

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

**EFFETS COMBINÉS DE BIOSTIMULANTS ET DE STIMULATEURS DE DÉFENSE DES PLANTES SUR LA  
PROTECTION DU BLE VIS-A-VIS DE L'OÏDIUM ET DE LA SEPTORIOSE**

A. FOURQUEZ <sup>(1)</sup>, M. MAGNIN-ROBERT <sup>(1)</sup>, B. RANDOUX <sup>(1)</sup>, Ph. REIGNAULT <sup>(1)</sup>, A. SIAH <sup>(2)</sup>, P. HALAMA <sup>(2)</sup>,  
M. GACOIN <sup>(3)</sup>, N. GAVEAU <sup>(3)</sup>, Y. KRZYZANIAK <sup>(4)</sup>, S. TROUVELOT <sup>(4)</sup>, M.-C. HELOIR <sup>(4)</sup>, M. ADRIAN <sup>(4)</sup>,  
E. MOREAU <sup>(5)</sup>, and other members of the Iris+ consortium.

<sup>(1)</sup> Unité de Chimie Environnementale et Interactions sur le Vivant (UCEIV, EA n°4492), SFR Condorcet FR CNRS 3417, Université du Littoral Côte d'Opale, 50, rue Ferdinand Buisson – F-62228 Calais cedex, France - Philippe.reignault@univ-littoral.fr

<sup>(2)</sup> Equipe Biotechnologie et Gestion des Agents Pathogènes en agriculture, Laboratoire Charles Viollette, SFR Condorcet FR CNRS 3417, Institut Supérieur d'Agriculture, Univ. Lille Nord de France, 48 Bd Vauban, – F-59046 Lille cedex, France - patrice.halama@yncrea.fr

<sup>(3)</sup> Unité de Recherche Vigne et les Vins de Champagne (URVVC), Laboratoire de Stress, Défenses et Reproduction des Plantes (SDRP), SFR Condorcet FR CNRS 3417, Bâtiment 18, Moulin de la Housse - BP 1039 - 51687 Reims Cedex 2, France - nathalie.vaillant-gaveau@univ-reims.fr

<sup>(4)</sup> UMR 1347 Agroécologie, Pôle Mécanismes et Gestion des Interactions Plantes - Microorganismes, 17 rue Sully – F-21065 Dijon, France - Marielle.Adrian@u-bourgogne.fr

<sup>(5)</sup> Parc Technopolitain Atalante, CS41908 35435 Saint-Malo, France - estelle.moreau@goemar.com

## **RÉSUMÉ**

Le blé (*Triticum aestivum* L.) peut être impacté par diverses maladies fongiques comme l'oïdium (*Blumeria graminis* f. sp. *tritici*) et la septoriose (*Zymoseptoria tritici*). Pour lutter contre ces maladies, des produits phytopharmaceutiques, souvent nocifs pour la santé et l'environnement, sont pulvérisés aux champs. Dans le cadre du plan National d'action Ecophyto, des solutions alternatives à l'usage des fongicides conventionnels sont mises en place. L'objectif de ce projet est d'évaluer la capacité des BioStimulants (BS) à améliorer l'efficacité souvent partielle des Stimulateurs de Défense des Plantes (SDP) face aux maladies du blé. Les BS favorisent la croissance de la plante et sa nutrition, rendant les plantes plus vigoureuses de façon générale, ce qui permettrait un effet synergique avec les SDP. Ici cinq SDP ont été évalués sur la protection du blé contre l'oïdium et la septoriose. Trois BS seront testés sur la croissance et la physiologie du blé. Les effets directs des BS et SDP sur les champignons ont été évalués *in vitro*.

Mots-clés : Blé, Oïdium, Septoriose, Stimulateur de Défense des Plantes, Biostimulant.

## **ABSTRACT**

Wheat (*Triticum aestivum* L.) can be impacted by some fungal diseases such as powdery mildew (*Blumeria graminis* f. sp. *tritici*) and septoria (*Zymoseptoria tritici*). Currently, a lot of pesticides are used to fight against these diseases, but these products are often toxic for health and environment. In the context of the Ecophyto French National Action Plan, some alternatives to conventional fungicides are introduced. Our aim is to evaluate the BioStimulants (BS) capacity to improve the efficacy of elicitors. BS stimulate plant growth and nutrition, making plants more vigorous, so BS could have a synergic effect with elicitors. Five elicitors have been sprayed on wheat to assess their protective effects against powdery mildew and septoria. Three BS will be tested to examine their impact on plant growth. The direct fungicide or fungistatic effects of elicitors and BS have been tested.

Keywords: Wheat, Powdery mildew, Septoria, Elicitor, Biostimulant.

## INTRODUCTION

En 2050, la population mondiale devrait atteindre 9 milliards de personnes (rapport de la FAO, 2009), ce qui nécessite une augmentation de la production alimentaire de 70% (<http://www.fao.org/>). Le blé (*Triticum aestivum*) fait partie des denrées alimentaires les plus produites et consommées dans le monde. En effet, il est classé deuxième céréale mondiale, avec une production de 29%, derrière le maïs (40%) et devant le riz (19%) (<http://www.passioncereales.fr/>). Les enjeux économiques autour de cette céréale sont donc majeurs. Cette plante annuelle de la famille des Poacées est principalement utilisée pour la consommation humaine (farine, panification), mais aussi pour le fourrage et certaines industries de transformation (production d'amidon, production d'éthanol, usages brassicoles) (<http://www.franceagrimer.fr/>).

Comme tout être vivant, le blé est soumis à de nombreux bioagresseurs tels que les champignons. Parmi les maladies fongiques pouvant toucher le blé, l'oïdium (causé par *Blumeria graminis* f. sp. *tritici*) et la septoriose (causée par *Zymoseptoria tritici*) provoquent des pertes de rendements de 10 à 40% et diminuent la qualité sanitaire des grains.

Plusieurs solutions sont actuellement disponibles pour lutter contre ces maladies : la lutte chimique, la lutte génétique et les pratiques culturales. Cependant ces solutions présentent des inconvénients notables. La lutte chimique et la lutte génétique, bien qu'efficaces, ne sont souvent pas durables dans le temps. De plus, la lutte chimique provoque généralement de nombreux problèmes sur l'environnement et la santé humaine. Les pratiques culturales sont quant à elles peu efficaces, bien que durables dans le temps. Dans le cadre du plan national d'action Ecophyto, la France s'est engagée, d'une part à réduire l'usage des pesticides de 25% d'ici à 2020, d'autre part à retirer du marché les 53 molécules les plus dangereuses (<http://agriculture.gouv.fr/ecophyto>). Malgré la réduction de l'utilisation des pesticides, il faut maintenir un niveau de production correct aussi bien en termes de quantité que de qualité. De ce fait, de nouvelles solutions doivent être développées.

D'une part, les Stimulateurs de Défense des Plantes (SDP) semblent être une solution d'avenir. D'après le Réseau Mixte Technologique (RMT) Elicitra, un SDP correspond à « toute substance ou tout micro-organisme vivant non pathogène qui, appliqué sur une plante, est capable de promouvoir un état de résistance significativement plus élevé par rapport à une plante non traitée, face à des stress biotiques » (<http://elicitra.org/>). Ces molécules permettent de stimuler différentes défenses de la plante via une cascade de signaux et donc de mieux lutter contre le pathogène. De nombreuses molécules de ce type ont déjà été testées en laboratoires et se sont révélées efficaces. Cependant, une fois appliquées au champ, l'efficacité diminue considérablement notamment à causes des conditions climatiques et des stress biotiques et abiotiques que les plantes subissent. Pour cette raison, un complément fongicide est encore nécessaire.

D'autre part, les BioStimulants (BS) sont, d'après l'EBIC (European Biostimulant Industry Council), « des substances et/ou des micro-organismes pouvant être appliqués directement sur la plante ou dans la rhizosphère, et permettant d'améliorer la récupération des nutriments par la plante, l'efficacité des nutriments, la tolérance aux stress abiotiques, et la qualité des cultures ». Ces molécules ont donc un impact sur la croissance et le développement des plantes.

Dans le cadre de ce projet FUI IRIS+, l'objectif est de coupler l'utilisation des BS et des SDP dans le but d'obtenir une synergie afin d'améliorer la protection du blé vis-à-vis de l'oïdium et de la septoriose. Les BS et les SDP sont d'abord étudiés de façon indépendante afin de voir leurs effets respectifs sur la croissance et la physiologie du blé, et sur sa protection contre l'oïdium et la septoriose. Puis les BS et les SDP seront combinés pour vérifier si les BS améliorent l'efficacité des SDP à protéger le blé. Les produits sont également mis directement au contact des champignons afin d'évaluer leurs éventuels effets fongicides ou fongistatiques *in vitro*. Ici seuls les résultats des tests de protection avec les SDP seront présentés, ainsi que les résultats des effets directs des BS et des SDP sur les champignons.

## MATERIEL ET MÉTHODE

### MATERIEL BIOLOGIQUE

Deux cultivars de blé tendre (*Triticum aestivum* L.) ont été utilisés pour les différentes expériences : Pakito, ayant une sensibilité à *B. graminis* de 4 (sensible) et une sensibilité à *Z. tritici* de 4 (assez sensible), et Alixan, ayant une sensibilité à *B. graminis* de 6 (peu sensible) et à *Z. tritici* de 4 (assez sensible) (l'échelle allant de 1 à 9, du plus sensible au moins sensible, d'après Arvalis – Institut du Végétal).

Pour l'oïdium, le champignon biotrophe utilisé est la souche MPEBgt1. Il est inoculé et maintenu sur une culture d'Alixan (Syngenta, France) chaque semaine (Randoux *et al.*, 2006). Concernant la septoriose, le champignon hémibiotrophe utilisé est la souche T02596. La souche est conservée à -80°C dans des tubes de cryoconservation contenant du glycérol à 50% mélangé à un milieu YES (Yeast Extract Sucrose) composé d'eau de saccharose (2 g/L) et de levure (2 g/L). Cinq jours avant utilisation, le champignon est repiqué sur du milieu Potato-Dextrose-Agar à 39g/L (PDA).

### CONDITIONS DE CULTURE

Les plants de blé utilisés pour les tests d'infection avec *B. graminis* sont cultivés en conditions contrôlées, dans des armoires de croissance. Les plants de blé utilisés pour les tests d'infection avec *Z. tritici* sont cultivés en conditions semi-contrôlées sous serre.

#### Conditions contrôlées

Des grains de blé du cultivar Pakito sont mis à tremper environ 24 heures dans de l'eau, puis ils sont mis à germer dans des barquettes contenant du terreau. Les plantes sont arrosées régulièrement avec de l'eau du robinet, avec des volumes identiques pour chaque barquette, variables selon le jour d'arrosage. La germination se fait en salle de culture, à température ambiante et avec une photopériode de 12h/12h. Au bout de 6 jours, les plantules sont transférées en armoires de croissance (Panasonic, MLR-352H) en conditions contrôlées, avec une humidité relative de 70%, une photopériode de 12h/12h, une intensité lumineuse de 250  $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ , une température de jour de 18°C et une température de nuit de 12°C (Randoux *et al.*, 2006).

#### Conditions semi-contrôlées

Des grains de blé du cultivar Alixan sont mis à germer à l'obscurité sur du papier imbibé d'eau pendant 24 heures à 20°C, puis 48 heures à 4°C, enfin 24 heures à 20°C. Puis les graines sont semées dans des pots ronds contenant du terreau. Les plantes sont arrosées avec de l'eau du robinet et sont cultivées en serre, avec une température de 18°C et une photopériode de 16 heures.

### TRAITEMENTS DES PLANTES AVEC LES SDP ET CONDITIONS D'INOCULATION

#### Application des SDP et évaluation de l'infection par *B. graminis*

Au 10<sup>ème</sup> jour après le semis, les SDP sont appliqués par pulvérisation foliaire sur les plantes. L'eau ultrapure a été utilisée comme témoin. Chaque SDP a été appliqué à l'aide d'un pulvérisateur (ITW Surfaces et Finitions, Valence, France), jusqu'à ce que la surface foliaire soit totalement couverte (sans aller jusqu'à écoulement du produit, soit 10ml de produit pour 24 plantes). Cinq produits de différentes natures sont utilisés pour nos expérimentations : SDN1 (1 g/L), SDN2 (1 g/L), SDN3 (5 g/L), SDN4 (1 g/L) et SDN5 (0,5%). Quarante-huit heures après l'application du SDP, les plantes sont infectées avec une solution de spores de *B. graminis* (500 000 spores/ml de Fluorinert FC43, heptacosafuorotributhylamine ; 3M, Cergy-Pontoise, France), à raison de 5ml pour 24 plantes, à l'aide du pulvérisateur (ITW Surfaces et Finitions, Valence, France). Douze jours après l'infection par *B. graminis*, des colonies fongiques blanches sont comptabilisées sur les deux faces de la première feuille, soit la feuille la plus âgée (Randoux *et al.* 2006). Trois expérimentations indépendantes ont été

réalisées, avec, pour chaque expérimentation, une évaluation des symptômes sur une seule répétition de 24 plantes par modalité.

#### Application des SDP et évaluation de l'infection par *Z. tritici*

Trois semaines après le semis, les plants de blé sont traités par pulvérisation foliaire avec l'un des cinq SDP : SDN1 (1 g/L), SDN2 (1 g/L), SDN3 (5 g/L), SDN4 (1 g/L) et SDN5 (0,5%). L'infection est réalisée 48 heures après le traitement, au stade 3 feuilles, avec une solution de spores de *Z. tritici* (100 000 spores/ml d'eau déminéralisée), à raison de 90 ml pour 36 plantes. Les plantes sont ensachées pendant 3 jours pour maintenir une humidité de 100% et favoriser la germination des spores sur la plante. Les symptômes sont évalués 3 semaines après l'inoculation sur la 3ème feuille : la surface foliaire nécrosée est estimée en pourcentage et la sporulation sur les surfaces foliaires nécrosées est notée sur une échelle de 1 à 5 (1 correspondant à la sporulation la plus faible). Deux expérimentations indépendantes ont été réalisées, avec, pour chaque expérimentation, une évaluation des symptômes sur une répétition de 36 plantes par modalité.

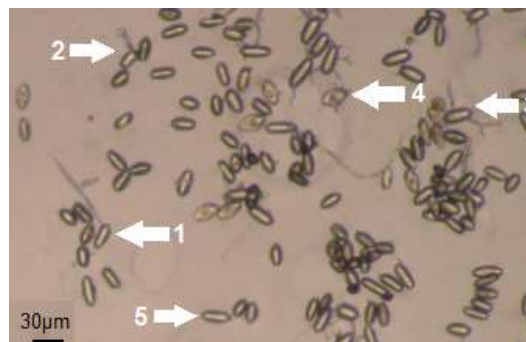
### **EFFET DIRECT DES BS ET SDP SUR LES CHAMPIGNONS**

#### *B. graminis* (Bgt)

Les tests directs sont réalisés sur boîte de Pétri contenant de l'agar à 12 g/L préparé dans de l'eau déminéralisée. Chaque milieu contient un des cinq SDP : SDN1 (1 g/L), SDN2 (1 g/L), SDN3 (5 g/L), SDN4 (1 g/L) et SDN5 (0,5%), ou un des trois BS : BS1 (0,4%), BS3 (0,33%) et BS5 (1 g/L). Le témoin est un milieu contenant de l'agar seul. Les spores de *Bgt* sont dispersées sur les boîtes, puis observées après 24 à 48 heures, de façon à mettre en évidence un éventuel effet fongicide (ou fongistatique) des produits. Les spores sont comptées et réparties dans différentes catégories : non germées, germées avec un petit tube germinatif appressorial (TGA), avec un long TGA, avec plusieurs TGA, ou avec plusieurs TGA avortés (Figure 1). Le comptage des spores est ensuite rapporté à des fréquences. Deux expérimentations indépendantes ont été réalisées avec, pour chaque expérimentation, deux réplicats techniques par condition.

Figure 1 : Germination des spores de *B. graminis* *in vitro* avec les différentes classes : des spores avec un long TGA (Tube Germinatif Appressorial) (1), avec un petit TGA (2), avec plusieurs TGA (3), avec des TGA avortés (4) ou des spores non germées (5).

*In vitro* germination of *B. graminis* spores with the different groups: spores with a long AGT (Appressorial Germ Tube) (1), with a small AGT (2), with several AGT (3), with aborted AGT (4) or non-germinated spores (5).



#### *Z. tritici*

Les tests directs sont réalisés dans des boîtes de Pétri contenant du milieu PDA à 39 g/L préparé dans de l'eau déminéralisée. Chaque milieu contient un des SDP ou BS aux concentrations recommandées : SDN1 (1 g/L), SDN2 (1 g/L), SDN3 (5 g/L), SDN4 (1 g/L), SDN5 (0,5%), BS1 (0,4%), BS3 (0,33%) ou BS5 (1 g/L), le témoin étant un milieu contenant du PDA seul. Les spores de champignon sont récupérées dans

de l'eau stérile et concentrées à  $5 \cdot 10^5$  spores/ml, et 5 gouttes de 5 $\mu$ l d'inoculum sont déposées dans chaque boîte. Après 5, 8 et 12 jours de culture à 20°C et à l'obscurité, le diamètre des disques de champignon est mesuré, et l'aspect des disques est également évalué (Figure 2). Deux expérimentations indépendantes ont été réalisées avec, pour chaque expérimentation, trois réplicats techniques par condition.

Figure 2 : Croissance du mycélium de *Z. tritici* *in vitro* : à gauche, exemple d'un stade de développement avancé avec des disques larges et un mycélium noirâtre ; à droite, exemple d'un stade de développement moins avancé avec des disques plus petits et une couleur rosée.

Growth of *Z. tritici* *in vitro* : on the left, an example of an advanced stage of development with large disks and a blackish mycelium; on the right, example of an earlier stage of development with smaller disks and a pink color.



### Analyses statistiques

Le logiciel GraphPad Prism (GraphPad Software, Inc., San Diego, USA) a été utilisé pour le traitement statistique des données. Une analyse de variance (ANOVA) a été choisie et complétée par un test de Tukey. Les résultats comparés sont significativement différents lorsque  $P < 0.05$ .

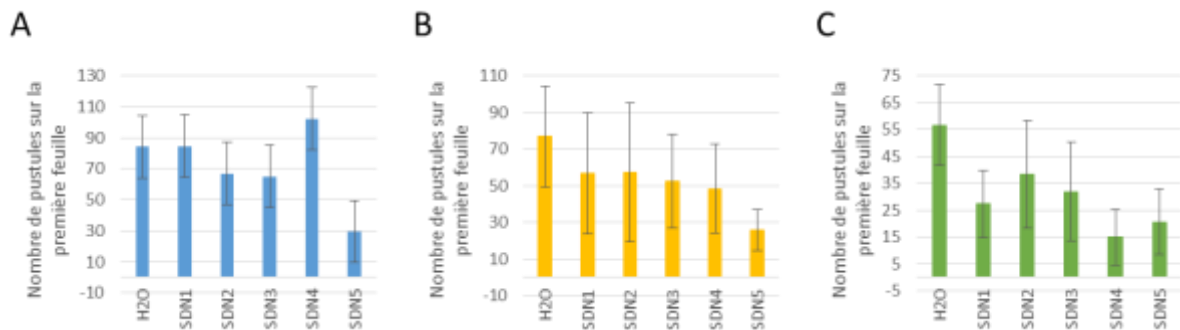
## RESULTATS

### TEST DE PROTECTION CONTRE L'OÏDIUM EN CONDITIONS CONTROLEES

Cinq SDPs ont été testés contre l'oïdium sur le cultivar Pakito, révélant des efficacités variables sur trois expérimentations indépendantes. Le produit SDN5 semble être le produit le plus efficace dans les conditions testées, avec 65% de protection contre la maladie (Figure 3). Il est significativement différent des plantes témoins traitées avec de l'eau (analyse statistique à partir des 3 répétitions). SDN2 et SDN3 présentent également des efficacités relativement stables et statistiquement significatives, avec des taux de protection d'environ 20 à 30% et 20 à 40% respectivement (Figure 3). SDN1 et SDN4, bien que significativement différents du témoin, sont quant à eux instables en fonction des expérimentations. Ils protègent parfois très bien contre la maladie (jusqu'à plus de 50% pour SDN1 et plus de 70% pour SDN4) et parfois ils ne protègent pas du tout, voire empirent l'infection (Figure 3).

Figure 3 : Symptômes d'oïdium sur la première feuille de blé selon le produit testé, d'après trois expérimentations indépendantes (A, B, C).

Symptoms of powdery mildew on the first leaf, on three independent experiments (A, B, C).

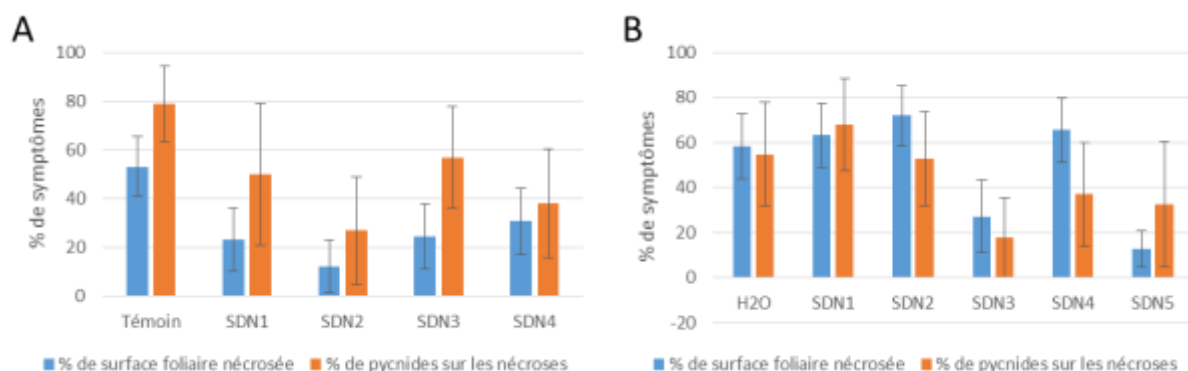


### TEST DE PROTECTION CONTRE LA SEPTORIOSE EN CONDITIONS SEMI-CONTROLEES

Les 5 SDP ont été testés contre la septoriose sur le cultivar Alixan en conditions semi-contrôlées. Sur les deux expérimentations indépendantes réalisées, pour un même produit, les résultats sont très variables. Une nouvelle expérimentation est en cours pour essayer de valider les efficacités respectives des différents produits. Lors de la première répétition, SDN5 n'avait pas été testé à cause d'un problème technique. Il semblerait que, globalement, les cinq produits protègent contre la septoriose, aussi bien au niveau de la réduction des tâches nécrotiques que de la réduction de la sporulation (Figure 4). Cependant, SDN5 est celui qui diminue le plus la surface foliaire nécrosée, avec quasiment 80% de réduction, il réduit également la sporulation de 40% par rapport au témoin traité avec de l'eau. SDN3 est également efficace sur les deux critères étudiés, avec une réduction de 50% de la surface foliaire nécrosée et une réduction de la sporulation de 45% environ. SDN4 diminue la sporulation de 40% environ, mais ne réduit pas de façon significative la surface foliaire nécrosée. SDN1 et SDN2 ne présentent pas de protection stable sur les deux expérimentations réalisées (Figure 4).

Figure 4 : Symptômes de septoriose obtenus sur le blé selon le produit testé, d'après deux expérimentations indépendantes (A et B). En bleu : pourcentages de surface foliaire nécrosée ; en orange : pourcentages de sporulation.

Symptoms of septoria obtained on wheat depending on the elicitor tested, on two independent experiments (A and B). In blue: percentage of necrotic leaf area; in orange: percentage of sporulation.



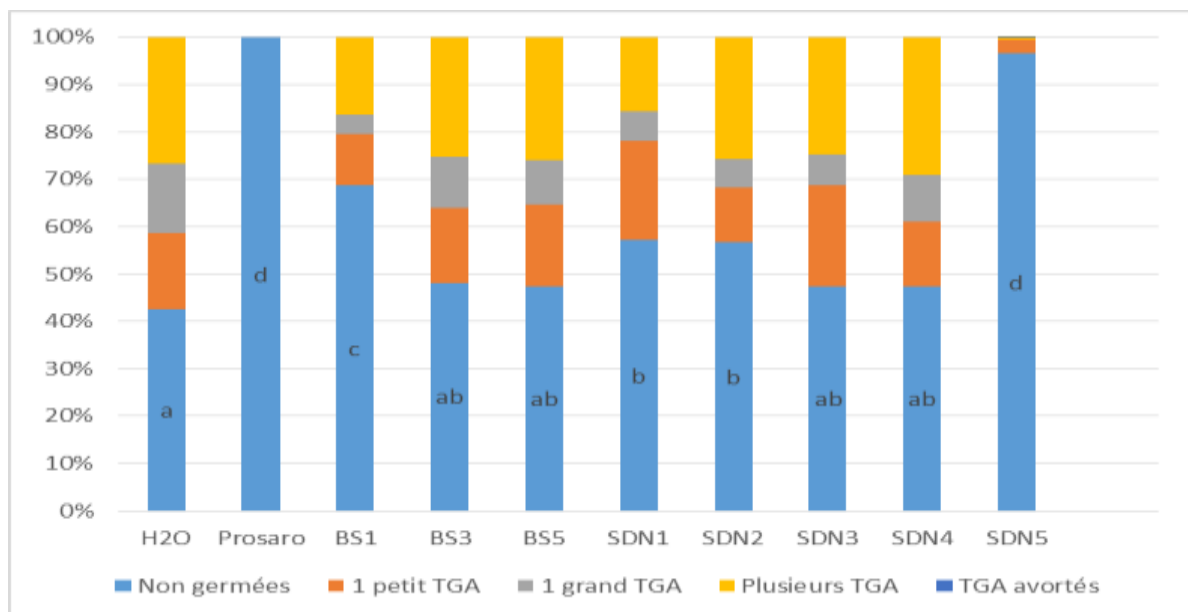
### EFFET DIRECT DES PRODUITS SUR LES CHAMPIGNONS

*B. graminis*

Les spores de *B. graminis* ont été saupoudrées sur de l'agar dissout dans de l'eau (témoin), ou de l'agar contenant l'un des trois BS ou l'un des cinq SDP à disposition. Dans la figure 5, on peut visualiser l'effet de chaque produit sur la germination des spores. BS3, BS5, SDN3 et SDN4 n'ont pas d'impact significatif sur la germination des spores. Pour chacun de ces produits, entre 40 et 50% des spores ne germent pas, ce qui est significativement identique au pourcentage obtenu sur le témoin. SDN1 et SDN2 inhibent partiellement la germination des spores : environ 57% des spores ne germent pas, ce qui est significativement plus élevé que le témoin. BS1, quant à lui, inhibe plus fortement la germination, avec plus de 65% de spores non germées. SDN5 inhibe quasiment totalement la germination, avec plus de 95% de spores non germées, ce qui est significativement identique au fongicide, le Prosaro®, qui inhibe totalement la germination.

Figure 5 : Pourcentages de germination *in vitro* des spores de *B. graminis* au contact d'agar dissout dans de l'eau déminéralisée seule, ou contenant l'un des trois BS ou l'un des cinq SDP. TGA : Tube Germinatif Appressorial.

*In vitro* germination of *B. graminis* spores in contact with agar dissolved in demineralized water or containing one of the three BS or one of the five elicitors. TGA: Appressorial Germ Tube.

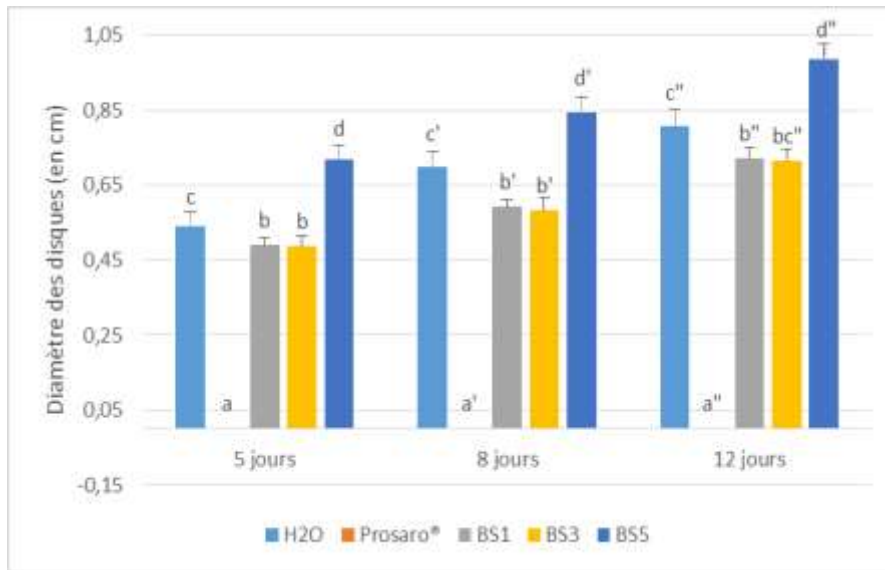


### Z. tritici

Des gouttes d'inoculum de *Z. tritici* ont été déposées sur du milieu PDA seul (témoin contenant de l'eau), du PDA contenant un fongicide, ou l'un des trois BS ou l'un des cinq SDP (essais réalisés séparément). Le diamètre de croissance mycélienne a été mesuré au bout de 5, 8 et 12 jours de culture et leur aspect a également été observé.

Figure 6 : Diamètre des disques de *Z. tritici* *in vitro* après 5, 8 et 12 jours de culture à l'obscurité et à 12°C, en présence soit d'un des trois BS, soit du Prosaro®.

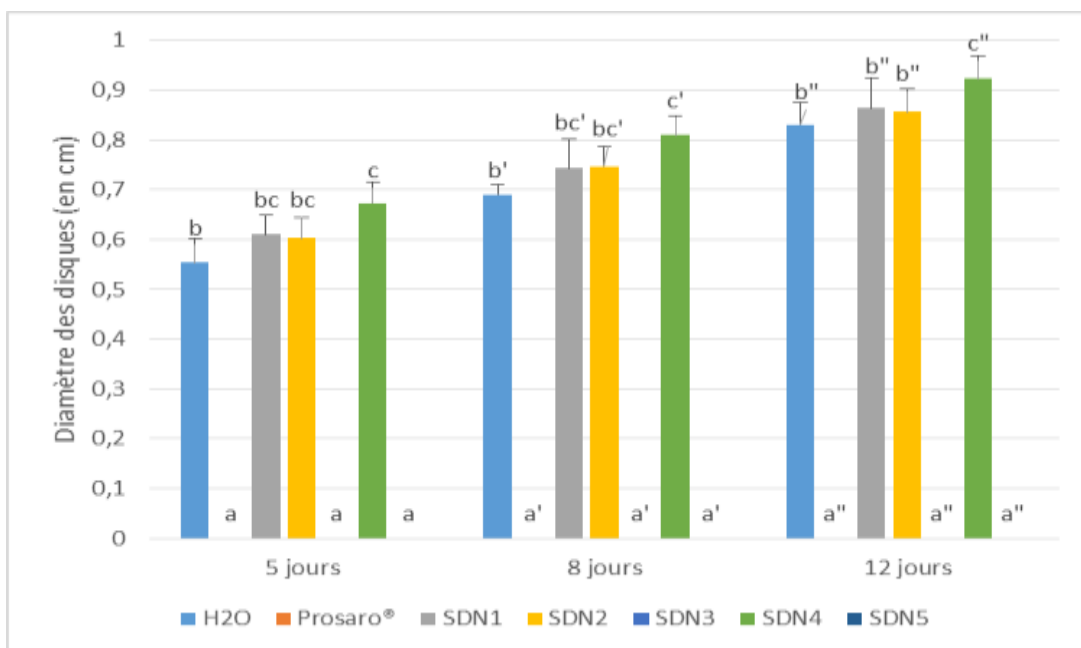
Growth of *Z. tritici* *in vitro* after 5, 8 and 12 days of culture in the dark and at 12 ° C., in the presence of one of the three BS or Prosaro®.



Le Prosaro® a un effet totalement inhibiteur sur la croissance du champignon *in vitro*. BS1 et BS3 retardent légèrement la croissance par rapport au témoin (Figure 6). Cette constatation est valable pour BS1 aux 3 étapes de mesure, tandis que BS3 rattrape presque le témoin au bout de 12 jours de culture (différence statistiquement non significative). BS5 a un effet surfactant qui induit l'étalement de la goutte d'inoculum dès son dépôt sur le milieu PDA (Figure 6). Il n'est cependant pas possible de savoir si le diamètre plus important du disque est uniquement dû à l'effet surfactant ou si BS5 stimule la croissance du champignon par rapport au témoin. Après 5 jours de culture, la couleur du champignon est plus claire et plus rosée dans les conditions BS1 et BS3 par rapport au témoin H2O dont la couleur est grisée. Pour la condition BS5, l'aspect est le même que le témoin. Au bout de 12 jours de culture, seul BS1 a un aspect « sclérifié », différent des autres conditions qui ont un aspect « velu » (résultats non présentés).

Figure 7 : Diamètre des disques de *Z. tritici* *in vitro* après 5, 8 et 12 jours de culture à l'obscurité et à 12°C, en présence soit d'un des trois SDP, soit du Prosaro®.

Growth of *Z. tritici* *in vitro* after 5, 8 and 12 days of culture in the dark and at 12 °C., in the presence of one of the three elicitors or Prosaro®.



Les produits SDN1 et SDN2 n'ont pas montré d'effet sur la croissance du champignon (Figure 7). SDN4 présente un effet surfactant, induisant un étalement de la goutte d'inoculum dès son dépôt sur le milieu PDA (Figure 7), mais il n'est pas possible de savoir si le diamètre plus important du disque est uniquement dû uniquement à l'effet surfactant ou si SDN4 stimule la croissance du champignon par rapport au témoin. Les produits SDN3 et SDN5 inhibent totalement la croissance aux trois temps de mesure (Figure 7), tout comme le fongicide. Les disques sont légèrement plus gris foncés pour la condition SDN1 au bout de 5 jours, alors que SDN2 et SDN4 ont le même aspect et la même couleur gris/rosé que le témoin. Au bout de 12 jours, les disques ont tous le même aspect « velu » et une couleur presque noire pour le témoin, SDN1, SDN2 et SDN4 (résultats non présentés).

## BILAN

		H2O	SDN1	SDN2	SDN3	SDN4	SDN5	BS1	BS3	BS5	
Oïdium ( <i>B. graminis</i> )	Efficacité <i>in planta</i> (en %)	0	26	26	<b>33</b>	30	<b>65</b>	/	/	/	
	Effet <i>in vitro</i> (% de spores non germées)	42	57	<b>57</b>	47	47	<b>97</b>	69	48	47	
Septoriose ( <i>Z. tritici</i> )	Efficacité <i>in planta</i>	% de surface foliaire nécrosée	0	24	27	<b>54</b>	15	<b>78</b>	/	/	/
		% de sporulation	0	6	35	<b>48</b>	42	<b>40</b>			
	Effet <i>in vitro</i> (diamètre des disques à J+12 en cm)	0,82	0,86	0,86	<b>0</b>	0,92*	<b>0</b>	0,72	0,72	0,99*	

\*Etalement par effet surfactant du produit

## DISCUSSION

### PROTECTION CONTRE L'OÏDIUM

Les différents SDP testés ont montré des efficacités souvent partielles et variables. Des travaux ont déjà été menés sur l'utilisation de SDP dans le cadre de ce pathosystème et confirment les résultats de notre étude. Ainsi, Reignault *et al.* (2001) ont montré qu'un traitement au tréhalose induisait une protection partielle du blé contre l'oïdium de 34% sur la face inférieure de la première feuille et de 24% sur la face supérieure de cette même feuille. Randoux *et al.* (2010) ont également montré que les oligogalacturonides avaient un effet protecteur partiel contre l'oïdium, avec une diminution de la quantité de pustules de 57% pour les oligogalacturonides non acétylés et de 58% pour les oligogalacturonides acétylés. De plus, Renard-Merlier *et al.* (2007) ont comparé l'efficacité de quatre SDP et ont montré qu'après un seul traitement, le tréhalose, l'acide salicylique (SA) et le Iodus 40<sup>®</sup> avait une efficacité partielle de 38%, 50% et 55% respectivement, tandis que l'heptanoyl d'acide salicylique (HSA) protégeait presque totalement le blé contre l'oïdium (95%). Pour améliorer la protection du blé contre l'oïdium, il serait envisageable de réaliser deux applications préventives successives des SDP. D'après Renard-Merlier *et al.* (2007) une deuxième application préventive de Iodus 40<sup>®</sup> ou de tréhalose menait à une protection de 60% (contre 55% et 38% respectivement avec une seule application), une deuxième application préventive de SA à une protection de 65% (contre 50%) et une deuxième application préventive de HSA à une protection totale (contre 95%).

### IMPACT DIRECT DES PRODUITS SUR LA GERMINATION DES SPORES D'OÏDIUM

Les résultats obtenus montrent que les produits ont un effet plus ou moins important sur la germination des spores d'oïdium. BS3, BS5, SDN3 et SDN4 n'ont pas d'effet sur la germination des spores d'oïdium *in vitro*. SDN1 et SDN2 ont un léger effet inhibiteur. BS1 inhibe fortement la germination des spores tandis que SDN5 l'inhibe presque totalement. Les résultats obtenus par d'autres équipes vont également dans le sens d'une variabilité de l'effet biocide des SDP. Renard-Merlier *et al.* (2007) ont montré que le Iodus 40<sup>®</sup> avait un léger effet inhibiteur sur la germination

des spores de *Bgt in vitro*, tandis que le tréhalose, le SA et le HSA n'avaient pas d'effet fongicide ou fongistatique. Par ailleurs, le Milsana® a également montré un net effet fongistatique direct (Randoux *et al.*, 2006). Ainsi le Milsana® doit son effet protecteur contre l'oïdium du blé à la combinaison entre une induction partielle des défenses et un effet fongistatique direct (Randoux *et al.*, 2006).

#### **PROTECTION DU BLE CONTRE LA SEPTORIOSE**

Chez le cultivar Alixan, SDN1, SDN2, SDN3, SDN4 et SDN5 ont montré un effet protecteur contre la septoriose aux doses recommandées par le fournisseur. De la même façon, Maumené *et al.* (2010) ont montré que les SDP FSOV2, FSOV7, FSOV8, FSOV8Bis, FSOV9 et FSOV10 réduisent respectivement les symptômes de septoriose de 58, 96, 50, 39, 100 et 70 % sur Alixan. Somai-Jemmali *et al.* (2014) ont également montré que le SDP R3 protégeaient fortement le blé contre la septoriose, avec 84% de réduction des symptômes, tandis que le SDP R2 diminuait les symptômes de seulement 39%.

#### **IMPACT DIRECT DES PRODUITS SUR LA CROISSANCE DE *Z. TRITICI***

Selon les produits testés, le développement de *Z. tritici in vitro* est variable. BS1, BS3, SDN1 et SDN2 n'ont pas d'impact sur la croissance du champignon. BS5 et SDN4 ont un effet de type surfactant, provoquant l'étalement de la goutte d'inoculum lors du dépôt. SDN3 et SDN5 inhibent complètement le développement du champignon, tout comme le Prosaro®. Les produits peuvent impacter la croissance mycélienne ou la germination des spores. Maumené *et al.* (2010) ont montré que le FSOV9 présentait également une forte activité biocide *in vitro*. D'après Ors *et al.* (2013), la concentration du produit joue sur la croissance mycélienne *in vitro*. FSOV2, FSOV4, FSOV7 et FSOV10 présentaient une forte activité biocide *in vitro* aux doses fortes, mais à des doses plus faibles cet effet biocide était diminué, voire supprimé. Les concentrations de SDN3 et SDN5 testées dans cette étude sont donc peut-être trop élevées et pourraient être diminuées pour supprimer leur effet direct *in vitro* sur la croissance de *Z. tritici*.

#### **CONCLUSION**

L'application foliaire de SDN5 permet d'obtenir la meilleure protection partielle contre l'oïdium et la septoriose. Néanmoins il présente une forte activité directe sur les deux champignons *in vitro* dans nos conditions. Le produit SDN3 protège également partiellement contre les deux maladies, mais il inhibe la croissance de *Z. tritici in vitro*. SDN2 a un effet protecteur partiel contre l'oïdium, mais il inhibe légèrement la germination des spores de *B. graminis in vitro*. SDN1 et SDN4 ne présentent aucune activité protectrice *in planta* contre les deux maladies, bien que SDN1 inhibe légèrement la germination des spores de *B. graminis in vitro*. De nouveaux tests d'effets directs sur les champignons seront réalisés avec SDN5 et SDN3 en concentrations plus faibles afin de (i) réduire leurs effets biocides, tout en gardant une bonne protection *in planta*, (ii) se rapprocher des concentrations réelles retrouvées par plante aux champs. Nous allons également vérifier que la protection du blé obtenue avec les produits SDN5, SDN3 et SDN2 est bien liée à la stimulation des défenses de la plante et qu'elle n'est pas uniquement due aux effets directs des produits sur les champignons. Pour ce faire, des dosages enzymatiques et des expressions de gènes seront réalisés. Le but est bien de sélectionner les produits stimulant les défenses et n'ayant peu ou pas d'effet biocide sur les champignons. Les BS, qui ne doivent pas avoir d'effet biocide pour les champignons, seront testés pour leurs effets sur la croissance et la physiologie du blé. Puis les traitements de SDP et de BS seront associés pour voir si les BS améliorent l'efficacité des SDP par rapport à leur utilisation en solo.

## REMERCIEMENTS

Le projet est un FUI financé par FEDER, le gouvernement français, le Conseil Régional de Bourgogne-Franche-Comté, le Conseil Régional de Champagne-Ardenne, les communautés d'agglomération de Dijon et de Saint-Malo, et Goëmar-Arysta, Tecnomia, Global Sensing Technology, Dijon Céréales et Orange. Il est labellisé par Vitagora, le Pôle IAR (Industries & Agro-Ressources) et le Pôle Mer Bretagne Atlantique.

## BIBLIOGRAPHIE

Maumené C., Siah A., Ors M.E., Couleaud G., Randoux B., Rigolles P., Seliam S., Halama P., Reignault Ph. 2010 - Interaction entre stimulateurs de défense des plantes et génotypes de blé tendre dans la lutte contre la septoriose. *Projet FSOV*.

Ors M., Siah A., Randoux B., Selim S., Couleaud G., Maumené C., Reignault Ph., Halama P. 2013 - Cultivar-dependent efficacy and mode of action of plant resistance inducers in wheat against *Septoria tritici* leaf blotch. In *6th meeting of the International Organization for Biological and Integrated Control* (I.-W. Bulletin, ed, Avignon, France, pp pp. 333-338).

andoux B., Renard-Merlier D., Mulard G., Rossard S., Duyme F., Sanssené J., Courtois J., Durand R., Reignault Ph. 2010 - Distinct defenses induced in wheat against powdery mildew by acetylated and non acetylated oligogalacturonides. *Phytopathology*, 100, 1352-1363.

Randoux B., Renard D., Nowak E., Sanssené J., Courtois J., Durand R., Reignault Ph. 2006 - Inhibition of *Blumeria graminis* f. sp. *tritici* Germination and Partial Enhancement of Wheat Defenses by Milsana. *Phytopathology*, 96, 1278-86.

Reignault Ph., Cogan A., Muchembled J., Lounes-Hadj Sahraoui A., Durand R., Sancholle M. 2001 - Trehalose induces resistance to powdery mildew in wheat. *New Phytopathologist*, 149, 519-529.

Renard-Merlier D., Randoux B., Nowak E., Farcy F., Durand R., Reignault Ph. 2007 - Ioduric acid, heptanoyl salicylic acid and trehalose exhibit different efficacies and defense targets during a wheat/powdery mildew interaction. *Phytochemistry*, 68, 1156-1164.

Siah A., Deweer C., Duyme F., Sanssené J., Durand R., Halama P., Reignault Ph. 2010 - Correlation of in planta endo-beta-1,4-xylanase activity with the necrotrophic phase of the hemibiotrophic fungus *Mycosphaerella graminicola*. *Plant Pathology*, 59, 661-670.

Somai-Jemmali L., Randoux B., Siah A., Ors M., Halama P., Reignault Ph., Hamada W. 2014 - Efficacy and modes of action of resistance inducers on two wheat species against *Mycosphaerella graminicola*. *Communications in agricultural and applied biological sciences*, 79, 397-402.