



**HAL**  
open science

## **PEPS - Evaluation et optimisation de l'utilisation de stimulateurs de défense des plantes (SDP) dans les stratégies de protection phytosanitaire en verger de pommier.**

Matthieu Gaucher, Arnaud Lemarquand, Gilles Orain, Giraud M., J. Le Maguet, C. Coureau, A. Leblois, Belleveaux C., Sebastien Cavaignac, M.E. Biargues, et al.

### ► **To cite this version:**

Matthieu Gaucher, Arnaud Lemarquand, Gilles Orain, Giraud M., J. Le Maguet, et al.. PEPS - Evaluation et optimisation de l'utilisation de stimulateurs de défense des plantes (SDP) dans les stratégies de protection phytosanitaire en verger de pommier.. Innovations Agronomiques, 2020, 79, pp.159-171. 10.15454/bj5s-1232 . hal-03098372

**HAL Id: hal-03098372**

**<https://hal.inrae.fr/hal-03098372v1>**

Submitted on 5 Jan 2021

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

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



Distributed under a Creative Commons Attribution - NonCommercial - NoDerivatives 4.0 International License

## **PEPS : Evaluation et optimisation de l'utilisation de stimulateurs de défense des plantes (SDP) dans les stratégies de protection phytosanitaire en verger de pommier**

**Gaucher M.<sup>1</sup>, Lemarquand A.<sup>2</sup>, Orain G.<sup>2</sup>, Giraud M.<sup>3</sup>, Le Maguet J.<sup>4</sup>, Coureau C.<sup>5</sup>, Leblois A.<sup>6</sup>, Belleveaux C.<sup>7</sup>, Cavaignac S.<sup>8</sup>, Biargues M.E.<sup>9</sup>, Koké E.<sup>9</sup>, Bérud M.<sup>10</sup>, Créte X.<sup>11</sup>, Ondet S.J.<sup>12</sup>, Meynard J.<sup>13</sup>, Brisset M.N.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> IRHS, UMR 1345 INRAE/Agrocampus-Ouest/Université d'Angers, 42 rue Georges Morel, F-49071 Beaucouzé

<sup>2</sup> UE Horti, INRAE, 42 rue Georges Morel, F-49071 Beaucouzé

<sup>3</sup> CTIFL, Centre de Lanxade, 28 Route des Nébouts, F-24130 Prignonieux

<sup>4</sup> IFPC, La Rangée Chesnel, F-61500 Sées

<sup>5</sup> CTIFL, Station d'Expérimentations de La Morinière, F-37800 Saint Epain

<sup>6</sup> La Morinière, Station d'Expérimentations de La Morinière, F-37800 Saint Epain

<sup>7</sup> Invenio, Station de la Faye, F-87500 Saint Yrieix la Perche

<sup>8</sup> Invenio, Station de Prayssas, Frégimont, F-47360 Prayssas

<sup>9</sup> CEFEL, 49 chemin des Rives, F-82000 Montauban

<sup>10</sup> Station d'Expérimentation arboricole La Pugère, Chemin de la Barque de Malespine, F-13370 Mallemort

<sup>11</sup> SudExpé Mas de Carrière, F-34590 Marsillargues

<sup>12</sup> GRAB, 255 chemin de la Castelette, BP 11283, F-84911 Avignon

<sup>13</sup> Lycée Horticole de Niort, 130 route de Coulonges, F-79011 Niort

**Correspondance:** marie-noelle.brisset@inrae.fr

### **Résumé**

Activer le système immunitaire des plantes à l'aide de stimulateurs de défense des plantes (ou SDP) pourrait contribuer à la diminution des pesticides mais leur utilisation pratique pose encore beaucoup de questions. Le projet PEPS a eu pour objectif, en ciblant le pommier, i) de faire le tri dans l'offre actuelle, ii) de définir et d'appliquer des protocoles d'intégration en verger vis-à-vis de la tavelure et des maladies de conservation du fruit et iii) d'approfondir en conditions contrôlées les connaissances sur ces produits. Cinq produits sélectionnés ont ainsi pu être évalués en verger au sein d'un réseau multi-local regroupant une unité expérimentale INRAE, les instituts techniques de la pomme et les stations d'expérimentation régionales. Les résultats montrent qu'il est possible de révéler des effets de protection significatifs avec des SDP tout en réduisant l'application de fongicides. Une régularité d'effet n'a pu être obtenue cependant qu'avec un des SDP et que sur une des deux cibles. La variabilité d'efficacité observée montre qu'il est indispensable de continuer à étudier les facteurs susceptibles d'interagir avec l'action des produits. Les travaux en conditions contrôlées ont permis de progresser sur les caractéristiques des SDP, en révélant que i) leur effet ne persiste que dans les organes présents au moment du traitement, ii) leur efficacité peut être perturbée par des facteurs abiotiques, iii) peu d'intrants interagissent avec eux et si interaction il y a, elle est plutôt additive, iv) leur application au printemps et en pré-récolte ne provoque pas l'accumulation d'allergènes et v) leur spectre d'action s'élargit au feu bactérien et au puceron cendré pour les plus efficaces. Le projet PEPS a apporté de nouveaux éléments sur l'utilisation des SDP dans la lutte phytosanitaire du verger, et permet aujourd'hui de mieux définir les prochaines pistes d'optimisation.

**Mots-clés :** Stimulateurs de défense des plantes (SDP), pommier, criblage, caractérisation, itinéraires techniques, protocoles, tavelure, maladies de conservation.

## **Abstract: PEPS: Evaluation and optimization of the use of plant defense stimulators (PPS) in plant protection strategies in apple orchards**

Activating the plant immune system with plant resistance inducers (or PRIs) could help reducing pesticides, but their practical use still raises many questions. The objective of the PEPS project, targeting apple orchards, was to i) sort through the current supply, ii) define and apply orchard integration protocols for apple scab and post-harvest diseases, and iii) increase knowledge of these products under controlled conditions. Five selected products were evaluated in orchards within a multi-local network including an INRAE experimental unit, apple technical institutes and regional experimental stations. The results showed that it is possible to reveal significant protective effects with PRIs while reducing fungicide application. However, a regularity of effect could only be obtained with one of the PRIs and only on one of the two targets. The observed variability in efficacy showed that it is essential to continue to study the factors that may interact with the action of the products. Work under controlled conditions has made it possible to achieve progress on the characteristics of PRIs, revealing that i) their effect only persists in the organs present at the time of treatment, ii) their efficacy may be disrupted by abiotic factors, iii) few inputs interact with them and when there is interaction, it is mainly additive, iv) their application in spring and pre-harvest does not cause allergen accumulation and v) their spectrum of action extends to fireblight and rosy aphid for the most effective one. The PEPS project provided new information on the use of PRIs in orchard phytosanitary control, and now makes it possible to better define the next steps for optimization.

**Keywords :** Plant resistance inducer (PRI), apple, screening, characterization, crop management programs, protocols, apple scab, post-harvest diseases.

## **Introduction**

### **Contexte**

Les stimulateurs de défense des plantes, ou SDP, représentent une nouvelle génération d'intrants phytosanitaires destinés non pas à détruire directement les bioagresseurs mais à forcer les cultures à activer leur propre système immunitaire pour diminuer leur sensibilité aux maladies. Si des résultats significatifs de protection vis-à-vis de bioagresseurs sont parfois obtenus en serre, dans des conditions semi-contrôlées, il est plus difficile de faire fonctionner ces produits au champ, pour de multiples raisons invoquées comme l'influence des conditions environnementales ou encore un certain délai d'action entraînant des difficultés de positionnement (Walters et al., 2013).

Aux côtés des SDP, homologués en tant qu'intrants phytosanitaires, les biostimulants représentent une autre catégorie de stimulateurs des plantes, homologués, eux, en tant que matières fertilisantes, et destinés à améliorer la croissance et le développement et à augmenter la résistance des cultures aux stress abiotiques. Malgré cette différenciation réglementaire claire, une certaine confusion existe entre ces deux catégories de produits, avec des revendications parfois ambiguës côté biostimulants et des possibilités de convergence en ce qui concerne les mécanismes activés.

### **Objectifs du projet**

L'objectif du projet PEPS a été de faire le tri dans l'offre actuelle de stimulateurs des plantes, SDP et biostimulants, en repérant au laboratoire les inducteurs de défense les plus performants au niveau moléculaire chez le pommier (Action 1), puis de focaliser les efforts sur ces candidats pour comprendre comment les intégrer dans les itinéraires techniques du verger (Action 2). Deux problèmes phytosanitaires ont été ciblés : la tavelure, maladie fongique due à *Venturia inaequalis*, nécessitant à elle seule 15 à 20 traitements pesticides par an, et les gloeosporioses, maladies fongiques de conservation de la pomme dont le principal agent est *Neofabraea alba*. En parallèle des

expérimentations au verger, le travail en conditions semi-contrôlées a été poursuivi pour identifier les facteurs de variation d'efficacité de ces produits et évaluer d'éventuels effets additionnels positifs comme négatifs (Action 3).

### Partenaires du projet

Le projet a réuni deux unités INRAE (49) dont une UMR de recherche (IRHS) et une unité expérimentale (UE Horti), les deux instituts techniques du pommier, le CTIFL (24) et l'IFPC (61), cinq stations expérimentales régionales réparties sur les trois bassins de production du pommier : la Morinière (37), Invenio (47), le Cefel (82), SudExpé (34), la Pugère (13), et enfin le GRAB (84) et le Lycée Horticole de Niort (79).

## 1. Action 1 – Screening des produits ayant des activités SDP

### 1.1 Objectifs et démarches

L'objectif de cette action a été de faire un état des lieux des produits actuellement commercialisés et revendiquant plus ou moins clairement une capacité à induire les défenses des plantes, voire des produits en développement. Cette propriété d'induction de défense sur pommier a ensuite été vérifiée afin de sélectionner les 5 produits les plus performants pour les Actions 2 et 3. Le verger de pommier recevant par ailleurs une grande diversité d'intrants pouvant potentiellement interférer avec des traitements SDP, cette action a été élargie à ces autres catégories (pesticides, éclaircisseurs, fertilisants foliaires) pour vérifier s'ils n'auraient pas eux-mêmes une capacité insoupçonnée à éliciter les défenses.

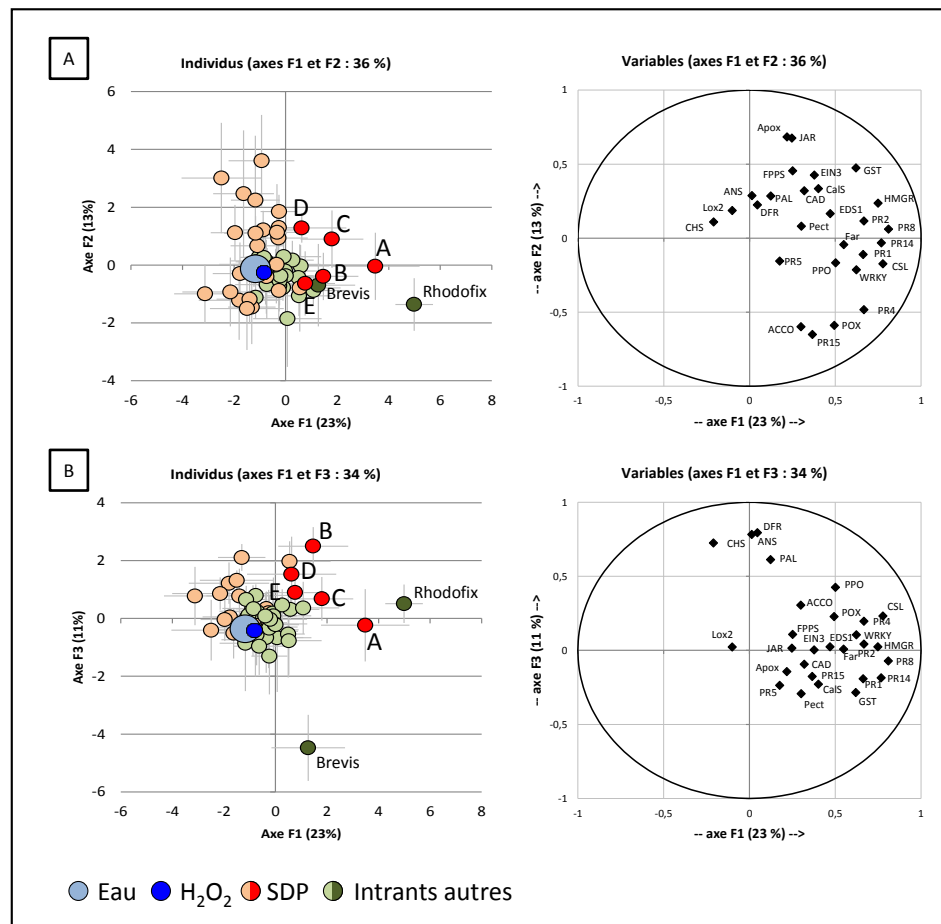
La démarche expérimentale a été de traiter des semis de pommier par pulvérisation, puis de comparer le niveau de défense obtenu sur une cinétique de trois jours après traitement (J1, J2 et J3) avec celui de plantes traitées à l'eau, selon la méthode qPFD développée par l'INRAE (Brisset et Dugé de Bernonville, 2011 ; Dugé de Bernonville et al., 2014). Cet outil moléculaire, basé sur l'analyse de transcription de gènes par PCR quantitative, permet de quantifier simultanément 28 marqueurs appartenant aux grandes voies de défense des plantes : protéines PR (Pathogenesis-Related), voies du métabolisme secondaire (phénylpropanoïdes, isoprénoides, cystéine), système antioxydant, modifications pariétales, voies de signalisation hormonale (acide salicylique, acide jasmonique, éthylène) (Hammond-Kosack et Jones, 1996). A noter que la moitié de chaque modalité a reçu une pulvérisation surnuméraire d'H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> le lendemain des traitements pour mimer une attaque de bioagresseur et révéler un éventuel effet potentialisateur des produits.

### 1.2 Résultats

Au total 28 produits de stimulation, vendus comme SDP ou biostimulants, ont été sélectionnés ainsi que 30 intrants vendus comme fongicides, insecticides, éclaircisseurs ou fertilisants foliaires. Ils ont chacun été intégrés dans deux expérimentations indépendantes, chaque expérimentation fournissant 5 échantillons de feuilles prélevées à J1, J2 ± H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> et J3 ± H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. La Figure 1 montre une ACP réalisée avec l'ensemble du jeu de données obtenu avec les 28 variables mesurées, c'est-à-dire les expressions relatives des 28 gènes de défense présents sur la qPFD.

Concernant les produits vendus en tant que SDP ou biostimulants, les 5 produits induisant le plus les protéines PR, les voies des isoprénoides (*HMGR*, *Far*) et de la cystéine (*CSL*) (points rouges sur la Figure 1A) ont été retenus : A (M.A. acibenzolar-S-methyl), B (M.A. phosphonate de potassium), C (M.A. phosphites, phosphonates et autres éléments), D (M.A. bicarbonate de sodium), E (extrait, M.A. matière organique animale inconnue et autres éléments). On peut remarquer que le produit B semble de plus activer la voie des phénylpropanoïdes (*PAL*, *ANS*, *DFR*, *CHS* ; Figure 1B). Quant aux autres intrants, peu d'induction de gènes de défense a été observée sauf en ce qui concerne deux produits

éclaircisseurs (points verts foncés sur la Figure 1) : Rhodofix (M.A. acide  $\alpha$ -naphtylacétique) qui se révèle être encore meilleur que les SDP ou biostimulants testés pour ce qui concerne l'activation des marqueurs de défense privilégiés et Brévis (M.A. métamitron) qui réprime nettement la voie des phénylpropanoïdes (Figure 1B). D'une manière générale, aucun effet potentialisateur n'a pu être mis en évidence.



**Figure 1** : Analyse en composantes principales (ACP) obtenue à partir de l'expression relative de 28 gènes de défense dans des tissus foliaires de semis (Golden Delicious) après application de différents intrants de culture (données rapportées à un témoin traité à l'eau). Individus (gauche) et variables (droites) pour les dimensions F1/F2 (A) et F1/F3 (B). Chaque point correspond au barycentre ( $\pm$  intervalles de confiance à 95%) de 10 échantillons prélevés à 1, 2 ( $\pm$  H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), 3 ( $\pm$  H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) jours post-traitement dans 2 expériences indépendantes.

## 2. Action 2 – Evaluation au verger

### 2.1 Objectifs et démarches

Cette action a eu pour objectif d'intégrer les SDP aux itinéraires techniques du pommier dans plusieurs sites expérimentaux en parallèle, et sur les trois campagnes 2015, 2016 et 2017, en ciblant d'une part la tavelure au printemps (8 sites) et les maladies de conservation à l'automne (4 sites). La démarche a été de construire dès l'année 1 un protocole commun pour chaque maladie, et de faire évoluer si besoin ce protocole au cours du projet. A noter que les variétés étaient différentes selon les sites et que les surfaces d'expérimentation n'ont pas permis de tester tous les SDP retenus sur chaque site : ces derniers ont donc été répartis, entraînant des nombres de répétitions variables selon les SDP.

## 2.2 Evaluation vis-à-vis de la tavelure

### 2.2.1 Méthode

Le principe général a été de raisonner la diminution du nombre d'applications de fongicides (et non les doses) en se basant sur les niveaux de risque d'infection prédits par le modèle de prédiction RIMPro ou seuils de RIM (Giraud et Trapman, 2006), et d'appliquer en parallèle et de manière systématique et hebdomadaire les SDP. La période de contamination primaire de la tavelure a été visée, de la floraison à deux semaines après les dernières sorties de tâches sporulantes (de fin mars à fin juin). Les règles de décision, détaillées dans le Tableau 1, ont évolué en cours de projet i) pour augmenter la prise de risque dans l'allègement des traitements fongicides par rapport à la PFI classique et ii) sur les dates respectives de démarrage de l'application des SDP et de l'allègement des fongicides afin de laisser plus de temps aux SDP pour installer une immunité. Les cinq SDP retenus en Action 1 ont été réduits à trois en dernière année d'expérimentation. Trois témoins étaient inclus sur chaque site : un témoin non traité pour comparer la pression d'inoculum entre sites, une modalité traitée en PFI (Production Fruitière Intégrée) classique et une modalité traitée en PFI allégée en traitements fongicides mais ne recevant pas de traitements SDP (témoin de vraisemblance).

**Tableau 1** : Evolution des règles de décision en cours de projet

Années	Modalités	Intervention en fonction du niveau de RIM			Règles complémentaires
		<300	>300 et <800	>800	
2015	TNT <sup>1</sup>				
	PFI <sup>2</sup>				
	PFI allégée ± SDP				Démarrage SDP et allègement PFI au stade D3-E.
2016	TNT				
	PFI				
	PFI allégée ± SDP				Démarrage SDP au stade D3 et allègement après le 2ème traitement SDP, en ne couvrant pas du tout un 1er risque, voire un 2ème si le RIM du 1er<300. Pas de limitation du nombre de traitements SDP.
2017	TNT				
	PFI				
	PFI allégée ± SDP				Démarrage SDP au stade D3 et allègement après le 2ème traitement SDP, en ne couvrant pas du tout un 1er risque, voire un 2ème si le RIM du 1er<300. Nombre de traitements SDP limité à 6 (ou exceptionnellement à 8).

	Traitements fongicides préventifs et curatifs		Sans traitement fongicide ou SDP
	Traitements fongicides préventifs uniquement sauf lessivage		Traitements SDP hebdomadaires

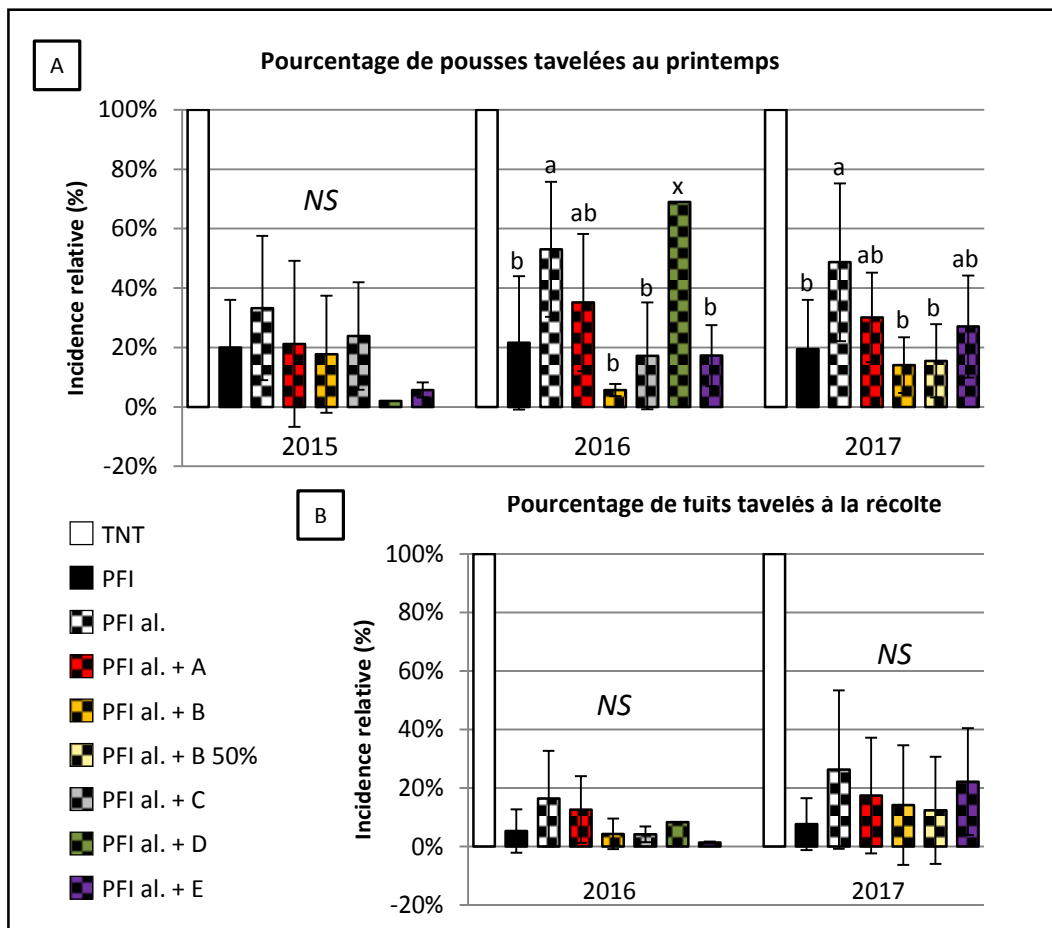
<sup>1</sup>TNT = Témoin Non Traité ; <sup>2</sup>PFI = Protection Fruitière Intégrée

### 2.2.2 Résultats

Les résultats présentés en Figure 2, année par année, montrent l'intérêt d'avoir fait évoluer le protocole, tout au moins en vergers à couteaux (majorité des sites expérimentaux). En 2015 est clairement apparue une prise de risque insuffisante concernant l'allègement en traitements fongicides. Ceci s'est traduit par une différence de pression de maladie très faible entre les modalités traitées en PFI classique et les modalités traitées en PFI allégée, ne permettant pas de révéler des effets des traitements SDP additionnels. En 2016 et 2017 par contre, cette différence est devenue significative. Elle a permis de mettre en évidence des effets de protection significatifs du produit B de manière reproductible entre sites et sur les deux années sur pousses au printemps. Les autres produits ont donné des résultats plus variables, avec cependant des effets significatifs de protection sur certains sites, en 2016 ou en 2017. A la récolte, la faible incidence de maladie sur fruits et l'importante variabilité entre sites ne permettent pas toujours de révéler un effet des produits. Le protocole utilisé pour les deux dernières années du projet a globalement permis de remplacer en moyenne 5 traitements fongicides (sur un total de 12 traitements fongicides) par 8,5 applications SDP en 2016, et 6 traitements fongicides (sur un total de 10 traitements fongicides) par 6-8 applications SDP en 2017. Ainsi pour la dernière

année du projet, une application de SDP a généralement permis de remplacer une intervention fongicide.

A noter qu'en verger cidricole (un seul site expérimental), la prise de risque était encore trop faible en 2016 (pression de maladie modérée, variété plus rustique) pour pouvoir observer un effet des SDP. Le protocole appliqué en 2017 a consisté à s'affranchir complètement des fongicides, quel que soit le niveau de risque d'infection (remplacement de 4 traitements fongicides par 7 applications de SDP). Des effets de protection significatifs des SDP, d'un niveau équivalent à la référence chimique, ont alors été révélés.



**Figure 2** : Efficacité de protection de 5 SDP (+ un des SDP à demi-dose) contre la tavelure dans les différents sites expérimentaux et durant les 3 années du projet. Moyennes et écart-types des pourcentages d'organes présentant au moins un symptôme de tavelure sur les n sites ( $1 \leq n \leq 7$  en fonction de la modalité de traitement). Les lettres indiquent les moyennes significativement différentes (Kruskal-Wallis,  $p < 0,05$ ). NS : non significatif, x : exclu de l'analyse statistique. Lecture de 200 pousses et de 400 fruits par site et par année.

## 2.3 Evaluation vis-à-vis des maladies de conservation

### 2.3.1 Méthode

La démarche a été d'arrêter tout traitement fongicide (référence chimique sur 3 sites et référence bio sur un site) 2 mois avant la récolte et de n'appliquer que des SDP pendant cette période. La durée de couverture en SDP a évolué en cours de projet avec des applications essentiellement hebdomadaires (Tableau 2). Deux témoins ont été inclus sur chaque site : un témoin non traité pour comparer la pression d'inoculum entre sites et qui sert ici de témoin de vraisemblance et une référence traitée en fongicides classiques ou en bio selon les sites. Les cinq SDP retenus en Action 1 ont été réduits à 2 en dernière année d'expérimentation.

**Tableau 2** : Evolution des règles de décision en cours de projet

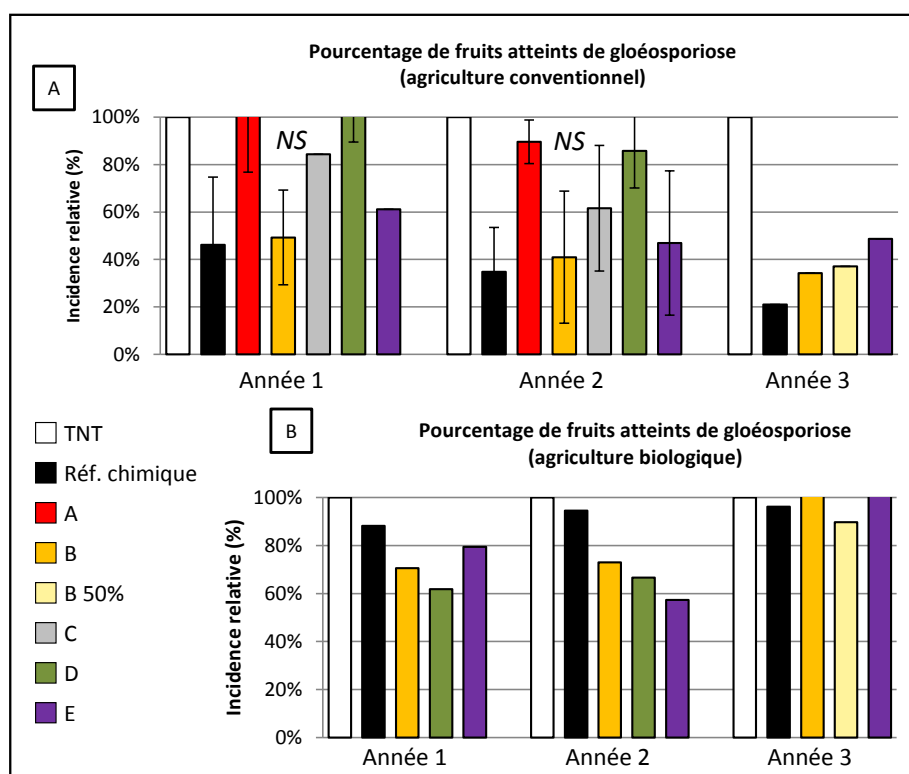
Années	Modalités	Semaines avant récolte								Récoltes		Règles complémentaires
		8	7	6	5	4	3	2	1	1	2	
2015	TNT <sup>1</sup>	[Sans traitement]										
	Référence <sup>2</sup>	[Sans traitement]				[Fongicide]				[SDP hebdomadaires]		Dernier traitement : 3 jours avant récoltes
	SDP	[SDP hebdomadaires]										
2016	TNT	[Sans traitement]										
	Référence	[Sans traitement]		[Fongicide]						[SDP hebdomadaires]		Dernier traitement : 3 jours avant récoltes
	SDP	[SDP hebdomadaires]										
2017	TNT	[Sans traitement]										
	Référence	[Sans traitement]		[Fongicide]						[SDP hebdomadaires]		Dernier traitement : 3 jours avant récoltes
	SDP	[SDP hebdomadaires]	[SDP hebdomadaires]									

Traitements fongicides
  Traitements SDP si prévision de pluie  
 Sans traitement fongicide ou SDP
  Traitements SDP hebdomadaires

<sup>1</sup>TNT = Témoin Non Traité ; <sup>2</sup>Référence chimique ou bio selon les sites

### 2.3.2 Résultats

Bien que des effets de protection significatifs des SDP aient été observés tout au long du projet, la synthèse multi-sites ne permet pas de révéler une efficacité reproductible des produits, même pour les produits B et C qui semblent être les plus performants (Figure 3).



**Figure 3** : Efficacité de protection de 5 SDP (+ un des SDP à demi-dose) contre la gloéosporiose dans les différents sites expérimentaux et durant les 3 années du projet. Moyenne des pourcentages ( $\pm$  écart-types) de fruits présentant au moins un symptôme de gloéosporiose en sortie de conservation (environ 6 mois) pour l'agriculture conventionnelle (A) ou l'agriculture biologique (B) ( $1 \leq n \leq 3$  en fonction de la modalité de traitement). Test de Kruskal-Wallis ( $p < 0,05$ ), NS : non significatif. Lecture de 400 fruits par site et par année.



### 3. Action 3 – Conditions contrôlées

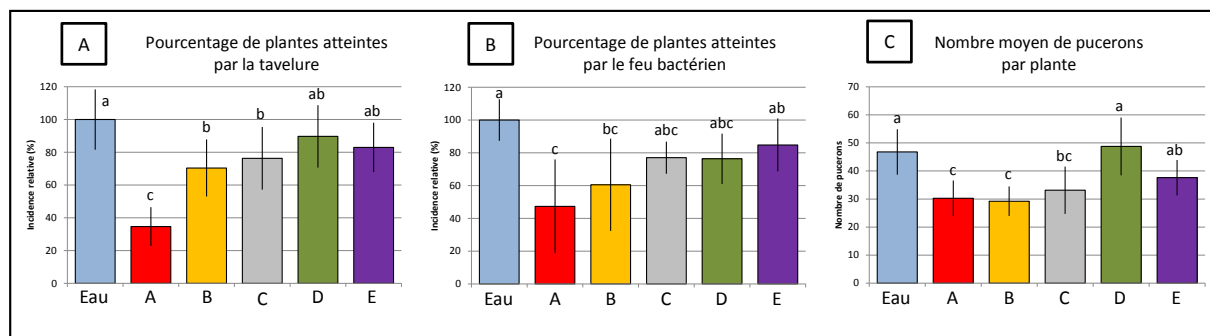
#### 3.1 Objectifs et démarches

Les objectifs de cette action ont été d'évaluer les sources de variabilité de l'efficacité des SDP comme l'effet variétal, l'effet des conditions environnementales, leur plus ou moins grande persistance d'action, les interactions possibles avec d'autres intrants du verger, ainsi que d'étudier leur spectre d'action élargi à d'autres bioagresseurs que *V. inaequalis* et leur potentielle incidence sur l'accumulation de protéines allergènes dans les fruits.

En dehors de l'analyse des protéines allergènes effectuée sur des fruits récoltés en verger, toutes ces expériences ont été réalisées sur de jeunes plants en serre (semis ou plants greffés selon les cas) et l'efficacité des SDP a été déterminée soit par quantification des défenses selon la méthode utilisée en Action 1, soit par évaluation de leur capacité de protection après contamination artificielle.

#### 3.2 Spectre d'action des SDP

L'efficacité de protection des 5 SDP retenus a été évaluée vis-à-vis de la tavelure, du feu bactérien (*Erwinia amylovora*) et du puceron cendré (*Dysaphis plantaginea*) et comparée à celle d'un traitement à l'eau. Les résultats présentés en Figure 4 révèlent que les deux produits, A et B, montrent des capacités de protection significatives vis-à-vis des trois bioagresseurs, et le produit C vis-à-vis de deux, contrairement aux produits D et E. Il est intéressant de constater que le produit A est plus performant vis-à-vis de la tavelure que le produit B dans ces conditions expérimentales (en cohérence avec les résultats d'analyse des défenses de l'Action 1), alors que l'inverse a été observé dans les essais en verger. Ceci démontre la difficulté d'évaluer correctement les SDP en conditions contrôlées.



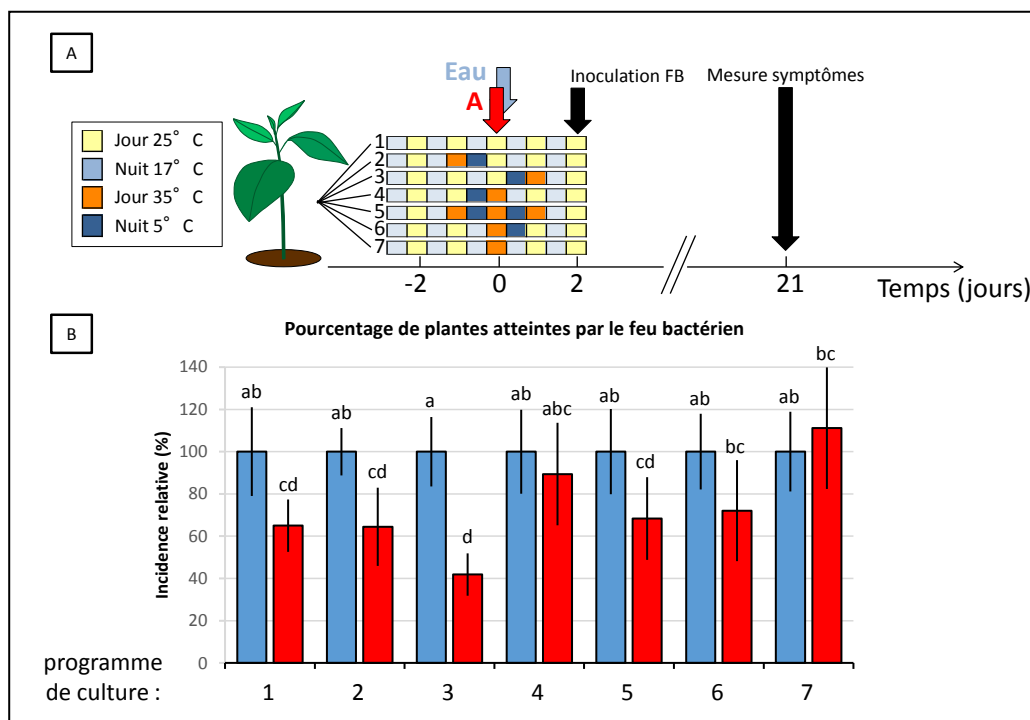
**Figure 4 :** Efficacité de protection de 5 SDP sur semis (A et B) et plants greffés (C) de Golden Delicious cultivés en conditions semi-contrôlées, contre les trois principaux bioagresseurs du pommier (2 traitements SDP, inoculation 2 jours post-traitement). (A) Incidence de la tavelure 21 jours post-inoculation (n = 12 ; 3 blocs de 10 plantes dans 4 expériences) ; (B) incidence du feu bactérien 21 jours post-inoculation (n = 9 ; 3 blocs de 10 plantes dans 3 expériences) et (C) nombre de pucerons présent par plante (n = 60 ; 30 plantes randomisées dans 2 expériences). Les barres d'erreur correspondent aux intervalles de confiance 95%, les lettres indiquent les moyennes significativement différentes (Kruskal-Wallis,  $p < 0,05$ ).

#### 3.3 Effet variétal

Onze variétés de pommier de plus ou moins grande sensibilité à la tavelure, dont deux variétés à cidre, ont été retenues pour cette action. Les 5 SDP sélectionnés en Action 1 ont été testés sur de jeunes plants greffés que ce soit pour leur capacité à induire les défenses au niveau moléculaire ou à protéger vis-à-vis de la tavelure. La trop forte variabilité des résultats et un nombre de répétitions insuffisants n'ont pas permis de dégager un effet variétal clair. Ce travail démontre la nécessité de passer à une autre échelle d'analyse pour comprendre l'influence du génotype sur la réactivité du pommier aux SDP, en mobilisant les compétences de généticiens sur des ressources génétiques bien caractérisées.

### 3.4 Effet des conditions environnementales

Les essais se sont focalisés sur des excès de température jour (chaleur)/nuit (froid), excès fréquemment rencontrés au printemps dans les différents bassins de production du pommier, et donc dans la période d'application potentielle des SDP. Ces excès de température ont été appliqués à des semis le jour des traitements SDP et/ou la veille et/ou le lendemain, selon le protocole décrit en Figure 5A, et comparés à un régime normal. Les capacités de protection du produit A vis-à-vis du feu bactérien ont ensuite été évaluées après retour de l'ensemble des plantes en régime normal. Les résultats révèlent que l'efficacité du produit A tend à chuter dans les régimes de température ayant en commun une hausse de température de jour dans les heures suivant le traitement SDP (Figure 5B). Ces expériences, très lourdes à mettre en œuvre, démontrent bien l'effet possible des conditions environnementales sur l'efficacité des SDP et sont donc très informatives. Mais ce type d'étude devra être élargi à l'ensemble des contraintes abiotiques du verger pour pouvoir préconiser des conditions optimales d'applications des SDP.

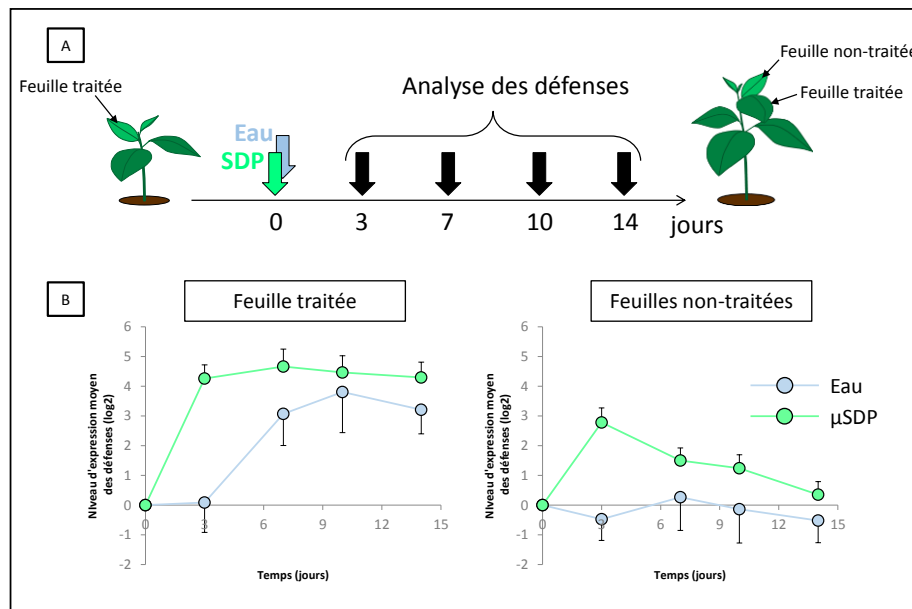


**Figure 5** : Effet de stress « température » sur l'efficacité de protection du SDP A en conditions semi-contrôlées contre le feu bactérien sur semis de Golden Delicious. (A) Schéma expérimental. (B) Incidence relative ( $\pm$ intervalles de confiance 95%) du feu bactérien sur les modalités témoin/SDP cultivées selon les 7 régimes de température différents ( $n = 6$  ; 3 blocs de 10 plantes dans 2 expériences). Les lettres indiquent les moyennes significativement différentes (Kruskal-Wallis,  $p < 0,05$ ).

### 3.5 Persistance d'action

La persistance d'action des 5 SDP retenus en Action 1 a été évaluée sur deux semaines par analyse de l'induction des défenses dans deux étages foliaires de semis de pommier : la plus jeune feuille développée au moment du traitement (persistance dans un organe traité) et la plus jeune feuille développée au moment du prélèvement (persistance dans un organe néoformé n'ayant pas reçu directement le traitement), selon le protocole décrit en Figure 6A. Les résultats synthétisés sur la Figure 6B démontrent que l'action des SDP est stable au cours du temps dans les organes directement traités mais qu'à l'inverse, l'activation des défenses dans les organes qui se développent après traitement

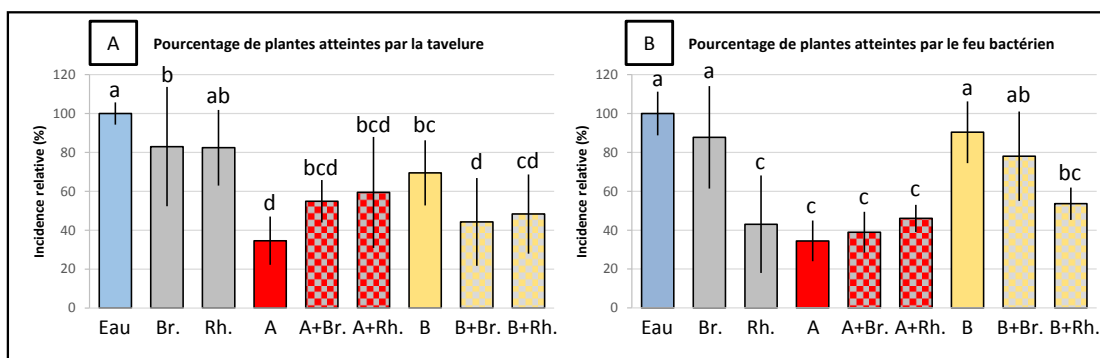
n'est vraiment significative que dans la première feuille (présente probablement à un stade très juvénile au moment du traitement). Le niveau de défense atteint y est cependant plus faible que dans les feuilles directement traitées. Ces expériences suggèrent donc que les SDP peuvent assurer une protection longue durée des organes en place au moment du traitement mais qu'ils auront des difficultés à protéger les organes se développant ultérieurement. Sachant que *V. inaequalis* (comme *E. amylovora* et *Dysaphis plantaginea*) attaque préférentiellement les jeunes feuilles en croissance, ceci démontre la nécessité de répéter les applications de SDP en cas de risque d'infection si de nouvelles sorties de feuilles ont eu lieu depuis l'application précédente.



**Figure 6** : Persistence d'action des 5 SDP sur semis de Golden Delicious cultivés en conditions semi-contrôlées. (A) Schéma expérimental. (B) Expression relative (données rapportées à l'échantillon J0) moyenne (± intervalles de confiance 95%) de plusieurs gènes de défense (réactifs aux 5 SDP). Les résultats obtenus avec les 5 SDP étant très similaires, ceux-ci sont moyennés (n = 50 ; 5 gènes pour 5 SDP dans 2 expériences).

### 3.6 Interaction avec d'autres intrants du verger

Quinze intrants sur les 30 étudiés en Action 1 ont été retenus pour tester leur influence, en mélange avec les SDP, sur l'efficacité de ces derniers en protection vis-à-vis de la tavelure (pour les intrants de type éclaircisseurs, fertilisants, insecticides) ou vis-à-vis du feu bactérien (pour les intrants anti-fongiques). Aucune incompatibilité n'a été observée ; au contraire la présence de certains intrants améliore parfois l'efficacité de protection selon les essais. Les résultats concernant les deux intrants repérés en Action 1 sont présentés (Figure 7). Vis-à-vis du feu bactérien, le Rhodofix seul procure une protection significative contrairement au Brévis, protection que l'on retrouve lorsqu'il est en mélange avec le produit B, lui-même peu efficace seul dans ces expériences. Aucun des intrants ne modifie l'efficacité de protection du produit A. La protection vis-à-vis de la tavelure est quant à elle significativement améliorée lorsque le produit B est appliqué en mélange avec le Brévis, alors que cet intrant est inefficace seul. Toutes les autres situations de mélange ne modifient pas significativement les efficacités de protection des produits A et B. A noter que le Rhodofix seul est inefficace sur cette dernière maladie.



**Figure 7** : Interaction SDP x intrant. Application de combinaisons entre 2 SDP et 2 éclaircisseurs du pommier (un traitement en mélange) sur semis de Golden Delicious cultivés en conditions semi-contrôlées. Incidence ( $\pm$  intervalles de confiance 95%), (A) de la tavelure 21 jours post-inoculation ( $n \geq 6$  ; 3 blocs de 10 plantes dans au moins 2 expériences) et (B) du feu bactérien 21 jours post-inoculation ( $n \geq 6$  ; 3 blocs de 10 plantes dans au moins 2 expériences). Les lettres indiquent les moyennes significativement différentes (Kruskal-Wallis,  $p < 0,05$ ). Br. : Brevis ; Rh. : Rhodifix.

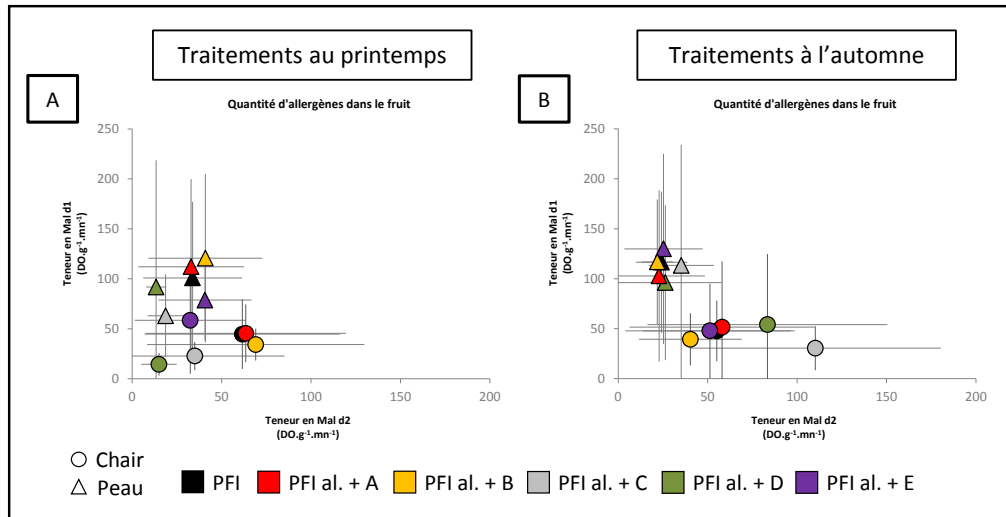
### 3.7 Effet sur l'allergénicité des fruits

Les trois allergènes majeurs de la pomme sont connus : il s'agit des protéines PR-5 (Mal d2), PR-10 (Mal d1) et PR-14 (Mal d3) (Sinha et al., 2014), qui sont par ailleurs des protéines de défense inducibles par les SDP. L'objectif de cette Sous-Action a été de déterminer si des traitements SDP au cours de la saison, au printemps vis-à-vis de la tavelure et surtout en pré-récolte vis-à-vis des maladies de conservation, peuvent augmenter l'allergénicité des fruits. Pour mener à bien cette action, des anticorps ont tout d'abord dû être mis au point pour pouvoir quantifier les protéines allergènes par technique Elisa. A noter que seuls des anticorps visant (Mal d1 et Mal d2) ont pu être développés avec succès. Puis des fruits collectés sur les différents sites expérimentaux au cours des trois campagnes d'essais ont été analysés, soit juste après récolte, soit après plusieurs mois de conservation en chambre froide. Les résultats (synthésés dans la Figure 8 pour les échantillons provenant des modalités SDP étudiées sur les trois années) montrent que les SDP, qu'ils soient appliqués au printemps ou en pré-récolte à l'automne, ne provoquent pas d'accumulation significative des deux allergènes majeurs de la pomme, Mal d1 et Mal d2, que ce soit dans la peau ou dans la chair. La variabilité observée est principalement due à un effet variétal et un effet année. Le fait que l'on observe plus d'allergènes de type Mal d2 dans la chair que dans la peau, et inversement plus d'allergènes de type Mal d1 dans la peau que dans la chair est cohérent avec ce qui est décrit dans la littérature (Pagliarani et al., 2009).

## Conclusion

L'objectif du projet PEPS, ambitieux, était d'aboutir à un guide d'utilisation des SDP en verger vis-à-vis de deux problèmes phytosanitaires du pommier, la tavelure et les maladies de conservation du fruit. A l'issue du projet, le principal livrable est plutôt un guide d'expérimentation de ces produits. Les protocoles développés placent en effet les SDP en conditions difficiles tout en assurant des résultats quelle que soit la campagne de risques « maladies » : ils permettent ainsi de révéler une différence entre témoin de vraisemblance et modalité de référence chimique dans la majorité des expérimentations, différence garantissant les résultats de protection observés dans les modalités testant les SDP. Vue l'efficacité reproductible de certains SDP dans ces conditions, en tout cas vis-à-vis de la tavelure, il peut être préconisé en vergers de production i) de pommes à couteaux un programme de traitements SDP/fongicides comprenant une couverture permanente en SDP, avec couverture supplémentaire en fongicides préventifs et curatifs si le RIM est supérieur à 800, et en fongicides

préventifs uniquement si le RIM est compris entre 300 et 800 et ii) de pommes à cidre une couverture permanente en SDP sans traitements fongicides. Néanmoins, un protocole basé sur des applications raisonnées des SDP (couverture non-permanente), appliqués seuls ou en combinaison avec des fongicides selon les niveaux de RIM ou le type de verger, mériterait d'être exploré pour limiter le nombre d'interventions.



**Figure 8** : Teneur en allergènes dans la récolte provenant des différents itinéraires techniques du pommier incluant l'application des SDP. Quantités ( $\pm$  intervalles de confiance 95%) d'allergènes Mal d1 et Mal d2 dans les fruits (chair et peau) issus des essais de protection contre (A) la tavelure (SDP au printemps) et (B) les maladies de conservation (SDP à l'automne) sur les différents sites expérimentaux et les 3 années du projet. Environ 360 échantillons ont été analysés, toutes modalités de traitement confondues.

Un autre grand volet du projet a consisté à mieux comprendre le mode d'action des SDP, les sources de variabilité de leur efficacité et quelques effets additionnels en conditions contrôlées. Le projet était là encore ambitieux, vu la multiplicité des paramètres à étudier, sur un modèle ligneux de surcroît. Les résultats sont très encourageants sur certains aspects : efficacité partielle observée vis-à-vis de plusieurs bioagresseurs du pommier autres que ceux responsables de la tavelure et des maladies de conservation, absence d'antagonismes (voire parfois plutôt une additivité) avec d'autres intrants du verger, absence d'augmentation de l'allergénicité des fruits. La faible persistance d'action des SDP observée dans les organes nouvellement formés après traitement est par contre une limite sérieuse pour une utilisation de ces produits en période de croissance des pousses, dans un contexte de réduction des interventions en verger. Enfin, certains aspects étudiés, conditionnant très probablement l'efficacité des SDP, comme l'effet variétal et l'effet de l'environnement, n'ont pu être qu'insuffisamment explorés et mériteraient des projets de plus grande ampleur pour préciser les conditions d'utilisation optimale de ces produits et gagner en efficacité.

### Références bibliographiques

Brisset M.N., Dugé de Bernonville T., 2011. Device for determining or studying the state of stimulation of the natural defenses of plants or portions of plants. Patent WO/2011/161388.

Dugé de Bernonville T., Marolleau B., Staub J., Gaucher M., Brisset M.N., 2014. Using molecular tools to decipher the complex world of plant resistance inducers: an apple case study. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 62, 11403–11411.

Giraud M., Trapman M., 2006. Le modèle RIMpro : intérêt dans la gestion de la tavelure du pommier. *Arbo Bio Infos* 108.

Hammond-Kosack K.E., Jones J.D., 1996. Resistance gene-dependent plant defense responses. *The Plant Cell*, 8, 1773–91.

Pagliarani G., Paris R., Tartarini S., Sansavini S., 2009. Cloning and expression of the major allergen genes in apple fruit. *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 84, 176–181.

Sinha M., Singh R.H., Kushwaha G.S., et al., 2014. Current overview of allergens of plant pathogenesis related protein families. *The Scientific World Journal* 2014, 1–19.

Walters D.R., Ratsep J., Havis N.D., 2013. Controlling crop diseases using induced resistance: challenges for the future. *Journal of Experimental Botany*, 64, 1263–1280.

Cet article est publié sous la licence Creative Commons (CC BY-NC-ND 3.0).



<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/3.0/fr/>

Pour la citation et la reproduction de cet article, mentionner obligatoirement le titre de l'article, le nom de tous les auteurs, la mention de sa publication dans la revue « *Innovations Agronomiques* », la date de sa publication, et son URL ou DOI).