

**AFPP – 6<sup>e</sup> CONFÉRENCE SUR LES MOYENS ALTERNATIFS DE PROTECTION  
POUR UNE PRODUCTION INTÉGRÉE  
LILLE – 21, 22 ET 23 MARS 2017**

**MESSAGER : HISTOIRE D'UN NOUVEAU STIMULATEUR DE DEFENSE DES PLANTES A BASE DE LA  
SUBSTANCE ACTIVE COS-OGA POUR LUTTER CONTRE L'OÏDIUM ET LE MILDIU DE LA VIGNE**

E. LASCAUX <sup>(1)</sup> et R. BUONATESTA <sup>(2)</sup>

<sup>(1)</sup> 4 av de la CEE 86170 Cissé ; France ; elascaux@jouffray-drillaud.fr

<sup>(2)</sup> 25 rue Phocas Lejeune B-5032 Isnes ; Belgique ; r.buonatesta@fytofend.com

**RÉSUMÉ**

MESSAGER a reçu une AMM (2150479) en France en octobre 2015 portant sur les cultures maraichères sous serre et plus récemment en vigne. Ce Stimulateur des Défenses des Plantes a montré ses preuves vis-à-vis de l'oïdium et du mildiou en vigne. Son originalité réside dans la composition de sa substance active naturelle provenant à la fois de chitosan et de pectine. Il s'agit d'un complexe de chitooligosaccharides ou « COS » et d'oligogalacturonanes ou « OGA ». Le complexe COS-OGA formé active ainsi de manière plus importante les voies de défense et notamment celle principale des PR Protéines. Cette communication présente le développement d'une molécule innovante de l'évaluation et la compréhension de son mode d'action à sa mise en œuvre en tant que solution à part entière dans les programmes phytosanitaires actuels.

Mots-clés : SDP ; COS-OGA ; oïdium ; mildiou ; vigne.

**ABSTRACT**

**MESSAGER : STORY OF A NEW ELICITOR BASED ON THE ACTIVE SUBSTANCE COS-OGA AGAINST POWDERY AND DOWNY MILDEW IN VINEYARD**

MESSAGER has been first registered under the approval number 2150479 in France in October 2015 on vegetables under greenhouse and more recently on vineyard. This elicitor has shown its performance against powdery mildew and downy mildew in vineyard. Its originality resides in the composition of its natural active substance provided from chitosan and pectin. It is a complex of chitooligosaccharides or "COS" and oligogalacturonans or "OGA". The formed complex COS-OGA triggers then more efficiently the defence pathways and especially that of PR proteins. This communication presents the development of an innovative molecule from its evaluation and the comprehension of its mode of action to its set up as a full solution in the current phytosanitary programs.

Keywords: elicitor; COS-OGA; powdery mildew; downy mildew; vineyard.

## INTRODUCTION

Le contexte agricole français est très marqué par un objectif de réduction de l'utilisation des produits phytosanitaires (loi d'Avenir Agricole d'octobre 2014 et mise en place du plan Ecophyto II) et une révision des exigences en terme d'application des produits (arrêté du 12 septembre 2006). Face à ces contraintes agri-environnementales et sociétales, les enjeux agricoles sont très importants et dépendent de l'offre de solutions alternatives peu classées au niveau toxicologique et éco-toxicologique et de leur intégration dans les systèmes de culture actuels. La vigne qui occupe 750 000 ha en France fait partie des cultures particulièrement ciblées.

Le produit MESSAGER, homologué depuis octobre 2015 en cultures légumières (AMM n°2150479), a reçu une extension d'usage sur vigne près de 1 an plus tard en novembre 2016. Ce produit, démontré sans effet biocide et stimulant la défense des plantes, a pu intégrer la catégorie des Stimulateurs des Défenses des Plantes (SDP). Il présente une efficacité vis-à-vis des oïdiums (*Pseudoidium neolycopersici*, *Leveillula taurica*, *Podosphaera fusca*, *Sphaerotheca fuliginea*, *Erysiphe necator*) et du mildiou de la vigne (*Plasmopara viticola*). Ce SDP à base de la substance active COS-OGA (Cabrera *et al.*, 2010) est le fruit de 15 ans de recherche de l'unité de recherche en biologie cellulaire et moléculaire végétale conduite par Pierre Van Cutsem à l'université de Namur (Belgique). En 2009, la spin-off FytoFend poursuit le développement du produit à base de COS-OGA et a choisi de travailler en partenariat avec Jouffray-Drillaud pour proposer cette nouvelle solution au marché agricole français.

Le complexe COS-OGA est original puisqu'il est composé d'une substance active naturelle provenant à la fois du chitosan, constituant de la paroi cellulaire des champignons, et de pectine, constituant de la paroi cellulaire végétale. Il s'agit donc d'un complexe de chitooligosaccharides ou « COS » et d'oligogalacturonanes ou « OGA » qui mime l'interaction du pathogène avec la plante. Cette double perception est interprétée comme une situation de détresse à laquelle la plante répond par un signal biochimique intense véhiculé au sein de la plante et menant à la mise en place de plusieurs mécanismes de défense (Van Aubel *et al.*, 2016).

L'efficacité du COS-OGA a été démontrée sur plusieurs cultures dont la vigne (Van Aubel *et al.*, 2014). Ainsi, depuis les tests en laboratoire, puis en conditions contrôlées et au champ, cet article a pour but d'exposer le développement d'une nouvelle solution aujourd'hui proposée en vigne : de l'évaluation de son efficacité du laboratoire au champ, en passant par la compréhension de son mode d'action.

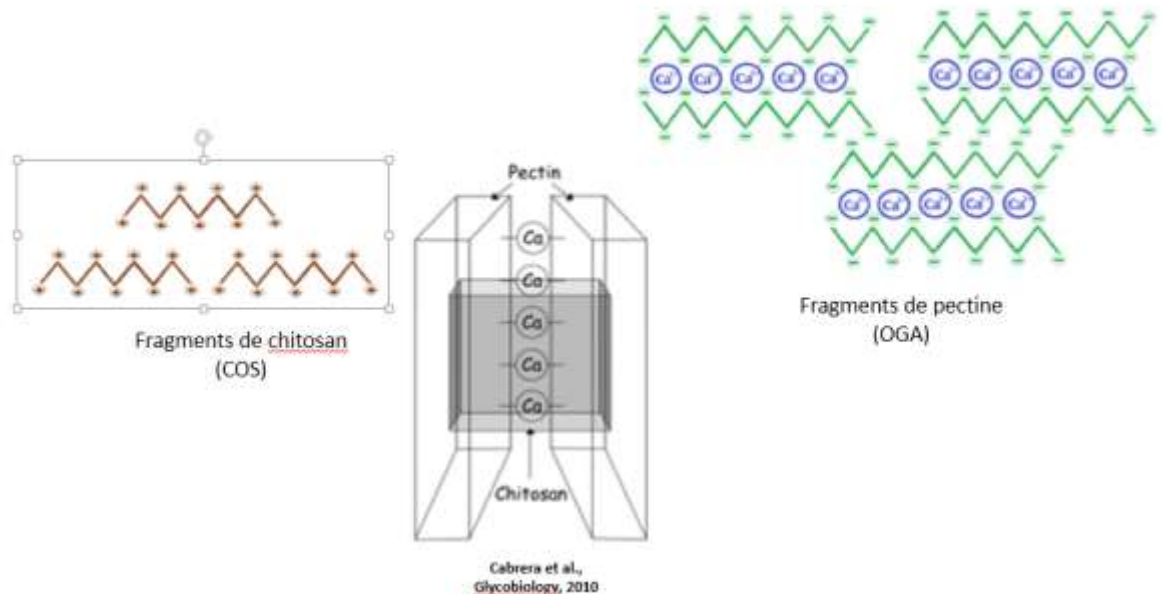
## MATERIEL ET MÉTHODE

### EVALUATION DU COMPLEXE COS-OGA

#### Essai *in planta* : COS et OGA versus COS-OGA

Cet essai mené à l'Inra de Dijon en 2008 avait pour but de démontrer l'intérêt du complexe COS-OGA versus les composants individuels COS et OGA (Figure 1). Les 2 extraits COS et OGA étaient présentés sous forme de poudre lyophilisée et mise en solution diluée pour former le complexe brut COS-OGA.

Figure 1 : Représentation graphique des fragments de COS et OGA et du complexe COS-OGA.  
 Graphic representation of COS and OGA fragments and of the complex COS-OGA.



Les plants de vigne ont été cultivés en pots en phytotron, et l'essai mené sous serre en conditions contrôlées. L'essai a été conduit selon un dispositif aléatoire à cinq répétitions. Les substances actives élicitrices COS, OGA et COS-OGA ont été appliquées par pulvérisation foliaire aux deux doses de 10 et 20 ppm avec un mouillant à la dose de 0.1%.

Une inoculation artificielle à base d'une souche de *Plasmopara viticola* a été réalisée 5 jours après le traitement à la dose de 10 000 spores/ml. Un témoin non traité (TNT) a été inoculé de la même façon.

Les notations de symptômes (% de surface foliaire nécrosée) ont été réalisées entre 9 et 10 jours suivant l'inoculation sur trois étages foliaires F1 (dernière feuille déployée), F2 (feuille intermédiaire) et F3 (feuille la plus âgée) (Figure 3).

L'analyse statistique des résultats a été réalisée selon un test de Student à 5%.

## LE COS-OGA UN ELICITEUR A ACTION STIMULATRICE DIRECTE

### La qPFD : validation de l'activité SDP

L'expérimentation a été réalisée par le laboratoire de Végépolys Innovation basé à Angers (49). Deux répétitions biologiques indépendantes de l'ensemble de l'expérience ont été réalisées, de la production des plants à l'analyse en PCR quantitative. Dans cette expérimentation le produit SDP est codé JDEF11.

- Le matériel végétal :

Les plants de vigne ont été obtenus par bouturage de sarments du cépage Sauvignon Blanc, fragmentés à deux nœuds. Les boutures ont été maintenues pendant environ 4 semaines en conditions contrôlées (25°C, 16h de photopériode, 60% HR) jusqu'au stade 2 feuilles. Les plants ont été ensuite repotés dans du terreau en plaques de 12 alvéoles, cultivés jusqu'au stade 7-8 feuilles en conditions semi-contrôlées (25-30°C, 16h de photopériode), puis transférés dans un compartiment de serre dédié aux traitements.

- Les traitements et application :

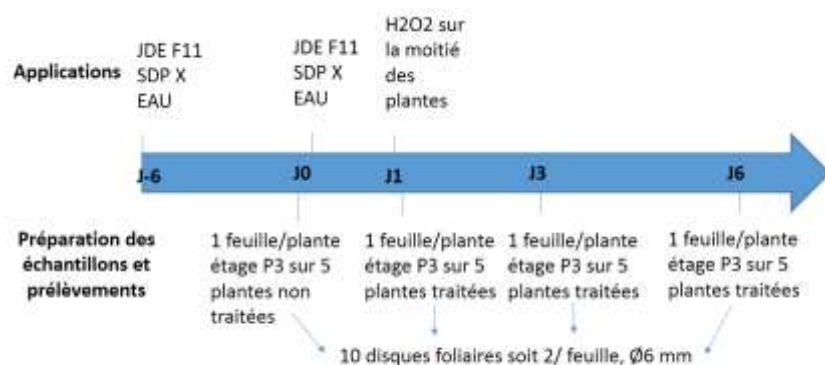
Les tests ont été conduits en conditions semi-contrôlées : 25-30°C / 16 h de photopériode (lumière naturelle + lumière d'appoint) sur des boutures de vigne (stade 7-8 feuilles), disposées en un groupe de 30 plantes par modalité à tester (JDEF11, témoin positif = SDP de référence= SDP X, témoin négatif = EAU). Le produit JDEF11 a été testé à la dose de 8,54 mL/L. Chaque groupe est traité deux fois, à J-6 et à J0 (Figure 2). Tous les traitements ont été réalisés jusqu'au ruissellement (300 mL / modalité de 30 plantes) avec un pulvérisateur relié à de l'air comprimé. La face inférieure et supérieure des feuilles ont été traitées. Pour chaque modalité, dix disques foliaires (Ø 6 mm) ont été prélevés : deux par feuille, en regroupant cinq feuilles issues de l'étage P3 (Figure 3) et provenant de cinq plantes différentes. Ces prélèvements ont été réalisés aux dates suivantes :

- J0 : prélèvement initial sur cinq plantes n'ayant reçu aucun traitement
- J1, J3 et J6 : prélèvement sur cinq plantes après traitement

Deux répétitions biologiques indépendantes de l'ensemble de l'expérience ont été réalisées à une semaine d'intervalle.

Figure 2 : Représentation graphique des applications et prélèvements foliaires.

Graphic representation of sprayings and sampling.



- Extraction d'ARN, rétro-transcription et PCR quantitative :

Les ARN ont été extraits à partir des tissus foliaires prélevés, selon un protocole d'extraction interne au laboratoire. Le rendement et la qualité des ARN extraits ont été évalués à l'aide d'un spectrophotomètre (Nanodrop ND-1000). Les ARN ont ensuite été rétro-transcrits en ADNc et les niveaux d'expression de 28 gènes (Figure 4) de défense ont été suivis (3 répétitions techniques) par PCR quantitative (agent intercalant SYBR Green) à l'aide de l'outil qPFD®. Les niveaux d'expression relative des gènes ont été calculés avec la méthode du  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  : il s'agit d'expressions relatives par rapport au témoin EAU à chaque temps de prélèvement, normalisées par la moyenne géométrique des expressions relatives de trois gènes constitutifs de référence (TuA, Actin, GAPDH). Ces expressions relatives sont transformées en log2 pour donner le même poids aux inductions et aux répressions des gènes.

Figure 3 : Représentation des étages foliaires sur un plant de vigne : P1, P2, P3

Representation of foliar stages on a vineyard plant: P1, P2, P3

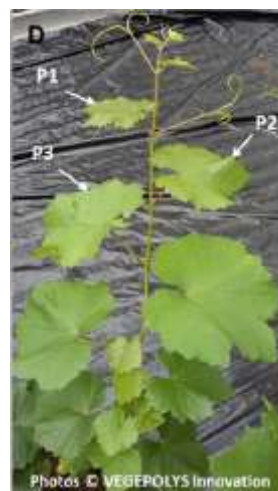


Figure 4 : Liste de 28 gènes de défense étudiés par la PCR quantitative.

List of the 28 genes studied by quantitative PCR.

Classes et sous-classes de défense		Gènes de défense	
		Codes gènes	Noms détaillés
Barrières chimiques et/ou physiques	Protéines PR	PR-1	Pathogenesis-related protein 1
		PR-2	Pathogenesis-related protein 2 (glucanases)
		PR-4	Pathogenesis-related protein 4 (hevein-like)
		PR-5	Pathogenesis-related protein 5 (thaumatin-like, osmotin)
		PR-8	Pathogenesis-related protein 8 (class III chitinase)
		PR-14	Pathogenesis-related protein 14 (lipid transfer protein)
		PR-15	Pathogenesis-related protein 15 (oxalate oxidase)
	Voie des phénylpropanoïdes	PAL	Phenylalanine ammonia-lyase
		CHS	Chalcone synthase
		DFR	Dihydroflavonol reductase
		ANS	Anthocyanidin synthase
		PPO	Polyphenol oxidase
	Voie des isoprénoides	HMGR	Hydroxymethyl glutarate-CoA reductase
		FPFS	Farnesyl pyrophosphate synthase
		Far	(E,E)-alpha-farnesene synthase
	Voie des cystéines	CSL	Alliinase
	Stress oxydant	APOX	Ascorbate peroxidase
		GST	Glutathion S-transférase
		POX	Peroxidase
	Modifications pariétales	CalS	Callose synthase
Pect		Pectin methyl esterase	
CAD		Cinnamyl alcohol dehydrogenase	
Signalisation hormonale	Voie de l'acide salicylique (SA)	EDS1	Disease resistance protein EDS1
		WRKY	WRKY transcription factor 30
	Voie de l'acide jasmonique (JA)	LOX2	Lipoxygenase AtLOX2
		JAR	Jasmonate resistant 1
	Voie de l'éthylène (ET)	ACCO	1-aminocyclopropane-1-carboxylate oxidase
	EIN3	EIN3-BINDING F BOX PROTEIN 1	

#### Le mode d'action

Afin de déterminer le mode d'action éliciteur direct ou potentialisateur du SDP, chaque bloc a été traité deux fois, à J-6 et à J0, comme indiqué précédemment, et la moitié des blocs traités a été pulvérisé à J1 avec du peroxyde d'hydrogène (H2O2) pour simuler une attaque de bioagresseurs.

## LE MESSENGER, UNE SOLUTION ALTERNATIVE COMPLEMENTAIRE

### Essai au champ : efficacité sur oïdium de la vigne (*Erysiphe necator*)(2014)

Deux essais ont été conduits selon le même protocole avec pour but d'évaluer l'efficacité du JDE F11 seul ou en association avec du soufre à ½ dose. Ces deux modalités ont été comparées à un programme à base de soufre pleine dose, à un programme à base de soufre à ½ dose (témoin de vraisemblance) et à un témoin non traité (Tableau I).

Ils ont été réalisés en conditions réelles, au printemps 2014, sur des parcelles de vigne situées dans les départements 66 et 84, sur du cépage Carignan connu pour sa sensibilité à l'oïdium. Le dispositif expérimental choisi est un dispositif en blocs de Fisher à trois répétitions avec témoins inclus. Les huit applications ont été réalisées à une cadence moyenne de 10 jours, des stades BBCH 13 et 15 (24/04 et 16/04) à BBCH 79 et 75 (15/07 et 20/06) à l'aide d'un atomiseur à dos.

Les notations de fréquence et d'intensité d'attaque ont été réalisées sur un échantillon de 100 feuilles à la date du 20/05 (BBCH 63) pour le site du 66. Aucune notation sur feuilles n'a été réalisée sur le site du 84. Les mêmes notations ont été réalisées sur 50 grappes par parcelle élémentaire aux dates du 15/07 (BBCH 79) dans le 84 et 20/06 (BBCH 75) dans le 66.

Une analyse statistique a été réalisée entre modalités afin de discriminer les traitements avec un test de Student à 5%.

Tableau I : Modalités testées et calendrier des applications.

Tested programs of treatments and application calendar.

applications	T1-T2	T3-T4	T5-T6	T7-T8
Témoin				
mod ref N	Soufre mouillable 80% 6 kg/ha	Soufre mouillable 80% 8 kg/ha	Soufre mouillable 80% 10 kg/ha	Soufre mouillable 80% 8 kg/ha
mod ref N/2	Soufre mouillable 80% 3 kg/ha	Soufre mouillable 80% 4 kg/ha	Soufre mouillable 80% 5 kg/ha	Soufre mouillable 80% 4 kg/ha
mod ref N/2 + JDEF11	Soufre mouillable 80% 3 kg/ha + JDEF11 2 L/ha	Soufre mouillable 80% 4 kg/ha + JDEF11 2 L/ha	Soufre mouillable 80% 5 kg/ha + JDEF11 2 L/ha	Soufre mouillable 80% 4 kg/ha + JDEF11 2 L/ha
mod JDEF11 seul	JDEF11 2 L/ha	JDEF11 2 L/ha	JDEF11 2 L/ha	JDEF11 2 L/ha

Essai au champ : efficacité sur mildiou de la vigne *Plasmopara viticola* (2014)

Cet essai avait pour but d'évaluer l'efficacité du JDE F11 en programme associé à du cuivre à dose pleine ou réduite (Tableau II).

Il a été réalisé en conditions réelles, au printemps 2014, sur une parcelle de vigne (département 17) du cépage Ugni blanc connu pour sa sensibilité au mildiou. Le dispositif expérimental choisi est un dispositif en blocs de Fisher à trois répétitions avec témoins inclus. Dix applications (A à J) ont été réalisées à une cadence moyenne de dix jours, à partir du 25/04 (BBCH 14-15), à l'aide d'un atomiseur à dos.

Les notations de fréquence et d'intensité d'attaque ont été réalisées sur un échantillon de 100 feuilles aux dates du 25/06 (BBCH 73), 31/07 (BBCH 79) et 13/08 (BBCH 83). Les mêmes notations ont été réalisées sur 50 grappes par parcelle élémentaire. Une analyse statistique a été réalisée entre modalités afin de discriminer les traitements avec un test de Student à 5%.

Tableau II : Modalités testées et calendrier des applications.

Tested treatments and application calendar.

1	Témoin non traité	
2	BB RSR Disperss à 3,75kg (A, B, C, D, E, F, G, H, I, J)	Ref. dose recommandée
3	BB RSR Disperss à 2kg (A, B, C, D, E, F, G, H, I, J)	Ref. dose réduite (50%)
4	BB RSR Disperss à 2kg + JDEF11 2l/ha (A, B, C, D, E, F, G, H, I, J)	Ref. dose réduite + JDEF11

JDEF11 = complexe oligosaccharidique à 12,5 g/L (SL)

BB RSR Dispers= composés du Cuivre à la dose de 20% (WG)

## RESULTATS

### EVALUATION DU COMPLEXE COS-OGA

#### Essai in planta : COS et OGA versus COS-OGA

Le niveau d'infestation a été très élevé puisqu'en moyenne 83% de la surface foliaire a été attaquée, tout étage confondu, dans le témoin inoculé et non traité. Une différence significative a été observée entre les modalités traitées (tableau III). Alors qu'une réduction intermédiaire de l'infestation a été observée avec les substances COS et OGA seules, une réduction des attaques beaucoup plus nette a été notée avec le complexe COS-OGA, et ce quelle que soit la dose (Tableau III).

Tableau III : Pourcentage moyen de surface foliaire attaquée par *Plasmopara viticola* à deux doses d'inoculation différentes (10 et 20 ppm) tout étage foliaire confondu (F1, F2 et F3). Les différences entre traitements sont statistiquement significatives selon le test de Student ( $p = 0,016$ ).

Mean percentage of leaf area attacked by *Plasmopara viticola* at two different inoculation doses (10 and 20 ppm) at any foliar stage (F1, F2 and F3). The differences between treatments are statistically significant according to the Student test ( $p = 0.016$ ).

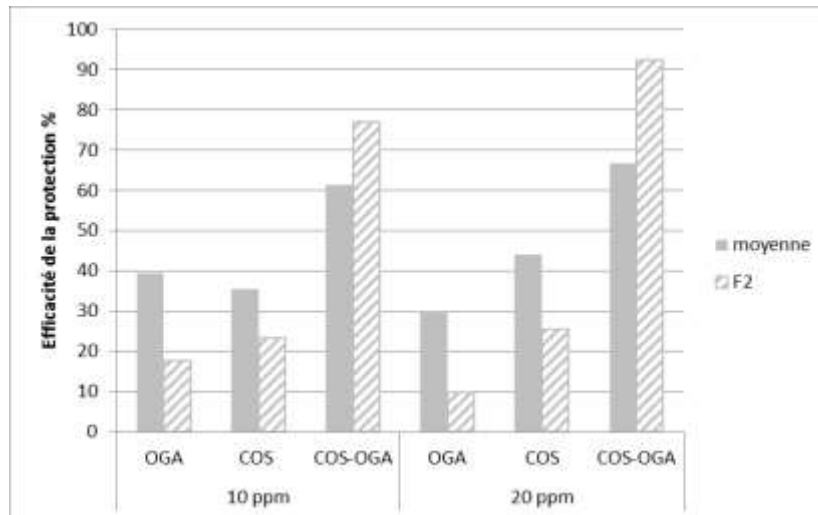
modalités	%	Groupe statistique
TNT	83,0	<b>C</b>
OGA 10 ppm	50,4	<b>AB</b>
COS 10 ppm	53,7	<b>B</b>
COS-OGA 10 ppm	32,2	<b>A</b>
OGA 20 ppm	58,5	<b>B</b>
COS 20 ppm	46,5	<b>AB</b>
COS-OGA 20 ppm	27,6	<b>A</b>

Les résultats représentés en Figure 5 montrent que l'association des substances COS et OGA pour former le complexe COS-OGA permet d'atteindre une protection vis-à-vis du mildiou de la vigne (*Plasmopara viticola*) quasi intégrale (92,4%) sur la feuille F2. En effet, l'étage foliaire F2 est le plus représentatif par rapport à la tendance moyenne avec une efficacité de protection à 10 ppm de 76,8% contre 17,7% et 23,2% respectivement pour les substances en solo OGA et COS. A la dose de 20 ppm, on note une efficacité de 92,4% alors que l'efficacité est de 9,8% pour la substance OGA seule et 25,3% pour la substance COS seule.

Ainsi l'application du complexe COS-OGA a permis d'augmenter l'efficacité de protection de plus de deux fois à la dose de 10 ppm et de près de quatre fois à la dose de 20 ppm par rapport aux substances COS et OGA seules.

Figure 5 : Efficacité moyenne sur l'étage foliaire F2, de la protection assurée par les substances actives COS, OGA et COS-OGA sur plants de vigne vis-à-vis de *Plasmopara viticola* (INRA 21, 2008) aux doses 10 et 20 ppm, en comparaison avec la moyenne de l'ensemble des étages foliaires.

Mean efficacy at foliar stage F2, of the protection offered by the active substances COS, OGA and COS-OGA on grapevine plants against *Plasmopara viticola* (INRA 21, 2008) at doses 10 and 20 ppm.



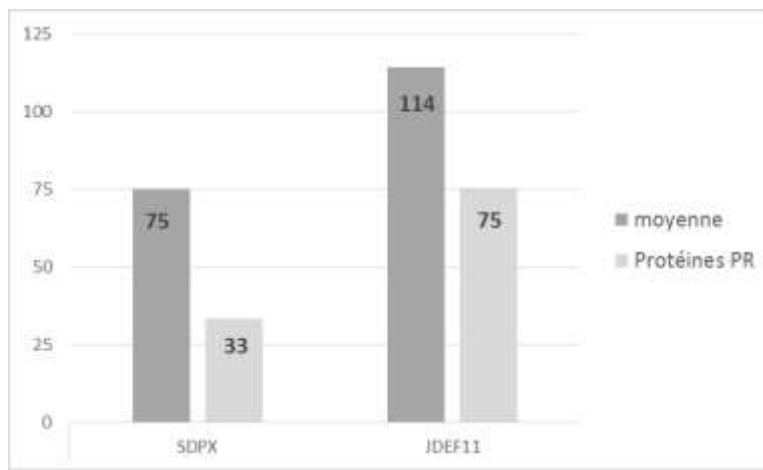
### LE COS-OGA, UN ELICITEUR A ACTION STIMULATRICE DIRECTE

#### La qPFD : validation de l'activité SDP

La qPFD réalisée nous permet de voir que de manière générale, le produit JDEF11 semble montrer une capacité d'induction supérieure au témoin SDP X de 1,5 fois (Figure 6) avec un cumul des inductions de 114 pour le JDEF11 contre 75 pour le témoin SDPX.

Figure 6 : Comparaison entre le cumul des inductions globales ( $\log_2 > 0$ ) et celle de la voie de défense des PR protéines du produit JDEF11 et du témoin SDP X, aux dates J1, J3 et J6, sans traitement à l' $H_2O_2$ . Cumuls moyens issus de deux répétitions biologiques indépendantes.

Total cumulative of the global induction ( $\log_2 > 0$ ) and the PR proteins defense pathway by the product JDEF11 and by the control SDP X, on dates J1, J3 and J6, without treatment with  $H_2O_2$ . Average accumulations from two independent replicates.



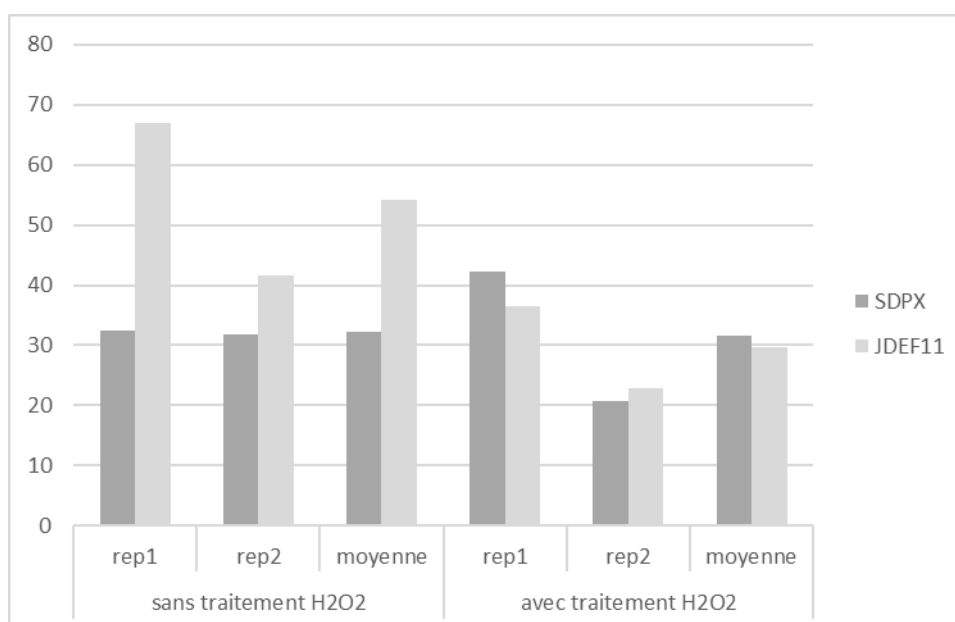
Le produit JDEF11, à la dose testée, présente une forte capacité d'induction des gènes des protéines PR (Figure 6). En effet, l'induction de la voie des PR protéines représente à elle seule 66% de l'induction générée, avec un total de niveaux d'expression de 75. Tandis que pour le témoin SDPX, la voie des PR protéines représente la moitié (33) de l'induction globale générée, devant la voie des phénylpropanoïdes. Le JDEF11 induit également quelques gènes de la voie des phénylpropanoïdes (PPO), du stress oxydant (GST, POX), des oxylipines (LOX2), de l'éthylène (ACCO) et de l'acide salicylique (EDS1, WRKY) à un niveau nettement plus modéré que la voie des protéines PR.

#### Le mode d'action

Suite à l'application d'H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, correspondant à une simulation de stress biotique, les gènes de défense ne semblent globalement pas plus exprimés qu'en absence de stress pour le témoin SDP X (Figure 7). Le niveau d'expression se situe autour de 32 avec ou sans H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ce qui confirme son action élicitrice directe. Concernant le JDEF11, on remarque que globalement le niveau d'expression de la 2<sup>ème</sup> répétition, avec ou sans H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, est moins élevé que pour la 1<sup>ère</sup>. En revanche, les résultats suivent la même tendance. En effet, on enregistre un niveau d'expression globalement plus élevé sans H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> de 54, qu'avec H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> autour de 30. Après traitement à l'H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, aucune activation supplémentaire n'apparaît. Nous pouvons donc en conclure que le JDEF11 n'a pas d'effet potentialisateur mais un effet éliciteur direct sur la stimulation des défenses des plants de vigne.

Figure 7 : Comparaison du cumul des inductions (log<sub>2</sub> > 0) du produit JDEF11 et du témoin SDP X, aux dates J3 et J6, avec et sans traitement à l'H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Représentation des deux répétitions indépendantes et de leur moyenne.

Total cumulative of the global induction (log<sub>2</sub>> 0) of the product JDEF11 and the control SDP X, on dates J3 and J6, with and without treatment with H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Representation of the two independent replicates and their mean.



## LE MESSENGER, UNE SOLUTION ALTERNATIVE ET COMPLEMENTAIRE

L'activité SDP du JDEF11 avec un effet inducteur direct a donc bien été démontrée. Par ailleurs, des travaux menés en tomate sur la cinétique d'activation et de persistance de cette induction ont permis de démontrer que le produit doit être appliqué de façon préventive avec idéalement deux applications (Van Aubel *et al.*, 2016). En effet, l'application successive à 7 jours d'intervalle permet d'atteindre une activation optimale des voies de défense, mesurée en particulier avec l'activité peroxydase (POX), marqueur intéressant du fait de la corrélation entre l'activité POX et l'expression de gènes codant pour différentes protéines PR.

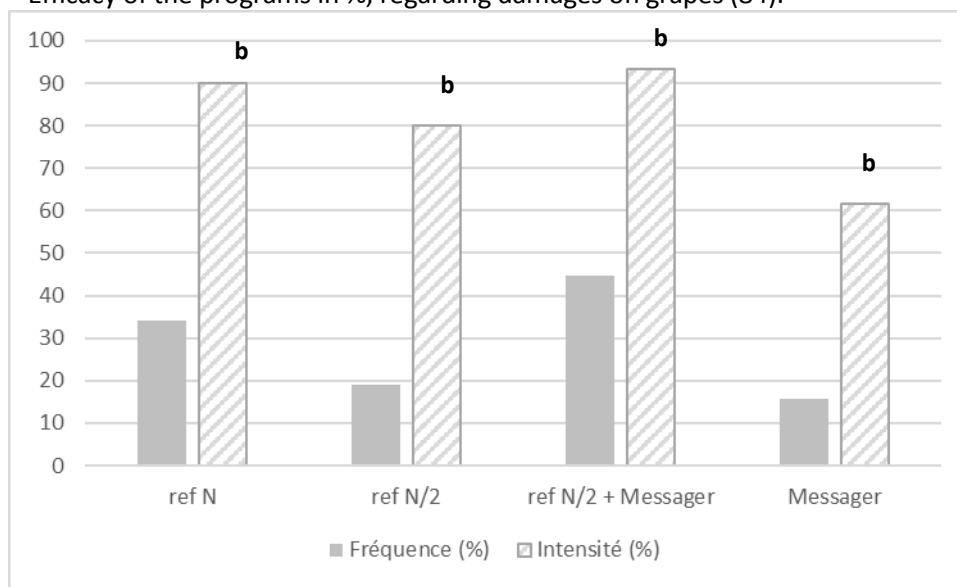
Ainsi, après description du mode d'action du produit, des essais au champ ont été menés entre 2012 et 2016.

Essai au champ : efficacité sur oïdium de la vigne *Erysiphe necator* (2014)

Etant donné qu'aucune différence entre les modalités avec ou sans JDEF11 n'a pu être montrée sur feuilles (efficacité moyenne de 97,3% (intensité) et 88,3% (fréquence) avec utilisation du soufre) pour l'essai conduit dans le 66 et qu'il n'y a pas eu de notation sur feuilles dans le 84, nous nous attacherons à présenter uniquement les résultats sur grappes des deux sites.

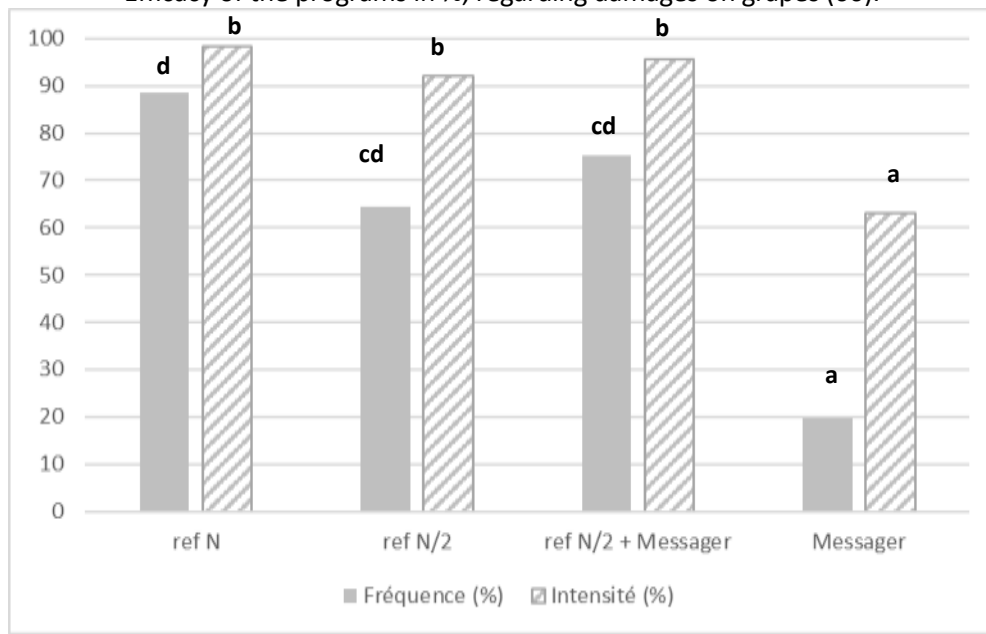
Lors de la notation au 15/07 sur le premier site (84), la pression dans le témoin était importante avec une fréquence d'attaque de 89,5% et une intensité moyenne de 39,5% (Figure 8). Quelle que soit la modalité et le programme réalisé, on remarque que la fréquence d'attaque reste très élevée et le pourcentage d'efficacité faible (34,1%) pour la référence à base de soufre à dose N. Néanmoins la modalité avec le JDEF11 associé à une dose réduite de soufre a permis d'améliorer de 11% environ l'efficacité vis-à-vis de la fréquence d'attaque, même si celle-ci n'est pas significative. En termes d'intensité d'attaque, on ne constate pas non plus de différences significatives entre programmes. Tandis que la référence pleine dose montre de très bons résultats avec une efficacité de protection qui atteint les 90,1%, on remarque qu'une dose réduite de soufre diminue de 10% cette efficacité. Néanmoins cette perte d'efficacité de la modalité « ref N/2 » a été compensée par l'association avec le JDEF11 qui a permis d'atteindre un niveau d'efficacité semblable voire légèrement supérieur (93,4%) par rapport à la référence à la dose pleine. Par ailleurs, on note que l'utilisation du JDEF11 seul a permis de réduire l'intensité en maladie avec une efficacité de protection de 61,5%.

Figure 8 : Efficacité des programmes en % vis-à-vis des attaques sur grappes (84)  
Efficacy of the programs in %, regarding damages on grapes (84).



Dans le second site (66), la pression en oïdium a aussi été très importante avec une fréquence d'attaque dans le témoin de 97% et une intensité d'attaque de 56% (Figure 9). Malgré ces niveaux d'attaque, une très bonne efficacité des programmes à base de soufre a été observée. Le programme le plus efficace reste celui à pleine dose avec 88,7% en termes de fréquence d'attaque et 98,4% en termes d'intensité. Pour ce qui est des programmes à dose réduite de soufre, on atteint une efficacité intermédiaire de 64% (75% en cas d'association avec le JDEF11) pour la fréquence d'attaque et 92% (96% en cas d'association avec le JDEF11) pour l'intensité. On remarque que l'association avec le JDEF11 amène là encore, même si de façon statistiquement non significative, un gain d'efficacité de près de 11% sur la fréquence d'attaque. De la même façon, l'application de JDEF11 seul permet d'améliorer la protection et de façon très nette en termes d'intensité d'attaque avec 63% de gain d'efficacité, ramenant l'intensité d'attaque sur grappes à 20,8% au lieu de 56,3% pour le témoin non traité.

Figure 9 : Efficacité des programmes en %, vis-à-vis des attaques sur grappes (66)  
Efficacy of the programs in %, regarding damages on grapes (66).



Essai au champ : efficacité sur mildiou de la vigne (*Plasmopara viticola*)(2014)

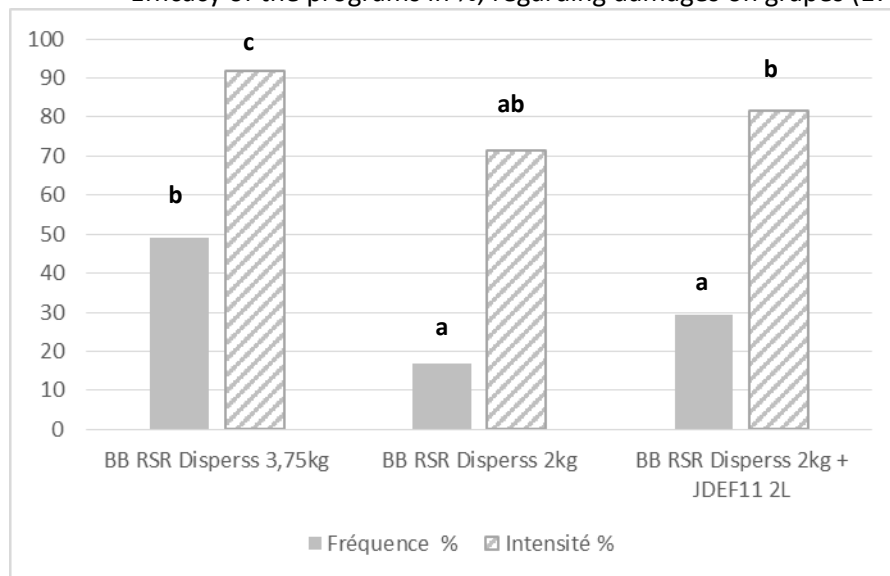
Lors de la deuxième notation au 13 août (début véraison), la pression dans les témoins non traités était importante avec une fréquence de 100% sur feuilles et grappes et une intensité moyenne de 43% sur feuilles et 68% sur grappes.

Sur feuilles, l'efficacité amenée par le cuivre à dose réduite par rapport à la dose pleine ne nous a pas permis de discriminer les modalités entre elles. En effet, l'efficacité était en moyenne de 88,3% en termes de fréquence et 97,3% en termes d'intensité d'attaque. Ainsi l'ajout de JDEF11 dans ces conditions ne nous a pas permis de démontrer une plus-value.

Concernant les dégâts sur grappes (Figure 10), nous avons remarqué que l'utilisation du cuivre à la dose de 3,75 kg apporte les meilleurs résultats avec 49% d'efficacité en termes de fréquence et 91,9% en termes d'intensité d'attaque. Cependant, on note à nouveau que l'utilisation du JDEF11 associé à une dose réduite de cuivre offre, même si de façon statistiquement non significative, un gain d'efficacité de 12,5% en termes de fréquence et 10% en termes d'intensité, par rapport à la référence à dose réduite.

Dans des conditions de pression très forte, on note que l'association du JDEF11 à un programme de référence à base de cuivre permet de gagner en efficacité, même si de façon non significative.

Figure 10 : Efficacité des programmes en %, vis-à-vis des attaques sur grappes (17).  
Efficacy of the programs in %, regarding damages on grapes (17).



## DISCUSSION

Les différentes études réalisées sur la molécule COS-OGA nous ont permis de mieux comprendre ses performances, son mode d'action et ainsi de positionner et intégrer cette solution dans les programmes de protection actuels. Néanmoins, la connaissance des SDP, de l'interaction avec le végétal et des conséquences physiologiques est loin d'être exhaustive.

Tout d'abord la première étude menée en conditions contrôlées avec le complexe COS-OGA a permis de nous informer sur la réponse de la plante à ce complexe. En effet, l'application du JDEF11 a permis nettement d'amplifier le signal de défense de la plante entre 3 et 4 fois selon la dose (10 ou 20 ppm), ce qui a conduit à une meilleure protection intrinsèque de la plante. Cette réponse est expliquée en majorité par une activation de la voie de défense des PR protéines qui ont un potentiel antimicrobiens. Elles peuvent agir en synergie : c'est le cas des chitinases et glucanases qui sont produites simultanément pour permettre une dégradation efficace de la paroi des champignons pathogènes. D'après la qPFD menée sur vigne, les groupes de protéines PR les plus accumulées dans le cas du JDEF11 sont les PR-1 (action antifongique notamment sur les oomycètes), PR-2, PR-4 (paroi fongique), PR-8 (paroi fongique et bactérienne) et PR-14 (action sur les phospholipides membranaires) (Benhamou, 2009). Ces différences permettent à la molécule COS-OGA d'atteindre des performances supérieures aux SDP de référence connus. Il est primordial de répéter les applications afin d'avoir un niveau de défense optimal et une couverture complète de tous les organes de la plante avant les contaminations par le pathogène.

Enfin, les essais au champ ont montré le gain conféré par une application préventive du COS-OGA en conditions réelles. En utilisation seule sur oïdium, l'efficacité moyenne de protection apportée est de 17.6% en termes de fréquence et 62.3% en termes d'intensité d'attaque, efficacité insuffisante mais remarquable pour un SDP appliqué seul. Ils nous ont permis aussi de montrer qu'à dose réduite de cuivre ou de soufre sur tout un cycle de culture, la réduction d'efficacité engendrée semble pouvoir être compensée par une association avec le JDEF11. En effet, sur oïdium le gain d'efficacité moyen est de 18% (fréquence) et 8,5% (intensité). Sur mildiou, le gain d'efficacité sur grappes est beaucoup plus net que sur feuilles avec en moyenne 12,5% (fréquence) et 10% (intensité). Il est intéressant de voir dans ce cas l'action du COS-OGA qui agit sur le métabolisme de la plante jusqu'à la formation et protection de la grappe. Ceci représente un atout essentiel pour la viticulture, avec une arme supplémentaire pour une protection des baies tandis que les molécules et familles chimiques agissant sur grappes sont de moins en moins nombreuses et de moins en moins

efficaces du fait de développement de résistance à ces molécules. Il est aussi intéressant de noter que l'apparition de résistance au COS-OGA est improbable de par son mode d'action SDP. De plus, le fait qu'il soit une substance à faible risque, et donc sans risque de résidu, en fait un partenaire de choix dans les programmes de protection.

## **CONCLUSION**

Bien que la recherche et la compréhension des SDP a été initiée depuis une vingtaine d'années maintenant, beaucoup d'aspects doivent encore être élucidés. En effet, même si les outils moléculaires sont de plus en plus performants, nous sommes encore loin de leur 'vulgarisation' pour bénéficier d'une meilleure compréhension des produits. Une variabilité des résultats peut aussi s'observer des conditions contrôlées au champ, d'où l'importance de multiplier les expériences en conditions de terrain et de définir un cadre d'utilisation précis. Durant quatre années d'essais, le JDEF11 a été testé en programme, en association avec différents partenaires fongicides afin de définir un cadre fiable permettant d'exprimer au mieux le potentiel du produit. Ce stimulateur des défenses des plantes nouvelle génération est une solution à part entière qui peut permettre de sécuriser des programmes de protection des plantes de plus en plus limités en diversité de familles chimiques disponibles. Il peut aussi permettre de sécuriser les programmes et de compenser les pertes d'efficacité dans un contexte fort de réduction des niveaux de doses de substance active amenées à la parcelle (dispositif des CEPP). Ainsi, le MESSAGER n'est pas qu'un simple produit mais davantage une solution intégrée à faible risque, efficace, qui entre complètement dans les lignes de conduite souhaitées par l'agriculture d'aujourd'hui.

## **REMERCIEMENTS**

Nous souhaiterions remercier la société belge Fytofend et le professeur Pierre Van Cutsem dont le partenariat étroit nous a permis de progresser rapidement dans la connaissance et le développement de la solution MESSAGER.

Nous souhaiterions remercier l'équipe de Vegepolys Innovation et en particulier Caroline Bonneau et Florian Bryone pour les échanges amenés dans la connaissance du produit.

## **BIBLIOGRAPHIE**

Benhamou N., 2009. La résistance chez les plantes, principe de la stratégie défensive et applications agronomiques. Editions Lavoisier. France, 376p.

Cabrera, J.C., Boland, A., Cambier, P., Frettinger, P., Van Cutsem, P., 2010 - Chitosan oligosaccharides modulate the supramolecular conformation and the biological activity of oligogalacturonides in Arabidopsis. Glycobiology 20, 775-786.

Van Aubel G., Buonatesta R., Van Cutsem P., July 2014 - COS-OGA: A novel oligosaccharidic elicitor that protects grapes and cucumbers against powdery mildew. Crop Protection 65 (2014) 129-137.

Van Aubel G., Cambier P., Dieu M., Van Cutsem P., June 2016 - Plant immunity induced by COS-OGA elicitor is a cumulative process that involves salicylic acid. Plant Sciences 247, 60-70.