

SWEET - Optimisation des stratégies de biocontrôle par la stimulation de l'immunité des plantes avec des applications d'infra-doses de sucres simples

Ingrid Arnault, N. Aveline, Marc Bardin, Marie-Noëlle Brisset, J. Carriere, M. Chovelon, G. Delanoue, A. Furet, Brigitte Frerot, Jérôme Lambion, et al.

► **To cite this version:**

Ingrid Arnault, N. Aveline, Marc Bardin, Marie-Noëlle Brisset, J. Carriere, et al.. SWEET - Optimisation des stratégies de biocontrôle par la stimulation de l'immunité des plantes avec des applications d'infra-doses de sucres simples. Innovations Agronomiques, INRAE, 2021, 82, pp.411-423. 10.15454/tysh-8x74 . hal-03202760

HAL Id: hal-03202760

<https://hal.inrae.fr/hal-03202760>

Submitted on 20 Apr 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.



Optimisation des stratégies de biocontrôle par la stimulation de l'immunité des plantes avec des applications d'infra-doses de sucres simples

Arnault I.¹, Aveline N.^{2a}, Bardin M.³, Brisset M.N.⁴, Carriere J.⁵, Chovelon M.⁶, Delanoue G.^{2b}, Furet A.⁷, Frérot B.⁸, Lambion J.⁶, Ondet S.⁶, Marchand P.⁵, Desmoucaux N.⁹, Romet L.¹⁰, Thibord J.B.¹¹, Trouvelot S.¹²

¹ CETU Innophyt, Université de Tours, Fac Sciences et Techniques, F-37200 Tours

² IFV, Pôle Bordeaux-Aquitaine^a, Pôle Amboise^b

³ INRAE, Pathologie Végétale, F-84143 Montfavet

⁴ INRAE, IRHS, F-49071 Beaucouzé Cedex

⁵ ITAB, F-75595 Paris Cedex

⁶ GRAB, F-84911 Avignon Cedex 9

⁷ ADABio, F-01250 Ceyzeriat

⁸ INRAE, IEES UMR, F-78026 Versailles Cedex

⁹ Sileban, F-50760 Gatteville le Phare

¹⁰ CAPL, F-84700 Sorgues

¹¹ Arvalis, F-64121 Montardon

¹² UMR 1347 Agroécologie, AgroSup/INRAE/uB, F-21065 Dijon

Correspondance : ingrid.arnault@univ-tours.fr

Résumé

Une méthode de biocontrôle reposant sur des applications exogènes foliaires d'infra-doses de sucres (fructose, saccharose, glucose) a été développée afin de renforcer l'immunité des plantes contre certains herbivores et pathogènes. Le projet SWEET a permis d'avancer sur ce sujet innovant de biocontrôle aussi bien sur l'acquisition de nouvelles références agronomiques au champ, que sur les mécanismes induits dans la plante. *In vitro*, les applications de sucres sont bien perçues sur les modèles pommier et vigne. Les effets sont multiples : sur les gènes de défense, les gènes du métabolisme, les composés volatils, les communautés bactériennes épiphytes. Les résultats obtenus en conditions naturelles ont permis de montrer que l'effet protecteur observé est partiel et pose souvent des problèmes de répétabilité. Des fiches techniques diffusables auprès de la profession agricole ont été rédigées afin de préconiser l'utilisation des sucres. Du point de vue réglementaire, les deux sucres d'intérêt, fructose et saccharose, ont été approuvés en substance de base en 2014 et 2015, et sont utilisables en agriculture biologique. Par ailleurs, les demandes d'extension d'usage de ces deux sucres sur d'autres cibles testées dans le projet ont été approuvées par la Commission Européenne en juillet 2020.

Mots-clés : Lépidoptères, priming, diagnostic moléculaire, composés volatils, pathogènes.

Abstract: Optimization of biocontrol strategies by stimulating the plant immunity with foliar applications of low doses of sugar

A biocontrol method based on exogenous foliar applications of sugar infra-doses (fructose, sucrose, glucose) has been developed to strengthen plant immunity against certain herbivores and pathogens. The SWEET project has made progress on this innovative subject of biocontrol, both on the acquisition of new agronomic references in the field and on the mechanisms induced in the plant. *In vitro*

applications of sugars are well perceived in apple and vine models. The effects are multiple: on defense genes, metabolism genes, volatile compounds, epiphytic bacterial communities. The results obtained in natural conditions indicated that the protective effect observed is partial and showed variations over time. Technical data sheets that can be distributed to the agricultural profession have been drawn up to recommend the use of sugars. From a regulatory point of view, the two sugars of interest, fructose and sucrose, have been approved as a basic substance in 2014 and 2015, and can be used in organic farming. In addition, requests to extend the use of these two sugars to other targets tested in the project were approved by the European Commission in July 2020.

Keywords: Lepidoptera, priming, molecular diagnostics, volatile compounds, pathogens.

Introduction

Les sucres simples (mono- ou disaccharides) sont reconnus comme des molécules de signalisation dans les plantes, capables d'activer les réponses de défense et ainsi d'augmenter leur niveau de résistance face aux bioagresseurs (Bolouri-Moghaddam et Van-den-Ende, 2012 ; Trouvelot *et al.*, 2014 ; Arnault *et al.*, 2016). Il s'agit du nouveau concept de « Sweet Immunity » ou défense liée aux sucres. Le projet USAGE (Onema 2012-2014) a permis de développer une méthode de biocontrôle avec des applications exogènes foliaires d'infra-doses de sucres (glucose, fructose, saccharose) pour renforcer la préparation à la défense des végétaux contre certains herbivores et pathogènes tels que les chenilles de lépidoptères ravageurs (pyrale, carpocapse), des insectes piqueurs suceurs (thrips, cicadelle), des oomycètes (mildiou de la vigne), et d'ainsi réduire les doses d'intrants ou augmenter les efficacités existantes. Leur effet protecteur n'est que partiel et pose souvent des problèmes de répétabilité dans le temps et d'une parcelle à une autre (Arnault *et al.*, 2015). Sur la base de ces résultats et de l'homologation du saccharose et du fructose en substances de base en 2014 et 2015 par l'ITAB, les partenaires du projet SWEET, soutenu par le RMT ELICITRA, ont poursuivi les essais contre des nuisibles, essentiellement des lépidoptères ravageurs, de la tomate, de la vigne, du maïs et du pommier. Différentes stratégies à base de sucres seuls ou en association avec d'autres produits ont été testées afin d'améliorer les protections des cultures. Parallèlement, des bio-essais en conditions semi-contrôlées ont été réalisés afin d'explorer les mécanismes d'action impliqués dans la protection de la plante par l'application des sucres. Des essais *in vivo* ont parfois été déployés sur plusieurs sites pour limiter les risques dus aux aléas expérimentaux. Les résultats ont fait l'objet d'actions de diffusion et de transfert.

1. Effets physiologiques de l'application des sucres

Pour mieux comprendre les mécanismes impliqués, les outils de diagnostic moléculaire ont été utilisés pour connaître les voies de défense activées lors de l'application des sucres (élicitation, préparation à la défense, « priming »). Le rôle des micro-organismes épiphytes lors de l'application des sucres à la surface des végétaux a également été étudié par le biais des émissions de composés organiques volatiles (COV). Les différents facteurs d'efficacité (modes d'applications racinaires, foliaires, doses, fréquence, variétés) ont été étudiés en conditions contrôlées sur le modèle tomate/oïdium-botrytis pour optimiser l'efficacité au champ.

1.1 Modes d'application des sucres

Trois pistes d'amélioration de l'efficacité d'un mélange sucrose-fructose ont été explorées au cours du projet : le mode de traitement (pulvérisation foliaire vs traitement racinaire), le génotype de tomate et le greffage de la plante. Des tests ont été mis en place en conditions contrôlées pour évaluer l'efficacité de l'application des sucres au niveau racinaire et foliaire sur une variété de tomate vis-à-vis d'*Oïdium neolycopersici* et *B. cinerea* sur une dizaine de variétés de tomate et sur une variété de tomate greffée. L'efficacité protectrice des sucres a ensuite été évaluée sous deux abris tunnels dans des conditions

proches des conditions de production commerciales de la tomate par application des traitements sur 3 variétés de tomate (voir § 2.3.1).

Le fructose et le saccharose ont été testés en mélange aux doses de 1 g/L chacun. Dans le cas de traitements racinaires, un traitement hebdomadaire des plantes est réalisé avec 5 mL de solution de sucre déposés au niveau des racines (5 à 6 traitements au total). Dans le cas de traitements par pulvérisation sur le feuillage, un seul traitement, 48 heures avant inoculation, est réalisé à raison de 20 mL par plante (pulvérisation foliaire sur l'ensemble de la plante jusqu'à ruissellement). Les tests ont été effectués sur plantes entières de tomate (6 à 8 semaines post-semis selon la période de l'année).

En conditions contrôlées, les résultats ont montré que les sucres simples et le mélange amené sur les plantes au niveau racinaire n'ont pas d'effet protecteur contre les champignons phytopathogènes *B. cinerea* et *O. neolycopersici*, et ceci quelle que soit la variété de tomate testée. En pulvérisation foliaire, le mélange de sucres (saccharose + fructose 1 g/L) a un effet sur le niveau de sensibilité de la tomate à *O. neolycopersici*, qui est variable selon le génotype de la plante. Les porte-greffes de tomate sont tous résistants à *O. neolycopersici* et partiellement résistants à *B. cinerea* mais cette résistance n'a pas d'effet sur le niveau de résistance du greffon et sur l'effet des sucres.

1.2 Effet de l'application des sucres sur les mécanismes de défense

1.2.1 Sur pommier

L'objectif était de cerner les réponses physiologiques de la plante aux applications de sucres en étudiant des gènes de défense. L'efficacité d'induction de l'expression de 28 gènes de défense par les sucres seuls ou en association à différentes concentrations a été comparée à celle du Bion® 50 WG (acibenzolar-S-méthyl), utilisé comme référence dans l'activation des voies de défense du pommier.

Les tests ont été conduits en conditions semi-contrôlées sur des semis de pommier (issus de pépins de la variété Golden Delicious) au stade 3 à 6 feuilles. Chaque bloc a été pulvérisé à J0 jusqu'à ruissellement. La moitié de chaque bloc a ensuite été pulvérisée à J1 avec du peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) pour simuler une attaque de bioagresseur (permettant de repérer un effet potentialisateur de défenses vs stimulateur direct du produit testé). Les prélèvements (disques foliaires) ont été effectués 3 jours après le premier traitement (J3) en regroupant la plus jeune feuille développée de 5 semis différents ayant subi le même traitement, un prélèvement initial étant réalisé à J0 sur 5 semis n'ayant reçu aucun traitement. Les ARN ont été extraits puis rétrotranscrits en ADNc et les niveaux d'expression de 28 gènes de défense ont été suivis par qPCR (SYBR Green) à l'aide de l'outil qPFD (Brisset et Dugé de Bernonville, 2011 ; brevet WO/2011/161388).

Les différents essais montrent que l'induction des défenses par le mélange d'infra-doses de sucres s'est révélée variable contrairement à celle observée avec le Bion®. En effet, les deux premiers essais ont montré une activation nette et prometteuse de certains gènes de défense liés à la voie de l'acide salicylique par le mélange fructose + sucrose à 0,1 g/L (assez similaire à celle observée pour le Bion®), alors que les deux suivants ont plutôt mis en évidence une activation modérée des voies de l'acide jasmonique et de l'éthylène. Cette différence de profil d'expression des défenses entre les deux séries d'expériences est difficilement explicable et le sujet mériterait d'être approfondi par des expériences complémentaires.

Si le mélange de sucres semble capable de moduler les défenses du pommier, aucun effet des sucres seuls n'a été observé. De même, aucun effet de potentialisation ou « helper » n'a été mis en évidence, que ce soit par l'application d'H₂O₂ succédant aux applications de sucres, ou de sucres succédant à l'application de Bion®, ou encore de Bion® succédant à l'application des sucres.

1.2.2 Sur vigne

L'objectif était de mesurer, en conditions contrôlées, l'effet d'une application de micro-doses de sucres (fructose, glucose ou saccharose), combinée ou non à de l'hydroxyde de cuivre, sur l'immunité de la vigne. La variété Marselan (*Vitis vinifera* cv. Cabernet Sauvignon x *Vitis vinifera* cv. Grenache Noir ; obtention INRA, 1961) a été utilisée en raison de sa sensibilité au mildiou.

Les traitements à base de fructose ou de saccharose seuls ou en association à plusieurs concentrations ont été appliqués une seule fois, par pulvérisation manuelle sur les faces inférieure et supérieure des feuilles, jusqu'au point de ruissellement. Le témoin positif d'induction de réactions de défense correspond à une application foliaire de laminarine, produit de référence en tant que stimulateur des défenses. Une première étape a consisté en l'évaluation de la résistance induite contre *Plasmopara viticola*, et une seconde étape a consisté en l'analyse de l'induction de gènes liés à la défense et au métabolisme de la plante.

Dans nos conditions expérimentales, le fructose (0,1 g/L) seul n'induit pas de résistance significative contre le mildiou. En revanche, associé au saccharose ou au glucose, on observe une induction de résistance significative, conduisant à une protection moyenne de 30 % contre le mildiou de la vigne. Ce niveau d'efficacité n'est cependant pas suffisant pour une application au champ. La laminarine (5 g/L) formulée induit une protection significative de l'ordre de 55 %.

Le fructose est un stimulateur des défenses de la plante qui induit des réponses chez la vigne dès 9 hpt (heures post-traitement). Cette induction est cependant plus globale à 24 hpt. Aussi, si le fructose est perçu par le végétal et induit des réponses de défense, ces dernières ne sont pas suffisantes pour conduire à une protection significative contre le mildiou de la vigne.

Tous les traitements induisent l'expression de gènes liés au métabolisme des sucres. Le fructose, seul, induit plus fortement l'expression de gènes codant pour des transporteurs d'hexose et de saccharose, une hexokinase (senseur de sucre), une sucrose synthase (dégradation et/ou synthèse de saccharose) et une invertase acide (apoplastique).

Ainsi, et de façon originale, nous montrons que, dans nos conditions d'application, la vigne (1) est capable de répondre à la perception de micro-doses de sucres et (2) perçoit les différents traitements foliaires (saccharidiques ou cupriques) en impactant plus ou moins fortement l'expression de gènes associés au métabolisme (transport, synthèse, dégradation et rôle senseur) des sucres.

Dans ce contexte, nos résultats apparaissent originaux puisque c'est, à notre connaissance, la première étude qui révèle l'induction de gènes de défense en réponse à la perception de micro-doses de sucres chez la vigne. Le fructose (0,1 g/L), induit notamment l'expression de gènes codant pour des protéines PR (glucanase et chitinase) ou impliqués dans la voie des phénylpropanoïdes (PAL et STS) et de l'acide salicylique (MeSA).

En conclusion, les travaux entrepris dans cette étude ont permis de révéler, dans nos conditions expérimentales et de façon originale, que :

- Les micro-doses de sucres sont perçues par la vigne qui y répond en induisant tant l'expression de gènes de défense que de gènes liés au métabolisme des sucres ;
- Dans nos conditions, le fructose (0,1 g/L) n'induit pas de résistance contre *P. viticola*. En revanche, les associations « fructose + glucose » et « fructose + saccharose » permettent d'induire une protection d'environ 30 %.

Par ailleurs, il a été observé que le fructose peut favoriser le développement d'une flore fongique épiphyte. Il s'agira donc d'un point de vigilance à avoir en termes d'application *in natura*.

1.3 Rôles des micro-organismes épiphytes dans l'application des sucres

De nombreuses études ont démontré l'importance du microbiote des plantes dans la croissance et la santé de ces dernières. La modification du microbiote des feuilles (ou phyllosphère) de pommier et de la signature chimique du pommier (par ses composés organiques volatils, COV) en réponse à l'application des sucres a également été analysée. L'action consistait à comparer les compositions taxonomiques des communautés bactériennes et fongiques, et les profils d'odeurs (COV) avant et après traitement.

Les analyses de COV et de communautés bactériennes ont été réalisées sur deux expériences biologiques indépendantes conduites sur des semis de Golden Delicious pulvérisés à J0 avec de l'eau, du Bion® (0,4 g/L), le produit de stimulateur de défense de référence, le mélange fructose + sucrose (0,1 g/L respectivement ; appelé « S100 ») pour le premier essai, et le mélange fructose + sucrose (1 g/L respectivement ; appelé « S1000 ») dans le second essai. Les COV ont été prélevés par SPME (Solid Phase Micro Extraction) dans un Headspace de 30 plantules, dans une mini serre étanche, puis analysés en chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse.

Les données indiquent que les plantes traitées avec les sucres et le Bion® émettent des COV différents soit par leur nature, soit par leur quantité. Un mécanisme modifiant les COV après traitements aux sucres est donc envisagé. On différencie le traitement des sucres à 0,1 g/L qui donne des effets très variables contrairement au mélange 1 g/L qui donne des répétitions homogènes. En revanche, ce dernier mélange de sucres à 1 g/L produit moins de COV que le Bion®. Concernant le type de COV avec les traitements sucres, les résultats sont similaires avec la présence de COV légers et des terpènes.

La composition taxonomique des communautés bactériennes et fongiques a ensuite été estimée par amplification et séquençage respectivement de deux marqueurs moléculaires *gyrB* et ITS1 (Internal Transcribed Spacer) (Barret *et al.*, 2015). Le terme OTU (Unité Taxonomique Opérationnelle) est fréquemment utilisé comme un équivalent du concept d'espèce, en raison de l'absence de système de classification chez les bactéries et les archaea.

L'étude de l'effet du mélange fructose + sucrose sur le microbiote associé à la phyllosphère du pommier a révélé que cette association de sucres n'impacte pas de manière significative la richesse ou la diversité, qu'elle soit bactérienne ou fongique. Malgré tout, la composition en taxons bactériens semble influencée par ces traitements (aux deux concentrations testées, 0,1 g/L et 1 g/L) et certains taxons subissent des variations importantes dans leurs abondances (diminution, enrichissement) par comparaison avec les témoins issus de plantes traitées à l'eau. Ces effets sur les communautés bactériennes suite à la pulvérisation des mélanges de sucres sont similaires à ceux observés après application du Bion®. Les applications de Bion® et du mélange de sucres modifient les bactéries, en particulier les pseudomonadales, qui sont diminuées par rapport au témoin eau. Les pseudomonadales sont généralement des bactéries opportunistes pathogènes des plantes.

Les différences observées entre essais révèlent cependant une importante variabilité inter-répétition, vraisemblablement due à des différences initiales de composition entre communautés bactériennes et fongiques associées à la phyllosphère. La différence significative d'abondance relative de l'ordre des sphingomonadales observée dans le second essai est une observation intéressante. En effet, certaines souches de *Sphingomonas* isolées de la phyllosphère d'*Arabidopsis thaliana* permettent de diminuer la colonisation par l'agent phytopathogène *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* DC3000.

2. Mise au point de stratégies de biocontrôle à base de sucres en conditions de production

L'intérêt agronomique est de déterminer les conditions d'application des infra-doses de sucres associées avec des stratégies de protection classiques utilisées en AB et en agriculture conventionnelle afin d'augmenter les efficacités existantes ou de réduire les doses d'intrants lorsque cela est possible.

Les actions ont consisté en la mise en place d'essais pendant 3 saisons consécutives contre des complexes de bioagresseurs en viticulture, arboriculture, maraichage et grandes cultures ; et en leur suivi avec l'acquisition de données chez les producteurs ou en station expérimentale selon des dispositifs expérimentaux en bloc.

2.1 Viticulture

2.1.1 Mise au point d'une stratégie de réduction de cuivre en associant du fructose contre le mildiou

Les essais précédents du projet Usage ont montré un intérêt du fructose (0,1 g/L) pour lutter contre le mildiou de la vigne (Arnault *et al.*, 2016). L'objectif était de confirmer les données sur un autre cépage (Merlot) et de tester d'autres formes de cuivre avec le fructose.

Les essais se sont déroulés sur deux vignobles : l'un en Aquitaine sur Merlot (IFV) et l'autre en Savoie-Isère sur Jacquères et Gamay (Adabio). Au cours des expérimentations, les notations sur feuilles et sur grappes de l'intensité d'attaque (pourcentage de l'organe touché) du mildiou ont permis de déterminer 4 critères d'analyse : fréquence d'attaque sur feuille, intensité d'attaque sur feuille, fréquence d'attaque sur grappe, intensité d'attaque sur grappe.

Ces essais ont subi différents aléas climatiques selon les régions : gelée noire en Aquitaine en 2017, absence de mildiou en 2016 et 2018 dans les Alpes. La synthèse a été faite en regroupant les essais réalisés sur Usage et Sweet, soit 7 essais. L'objectif était d'évaluer l'efficacité du fructose à 0,1 g/L avec des doses réduites de cuivre sous différentes formes.

L'ajout de fructose 0,1 g/L permet d'augmenter l'efficacité d'une dose réduite de cuivre sous forme hydroxyde (1/4) d'environ 37 % (Figure 1). Nous avons noté une variabilité dans les effets. L'intensité de cet effet diminue avec la pression croissante de mildiou. L'augmentation de doses de fructose diminue cet effet bénéfique. Par ailleurs, le mélange des deux sucres n'apporte pas d'intérêt supplémentaire. Les résultats font l'objet d'une fiche technique.

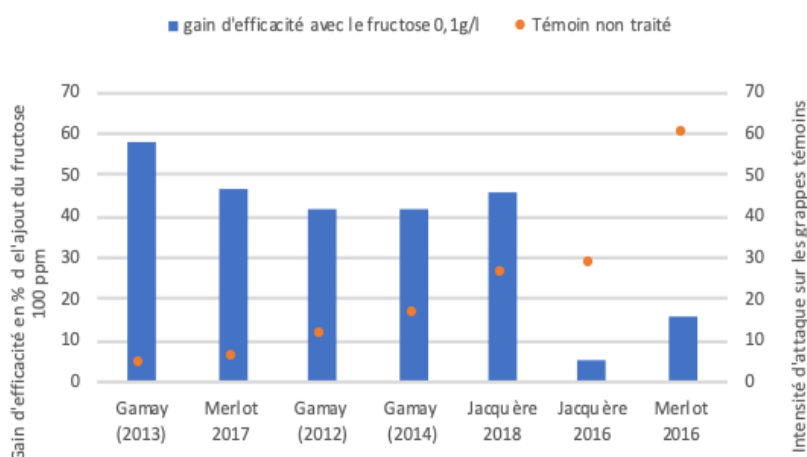


Figure 1 : Gain d'efficacité sur les grappes avec l'ajout de fructose à une dose réduite de cuivre. Le témoin non traité fait référence à la pression mildiou sur les grappes.

2.1.2 Mise au point d'une stratégie de réduction de cuivre et de soufre en associant du fructose contre le mildiou et le black rot

Les différentes modalités comprennent du fructose appliqué avant et/ou pendant la fleur, associé à la bouillie sulfo-calcique. Les intensités d'attaque sur feuilles et sur grappes ont été notées (pourcentage de l'organe touché) ; 25 organes (feuille et grappe) par parcelle élémentaire ont été observés, à intervalles réguliers (tous les 8 à 15 jours à partir de l'apparition des symptômes).

Les millésimes ont été différents avec une forte pression black rot en 2017 contrairement à 2016 et 2018. L'augmentation des doses de sucre n'a rien apporté. En revanche, le fait d'associer le fructose et le saccharose semble bénéfique contre le black rot avec notamment, en 2017, année à forte pression, une très bonne efficacité de la stratégie à dose réduite associée à un mélange de fructose + saccharose à 0,1 g/L, voire supérieure à la référence à forte dose. Le fructose seul présente une efficacité satisfaisante en 2016 mais une efficacité réduite en 2018.

2.1.3 Gestion de la cicadelle de la flavescence dorée en amélioration de la stratégie Pyrèvert

L'objectif était de renforcer l'action du pyrèthre par les sucres, en zone de traitement obligatoire contre la cicadelle *Scaphoideus titanus*, cicadelle vectrice de la Flavescence Dorée (FD), maladie à phytoplasme et classée comme maladie de quarantaine de la vigne. Les essais se sont déroulés dans deux régions différentes (Provence et Savoie).

Selon l'année, trois ou quatre applications de sucres ont été réalisées sur les vignes par pulvérisation, au moment où les cicadelles étaient au stade L2-3 (jeune larve), période correspondante au premier traitement insecticide obligatoire (maladie de quarantaine à lutte obligatoire). Les modalités étudiées durant le projet ont concerné la dose de sucre (0,1 g/L ou 0,5 g/L), la qualité du sucre (saccharose, fructose seul ou en mélange), sucre seul ou associé à un pyrèthre naturel (insecticide homologué).

A Mazan (Provence), le mélange fructose + saccharose a un effet dépressif sur les populations de cicadelles et semble améliorer l'efficacité du pyrèthre naturel. En Savoie, les essais associant du fructose et du saccharose à diverses concentrations de Pyrèvert ont eu lieu sur deux zones différentes. Les populations des deux années sont complètement différentes. Sur les fortes populations de 2017, on note peu d'impact des traitements alternatifs par rapport au témoin voire des populations plus importantes. En 2018, sur des populations plus faibles, on observe des résultats intéressants, notamment sur les modalités à fructose + saccharose à 0,5 g/L (avec ou sans Pyrèvert).

2.2 Mise au point d'une stratégie de biocontrôle associant les sucres contre le carpocapse des pommes et des poires

2.2.1 En arboriculture biologique

L'objectif est de mettre au point une méthodologie de traitement associant le saccharose ou le fructose à 0,1 g/L au virus de la granulose pour contrôler le carpocapse sur pommier.

Les objectifs ont été d'évaluer le fructose et le saccharose seuls ou en association à 0,1 g/L (100 ppm) chacun à différentes cadences, en complément ou non d'une protection à base de virus de la granulose sur d'autres variétés de pommes. Les vergers d'expérimentation sont situés au nord des Bouches-du-Rhône, tous en confusion sexuelle. 15 stratégies à base de fructose ou saccharose seuls ou en association 0,1 g/L ont été conduites sur 3 variétés Gala, Akane, Golden.

On observe soit une diminution des dégâts, soit aucun effet. La stratégie d'association du fructose et du saccharose à 0,1 g/L tous les 21 jours est la plus adaptée quelles que soient la variété ou la pression. Le pourcentage moyen d'efficacité Abbott de cette stratégie est de 46 % contre 23 % pour les applications de virus de la granulose (Figure 2). Il faut cependant noter une variabilité dans les résultats. Les résultats font l'objet d'une fiche technique.

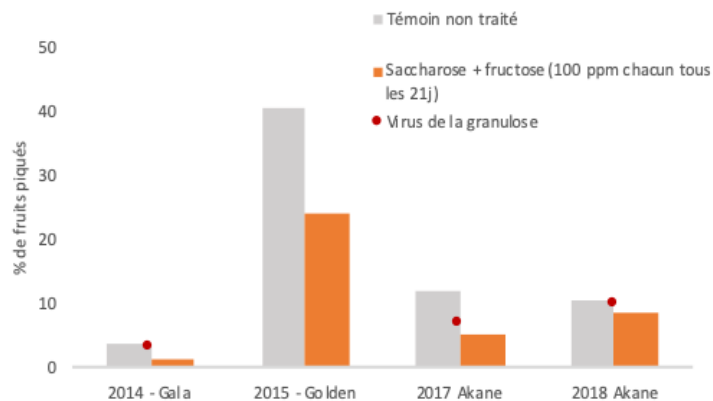


Figure 2 : Pourcentages de fruits piqués à la récolte

2.2.2 En protection fruitière intégrée

Il s'agissait de valider une stratégie de biocontrôle combinant saccharose et/ou fructose en association avec des produits phytosanitaires réduits afin de limiter les quantités d'intrants. Sur des pommiers dans un verger commercial de Granny Smith®, trois essais ont été réalisés de 2016 à 2018.

Les programmes de référence restent les plus efficaces chaque année. Les programmes allégés sont les moins efficaces chaque année, qu'il s'agisse d'une réduction de la dose utilisée (en 2017 et 2018) ou du nombre de traitements. En cas d'association avec les sucres, le mélange fructose + saccharose apporte toujours une meilleure efficacité que le sucre seul.

L'apport combiné du fructose 0,1 g/L + saccharose 0,1 g/L au programme de référence allégé permet de gagner systématiquement en efficacité sans toutefois parvenir au niveau du programme de référence. Les résultats font l'objet d'une fiche technique.

2.3 Maraichage

2.3.1 Validation des facteurs d'efficacité de l'application des sucres sur tomate contre *Oidium neolycopersici* et *Botrytis cinerea*

L'efficacité protectrice des sucres a été évaluée sous deux abris tunnels dans des conditions proches des conditions de production commerciales de la tomate par application des traitements sur 3 variétés de tomate.

Deux tunnels de 128 m² ont été utilisés pour réaliser les essais. Des traitements par pulvérisation, à raison de 1000 L/ha, ont été réalisés sur les plantes, 7 et 2 jours avant l'inoculation de l'oïdium. Une notation des symptômes d'oïdium est effectuée sur 5 plantes par modalité le 13 juin 2018, soit 3 semaines après inoculation. Le nombre de tâches d'oïdium est estimé sur une feuille par plante.

Le traitement réalisé au niveau racinaire (en pépinière) n'apporte aucune protection vis-à-vis de l'oïdium. Les traitements par pulvérisation foliaire (en production) génèrent des effets contrastés selon les tunnels avec un effet protecteur significatif vis-à-vis de l'oïdium pour la variété Clodano dans un tunnel (36 % de protection) et une absence d'effet des sucres dans l'autre tunnel.

2.3.2 Mesure de l'efficacité des stratégies de biocontrôle à base de sucres contre la mineuse sud américaine *Tuta absoluta* sur tomate

L'objectif des essais était de tester une stratégie basée sur l'application de fructose et de saccharose en complément du *Bacillus thuringiensis* (Bt) contre *Tuta absoluta*.

Les modalités testées choisies étaient : fructose 0,1 g/L, saccharose 0,1 g/L, fructose + saccharose 0,1 g/L, *Bacillus thuringiensis* 0,75 kg/ha, témoin. Les traitements ont été réalisés dès la première mine détectée. 7 traitements sont réalisés tous les 15 jours.

En 2016, il apparaît que les modalités à base de sucres à 0,1 g/L apportent une protection faible ou inexistante quand les sucres sont appliqués seuls. Le mélange des deux sucres semble un peu plus intéressant. Pour la suite du projet, les travaux concernent la concentration plus forte 1 g/L.

Dans les conditions d'attaque tardive et modérée de 2017, *Bacillus thuringiensis* reste la modalité la plus efficace, avec cependant des niveaux d'efficacité insuffisants (50 % sur la dernière récolte). Le mélange saccharose + fructose à 1 g/L (chaque sucre) semble avoir apporté une légère protection, notamment en fin de culture. L'ajout au Bt du mélange de sucres à 1 g/L permet d'améliorer l'efficacité du traitement de 52 % à 60 %.

En 2018, dans des conditions de pression forte ravageur, les traitements Bt ont apporté une protection d'environ 40 %, ce qui n'est pas très satisfaisant. L'association fructose et saccharose à 1 g/L avec du Bt a apporté la meilleure protection, d'environ 60 %.

Le mélange des deux sucres à 1 g/L permet d'augmenter l'efficacité du *Bacillus thuringiensis* pour gérer Tuta. Appliqués seuls, les sucres sont inefficaces en protection contre la mineuse. Les résultats font l'objet d'une fiche technique.

2.3.3 Contre les lépidoptères ravageurs du chou-fleur et de la salade (*Pieris brassicae* *Mamestra brassicae*, *Autographa gamma*)

L'objectif des essais était d'évaluer l'intérêt de l'application d'infra-doses de sucres associée ou non avec des stratégies de protection classique en agriculture conventionnelle ou en agriculture biologique, sur des cultures de chou et de salade.

Sur chacune des cultures (chou-fleur et salade), trois essais ont été réalisés de 2016 à 2018 sur un site du Val de Saire en Normandie. Sur salade la variété Anandra a été plantée en juillet et sur chou-fleur la variété Dexter a été plantée en juillet avec une récolte en octobre.

Les traitements aux sucres ont été réalisés tous les 5 à 14 jours selon les cultures et la pression lépidoptère de l'année.

Sur chou-fleur, en 2016 et 2017, la pression était faible et les meilleurs résultats ont été obtenus avec les stratégies de protection conventionnelle et AB. Cependant en 2017, le programme sucres seuls permet une meilleure protection que le témoin non traité de façon significative, ce qui implique un effet protecteur des sucres seuls. En 2018, avec une forte pression lépidoptère, le témoin non traité ne se différencie pas significativement des autres modalités. Ainsi, l'intérêt des sucres dans la protection contre les lépidoptères n'a pas été mise en évidence cette fois-ci. Il n'y a pas eu d'effet négatif des traitements avec les sucres.

Sur les salades, en 2016, l'application de sucres post-plantation n'a montré aucun effet positif sur la résistance des plantes aux lépidoptères. La faible pression lépidoptère en 2017 ne permet pas de conclure sur l'efficacité des sucres. En 2018, aucun effet positif ou négatif sur l'utilisation des sucres dans la lutte contre les lépidoptères en culture de salades n'a été observé avec une faible présence de larves vivantes sur l'essai et un faible pourcentage de salades touchées après parages des salades. Ainsi, l'intérêt des sucres dans la protection contre les lépidoptères n'a pas été mise en évidence. Les observations en cours de culture montrent un potentiel effet attractif des sucres pour les lépidoptères (en 2018 seulement). Les résultats font l'objet d'une fiche technique.

2.4 Grandes cultures

De premiers essais avaient mis en évidence l'intérêt d'application d'infra-doses de sucres pour la protection contre la pyrale du maïs. Les travaux ont été approfondis dans le but de caractériser les conditions favorables à l'efficacité des sucres pour la protection du maïs contre ce ravageur cible et les essais ont été élargis à d'autres ravageurs cibles du maïs pyrale du maïs, sésamie, héliothis, taupins, scutigérelles, nématodes du genre *Pratylenchus sp.*, mais aussi à des ravageurs de céréales à paille.

Le fructose 1 g/L a été privilégié dans les essais visant à protéger la culture contre les nématodes ou les scutigérelles, ravageurs occasionnant des dégâts en début de cycle sur la partie souterraine de la plante. Dans les essais visant la scutigérelle, la première application de sucre a été réalisée dans la raie de semis au moment du semis puis les deux applications suivantes ont été réalisées en traitement des parties aériennes sur jeune maïs (2-3 feuilles, 4-5 feuilles) sauf dans un essai de protection contre les nématodes à cause de conditions climatiques défavorables.

Le saccharose (0,1 ; 1 à 100 g/L) a été privilégié lors d'applications répétées et réalisées en cours de végétation dans les essais visant la protection contre les ravageurs aériens (cicadelles *Z. scutellaris*, pyrale du maïs, sésamie, héliothis). Une modalité associant fructose et saccharose (1 g/L) a été mise en place dans la plupart des essais (sauf les essais ciblant les cicadelles et les taupins) en conformité avec la décision prise par l'ensemble des partenaires en début de projet.

Au cours du projet, 5 essais réalisés sur cultures de maïs (maïs grain, semence ou doux) ont subi des attaques significatives de pyrale du maïs. L'analyse de l'ensemble des résultats disponibles permet d'observer une efficacité des modalités à base de saccharose dans les situations à faible pression d'attaque de pyrale du maïs. L'efficacité décroît très rapidement pour devenir insignifiante dès que les populations de pyrale du maïs atteignent des niveaux significatifs (plus d'une larve par plante dans le témoin) (Figure 3). On constate une efficacité des applications multiples de saccharose (3 à 4 applications, 1 g/L, 200 litres de bouillie par hectare et par application) pour la protection contre la pyrale du maïs de l'ordre de 30 %. Cette efficacité varie de 0 % et près de 70 % selon les essais. Les conditions permettant d'expliquer cette variabilité n'ont malheureusement pas été identifiées au cours du projet.

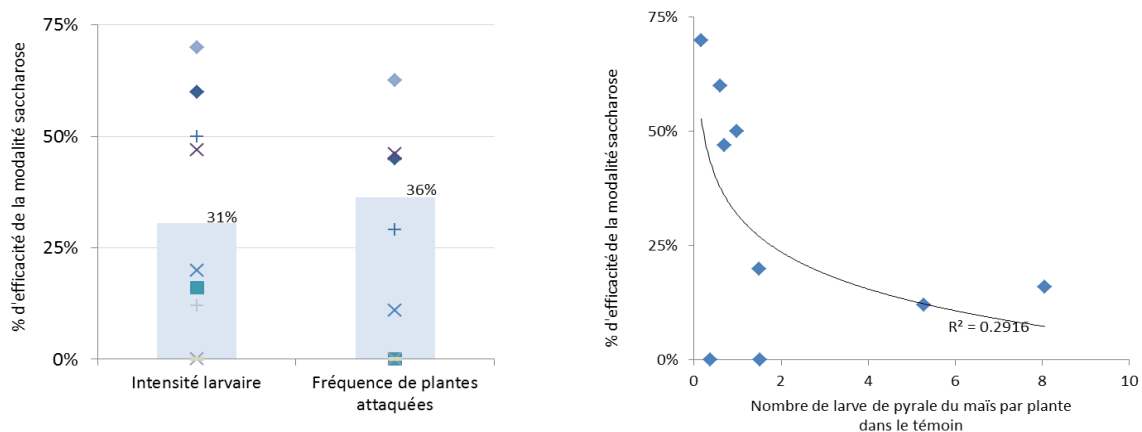


Figure 3 : Efficacité de la modalité à base de saccharose pour la protection contre la pyrale du maïs

Des essais réalisés en situation exposée à d'autres ravageurs aériens du maïs (sésamie, héliothis, cicadelle *Zyginidia scutellaris*) n'ont pas permis de mettre en évidence de bénéfice de l'application des sucres malgré des observations intéressantes vis-à-vis de jeunes héliothis. En revanche, des essais visant à étudier l'intérêt de sucres ont été réalisés en situations exposées à des ravageurs telluriques (nématodes, taupins, scutigérelles). D'une façon générale, l'apport de fructose au stade jeune apporte régulièrement un léger bénéfice dans le niveau de protection même si celui-ci est souvent difficile à percevoir compte tenu de la variabilité expérimentale. Aucun bénéfice de l'apport de saccharose n'a pu être mis en évidence vis-à-vis des pucerons d'automne ou de cécidomyie orange sur céréales à paille.

Au final, les seuls résultats intéressants ont été obtenus pour la protection du maïs contre la pyrale du maïs et dans des conditions d'applications des sucres qui restent assez mal définies en termes de nombre d'application et de stade d'application. Lors d'essais de protection contre les ravageurs telluriques, les essais mettent en évidence une légère efficacité, mais non significative et souvent inférieure à la variabilité expérimentale (non démontrée dans le cadre du projet sur scutigérelles). Concernant les autres ravageurs, mise à part la pyrale du maïs, aucune efficacité n'a été mise en évidence pour la protection contre les ravageurs aériens. Les résultats font l'objet d'une fiche technique.

Un essai mis en place par Arvalis a également été le support pour réaliser des prélèvements des COV émis par les maïs avant / après application de modalités comportant des sucres, directement au champ.

Les niveaux de détection sont beaucoup plus faibles qu'en conditions *in vitro* sur le pommier. Vingt COV ont toutefois été identifiés et leurs pourcentages relatifs comparés. On constate peu de changement sauf l'octanal qui augmente beaucoup avec le traitement saccharose 10 g/L. Le méthyl salicylate est augmenté avec le traitement fructose + saccharose à 1 g/L.

Conclusion

La partie sur les mécanismes physiologiques induits a permis de montrer que les sucres appliqués de façon exogène étaient bien perçus par le pommier et la vigne. Les effets sont multiples : sur les gènes de défense, les gènes du métabolisme, les composés volatils, les communautés bactériennes épiphytes. Le projet a permis de dégager des pistes d'études intéressantes dans les mécanismes en jeu et révèle une variabilité dans les voies empruntées.

L'objectif des essais agronomiques était d'avancer dans les stratégies de protection avec la modalité dite « mélange » qui semble la plus générique en termes de réponse au champ, *ie.* fructose + saccharose à 1 g/L, ou 0,1 g/L et la modalité fructose à 0,1 g/L. Les fréquences d'application ont été étudiées au cas par cas selon la culture testée. Les essais conduits permettent d'envisager l'utilisation des sucres dans certaines filières (Tableau 1) car les tendances d'efficacité, c'est à dire l'intérêt positif, restent stables.

Tableau 1 : Stratégies d'intérêt de biocontrôle à base de sucres par culture et bioagresseur

Culture / cible	Mildiou - vigne	Carpocapse - pommier	<i>Tuta absoluta</i> - tomate	Pyrale - maïs
Stratégie optimale à base de sucres	Fructose 0,1 g/L avec la stratégie habituelle du cuivre (100 à 150 g/ha)	Saccharose 0,1 g/L ppm + fructose 0,1 g/L tous les 21 jours	Saccharose 1 g/L + fructose 1 g/L en complément du Bt	Saccharose 1 g/L 3 à 4 applications
Efficacité	Réduction d'environ ¼ de la dose de cuivre. Grosse variabilité entre cépage	PFI, gain d'efficacité du mélange de 23 % AB, jusqu'à 46 % en AB	Améliore l'efficacité du traitement de 52 % à 60 %	Efficacité moyenne de 31 % (de 0 à 70 %)

De façon identique à la partie en conditions contrôlées, et malgré le nombre d'essais réalisés (15 en verger contre le carpocapse, 16 en vigne contre le mildiou, 9 contre la cicadelle de la FD, 11 en maraichage, 15 en grandes cultures), de la variabilité dans les efficacités probablement multifactorielles est observée. On peut supposer qu'elle est due à plusieurs paramètres indépendants ou non :

- 1) La quantité de sucres reçue par plante qui varie selon les conditions de la parcelle (surface, concentration bouillie, type de pulvérisation, nombre de plantation par hectare) ;

En effet les quantités apportées sont directement liées au volume d'eau nécessaire par hectare pour traiter la culture. Les mouillages d'eau par hectare sont généralement de 50 à 80 L pour les grandes cultures, 100 à 150 L pour les légumes, 150 à 250 L pour la vigne et 600 à 1000 L

pour l'arboriculture. Pour une même concentration initiale de sucre à 0,1 g/L et un même couple plante/bioagresseur, on note une variation d'un facteur de 1 à 5 en moyenne au champ (et exceptionnellement de 25) et une variation d'un facteur de 10 entre les conditions contrôlées et le champ (Figure 4).

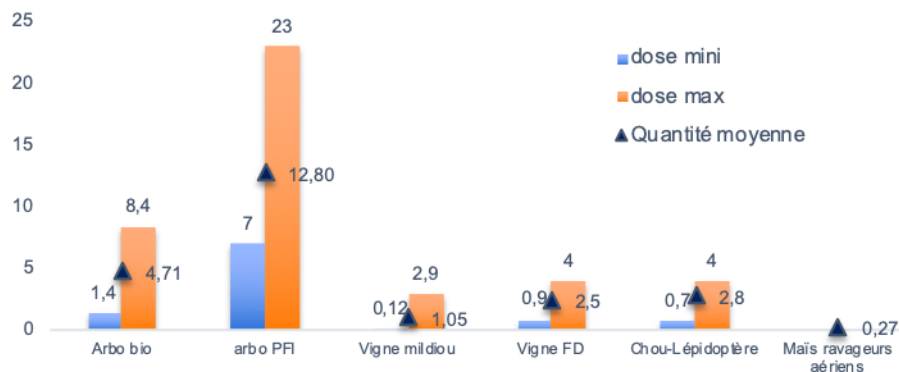


Figure 4. Dose finale mini et maxi appliquée de sucre pour une même concentration initiale (0,1 g/L)

2) La pénétration des sucres dans la plante ;

La variabilité observée engage une réflexion sur les modalités d'application et notamment sur la perméabilité cuticulaire qui doit jouer un rôle fondamental dans la perception des sucres dans la plante. Les sucres pénètrent par les stomates qui sont des organes de régulation des échanges gazeux et de la pression osmotique. Le nombre de stomates varie en fonction des variétés et de la face foliaire. Les tomates sont en général sur les faces inférieures, plus difficilement mouillables, ce qui protège la plante du dessèchement. La pénétrabilité des produits est donc soumise aussi à la densité des stomates sur la face supérieure et celle-ci est difficilement contrôlable. Une perspective post-projet serait de tester ces mêmes stratégies en formulation avec des mouillants afin de faciliter la pénétration des sucres par les stomates de la face supérieure, et de peut-être stabiliser les efficacités.

3) La pression parasitaire, de très faible à très forte ;

4) L'état de stress abiotique des plantes ;

5) Les différentes voies de défense activées. Les études *in vitro* ont révélé que les sucres activaient des voies de défense mais pas toujours de la même façon. Cette variabilité intrinsèque inexpliquée induit probablement cette variabilité au champ.

Au niveau du transfert et de la valorisation, les extensions d'usage ont été délivrées en juillet 2020 pour les usages suivants :

- Fructose (100 à 200 g/L/ha) et saccharose 45 g/L/ha contre le mildiou de la vigne ;
- Fructose contre les scutigérelles (*Scutigera immaculata*) ;
- Fructose et saccharose contre la cicadelle de la FD (*Scaphoideus titanus*) ;
- Saccharose contre *Ostrinia nubilalis* sur maïs grain et maïs doux.

Cinq fiches techniques ont été réalisées pour expliquer comment utiliser les sucres contre les bioagresseurs afin de réduire les dégâts et/ou réduire l'utilisation de produits de protection des plantes. Les cibles sont les suivantes : carpocapse des pommes, lépidoptères du chou et de la salade, mildiou, black rot de la vigne, *Tuta absoluta* sur tomate, et ravageurs du maïs. Ces fiches reprennent une description du ravageur, les protocoles d'application des sucres et les principaux résultats obtenus dans les conditions du projet. Ces fiches permettent de diffuser la même information au public cible, les agriculteurs. Elles sont en ligne sur le [site du projet](#).

D'après les résultats, il serait pertinent de poursuivre sur ce sujet d'un point de vue plus mécanistique *in planta*. En effet, même si SWEET a pu dégager des stratégies de biocontrôle en conditions de production et conforte l'intérêt d'une telle méthode de stimulation de l'immunité, cette variabilité pourrait « démarrer » dès l'application et dans les voies de défenses empruntées dans la plante. La maîtrise des paramètres dépendra des connaissances sur les mécanismes et les possibilités d'applications des sucres en seront d'autant plus généralisables à d'autres cultures.

Références bibliographiques

Arnault I., Bardin M., Ondet S., Furet A., Chovelon M., Kasprick A.-C., Marchand P., Clerc H., Davy M., Roy G., Romet L., Auger J., Mançois A., Derridj S., 2015. Utilisation de micro-doses de sucres en protection des plantes. *Innovations Agronomiques*, 46, 1-10

Arnault I., Lombarkia N., Joy-Ondet S., Romet L., Auger J., Brahim I., Nasri R., Derridj S., 2016. Foliar applications of micro-doses of sucrose to reduce codling moth *Cydia Pomonella* L. (Lepidoptera, Tortricidae) damages on apple tree, 2016. *Pest Management Science* 72: 1901–1909, DOI 10.1002/ps.4228.

Barret M., Briand M., Bonneau S., Préveaux A., Valière S., Bouchez O., Hunault G., Simoneau P., Jacques M.A., 2015. Emergence Shapes the Structure of the Seed Microbiota. *Appl Environ Microbiol.* 81, 1257-1266.

Bolouri Moghaddam M.R., Van den Ende W., 2012. Sugars and plant innate immunity. *Journal of Experimental Botany*, 63 (11), 3989-98.

Duge de Bernonville T., Brisset M.N., 2011. Dispositif pour déterminer ou étudier l'état de stimulation des défenses naturelles de plantes ou parties de plantes appartenant à la famille des Rosaceae. WO/2011/161388

Trouvelot S., Héloir M.C., Poinssot B., Gauthier A., *et al.*, 2014. Carbohydrates in plant immunity and plant protection: roles and potential application as foliar sprays. *Frontiers in Plant Sciences*, 4, 1-14.

PROJET USAGE. Utilisation de micro-doses de sucres en protection des plantes. Projet "Innovation et Partenariat" du Ministère l'agriculture, de l'alimentation, de la pêche, de la ruralité et de l'Aménagement du Territoire, axe ECOPHYTO2018 de l'ONEMA, 2012-2014.

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).