Pourtant c'est sans doute à Bénédict PREVOST en 1807 qu'est due la première véritable étude scientifique sur l'identification de quelques champignons et les propriétés anticryptogamiques d'un produit chimique, le sulfate de cuivre. Jusqu'à la fin du 19ème siècle, le soufre et quelques substances cupriques sont alors les principaux produits anticryptogamiques employés.

En 1852, avec la découverte de la bouillie bordelaise par MILLARDET une nouvelle époque commence dans la lutte contre les maladies des plantes : c'est l'époque du cuivre dont la prédominance, comme principe fongicide, dure jusqu'en 1934. Cette année là TISDALLE et WILLIAMS aux U.S.A. ainsi que MARTIN en Angleterre découvrent l'action fongicide des dithiocarbamates. C'est alors le début de l'emploi des fongicides organiques qui ont donné à l'agriculteur des armes importantes pour lutter contre plusieurs maladies cryptogamiques.

Pourtant au fur et à mesure d'une part que nos connaissances de la pathologie végétale se développent et que nos exigences augmentent, d'autre part, que sont découvertes les propriétés systémiques de quelques insecticides et antibiotiques, plusieurs chercheurs sont amenés à mettre au point des fongicides qui peuvent être absorbés par les racines des plantes et véhiculés à l'intérieur de celles-ci sans être phytotonique pour la plante. Ainsi pendant l'année 1964, STARON et al. découvrent qu'un produit antihelminthique, le Thiabendazole, possède les propriétés recherchées, et il peut être utilisé efficacement dans la pratique.

Ce fut alors le premier fongicide systémique véritable. Depuis lors et surtout depuis 1968, un grand nombre de substances comparables sont apparues donnant des résultats encourageants contre plusieurs champignons et d'autres sont encore étudiées par les chercheurs du monde entier. De cette façon il n'est pas étonnant qu'à l'heure actuelle plusieurs phytopathologistes croient que l'avenir appartienne aux fongicides systémiques.

Nous avons alors décidé d'étudier un de ces nouveaux produits, le bénomyl qui présente un intérêt particulier à cause de son grand spectre d'activité contre un nombre très élevé de parasites des plantes et surtout des oïdiums. Cette maladie présente un problème assez important pour l'agriculture de la Grèce où les conditions climatiques favorisent ces champignons. Comme hôte nous avons choisi le Cucumis sativus L. appartenant à la famille des Cucurbitacées. Ces plantes occupent dans notre pays une surface de culture de 45.000 ha, soit 32 % des cultures maraîchères et présentent un grand intérêt économique comme cultures intensives.

Dans la première partie de ce travail, après une brève description de la maladie et des moyens de lutte, nous identifierons le champignon parasite des concombres cultivés dans les serres du C.N.R.A. à Versailles.

Dans la deuxième partie nous étudierons l'activité systémique du bénomyl contre l'oïdium et en particulier son transport, sa répartition et sa dégradation dans la plante.

Enfin dans la troisième partie nous examinerons le mode d'action du produit vis à vis du parasite étudié.

PREMIERE PARTIE :

LA MALADIE : L'OIDIUM DES CUCURBITACEES.

CHAPITRE I : DONNEES GENERALES.

Les champignons qui provoquent la maladie des "Blancs", appartiennent à la classe des ASCOMYCETES et plus précisément à la famille des ERYSI-PHACEES.

Le nom d'"oidium" fut donné par RILEY (1886), uniquement pour désigner les formes conidiennes des Erysiphacées, famille de parasites obligatoires très répandus sur un grand nombre de plantes cultivées.

A - LES SYMPTOMES.

Une attaque d'"oidium" sur les Cucurbitacées est caractérisée par l'existence de taches porteuses d'un mycélium superficiel, épiphyte, qui se développe sur les deux faces des feuilles atteintes, DEKENBACH & KORENEFF (1928), ainsi que sur les tiges.

Ces taches mycéliennes ont d'abord une couleur blanche puis deviennent brunâtres, tandis que la feuille jaunit et finalement se dessèche. Lorsque la maladie est bien installée, la surface attaquée est recouverte d'une poudre blanche d'où provient le nom vernaculaire de "blanc" donné pour cette maladie.

Les fruits généralement ne sont pas attaqués, YARWOOD (1957). Néanmoins LAFON (1965) signale qu'en France il est possible d'en trouver sur des concombres.

B - IMPORTANCE ECONOMIQUE.

Les oïdiums provoquent des dégâts considérables sur les Cucurbitacées cultivées soit en serre, soit en plein champ, dans tous les pays du monde. SZEMBEL (1930) a montré qu'une attaque d'oidium sur des concombres, provoque une réduction du rendement en fruits égale à 75% de la production normale.

En Grèce, comme dans tous les pays méditerranéens, le climat chaud et sec pendant l'été favorise le développement de cette maladie qui pose un problème de grande importance économique dans ces régions, où les cultures horticoles possèdent une grande extension.

C - MORPHOLOGIE ET BIOLOGIE DU PARASITE.

La contamination d'une plante par l'oidium est réalisée soit par une conidie, soit par une ascospore. La conidie, spore du stade imparfait du champignon, est en réalité une oïdie formée à la manière d'une phialospore née à l'extrémité d'un article différencié de la phialide. L'ascospore, spore du stade parfait du champignon, est formée dans un asque, lui-même inclus dans un ascocarpe clos ou cleisthocarpe.

La germination des conidies est décrite par NEGER (1902), BLUMER (1933) HOMMA (1937) et ZARACOVITIS (1964). La conidie émet un tube ou filament germinatif. Ce tube est généralement court et produit un appressorium dès qu'il se trouve en contact avec l'épiderme de la plante-hôte et ceci d'après le dernier de ces auteurs, même dans des essais in vitro. Du centre de cet appressorium qui peut également provenir de la prolifération du mycélium superficiel (VIENNOT-BOURGIN, 1965) un fin tube de pénétration traverse la cuticule de la plante-hôte et forme à l'intérieur de la cellule épidermique une expansion cellulaire désigné sous le nom d'haustorium ou suçoir. D'après ce même auteur un seul suçoir se développe aux dépens d'un appressorium chez presque toutes les espèces d'Erysiphacées. Avec la formation de l'haustorium la phase de fixation est terminée et commence celle de la nutrition.

HASHIOKA (1937) a montré que la germination d'une conidie commence 8 à 10 heures après son ensemencement sur la plante-hôte. D'après le même auteur la germination d'une conidie, à l'inverse des autres champignons, n'exige pas une goutte d'eau pour se réaliser, mais une atmosphère saturée en vapeur d'eau est suffisante. Très vite se développe une tache blanche constituée par un massif de mycélium blanc.

Sur ce mycélium et à sa périphérie, des conidiophores en position ectophyte apparaissent 4 jours après la contamination (YARWOOD, 1957). Ils se dressent verticalement sur la surface attaquée et ils commencent à produire des conidies.

Sous certaines conditions et à une période plus ou moins avancée de la vie végétative du champignon, les périthèces ou ascocarpes apparaissent.

La conservation de la maladie, pendant la période hivernale, a lieu sous forme de cleisthocarpes (quand il s'en produit), ou sous la forme de mycélium sur d'autres plantes hôtes n'appartenant pas à la famille des Cucurbitacées, STONE (1962). On connaît par ailleurs des oïdiums qui se conservent sous forme de conidies détachées, viables pendant plusieurs mois.

D - EPIDEMIOLOGIE DU PARASITE.

Le climat d'une région donnée conditionne le développement et la persistance d'un agent pathogène, LOUVET (1971). Ainsi les oïdiums, comme tous les organismes vivants, sont sensibles à certains éléments de l'environnement. Parmi les facteurs qui agissent sur le développement et l'extension des oïdiums nous pouvons citer :

- des facteurs climatiques : humidité - température - lumière - vent ;
- et des facteurs liés au sol.

En réalité les interactions entre ces facteurs sont telles qu'il est difficile d'isoler l'effet d'un seul d'entre eux. Cependant pour la clarté de l'exposé qui suit nous avons tenté de préciser l'action de chacun d'eux sur la biologie et le développement des oïdiums.

1) Humidité atmosphérique :

D'après BRUNDZA (1933), D'ANGREMOND (1924), SCHWEIZER (1928), et YARWOOD (1936), une atmosphère relativement sèche et une faible pluviosité favorisent le développement des oïdiums. En effet les pluies peuvent détruire mécaniquement les conidiophores (YARWOOD, 1936), et la présence d'eau liquide à la surface des feuilles des plantes empêche la germination de leurs conidies (CORNER 1935 ; NEGER, 1902). Ainsi d'après CORNER (1935), YARWOOD (1957) et PERIES (1961), les conidies ayant séjourné de 1 à 3 heures dans l'eau, perdent leur capacité à germer. D'après BOUGHEY (1949) dans les régions du monde où la pluviosité est élevée les plantes sont moins atteintes par les oïdiums. YARWOOD (1947) est arrivé à une conclusion semblable en étudiant le développement de l'oïdium d'une même plante dans de nombreuses régions du monde.

HASHIOKA (1937) constate qu'à Formose, sur concombres, l'extension des hyphes et la production des conidies de Sphaerotheca fuliginea sont favorisées par une atmosphère sèche. Enfin, en serre, MESSIAEN et LAFON (1970) considèrent qu'une humidité relative de 70 % permet un développement optimal de l'oidium chez les Cucurbitacées.

2) Température :

La température agit de différentes façons sur la biologie des oidiums. Ainsi la vitesse de formation des conidies et leur pouvoir germinatif sont fortement influencés par la température à laquelle elles sont soumises pendant leur développement, LONGREE (1939), WELZIEN-STENDEL (1959), PERIES (1961), MANNERS-HOSSAIN (1963).

YARWOOD (1957) signale que les oidiums peuvent en général, se développer à des températures comprises entre 11 et 28°C avec un optimum vers 22°C. Mais l'oidium est également connu dans des régions très chaudes où la température peut atteindre 38°C. Ainsi HASHIOKA (1937) montre que S. fuliginea sur concombres peut se développer entre 14 et 34°C avec un optimum à 28°C. Cette observation est valable tant au laboratoire qu'en plein champ, à Formose. Ces auteurs pensent que la température joue un rôle important pendant la période d'incubation de la maladie.

De plus, d'après ARYA et CHEMAWAT (1954), une grande amplitude thermique journalière favorise la formation des ascocarpes et ascospores des oidiums.

3) Lumière :

De nombreux chercheurs ont observé que les oidiums se développent mieux en lumière diffuse qu'en lumière vive, DARROW et al. (1954), YARWOOD (1949). Pourtant ce dernier auteur a souligné l'importance de la photopériode. Ainsi en contaminant des plantes de haricots avec E. polygoni à 24°C il constate au bout de 48 heures que le nombre d'appressoria formés et les dimensions des colonies s'élèvent en fonction de l'augmentation de la photopériode jusqu'à 12 heures; au-delà de cette durée, les valeurs de ces deux critères diminuent. Des résultats semblables sont obtenus par SEMPIO (1943). BRUNDZA (1933), montre que ce phénomène varie suivant les espèces d'oidium.

CHEREWICK (1944) et YARWOOD (1932), ont observé que la germination des conidies est favorisée par l'exposition à la lumière pendant leur formation. Il semble que la lumière agisse non pas directement sur le parasite mais sur la plante hôte. Ainsi TRELEASE et al. (1928) et YARWOOD (1934), pensent que la lumière favorise la photosynthèse qui est responsable de la formation des glucides, eux-mêmes favorisant le développement des oïdiums. Par contre pour d'autres auteurs, WOODWARD (1927) et PERIES (1961), la lumière est insignifiante sur ces parasites.

4) Vent :

Dans le cas des oïdiums de Cucurbitacées, les conidies transportées par le vent constituent la principale source d'inoculum. Le vent agit alors sur l'extension de la maladie car il favorise à faible ou grande distance le transport de conidies, selon HIRST (1953).

De plus, ce facteur en augmentant la transpiration des plantes, permet l'installation d'un microclimat humide favorable à la germination des conidies.

5) Facteurs liés au sol :

D'après ARNAUD et M. ARNAUD (1931), plus les plantes sont vigoureuses, plus les risques d'attaque des oïdiums sont grands. En conséquence plus un sol est fertile et plus les plantes qui y poussent risquent d'être malades.

Pourtant TRELEASE et al. (1928), ont observé qu'il y a une faible corrélation entre la vigueur des plantes et l'incidence de l'oïdium.

En culture hydroponique, plusieurs chercheurs ont observé que l'augmentation des concentrations en Bo, Si, Li, Co, Zn, Mg ou S dans la solution nutritive entraîne une diminution des attaques d'oïdiums. Cet effet n'a pas été observé si les expériences sont réalisées sur sols, CHEREWICK (1944).

Au terme de cette revue bibliographique nous pouvons constater que les principaux facteurs qui favorisent l'extension des oïdiums sont :

- une atmosphère relativement sèche ;
- des températures comprises entre 22 et 28°C ;
- une photopériode d'environ 12 heures par cycle de 24 heures ;
- le vent.

En Grèce, les Cucurbitacées sont cultivées, soit en plein champ dans les régions du centre et du nord du pays surtout pendant la période estivale, soit sous abri dans quelques régions méridionales (par exemple : Ile de la Crète) où la période hivernale douce permet la réalisation de cette culture sans chauffage supplémentaire. Malgré leurs surfaces restreintes, ces cultures sous abri présentent un grand intérêt économique à raison de la production hors saison.

En ce qui concerne la culture en plein champ, on constate une concentration remarquable, de cette production horticole autour de la grande agglomération d'Athènes, c'est à dire les régions d'Attique, de Béotie et de l'Eubée, d'ou l'intérêt de présenter les conditions climatiques de ces régions, qui nous ont été aimablement fournies par l'Institut de la Carte Internationale du Tapis Végétal de Toulouse. Nous reproduisons dans le graphique I et le tableau I, les données climatiques de 30 à 36 années de la région d'Athènes.

Le climat d'Athènes est donc caractérisé par l'existence d'une période sèche (1) avec un indice xérothermique (2) très élevé allant du mois d'Avril jusqu'au mois de Septembre, c'est à dire coïncidant avec la période de la culture des Cucurbitacées en plein champ. Ceci, joint à un vent assez fréquent et à un ensoleillement élevé, correspond à un optimum pour le développement de la maladie.

En France nos recherches ont été effectuées dans la serre du C.N.R.A. à Versailles où une température de 18-24°C et une humidité relative de 70-80 % permettent l'existence de l'oïdium pendant toute l'année sur des concombres et des haricots.

(1) la saison sèche est définie par BAGNOULS et GAUSSEN (1953) comme telle, lorsque la relation $P \ll 2T$ est vérifiée, P étant la pluviosité calculée en mm d'eau et T la température en °C pour un lieu donné.

(2) l'indice xérothermique est défini par ces mêmes auteurs comme le chiffre représentant la durée des jours biologiquement secs pour chaque mois d'une année en un lieu donné. Est défini comme jour biologiquement sec un jour sans pluie et dont l'humidité relative est inférieure à 40 %, un coefficient de correction étant appliqué pour les valeurs HR supérieures à 40 %.

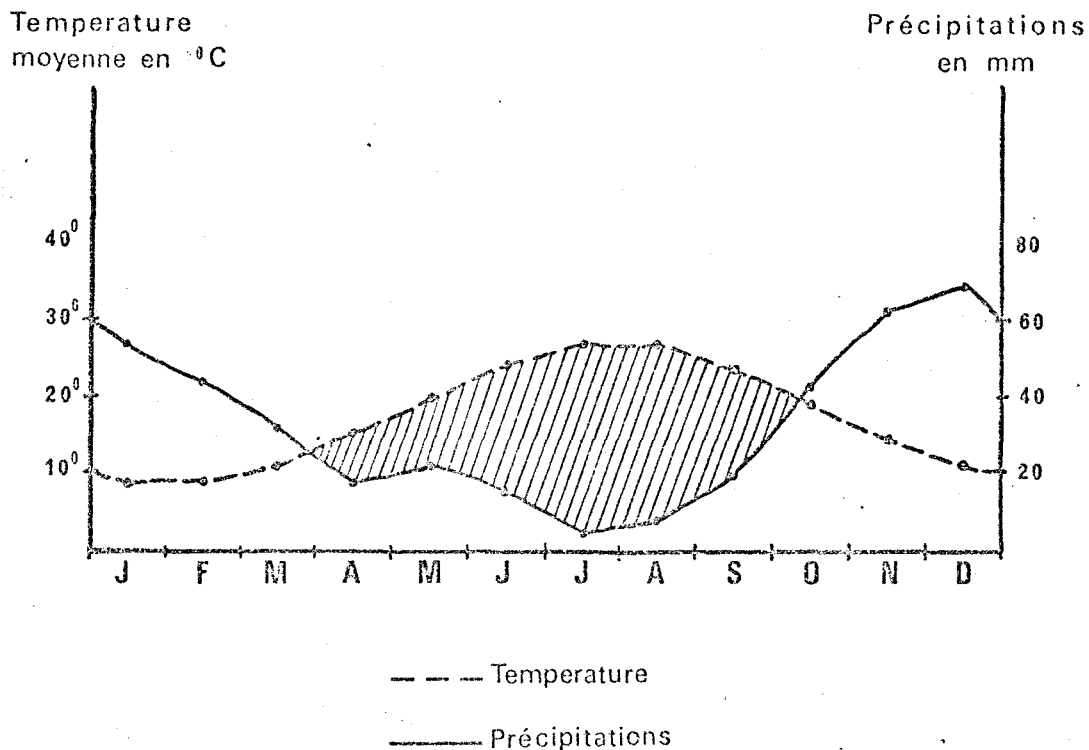
TABLEAU I.

Données climatiques de la région d'Athènes.
(moyenne de 30 à 36 années).

	J	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D
Température moyenne	9.1	9.5	11.5	14.9	13.3	23.7	26.9	26.7	23.3	19.0	14.3	11.0
Précipitations en mm	53	40	30	20	20	16	4	8	16	40	66	68
Jours de pluie	11	9	9	7	7	5	2	2	3	7	10	11
Humidité relative	71	70	66	60	55	51	43	44	51	63	70	73
Indice xérothermique				19	21	22	28	28	24			

GRAPHIQUE I.

Diagramme ombrothermique d'Athènes.



La zone hachurée représente la saison sèche.



E - METHODES ET MOYEN DE LUTTE.

Différents types de protection ont été utilisés pour lutter contre l'oidium des Cucurbitacées.

1) Variétés résistantes :

Chez le melon une variété résistante à l'oidium a été sélectionnée vers 1935 en Californie, mais très rapidement elle a été attaquée par une race virulente du pathogène. Une nouvelle variété de melon résistante à la race virulente a été sélectionnée ; pourtant elle aussi devait être abandonnée à cause de sa sensibilité à la fusariose et de la mauvaise qualité commerciale de ses fruits, MESSIAEN et LAFON (1970).

De plus étant donné que chez les oidiums en particulier la quantité de spores dans l'air peut être très importante, les rares génotypes capables de se reproduire sur un hôte résistant aux races communes, peuvent devenir rapidement prédominants. La variété qui était résistante est alors attaquée par cette nouvelle race.

Ainsi le sélectionneur rencontre d'énormes difficultés pour trouver des sources génétiques convenables pour apporter à la fois la résistance à l'oidium pendant de nombreuses années et maintenir des performances acceptables concernant la qualité et la quantité de la récolte.

Finalement la protection des Cucurbitacées par sélection de variétés résistantes aux oidiums, bien que intrinsèquement très efficace reste malheureusement décevante (YARWOOD, 1957).

2) Pratiques culturales :

Les pratiques culturales telles que la rotation des cultures, la taille et le brûlage des parties malades, et la destruction des plantes cultivées pouvant héberger le parasite, sont peu efficaces dans le cas des oidiums de Cucurbitacées. Si habituellement ils ne forment pas d'ascospores, les conidies disséminées par la voie aérienne à de grandes distances peuvent se former sur des plantes sauvages tel Sonchus asper (L.) Hill., impossibles à extirper STONE (1962).

Ainsi depuis très longtemps et actuellement encore la lutte contre cette maladie est essentiellement chimique.

3) Lutte chimique :

a - Fongicides de surface :

Le soufre : Ce produit est recommandé pour la première fois par FORSYTH (1802) contre les oïdiums des arbres fruitiers. Pourtant son utilisation a augmenté rapidement depuis l'année 1900 (TWEEDY, 1967). Trois types d'application de ce produit sont possibles :

- poudrage de plantes et du sol ;
- pulvérisation des plantes à l'aide de poudre mouillable à la dose de 400 g/hl. ;
- fumigation par sublimation du soufre à la dose de 1 g/50 m³ utilisée surtout pour les cultures en serre.

Que ce soufre soit utilisé en poudrage ou en fumigation, il semble qu'il agisse principalement par ses vapeurs. Ce produit, peu actif à des températures de l'ordre de 10-15°C devient très efficace mais aussi phytotoxique à des températures de 26-28°C (températures favorables pour le développement de l'oïdium). Ainsi d'après YARWOOD (1950) la volatilité du soufre et en conséquence son activité sur l'oïdium sont multipliées par 5 chaque fois que la température augmente de 10°C. Ce produit utilisé en pulvérisation est plus phytotoxique qu'en poudrage. De plus YARWOOD (1956) constate que le soufre peut avoir un effet répulsif vis à vis des abeilles et indirectement entraîne une baisse de rendement par défaut de pollinisation. Malgré ces inconvénients, le soufre est encore utilisé dans certains pays du fait de son faible prix de revient.

Produits organiques : Un grand pas dans la lutte contre les oïdiums de Cucurbitacées est réalisé avec la découverte des fongicides organiques de surface. Le premier produit organique efficace contre les oïdiums et en particulier ceux qui attaquent les Cucurbitacées a été le dinocap ou crotonate de 2-(1'-méthyl-n-heptyl)-4,6-dinitro-phényl. Ce produit est apparu en 1940 et il est conseillé en pulvérisation à la dose de 25g. M.A./hl. Il agit à des températures basses, de l'ordre de 10°C et n'est phytotoxique sur Cucurbitacées qu'à partir de 30°C. Il possède une action préventive et éradicante vis à vis des conidies et du mycélium de l'oïdium chez la courge, GODFERY (1952) et chez le concombre, Mc KEEN (1954).

Dans des essais comparatifs VI DE NOVA (1960) a trouvé qu'à la dose 75 g. M.A./hl, le dinocap était plus efficace que le soufre colloïdal utilisé à 100 g. M.A./hl.

Plus récemment de nouveaux produits organiques furent utilisés contre les oïdiums de Cucurbitacées.

- le drazoxolon 4 (2-chlorophenylhydrazone)-3-méthyl-5-isoxazolone) utilisé en pulvérisation à la dose de 50 g. M.A./hl.

- le chinométhionate (6-méthyl-2-oxo-1,3-dithiolo(4,5-b) quinoxaline) appliqué en poudrage ou pulvérisation à la dose de 7,5 g. M.A./hl a donné des résultats particulièrement intéressants sur des concombres cultivés en serre (LAFON-BUGARET, 1970). Ce dernier produit a montré une action éradicante sur l'agent pathogène supérieure à celle du dinocap.

Jusqu'en 1968, la protection des Cucurbitacées était basée exclusivement sur l'emploi des fongicides de surface. Leur inaptitude à protéger les parties des plantes formées après un traitement, leur faible persistance du fait de l'action de facteurs climatiques, leur phytotoxicité à des températures élevées, constituent des inconvénients graves, reconnus par de nombreux chercheurs et praticiens.

D'autre part, la découverte en 1954 des insecticides systémiques pouvant migrer dans les plantes a donné une impulsion aux études sur l'endothérapie appliquée aux maladies cryptogamiques des plantes et plus particulièrement aux oïdiums.

b - Fongicides systémiques ou endothérapiques :

D'après SINCLAIR (1970) l'expression "fongicide systémique" désigne un composé qui peut :

- pénétrer dans la plante ;
- être transporté jusqu'au lieu d'infection ;
- agir directement sur l'agent pathogène ;
- ne pas être métabolisé dans la plante.

Les premiers fongicides systémiques actifs contre l'oïdium des Cucurbitacées employés en serre ou au laboratoire sont le chlorhydrate de procaïne (DEKKER, 1961) et le 6-Azaauracile (DEKKER, 1962).

En culture hydroponique ces substances sont transportées des racines vers les feuilles de concombres et inhibent le développement de l'agent pathogène déjà installé. Malheureusement ces produits n'ont pas pu être utilisés dans la pratique à cause de leur phytotoxicité (BENT, 1969).

De nombreux chercheurs ont concentré depuis leurs efforts sur la découverte de nouveaux fongicides systémiques. Aujourd'hui plusieurs substances sont déjà passées dans le domaine de la pratique. L'inventaire de ces différents fongicides systémiques ayant été effectué par différents auteurs (BENT, 1969 ; SINCLAIR, 1970 ; ERWIN, 1970) nous nous bornerons à signaler ceux qui ont été utilisés dans la lutte contre l'oidium des Cucurbitacées.

- Groupe des Pyrimidines : Parmi les matières actives de ce groupe, en général spécifique contre les oidiums, deux produits se sont montrés efficaces sur concombres et courges.

- le diméthirimol (5-n-butyl-2-diméthylamino-4-hydroxy-6-méthyl pyrimidine).

- le triarimol (a-(2,4-dichlorophényl)a-phényl-5-pyrimidine méthanol).

Les structures chimiques de ces deux corps sont présentées sur la figure n° 1.

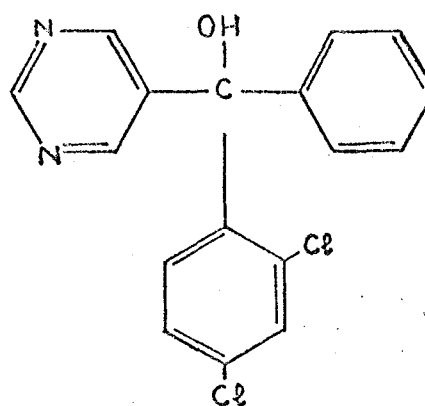
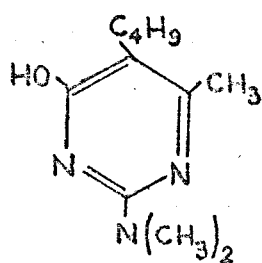


Fig. 1 : Dimethirimol

Triarimol

Sur concombres, en serre, le diméthirimol est conseillé en arrosage du sol à la dose de 0,25 g. M.A./plante. Dans ces conditions, GEOGHEGAN (1969) observe une protection pendant 8 semaines et une augmentation de rendement de 20 fruits par plante. Aux champs, les résultats sont moins intéressants malgré l'augmentation des doses d'arrosage ; de plus une phytotoxicité apparaît sur les plantules, PAULUS et al. (1969).

Ce fongicide utilisé en pulvérisation foliaire n'est pas efficace car il est très peu persistant. Bien que 2 applications de diméthirimol soient plus efficaces que 10 à base de dinocap, GEOGHEGAN (1969), PAULUS et al. (1969) pensent que les doses d'emploi élevées limitent son utilisation en plein champ et qu'il est nécessaire de chercher des modes d'application plus rentables.

- le triarimol utilisé en traitement du sol à 0,15-0,30 M.A./plante protège les concombres et les courges cultivés en serre, contre les attaques de S. fuliginea, (DOMA et al. 1971).

Dans des essais de plein champ des concombres pulvérisés avec du triarimol à des doses de 1,5-2 g. M.A./hl sont protégés vis à vis des attaques de E. cichoracearum D.C. (GRAMLISH, 1969).

- Groupe des thiophanates : Trois produits de cette famille sont utilisés pour lutter contre l'oidium des Cucurbitacées :

- NF 35 ou Thiophanate (1,2 bis (3-éthoxycarbonyl-2-thioureido)benzène)
- NF 44 ou Méthylthiophanate(1,2bis(3 méthoxycarbonyl-2-thioureido) benzène).;
- NF 48 (2-(3-méthoxycarbonyl-2-thioureido)aniline).

Les structures chimiques de ces trois corps sont présentées dans la figure n° 2 :

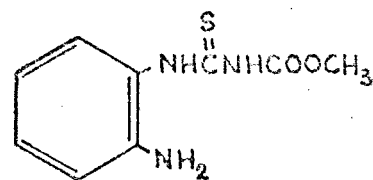
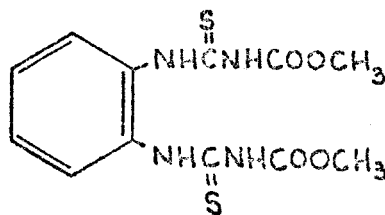
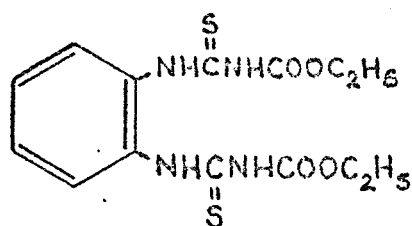


Fig. 2 : Thiophanate NF 35

Thiophanate methyle NF 44

NF 48

D'après MERCER (1971), en traitement du sol, le NF 44 et NF 48 sont plus efficaces contre *S. fuliginea* des concombres que le NF 35. D'après DOUCHET et al. (1971) ces trois produits utilisés en plein champ en pulvérisations renouvelées tous les 10 jours montrent une action préventive contre Erysiphe cichoracearum du melon. Les doses employées sont respectivement de 25-50g. M. A./hl pour le NF 35 et 15g. M. A./hl pour le NF 44 et le NF 48. Ces mêmes auteurs constatent que l'activité curative vis à vis de cette maladie est obtenue avec le NF 35 et le NF 44 utilisés à des doses de 50g. M. A./hl.

Ces composés ne sont pas spécifiques des oïdiums des Cucurbitacées, ils ont donné des résultats intéressants contre de nombreux autres oïdiums (Podosphaera leucotricha Salm., Uncinula necator Burr. et Sphaerotheca pannosa Lev.) (VENTURA et al., 1971 ; DOUCHET et PENCHI, 1971) ; les tavelures (Venturia inaequalis et pyrina Aderch.) (VENTURA et al., 1971 ; DOUCHET et QUERE, 1971) ; la pourriture grise (Botrytis cinerea Pers.) (LAFON et al., 1971) ; la cercosporiose de la betterave (Cercospora beticola Sacc.) (DOUCHET et QUERE, 1971 ; ISHII, 1970) et des trachéomycoses (Verticillium albo-atrum R.) (FORMIGONI et al., 1970).

- Groupe des Benzimidazoles : Deux dérivés de ce groupe sont efficaces contre les oïdiums des Cucurbitacées. Ce sont :

- le thiabendazole ou TBZ (2-(4-thiazolyl)-benzimidazole)
- et le benomyl (méthyl-(butylcarbamoyl)-1-benzimidazole-2-carbamate).

Les structures chimiques de ces deux corps sont présentées dans la fig. 3.

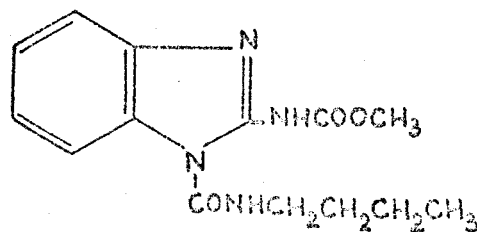
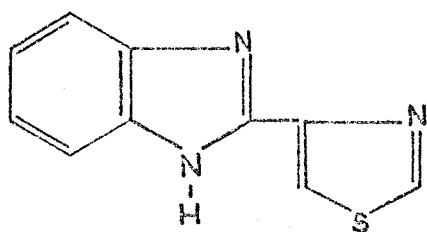


Fig. 3 : Thiabendazole

Benomyl

Ces deux corps ont attiré l'attention de nombreux chercheurs du monde entier, du fait de leur large spectre d'activité fongitoxique (EVANS, 1971). De plus ils possèdent un spectre d'activité semblable et d'après EDNIGTON et al. (1971) cette ressemblance est liée à la présence du noyau benzimidazole. Pourtant du fait que ce noyau seul ne s'est pas révélé fongitoxique, (GILPATRICK, 1969), ces mêmes auteurs concluent que les chaînes latérales doivent également influencer l'activité de ces deux produits.

Les propriétés fongicides et endotherapiques du thiabendazole ont été découvertes par STARON et al. (1964). Il est efficace contre plusieurs champignons, ainsi :

- en pulvérisation foliaire il est actif contre la tavelure (DARPOUX et al., 1966), la cercosporiose de la betterave (STARON et al., 1964 ; SOLEL, 1970), la septoriose du céleri (PAULUS et al., 1970) ;

- en traitement de semences de céréales, il est particulièrement actif sur Fusarium roseum (DARPOUX et al., 1968) ;

- en traitement de sol, des résultats encourageants ont été obtenus sur Verticillium albo-atrum (ERWIN et al., 1968) ; sur Thielaviopsis sp. (PAPAVIZAS et al., 1970) et sur Rhizoctonia solani (GOLDBERG et al., 1970) ;

- en traitement des agrumes récoltés, il limite les pertes au cours de la conservation causées par Penicillium italicum ou digitatum (ECKERT, 1970 ; PREIZER et al., 1970).

- Le bénomyl : Ce produit a été synthétisé aux U.S.A. par la société DU PONT de NEMOURS et il est commercialisé sous le nom de Benlate (poudre mouillable titrant 50 % de matière active).

Propriétés physicochimiques : La formule brute de ce produit est : $C_{14}H_{18}N_4O_3$. C'est un corps blanc cristallin ayant un poids moléculaire de 290,3. Il n'est pas volatil. Il possède une odeur légèrement âcre. Il est très peu soluble dans l'eau, environ 2 ppm, (ERWIN, 1970) et dans les huiles, mais il est soluble dans divers solvants organiques.

Propriétés toxicologiques : Sa toxicité vis à vis des animaux est très faible, la dose létale 50 orale aigüe sur des rats est supérieure à 9.590 mg/kg de poids vif.

Des essais de toxicité chronique sur rats nourris pendant 90 jours avec 0-100-500 et 1.500 ppm de bénomyl n'ont mis en évidence aucun effet de toxicité chronique (CATLING, 1969).

Propriétés biologiques : Les propriétés endothérapeutiques préventives et curatives du bénomyl vis à vis de nombreuses maladies des plantes cultivées, ont été observées pour la première fois par DELP et KLOPPING (1968).

Son activité systémique a été démontrée à la suite d'un traitement du sol ou de semences (HAMMETT, 1968 ; DOMA et al., 1971). Son déplacement des racines vers les feuilles a été observé sur diverses plantes ainsi qu'un mouvement du centre des feuilles vers la périphérie (PETERSON et EDGINGTON, 1970, 1971). Ces deux faits tendent à prouver que le bénomyl ou son produit de décomposition progresse dans la plante en empruntant le xylème (PETERSON et EDGINGTON, 1970). Cependant HINE et al. (1969) signalent un mouvement descendant du bénomyl par les vaisseaux libériens. Ce fait n'a pas été confirmé par d'autres chercheurs.

Dans des essais in vitro et in vivo le bénomyl se caractérise par son action fongistatique vis à vis de plusieurs champignons (ERWIN et SIMS, 1968 ; LEROUX, 1970 ; THAPLIYAL et SINCLAIR, 1970).

Comme nous l'avons déjà mentionné c'est un produit polyvalent particulièrement actif sur les champignons phytopathogènes appartenant aux groupes des ASCOMYCETES et des champignons imparfaits. En particulier il s'est montré actif contre les tracheomycoses telle que Verticillium albo atrum chez le coton cultivé en serre (ERWIN et al., 1968 ; ERWIN, 1969). Ce produit n'est pas actif sur les Phycomycètes et la plupart des Basidiomycètes sauf pour Rhizoctonia solani (DELP et KLOPPING, 1968 ; EDGINGTON et al., 1971).

BOLLEN, FUCHS (1970), EDGINGTON et al. (1971) dans des revues très détaillées donnent la liste de tous les champignons qui se sont montrés sensibles vis à vis de ce fongicide in vitro et in vivo.

Parmi les produits qui se sont montrés efficaces contre les oïdiums des Cucurbitacées c'est le bénomyl qui nous a paru le plus intéressant pour les raisons suivantes :

- il est systémique et peut être utilisé en enrobage des semences. Ce traitement semble intéressant pour la protection des jeunes plantules ;

- il a été le premier produit systémique à présenter un spectre d'activité fongitoxique aussi étendu et à posséder une action préventive et curative ;

- il n'est pas ou très peu phytotoxique sur les Cucurbitacées qui sont souvent très sensibles aux pesticides;

- étant actif sur les oïdiums de nombreuses plantes nous pouvons espérer qu'il sera actif contre les oïdiums des Cucurbitacées. En effet la bibliographie signale que quatre espèces différentes peuvent être responsables de l'oïdium sur les Cucurbitacées. D'après LAFON et BUGARET (1970) leur identification n'étant pas très facile, il y a là un champ d'investigation important, indispensable avant tout essai direct de lutte contre cette maladie.

Afin d'étudier l'action du bénomyl sur l'oïdium des concombres cultivés dans les serres du C.N.R.A. de Versailles, nous avons essayé d'identifier l'espèce du parasite présente sur les plantes cultivées dans ces locaux.

CHAPITRE II : IDENTIFICATION DU CHAMPIGNON SUR

CUCUMIS SATIVUS L.

L'identification d'une espèce d'oidium est généralement plus sûre si elle est basée sur les caractères morphologiques du cleisthocarpe. En fait la formation des cleisthocarpes est rare chez les espèces attaquant les Cucurbitacées d'après BLUMER (1933), VIENNOT-BOURGIN (1949), YARWOOD (1957) et BALLANDYNE (1963) etc... Cette rareté de la forme parfaite a conduit plusieurs chercheurs à utiliser la morphologie du stade imparfait pour l'identification de ces champignons.

HOMMA (1937) distingue trois genres dans le stade imparfait des Erysiphacées.

- a) Oldium : concernant les espèces qui disposent d'un mycélium externe portant des conidiophores, avec une chaîne plus ou moins longue de conidies ovoïdes ou cylindriques. Type : Erysiphe.
- b) Ovulariopsis : pour les espèces disposant d'un mycélium demi-interne, et des conidiophores portant une seule conidie allongée. Type : Phyllactinia.
- c) Oidiopsis : groupant les espèces qui disposent d'un mycélium demi-interne et de conidiophores ramifiés portant une seule conidie allongée, mais sortant des stomates de la plante. Type : Leveillula.

FOEX (1912) distingue deux types de conidiophores chez les genres Oldium.

1er type : la cellule basale est à la fois un pédicelle et une cellule génératrice de cellules-mères d'une longue chaîne de conidies. Deux conidies mûres se forment simultanément. Type : Erysiphe cichoracearum.

2ème type : la cellule basale est uniquement un pédicelle portant une cellule-mère, génératrice de cellules destinées à se différencier directement en conidies. Une seule conidie mûre se produit. Type : Erysiphe polygona.

ZOPF (1887) a mentionné pour la première fois, la présence d'inclusions dans les conidies et les conidiophores de Sphaerotheca humuli (DC.) Burr. Leur nature chimique a été étudiée par HOMMA (1937) qui les identifie à des cristaux de fibrosine, glucide contenant de l'azote. D'après ce dernier, des corpuscules semblables sont présents dans tous les organes de la famille des Erysiphacées et peuvent se différencier en deux types :

- 1er type : des corpuscules "bien développés" qu'on observe sous forme de cylindres, disques ou croissants dans les genres de Cystotheca, Sphaerotheca, Podosphaera et Sawadaea
- 2ème type : des corpuscules "granuleux" qu'on observe dans le genre Erysiphe .

SAWADA (1914) est le premier chercheur qui a proposé une classification, basée sur les différents caractères du stade imparfait du champignon tels que :

- la forme du conidiophore et des conidies ;
- la formation des conidies, en chaîne ou isolées ;
- le type de la cellule basale du conidiophore ;
- la présence et la forme des corpuscules de fibrosine dans les spores du champignon .

Les travaux effectués par de nombreux chercheurs sur l'étude et la détermination des espèces d'oidium permettent aujourd'hui de tenir compte de critères supplémentaires.

NEGER (1902), HIRATA (1942 - 1955) et ZARACOVITIS (1964) ont montré que le tube germinatif et l'apressorium sont caractéristiques de l'espèce. Ainsi HIRATA (1942) a trouvé que Sphaerotheca fuliginea est la seule espèce qui produise des tubes germinatifs pédiformes (fig. 4).

Chez les Cucurbitacées, BALLANDYNE (1963) a montré que la forme du conidiophore, la présence ou absence des corpuscules de fibrosine "bien développés", et la morphologie du tube germinatif des conidies, ont une grande valeur pour la définition de l'espèce d'oidium.

Les caractéristiques du stade imparfait décrites ci-dessus et celles du stade ascospore lorsqu'il existe, ont permis à différents chercheurs d'identifier les espèces suivantes sur les Cucurbitacées.

A - CHAMPIGNONS MENTIONNES SUR LES CUCURBITACEES.

SPHAEROTHECA HUMULI (DC.) BURR :

MAIRE (1931) a trouvé plusieurs cleistocarpes de ce champignon sur des plantes de Cucurbita pepo L. en Grèce. Le même champignon sur des plantes de Cucumis sativus L. est mentionné par VERESCEAGHIN (1929) et IVANOFF (1928).

D'autres chercheurs, ZAPROMETOFF (1925) ESTIMEYEF (1925) et SAREJIANNIS (1935) rendent ce même parasite responsable de l'oidium des Cucurbitacées sans préciser comment ils ont effectué son identification.

SPHAEROTHECA FULIGINEA (SCHLECH.) POLLACI :

POTEZKY (1924) a pu observer les cleistocarpes de ce champignon sur des plantes de Cucumis melo L. en Russie. DEKENBACH (1924), dans le même pays, a pu observer les cleistocarpes de ce même champignon sur Cucumis melo et sativus L. et Cucurbita pepo L.

HASHIOKA (1937) en contaminant artificiellement de jeunes plantes de concombre, avec des feuilles de concombres attaquées, a pu observer des cleistocarpes de ce champignon au laboratoire.

BLUMER (1933), BOEREMA et VAN KESTEREN (1964) signalent ce même champignon sur Cucumis sativus et melo L. et Cucurbita pepo L. BALLANDYNE (1963), GORTER (1966) et JHOOTY (1967) l'ont signalé sur C. sativus L. et VIENNOT - BOURGIN (1956) sur C. melo et sativus L. en France.

ERYSIPHE CICHORACEARUM DC. :

REED (1908), RODER (1937) et RANDALL & MENZIES (1956) ont pu observer en Amérique les périthèces de ce champignon sur C. sativus L. Le même parasite est signalé sur Cucumis melo et sativus L. et Cucurbita pepo L. par BLUMER (1933).

Ces deux dernières espèces de champignons cohabitent sur les Cucurbitacées ont été rapportées par plusieurs chercheurs.

Ainsi DEKENBACH et KORENEFF (1928) ont trouvé des cleistocarpes de ces deux espèces de champignons sur des plantes de C. sativus L. et plus précisément d'Erysiphe cichoracearum sur la face supérieure de feuilles et de Sphaerotheca fuliginea sur la face inférieure de la même plante-hôte.

RUDENKO (1968) a trouvé des périthèces de ces mêmes espèces sur des plantes de C. sativus et melo L. et Cucurbita pepo L.

D'autres chercheurs, APOSTOLIDIS (1952), RAGIMOV (1964), TAFRAD-ZHIISKI (1964), signalent encore ces deux espèces cohabitant sur les Cucurbitacées dans différents pays d'Europe.

ERYSIPHE POLYPHAGA HAMM :

Ce champignon a été signalé par HAMMARLUND (1945) et BLUMER (1952). VIENNOT - BOURGIN (1969) l'étudie comme parasite responsable de l'oidium des concombres et du haricot, dans la serre du C.N.R.A. à Versailles. En outre, l'auteur signale qu'il ne faut pas négliger la présence possible du Sphaerotheca fuliginea sur les Cucurbitacées.

La présence fréquente de deux espèces de champignons différents, cohabitant sur les Cucurbitacées, comme nous l'avons mentionné précédemment, nous a conduit à l'examen du stade imparfait du parasite que nous avons utilisé par la suite dans nos expériences. Il s'agit d'une souche vivant sur le Cucumis sativus et conservée en serre à Versailles.

B - MATERIEL ET TECHNIQUES UTILISES.

Pour cette étude nous avons examiné les caractéristiques suivantes du champignon :

1) Type du conidiophore :

Pour examiner les conidiophores du champignon, des feuilles de concombres ont été pliées au niveau d'une tache d'oidium, collées ensuite sur une lame de verre de façon que les conidiophores soient disposés horizontalement. Après examen sous microscope, des photographies ont été prises et les résultats obtenus sont comparés à ceux donnés par FOEX (1912).

2) Forme et dimensions des conidies :

En vue d'observations microscopiques, les conidies sont placées sur lame de verre en provoquant un léger courant d'air sur des feuilles parasitées. Par référence à une échelle micrométrique, préalablement étalonnée, nous mesurons la longueur et la largeur de 300 conidies.

Nous savons que la taille des conidies d'une même espèce varie en fonction de plusieurs facteurs : les conditions d'environnement (YARWOOD, 1957 ; VIENNOT - BOURGIN, 1969), l'emplacement de la tache sur la feuille (KLIKA, 1922) et leur position sur le conidiophore (VIENNOT - BOURGIN, 1969).

Malgré ces variations, les courbes de fréquence de longueur et largeur des conidies doivent faire ressortir l'existence d'une ou plusieurs espèces d'oldium si tel est le cas.

3) Forme du tube germinatif :

Pour examiner la forme du tube germinatif, des conidies ont été disposées sur des lames de verre soit après contact avec des feuilles de concombres infectées, soit en projetant par un faible courant d'air des conidies sur des lames à partir de ces plantes.

Les lames ont été placées, ensuite, dans une atmosphère saturée d'humidité, à 22°C, pendant 24 heures afin d'observer la germination (HIRATA, 1937 ; ZARACOVITIS, 1964).

4) Présence et forme des inclusions de fibrosine :

Pour observer les corpuscules de fibrosine, des conidies ont été imbibées dans KOH à 3 % dans l'eau (BALLANDYNE, 1963).

5) Suçoirs du champignon :

Les suçoirs ont été observés dans l'épiderme de la tige des plantes atteintes, après enlèvement des hyphes superficiels et coloration au bleu coton dans le lactophénol (DEKKER et OORT, 1964 ; VIENNOT - BOURGIN, 1969).

C - RESULTATS.

Après l'examen des caractéristiques du stade imparfait du champignon, à l'aide des méthodes décrites ci-dessus, nous constatons que :

1 - Les conidiophores du parasite appartiennent au type : Erysiphe cichoracearum, comme il a été décrit par FOEX (1912). Ils se dressent verticalement sur l'hyphe et portent une longue chaîne de conidies (Photos n° 1 - 2 et 3).

2 - La forme des conidies est ovoïde et les dimensions extrêmes des 300 spores mesurées sont : 20 - 38,6 μ x 12 - 22 μ . Des dimensions semblables sont données par VIENNOT - BOURGIN (1956) (22 - 35 x 12 - 23 μ), pour l'oidium sp. sur C. sativus et C. melo et par GORTER (1966) (25,2 - 37,8 x 14,7 x 23,1 μ) pour Sph. fuliginea. Sur le graphique 2 sont portés les résultats de ces mesures.

3 - Le tube germinatif des conidies est en général simple mais parfois pédiforme (Photos n° 4 et 5 ; Fig. 4) et il ne sort jamais au niveau de la partie apicale de la conidie ; une germination comparable et des photographies identiques ont été données pour le Sph. fuliginea par HASHIOKA (1937) BALLANDYNE (1963) et BOEREMA et VAN KESTEREN (1964).

4 - Nous avons pu observer des corpuscules de fibrosine "bien développés" sous la forme de disques et de bâtons dans les conidies du champignon (photos n° 6 - 7) comme ils ont été décrits et montrés, pour Sph. fuliginea par HOMMA (1937), BALLANDYNE (1963) et BOEREMA et VAN KESTEREN (1964).

De plus en utilisant la lumière polarisée nous avons pu constater quelques-uns de ces corpuscules se trouvant à côté des vacuoles des conidies (photo n° 8). Des observations concordantes et des photographies identiques sont données par HOMMA (1937) pour le Sph. fuliginea.

5 - Les suçoirs ont une forme globuleuse (photo n° 9, Fig. 5) et sont comparables à ceux décrits par HOMMA (1937) pour Sph. fuliginea sur Taraxacum ceratophorum, DC.

C - RESULTATS.

Après l'examen des caractéristiques du stade imparfait du champignon, à l'aide des méthodes décrites ci-dessus, nous constatons que :

1 - Les conidiophores du parasite appartiennent au type : Erysiphe cichoracearum, comme il a été décrit par FOEX (1912). Ils se dressent verticalement sur l'hyphe et portent une longue chaîne de conidies (Photos n° 1 - 2 et 3).

2 - La forme des conidies est ovoïde et les dimensions extrêmes des 300 spores mesurées sont : 20 - 38,6 μ x 12 - 22 μ . Des dimensions semblables sont données par VIENNOT - BOURGIN (1956) (22 - 35 x 12 - 23 μ), pour l'otidium sp. sur C. sativus et C. melo et par GORTER (1966) (25,2 - 37,8 x 14,7 x 23,1 u) pour Sph. fuliginea. Sur le graphique 2 sont portés les résultats de ces mesures.

3 - Le tube germinatif des conidies est en général simple mais parfois pédifforme (Photos n° 4 et 5 ; Fig. 4) et il ne sort jamais au niveau de la partie apicale de la conidie ; une germination comparable et des photographies identiques ont été données pour le Sph. fuliginea par HASHIOKA (1937) BALLANDYNE (1963) et BOEREMA et VAN KESTEREN (1964).

4 - Nous avons pu observer des corpuscules de fibrosine "bien développés" sous la forme de disques et de bâtons dans les conidies du champignon (photos n° 6 - 7) comme ils ont été décrits et montrés, pour Sph. fuliginea par HOMMA (1937), BALLANDYNE (1963) et BOEREMA et VAN KESTEREN (1964).

De plus en utilisant la lumière polarisée nous avons pu constater quelques-uns de ces corpuscules se trouvant à côté des vacuoles des conidies (photo n° 8). Des observations concordantes et des photographies identiques sont données par HOMMA (1937) pour le Sph. fuliginea.

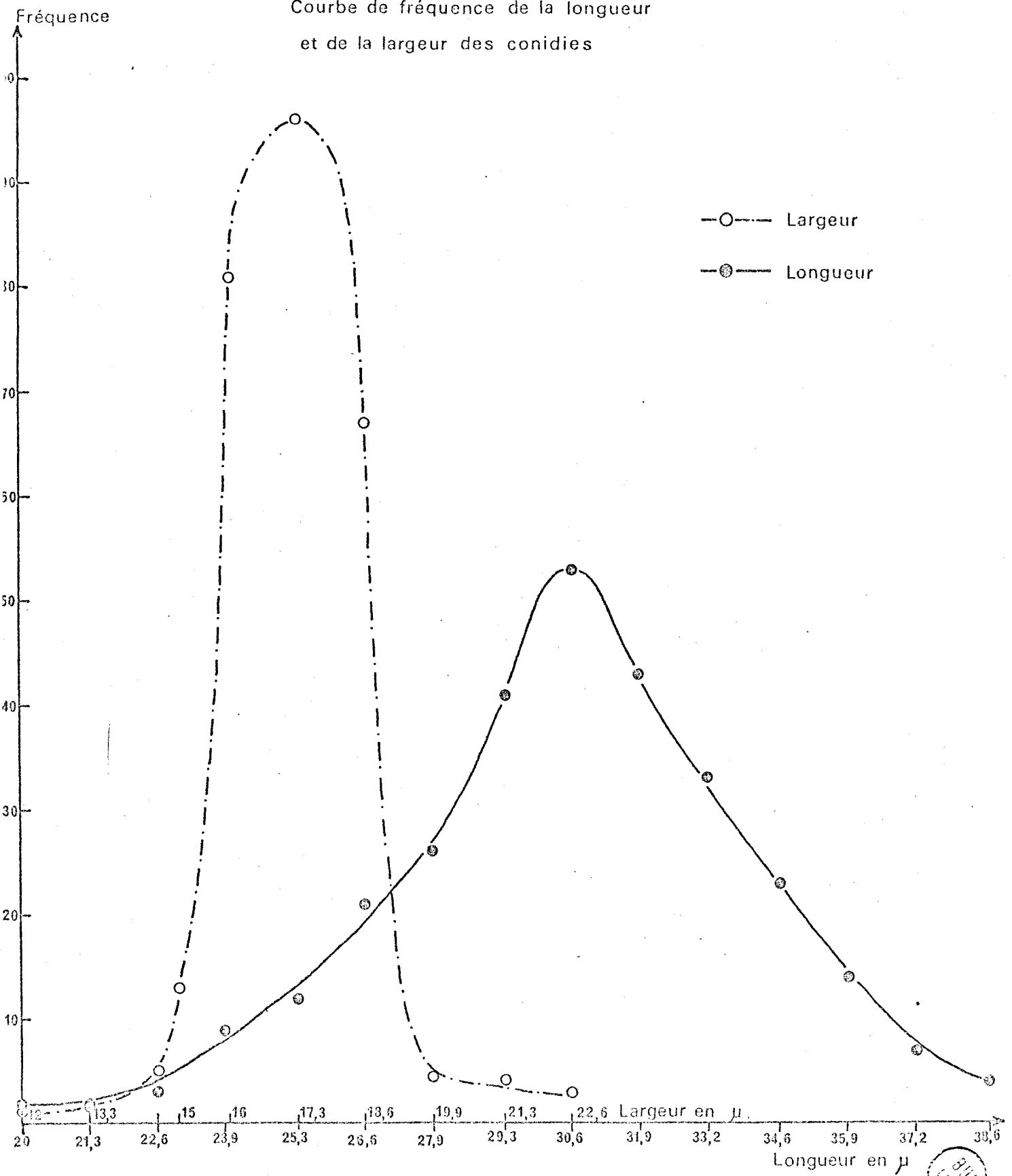
5 - Les suçoirs ont une forme globuleuse (photo n° 9, Fig. 5) et sont comparables à ceux décrits par HOMMA (1937) pour Sph. fuliginea sur Taraxacum ceratophorum, DC.

D - CONCLUSION.

De l'ensemble des observations précédentes : forme du conidiophore, des conidies et des suçoirs, courbes de fréquence relative à la taille de ces conidies, la morphologie du tube germinatif, enfin la présence des corpuscules de fibrosine bien développé, il ressort que sur les concombres conservés dans la serre du C.N.R.A. à Versailles, il n'y a qu'une seule espèce responsable de l'oidium : le Sph. fuliginea (Schl.) Poll. qui nous a servi, par la suite, comme matériel biologique au cours de nos études avec le bénomyl.

GRAPHIQUE 2

Courbe de fréquence de la longueur
et de la largeur des conidies





LILLE

Photo 1



LILLE

Photo 2



LILLE

Photo 3

Conidiophores de S. fuliginea sur feuille de concombre (C. sativus L.)

Photo 1 : Début de différenciation d'un conidiophore (G x 250).

Photo 2 : Conidiophore portant des conidies alignées (G x 100).

Photo 3 : Idem. (G x 250).

LILLE

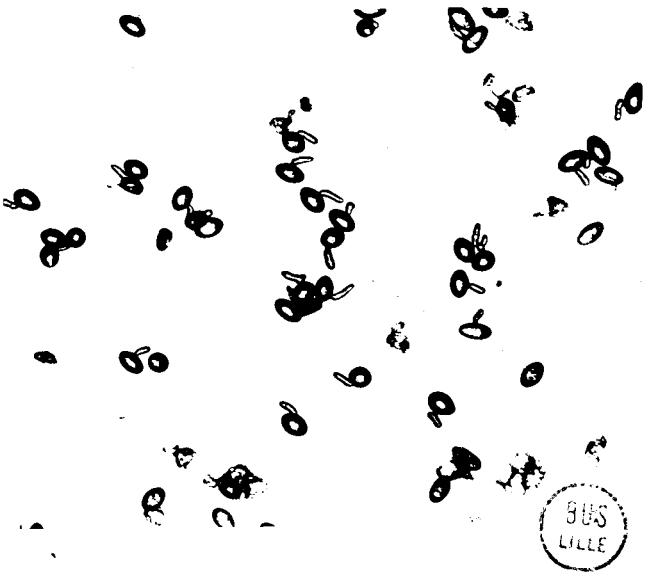


Photo 4



Photo 5

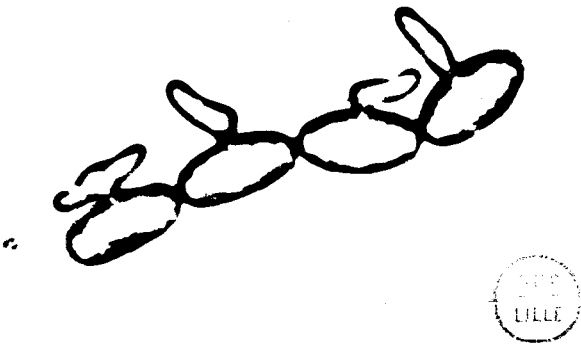


Photo 6

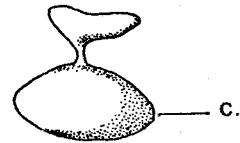


Figure 4.

Germination de conidies de S. fuliginea observée
in vitro.

-
- Photo 4 : Observation au G x 100
 - Photo 5 : Observation au G x 250
 - Photo 6 : Observation au G x 400 - Conidies appartenant à un même conidiophore et montrant 4 modes différents de germination.
 - Figure 4 : Tube germinatif pédiforme (G x 500).
 - c : conidie.





Photo 7



Photo 8

Les corpuscules de fibrosine dans les conidies
de *S. fuliginea* (Schl.) Poll.

Photo 7 Observation en lumière blanche (G x 1.000)

Photo 8 Observation en lumière polarisée (G x 400).





Photo 9

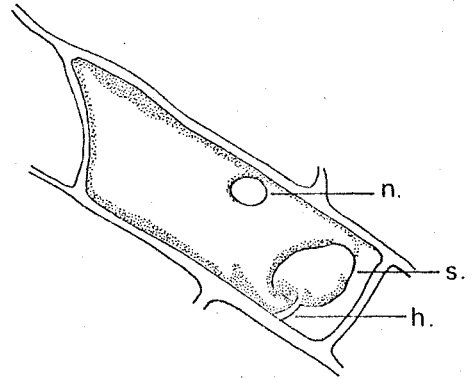


Figure 5.

Suçoir de *S. fuliginea* (Schl.) Poll. dans les cellules
épidermiques de *C. sativus* L.

Photo 9 (G x 250).

Figure 5 (G x 500). h : hyphe ; n : noyau ; s : suçoir.



DEUXIEME PARTIE :

ACTIVITE SYSTEMIQUE DU BENOMYL.

INTRODUCTION.

Chez les Cucurbitacées, le bénomyl appliqué en traitement du sol ou de semences s'avère être systémique selon DELP et KLOPPING (1968), HAMMETT (1968), SCHROEDER et PROVVIDENTI (1968), CHANCOGNE et GREDT (1969).

Cette propriété du bénomyl a été établie en constatant que les parties aériennes des plantes issues des semences traitées n'étaient pas attaquées par l'oidium. D'après ERWIN (1969), la suppression des symptômes d'une maladie par un produit chimique, déposé à un endroit éloigné du lieu d'infection prouve que ce corps est endothérapie ou systémique. Pourtant UNTERSTENHOFER (1954), WAIN et CARTER (1967) et SINCLAIR (1970) considèrent que cette condition n'est pas suffisante.

D'après ces auteurs, pour démontrer qu'un fongicide est systémique, il faut vérifier qu'il possède les propriétés déjà mentionnées. C'est à dire qu'il peut :

- être absorbé par la plante ;
- être transporté jusqu'au lieu d'infection ;
- agir directement sur l'agent pathogène ;
- ne pas être métabolisé, ou être métabolisé par la plante, à condition que les métabolites résultants soient stables et efficaces vis à vis des pathogènes étudiés. Cette dernière condition est précisée par UNTERSTENHOFER (1954).

Afin de vérifier si le bénomyl remplit ces conditions, nous avons entrepris différentes expérimentations en utilisant ce fongicide en traitement de semences ou de racines. L'étude qui suit est subdivisée en trois parties :

- I - Etude de l'activité systémique du bénomyl utilisé en traitement des semences.
- II - Voie de pénétration du bénomyl dans la plante à la suite d'un traitement des semences.
- III - Etude des facteurs agissant sur l'activité systémique du bénomyl en culture hydroponique.

CHAPITRE I : ETUDE DE L'ACTIVITE SYSTEMIQUE DU BENOMYL UTILISE EN TRAITEMENT DES SEMENCES.

Dans ce premier chapitre, après avoir enrobé ou non des semences de concombre "var. vert long maraîcher" avec du Benlate (poudre mouillable titrant 50 % de bénomyl) à sec, à la dose de 100 g. M.A./quintal, nous avons :

- observé la protection des concombres vis à vis des attaques de S. fuliginea ;
- mis en évidence la présence et la répartition de la fongitoxicité détectée dans les différents fragments de plantes ;
- estimé quantitativement l'activité fongitoxique retrouvée dans des extraits de plantes ;
- enfin, précisé la nature de la (ou des) substance (s) responsable(s) de cette activité fongitoxique.

Au cours de cette étude toutes nos expériences ont été réalisées en serre à une température de 18 - 24°C et une humidité relative de 70 - 80 %.

A - PROTECTION DES CONCOMBRES VIS A VIS DES ATTAQUES DE S. FULIGINEA.

1) Matériel et méthodes :

Des graines enrobées ou non avec du bénomyl sont semées dans des terrines de 30 x 30 cm contenant de la vermiculite ou un mélange terreux renfermant 10 % de matière organique, stérilisé ou non par la chaleur (120°C pendant 30 minutes). Dans chaque terrine et pour chaque condition, 60 graines sont semées.

Après la levée, un même nombre de plantules, soit 32, est conservé par terrine. Les plantes cultivées sur les mélanges terreux sont arrosées 3 fois par semaine à l'eau du robinet, tandis que celles poussant sur la vermiculite le sont avec une solution nutritive dont la composition est donnée ci-dessous.

Eau	1.000	ml
Nitrate de potassium	303	mg
Nitrate de calcium	590	mg
Nitrate d'ammonium	160	mg
Chlorure de sodium	12	mg
Phosphate monopotassique	102	mg
Phosphate bipotassique	43,5	mg
Sulfate de magnésium	185	mg
Molybdate d'ammonium	0,05	mg
Acide borique	1,5	mg
Sulfate de manganèse	2,0	mg
Sulfate de zinc	0,5	mg
Sulfate de cuivre	0,25	mg
Sequestrène de Fer 138 Fe.	10,0	mg.

La contamination est obtenue en plaçant des concombres fortement attaqués par S. fuliginea parmi les terrines expérimentales. L'évolution de la maladie est suivie en comptant, chaque jour, le nombre de plantes présentant au moins une tache d'oïdium.

2) Résultats et discussion :

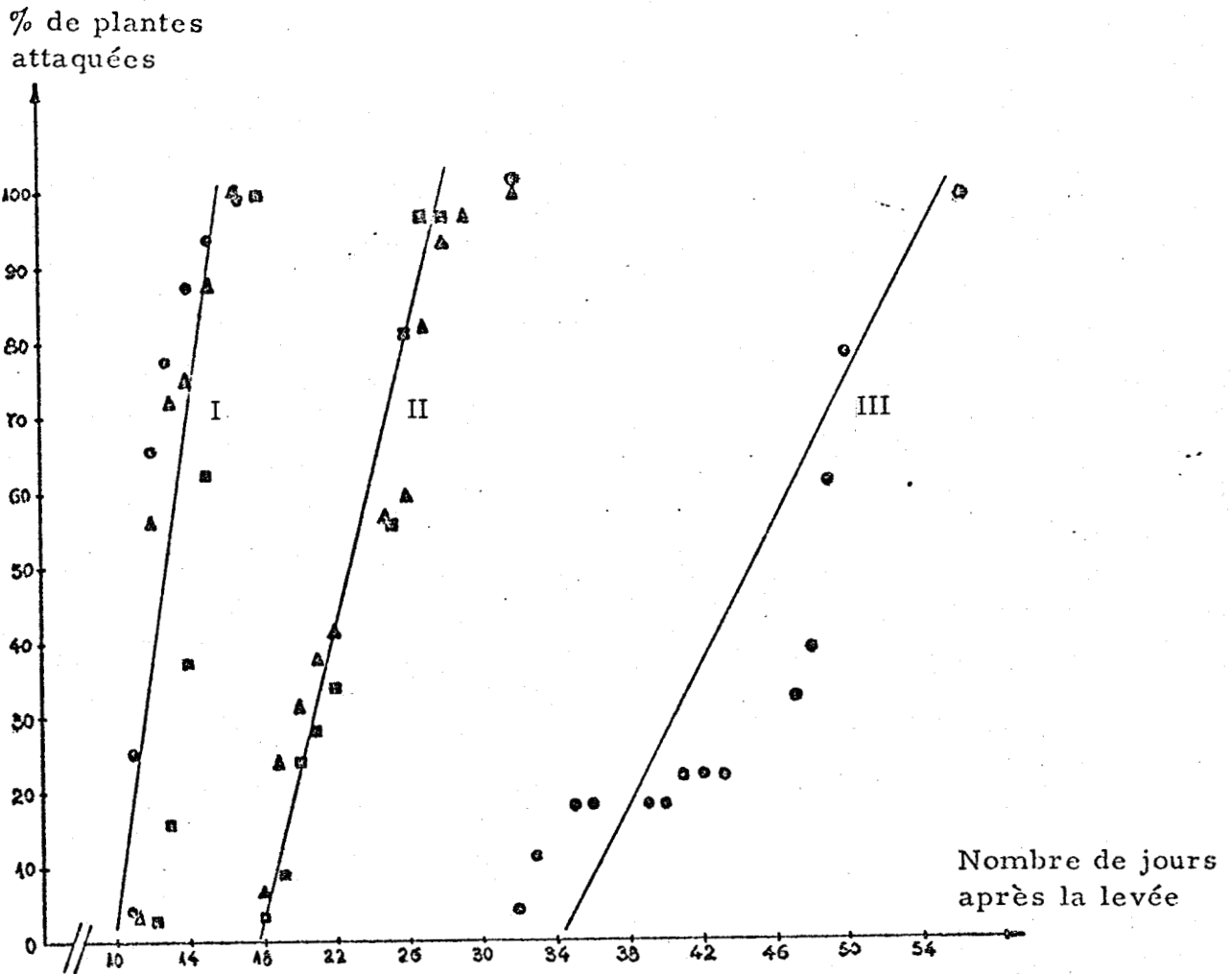
Les résultats obtenus sont reportés sur le graphique 3. De ce graphique il ressort que :

- l'évolution de la maladie est pratiquement la même sur les plantes témoins poussant sur les trois substrats utilisés. L'apparition des symptômes a lieu 11 à 12 jours après la levée et 6 jours plus tard la maladie est généralisée sur toutes les plantes témoins.

Etant donné que la durée d'incubation de l'oïdium est de 4-5 jours (YARWOOD, 1957 ; VIENNOT - BOURGIN, 1969) il semble que le jeune concombre possède pendant la première semaine qui suit la levée une résistance naturelle à S. fuliginea.

GRAPHIQUE 3

Evolution de l'apparition des symptômes
d'oidium sur les concombres.



I. Témoins

II. Plantes traitées, en terre

III. Plantes traitées, sur vermiculite

▲ Terre stérile

■ Terre non stérile

● Vermiculite



- l'apparition et l'évolution de la maladie sur les plantes traitées poussant sur le mélange terreux stérile ou non sont identiques. Sur la vermiculite la durée de la protection des plantes est beaucoup plus longue que dans les cas des mélanges terreux. Ces observations sont résumées sur le tableau II.

TABLEAU II

Evolution du S. fuliginea sur C. sativus L. traitées
ou non au bénomyl.

Substrat du semis	A		B	
	Témoin	Traitées	Témoin	Traitées
Mélange terreux non stérile	12	18	18	32
Mélange terreux stérile	11	18	17	32
Vermiculite	11	32	17	56

LEGENDE :

A - Nombre de jours entre la levée et l'apparition des premiers symptômes.

B - Nombre de jours nécessaires pour que toutes les plantes soient atteintes.

De cette expérience nous pouvons conclure que : les microorganismes du sol n'ont pratiquement pas d'influence sur la disponibilité du bénomyl pour les plantes.

Par contre la nature du substrat du semis semble jouer un rôle très important. Une conclusion semblable est proposée par FUCHS (1970).

Cet auteur a observé que le bénomyl, apporté par arrosage, est beaucoup plus efficace, contre Fusarium oxysporum du pois dans le cas d'un sol sablonneux que dans celui d'un sol argileux.

Pour expliquer ce fait nous pouvons émettre deux hypothèses :

- Soit que l'adsorption de ce fongicide est plus forte sur le mélange terreux que sur la vermiculite, substrat pratiquement inerte.

- Soit que la solution nutritive utilisée sur la vermiculite favorise l'absorption du bénomyl par les racines.

Avant d'essayer de vérifier ces deux hypothèses, nous allons estimer si une activité fongitoxique peut être détectée dans les parties aériennes de la plante, lieu d'attaque du S. fuliginea.

B - ACTIVITE FONGITOXIQUE PRESENTE DANS LES DIFFERENTS FRAGMENTS DE C. SATIVUS L.

Nous venons de voir que l'apport de bénomyl au niveau des semences de concombre permet de protéger les plantules contre les attaques de S. fuliginea, pendant un certain temps.

Cette condition n'étant pas suffisante, d'après WAIN et CARTER (1967) et SINCLAIR (1970), pour prouver l'activité systémique du bénomyl il nous a paru nécessaire de mettre en évidence une substance fongitoxique qui migre de la graine ou des parties souterraines vers les parties aériennes des plantes.

1) Matériel et méthodes :

Au cours de cette expérience, la vermiculite, sur laquelle la protection était la plus importante, est utilisée comme seul substrat de germination.

Les prélèvements des plantes sont effectués 2, 4, 8 et 12 jours après la levée. Les 3 premiers prélèvements correspondent au stade végétatif cotylédonaire et le dernier au stade végétatif 1 feuille. Pour réaliser cette étude une méthode biologique est employée selon le protocole suivant :

Protocole expérimental : Du fongicide contenu dans des fragments de plantes ou dans des semences ou imprégnant une pastille de papier filtre est mis au contact d'un substrat ensemencé avec un champignon-test. Le produit

diffuse dans le substrat et inhibe le développement fongique sur une certaine surface. La zone d'inhibition apparaît claire, alors que le reste du substrat est opaque. Ce test fait intervenir plusieurs caractéristiques du fongicide : pouvoir de diffusion, pouvoir fongicide vis à vis du microorganisme testé, quantité du fongicide déposée, etc...

Préparation de boîtes de Pétri : Dans des boîtes de Pétri de 9 cm de diamètre, 20 ml de gélose à 2 % sont coulés. Après solidification de la gélose, un milieu nutritif P.D.A. (pomme de terre 500 g./l, dextrose 2 %, NaCl 0,1 %, agar 1,5 %) maintenu en surfusion à 50°C, estensemencé avec une suspension de spores de "Penicillium expansum" LK. , et déposé sur la gélose à raison de 5 ml par boîte.

Les spores du champignon sont récoltées sur une culture âgée de 7 à 10 jours et utilisées à raison de 10^6 spores/cm³ de milieu.

Le P. expansum LK. est choisi comme organisme test, du fait de sa grande sensibilité au bénomyl (ERWIN et al., 1968 ; CHANCOGNE - GRETT, 1969).

Des morceaux de tige, de feuilles ou de racines de concombres sont déposés dans les boîtes de Pétri ainsi préparées, qui sont ensuite mises à incuber dans une étuve à $24 \pm 1^\circ\text{C}$, pendant 24 heures. Au bout de ce temps, les zones d'inhibition sont mesurées.

Cette méthode, mise au point par CHANCOGNE et NAKAMURA (1960) dans le cas du captane, se rapproche de celle décrite par LOO et al. (1945) pour les bactéricides et par THORNBERRY (1950) dans le cas des fongicides.

Prélèvement des morceaux de plante : 2 à 3 rondelles d'un diamètre de 7 mm sont prélevées, à l'emporte pièce sur chaque cotylédon ou sur la première feuille, le long de la nervure principale. Lors du premier prélèvement, les tiges sont découpées en segments de 7 mm de longueur et tous les fragments résultant sont déposés sur le milieu nutritif (graphique 4). Aux trois prélèvements suivants, 3 fragments seulement sont prélevés sur les tiges : le premier à la base de la tige, le second au milieu et le troisième au sommet (graphique 5).

Les racines sont déposés sur le milieu nutritif soit entières soit découpées en segments de 7 mm.

2) Résultats et discussion.

Les résultats obtenus sont reportés dans les graphiques 4 et 5.

Notre expérience nous a permis de mettre en évidence une activité fongitoxique dans les feuilles cotylédonaires des concombres issues des semences enrobées au bénomyl. De plus, nous constatons que :

- les premiers jours après la levée (7-8 jours après le semis) l'activité fongitoxique peut être détectée dans les racines entières ou fragmentées mais uniquement au point d'insertion sur le collet, dans les tiges et dans les feuilles cotylédonaires. (Graphique 4).

- deux jours plus tard (9-10 jours après le semis) l'activité fongitoxique n'est plus détectée qu'au collet et dans la partie apicale des feuilles cotylédonaires. (Graphique 5).

- quatre ou huit jours plus tard (14-18 jours après le semis) l'activité fongitoxique est entièrement localisée dans la partie apicale des feuilles cotylédonaires. (Graphique 5).

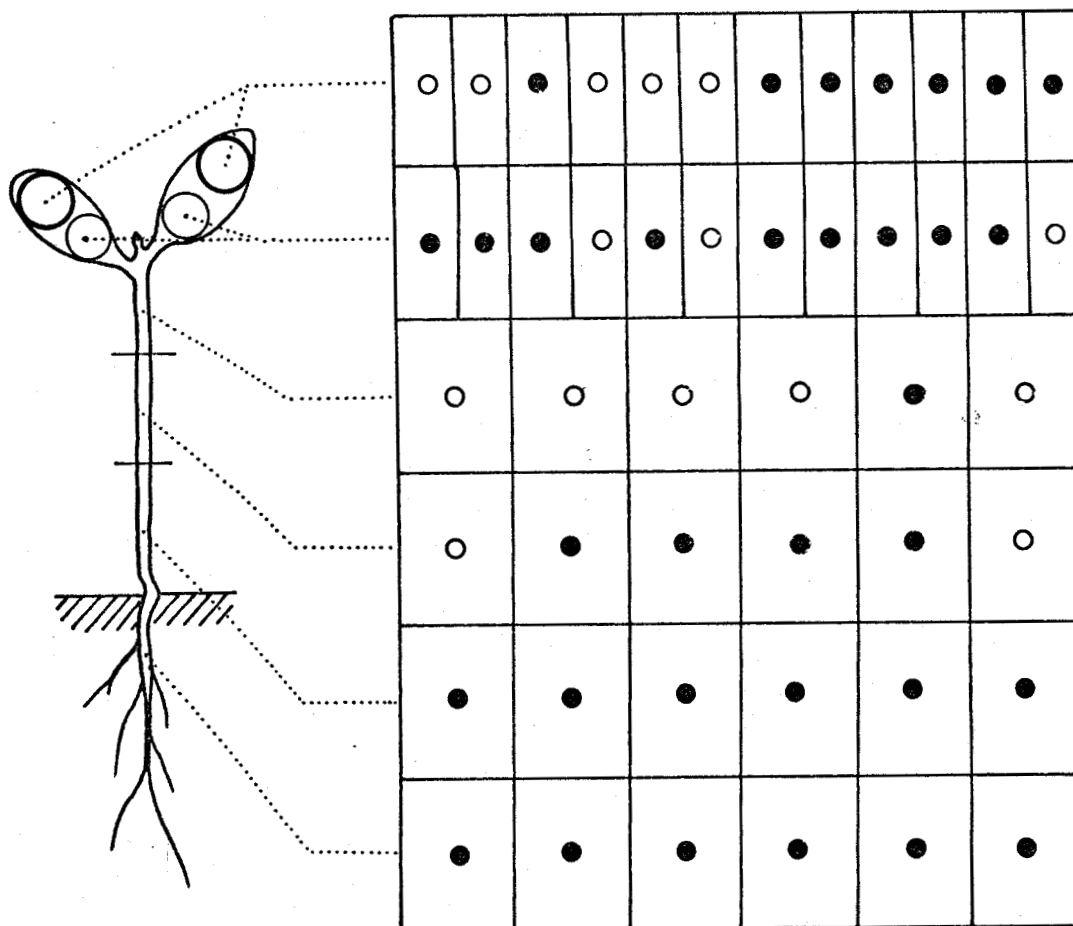
L'accumulation des produits fongitoxiques aux extrémités des feuilles a été observée après traitement au sol sur des haricots (PETERSON - ED- GINGTON, 1970) et sur des tomates (BIEHN et DIMOND, 1970).

Dans la plupart des plantes examinées, la migration du fongicide des parties inférieures des tiges vers les feuilles est observée dans tous les cas lors du premier prélèvement. Ce fait n'est pas valable pour les prélèvements suivants.

Les différences constatées entre les plantes examinées, surtout lors du premier prélèvement peuvent être imputées soit à des variations de lessivage du bénomyl dans la graine, soit à l'enrobage, ou aux inégalités de la levée chez quelques plantes.

GRAPHIQUE 4.

Activité fongitoxique sur Penicillium expansum repérée dans différents fragments à partir de 6 plantules (2 jours après la levée).



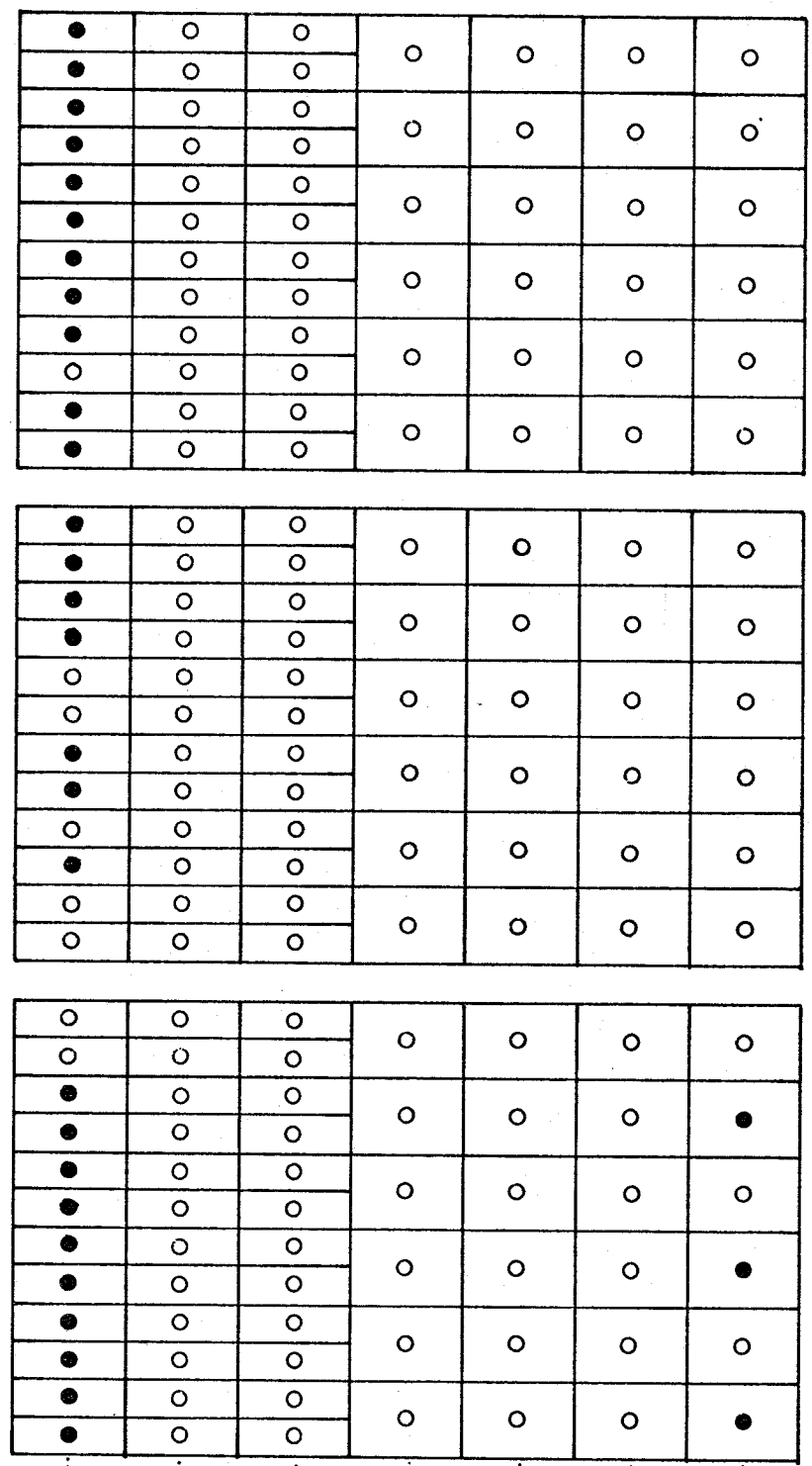
Présence de fongicide (zone d'inhibition).



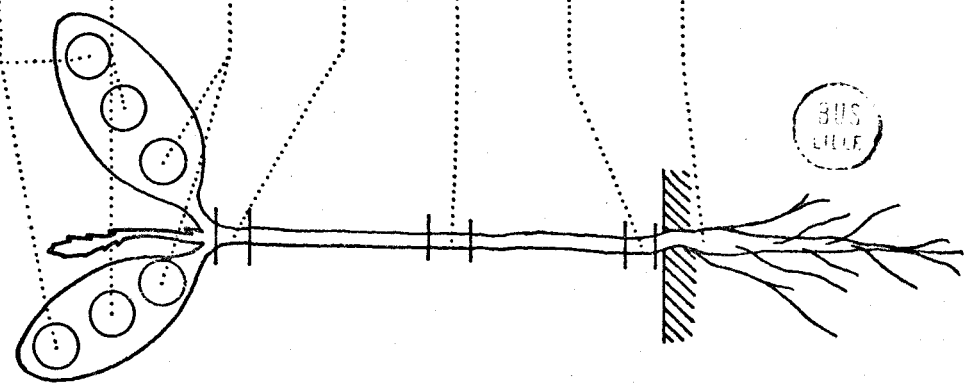
Absence de fongicide.

GRAPHIQUE 5.

Activité fongitoxique sur Penicillium expansum repérée dans différents fragments à partir de 18 plantules (4, 8 et 12 jours après la levée).



4 jours 8 jours 12 jours



Même légende que pour le graphique 4.

En définitive nous retenons que dans la plupart des cas, une activité fongitoxique est détectée dans les parties aériennes des plantes : lieu d'attaque de l'oidium. Nous devons remarquer aussi que l'absence d'une zone d'inhibition ne signifie pas obligatoirement un défaut du fongicide mais probablement la présence d'une quantité inférieure à la limite de sensibilité de notre méthode.

C - ESTIMATION QUANTITATIVE DE L'ACTIVITE FONGITOXIQUE RE-
TROUVEE DANS LES PLANTES.

Précédemment nous avons émis 2 hypothèses pour essayer d'interpréter les raisons de la protection prolongée détectée chez les plantes cultivées sur de la vermiculite par rapport à celles cultivées sur mélange terreux. Pour confirmer ou infirmer ces deux hypothèses nous avons essayé d'estimer la quantité du fongicide présente dans la plante en faisant varier :

- a - la nature du substrat du semis ;
- b - la nature du liquide d'arrosage.

1) Matériel :

a - Influence du substrat :

Des semences de concombres enrobées ou non avec du Benlate sont semées soit sur de la vermiculite soit sur le mélange terreux non stérile. Des prélèvements sont effectués au stade cotylédonaire, 12 jours après le semis, et au stade 1 feuille, 18 jours après le semis.

b - Influence de la nature du liquide d'arrosage :

Des graines sont semées sur la vermiculite et sont arrosées trois fois par semaine avec de l'eau ou la solution nutritive dont la composition est donnée précédemment. Des prélèvements sont réalisés au stade cotylédonaire, 15 jours après le semis.

2) Méthodes :

Pour l'estimation quantitative des substances fongitoxiques retrouvées dans la plante, nous avons combiné la méthode d'extraction du bénomyl décrite par PEASE et GARDINER (1969) et la méthode de dosage biologique décrite précédemment.

Extraction et purification du bénomyl : Les plantes issues des semences traitées ou non avec du bénomyl sont prélevées aux temps indiqués ci-dessus, lavées à l'eau du robinet, et divisées en 2 lots contenant l'un les parties souterraines et l'autre les parties aériennes. Ensuite chaque lot est broyé dans l'acétate d'éthyle à raison de 50 ml de solvant pour 25 plantules.

Le broyat est centrifugé pendant 10 mn à 2.000 t/mn. Le liquide surnageant est filtré à travers du coton de verre. Deux lavages à l'acétate d'éthyle suivis chacun d'une centrifugation sont effectués. Tous les liquides de centrifugation sont réunis et l'acétate d'éthyle est évaporé jusqu'à 15 ml environ ; 15 ml d'eau distillée chaude sont ajoutés et après refroidissement, un même volume d'hexane soit 30 cm³ sont mélangés dans une ampoule à décanter. La phase organique contenant les pigments chlorophylliens et d'autres substances naturelles est jetée tandis que la phase, acétate d'éthyle + eau, contenant le bénomyl est évaporée sous vide. Le résidu est repris par 1 ml d'acétate d'éthyle et 0,05 ml sont déposés sur des disques de papier filtre de 7 mm de diamètre. Après évaporation du solvant les pastilles sont réhumidifiées avec 0,06 ml d'eau distillée. Ces pastilles ainsi préparées sont alors déposées sur un milieu nutritif gélosé, contenu dans une boîte de Pétri, préalablement ensemencé avec des spores de P. expansum LK. selon la technique déjà mentionnée. Après incubation à 24°C pendant 24 heures des zones d'inhibition sont visibles autour des pastilles.

Parallèlement et lors de chaque expérience, des pastilles témoins contenant des quantités connues de bénomyl, soit 0,5 - 1 - 2 et 4 µg, sont déposées dans des boîtes de Pétri ensemencées avec le P. expansum. Après incubation à 24°C pendant 24 heures, les diamètres des zones d'inhibition apparues autour de ces pastilles sont mesurées (en mm). Si nous reportons en abscisse

les logarithmes des quantités de bénomyl déposées et en ordonnée les diamètres de zones d'inhibition provoquées, les points obtenus sont situés sur une droite (graphique 6) qui nous servira de courbe étalon. Cette courbe nous permettra, par comparaison des diamètres de zones d'inhibition, de calculer la quantité de bénomyl correspondant à l'activité fongitoxique révélée dans l'extrait.

3) Résultats :

Les résultats obtenus sont rapportés dans le tableau III. D'après nos résultats nous constatons que :

1 - Dans les plantes issues des graines témoins et dans les racines des plantes issues des graines enrobées et quelle que soit la nature du substrat du semis nous n'avons pas pu déceler de produit fongitoxique par notre méthode.

2 - Les parties aériennes des plantes issues des graines enrobées avec du bénomyl et semées sur la vermiculite contiennent en effet plus de produit fongitoxique que celles cultivées sur le mélange terreux. Ce fait semble être indépendant du stade végétatif des concombres. Nous pouvons alors conclure que, suivant notre première hypothèse, le bénomyl est moins fortement adsorbé sur la vermiculite que sur le mélange terreux. En réalité il semble qu'un substrat contenant de la matière organique adsorbe plus un pesticide qu'un substrat inerte (HASCOET, 1970).

3 - Enfin nous constatons que la nature du liquide d'arrosage des plantes cultivées sur vermiculite n'a pas d'influence sur la quantité du produit fongitoxique présent à l'intérieur des plantes.

4 - Les quantités du fongicide détectées par plante semblent à priori trop faibles pour expliquer la protection observée, sur les concombres vis à vis des attaques de S. fuliginea. Nous avons pensé que la méthode d'extraction n'est pas satisfaisante. Ainsi nous avons cherché à connaître son rendement.

GRAPHIQUE 6.

Action in vitro du bénomyl sur la germination
des spores de Penicillium expansum.

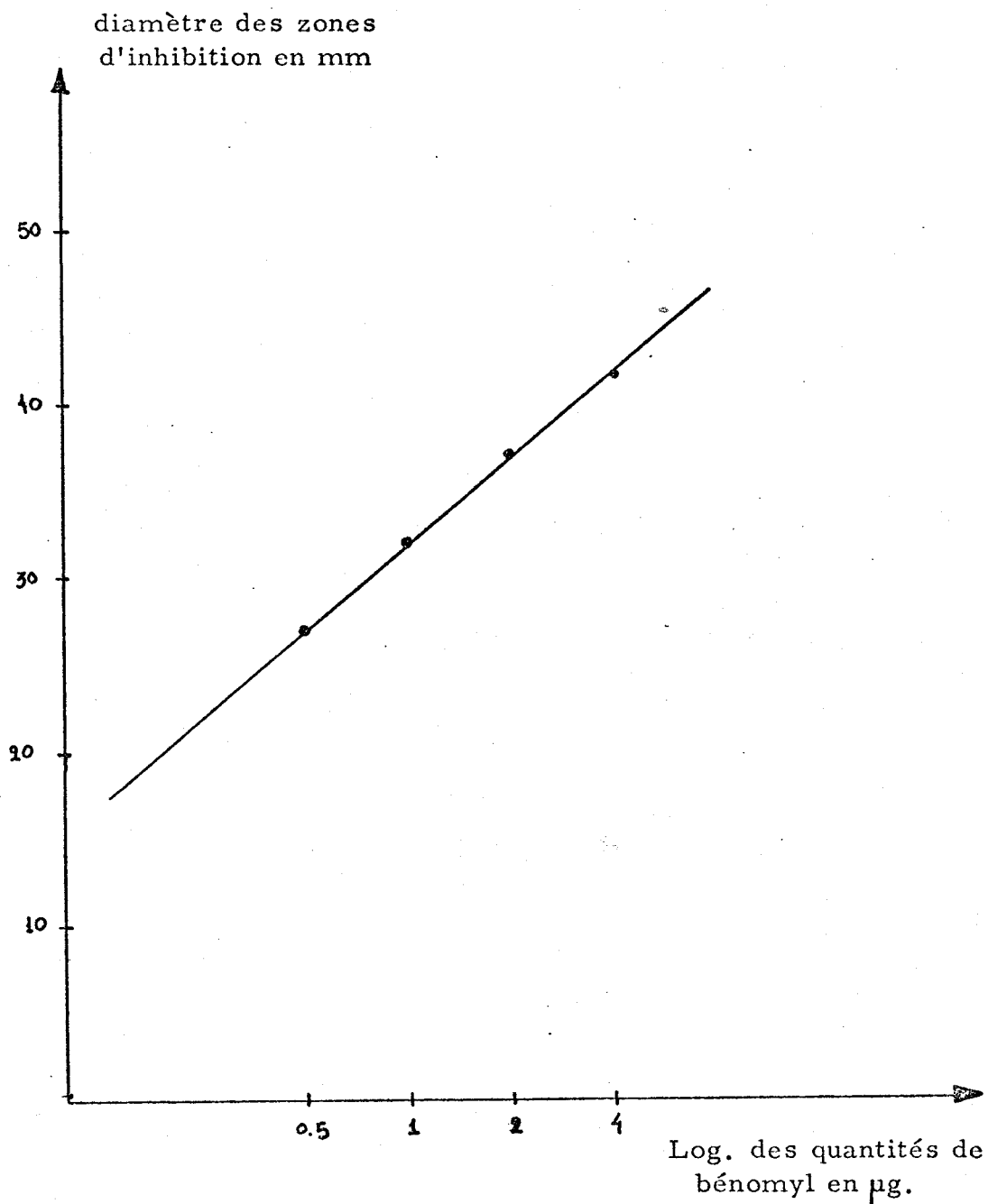


TABLEAU III.

ESTIMATION QUANTITATIVE DE L'ACTIVITE FONGITOXIQUE
RETROUVEE DANS LES PLANTES ISSUES DE SEMENCES TRAITEES
AU BENOMYL (résultats exprimés en ug de bénomyl).

A - Influence de la nature du substrat de semis.

Stade végétatif de la plante.	Vermiculite		Mélange terreux	
	Partie de la plante		Partie de la plante	
	aérienne	souterraine	aérienne	souterraine
cotylédonaire	0,04	< 0,01	0,02	< 0,01
1ère feuille	0,38	< 0,01	0,06	< 0,01

B - Influence de la composition du liquide d'arrosage.

PARTIE DE LA PLANTE			
AERIENNE		SOUTERRAINE	
Solution nutritive	eau	Solution nutritive	eau
0,41	0,40	< 0,01	< 0,01

REMARQUE : Aucune zone d'inhibition n' a été détectée avec les plantes témoins.

Estimation du rendement de la méthode utilisée : Les parties aériennes de 25 plantes témoins sont surchargées avec des quantités connues de bénomyl puis la quantité du produit fongitoxique du résidu est estimée à l'aide de la courbe de bénomyl étalon après extraction. Les résultats sont rapportés dans le tableau ci-dessous.

TABLEAU IV.

Rendement de la méthode d'extraction du bénomyl.

Quantité de bénomyl ajouté en µg	Quantité de fongicide retrouvée en µg	Rendement %
10	3,5	35
20	3,9	19,5
40	12,9	32,2
200	51,1	25,6

En examinant ce tableau nous constatons que la méthode ainsi employée possède un rendement très faible et variable compris entre 19,5 et 35 %. Etant donné ce faible rendement les quantités décelées sont sous-estimées.

4) Discussion :

Mis à part ce faible rendement de la méthode d'extraction du fongicide utilisée, nous pensons que les explications suivantes pourraient être données afin d'interpréter les résultats obtenus.

Les constituants de la plante peuvent probablement agir sur l'activité des composés fongitoxiques détectés in vitro. Ainsi DEKHUIJZEN(1962), dans le cas de Na DDC (dithiocarbamate de sodium) en utilisant une méthode biologique comparable à la nôtre, constate que 0,1 ml d'une solution aqueuse de ce produit à 20 ppm provoque une zone d'inhibition sur Glomerella cingulata (organisme test) tandis que 0,1 ml d'une solution hydroalcoolique d'extrait de concombres titrant 20 ppm de ce fongicide ne provoque pas une zone d'inhibition

sur ce champignon. Cet auteur conclut qu'il existe dans les concombres des substances antagonistes de ce fongicide. De plus MEYER et al. (1971) en traitant des plantes d'Agrostis palustris, cultivées sur la vermiculite avec 5, 12, 5 et 25 ppm détecte un fongicide dans les racines seulement avec la dose de 25 ppm tandis que sur les feuilles un fongicide est détecté même avec la dose de 5 ppm. En conséquence nous nous demandons si dans notre cas un éventuel antagoniste du bénomyl n'existe pas aussi bien dans les parties aériennes que dans les parties souterraines des concombres.

Enfin une dernière explication peut être formulée : dans les expériences in vivo le bénomyl se trouve en quantité suffisante pour protéger les plantes contre S. fuliginea mais dans les expériences in vitro en présence de l'extrait des plantes, son activité contre P. expansum LK. est limitée. Ainsi NETZER et al. (1970) après traitement du sol avec du bénomyl obtient une protection des melons et poivrons vis à vis des attaques de l'oidium et de l'oidiopsis. Pourtant dans des essais in vitro une activité fongitoxique vis à vis de P. expansum est détectée avec des morceaux de feuilles de melon mais pas avec celles du poivron. Ce qui conduit ces auteurs à la même conclusion que nous.

D - NATURE DE LA (OU DES) SUBSTANCES(S) RESPONSABLE(S) DE L'ACTIVITE FONGITOXIQUE PRESENTE DANS LES PLANTES.

Ayant mis en évidence la présence d'une substance fongitoxique dans les parties aériennes des concombres, le problème que nous nous sommes posés est le suivant : est-ce bien du bénomyl qui est responsable de l'activité fongitoxique détectée ?.

Des études sur divers produits ont prouvé que des transformations de ceux-ci dans les plantes sont possibles. C'est le cas de certains antibiotiques (DEKKER et ARK, 1959), des dithiocarbamates (DEKHUIJZEN, 1964) et des nouveaux systémiques (THAPLIYAL, 1970 ; CHIN, 1970 ; SNEL - EDGINGTON, 1970 ; LEROUX et GREDT, 1971).

Dans le cas du bénomyl, PETERSON et EDGINGTON (1969) sur le haricot et SIMS et al. (1969) sur le coton, ont identifié à l'intérieur des plantes du B. M. C. (Benzimidazole-2-méthyl carbamate) dont la formule est la suivante :

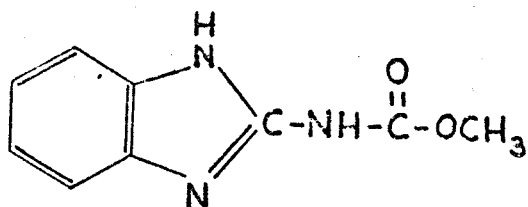


Fig. 6 : Methyl-2-benzimidazole-carbamate ou B. M. C.

Ce produit dérivé du bénomyl par hydrolyse est également fongitoxique in vitro. Sa composition chimique a été étudiée par CLEMONS et SISLER (1969). D'après WAIN et CARTER (1967) le comportement d'un fongicide est différent selon la plante étudiée. Ainsi MAIER et HORNER (1957) trouvent que la streptomycine est rapidement décomposée dans les tissus du houblon tandis qu'elle est stable dans la plupart des autres plantes étudiées.

A notre connaissance aucun chercheur parmi ceux qui ont étudié l'activité systémique du bénomyl chez les Cucurbitacées, n'a identifié la nature de la substance véhiculée dans la plante.

En conséquence nous avons voulu vérifier dans notre cas si c'est le bénomyl ou le B. M. C. qui est responsable de l'activité fongitoxique dans les concombres.

1) Matériel et méthodes utilisés :

Les plantes sont cultivées dans les mêmes conditions que précédemment. Au stade 1 feuille (18 jours après le semis) 25 plantules issues de semences témoins ou traitées sont prélevées. Leur extraction et la purification des extraits sont effectuées suivant la méthode déjà décrite. Le résidu obtenu est repris par 1 ml d'acétate d'éthyle.

Chromatographie : Pour préciser la nature du résidu nous avons successivement utilisé la chromatographie sur papier et sur gel de silice.

a - Chromatographie sur papier :

Plusieurs essais de développement des chromatogrammes effectués sur papier Whatman n° 1, ont été tentés avec différents solvants : acétate d'éthyle, acétone, acétate d'éthyle-acétone 6/4, acétate d'éthyle-hexane 5/5.

Finalement nous avons retenu le dernier système d'éluant pour toutes nos expériences. Le chromatogramme, après développement, est séché puis appliqué pendant 7 minutes sur un milieu P.D.A.ensemencé avec des spores de P. expansum. Après incubation à 24°C pendant 24 heures, aux endroits où un produit fongitoxique était localisé sur le chromatogramme, des zones d'inhibition apparaissent sur le milieu.

b - Chromatographie sur gel de silice :

Une technique utilisée par WELZIEN (1958) et ensuite par DEKUIJZEN (1962) pour la révélation biologique de chromatogrammes sur papier, nous a conduit à employer la méthode de chromatographie sur plaques de verre recouvertes d'une couche de silice, suivie d'une révélation biologique. La technique de cette méthode est la suivante :

Des plaques de verre 20 x 20 cm sont recouvertes d'une couche de 250 µ de gel de silice (G, selon STAHL). Après activation à 110°C pendant 20 minutes, puis refroidissement, des dépôts ponctuels de bénomyl ou d'extraits de plantes sont effectués. Ces plaques sont développées à l'aide du mélange acétate d'éthyle - hexane 5/5. Après évaporation des solvants, du milieu P.D.A. (1 % de gélose)ensemencé avec P. expansum à raison de 10^6 spores/ml de milieu est pulvérisé sur les plaques.

Au bout de 24 à 48 heures d'incubation dans une atmosphère saturée d'humidité à 25°C des zones d'inhibition apparaissent sur les plaques et permettent de localiser les corps fongitoxiques.

Une technique semblable est décrite par PETERSON-EDGINGTON (1968), CLEMONS-SISLER (1969) et LEROUX-GREDT (1971).

2) Résultats :

Le premier résultat de ces expériences a été la mise en évidence de la décomposition du bénomyl dans les solvants organiques. En effet deux corps fongitoxiques sont détectés sur les chromatogrammes.

La méthode de chromatographie sur papier a dû être abandonnée à cause du faible pouvoir adsorbant du papier utilisé qui ne permet pas d'effectuer des dépôts d'extraits de plantes assez importants pour obtenir une bonne sensibilité. Celle-ci reste de l'ordre de 0,5 µg de bénomyl. De plus, des deux corps détectés, l'un ne migre pas et l'autre va jusqu'au front.

Avec la chromatographie sur gel de silice, lorsque le bénomyl est dissout dans l'acétate d'éthyle, deux corps fongitoxiques sont également détectés mais avec des Rf. de 0,15 et 0,75. Par essai ultérieur nous avons vérifié que le B.M.C. a un Rf. de 0,15 donc le bénomyl est représenté par la tache de Rf. 0,75. De plus, on constate qu'entre ces deux taches existe une traînée d'autant plus large que la quantité déposée est plus importante. Cette traînée disparaît lorsque le dépôt de bénomyl initial est de l'ordre de 0 µg l.

Aucune zone d'inhibition est observée chez les plantes témoins. Par contre les extraits de plantes issues de semences enrobées avec du bénomyl contiennent uniquement une substance fongitoxique ayant un Rf. = 0,15, il s'agit donc du B.M.C. Ces résultats sont reportés sur la figure 7.

3) Conclusions et discussion :

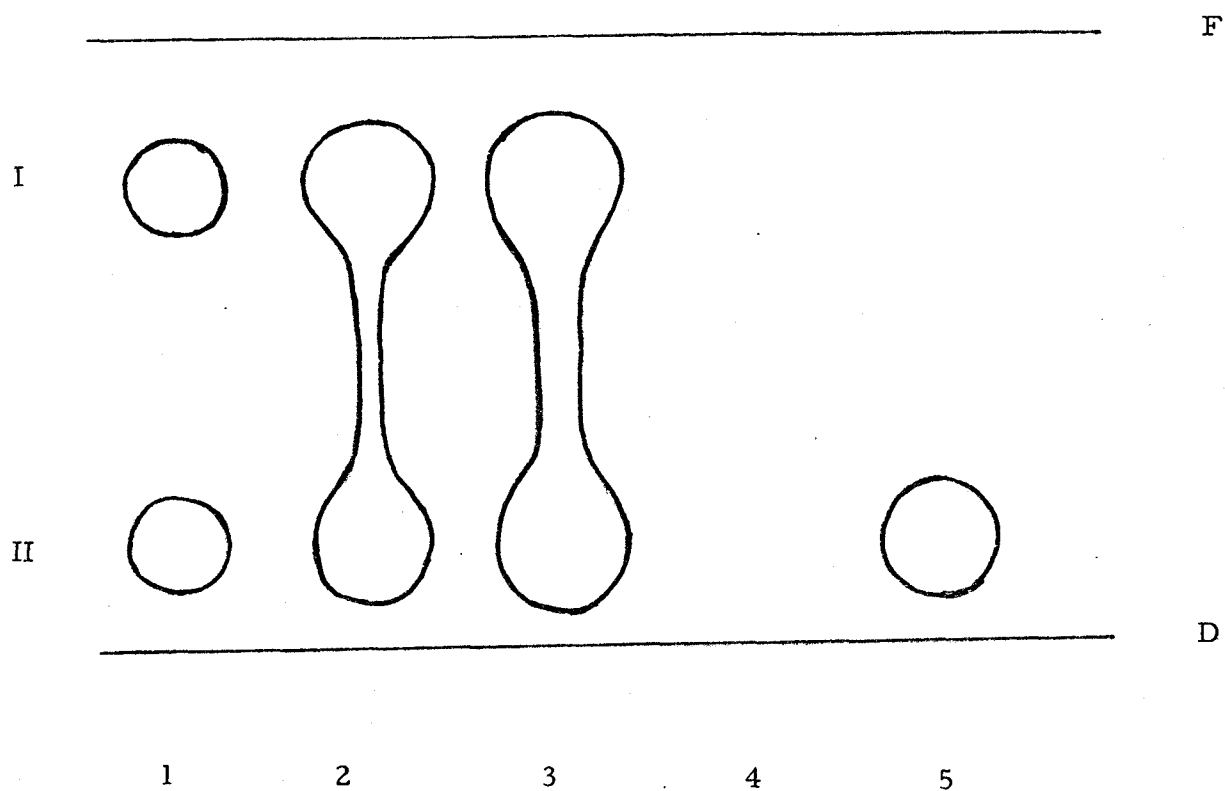
Nos résultats confirment ceux trouvés par PETERSON - EDGINGTON (1969), CLEMONS - SISLER (1969) et SIMS & al. (1969) en ce qui concerne la décomposition du bénomyl après sa dissolution dans un solvant organique. Après analyse chimique de ces deux corps détectés sur la chromatoplaque, ces auteurs trouvent que le corps inférieur correspond au B.M.C., produit de la décomposition du bénomyl, tandis que le corps supérieur est identifié au bénomyl lui-même. De plus PETERSON - EDGINGTON observent la même traînée que nous, lorsque le dépôt du bénomyl initial est trop élevé. Ils expliquent ce fait par l'instabilité du bénomyl et sa tendance à se décomposer en B.M.C.

Le B.M.C. d'ailleurs est l'unique corps fongitoxique trouvé par ces chercheurs dans les haricots et le coton. Nous pouvons alors ajouter que l'unique produit, présent dans les concombres issus de semences enrobées avec du bénomyl est le B.M.C. et non le produit initial utilisé.

Ces résultats ne nous permettent pas de savoir si le bénomyl est dégradé à l'extérieur ou à l'intérieur des plantes. Une étude ultérieure essayera de préciser ce point.

FIGURE 7.

Détection après chromatographie sur gel de silice des corps fongitoxiques, à partir d'une solution de bénomyl dans l'acétate d'éthyle, ou des extraits des parties aériennes des concombres issues de semences traitées au bénomyl.



1 : 0,1 μg de bénomyl dissout dans l'acétate d'éthyle.

2 : 0,2 μg - - - - -

3 : 0,5 μg - - - - -

4 : extrait de plantes issues de semences témoins

5 : - - - - - traitées.

I : B.M.C.

II : bénomyl.

D : origine des dépôts ; F : front de la chromatoplaque.

CHAPITRE II : VOIE DE PENETRATION DU BENOMYL DANS LA PLANTE A LA SUITE D'UN TRAITEMENT DES SEMENCES.

Dans le chapitre précédent nous avons montré que les concombres issus des semences enrobées avec le bénomyl contenaient une substance fongitoxique (le benzimidazole-2-Méthyl-Carbamate ou B.M.C.) qui est véhiculée jusque dans les feuilles. Cependant le mode de passage de ce fongicide dans les plantules de concombres n'a jamais été étudié. En fait deux hypothèses peuvent être avancées :

- pénétration du fongicide à travers les téguments ;
- diffusion du fongicide dans le sol, puis absorption racinaire.

DEKKER (1957), ARK et DEKKER (1958), KRUGER (1960), OORT et DEKKER (1960), et de nombreux autres chercheurs ont observé le passage de certains antibiotiques à travers les téguments des graines de concombres et d'autres plantes. Il en est de même avec des dithiocarbamates. (VOLGER, 1959) le mercure et le soufre (VIR et BAJAJ, 1963). ALLAM et al. (1969), signalent que l'absorption de la carboxine (fongicide systémique) chez le coton a lieu au niveau des semences avant l'émergence des racines. Pour THAPLIYAL et SINCLAIR (1970) le bénomyl, le chloroneb et la carboxine utilisés en traitement des semences de soja, passent à travers les téguments.

Il nous a donc paru intéressant de préciser le mode de passage du bénomyl dans les plantules de concombre après enrobage des semences. Au cours de cette étude nous avons tenté de préciser l'influence de 3 facteurs :

- la nature de la plante (comparaison des semences de concombres avec celles d'une autre plante) ;
- la dose du produit utilisé ;
- la durée du contact entre le fongicide et la semence.

A - MATERIEL ET METHODES.

1) Matériel:

Pour cette expérience des graine de concombre (C. sativus L.) de la variété "vert long maraîcher" et de haricot (Phaseolus vulgaris L.) de la variété "Michêlet" sont enrobées à sec avec du Benlate aux doses de 100 et 500 g. M.A./q. de semences. Une seconde série de graines non enrobées est gardée comme témoin.

2) Méthodes :

Conditionnement des semences avant le prélèvement : Les semences enrobées ou non sont déposées dans le mélange terreux utilisé précédemment, ce substrat est arrosé au préalable de façon à ce que son humidité soit de 35 % environ.

Pour chaque condition une terrine contenant 60 graines est préparée. Toutes les terrines sont ensuite déposées dans une pièce à 18 - 19°C.

Les temps de contact entre les semences et le mélange terreux sont de 24 ou 45 heures car au-delà de ce dernier temps les semences germent.

Lors de chaque prélèvement les semences sont lavées trois fois à l'eau du robinet. Après séchage, elles sont décortiquées soigneusement à l'aide de deux pinces, de façon à ce qu'aucun contact n'ait lieu entre l'intérieur et l'extérieur des semences. Afin de savoir si un produit fongitoxique est passé à l'intérieur de la graine enrobée avec du bénomyl avant sa germination, trois méthodes d'estimation sont utilisées.

a - Observation des attaques de S. fuliginea sur des plantes issues de semences décortiquées ou non :

Le principe de la méthode est le suivant : à la suite d'un enrobage de semences, si le fongicide passe dans les cotylédons avant que la germination ait eu lieu, il est probable qu'après décortiquage ces semences donneront des plantules qui seront protégées pendant un certain temps vis à vis d'attaques d'oldium.

Afin d'examiner si cette hypothèse est valable, nous préparons deux séries de terrines pour chaque espèce végétale. Au bout de 45 heures les

graines d'une série sont lavées, décortiquées et repiquées dans de la vermiculite humide, alors que celles de l'autre série sont repiquées sans lavage ni décortilage dans la vermiculite humide. Après la levée, les jeunes plantules (20 par condition) sont conservées en serre à une température de 18 - 24°C et une humidité relative à 70 - 80 %.

Entre ces terrines sont déposés des concombres fortement attaqués par S. fuliginea. Ensuite nous observons l'évolution de la maladie dans les différents cas.

b - Recherche d'une activité fongitoxique dans des fragments de semences :

Pour cette étude la méthode biologique en boîtes de Pétri décrite précédemment est utilisée. Les semences décortiquées sont coupées transversalement et déposées verticalement (la section sur le milieu nutritif) dans des boîtes de Pétriensemencées avec des spores de P. expansum. Après incubation (24h à 24°C) les diamètres des zones d'inhibition apparues autour des morceaux de graines sont mesurés. Pour chaque cas six répétitions sont effectuées.

c - Estimation quantitative du produit fongitoxique présent à l'intérieur des semences :

Cette estimation est réalisée après extraction des semences.

Extraction : Les graines décortiquées sont coupées en petits morceaux et sont mises à macérer pendant 15 - 24 heures à 3°C dans un solvant organique. Deux solvants ont été comparés : l'acétate d'éthyle et l'acétone acide (acide acétique jusqu'à pH=2). D'après nos expériences il semble que l'acétate d'éthyle permette une meilleure récupération du fongicide que l'acétone acide. En conséquence nous avons utilisé au cours de nos extractions l'acétate d'éthyle (15 ml, pour 15 graines de concombres ou 10 graines de haricots). Après macération dans l'acétate d'éthyle les graines sont broyées au mortier à l'aide de sable de Fontainebleau. L'extrait obtenu est filtré sur papier Joseph. Puis 2 rinçages avec de l'acétate d'éthyle (10 ml pour les concombres et 15 ml pour les haricots) sont effectués. Toutes les fractions d'acétate d'éthyle sont réunies et évaporées à sec. Les résidus sont repris par 10 ml d'acétate d'éthyle et disposés dans des tubes à essais. Au cours de cette expérience deux répétitions sont effectuées.

Dosage du résidu fongitoxique : Les extraits sont dosés suivant les deux méthodes biologiques, décrites dans le chapitre précédent.

- en boîtes de Pétri : les pastilles utilisées sont imbibées avec 0,06 ml d'extrait de concombre ou de haricot.

- sur des plaques recouvertes de Silica gel : Cette technique, uniquement dans le cas de concombre, est utilisée en déposant sur la plaque 10 µl de l'extrait. Après évaporation du solvant les plaques sont pulvérisées directement (sans développement) avec des spores de P. expansum. Après incubation des boîtes ou des plaques les diamètres de zones d'inhibition sont mesurés. Pour chaque manipulation, en boîtes de Pétri et sur gel de silice une courbe de bénomyl étalon est préparée, (Graphiques 7, 8). Ces deux courbes nous permettront, par comparaison des diamètres de zones d'inhibition obtenus, de calculer la quantité du bénomyl ayant la même activité fongitoxique que celle d'extrait.

La méthode sur gel de silice est plus sensible que celle effectuée en boîte de Pétri. En effet les quantités minimales détectées sont de l'ordre de 0,001 et 0,1 µg.

B - RESULTATS ET CONCLUSIONS.

Les résultats obtenus au cours de ces dernières expériences sont reportés sur le graphique 9, et dans les tableaux V, VI, VII.

1) Protection des concombres et haricots vis à vis des attaques de S. fuliginea :

L'examen de ce graphique nous permet de constater que :

- Chez le concombre : les symptômes de la maladie apparaissent en même temps chez les plantes provenant des semences témoins (décortiquées ou non) ou des semences enrobées au bénomyl puis décortiquées.

Par contre, les symptômes sont retardés de six jours pour les plantes issues de semences enrobées au bénomyl mais non décortiquées. Ces observations semblent indépendantes des doses de bénomyl employées.

L'extension de la maladie à toutes les plantes se fait en deux jours chez les concombres témoins. Lorsque les graines ont été enrobées puis décortiquées la maladie s'étend en trois jours.

Pourtant nous ne pouvons pas conclure que cela signifie un faible passage du bénomyl par les téguments car chez toutes les plantes issues de semences enrobées à des doses différentes et non décortiquées la maladie se généralise en 2 jours seulement.

- Chez le haricot : Dans tous les cas où l'on traite il y a une protection plus ou moins longue. Ainsi nous constatons que les plantes issues de semences enrobées et décortiquées sont protégées plus longtemps que celles issues de semences témoins (décortiquées ou non) mais moins longtemps que celles issues de semences enrobées et non décortiquées.

Lorsque les haricots issus de semences enrobées puis décortiquées sont traités à des doses plus élevées le temps nécessaire à la généralisation de la maladie s'allonge. Malheureusement dans le cas où les semences n'ont pas été décortiquées un accident physiologique nous a empêché d'achever nos observations.

2) Mise en évidence et estimation quantitative de la substance fongitoxique présente à l'intérieur des semences de concombres et des haricots :

L'examen des tableaux V, VI et VII montre que :

Une activité fongitoxique est détectée dans les fragments de haricots dont les semences ont été enrobées puis décortiquées au bout de 24 et 45 heures. Une expérience similaire sur des semences de concombre ne permet pas de mettre en évidence l'activité fongitoxique (pas de différence par rapport aux semences témoins).

La quantité de fongicide pénétrant dans la graine de haricot ne semble pas liée à la dose d'enrobage mais plutôt au temps pendant lequel le Benlate est mis en contact avec les téguments de la graine dans le milieu humide. Nous pouvons donc conclure que ce fongicide utilisé en enrobage à sec des graines de concombres ne pénètre pas à travers les téguments ou du moins en quantité non détectable par nos tests biologiques. Ce fait est vérifié quelle que soit la dose d'enrobage et le temps pendant lequel le bénomyl est mis au contact avec les téguments de la graine dans le milieu humide, et avec les deux méthodes utilisées. En revanche dans les mêmes conditions ce produit ou son produit de décomposition pénètre à travers les téguments de la graine de haricot.

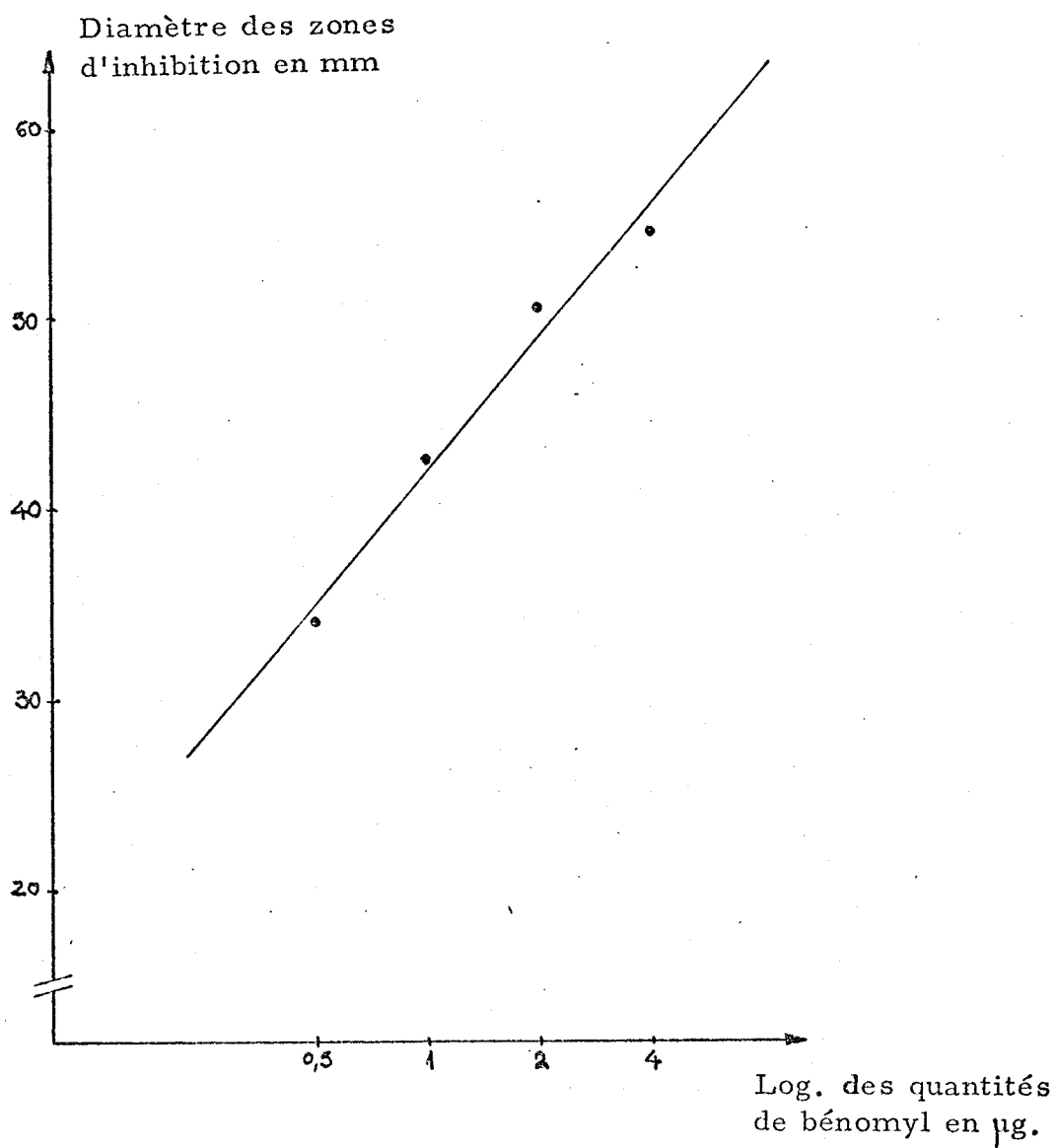
C - DISCUSSION.

La principale voie de passage du bénomyl ou du B.M.C. dans les concombres, issus de semences enrobées avec du Benlate ne se situe pas au niveau des téguments. Des résultats comparables ont été obtenus par FRITZ (1971) avec des semences de Colza. Nous pouvons penser que le fongicide diffuse dans le substrat de semis puis est absorbé par les jeunes racines. Cependant le passage direct à travers les téguments, du bénomyl ou B.M.C., existe comme nous l'avons démontré chez les haricots et chez le soja d'après les auteurs cités au début de ce chapitre. Ceci nous conduit à penser que la pénétration d'un fongicide systémique par cette voie doit être plus ou moins liée aux propriétés physicochimiques des téguments variables selon les semences employées.

Selon nous, l'absorption racinaire des fongicides systémiques utilisés en traitement des semences doit être la principale voie de passage, même dans le cas où un transfert direct à travers les téguments se produit. BENT (1971) arrive à la même conclusion, au cours de son étude sur la recherche de la meilleure efficacité d'éthirimol (fongicide systémique) vis à vis de l'oidium de l'orge par augmentation de la quantité du fongicide utilisé par hectare plutôt et non par graine.

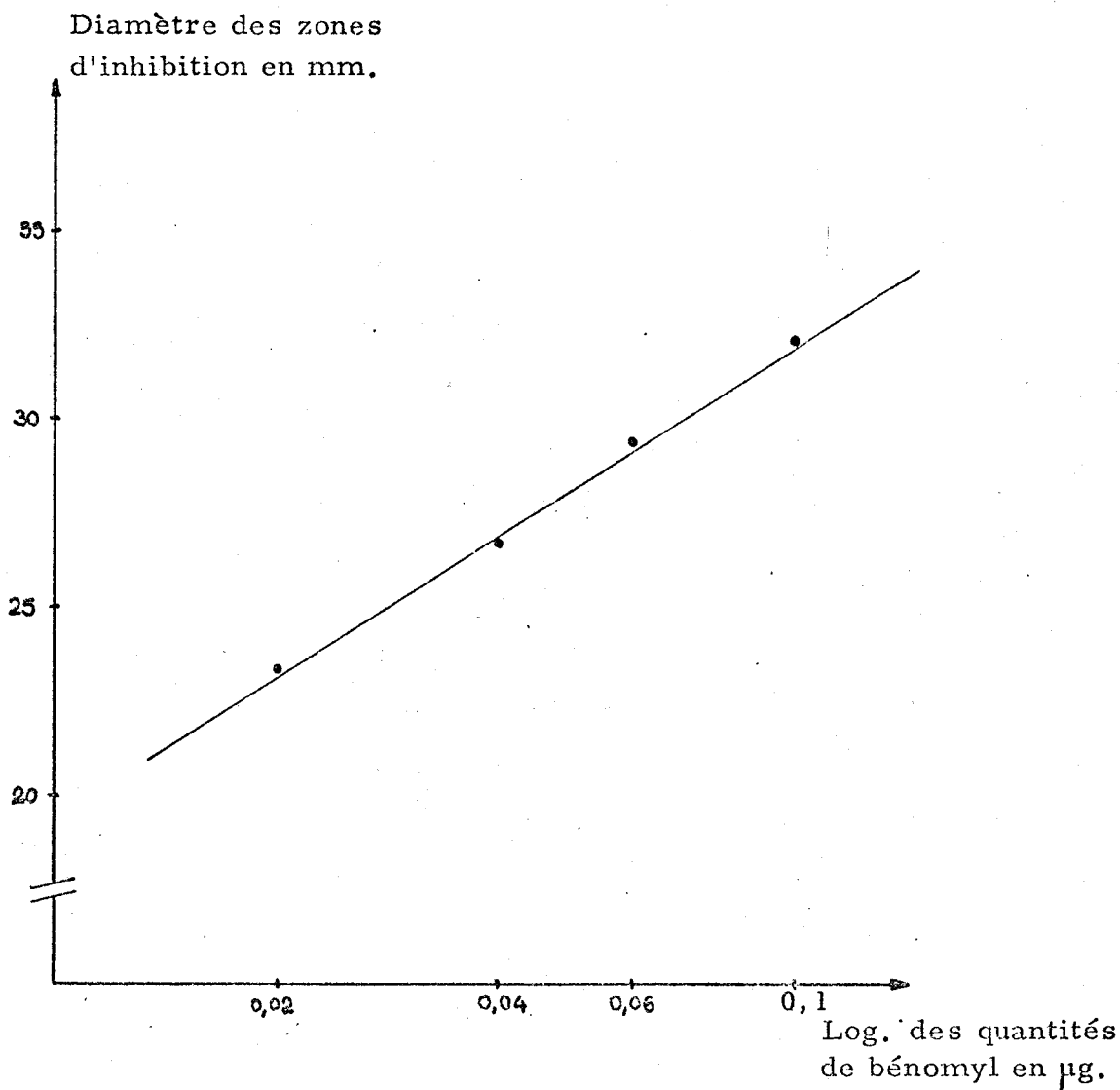
GRAPHIQUE 7.

Action in vitro du bénomyl sur la germination des spores de Penicillium expansum (culture en boîte de Pétri).



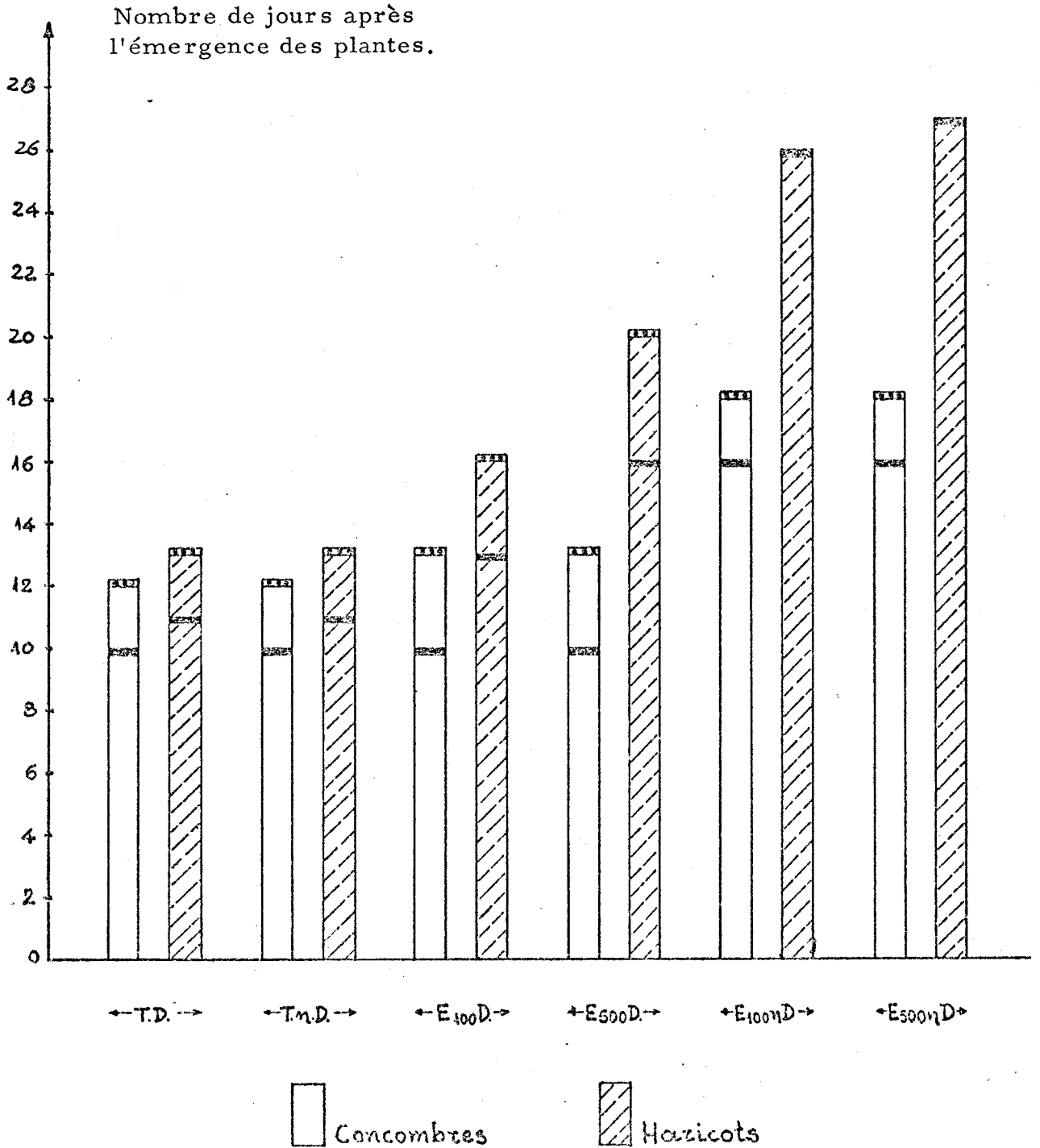
GRAPHIQUE 8.

Action in vitro du bénomyl sur la germination des spores
de Penicillium expansum (culture sur gel de silice).



GRAPHIQUE 9.

Observation des attaques de S. fuliginea sur les concombres et les haricots issus de semences décortiquées ou non.



- : Début de l'apparition des symptômes
- : Date à laquelle toutes les plantes sont atteintes
- T : Plantes issues de semences-témoin
- E₁₀₀'500 : " " " enrobées à la dose de 100g/Q, 500g/Q.
- D : " " " décortiquées
- n.D : " " " non décortiquées.



TABLEAU V.

Diamètres des zones d'inhibitions en mm provoquées par les fragments des graines de concombre ou de haricot décortiquées, après passage 24 ou 45 heures en terre humide.

Organisme test : Penicillium expansum L. K.

PLANTES		CONCOMBRES						HARICOTS					
traitement des semences		témoins		enrobées à raison de				témoins		enrobées à raison de			
				100g MA/Q		500g MA/Q				100g MA/Q		500g MA/Q	
n° du fragment	n° de la graine	I	II	I	II	I	II	I	II	I	II	I	II
I. 24 heures en terre humide.													
I		0	0	0	0	0	0	0	0	37	37	44	44
II		0	0	0	0	0	0	0	0	38	37	42	43
III		0	0	0	0	0	0	0	0	33	33	40	40
IV		0	0	0	0	0	0	0	0	40	40	34	34
V		0	0	0	0	0	0	0	0	37	37	40	40
VI		0	0	0	0	0	0	0	0	40	40	38	37
II. 45 heures en terre humide.													
I		0	0	0	0	0	0	0	0	42	41	45	46
II		0	0	0	0	0	0	0	0	42	42	45	44
III		0	0	0	0	0	0	0	0	43	43	45	45
IV		0	0	0	0	0	0	0	0	39	40	44	44
V		0	0	0	0	0	0	0	0	44	44	42	42
VI		0	0	0	0	0	0	0	0	36	36	44	44

TABLEAU VI.

Estimation quantitative de l'activité fongitoxique
retrouvée par graine décortiquée.

PLANTES	CONCOMBRES			HARICOTS		
traitement durée	témoin	Enrobées à raison de		témoin	Enrobées à raison de	
		100gr MA/Q	500gr MA/Q		100gr MA/Q	500 gr MA/Q
24 heures	<0,1	<0,1	<0,1	<0,16	5,9	5,9
45 heures	<0,1	<0,1	<0,1	<0,16	8,7	8,0

Méthode de détection utilisée : Boîtes de Pétri.

TABLEAU VII.

Estimation quantitative de l'activité fongitoxique
retrouvée à l'intérieur d'une graine de concombre décortiquée.

traitement durée	témoin	Enrobées à raison de	
		100g MA/Q	500g MA/Q
24 heures	<0,07	<0,07	<0,07
45 heures	<0,07	<0,07	<0,07

Méthode de détection utilisée : Gel de silice.

LEGENDE :

Durée : Temps passé par les graines dans la terre humide.

Les résultats sont exprimés en µg de benomyl.



CHAPITRE III : ETUDE DES FACTEURS AGISSANT SUR L'ACTIVITE
SYSTEMIQUE DU BENOMYL UTILISE EN CULTURE
HYDROPONIQUE.

INTRODUCTION.

Ayant mis en évidence l'activité systémique du bénomyl ou plus exactement de son produit de décomposition le B.M.C., après un traitement de semences chez le concombre, et montré que la pénétration de ce produit s'effectue plutôt par les racines des jeunes plantules qu'à travers les téguments de la graine, nous avons voulu étudier l'influence de quelques facteurs sur cette absorption racinaire.

TIETZ (1954) chez Vicia faba montre que l'absorption racinaire des insecticides systémiques est beaucoup plus importante lorsque le produit est dans un milieu de culture liquide que lorsqu'il est incorporé à du sable ou à une terre arable.

VIEL (1956) explique ce fait par un mécanisme d'adsorption du pesticide sur les particules du sol, réduisant ainsi les quantités disponibles pour la plante.

STOKES (1954) trouve que la concentration d'un antibiotique, la "griseofulvine", dans les gouttes de transpiration des feuilles de Blé, augmente avec la concentration de l'antibiotique dans le substrat du semis et avec la durée d'absorption.

Après ces données bibliographiques, nous avons décidé de rechercher par des cultures hydroponiques, différents facteurs qui peuvent influencer l'absorption et la répartition du bénomyl ou du B.M.C. dans le concombre.

Nous allons considérer successivement :

- l'influence de la concentration et de la durée d'absorption racinaire du bénomyl ;

- l'influence du stade végétatif de la plante sur l'absorption du bénomyl par les racines.

A - INFLUENCE DE LA CONCENTRATION DE BENOMYL ET DE LA DUREE D'ABSORPTION RACINAIRE SUR LA QUANTITE DE FONGICIDE RETROUVEE A L'INTERIEUR DES PLANTES.

Culture des plantes :

Des graines de concombres var. "vert long maraîcher" sont semées sur de la vermiculite arrosée avec la solution nutritive mentionnée précédemment.

Pour cette étude les plantes sont choisies au stade 1 feuille bien développée, 21 jours après le semis.

Application du bénomyl :

Les plantes sont prélevées soigneusement et les racines sont lavées à l'eau du robinet de façon à éliminer tout fragment de vermiculite, puis transférées dans des erlen-meyer (de 200 ml) contenant 100 ml d'une suspension de Benlate dans l'eau distillée.

Quatre plantes par erlen sont maintenues avec un bouchon de coton de façon à ce que seules les racines baignent dans le liquide.

Nous avons employé les doses suivantes : 0, 5, 20 et 50 ppm de bénomyl. La durée d'absorption pour chaque dose étudiée est de 1, 3, 5 et 8 jours. Chaque condition est répétée 2 fois. L'expérimentation est réalisée en serre (18 à 24°C , 70-80 % H.R.).

1) Mise en évidence et répartition de l'activité fongitoxique présente dans les fragments des plantes :

L'activité fongitoxique de tous les fragments de tiges (de 7 mm) ou des rondelles de feuilles (diamètre de 7 mm) est estimée biologiquement. Pour cette expérience les plantes, traitées ou non, sont fragmentées selon le

graphique 5 (page 43). Les parties végétales prélevées sont déposées dans des boîtes de Pétri contenant du milieu nutritif ensemencé avec P. expansum. Après incubation les diamètres des zones d'inhibition sont mesurées.

Deux plantes traitées et une plante témoin sont testées chaque fois.

Résultats :

Les résultats obtenus sont résumés dans le tableau VII, et présentés par la figure 8. Pour la clarté de l'exposé nous rapportons sur les graphiques 10, 11, 12, la répartition du fongicide dans les différentes parties végétales étudiées suivant 4 durées d'absorption différentes pour la plus forte concentration du bénomyl étudiée, 50 ppm. De plus dans le graphique 13, nous avons reporté la répartition de l'activité fongitoxique détectée dans les tiges et les cotylédons en fonction de la concentration de bénomyl étudiée et pour une durée d'absorption donnée.

Après examen de nos résultats nous constatons que :

1 - dans l'axe hypocotylé, l'activité fongitoxique décroît dans la plupart des cas de la base vers le sommet (tableau VII). Ce fait semble indépendant de la concentration en bénomyl dans le liquide d'absorption et de la durée d'absorption. ;

2 - à une concentration de bénomyl déterminée et au bout de 24 heures d'absorption, l'activité fongitoxique n'est généralement détectée que dans les parties inférieures des feuilles et des cotylédons (tableau VII - figure 8).

Quelque soit la durée d'absorption, l'activité fongitoxique présente dans les feuilles, cotylédons ou tiges, est d'autant plus forte que la concentration en bénomyl dans le liquide d'absorption est plus élevée. ;

3 - pour une concentration déterminée, quelque soit cette concentration, nous observons que pendant les 5 premiers jours d'absorption l'activité fongitoxique augmente dans l'ensemble de la plante.

Au-delà de cette période, cette activité augmente toujours dans les parties inférieures des tiges et dans les parties supérieures des feuilles, tandis qu'elle diminue dans les zones intermédiaires,

4 - enfin, nous observons au bout de 24 heures d'absorption, que l'activité fongitoxique n'est pas détectée dans les cotylédons et les feuilles des plantes traitées à la dose de 5 ppm (figure 8), alors qu'à la dose de 20 ppm elle est mise en évidence dans les parties inférieures de ces mêmes organes. Par contre à la dose de 50 ppm, nous détectons du fongicide dans les marges des cotylédons et les extrémités des feuilles (tableau VII, figure 8).

Il nous paraît peu probable qu'une diminution de la concentration du bénomyl dans le liquide d'absorption puisse entraîner une migration plus lente du produit fongitoxique dans les plantes. En conséquence, nous pensons qu'aux faibles concentrations l'activité fongitoxique dans certaines parties des plantes est trop faible pour être détectée par notre méthode.

5 - après l'examen du graphique 13, nous constatons que l'activité fongitoxique détectée dans les différents morceaux des tiges ne varie pas considérablement en fonction de la concentration, tandis que dans les cotylédons elle diffère essentiellement entre les parties inférieures et les extrémités où nous observons une accumulation très nette.

La méthode utilisée ici, fragments végétaux testés in vitro, ne donnant pas de résultats quantitatifs, nous avons voulu vérifier ces faits, après extraction des substances actives et leur estimation quantitative. De plus une étude chromatographique sur gel de silice nous renseignera si le corps fongitoxique véhiculé à l'intérieur des concombres est le bénomyl ou le B.M.C. ou bien les deux produits.

TABLEAU VII

Diamètres en mm des zones d'inhibition provoquées sur P. expansum L.K. par des morceaux de tiges et feuilles de C. sativus L. après absorption d'une suspension aqueuse de benomyl.

Durée d'absorption		24 heures			3 jours			5 jours			8 jours		
concentration étudiée (ppm)		5	20	50	5	20	50	5	20	50	5	20	50
tiges	B	5	13,5	17	9,5	16,5	20,5	18	21	27	14	19,5	27,5
	M	6	14	17,5	9,2	15,5	21,5	15	21	25,5	14	21,2	27,5
	S	-	10,5	12,5	8,5	13,5	20	12,5	17,5	25	12	16,7	23
cotylédons	B	-	+	12,5	+	14,6	15,5	14,5	18	25,2	12	16,5	22,7
	M	-	+	13	+	16	20,5	16	20,2	27	15,6	18,5	28,5
	S	-	-	11	13,2	22,2	26	22,2	27,2	30,5	25,7	24,6	32
1ère feuille	B	-	+	11,5	+	+	13,5	14	17,5	23,5	12,5	17,5	21
	M	-	-	10	+	+	+	15	18	20	14,5	19,7	23,5
	S	-	-	+	7	14	9,5	18,3	20,1	21,2	21	25	29,5
2ème feuille	B	-						-	12	17	6,5	20	13
	M	-							14	18		18	13
	S	-						-	18	20	14,5	21,5	19,6

LEGENDE :

B = point d'insertion de la tige avec la racine ou base de la feuille

S = sommet de la tige ou extrémité de la feuille

M = milieu de la tige ou de la feuille.

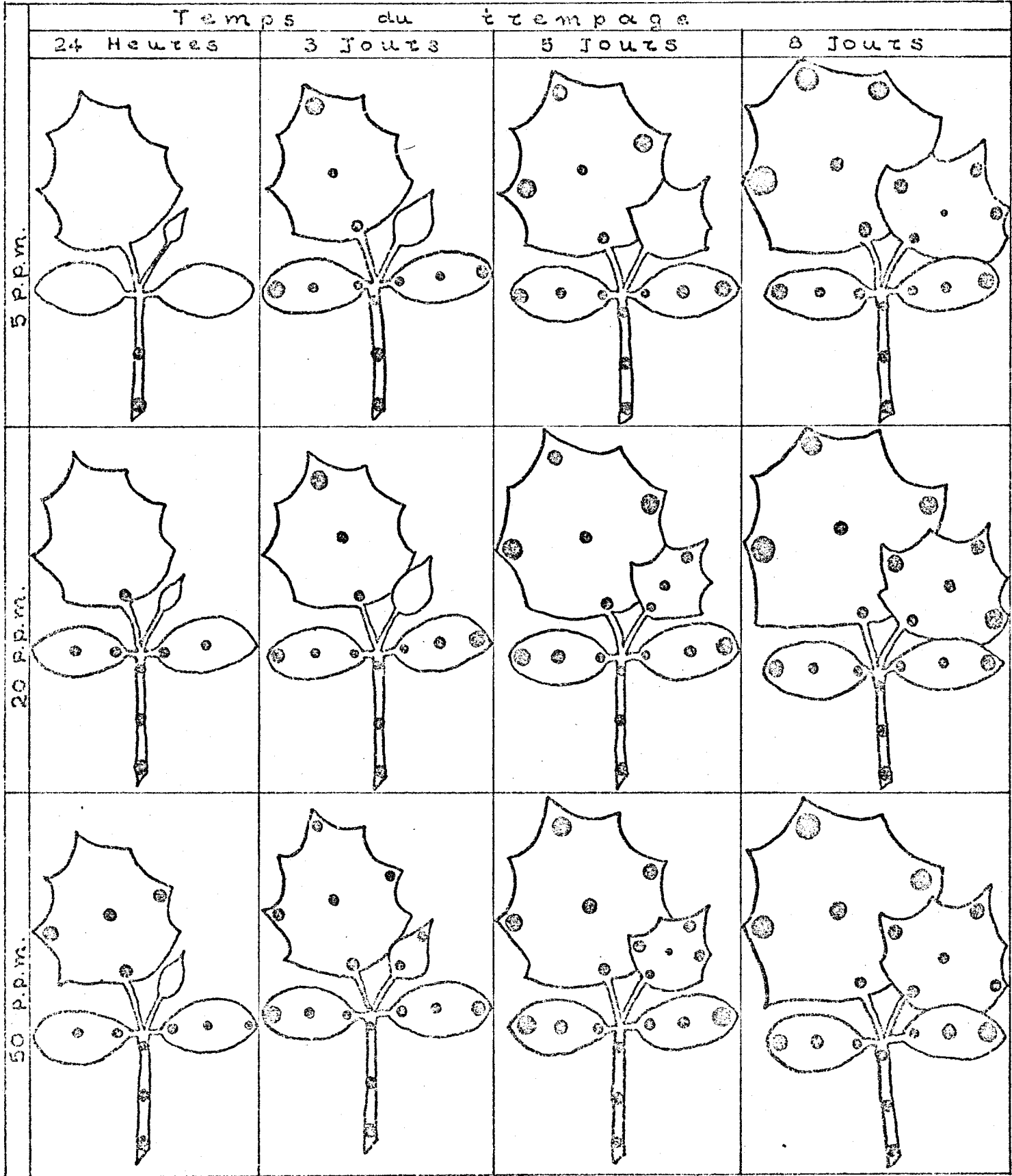
+ = présence d'une zone d'inhibition

- = absence d'une zone d'inhibition.



FIGURE 8.

Translocation d'une substance fongicide dans la plante de concombre à partir d'une suspension aqueuse de bénomyl.

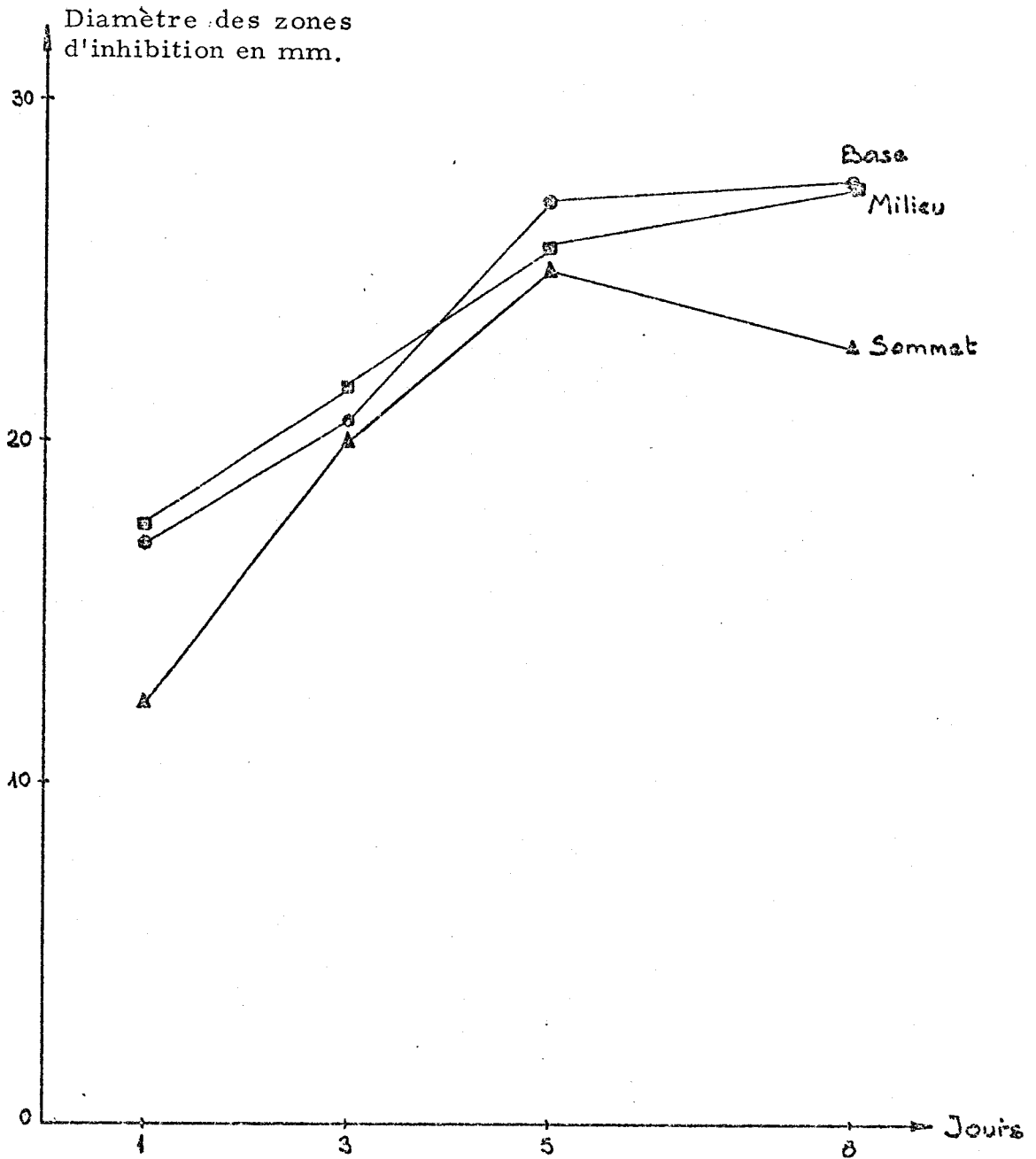


Nota : Le diamètre des taches est en relation avec l'activité fongitoxique détectée.



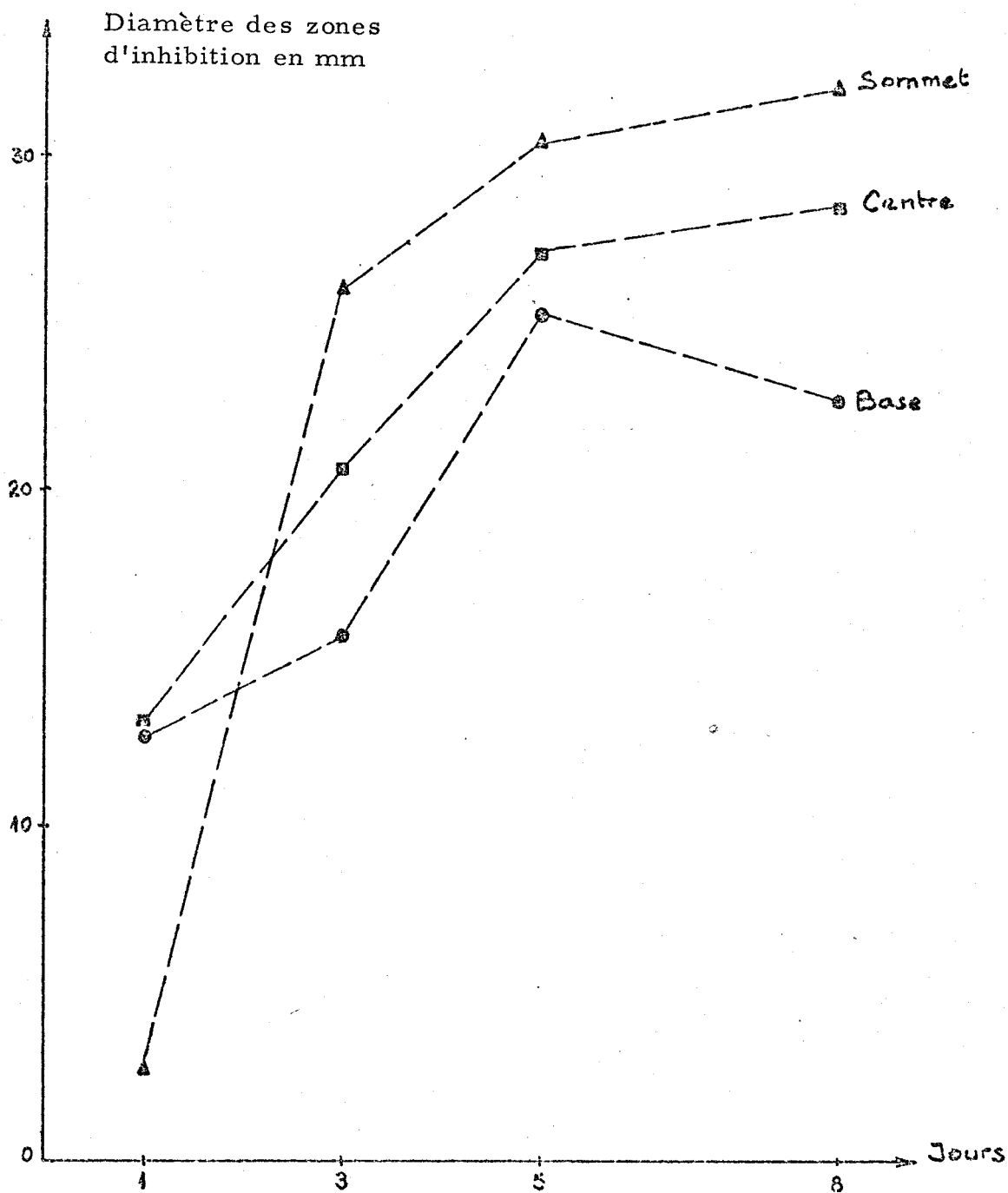
GRAPHIQUE 10.

Répartition de l'activité fongitoxique détectée dans la tige, en fonction de la durée d'absorption du bénomyl par les racines. (concentration : 50 ppm.)



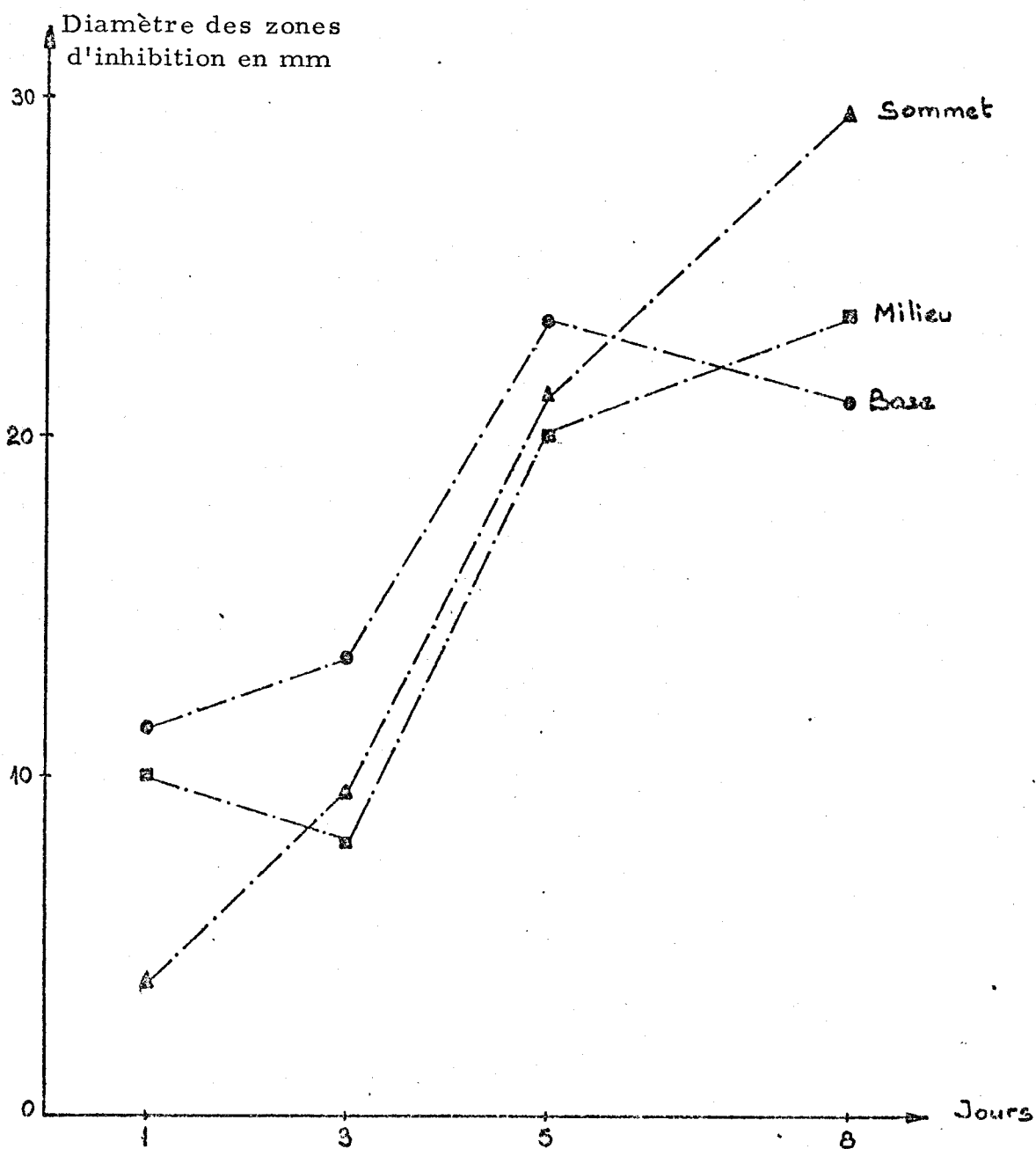
GRAPHIQUE 11.

Répartition de l'activité fongitoxique détectée dans le cotylédon, en fonction de la durée d'absorption du bénomyl par les racines.
(concentration : 50 ppm.)



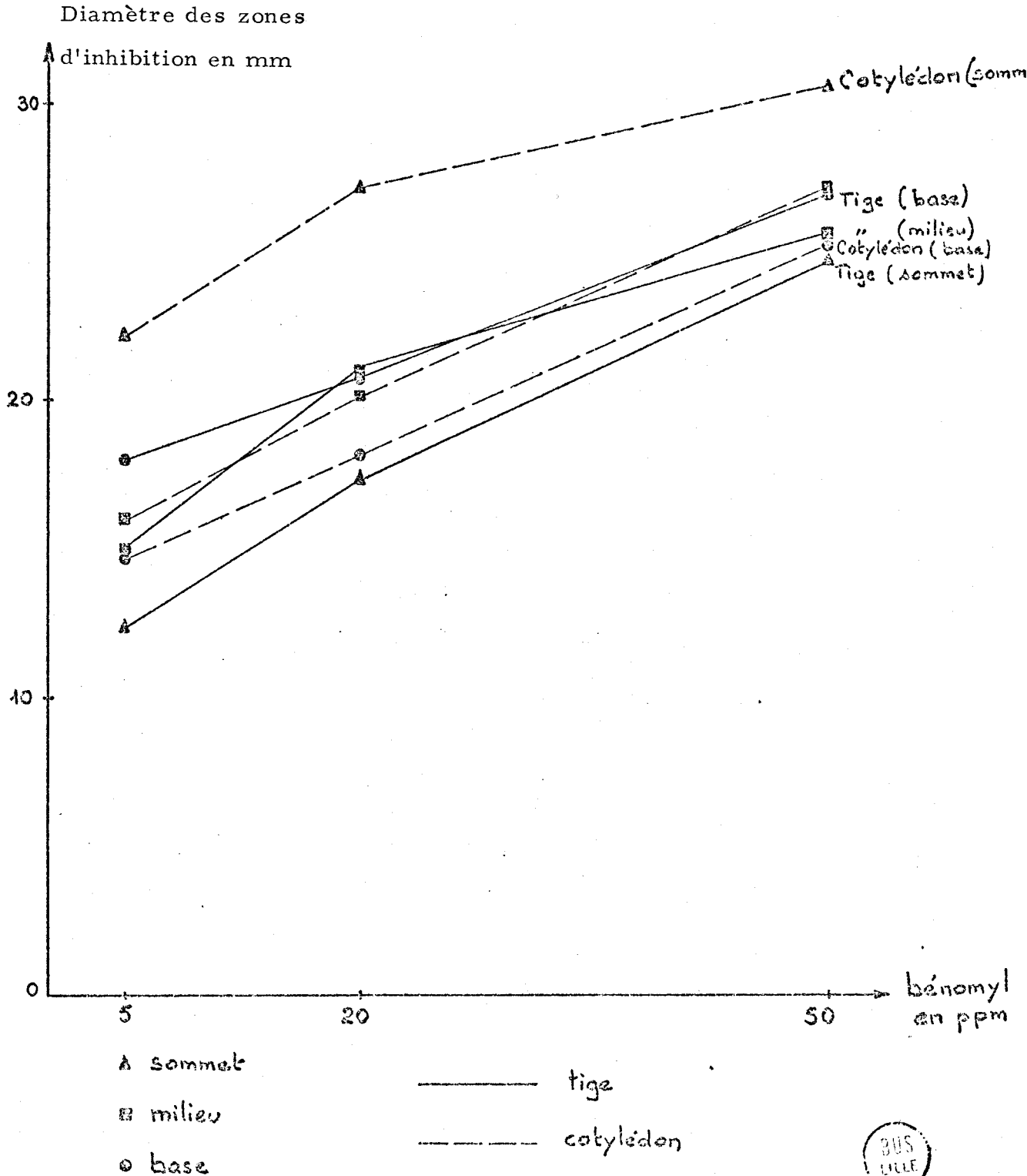
GRAPHIQUE 12.

Répartition de l'activité fongitoxique détectée dans la 1ère feuille, en fonction de la durée d'absorption du bénomyl par les racines (concentration : 50 ppm).



GRAPHIQUE 13.

Répartition de l'activité fongitoxique détectée dans la tige et le cotylédon en fonction de la concentration en benomyl.
(durée d'absorption : 5 jours).



2) Estimation quantitative et nature du composé fongitoxique présent dans les plantes de concombres :

a - Obtention du résidu fongitoxique :

Des plantes traitées pendant 1, 3, 5 et 8 jours avec du bénomyl en suspension aqueuse, sont prélevées. Leurs racines sont alors lavées soigneusement à l'eau du robinet, afin d'éliminer la plupart du fongicide adhérent sur celles-ci. Après séchage sur papier filtre, les plantes sont segmentées en 3 parties : racines, tiges + pétioles, feuilles.

Les différents fragments, après avoir été pesés, sont coupés en petits morceaux et mis à macérer pendant 24 à 48 heures dans de l'acétate d'éthyle (25 ml pour deux plantules). Par la suite elles sont broyées et extraites à l'aide du sable de Fontainebleau, selon la technique utilisée pour les semences. Le résidu obtenu est repris à raison de 1 ml d'acétate d'éthyle par gramme de poids frais.

Nature du résidu : La méthode de chromatographie sur couche mince décrite précédemment est à nouveau utilisée. La nature du fongicide est étudiée dans les trois parties prélevées sur des plantes témoins ou traitées.

Pour cette expérience, on dépose sur les plaques de chromatographie 4 à 5 µl de différents extraits obtenus, ainsi que du bénomyl dissout dans l'acétate d'éthyle à la concentration de $1,7 \cdot 10^{-6}$ M, comme témoin.

b - Estimation quantitative du composé fongitoxique présent dans la plante :

Des estimations quantitatives sont réalisées à partir des extraits de plantes, en utilisant la technique sur gel de silice sans élution. Les zones d'inhibition obtenues par des dépôts de 2, 4 et 8 µl d'extrait des plantes sont comparées avec une courbe étalon du fongicide. Dans toutes les expériences, 2 répétitions sont réalisées pour chaque extrait.

Résultats :

a - Nature du composé fongitoxique présent dans le concombre

Indépendamment de la durée d'absorption racinaire du bénomyl et dans toutes les parties des plantes examinées, le seul produit fongitoxique détecté est le B.M.C. Nos résultats sont démontrés par la figure 9.

b - Quantités de B.M.C. détectées dans les plantes :

Ayant trouvé que dans la plante seul le B.M.C. est détecté, pour chaque expérience nous traçons une courbe étalon à l'aide de dépôts de B.M.C. En reportant en abscisse les logarithmes des quantités de fongicide et en ordonnée les diamètres des zones d'inhibition obtenues, comme dans le cas du bénomyl avec des dépôts bien limités, compris entre 0,001 µg et 0,1 µg de B.M.C. nous pouvons tracer une droite (graphique 14). A l'aide de celle-ci la quantité de B.M.C. dans chaque extrait peut être estimée.

Les concentrations de B.M.C. détectées dans les différentes parties des plantes examinées sont exprimées en ppm de poids frais et reportées dans le tableau VIII et les graphiques 15, 16, 17.

Nous constatons que :

1) La quantité de B.M.C. détectée à l'intérieur des différents organes des plantes augmente avec la concentration en bénomyl dans le liquide d'absorption. De plus, la quantité de B.M.C. détectée dans la tige, indépendamment de la concentration du liquide d'absorption et pour une durée de 24 heures au plus est supérieure à celle détectée dans la feuille. Ce phénomène est entièrement inversé pour une durée d'absorption plus longue (graphiques 15, 16).

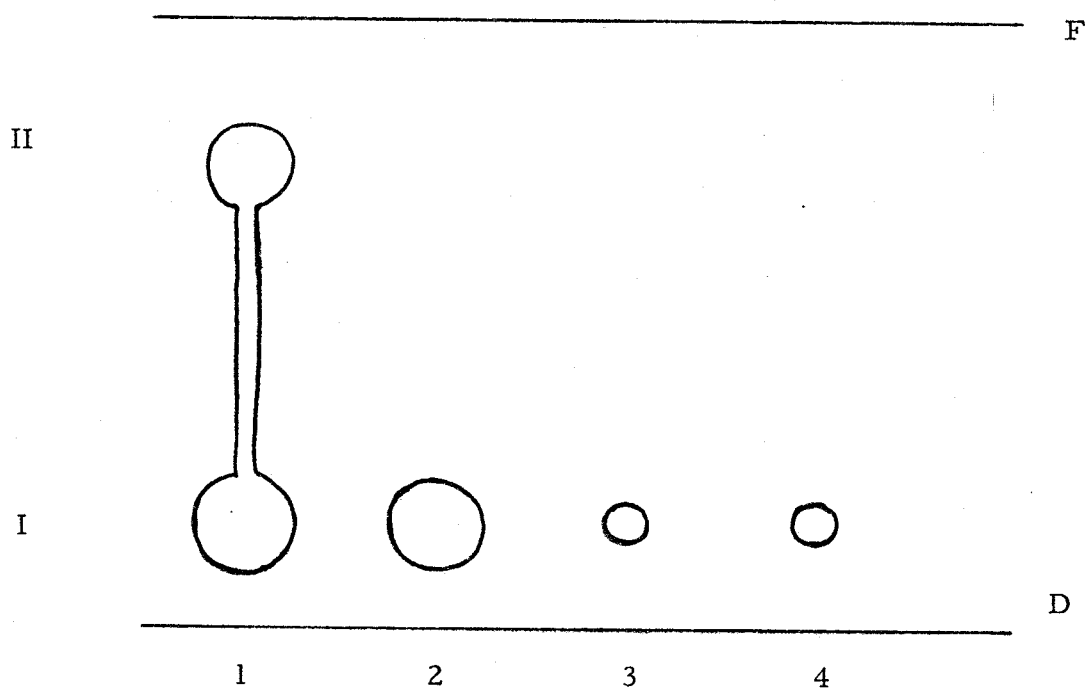
2) Les petites irrégularités trouvées avec les racines des plantes traitées peuvent être expliquées par une plus ou moins bonne élimination du bénomyl adhérent sur celles-ci malgré le lavage à l'eau.

3) Enfin, pour une concentration de bénomyl déterminée et quelque soit celle-ci, la quantité de B.M.C. détectée dans les parties aériennes des plantes en général augmente avec la durée d'absorption.

Cette augmentation est beaucoup plus importante, surtout dans les feuilles (graphique 17). Ce fait montre qu'il se produit là une accumulation du produit fongitoxique et confirme les résultats obtenus avec les fragments de plantes.

FIGURE 9.

Détection après chromatographie sur gel de silice des corps fongitoxiques présents dans diverses parties de concombres après traitement racinaire au bénomyl.



1 : Bénomyl dissout dans l'acétate d'éthyle.

I : B.M.C.

II : Bénomyl.

2 : extrait racinaire

3 : extrait de tiges

4 : extrait de feuilles

Durée de trempage des racines : 24 heures - D : Origine de dépôts -

F : Front de la chromatoplaque.



GRAPHIQUE 14.

Inhibition in vitro de la germination des spores
de P. expansum par le B.M.C.

Diamètre des zones d'inhibition
en mm.

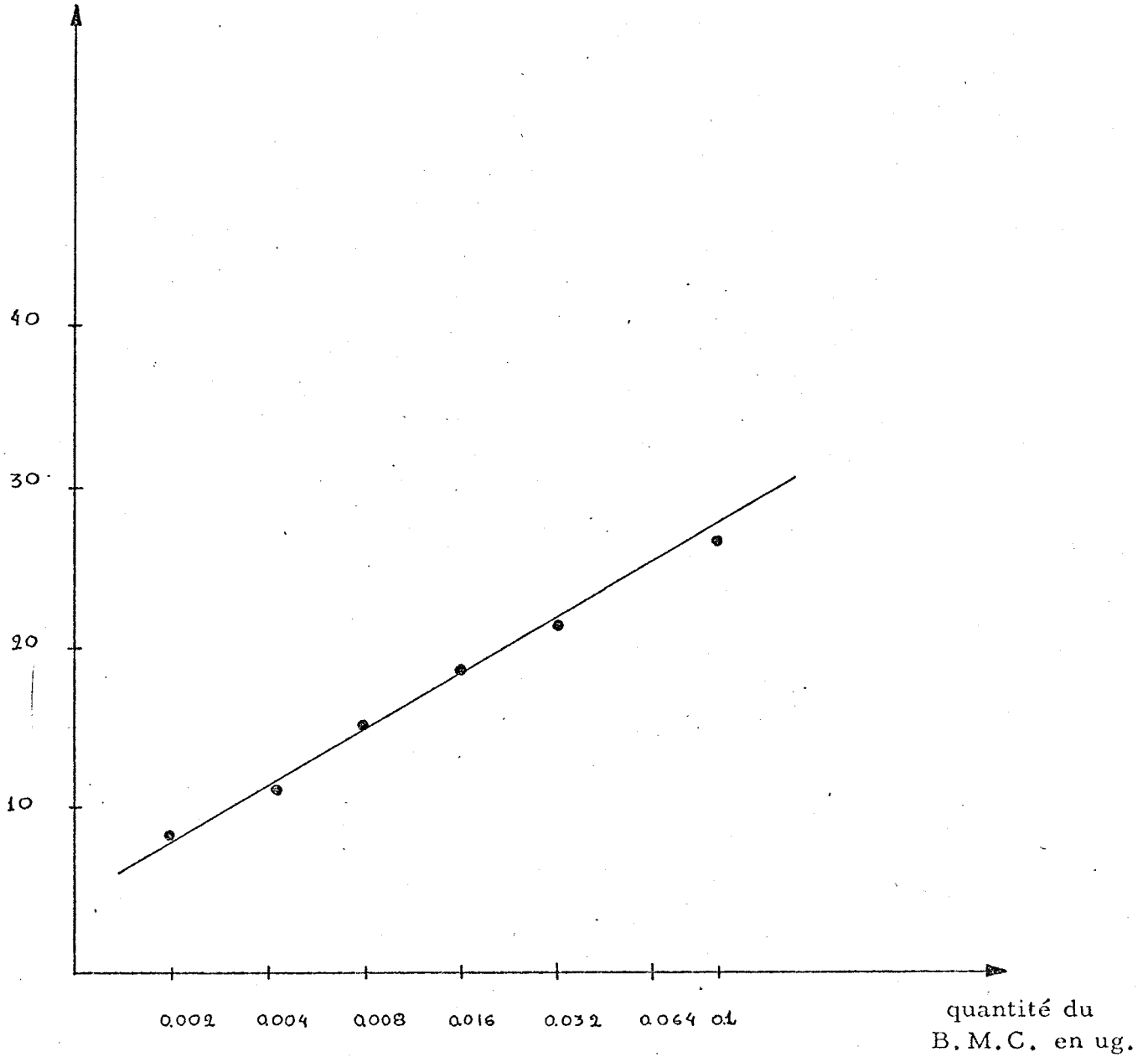


TABLEAU VIII.

Quantités de B.M.C. trouvées dans les différentes parties de concombres suivant la concentration et la durée d'absorption racinaire, à partir d'une suspension aqueuse de bénomyl.

Durée l'absorption	24 heures			3 jours			5 jours			8 jours		
	racines	tiges	feuilles	racines	tiges	feuilles	racines	tiges	feuilles	racines	tiges	feuilles
Témoin	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5 p.p.m. de bénomyl	1,75	0,6	0,6	3,25	1,27	3,75	4,25	1,60	6,80	4,90	1,85	19,35
20 p.p.m. de bénomyl	8,90	2	1,75	13,75	2,87	6,75	16,37	4,12	17,37	14,12	4,62	50,00
50 p.p.m. de bénomyl	24	18	7	32,00	6,95	9	49,75	9,25	32,50	64,50	11,75	60,25

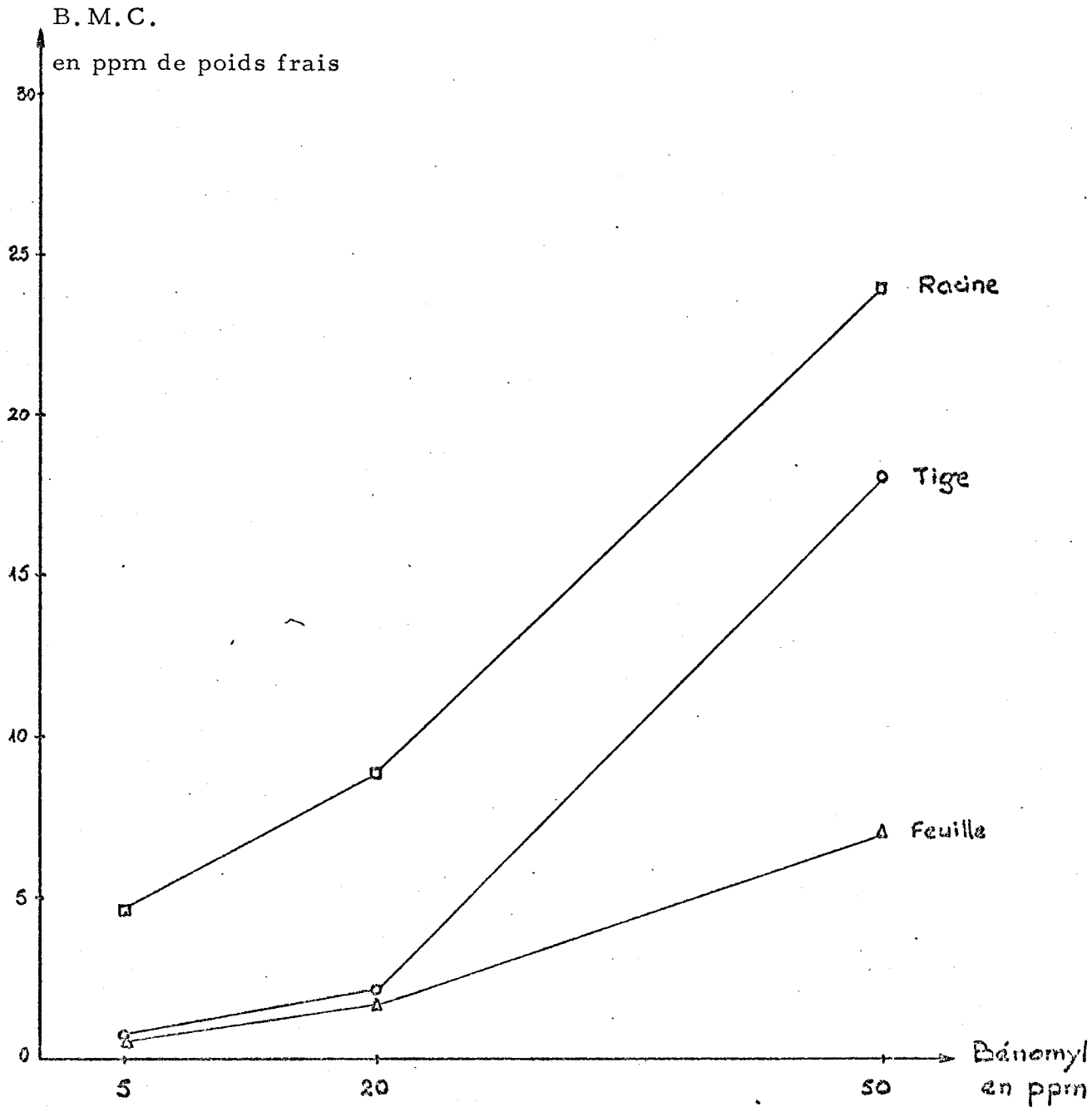
LEGENDE.

Les résultats sont exprimés en p.p.m. de poids frais.



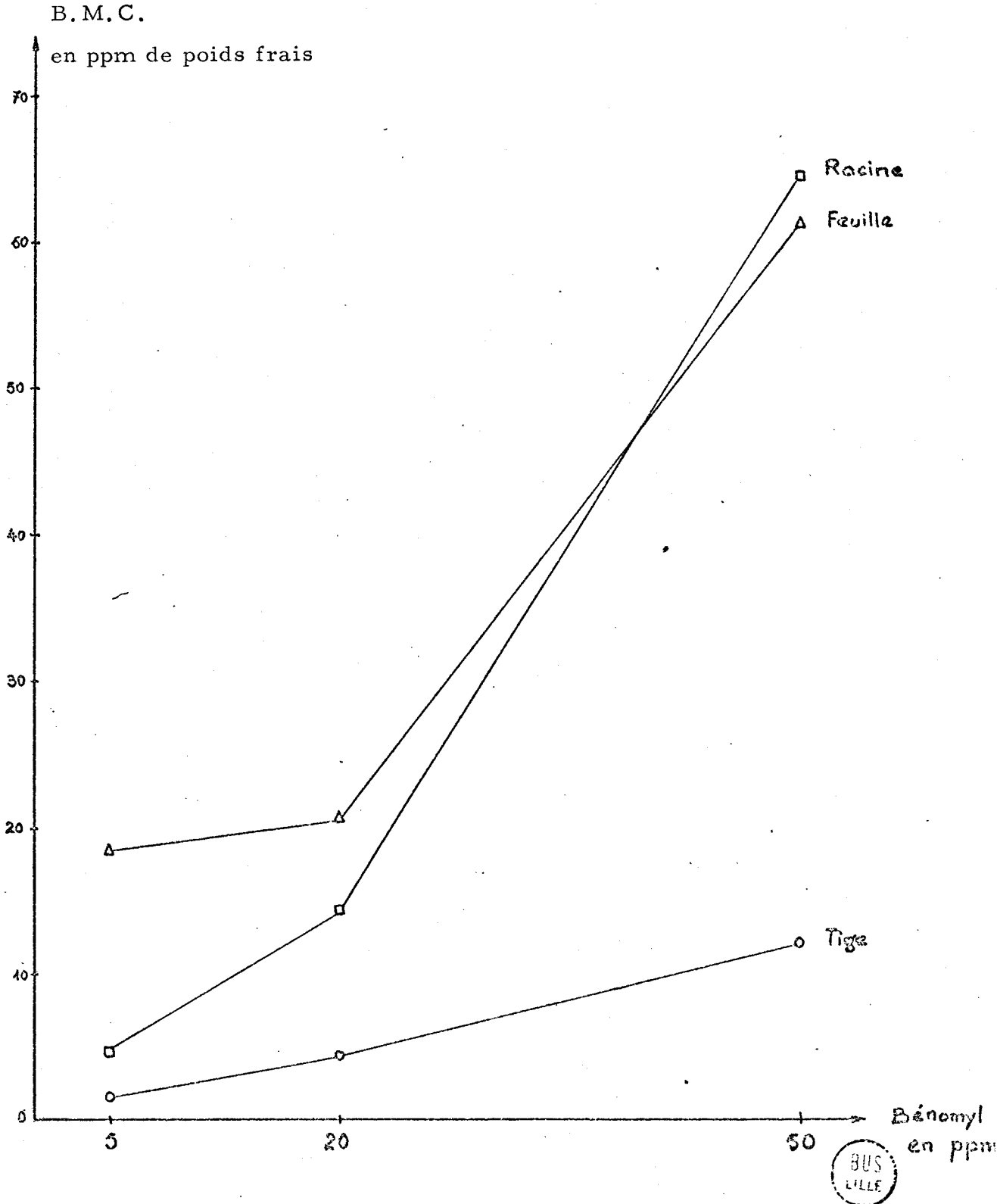
GRAPHIQUE 15.

Quantité de BMC détectée dans les organes de concombre
en fonction de la concentration de bénomyl dans le milieu.
(temps d'absorption : 24 h).



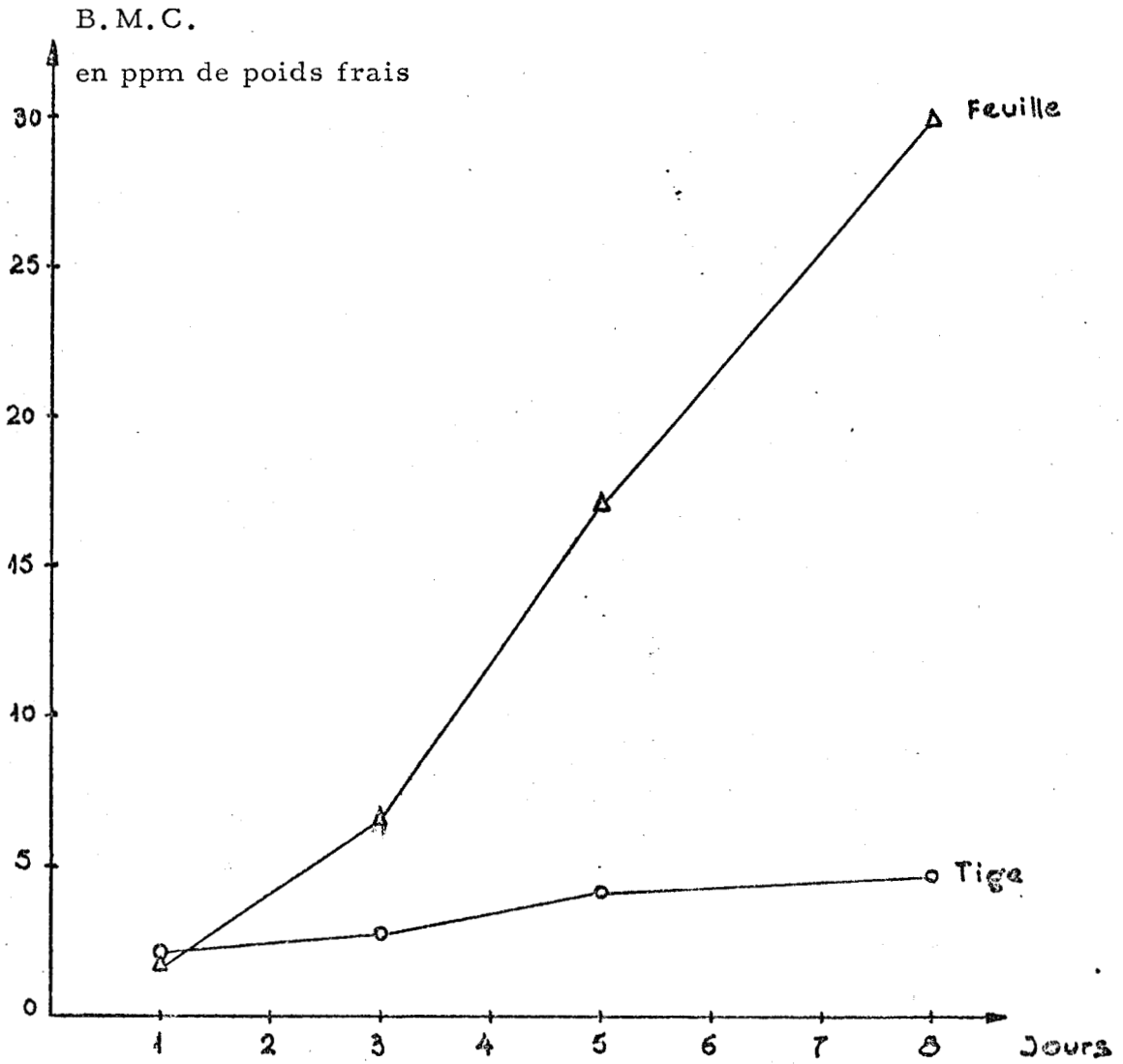
GRAPHIQUE 16.

Quantité de BMC détectée dans les organes de concombre
en fonction de la concentration de bénomyl dans le milieu.
(temps d'absorption : 8 jours).



GRAPHIQUE 17.

Quantité du BMC détectée dans les organes de concombre en fonction du temps d'absorption (concentration du bénomyl : 20 ppm).



B - INFLUENCE DU STADE VEGETATIF DES CONCOMBRES.

1) Matériel et méthodes utilisés :

Afin d'étudier l'influence du stade végétatif sur l'absorption racinaire du bénomyl, 4 semis échelonnés tous les 6 jours sont effectués sur vermiculite de façon à avoir au moment du prélèvement les stades végétatifs suivants :

- stade cotylédonaire (15 jours après le semis)
- stade 1 feuille (21 jours après le semis)
- stade 2 feuilles (27 jours après le semis)
- stade 3 feuilles (33 jours après le semis).

Le prélèvement des plantes et l'apport du bénomyl sont réalisés dans les mêmes conditions que précédemment. Les racines des plantes sont trempées pendant 3 jours dans 50 ppm de bénomyl en suspension dans l'eau distillée.

Pour connaître la répartition et la quantité de B.M.C. présente dans la plante, nous avons utilisé les mêmes techniques que précédemment, c'est à dire la mise en évidence et la répartition de l'activité fongitoxique dans les différentes parties des plantes suivies d'une estimation quantitative du B.M.C.

2) Résultats :

a - Mise en évidence et répartition d'une activité fongitoxique :

Les résultats obtenus sont rapportés dans le tableau IX et sur le graphique 18. Nous constatons que :

1 - au stade cotylédonaire l'activité fongitoxique présente dans les cotylédons est plus importante qu'au stade 1 feuille ;

2 - à partir du stade 1 feuille et au-delà, l'activité fongitoxique présente dans les feuilles et cotylédons est d'autant plus forte que les plantes sont âgées ; elle s'accumule notamment aux extrémités de ces organes.

b - Estimation quantitative du B.M.C. présent dans le concombre :

Les résultats obtenus sont reportés sur le graphique 19 où les quantités détectées sont exprimées en ppm de poids frais.



L'examen de ce graphique nous permet de constater que :

- dans les feuilles, la concentration du B.M.C. est toujours supérieure à celle contenue dans les tiges et les pétioles. Ce fait est indépendant du stade végétatif de la plante et confirme les résultats obtenus précédemment.

- la concentration du B.M.C. dans tous les organes aériens de la plante augmente avec le stade végétatif de celle-ci. Pourtant au stade cotylédonaire cette règle semble ne pas être suivie, la quantité en B.M.C. étant supérieure à celle trouvée au stade 1 feuille. Nous n'avons pas pu expliquer ce phénomène.

3) Conclusions :

De l'ensemble de ces expériences, réalisées en culture hydroponique, nous devons retenir que :

1 - Dans le concombre, après traitement des racines avec le bénomyl quelle que soit la durée de ce traitement, le seul corps fongitoxique qu'on peut détecter dans les parties souterraines ou aériennes, est le B.M.C., produit de décomposition du bénomyl par hydrolyse.

2 - La concentration de ce fongicide dans la plante augmente d'une façon générale avec la durée d'absorption racinaire, la concentration initiale du produit dans le substrat liquide et avec le stade végétatif de la plante.

3 - Dans une même plante, le fongicide s'accumule aux extrémités des feuilles et sa concentration à cet endroit est d'autant plus importante que l'organe végétal est plus âgé.

TABLEAU IX

Diamètres en mm de zones d'inhibition provoquées sur P. expansum LK.
par le B.M.C., contenu dans divers fragments du concombre.

Stade végétatif		PARTIES DE LA PLANTE				
		Tiges	cotylédons	1ère feuille	2ème feuille	3ème feuille
cotylédonaire	B	19	17,50			
	M	17	19,80			
	S	14	24,50			
1ère feuille	B	23,5	16,90	12,80		
	M	19,5	18,40	14,25		
	S	14,5	20,10	18,75		
2ème feuille	B	19,25	16,40	13,50	15	
	M	18,75	19,25	16,25	15,50	
	S	15,25	26,40	21,83	19	
3ème feuille	B	16,25	24	13,50	13,80	14
	M	17,50	24	15,50	14,50	14,50
	S	20,50	35	24,70	20,75	16

LEGENDE.

Durée de l'expérience : 3 jours.

B : Base de la feuille ou de la tige

M : Milieu de la feuille ou de la tige

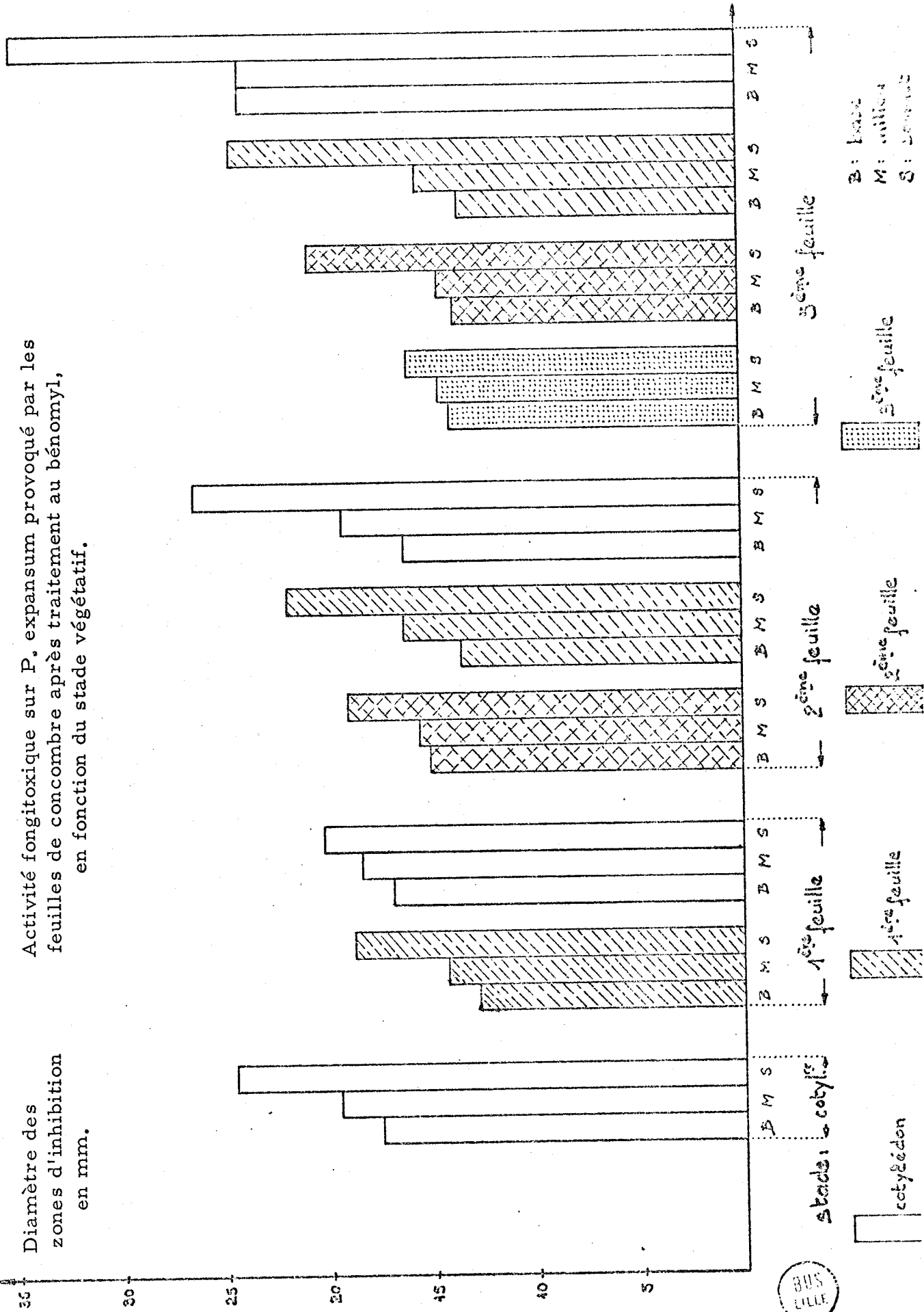
S : Sommet de la feuille ou de la tige.



GRAPHIQUE 18.

Activité fongitoxique sur *P. expansum* provoqué par les feuilles de concombre après traitement au bénomyl, en fonction du stade végétatif.

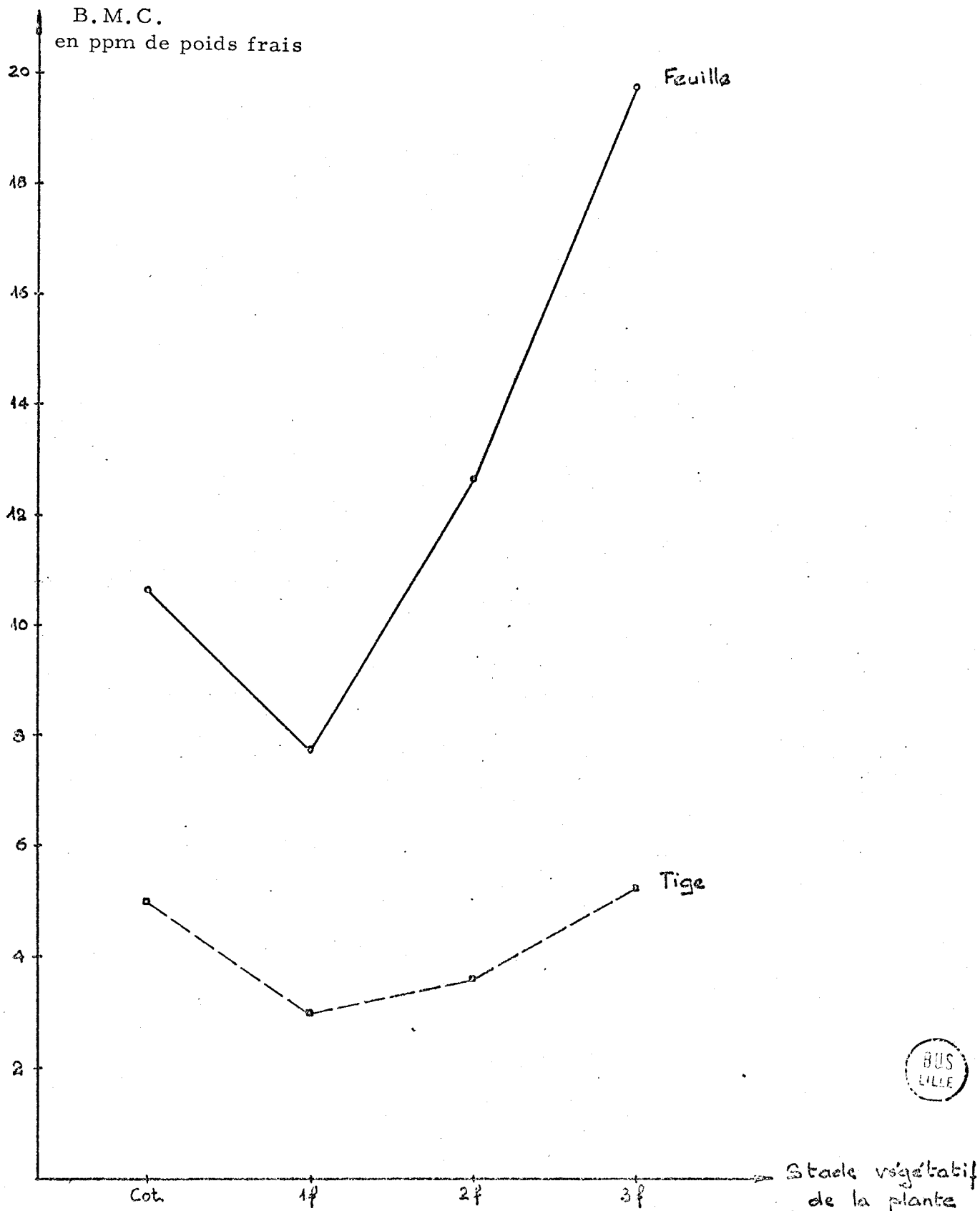
Diamètre des zones d'inhibition en mm.



BUS LILLE

GRAPHIQUE 19.

Influence du stade végétatif de la plante sur la quantité de BMC détectée.



C - COMPORTEMENT DU BENOMYL DANS L'EAU.

1) Matériel et méthodes :

Ayant démontré précédemment que le B.M.C. est l'unique substance présente dans les concombres issus des semences enrobées au bénomyl ou chez les plantules dont les racines ont trempées dans une suspension aqueuse de ce produit, il nous a paru intéressant d'examiner si cette décomposition s'effectue dès la mise en suspension du fongicide dans le milieu liquide. Pour cette étude, nous préparons simultanément une suspension de "Benlate" dans l'eau distillée et une solution dans l'acétate d'éthyle, à la concentration de $1,7 \cdot 10^{-6}$ M de bénomyl.

Au bout de 0, 5, 24, 48 et 120 heures, 10 ml de la suspension aqueuse de bénomyl sont évaporés à sec et repris par 10 ml d'acétate d'éthyle. L'évaporation, qui dure environ 1 heure, est effectuée à l'aide d'un évaporateur rotatif sous vide.

En utilisant la technique de chromatographie sur couche mince, nous avons examiné le comportement du bénomyl en suspension dans l'eau ou en solution dans l'acétate d'éthyle simultanément au bout des temps rapportés ci-dessus.

On dépose sur la plaque, pour chaque estimation, 2 μ l de résidu repris par de l'acétate d'éthyle ou par la solution du bénomyl dans ce solvant.

2) Résultats :

Décomposition du bénomyl dans l'eau :

Nos expériences nous ont permis de mettre en évidence la décomposition du bénomyl dès sa mise en suspension dans l'eau. En effet jusqu'au prélèvement effectué au bout de 24 heures après la mise en suspension deux corps fongitoxiques sont détectés sur la chromatoplaque. Les valeurs de Rf. de ces corps correspondent à celles du bénomyl et du B.M.C. détectés avec la solution du bénomyl dans l'acétate d'éthyle utilisée comme étalon. En revanche dans le cas des prélèvements effectués au bout de 48 heures et au-delà, le B.M.C. seul est détecté par notre méthode. Dans le graphique 20, sont reportés les diamètres des zones d'inhibition provoquée sur P. expansum par les

corps fongitoxiques provenant de la solution étalon du bénomyl ou de sa suspension dans l'eau et en fonction du temps pendant lequel le prélèvement est réalisé.

Après examen de ce graphique nous constatons que :

1 - Lorsque le bénomyl est dissout dans l'acétate d'éthyle, les diamètres des zones d'inhibition du B.M.C. et du bénomyl révélées sur la chromatoplaque ne varient pas considérablement pendant les 5 jours étudiés. Ces résultats concordent avec ceux trouvés par PETERSON et EDGINGTON (1969), montrant qu'après dilution du bénomyl dans le chloroforme les deux corps fongitoxiques détectés (bénomyl et B.M.C.) restent stables pendant un mois.

2 - Lorsque le bénomyl est mis en suspension dans l'eau, le diamètre des zones d'inhibition provoquée sur P. expansum par le B.M.C. semblent rester stables pendant les 5 jours étudiés, tandis que celle provoquée par le bénomyl diminue de plus en plus de façon qu'au bout de 48 heures, notre méthode de détection s'avère insuffisante (sensibilité 0,001 µg).

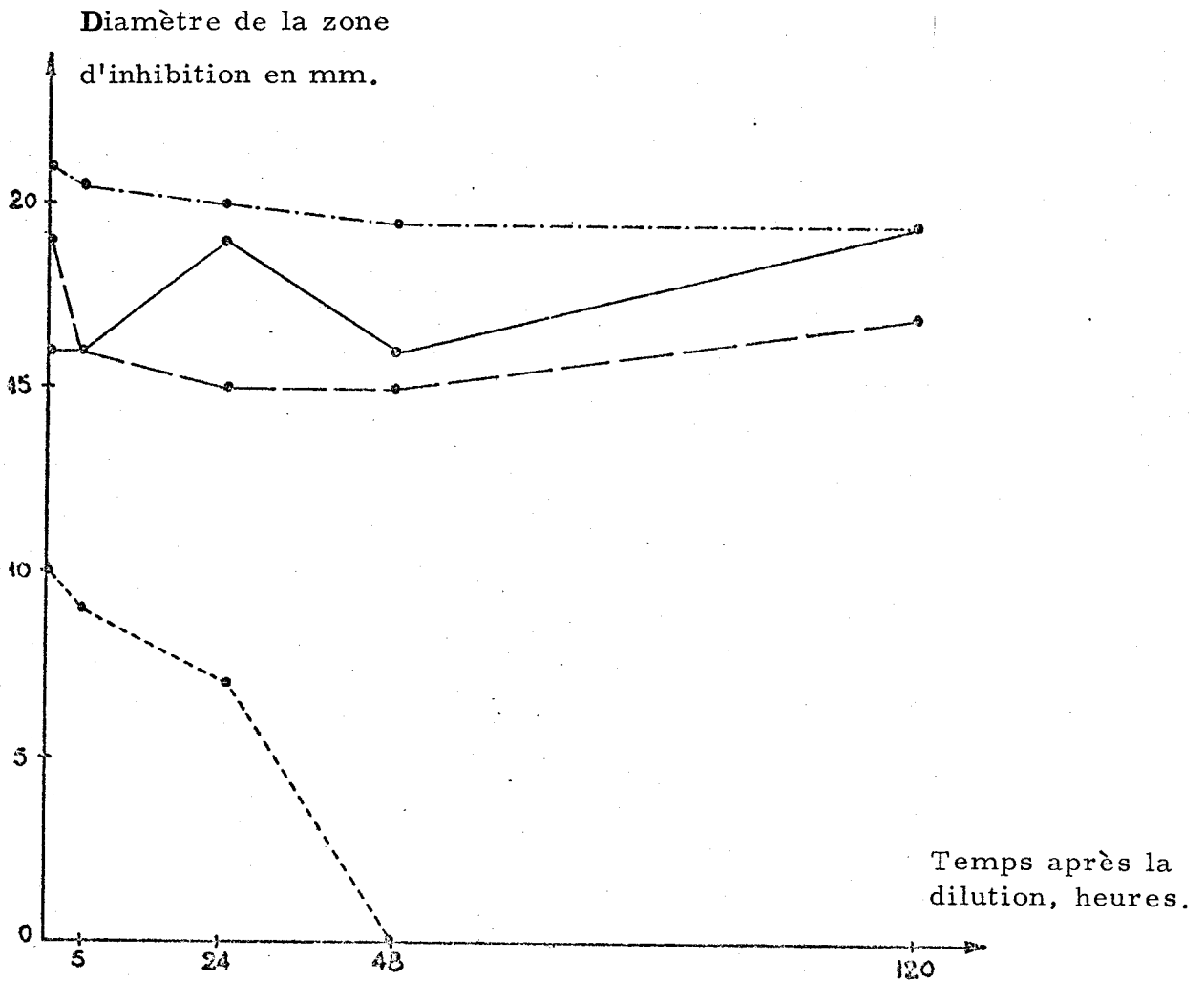
3) Discussion.

Nous venons de voir qu'après la mise en suspension du bénomyl dans l'eau et pour une durée de 24 heures selon nos expériences, ou de 4 jours, d'après PETERSON et EDGINGTON (1969), deux corps fongitoxiques (B.M.C. et bénomyl) sont détectés. Par contre, dans les concombres, d'après nos expériences, dans les haricots d'après PETERSON et EDGINGTON (1969), ou dans le coton d'après SIMS et al. (1969), suivant un traitement des racines au bénomyl et indépendamment de la durée de ce traitement le seul produit détecté dans l'extrait de ces plantes est le B.M.C. Ces résultats nous indiquent que soit le B.M.C. est l'unique corps qui entre dans la plante, soit que le bénomyl entre également mais qu'il se décompose entièrement en B.M.C. ou en un produit inactif in vitro dans la plante ou pendant l'extraction soumis à la présence des substances d'inhibiteurs végétaux de nature inconnue. Pourtant très récemment, MEYER - NICHOLSON et SINCLAIR (1971) signalent que dans l'extrait de feuilles d'Agrostis palustris ils ont mis en évidence les deux corps,

bénomyl et B.M.C., après traitement des racines avec du benomyl. Ceci nous amène à penser que la nature de la plante peut jouer un rôle très important sur la décomposition de ce fongicide comme c'est le cas de plusieurs pesticides systémiques.

GRAPHIQUE 20.

Décomposition du benomyl dans l'eau et dans l'acétate d'éthyle en fonction du temps.



- Bénomyl dans l'eau
- - - - - Bénomyl dans acétate d'éthyle
- B.M.C. dans acétate d'éthyle
- . - . - B.M.C. dans l'eau.

TROISIEME PARTIE :

MODE D'ACTION DU BENOMYL SUR S. FULIGINEA.

INTRODUCTION.

Un produit systémique d'après BENT (1970) peut agir soit sur la plante en élevant sa résistance vis à vis d'un agent pathogène soit directement sur le parasite. Cet auteur pense que le fongicide lui-même ou son produit de décomposition peut agir sur le processus normal de la germination des spores, sur l'extension des hyphes externes mais surtout sur le développement du champignon à l'intérieur de la plante.

Dans la première partie de ce travail nous avons précisé l'évolution d'une conidie semée sur une plante témoin. Après la germination se forme l'appressorium qui adhère à l'épiderme de la plante hôte et en traversant celle-ci forme à l'intérieur de la cellule épidermique un suçoir ou haustorium. A notre connaissance le mode d'action du bénomyl ou B.M.C. sur l'oidium n'a jamais été étudié. Il nous a paru alors intéressant d'entreprendre une étude de l'action de ce fongicide sur les processus physiologiques de S. fuliginea en considérant :

- 1 - la germination des conidies in vitro et in vivo ;
- 2 - l'extension et le nombre des hyphes superficielles provenant d'une conidie ;
- 3 - la pénétration du parasite dans la plante et la formation de suçoirs dans les cellules épidermiques.

A - MATERIEL ET METHODES.

1) Etude in vitro :

L'action in vitro du bénomyl sur l'oidium est étudiée à l'aide de conidies de S. fuliginea portées sur des lames de verre, recouvertes d'une couche de fongicide. Cette expérience est effectuée comme suit :

a - Préparation des lames de verre :

Le fongicide est déposé sur des lames de verre selon une technique décrite par ZARACOVITIS (1964). Suivant cette technique 1 ml d'acétone contenant une concentration donnée de fongicide est ajouté à 9 ml d'un mélange

d'acétone et d'acétate d'éthyle dans un rapport volumique de 3/1, contenant 1 % d'acétate de cellulose en poids par volume . Les lames de verre sont trempées dans cette préparation extemporanée puis séchées à l'air libre. Après évaporation du solvant il reste sur les lames un film d'acétate de cellulose contenant du fongicide.

Dans le cas du bénomyl nous avons utilisé cette technique en diluant notre produit dans l'acétate d'éthyle au lieu de l'acétone aux doses de $3,4.10^{-8}$; $3,4.10^{-7}$; $3,4.10^{-6}$ et $3,4.10^{-5}$ Mol (M.)

b - Origine des conidies :

Les conidies proviennent de plantes de concombre attaquées par S. fuliginea et conservées en serre. Les expériences sont réalisées en jours courts. Un éclaircissement quotidien supplémentaire pendant 6 heures est apporté par deux tubes de Néon de 40 W. mis à une distance de 60 cm au-dessus des plantes. Afin d'avoir des conidies approximativement du même âge nous éliminons les anciennes spores par un faible courant d'air comprimé. De cette façon nous disposons pour chaque essai de conidies âgées de 0-24 heures.

Ces spores sont recueillies sur les lames de verre disposées au fond d'une boîte de papier de dimensions 40 x 30 x 30 cm.

c - Mise en évidence in vitro de la germination des conidies :

Les lames de verre portant les conidies sont mises horizontalement sur des rails de verre au fond d'une boîte de Pétri d'un diamètre de 15 cm et d'une hauteur de 1,5 cm. L'intérieur des boîtes est recouvert de disques de papier Joseph (deux sur la base et un sur le couvercle) imbibés d'eau. Afin d'assurer une atmosphère saturée d'humidité, facteur nécessaire pour la germination des conidies d'*Oidium* comme nous l'avons déjà mentionné par ailleurs et après plusieurs essais, nous avons constaté que 5 ml d'eau à la base de la boîte et 3 ml sur le couvercle donnaient les meilleurs résultats. Par la suite les boîtes de Pétri sont mises à incuber pendant 24 heures à $24 \pm 1^\circ\text{C}$. Au bout de ce temps le taux de germination est calculé par observation au microscope. Au cours de cette expérience 600 conidies sont mesurées pour chaque dose employée avec 3 répétitions.

2) Etude in vivo :

Des disques de 8 mm de diamètre provenant de cotylédons de concombres issus de semences témoins ou traitées au bénomyl, aux doses de 100 ou 500 g. M.A./quintal sont mis à flotter à la surface de l'eau contenue dans des boîtes de Pétri, suivant la technique utilisée par DEKKER (1961). La surface supérieure des cotylédons est en contact avec l'eau.

Les fragments de plantes sont ensuite contaminés artificiellement avec des conidies de S. fuliginea de la même façon que les lames de verre.

Après la contamination trois lots de boîtes ainsi préparées sont mises à incuber à l'étuve à $24 \pm 1^\circ\text{C}$ et à l'obscurité.

Au bout de 18 heures un premier lot de boîtes est sortie de l'étuve. Une partie de ce matériel sert aux observations microscopiques sur le matériel vivant tandis qu'une autre partie est destinée à la confection de coupes cytologiques. Au bout de 24 heures les deux autres lots de boîtes de Pétri sont sortis de l'étuve. L'un d'eux sert aux observations sur matériel vivant ou après fixation, et l'autre lot est mis en serre afin d'effectuer des observations in vivo 48 heures après la contamination.

Pour ces examens, deux techniques sont utilisées :

a - Prélèvement de l'épiderme :

L'épiderme contaminé est prélevé, coloré à chaud au bleu coton dans le lactophénol à 1 ‰, puis observé sous le microscope. Cette technique très efficace quand elle réussit, reste malheureusement très difficile à réaliser car l'épiderme inférieur des feuilles de concombre est très fragile.

b - Empreinte de collodion :

Une technique a été décrite par DARPOUX, ARNOUX et LEBRUN (1956) pour suivre le cheminement des hyphes de Cercospora beticola sur les feuilles de betterave à l'aide de verni à ongles. Plus tard, le dernier de ces auteurs (travail non publié) a remplacé le verni par du collodion dissout dans l'éther éthylique à 4 ‰. Suivant cette méthode, nous étalons à l'aide d'un fin pinceau une couche de collodion sur la surface contaminée. Après évaporation

de l'éther, le collodion laisse une fine membrane qui englobe les conidies semées sur la feuille. Ce film est alors enlevé et retourné sur une lame de verre portant une goutte de colorant (bleu coton dans lactophénol 1 ‰). La coloration s'effectue à chaud et la préparation est observée sous le microscope.

3) Observations sur matériel fixé :

Pour étudier plus spécifiquement la pénétration et la progression du parasite dans les feuilles de concombre nous avons eu recours à l'observation de coupes cytologiques.

- Des fragments de feuilles, contaminées suivant la technique déjà décrite, sont prélevés au bout de 18, 24 et 48 heures après l'inoculation et fixés au mélange formol - alcool - acide acétique (F.A.A.).

Les échantillons sont déshydratés à l'alcool butylique tertiaire (méthode de JOHANSEN), inclus dans la paraffine selon la méthode classique et coupés à 7 ou 10 μ . Après déparaffinage, les lames sont colorées au bleu coton C 4 B de POIRRIER à 0,5 ‰ dans le lactophénol pour localiser la présence du parasite, à l'hématoxyline ferrique de HEIDENHAIN (BRUNIN, 1970) ou par la quadruple combinaison : thionine-vert lumière-érythrosine-orange G (méthode de MARGOLENA in JOHANSEN). Cette dernière méthode permet de distinguer les spores (colorées en jaune) et les hyphes (en violet), du cytoplasme (en rose) et des parois cellulosesiques (jaune rosé) pectiques(rouge) ou lignifiées (vert).

Pour préciser les premiers stades de la pénétration du parasite, nous avons eu recours à quelques autres colorations spécifiques telles que le rouge de ruthénium, le chlorure de zinc iodé, la phloroglucine-iodhydrique (réaction de MORQUER), le fast-green, le réactif de SCHIFF après hydrolyse à l'acide périodique (réaction du P.A.S.).

B - RESULTATS.

1) Action du bénomyl sur la germination des conidies :

a - Etude in vitro :

L'étude in vitro nous a permis de constater que la présence du bénomyl n'empêche pas totalement la formation du tube germinatif mais diminue

le taux de germination des conidies. Les résultats quantitatifs obtenus sont reportés dans le tableau X, en tenant compte de l'inhibition naturelle du témoin suivant la formule d'ABBOTT :

$$\% \text{ inhibition corrigée} = 100 \times \frac{\% \text{ inhibition observée} - \% \text{ inhibition naturelle}}{100 \% - \% \text{ inhibition naturelle.}}$$

TABLEAU X

Inhibition in vitro de la germination des conidies de S. fuliginea par le bénomyl.

Dose employée en Mol.	% inhibition de la germination des conidies.
Témoin	8,2
$3,4 \cdot 10^{-8}$	35,4
$3,4 \cdot 10^{-7}$	36,1
$3,4 \cdot 10^{-6}$	58,3
$3,4 \cdot 10^{-5}$	74,4

(Moyenne de trois répétitions).

De ce tableau il ressort qu'il existe une inhibition de la germination des conidies, d'autant plus élevée que la dose du fongicide employée est plus importante.

Discussion :

Pour cette étude, les méthodes classiques décrites par Mc CALLAN pour examiner l'action de différents fongicides de surface sur la germination des spores, ne peuvent pas être utilisées. En effet les spores des oïdiums

perdent leur pouvoir germinatif lorsqu'elles sont mises en suspension dans l'eau (CORNER, 1935 - YARWOOD, 1957 - PERIES, 1961).

Au cours de nos expériences nous avons pu obtenir un taux de germination, sur des lames témoins, de l'ordre de 75 - 91 %. Pourtant d'autres chercheurs, utilisant les mêmes techniques n'obtiennent qu'une germination très faible (16 %) avec les conidies du même champignon (BENT, 1970).

Ainsi, nous avons pu constater, au cours de nos travaux, que pour obtenir une bonne germination des conidies d'*oldium* in vitro il est nécessaire que les plantes hôtes soient vigoureuses, relativement jeunes, et faiblement attaquées par le parasite. De plus pendant l'incubation l'atmosphère ambiante doit être saturée en eau à 100 %. Une humidité relative inférieure ou supérieure à 100 % est défavorable à la germination des conidies.

b - Etude in vivo :

In vivo, nous constatons que chez les plantes traitées le pourcentage de spores germées diminue lorsqu'on augmente la dose de fongicide employée en enrobage des semences. Les résultats quantitatifs obtenus sont reportés dans le tableau XI.

TABLEAU XI

Inhibition in vivo de la germination des conidies de *S. fuliginea* par le B.M.C.

Heures après la contamination	18			24			48		
	Plantes issues des semences	témoin	traitées à		témoin	traitées à		témoin	traitées à
100g/Q			500g/Q	100g/Q		500g/Q	100g/Q		500g/Q
Nombre des conidies étudiées	350	350	385	309	336	311	314	347	359
Inhibition % de la germination	38,6	54,6	65,7	39,8	53,3	59,8	25,8	29,8	35,4

De ce tableau il ressort que :

- Pendant les premières heures après la contamination le produit contenu dans les plantes semble avoir une action nette sur la germination des conidies. Pourtant plus tard, 48 heures après la contamination le pourcentage des spores germées sur les plantes traitées augmente de telle façon que le taux de la germination finale n'est pas considérablement différent de celui observé sur des plantes témoins. Par contre la différence entre les deux doses employées existe toujours.

Nous pouvons alors en conclure que le produit à des doses employées n'a pas une action décisive, sur ce stade du champignon dans des essais in vivo.

2) Action du bénomyl ou du B.M.C. sur l'extension des hyphes de
S. fuliginea.

L'observation des empreintes au collodion a permis de constater que : chez les plantes témoins, en plus du tube germinatif formé, le nombre des hyphes végétatives, produites par les conidies augmente dans le temps ; ainsi au bout de 48 heures après la contamination, plusieurs conidies présentent trois ou quatre hyphes végétatives. Par contre, chez les plantes traitées, le nombre de spores possédant une seule hyphe végétative est extrêmement faible et d'une façon générale l'évolution de la conidie s'arrête après formation du tube germinatif. Les résultats quantitatifs sont reportés dans le tableau XII et illustrés par la planche I.

Le bénomyl agit ainsi principalement sur la formation et le développement ultérieur des hyphes végétatives issues de spores.



TABLEAU XII.

Nombre de tubes germinatifs formés in vivo par conidie
de S. fuliginea.

temps après la contami- nation.	plantes issues des semences	nombre de spores ger- mées comp- tées	% de conidies germées possédant				% tube germi- natif. + hyphes vé- gétatives.
			1	2	3	4	
18-19 heures	Témoin	199	59,3	14,07			73,4
	traitées à 100 g/Q.	350	0,9				0,9
	traitées à 500 g/Q.	209	0,5				0,5
24 heures	Témoin	204	17,7	57,4			75,1
	traitées à 100 g/Q.	200	1,5				1,5
	traitées à 500 g/Q.	216	1,8				1,8
48 heures	Témoin	107	6,5	33,6	38,3	7,5	85,9
	traitées à 100 g/Q.	238	1,7				1,7
	traitées à 500 g/Q.	217	1,8				1,8

3) Action du B.M.C. sur la formation de l'appressorium, la pénétration du parasite et la formation de suçoirs.

Les techniques d'empreintes de l'épiderme et de coupes cytologiques pratiquées à la suite de prélèvements périodiques de feuilles de concombre contaminées artificiellement ou naturellement, ont permis de suivre l'adhérence, la pénétration et la progression du parasite chez des plantes traitées au bénomyl ou non.

a - Observations d'empreintes de collodion et de l'épiderme contaminée:

Après la contamination artificielle nous observons, au bout de 18 heures, sur le matériel non traité et plus rarement sur le matériel traité, la différenciation d'un appressorium à partir du tube germinatif déjà formé (planche I, figures 1 et 2).

Au bout de 24 et 48 heures, l'observation des empreintes des plantes témoins montre la présence d'un appressorium sur la plupart des tubes germinatifs (planche I, figures 3 et 4), alors que sur le matériel traité il est difficile de le mettre en évidence (planche I, figures 5 et 6).

A l'aide de l'épiderme prélevé nous avons pu constater dans les cellules de la plante hôte non traitée des haustoria ou suçoirs, issus des appressoria déjà formés.

Des haustoria ne sont observés qu'occasionnellement chez les plantes traitées.

b - Observations de coupes transversales :

L'étude de coupes transversales nous a permis de vérifier les observations effectuées sur les empreintes et l'épiderme des feuilles contaminées. Notamment, nous avons pu constater que la formation des suçoirs est beaucoup plus rare chez les plantes traitées que chez les témoins. Lorsqu'ils existent, ils sont moins volumineux et moins bien constitués. (Planche II, figures 1 et 2).

Chez les plantes non traitées par le bénomyl, 24 heures après la contamination, le développement des haustoria se poursuit et au bout de 48 heures ils occupent presque tout le volume de la cellule épidermique (planche II, figures 3 et 5). Il est même possible d'observer parfois 2 suçoirs dans la

même cellule (planche III, figure 6). Au contraire, chez les plantes traitées, les hautoria quand ils existent ne semblent pas évoluer : ils présentent un volume comparable à celui qui est observé au bout de 18 heures, et leur forme paraît être dégénérée (planche II, figures 4 et 6).

Pourtant, qu'il s'agisse de plantes traitées ou non, le mécanisme de pénétration du parasite dans l'assise épidermique de l'hôte semble se dérouler de la même manière. Le mycélium exophyte, ou la conidie, constitue d'abord un appressorium qui adhère à l'épiderme. Après réactions au rouge de ruthenium et au chlorure de zinc iodé, un halo décoloré autout du point de contact, marqué par une légère dépression de la paroi, montre qu'à ce niveau la cuticule commence à être altérée. En même temps, vers l'intérieur de la cellule épidermique, la paroi squelettique s'épaissit de part et d'autre du point de pénétration d'un très fin filament germinatif issu de l'appressorium. Cette hyphe, d'abord intrapariétale, traverse l'épaississement qui s'accroît au fur et à mesure de la progression. Finalement le tube perce à l'extrémité de la paroi développée en doigt de gant et donne naissance à un suçoir, en repoussant le cytoplasme de la cellule-hôte (planche III, figures 1 à 3).

Dès le début de la pénétration, le noyau de l'appressorium se divise ; un des noyaux fils passe dans le jeune suçoir (planche III, figure 2), tandis qu'une cloison le sépare de la cellule-mère. (Ceci a pu être particulièrement observé après réaction au P.A.S.). L'haustorium se comporte alors comme une cellule indépendante, le parasite est intracellulaire.

A ce stade (planche III, figure 4), nous pouvons observer dans la cellule épidermique de la plante malade un pédicelle résultant de la déformation de la paroi de la cellule hôte ; cet épaississement très marqué n'est pas coloré par le bleu coton ni par le rouge de ruthenium ni par la phloroglucine iodhydrique mais prend une teinte jaune orangé avec le chlorure de zinc iodé, ce qui montre qu'il y a au niveau de la pénétration, une dégradation des composés pectiques et cellulosiques. Le pédicelle forme une sorte de gaine autour de l'hyphe de pénétration qui s'évase légèrement avant de constituer le suçoir.

Après coloration à l'hématoxyline, l'haustorium montre un noyau central et de nombreuses petites vacuoles (planche III, figure 5). Dans la cellule-hôte, le cytoplasme et son plasmalemme sont repoussés par l'hyphe de pénétration, mais paraissent être séparés du suçoir par la fine membrane qui le limite. Ceci est notamment bien visible après coloration au fast-green.

Ultérieurement et seulement sur les plantes non traitées au bénomyl, nous pouvons suivre le développement du ou des haustoria dans la cellule-hôte (planche III, figure 6) et même la formation d'un conidiophore porteur de nouvelles conidies (planche III, figure 7).

En conclusion, les préparations traitées au chlorure de zinc iodé, au mélange de MARGOLENA et au rouge de ruthénium spécifique des composés pectiques, montrent qu'au contact de l'appressorium avec la cellule épidermique, la coloration s'atténue fortement et même disparaît totalement au niveau du point de pénétration. Ces réactions peuvent être expliquées par la décomposition locale de la cuticule et de la paroi pecto-cellulosique de l'hôte. Des observations analogues ont été effectuées par SCHLUTER (1970) sur les cellules épidermiques de l'orge parasité par Erysiphe graminis et par CAPORALI (1960) sur Rosa pouzini attaqué par Sphaerotheca pannosa. De plus, les réactions positives que donnent l'épaississement de la paroi et ultérieurement le pédicelle au P.A.S. et au fast-green révèlent la présence à ce niveau de polysaccharides et de protéines basiques.

Nous pouvons donc conclure, en fonction de ces observations, que la pénétration de S. fuliginea se fait par des actions enzymatiques qu'il conviendrait de préciser.

Notons enfin que sur les plantes issues de semences traitées au bénomyl, il est plus difficile d'étudier la pénétration du parasite, du fait que les réactions colorées sont toujours très fortement atténuées.

PLANCHE I.

Action in vivo du B.M.C. sur la formation des appressoria et des hyphes végétatives (observations d'empreintes de colodion ; coloration au bleu coton).

- Figure 1 : conidie semée sur des plantes issues des semences non traitées - 18 heures après contamination.
- Figure 2 : " " " plantes issues des semences traitées à 500 g/Q. - 18 heures après contamination.
- Figure 3 : " " " plantes issues des semences non traitées - 24 heures après contamination.
- Figure 4 : " " " plantes issues des semences non traitées - 48 heures après contamination.
- Figure 5 : " " " plantes issues des semences traitées - 24 heures après contamination.
- Figure 6 : " " " plantes issues des semences traitées - 48 heures après contamination.

- c : conidie
- a : appressorium
- t.g. : tube germinatif
- h. : hyphe végétative.

Planche I

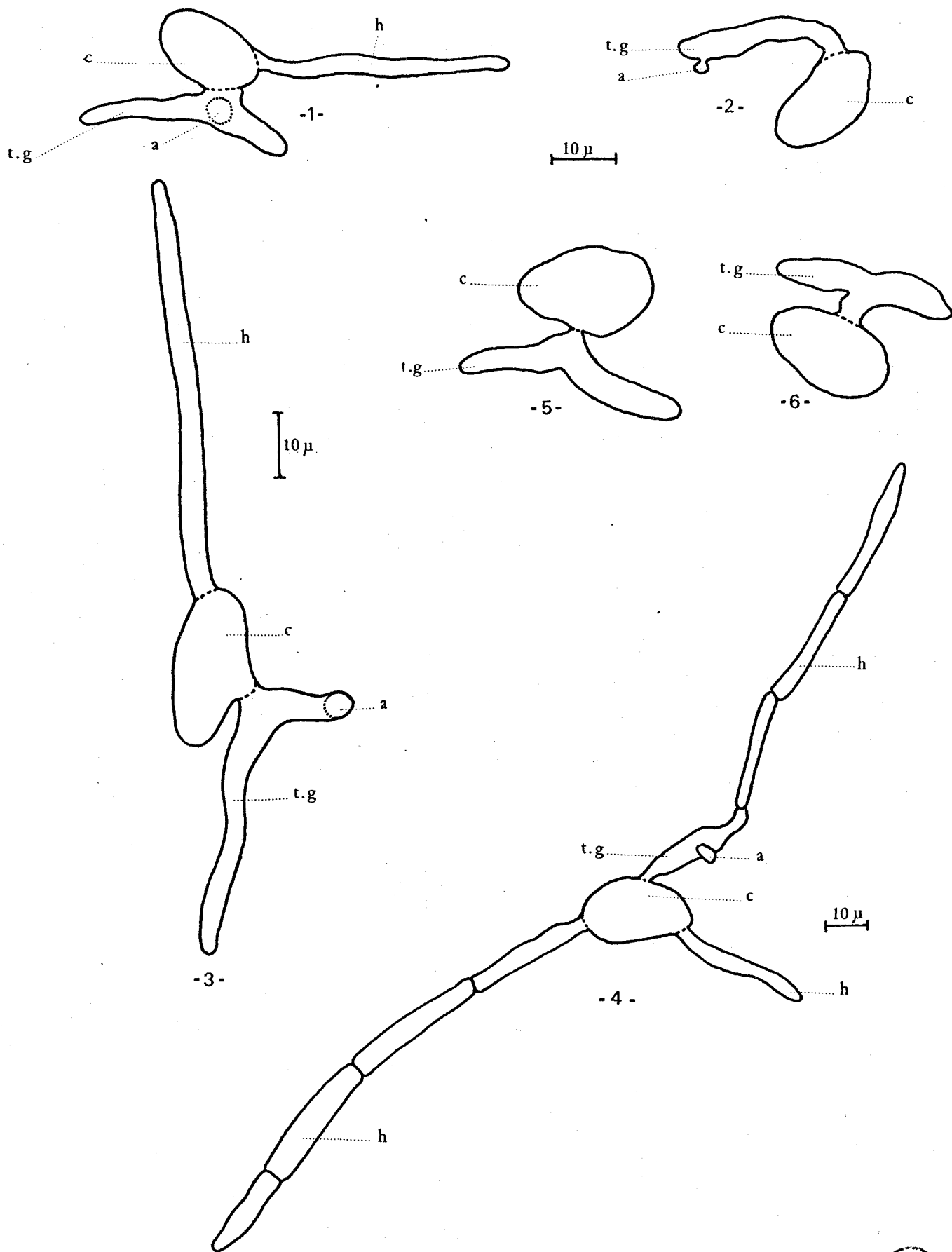


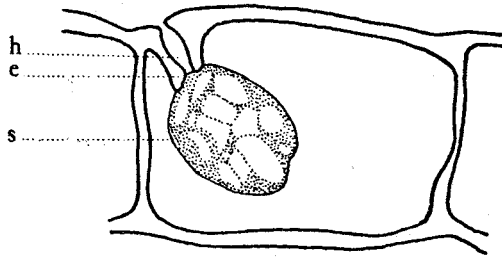
PLANCHE II.

Action in vivo du B.M.C. sur la formation des suçoirs
(observations de coupes transversales, F.A.A., Héma-
toxyline ferrique).

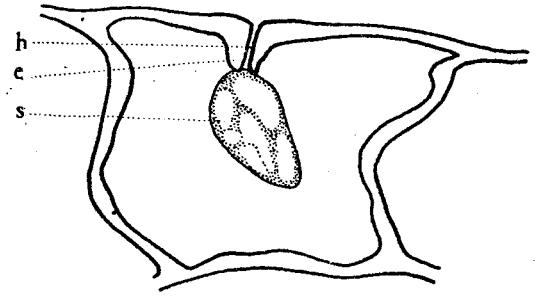
- Figure 1 : Plante issue de semence non traité - 18 heures après contamination.
- Figure 2 : Plante issue de semence traitée à 500 g/Q. - 18 heures après contamination.
- Figure 3 : Plante issue de semence non traitée - 24 heures après contamination.
- Figure 4 : Plante issue de semence traitée à 500 g/Q. - 24 heures après contamination.
- Figure 5 : Plante issue de semence non traitée - 48 heures après contamination.
- Figure 6 : Plante issue de semence traitée à 100 g/Q. - 48 heures après contamination.

- e = épaissement de la paroi de la cellule épidermique dans la zone de pénétration (hachurée).
- h = hyphe de pénétration.
- n = noyau du suçoir.
- s = suçoir.

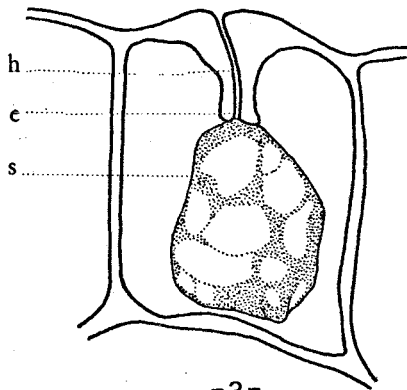
Planche II



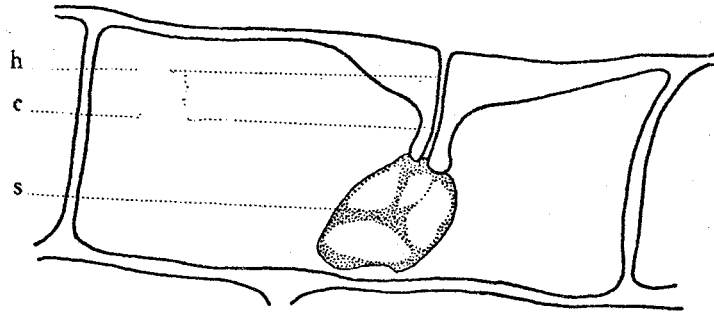
-1-



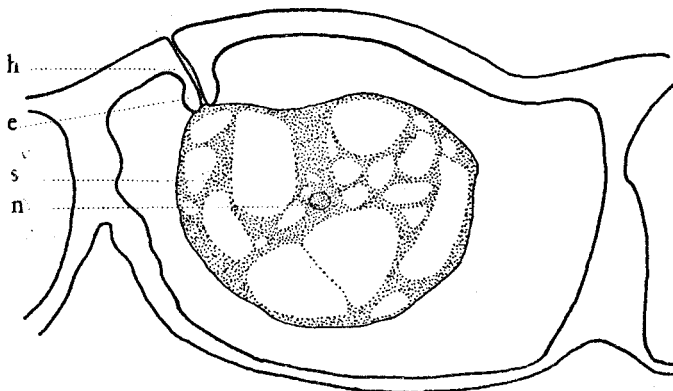
-2-



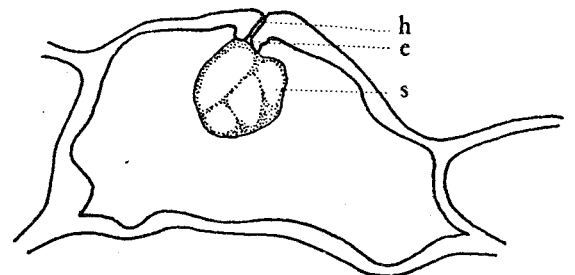
-3-



-4-



-5-



-6-

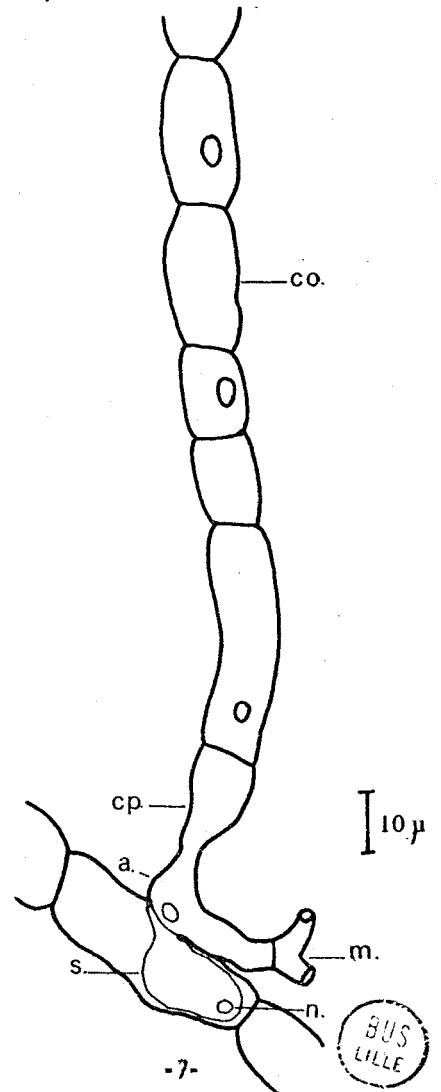
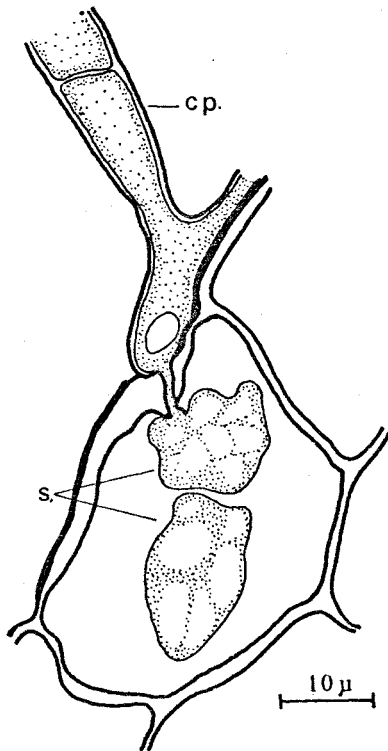
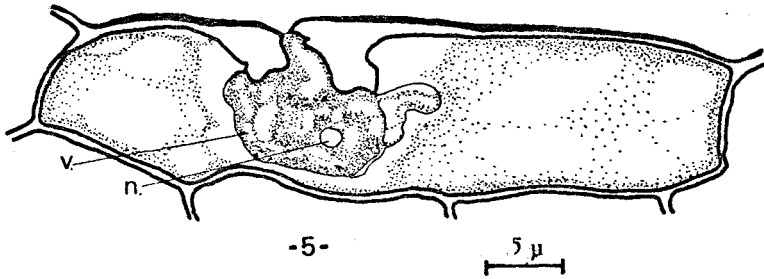
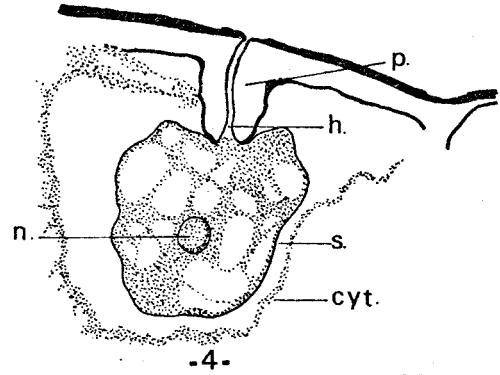
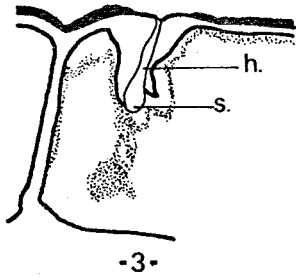
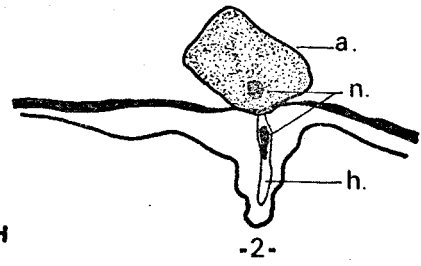
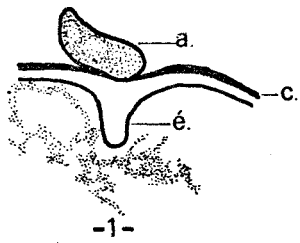
5μ



PLANCHE III.

Divers stades de la pénétration de Sph. fuliginea dans
la cellule épidermique de Cucumis sativus.

a = appressorium ; c = cuticule ; co = conidie ; cp = conidiophore ;
cyt = cytoplasme de la cellule-hôte ; é = épaissement de la paroi
de la cellule-hôte ; h = hyphes de pénétration ; n = noyau du suçoir ;
p = pédicelle ; s = suçoir ; v = vacuole ; m = mycélium.



BUS
LILLE

C - CONCLUSIONS ET DISCUSSION.

D'après les résultats de nos expériences sur l'influence du bénomyl ou du B.M.C. vis à vis des différents processus physiologiques de S. fuliginea nous constatons que le fongicide étudié agit sur la germination des conidies. Pourtant l'action principale du produit ne se situe pas à ce niveau de la vie du parasite, mais d'une manière plus importante au niveau de la formation des organes intracellulaires du champignon, en particulier en inhibant le développement des suçoirs formés dans les premières 24 heures qui suivent la contamination.

HIRATA et TOGASHI (1957) ont démontré l'importance de la formation de ce premier suçoir pour l'installation de l'oldium. En travaillant sur Erysiphe graminis, ces auteurs ont observé que si le premier haustorium ne se développe pas il ne peut y avoir formation d'hyphes secondaires ni installation d'une colonie. Nous avons confirmé ces observations sur S. fuliginea. En effet la technique d'empreinte nous a montré que les conidies, ensemencées sur des plantes traitées et examinées 48 heures après, ne présentaient généralement que le tube germinatif. Chez le témoin le champignon avait formé dans le même temps au moins 3 hyphes végétatives en plus du tube germinatif.

CLEMONS et SISLER (1971) ont montré que le B.M.C., produit de décomposition du bénomyl, est absorbé en très petites quantités par les cellules d'Ustilago maydis et de Neurospora crassa, et qu'il est mortel seulement pour les organismes en développement, ce qu'ils expliquent par une interférence avec des réactions anaboliques des champignons. Parmi plusieurs actions possibles recherchées sur le métabolisme des cellules, ils démontrent finalement que le B.M.C. intervient sur la synthèse du D.N.A. qui est très rapidement inhibée par le fongicide. Ils en concluent que le fongicide doit inhiber directement la formation du D.N.A. ou bien agir sur la division du noyau et de la cellule. Cette conclusion est en accord avec l'observation de HASTIE (1970) qui a montré que le bénomyl (produit initial) provoque une instabilité du noyau d'Aspergillus nidulans. SIJPESTEIJN (1970), après une étude critique sur le mode d'action des différents fongicides, conclut également que les vrais fongicides systémiques comme par exemple la carboxine, le bénomyl, le thiabendazole, l'azauracil, le chloroneb ainsi que les insecticides systémiques,

les bactéricides et les fongicides utilisés en médecine, doivent agir sur la biosynthèse du parasite plutôt que sur la production d'énergie. Pourtant il est bien connu que le métabolisme des champignons et des plantes est identique en ce qui concerne les actions enzymatiques. On peut alors se demander pourquoi le B.M.C. qui inhibe la biosynthèse du D.N.A. du parasite n'inhibe pas celle de l'hôte.

L'auteur répond à cette question en faisant intervenir la différence de vitesse de croissance entre les deux organismes : champignon et plante supérieure.

Finalement nous devons retenir de cette partie de notre travail que la présence du B.M.C. dans la plante ne permet pas le développement des haustoria d'où son action contre l'oidium des Cucurbitacées par défaut de nutrition à partir de la plante hôte qui empêche l'installation du parasite.

CONCLUSIONS GÉNÉRALES.

Le but de ce travail était d'étudier les propriétés systémiques d'un nouveau fongicide "le bénomyl" et son efficacité contre l'oidium des concombres cultivés dans les serres du C.N.R.A. à Versailles, ainsi que son mode d'action contre le parasite responsable de cette maladie.

De l'ensemble de nos expériences nous pouvons tirer les conclusions suivantes :

1 - Le champignon responsable de l'oidium des concombres cultivés dans ces locaux est le Sphaerotheca fuliginea (Schl.) Poll.

2 - Le bénomyl en suspension dans l'eau ou en solution aqueuse dans le sol se décompose en B.M.C. en fonction du temps. Ainsi 48 heures après la mise en suspension du produit initial, seul le B.M.C. est détecté par notre méthode. Ce produit paraît être stable pendant les 5 jours étudiés.

3 - Après traitement des semences au bénomyl une activité fongitoxique a été mise en évidence dans les parties aériennes des plantes issues. Le fongicide a été identifié comme étant le B.M.C. Ce corps est transporté dans les plantes par la voie du xylème et s'accumule finalement aux extrémités des feuilles. Le même produit est détecté dans les concombres dont les racines sont mises à tremper dans une suspension aqueuse de bénomyl.

4 - Les voies de passage du bénomyl ou du B.M.C. ont été mises en évidence dans le cas de concombres et de haricots issus de semences traitées. Dans le premier cas, ce passage s'effectue par diffusion du bénomyl dans le

substrat du semis ; la décomposition en B.M.C. dans le substrat humide est suivie d'une absorption racinaire du produit résultant. Dans le cas du haricot, il existe une possibilité de passage direct du B.M.C. à travers les téguments des semences.

5 - La nature du substrat du semis semble jouer un rôle important sur les possibilités d'absorption du bénomyl par les concombres. Plus précisément un substrat contenant de la matière organique adsorbe plus fortement ce fongicide qu'un substrat minéral. Par contre, les microorganismes du sol et la nature du liquide d'arrosage ne semblent pas avoir une grande influence sur sa disponibilité vis à vis des plantes.

Nous constatons alors qu'après un traitement des semences avec le bénomyl, il y a passage du fongicide dans la plante soit par voie directe à travers les téguments de la graine, soit par la voie indirecte des jeunes racines. Nous pouvons considérer que dans la pratique le traitement des semences avec ce fongicide systémique, doit être recommandé de préférence à un traitement du sol. En effet par cette dernière méthode, le contact du produit avec les jeunes racines n'est pas toujours assuré et il y a un risque d'une plus forte adsorption du fongicide par les particules du sol surtout lorsque celui-ci est assez riche en matière organique.

6 - La concentration du bénomyl dans le substrat du semis, le temps de contact, entre ce fongicide et les racines des concombres, ainsi que le stade végétatif semblent influencer sur la quantité de produit détectée à l'intérieur des plantes traitées.

7 - Le B.M.C. provenant du bénomyl se montre systémique et actif contre S. fuliginea de concombre, la durée de la protection des plantes étant en relation avec la quantité de fongicide présente aux endroits d'infection.

8 - Le mode d'action du fongicide ou de son produit de décomposition a été mis en évidence. In vitro, il inhibe sensiblement la germination des conidies de S. fuliginea. Pourtant des essais in vivo, il ressort que l'action principale du fongicide se situe au niveau de la formation du premier suçoir du parasite dont l'installation est empêchée lorsque les plantes sont traitées. Ainsi il ne peut y avoir formation d'hyphes végétatives car le fongicide agit sur les organes intracellulaires du parasite ; en plus de son action préventive il devrait donc avoir une action curative et éradicante, d'où son intérêt pour la lutte contre les maladies déjà installées chez les plantes cultivées.

BIBLIOGRAPHIE.

- AGULHON R. — Le méthylthiophanate dans des essais de lutte contre la pourriture grise des raisins. - (Symp. Thioph.), Marseille, 1971, 143-150.
- ALLAM A.I. & J.B. SINCLAIR — Degradation of DMOC (vitavax) in cotton seedlings. - Phytopath., 1969, 59, 1548-1549.
- ALLAM A.I., P.E. SCHILLING & J.B. SINCLAIR. — Uptake of vitavax (DMOC) by germinating cotton seed. - Phytopath., 1969, 59, 265-266.
- APOSTOLIDIS — Erysiphaceae all over Greece. - Ann. Inst. Phytopath. Benaki, 1952, 6 (2), 65.
- ARK P.A. & DEKKER J. — Uptake of antibiotic GS 1 by seeds and plants. - Phytopath., 1958, 48, 391 (abstr.)
- ARNAUD G. & M. ARNAUD — Traité de pathologie végétale. - Lechevalier, Paris, 1931, 1, 993 p.
- ARYA H.C. & M.S. GHEMA WAT — Occurrence of powdery mildew of wheat in the neighborhood of Iodhpur. - Indian Phytopath., 1954, 6, 123-130
- BALLANDYNE B. — A preliminary note of the identity of cucurbit powdery mildew. - Austral. J. Sc., 1963, 25 (8), 360-361.
- BAGNOULS F. & H. GAUSSEN — Saison sèche et indice xérothermique. - Bull. Soc. Hist. Nat. Toulouse., 1953, 88, 193-239.
- BENT K.J. — Les fongicides. - Endeavour, 1969, 28, 105.
- BENT K. J. — Fungitoxic action of dimethirimol and ethirimol. - Ann. appl. Biol., 1970, 66, 103-113.
- BENT K.J. — Symposium on systemic fungicides. General discussion. Part I - Pestic. Sc., 1971, 2, September-October.
- BIEHN W.L. & A.E. DIMOND — Reduction of tomato fusarium wilt symptoms by benomyl and correlation with a bioassay of fungitoxicant in benomyl treated plants. - Pl. Des. Rep., 1970, 54, (1), 12-24.

- BLUMER S. — Die Erysiphaceen Mitteleuropas. - Beitr. Kryptog. - Flora Schweiz, 1933, 483.
- BLUMER S. — Beitrag zur Spezialisierung der Erysiphaceen. - Ber. schweiz bot. Gesell., 1952, 62, 384-401.
- BOEREMA G.H. & M.A. VAN KESTEREN. — The identity of the powdery mildew of Cucurbitaceae. - Nether. J. Plant Pathol., 1964, 70, (1), 33-34.
- BOLLEN G.J. & A. FUCHS. — On the specificity of the in vitro and in vivo antifungal activity of benomyl. - Nether. J. Plant. Pathol., 1970, 76, 299-312.
- BOUGHEY A.S. — The ecology of fungi which cause economic plant diseases. - Trans. Brit. Mycol. Soc., 1949, 32, 179-189.
- BRUNDZA K. — Beiträge zur Kenntnis der Erysiphaceen. - Litauens Jahrb. landwirtschaft. Akad. Litauen, 1933, 108-197.
- BRUNIN B. — La nécrose du collet de Colza. - Thèse 3ème cycle, Lille, 1970, 87.
- CAPORALI M.L. — Sur la formation des suçoirs de Sphaerotheca pannosa (Wallr.) Lev. var. rosae dans les cellules épidermiques des folioles de Rosa pourini Tratt. - C.R. Ac. Sc., 1960, 250 (13), 2415-2417.
- CATLING — Benomyl, a broad spectrum fungicide. - 5th Brit-Insect. and Fung. Conf., 1969, 298-309.
- CHANCOGNE M. & H. NAKAMURA — Méthode biologique de dosage des résidus de captane. - Phyt. Phytoph., 1960, 9, (1), 3-6.
- CHANCOGNE M. & M. GREDT — Etude au laboratoire de l'efficacité fongicide du benomyl. - Phyt. Phytoph., 1969, 18 (1), 9-13.
- CHEREWICK W.J. — Studies on the biology of Erysiphe graminis D.C. - Canad. J. Res. Counc., 1944, 22, 52-86.
- CHIN W.T. — Metabolism of carboxin by barley and wheat plants. - J. Agr. Food Chem., 1970, 18 (4), 709-712.
- CLEMONS G.P. & H.D. SISLER — Formation of a fungitoxic derivative of Benlate. - Phytopath., 1969, 59 (5), 705-706.
- CLEMONS G.P. & H.D. SISLER — Localization of the site of action of a fungitoxic benomyl derivative (B.M.C.). - Pestic. Biochem. and Physiol., 1971, 1 (1), 32-43.

- CORNER E.J.H. — Observations on resistance to powdery mildews. - New Phytol., 1935, 34, 180-200.
- D'ANGREMOND P.M. — Further investigations on the control of the field fungus (*Oidium* sp.) in the Vorstenland. (Abstr.) - Rev. appl. Mycol., 1925, 4, 130-131.
- DARPOUX H., M. ARNOUX & A. LEBRUN — Recherches sur les maladies cryptogamiques de la betterave. - Trav. Stat. centr. Path., Versailles 1956.
- DARPOUX H., Th. STARON, E. VENTURA & J. BOURDIN — Essais d'efficacité du thiabendazole sur la tavelure du Poirier (*Venturia pirina*). - Phyt. Phytoph., 1966, 15, (2), 121-129.
- DARPOUX H., E. VENTURA & R. CASSINI — Activité fongicide du thiabendazole vis-à-vis des principaux champignons parasites des semences de céréales. - Phyt. Phytoph., 1968, 17, (3), 219-237.
- DARROW G.H., D.H. SCOTT & A.C. GOHEEN — Relative resistance of strawberry varieties to powdery mildew at Beltsville Maryland. - Plant. Dis. Reprt., 1954, 30, 864-866.
- DECKENBACH K.N. — On mildew fungi parasiting Cucurbitaceae and tobacco on the south coast of the Crimea. - Morbi plantarum, Lenigrand, 1924, 13, 98-102. (Rev. appl. Mycol., 1926, 5, 70-71).
- DECKENBACH K.N. & M.S. KORENEFF — Contribution to the study of the mildew fungi of plantation crops in Crimea. - Rev. appl. Mycol., 1928, 7, 273.
- DEKKER J. — Internal seed disinfection of peas infected by *A. pisi* by means of the antibiotics rimocidin and pimaricin and some aspects of the parasitism of this fungus. - T. Pl.-Ziekten, 1957, 63, 65-144.
- DEKKER J. — Systemic activity of procaine hydrochloride on powdery mildew. - T. pl. Ziekten, 1961, 67, 25-27.
- DEKKER J. — Systemic control of powdery mildew by 6-azauracil and some other purine and pyrimidine derivatives. - Mededel. Landb. Opr. Staat, Gent., 1962, 27, 1214-1221.
- DEKKER J. — Antibiotics in the control of plant diseases. - Ann. Rev. Microbiol., 1963, 17, 243-262.
- DEKKER J. & A.J.P. OORT — Mode of action of 6-azauracil against powdery mildew. - Phytopath., 1964, 54 (7), 815-818.

- DEKKER J. & P.A. ARK — Penetration and stability of GS-1 in plant tissue. - Physiol. plantarum, 1959, 12, 888-892.
- DELP C.J. & KLOPPING — Performance attributes of a new fungicide and mite ovicide candidate. - Pl. Dis. Reprt., 1968, 52 (2), 95-99.
- DEKHUIJZEN H.M. — A paper chromatographic method for the demonstration of fungitoxic transformation products of sodium dimethyl dithiocarbamate in plants. - Meded. Ladb. Opr. Staat., Gent., 1962, 26, 1542-1547.
- DEKHUIJZEN H.M. — The systemic action of dithiocarbamates on cucumber scab caused by Cladosporium cucumerinum and the conversion of these compounds by plants. - Netherl. J. Plant. Pathol., 1964, 70, suppl. 1, 1-75.
- DOMA S., D.R. CLIFFORD & R.J.W. BYRDE — Experiments with some of the newer systemic fungicides on apple and marrow. - Pest. Sc., 1971, 2, 197-200.
- DOUCHET J.P. & al. — Efficacité des thiophanates contre l'oidium des Cucurbitacées. - (Symp. Thioph.) Marseille 1971, 71-77.
- DOUCHET J.P. & G. QUERE — Efficacité des thiophanates contre la cercosporiose de la betterave. - (Ibid.), 108-111.
- DOUCHET J.P. & G. QUERE — Efficacité de thiophanates contre la tavelure du pommier. - (Ibid.), 126-130.
- DOUCHET J.P. & L. PENCHI — Action des thiophanates contre l'oidium de la vigne. - (Ibid.) 155-159.
- ECKERT J.W. — Chemical treatments for control of post harvest diseases. - World Rev. Pest. Contr., 1970, 8, (3), 116-137.
- EDGINGTON L.V. & al. — Fungitoxic spectrum of benzimidazole compounds Phytopath., 1971, 61, 42-44.
- ELIAS R.S., H.C. SHEPHARD, B.K. SNELL & J. STUBBS. — 5-n-Butyl-2-dimethylamino-4-hydroxy-6-methyl pyrimidine : a systemic fungicide. - Nature London, 1968, 219, 1160.
- ERWIN D.C., H. MEE & J.J. SIMS — The systemic effect of 1-butylcarbamoyl-2-benzimidazole carbamic acid methyl ester on Verticillium wilt of cotton. - Phytopath., 1968, 58 (4), 528-529.
- ERWIN D.C., SIMS J.J. & PATRIDGE J. — Evidence for the systemic fungitoxic activity of 2-(4-thiarolyl)benzimidazole in the control of Verticillium wilt of cotton. - Phytopath., 1968, 58, 860-865.

- ERWIN D.C. — Methods of determination of the systemic and fungitoxic properties of chemical applied to plants with emphasis on control of Verticillium wilt with thiabendazole and Benlate. - World Rev. Pest. Contr., 1969, 8, (1), 6-22.
- ERWIN D.C. — Progrès réalisés dans l'obtention de produits chimiques fongitoxiques endothérapeutiques pour combattre les maladies des plantes. - Bull. phytosanit. F.A.O., 1970, 18, (4), 73-88.
- ESTIMEYEFF P.G. — Diseases of cultivated and wild plants in the djetys-sony region in the period 1922-24. - Rev. appl. Mycol., 1925, 4, 1125.
- EVANS E. — Systemic fungicides in practice. - Pest. Sc., 1971, 2, 192-196.
- FOEX E. — Les conidiophores des Erysiphaceen. - (Ann. Ec. nat. Agr.) Montpellier, 1912, 11, 246-264.
- FOMIN E.E. & V.H. RUNDAEVA — Biology of the causal agent of powdery mildew on cucumbers and the resistance of varieties to the disease. - Rev. appl. Mycol., 1966, 314.
- FORMIGONI A., G. CASTAGNA & P. CIOSCA — Activité comparée du thiophanate et du thiophanate méthyle contre plusieurs maladies cryptogamiques des plantes. - VIIe congr. Inter. Prot. Pl., 1970, 201-202.
- FORSYTH W. — A treatise on the culture and management of fruits trees. - London, 1802. (cité par TWEEDY, 1967).
- FRITZ R. — Etude de l'efficacité du bénomyl contre Leptosphaeria maculans (Desm.) Ces. et de Not., agent de la verve parasitaire du Colza d'hiver (var. sensibles) Mem. Dipl. Etud. Approf. Univ., Lille, 1971, 44.
- GEOGHEGAN M.J. — Pyrimidine fungicides. - Proceedings, Proc. 5th Brit. Insect. Fungi Conf., 1969, 2.
- GILPATRICK J.D. — Systemic activity of benzimidazoles as soil drenches against powdery mildew of apples and cherries. - Pl. Dis. Repr., 1969, 53, 721-725.
- GODFERY, G.H. — Cantaloupe powdery mildew control with dinitro-capryl-phenyl-crotonate (Karathein) - Phytopath., 1952, 42, 355.
- GOLDBERG C.W., H. COLE & J. DUICH — Comparison of systemic activity of thiabendazole and benomyl soil amendments against Sclerotinia homeocarpa and Rhizoctonia solani in the green house. - Pl. Dis. Repr., 1970, 54.
- GORTER G.I.M.A. — Powdery mildew fungus on cucurbits in the Transvaal province of South Africa. - Nature, 1966, 209, 938 (abstr., Rev. appl. Mycol., 45, 354).
- GRAMLICH J.V. — Characteristics and field performance of a new broad spectrum systemic fungicide. - Proc. 5th Br. Insect. Fung. Conf., 1969.

- HAMMETT K.R.W. — Root application of a systemic fungicide for control of powdery mildews. - Pl. Dis. Repr., 1968, 52 (10), 754-758.
- HAMMARLUND C. — Beiträge zur Revision einiger Imperfekten, Mehltau Azten, Erysiphe polyphaga nov. sp. - Bot. Not., 1945, 101-108.
- HASCOET M. — Les résidus de pesticides dans le sol. - Bull. tech. Inform 1970, 252, 563-577.
- HASHIOKA Y. — Relation of temperature and humidity to Sphaerotheca fuliginea (Schl.) Poll. with special reference to germination, viability and infection. - Trans. nat. Hist. South Formosa, 1937, 27, 129-145.
- HASTIE A.C. — Benlate induced instability of Aspergillus diploids. - Nature, 1970, 226, 771.
- HINE R.B., D.L. JOHNSON & C.J. WENGER — The persistency of two benzimidazole fungicides and their fungistatic activity against Phymatotrichum omnivorum. - Phytopath., 1969, 59, (6), 798-801.
- HINE R.B., D.L. JOHNSON, C.J. WENGER & SIMBWA-BUNNYA — Studies on uptake and translocation of Benlate in cotton. - Proc. 1969 Beltwide Cott., Prod. Res. Conf., 29 th Cotton Disease Council, 27.
- HIRATA K. — The haustorium of some powdery mildews. - Ann. phytopath. Soc. Japan, 1937, 6, 319-334.
- HIRATA K. — On the shape of the germ tubes of Erysiphaceae. - Bull. Chi-ba Coll. Hort., 1942, 5, 34-49.
- HIRATA K. — On the shape of the germ tubes of Erysiphae. - Summary Repr. in Bull. Fac. Agr. Niigata Univ., 1955, 7.
- HIRATA K. & K. TOGASHI — Some observations on the relation between the penetration hypha and haustorium of the barley mildew and the host (III). 1 : Initial infection of auxiliary cell ; 2. Increment of susceptibility by calcium salt. - Ann. phytopath. Soc. Japan, 1957, 22, 230-236.
- HIRST J.M. — Changes in atmospheric spore contact diurnal periodicity and the effects of the weather. - Trans. Brit. mycol. Soc., 1953, 36, 375-393.
- HOMMA J. — Erysiphaceae of Japan. - J. Fac. Agr. Hokkaido Univ., 1937, 38, 183-461.
- ISHII K. — New fungicides, Thiophanate and its derivatives. - VIIIe Cong. Int. Prot. Pl. - Paris, 1970, 200.
- IVANOFF B. — Experiments with the mineral sulfur in the control of some mildews of our cultivated plants. - Bulgarian Fruit Growing, 1928, 9, 180-184. (Rev. appl. Mycol., 8, 258, 1929).

- JHOOTY J.S. — Identity of powdery mildew of cucurbits in India. - Pl. Dis. Reprt., 1967, 51 (12), 1079-1080.
- JOHANSEN D.A. — Plant Microtechnique. - N.Y. and London, 1940, 523.
- KLIKA J. — Some observations on the biology of mildew. - Ann. appl. Mycol., 1922, 1, 1422.
- KRUGER W. — Antibiotics as seed protectants. - S. Afr. J. Agr. Sc., 1960, 3, 409-418.
- LAFON R. — Les maladies du concombre dans le Sud-Ouest. - Rev. appl. Mycol., 1965, 44, 428.
- LAFON R., Y. BUGARET, A. BEYRIES & A. SAVIO — Nouveaux fongicides efficaces contre l'oidium des Cucurbitacées. (E. cichoracearum f. cucurbitae D.C.). - Phyt. Phytoph., 1966, 15, (2), 135-142.
- LAFON R. & Y. BUGARET — La lutte contre l'oidium des Cucurbitacées. - VIIème Congr. int. Prot. Pl., Paris, 1970.
- LAFON R. & al. — Mode d'action et efficacité de nouveaux fongicides contre la pourriture grise de la vigne (Botrytis cinerea Pers.) - Symp. Thioph Marseille, 1971, 133-143.
- LEROUX P. — Etudes sur les fongicides systémiques, bénomyl et carboxine. - Rapp. fin Etudes, Ec. nat. Sup. Agr. Rennes. - 1970.
- LEROUX P. & M. GREDT — Etudes au Laboratoire des propriétés fongicides des thiophanates. - Symp. Thioph. Marseille, 1971.
- LEROUX P. & M. GREDT. — Devenir de la carboxine utilisée en enrobage de semences de blé : absorption, transport, et dégradation (à paraître, in Phyt. Phytoph.)
- LONGREE — The effect of temperature and relative humidity on the powdery mildew of roses. - Mem. 223, Cornell. agric. Exper. Stat., 1939, 43.
- LOO Y.M. & al. — Assay of streptomycin by paper disc plate method. - J. Bact., 1945, 50, 701-709.
- LOUVET — Les maladies des plantes. - Publ. I.N.R.A., 1971, 71, (1), p. 256.
- MATER C.R. & C.E. HORNER — Absorption and translocation of streptomycin by hops. - Phytopath., 1957, 47, 528.
- MAIRE R. — Etudes mycologiques. - Bull. Soc. mycol. France, 46, (3-4), 1931, 215-244, (Abstr. in Rev. appl. Mycol., 10).
- MANNERS J.G. & S.H.H. HOSSAIN — Effects of temperature and humidity on conidial germination in Erysiphe graminis. - Trans. Br. mycol. Soc., 1963, 46, 225-234.

- McKEEN C.D. -- Observations on the occurrence and control of powdery mildew on greenhouse cucumbers in Ontario. - Pl. Dis. Repr., 1954, 38, 860-863.
- MERCER R.T. -- Some studies of the systemic activity of the thiophanate fungicides in plants. - Pest. Sci., 1971, 2, 214-218.
- MESSIAEN C.M. & R. LAFON -- Les maladies des plantes maraichères. - Publ. I.N.R.A., 1970, 6-70.
- MEYER W.A., J.F. NICHOLSON & J.B. SINCLAIR -- Translocation of benomyl in creeping Bentgrass. - Phytopath., 1971, 61 (10), 1198-1200.
- MORQUER R. -- Double réactif des lignines et des celluloses. - Bull. Soc. Bot. Fr., 1929, 76 (1), 516-520.
- NEGER F.W. -- Beiträge zur Biologie der Erysiphaceen. - Flora, 1902, 90, 221-272.
- NETZER D., I. DISHON & J. KRIKUN -- Control of some diseases on greenhouse grown vegetables with benomyl as related to studies of its movement. - VIIème Congr. Int. Pr. Pl., 1970, PARIS.
- OORT A.J.P. & J. DEKKER -- Experiments with rimocidin and pimaricin, two fungicidal antibiotics with systemic action. - 1960, Proc. 4th int. Congr. Crops Protect., Hamburg 1957, II, 1565-1567.
- PAPAVIZAS & al. -- Survival of root-infecting fungi in soil, XIV. Effect of amendments and fungicides on bean root rot caused by Thielaviopsis basicola. - Pl. Dis. Repr., 1970, 54, 114-118.
- PAULUS A.D. & al. -- Control of powdery mildew of cucurbits with systemic and non systemic fungicides. - Pl. Dis. Repr., 1969, 53 (10), 813-816.
- PAULUS A.D. & al. -- Timing interval for control of Septoria leaf spot of celery. - Pl. Dis. Repr., 1970, 54, 531-535.
- PERIES O.S. -- Studies on strawberry mildew. - Ph. D. Thesis, Bristol Univ., 1961.
- PETERSON A.C. & EDGINGTON L.V. -- Quantitative estimation of the fungicide benomyl using a bioautograph Technique. - J. Agr. and Food Chem. 1969, 898.
- PETERSON C.A. & L.V. EDGINGTON -- Translocation of the fungicide benomyl in bean-plantes. - Phytopath., 1969, 59, 8, 1044.
- PETERSON A.C. & L.V. EDGINGTON -- Transport of the systemic fungicide benomyl in bean plants. - Phytopath., 1970, 60 (3), 475-478.
- PETERSON A.C. & L.V. EDGINGTON -- Transport of benomyl into various plants organs. - Phytopath., 1971, 61 (1), 91-92.

- POTEZKY V.S. — Sphaerotheca fuliginea (Schl.) Poll. A new record of the ascus stage of S. fuliginea on melon. - Rev. appl. Mycol., 1924, 3, 665.
- PREIZER & al. — The fungicidal and spectrum of thiabendazole and its effectiveness against fruit and field crop diseases. - VIIe Congr. int. Prot. Pl., Paris 1970, 928.
- RAGIMOV V.A. — Powdery mildew on cucurbits and control measures in conditions of western districts of Azerbaijan S. S.R. - Rev. appl. Mycol., 1964, 45.
- RANDALL T.E. & J.D. MENZIES. — The perithecial stage on the cucurbit powdery mildew. - Pl. Dis. Repr., 1956, 3, 255.
- REED G.M. — Infection experiments with Erysiphe cichoracearum D.C. - Bull. Univ. Wisconsin Sc. Serie III, 1908, 250, 341-416.
- RILEY C.V. — The powdery mildews of the grape vine and an effectual remedy for Peronospora. - Proc. amer. pom. Soc., 1886, 49-54.
- RODER K. — Perithecia of Erysiphe cichoracearum (D.C.) Salm. on Outdoor Cucumbers. - Rev. appl. Mycol., 1937, 16, 653.
- RUDENKO N.M. — Specific composition and biocological characteristics of the causal agents of powdery mildew of Cucurbitaceae under Moldavian conditions. - Rev. appl. Mycol., 1968, 48 (4), 179, 1969.
- SAREJIANNIS — Fungi of Greece. - Ann. Inst. Benaki., 1935 1 (2), 15.
- SAWADA K. — The classification of the Erysiphaceae based on the conidial stages. - Formosa Agr. Exp. Stat., Spec. Rep., 1914, 9, 1-102.
- SCHROEDER W.T. & R. PROVVIDENTI — Systemic control of powdery mildews on cucurbits with fungicide 1991 applied as soil drenches and seed treatments. - Pl. Dis. Repr., 1968, 52, 8, 630-32.
- SCHWEIZER J. — Over Erysiphaceen (Mulcauschimmels) van Java. - (Abst. in Rev. appl. Mycol., 1928, 7, 627-675.)
- SCHLUTER K.M. — Réactions provoquées par l'Erysiphe graminis sur l'épiderme de deux variétés d'orge, l'une sensible, Proctor, l'autre partiellement résistance, Nigrate. - C.R. Acad. Sc. Paris, 1970, 271, 920-923.
- SEMPIO C. — Sulla resistenza agli attacchi di Erysiphe graminis tritici offerta dall'Avena, dal Granoturco e dal Frumento esposto a luce continua. - Abst. in Rev. appl. Mycol., 1943, 26, 538, 1947.
- SINCLAIR J.B. — Recent advance in the study of systemic fungicides. - 1970, (non publié), 11p.

- SIMS J.J., H. MEE & D.C. ERWIN — Methyl-2-benzimidazole carbamate, a fungitoxic compounds isolated from cotton plants treated with methyl-1-(butylcarbomoyl)-2-benzimidazole carbamate (benomyl.) - Phytopath., 1969, 59, 1775-1776.
- SNEL M. & L.V. EDGINGTON — Uptake, translocation and decomposition of systemic oxathiin in beans. - Phytopath., 1970, 60 (12), 1708-1716.
- SOLEL Z. — The systemic fungicidal effect of benzimidazole derivatives and thiophanate against Cercospora leaf spot of sugarbeet. - Phytopath., 1970, 60, 1186-1190.
- STARON T. & C. ALLARD — Propriétés antifongiques du 2-(4-thiazolyl) benzimidazole ou thiabendazole. - Phyt. Phytoph., 1964, 13, (3), 163-168.
- STARON T., C. ALLARD, H. DARPOUX, H. GRABOWSKI & A. KOOLMANN — Resistance du TBZ dans les plantes. Propriétés systémiques de ses sels et quelques données nouvelles sur son mode d'action. - Phyt. Phytoph. 1966, 15 (2), 129-134.
- STOKES A. — Uptake and translocation of griseofulvin by wheat seedlings. — Plant Soil., 1954, 5, 132-142.
- STONE O.W. — Alternate hosts of cucumber powdery mildew. — Ann. appl Biol., 1962, 50, 203-210.
- SZEMBEL S.J. — Control of powdery mildew of cucumbers by means of disodium hydrogen ortho-arsenate. - Comment. Inst. Astrachanensis ad. detensionem Plantarium, 1930, 2, 21-31. (Abst. in Rev. appl. Mycol., 1931, 10, 500-501).
- TAFRADZHIISKI I. — Powdery mildew on Cucurbitaceae. The pathogens and their biology (S. fuliginea and E. cichoracearum). - Rev. appl. Mycol. 1964, 334.
- THAPLIYAL P.N. — Systemicity and fungicidal activity of three systemic fungicides in soybean. - Ph. D. thesis, Illinois Univ., 1970, 45 p.
- THAPLIYAL P.N. & J.B. SINCLAIR — Uptake of three systemic fungicides by germinating soy bean seeds. - Phytopath., 1970, 60 (9), 1373-1375.
- THORNBERRY H.H. — A paper disk plate method for the quantitative evaluations on fungicides and bactericides. - Phytopath., 1950, 40, 419-429.
- TIETZ H. — Höfchen Briete, 1954, 7, 1-56 (Cité par VIEL G., 1956).
- TRELEASE S.F. & H.M. TRELEASE — Susceptibility to wheat as influenced by salt nutrition. - Bull. Torrey bot. Club., 1928, 55, 41-57.
- TWEEDY B.G. — Elemental Sulfur. - Torgesson Fongicides N.Y. and London, 1967, II, 119-140.

- UNTERSTENHOFER G. — Probleme und Aussichten der inneren Therapie bei Pflanzen. - Mitt. Biol. Bundesanst. Land und Forstwirtschaft. - Berlin, 1954, 80, 51-64.
- VENTURA E., J. BOURDIN, G. BERTHIER & P. DAURADE — Efficacité du méthylthiophanate vis-à-vis de l'oidium du pommier : Podosphaera leucotricha (Ell. et Ev.) Salm. - Symp. Thioph., Marseille 1971, 114-118.
- VENTURA E. & al. — Efficacité des thiophanates vis-à-vis de la tavelure du poirier : Venturia pirina (Aderch.) Syd. - ibid., 1971, 111-114.
- VENTURA E. & al. — Efficacité du méthylthiophanate vis-à-vis de l'oidium du rosier : Sphaerotheca pannosa var. rosae Gor. - ibid., 1971, 170-174.
- VERESCEAGHIN B. — Enemies of cultivated plants in Bessarabia in 1926. Ann. appl. Mycol., 1929, 8.
- VIENNOT-BOURGIN G. — Contribution à la connaissance de la mycoflore de l'Archipel de Madère. - Ann. Ec. nat. Agric. Grignon, 1939, 69, 171.
- VIENNOT-BOURGIN G. — Les champignons parasites des plantes cultivées. (Masson et Cie, Paris, 1949).
- VIENNOT-BOURGIN G. — Mildious, Oïdiums, Caries, Charbons, et Rouilles des Plantes de France (P. Lechevalier, Paris, 1956).
- VIENNOT-BOURGIN G. — Les Erysiphacées. - Cours. Inst. nat. Agr. 33, 1965.
- VIENNOT-BOURGIN G. — Un Erysiphe du haricot en serre. - Ann. Phytopath., 1 (3), 473-489. 1969.
- VIDENOVA — Efficient measures against powdery mildew of Cucumber. - Rev. appl. Mycol., 1960, 39, 146.
- VIEL G. — Les insecticides endothérapeutiques. - Prod. Pharmaceutiques, 1956, 11 (11), 787-795.
- VIR D. & B.S. BAJAJ — Studies on the uptake and translocation of fungicides in plantes. I. Upward translocation of seed-applied mercury 203 and sulfur 35. - Indian Phytopath., 1963, 16, 395-397.
- VOLGER C. — Über die Möglichkeit einer systemischen Wirkung von T.M. T.D. Präparaten. - Mededel. Landb. Staat - Gent., 1959, 24, 837-848.
- WAIN R.L. & G.A. CARTER — Uptake, translocation and transformations by higher plantes. - Torgesson "Fungicides", 1967, 1, 561-597.

- WELZIEN H.C. — Ein biologischer Test für fungizide substanzen auf dem Papierchromatogramm. - Naturwiss., 1958, 45, 288.
- WELZIEN H.C. & STENDEL — Studies on the germination and biology of conidia of Uncinula necator (Schw.) Burr. Höfchen-Briete, 1959, 12, 29-52.
- YARWOOD C.E. — Reversible phototropism of the germ tubes of clover powdery mildew. - Phytopath., 1932, 22, 31.
- YARWOOD C.E. — The diurnal cycle of development of Erysiphe polygoni. - Ph. D. thesis Wisc. Univ., 1934 (Cité par YARWOOD, 1957).
- YARWOOD C.E. — The tolerance of Erysiphe polygoni and certain others powdery mildews to low humidity. - Phytopath., 1936, 26, 845-849.
- YARWOOD C.E. — Water loss from fungus cultures. - Ann. J. Bot., 1947, 34, 514-520.
- YARWOOD C.E. — Effect of soil moisture and nutrient concentration on the development of bean powdery mildew. - Phytopath., 1949, 39, 780-788.
- YARWOOD C.E. — Effect of temperature on the fungicidal action of sulfur. - Phytopath., 1950, 40, 173-180.
- YARWOOD C.E. — Humidity requirements of foliage pathogens. - Pl. Dis. Repr., 1956, 40, 318-321.
- YARWOOD C.E. — Powdery mildews. - Bot. Rev., 1957, 23, 235-301.
- ZARACOVITIS C. — Factors in testing fungicides against powdery mildew. - Ph. D. Thesis Bristol Univ., 1964.
- ZAPROMETOFF N.G. — Diseases of cultivated plants in Middle Asia - Ann. appl. Mycol., V, 1925, 1926.
- ZOPF W. — Veber einen neuen infrakt Körper in pflanzlichen Zellen Ber. deutsch. - Bot. Gesellschaft, 1887, Bd. 5.