

**AFPP – CINQUIÈME CONFÉRENCE INTERNATIONALE
SUR LES MÉTHODES ALTERNATIVES DE PROTECTION DES PLANTES
LILLE – 11 AU 13 MARS 2015**

**PROTEGER DURABLEMENT LES CHRYSANTHEMES CONTRE LA ROUILLE BLANCHE AVEC UN SDP
PERFORMANT : RESULTATS DU TERRAIN**

O. STAPEL⁽¹⁾, A. PENNANEAC'H⁽¹⁾ et J. GUERRAND⁽²⁾

⁽¹⁾ ASTREDHOR LOIRE BRETAGNE – STEPP Bretagne, 52 rue de St Ilan, 3360 Langueux, France

⁽²⁾ Vegenov, Penn ar Prat, 29250 St Pol de Léon, France

RÉSUMÉ

Cinq ans d'expérimentation en conditions de production sous abri montrent une efficacité très importante d'un SDP (Inssimo®, 50% ASM) contre la rouille blanche du chrysanthème. Après 5 traitements préventifs avec un intervalle de 7 à 10 jours entre les traitements, très peu de symptômes sont observés même sous pression parasitaire importante. Inssimo® semble induire la plante contre *Puccinia horiana* pendant une durée importante mais celle-ci n'est pas encore bien définie en conditions de production. Ce SDP donne des perspectives intéressantes pour les multiplicateurs de chrysanthème car une commercialisation et une distribution des boutures induites contre la rouille blanche peut être envisagée.

Mots-clés : éliciteur, SDP, ornement, maladie, prévention.

ABSTRACT

Five years of trials under production conditions in a plastic greenhouse show very high levels of phytosanitary protection obtained with a plant elicitor (Inssimo®, 50% ASM) against chrysanthemum white rust. After 5 preventive treatments at 7-10 day interval between treatments, very few symptoms are observed even at high levels of parasitic pressure. Laboratory experiments show that Inssimo® induces the plant against *Puccinia horiana* for an extended yet in production conditions undetermined period of time. This finding offers interesting opportunities for chrysanthemum breeders considering the potential to commercialize and distribute induced thus white rust protected young plants to chrysanthemum growers.

Keywords: elicitor, plant defence, ornament, disease, prevention.

INTRODUCTION

Une des maladies les plus redoutées en culture de chrysanthème (production plantes en pots ou fleurs coupées) est la rouille blanche. C'est une maladie fongique grave causée par *Puccinia horiana* Hennings. Les symptômes se manifestent sur la face supérieure des feuilles comme des petites taches blanchâtres, légèrement déprimées. Des pustules jaunâtres sont visibles à la face inférieure des feuilles, rendant les plantes invendables. Aujourd'hui le pathogène est répandu sur presque tous les continents. C'est un parasite obligatoire et spécialiste. Ses basidiospores sont facilement propagées quand la variation des températures jour/nuit est très fluctuante, l'humidité est élevée (80-100% pendant au moins 3 heures) et le feuillage est humide.

L'origine de l'infestation dans les serres de production est souvent le jeune plant issu de bouture (ASTREDHOR, 2010). Les plants infestés semblent sains jusqu'au moment où les conditions climatiques sont favorables au pathogène. Pour réduire les risques de contamination, les pratiques suivantes sont souvent conseillées : choix de variétés plus résistantes, choix des producteurs de jeunes plants renommés, réduction de la densité des plantes par m², limitation des arrosages en aspersion, conduite d'une culture sèche, réduction de l'hygrométrie dans les serres.

La maladie peut entraîner la perte totale de la culture si les plantes infestées ne sont pas repérées et détruites rapidement et que le reste de la culture n'est pas traité. La rouille blanche est inscrite sur la liste A2 de l'OEPP et, en cas de contamination, les mesures de quarantaine concernent les productions de jeunes plants destinées aux horticulteurs. En revanche, pour les productions de plantes fleuries, destinées aux clients finaux, il existe uniquement une obligation de traitement en lutte chimique. La lutte pratiquée par les producteurs consiste en des traitements récurrents préventifs et curatifs avec des matières actives en alternance tels que kresoxym-méthyl, myclobutanil ou bitertanol. Le nombre de traitements peut atteindre 8-12 traitements pendant les périodes sensibles en août/septembre. La pression parasitaire peut varier chaque année et les fongicides classiques même en alternance ne semblent plus efficaces aujourd'hui (Bonde et al., 1995).

Une voie de lutte intéressante et probablement plus durable est l'utilisation des stimulateurs de défenses des plantes (SDP) éventuellement en association avec des traitements phytosanitaires classiques. Cette approche visant à lutter contre le pathogène avec des méthodes à différents modes d'action (direct et indirect) peut s'avérer plus efficace et durable. Au travers d'un projet visant à trouver des solutions face à l'impasse de la lutte chimique contre la rouille blanche des résultats très prometteurs sont ci-après présentés avec des retombées potentiellement importantes pour la profession.

MATERIEL ET MÉTHODE

ESSAIS EN CONDITIONS DE PRODUCTION

Culture, inoculation et notations

Deux variétés connues pour leur sensibilité à la rouille blanche sont utilisées : en 2011 *Dendranthema × grandiflorum* var. 'Louissette® jaune' (Ets. Challet) et en 2013 *Dendranthema × grandiflorum* var. 'Yahou Golden Yellow' (Ets. Bernard). Les chrysanthèmes sont cultivés à densité de pots élevée (12 pots/m²) pour faciliter l'installation de la maladie. Les chrysanthèmes sont cultivés entre les semaines 35 et 45 dans un tunnel plastique de 200 m² et en pot plastique de 2L avec 3 boutures racinées par pot. Cinq traitements à 10 jours d'intervalle (année 2011) ou 5 traitements à 7 jours d'intervalle (année 2013) sont effectués avec un pulvérisateur de précision électrique (2.2 bar). La cadence de traitement est rapprochée en 2013 par rapport à 2011 pour essayer de rendre les traitements chimiques plus efficaces. La date de l'introduction de l'inoculum est en fonction de la disponibilité de plantes infestées dans les entreprises de production et peut donc varier de 4 jours après le premier traitement (2011) jusqu'à 1 jour avant le 4^e traitement (2013). Les plantes infestées sont placées dans les parcelles et redistribuées tous les 4-5 jours pour limiter une variabilité de pression parasitaire inter-bloc. Avant

chaque traitement les plantes inoculatrices sont enlevées et remises dans les parcelles après traitement. Lors des 3 dates de notations, les 20 feuilles avec les symptômes les plus sévères sont enlevées de chaque parcelle élémentaire et le nombre de tâches blanches et de pustules par feuille est noté. Les données sont transformées en Ln (n+1) et analysées par date de récolte avec le logiciel Statbox Pro v 7.1 (ANOVA et Test Newman-Keuls, $p < 0.05$).

Dispositif et modalités année 2011

Dispositif de l'essai : plan en blocs en randomisation totale, 8 modalités de traitement, 4 répétitions par modalité, 12 pots de 2L avec 3 plants par pot. Description des traitements (volume de bouillie apporté : 1000 l/ha) :

- Témoin eau, 5 traitements à 10 jours d'intervalle,
- ASM (50%) à 0,05 g/l, 5 traitements à 10 jours d'intervalle,
- AG, produit codé à base d'algues, 0,625g/l, 5 traitements à 10 jours d'intervalle,
- SF, produit codé, mélange d'extraits d'algues, d'acides aminés et de fertilisants, 7.5 ml/l, 5 traitements à 10 jours d'intervalle,
- TF, produit codé contenant du phosphite, 7.5 ml/l, 5 traitements à 10 jours d'intervalle,
- Itinéraire de traitement 1 (IT1), 1^{ère} application : mancozèbe (75%) à 2g/l, 2^e application : difenoconazole (250 g/l) à 0,5 ml/l, 3^e application : mancozèbe (75%) à 2g/l, 4^e application : myclobutanil (45 g/l) à 1,66 ml/l, 5^e application : mancozèbe (75%) à 2g/l,
- Itinéraire de traitement 2 (IT2), 1^{ère} application : myclobutanil (45 g/l) à 1,66ml/l, 2^e application : kresoxim-méthyl (50%) à 0,3 g/l, 3^e application : myclobutanil (45 g/l) à 1,66 ml/l, 4^e application : kresoxim-méthyl (50%) à 0,3 g/l, 5^e application : myclobutanil (45 g/l) à 1,66 ml/l,
- Itinéraire de traitement 3 (IT3), 1^{ère} application : myclobutanil (7,5 g/l) à 10ml/l, 2^e application : kresoxim-méthyl (50%) à 0,3 g/l, 3^e application : myclobutanil (7,5 g/l) à 10 ml/l, 4^e application : kresoxim-méthyl (50%) à 0,3 g/l, 5^e application : myclobutanil (7,5 g/l) à 10 ml/l.

Dispositif et modalités année 2013

Dispositif de l'essai : plan en blocs en randomisation totale, 6 modalités de traitement, 4 répétitions par modalité, 12 pots de 2L avec 3 plants par pot. Description des traitements (volume de bouillie apporté : 1000 l/ha) :

- Témoin eau, 5 traitements à 7 jours d'intervalle,
- ASM (50%) à 0,05 g/l, 5 traitements à 7 jours d'intervalle,
- AG2, produit codé contenant du phosphite, dose 6,25 g/l, 5 traitements à 7 jours d'intervalle,
- Itinéraire de traitement 1 (IT1), 5 traitements à 7 jours d'intervalle. 1^{ère} application : mancozèbe (75%) à 2 g/l, 2^e application : difenoconazole (250 g/l) à 0,5 ml/l, 3^e application : mancozèbe (75%) à 2 g/l, 4^e application : myclobutanil (45 g/l) à 1,66 ml/l, 5^e application : mancozèbe (75%) à 2 g/l,
- Itinéraire de traitement 2 (IT2), 5 traitements à 7 jours d'intervalle. 1^{ère} application : AG2 (6,25 g/l), 2^e application : mancozèbe (75%) à 2g/l, 3^e application : difenoconazole (250 g/l) à 0,5 ml/l, 4^e application : myclobutanil (45 g/l) à 1,66 ml/l, 5^e application : AG2 (6,25 g/l),
- Itinéraire de traitement 3 (IT3), 5 traitements à 7 jours d'intervalle. 1^{ère} application : AG2 (6,25 g/l), 2^e application : difenoconazole (250 g/l) à 0,5 ml/l, 3^e application : AG2 (6,25 g/l), 4^e application : mancozèbe (75%) à 2g/l, 5^e application : AG2 (6,25 g/l).

ESSAIS EN CONDITIONS DE LABORATOIRE

Effets directs des produits

Pour connaître le mode d'action, les effets directs des produits contre *P. horiana* sont évalués en boîtes de Pétri. Quatre gouttes de 1 ml chacune du produit à doses N et 10 N sont déposées dans une boîte de Petri avec de l'agar. La dose N correspond à la dose utilisée dans les tests d'efficacité effectués au laboratoire. Une feuille de chrysanthème avec des pustules de rouille en sporulation est ensuite collée avec de l'eau sur le couvercle de la boîte pendant 24 heures. Après enlèvement de la feuille, les basidiospores déposées sur le fond de la boîte sont conservées pendant 24 heures dans une chambre climatique à 20°C. Le pourcentage de spores germées est déterminé après 24 heures d'incubation.

Durée d'efficacité des produits

Pour déterminer l'efficacité et la durée d'efficacité des produits contre la rouille blanche, 8 jeunes plants de *Dendranthema × grandiflorum* var. « Mélodie » au stade 8 – 10 feuilles sont traités avec 5 ml de bouillie par plant, 8, 15, 20 ou 30 jours avant inoculation. Cette procédure est répétée 4 fois pour chaque traitement. L'inoculation est effectuée dans des mini serres (75X40X35 cm) pendant 24 heures à température ambiante de 20°C jour/18°C nuit. De façon homogène, des feuilles avec des pustules en sporulation sont collées avec de l'eau à l'intérieur du couvercle de la mini serre. Après 24 heures les feuilles sont enlevées et les mini serres sont remises dans une chambre climatique (20°C jour/18°C nuit) pendant 14-20 jours. La sévérité des symptômes de rouille blanche est ensuite évaluée 14 – 20 jours après inoculation utilisant une échelle de notation à 7 niveaux.

RESULTATS

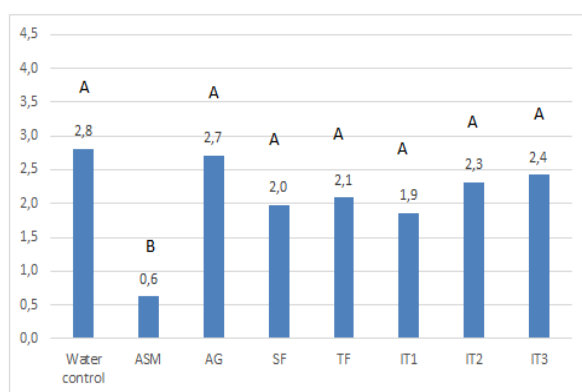
EFFICACITE DES PRODUITS EN CONDITIONS DE PRODUCTION 2011

Vingt-deux jours après l'introduction des plantes inoculatrices dans les parcelles, on voit relativement peu de symptômes apparaître dans les parcelles traitées avec ASM tandis que les symptômes sont significativement plus sévères dans les autres modalités de traitement (fig. 1A). Vingt-sept jours après l'introduction de l'inoculum, les parcelles traitées avec ASM restent significativement peu touchées par la rouille blanche par rapport aux autres traitements (fig. 1B). Le nombre de tâches et de pustules observé dans les parcelles de l'itinéraire de traitement T1 est significativement moins important par rapport aux modalités traitées à l'eau et avec le produit AG. Trente-neuf jours après l'introduction de l'inoculum, l'intensité des symptômes dans les parcelles traitées à ASM reste significativement plus basse par rapport à tous les autres traitements (fig. 1C). L'intensité des symptômes dans les parcelles des itinéraires de traitement T2 et T3 sont significativement moins importantes que celle du témoin eau mais elles ne sont pas statistiquement différentes par rapport aux autres traitements sauf les traitements AG et ASM. Aucun symptôme de phyto-toxicité n'est observé avec les produits évalués.

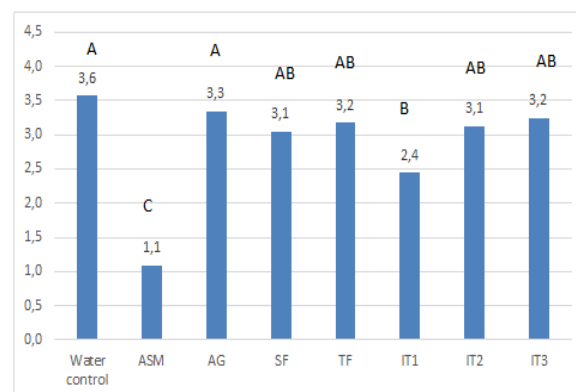
Figure 1 : Evolution du nombre transformé Ln (n+1) de taches blanches et de pustules par feuille dans une production de chrysanthème en pot, 22 jours (1A), 27 jours (1B) et 39 jours (1C) après inoculation. Cinq traitements ont été réalisés à intervalle de 10 jours avec différentes substances (data 2011). Les différentes lettres au-dessus des barres représentent des différences significatives entre les traitements (ANOVA, si $p < 0,05$: test Newman-Keuls).

Figure 1 : Evolution of Ln (n+1) transformed number of white rust spots and pustules per leaf in a potted chrysanthemum production, 22 days (1A), 27 days (1B) et 39 days (1C) after inoculation. Five treatments were realized at 10 day interval with different substances (data 2011). Similar letters above the bars indicate that results are not significantly different (ANOVA, $p < 0,05$ and test Newman-Keuls).

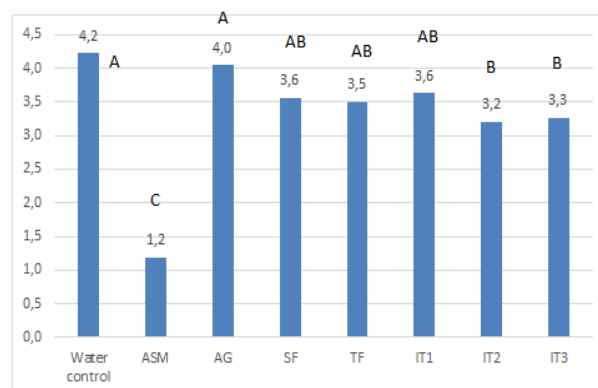
1A



1B



1C



EFFICACITE DES PRODUITS EN CONDITIONS DE PRODUCTION 2013

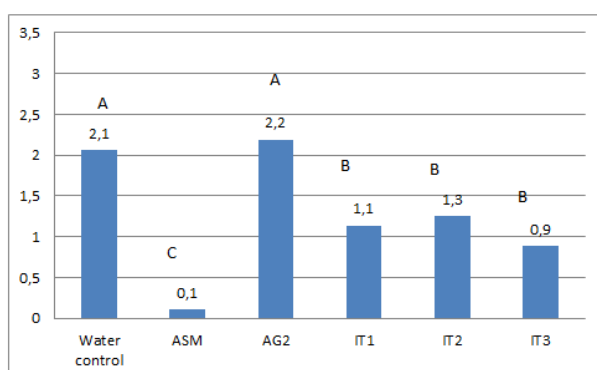
Vingt jours après l'introduction des plantes inoculatrices dans les parcelles, on voit une intensité relativement importante des symptômes de la rouille blanche apparaître dans les parcelles traitées avec de l'eau ou avec le produit AG2 (fig. 2A). Les parcelles traitées avec ASM sont les moins touchées et les parcelles traitées avec les 3 différents itinéraires de traitement (T1, T2 et T3) montrent des intensités de symptômes intermédiaires entre témoin eau et ASM. Vingt-cinq jours après l'introduction de l'inoculum, les parcelles traitées avec ASM restent significativement peu touchées par la rouille blanche tandis que les parcelles du témoin traitées à l'eau montrent d'avantage de symptômes (fig. 2B). Le nombre de tâches et de pustules observé dans les parcelles traitées avec le produit AG2 ou avec les itinéraires de traitement T1, T2 et T3 est significativement moins important par rapport à celui du témoin eau mais plus important par rapport aux traitements ASM. Vingt-neuf jours après l'introduction

de l'inoculum, l'intensité des symptômes, dans les parcelles traitées à ASM, reste significativement très basse par rapport à celle du témoin eau (fig. 2C). L'intensité des symptômes, dans les parcelles des itinéraires de traitement T1 et T2, est significativement moins importante que celle observée dans les modalités témoin eau, AG2 et IT3, et elle est même comparable avec l'intensité observée dans la modalité ASM. Aucun symptôme de phytotoxicité n'est constaté avec les produits évalués.

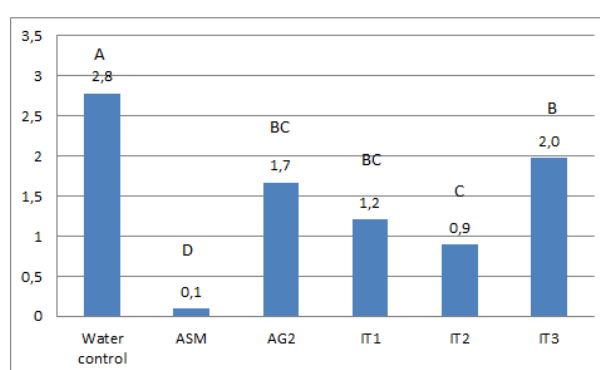
Figure 2 : Evolution du nombre transformé $\text{Ln}(n+1)$ de taches blanches et de pustules par feuille dans une production de chrysanthème en pot 20 jours (2A), 25 jours (2B) et 29 jours (2C) après le dernier traitement. Cinq traitements ont été réalisés à intervalle de 7 jours avec différentes substances (data 2013). Les différentes lettres au-dessus des barres représentent des différences significatives entre les traitements (ANOVA, $p < 0,05$ suivie par un test Newman-Keuls).

Figure 2 : Evolution of $\text{Ln}(n+1)$ transformed number of white rust spots and pustules per leaf in a potted chrysanthemum production 20 days (2A), 25 days (2B) et 29 days (2C) after de last treatment. Five treatments were realized at 7 day interval with different substances (data 2013). Similar letters above the bars indicate that results are not significantly different (ANOVA, $p < 0,05$ and test Newman-Keuls).

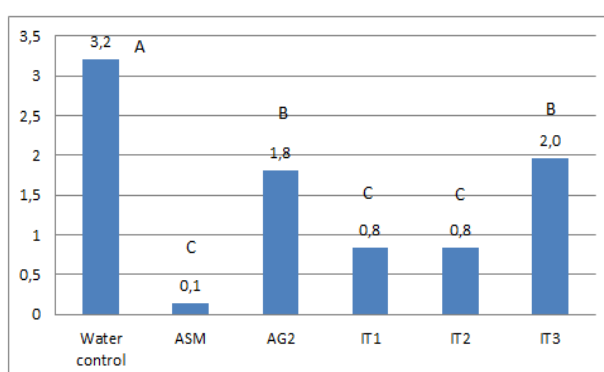
2A



2B



2C



MODE D'ACTION ET DUREE D'EFFICACITE DES PRODUITS EN CONDITIONS DE LABORATOIRE

Les tests portant sur les effets directs des produits sur la germination des spores révèlent des effets fongicides des produits à base d'azoxystrobine et d'huile essentielle d'orange tandis que les traitements à ASM (dose N et 10 N) et eau ont peu ou pas d'impact sur la germination des

basidiospores (fig. 3). Les produits à base d'azoxystrobine, d'ASM et d'huile essentielle d'orange ont une durée d'efficacité très élevée par rapport à l'eau pour un délai de 8 jours entre traitement et inoculation. Au-delà la durée d'efficacité est assez limitée pour le produit à base d'huile essentielle d'orange tandis qu'elle reste élevée pour les produits à base d'azoxystrobine et d'ASM, jusqu'à un délai de 20 jours entre traitement et inoculation (fig. 4).

Figure 3 : Pourcentage de germination des basidiospores 48 heures après application des produits aux doses N et 10 N.

Figure 3 : Percent of germination of the basidiospores 48 hours after product application at doses N and 10 N.

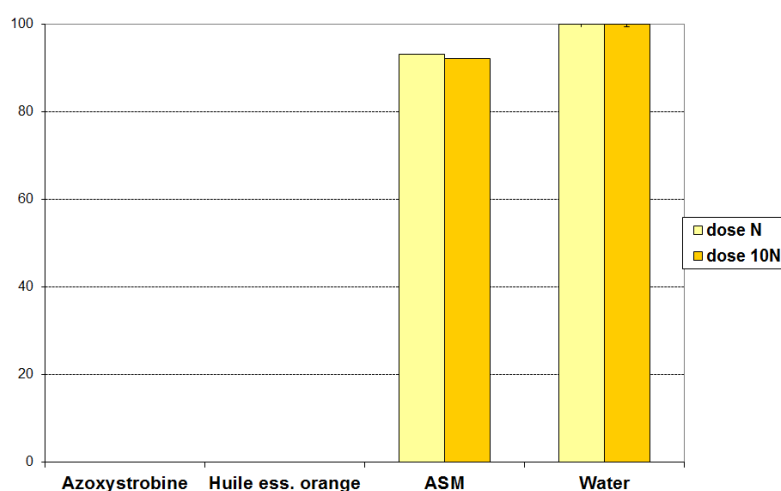
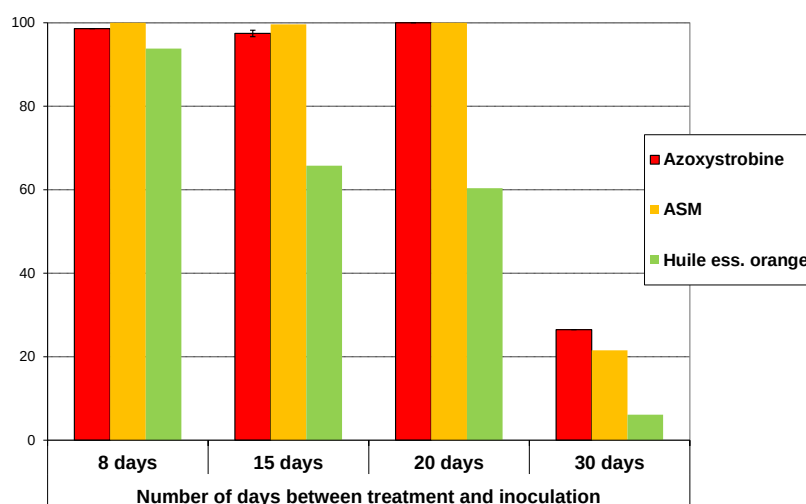


Figure 4 : Efficacité relative par rapport à l'eau des substances contre rouille blanche du chrysanthème dans des tests de laboratoire en fonction du nombre de jours entre traitement et inoculation.

Figure 4 : Relative efficacy of several substances as compared to the water control in laboratory tests against chrysanthemum white rust related to the number of days between treatment and inoculation.



DISCUSSION

L'expérimentation menée en 2011 et 2013 démontre l'efficacité importante et durable d'ASM lorsque les plantes sont traitées 5 fois à 7-10 jours d'intervalle contre la rouille blanche du chrysanthème. L'efficacité d'ASM ne semble pas « variété spécifique », un phénomène pourtant souvent observé avec les SDP (Elicitra 2013). Pour les 3 variétés de chrysanthème évaluées (2 sur le terrain, 1 au laboratoire) des efficacités importantes et comparables sont observées. L'incidence et l'intensité des symptômes dans les cultures traitées à ASM sont très faibles par rapport aux parcelles traitées avec d'autres produits. ASM révèle également un mode d'action uniquement indirect puisque les tests sur les effets fongicides montrent une germination des basidiospores peu impactée, même à dose très forte du produit. ASM est donc un stimulateur de défenses des plantes (SDP) induisant le chrysanthème à mettre en place des défenses physiques et/ou chimiques efficaces contre *P. horiana* dont les mécanismes restent inconnus.

La durée d'efficacité d'un traitement ASM sous conditions de laboratoire est d'environ 20 jours mais elle peut diminuer en conditions de production ou augmenter si plusieurs traitements sont effectués (effet booster). Dans les essais de terrain, on observe quand même une durée de protection au-delà d'un mois après le dernier traitement. Cependant, la durée de protection au-delà d'un mois devient plus difficile à déterminer car le changement physiologique rend le chrysanthème également moins sensible à la rouille. Nous observons par exemple qu'au stade génératif de la plante (apparition des boutons floraux) les feuilles une fois durcies deviennent moins sensibles à la rouille.

Le moment d'application d'un SDP est une décision très importante et les traitements doivent toujours être effectués en préventif. Quand les symptômes de la rouille sont déjà visibles dans la culture l'efficacité du SDP sera réduite, dans ce cas uniquement les plantes non-infestées seront protégées. Lorsque les symptômes sont visibles, il est important de mettre en place un itinéraire de traitement en commençant d'abord par un traitement fongicide (ex. azoxystrobine) suivi par un traitement ASM pour protéger les plantes non infestées. Quand il s'agit d'une culture sans symptômes de rouille blanche la stratégie à adopter est différente. Il est préférable de traiter avec le SDP dès que possible après repiquage des boutures racinées et de répéter 4 fois le traitement avec 10 jours d'intervalle. Des traitements fongicides ne seront probablement pas nécessaires et l'Indice de Fréquence des Traitements (IFT) peut considérablement diminuer par rapport à une culture menée sans utilisation du SDP pour laquelle le nombre de traitements peut varier entre 8 et 12 selon la pression parasitaire (Stapel et Guerrand, 2012).

Une piste intéressante à développer est la possibilité d'appliquer ASM sur les cultures de pieds mères dans les entreprises de multiplication pour que les boutures prélevées de ces pieds mères soient déjà induites et donc préparées contre la rouille blanche. Une fois arrivées dans les entreprises de production les boutures de chrysanthèmes induites donneront une marge de sécurité aux horticulteurs et les premiers traitements avec ASM pourront être retardés. Une expérimentation dans ce sens est en cours.

Les fongicides conventionnels utilisés en alternance dans les essais de 2011 s'avèrent peu efficaces par rapport à 2013. Il est possible que l'efficacité des produits soit influencée par l'existence de différents patho-types de la rouille blanche avec différents degrés de résistance aux fongicides (Cook, 2001, De Backer et al 2013). L'efficacité de l'ASM reste toutefois élevée pendant les 2 années.

Concernant les itinéraires de traitement avec les fongicides uniquement, une réduction de la cadence entre traitements (7 jours d'intervalle au lieu de 10 jours) semble améliorer l'efficacité de lutte contre *P. horiana*. De plus certains itinéraires de traitements en 2013 s'avèrent aussi efficaces que l'ASM appliqué seul. Cependant, les conditions d'essai sont loin d'être identiques entre les 2 années. La pression parasitaire en 2011 a été plus importante qu'en 2013 et la variété de chrysanthème est différente.

CONCLUSION

Suite aux essais menés à l'Institut Technique d'Horticulture ASTREDHOR, ASM est depuis juillet 2012 homologué pour un usage en productions ornementales contre la rouille blanche du chrysanthème (Inssimo®, 50% Acibenzolar-S-Methyl). Le SDP Inssimo® permet d'obtenir une protection très élevée contre *P. horiana* et potentiellement de diminuer considérablement les IFT dans les cultures de chrysanthème. Des opportunités intéressantes sont en cours d'évaluation concernant l'application d'Inssimo® dans les cultures de multiplication pour protéger durablement les végétaux, de la bouture jusqu'à la plante fleurie prête pour la commercialisation.

BIBLIOGRAPHIE

- ASTREDHOR 2010 - Rapport technique Programme National « Etude épidémiologique de la rouille blanche (*Puccinia horiana*) du chrysanthème ». *Institut Technique de l'Horticulture*. 23 p.
- Cook, R.T.A. 2001 - First report in England of changes in the susceptibility of *Puccinia horiana*, the cause of chrysanthemum white rust, to triazole and strobilurin fungicides. *Plant Pathology*, 50, 6, 791-792.
- De Backer M., Hossein A, Vali Anar S., Van Bockstaele E., Roldàn-Ruiz I., Van der Lee T., Maes M. and Heungens K. 2011 - Identification and characterization of pathotypes in *Puccinia horiana*, a rust pathogen of *Chrysanthemum x Morifolium*. *European Journal of Plant Pathology*, 130, 3, 325-338.
- Elicitra 2013 - Guide méthodologique d'évaluation d'efficacité des Stimulateurs de Défenses des Plantes (SDP). 42 p.
http://elicitra.org/index.php?rub=guide_methodologique_d_evaluation_des_sdp
- Stapel, O. et Guerrand, J. 2012. High efficacy of a possible plant elicitor and other phytostimulants against white rust (*Puccinia horiana* Henn.) in potted chrysanthemum productions. *Acta Horticulturae* ISHS-IHC, 937, 355-360.