

## ROBIO

### Vers une protection intégrée du ROsier contre les maladies foliaires fongiques : BIOcontrôle et résistance variétale

« Plan Ecophyto II+ – Volet 1 Appel à projets national 2020 – 2021 »

#### *Rapport final*

***Soufflet-Freslon V., Monot C., Didelot F., Coutant J., Mary L.,  
De Lagarde M., Riou M.***

*09/02/2025*

**Organisme chef de file :** INRAE – UMR IRHS (Institut de Recherche en Horticulture et Semences), 42 Rue Georges Morel – 49070 BEAUCOUZE

**Cheffe de projet :** Vanessa SOUFFLET-FRESLON, [vanessa.soufflet-freslon@institut-agro.fr](mailto:vanessa.soufflet-freslon@institut-agro.fr)

**Partenaires du projet :**



Action pilotée par les Ministères chargés de la Transition Ecologique et de la Cohésion des Territoires (MTECT), de l'Agriculture et de la Souveraineté Alimentaire (MASA), du Travail, de la Santé et des Solidarités (MTSS), et de la l'Enseignement Supérieur et de la Recherche (MESR), avec l'appui financier de l'Office Français pour la Biodiversité (OFB), par les crédits issus de la redevance pour pollutions diffuses attribués au plan Écophyto II+

# Table des matières

|                                                                                                                                                                                  |    |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| SYNTHÈSE .....                                                                                                                                                                   | 3  |
| Contexte général et enjeux scientifiques et techniques.....                                                                                                                      | 4  |
| Objectifs généraux du projet.....                                                                                                                                                | 4  |
| Quelques éléments de méthodologie (et difficultés éventuelles rencontrées) .....                                                                                                 | 5  |
| Résultats obtenus.....                                                                                                                                                           | 7  |
| Implications pratiques, recommandations, réalisations pratiques, valorisation .....                                                                                              | 13 |
| Partenariats mis en place, projetés, envisagés .....                                                                                                                             | 15 |
| Pour en savoir plus (quelques références).....                                                                                                                                   | 15 |
| Liste des opérations de valorisations issues du contrat (articles de valorisation, participation à des colloques, enseignement et formation, communication, expertises...) ..... | 15 |
| Résumés .....                                                                                                                                                                    | 17 |
| RAPPORT SCIENTIFIQUE .....                                                                                                                                                       | 20 |

## ROBIO

### Vers une protection intégrée du ROsier contre les maladies foliaires fongiques : BIOcontrôle et résistance variétale

« Plan Ecophyto II+ – Volet 1 Appel à projets national 2020 – 2021 »

#### *Synthèse pour les décideurs*

*Soufflet-Freslon V., Monot C., Didelot F., Coutant J., Mary L.,  
De Lagarde M., Riou M.*

09/02/2025

**Organisme chef de file :** INRAE – UMR IRHS (Institut de Recherche en Horticulture et Semences), 42 Rue Georges Morel – 49070 BEAUCOUZE

**Cheffe de projet :** Vanessa SOUFFLET-FRESLON, [vanessa.soufflet-freslon@institut-agro.fr](mailto:vanessa.soufflet-freslon@institut-agro.fr)

**Partenaires du projet :**



Action pilotée par les Ministères chargés de la Transition Ecologique et de la Cohésion des Territoires (MTECT), de l'Agriculture et de la Souveraineté Alimentaire (MASA), du Travail, de la Santé et des Solidarités (MTSS), et de la l'Enseignement Supérieur et de la Recherche (MESR), avec l'appui financier de l'Office Français pour la Biodiversité (OFB), par les crédits issus de la redevance pour pollutions diffuses attribués au plan Écophyto II+

## Contexte général et enjeux scientifiques et techniques

La rose est la culture ornementale la plus importante au niveau mondial. L'industrie de la rose a un poids économique mondial évalué à 10 millions de dollars (Debener & Byrne, 2014). Pour les plantes ornementales, l'aspect esthétique est un critère de qualité majeur. Cette qualité esthétique peut être diminuée par la présence de bioagresseurs, notamment des champignons.

Les pathogènes fongiques, comme les autres bioagresseurs, ont longtemps été maîtrisés grâce aux pesticides de synthèse. Or la réduction de l'usage des produits phytopharmaceutiques constitue une attente citoyenne forte et une nécessité pour préserver la santé humaine et la biodiversité. Le contexte réglementaire (Plans Ecophyto) fixe l'objectif de réduire l'utilisation des produits phytopharmaceutiques de 50% et de leurs risques d'ici à 2030. Les obtenteurs/producteurs de rosier sont alors demandeurs de méthodes alternatives à l'utilisation des produits phytopharmaceutiques conventionnels, d'autant plus que les utilisateurs finaux des produits ornementaux font face à une réglementation leur interdisant toute utilisation de ces pesticides. En effet, la loi Labbé interdit l'usage des pesticides de synthèse pour les jardiniers professionnels (depuis 2017) et amateurs (depuis 2019) mais aucune solution alternative n'a été proposée ; certains particuliers ont prévu des stocks de pesticides de synthèse pour gérer leur jardin. Il est donc nécessaire (i) d'accompagner les gestionnaires des JEVI (Jardins, Espaces végétalisés et Infrastructures) publics et privés dans le changement de leurs pratiques, (ii) d'accélérer le déploiement de solutions alternatives aux pesticides auprès des obtenteurs et producteurs de rosiers.

L'une des solutions alternatives réside dans les produits de biocontrôle qui misent sur les mécanismes naturels et les interactions entre les espèces. De nombreux travaux de recherche sur le biocontrôle pour lutter contre les maladies cryptogamiques foliaires ont été menés dans les filières des grandes cultures, de la viticulture, de l'arboriculture fruitière et du maraîchage alors que peu de recherches sont mises en place en horticulture ornementale, et notamment pour les plantes pérennes comme le rosier. Même si l'horticulture ornementale représente une faible part de l'agriculture (environ 2% des surfaces agricoles utiles), les jardins/terrasses privés et les espaces verts publics représentent, quant à eux, une surface d'environ 1,15 millions d'ha (<https://www.valhor.fr/>). Dans ce contexte, il est indispensable de maîtriser, de certifier, de contrôler les produits qui seront mis sur le marché tant pour leur efficacité que pour leur impact agro-écologique.

La majorité des produits de biocontrôle apporte généralement une efficacité de protection inférieure aux produits phytosanitaires conventionnels. Elle est par ailleurs souvent instable sur le terrain. Il est alors nécessaire d'identifier les conditions d'utilisation de ces produits favorisant à la fois leur efficacité et leur stabilité. L'utilisation de produits de biocontrôle doit aussi être combinée à d'autres leviers pour obtenir une protection efficace des plantes : la résistance génétique est l'un de ces autres leviers à considérer.

Le projet ROBIO s'est intéressé à l'association des produits de biocontrôle avec la résistance variétale. Il visait ainsi à évaluer l'efficacité et caractériser le mode d'action de produits de biocontrôle contre les principales maladies foliaires du rosier que sont la maladie des taches noires, l'oïdium, le mildiou et la rouille.

## Objectifs généraux du projet

Le projet ROBIO visait à proposer des produits de substitution (produits de biocontrôle) aux pesticides, en y associant la résistance variétale.

Quatre maladies foliaires fongiques (maladie des taches noires, oïdium, mildiou et rouille) ont été étudiées simultanément dans le cadre de ce projet en vue de proposer une solution intégrée capable de réduire la sensibilité du rosier aux agents pathogènes ciblés (*Diplocarpon rosae*, *Podosphaera pannosa*, *Peronospora sparsa* et *Phragmidium mucronatum*).

Le projet avait pour objectif d'évaluer l'efficacité des produits de biocontrôle, en interaction avec la résistance variétale, par une démarche progressive : les tests menés en conditions contrôlées permettaient de repérer les produits de biocontrôle présentant un "réel" potentiel de protection. Les essais sur le terrain ont ainsi été réservés à ces produits, d'où un gain de temps, d'énergie et d'argent considérable.

L'efficacité des produits de biocontrôle était testée en conditions naturelles sur différents sites géographiques (présentant des caractéristiques climatiques et des pressions pathogènes variables), ce qui permet de juger de la stabilité de l'efficacité de ces produits sur le territoire national. Les résultats obtenus pourront être communiqués aux obtenteurs, producteurs, gestionnaires des JEVI publics et privés ; ils permettront d'aider au déploiement du biocontrôle sur le terrain.

## Quelques éléments de méthodologie (et difficultés éventuelles rencontrées)

Le projet ROBIO a suivi une démarche progressive déclinée en trois opérations.

### Opération 1 : Criblage de produits de biocontrôle en laboratoire en fonction de leur mode d'action

Dix produits de biocontrôle ont été testés en focalisant sur les substances naturelles et les micro-organismes (tableau 1) compte tenu des agents pathogènes visés.

**Tableau 1.** Caractéristiques des 10 produits de biocontrôle testés.

| Nom commercial (fournisseur)                                                                                         | microorganisme ou dérivé                                               | Mode d'action                                                                                                                                                                                                                                                            | Usages                                                                                                                                                                                                                 |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                                                                                                                      | oligosaccharide                                                        |                                                                                                                                                                                                                                                                          |                                                                                                                                                                                                                        |
|                                                                                                                      | origine minérale                                                       |                                                                                                                                                                                                                                                                          |                                                                                                                                                                                                                        |
|                                                                                                                      | origine végétale                                                       |                                                                                                                                                                                                                                                                          |                                                                                                                                                                                                                        |
| Limocide (Vivagro)<br>            | huile essentielle d'orange                                             | Agit par contact sur les foyers récents (oidium, mildiou) en imprégnant les organes externes du champignon (mycélium et sporanges) causant leur déshydratation (par destruction des phospholipides des parois cellulaires des champignons).                              | Rosier/Oidium ( <i>et Taches noires pour Limocide J</i> )<br>+ autres pathosystèmes                                                                                                                                    |
| Soriale (BASF France SAS)<br>     | phosphonates de potassium                                              | Systémique et stimulateur des défenses des plantes.<br>Combine une action directe et indirecte sur les champignons                                                                                                                                                       | Pommier/Tavelure                                                                                                                                                                                                       |
| Fytosave (Fytofend, Belgique)<br> | COS-OGA (= ChitoOlygoSaccharides et OligoGAlacturonides)               | SDP, type éliciteur                                                                                                                                                                                                                                                      | Cultures ornementales<br>Vigne                                                                                                                                                                                         |
| Triatum-P (Koppert)<br>           | <i>Trichoderma harzianum</i><br><i>Rifai strains T-22 and ITEM-908</i> | Parasite de champignons (les hyphes voire les spores parfois), occupe la niche écologique (sol et partie aérienne), fait antibiose à distance<br>Effet SDP pour certaines souches                                                                                        | Cultures ornementales                                                                                                                                                                                                  |
| GI22F2MP18 (Green Impulse), en développement                                                                         | alcaloïdes et xanthonés d'origine végétale                             | Techno Sensitines® MEX. Produit type ARPI (Adaptive Response Pathway Inhibitor) = Sensitine<br>Molécules d'origine naturelle qui handicapent le pathogène pour se protéger contre les défenses de la plante, elles sensibilisent le champignon aux défenses de la plante | Efficace sur chou/ <i>Botrytis cinerea</i> et <i>Alternaria brassicicola</i> (plus actif sur <i>Alternaria</i> que sur <i>Botrytis</i> )<br>Intéressant sur vigne/mildiou vigne, beaucoup moins pomme de terre/mildiou |
| GI22ELA01 (Green Impulse), en développement = substance de base                                                      | chlorhydrate de chitosan                                               | Effet éliciteur et fongistatique                                                                                                                                                                                                                                         | Vigne, pomme de terre, laitue/Mildiou<br>Pommier/Tavelure                                                                                                                                                              |
| Complexe Phytia Natura V25 (Herbovital) = substance de base                                                          | macérations hydro-alcooliques dans huiles essentielles                 | Agit par contact contre les champignons de surface                                                                                                                                                                                                                       | Vigne/Mildiou, oidium                                                                                                                                                                                                  |
| Infusion d'écorces d'osier <i>Salix spp.</i> cortex = substance de base                                              | fragments d'écorces sèches de <i>Salix spp</i> cortex                  | Hautelement concentrée en principes actifs (acide salicylique, polyphénols, etc), l'infusion d'écorces d'osier permet de stimuler les défenses naturelles des plantes                                                                                                    | Vigne/Mildiou et oidium<br>Pommier/Tavelure et oidium                                                                                                                                                                  |
| SD (Mendinbio, Belgique) = PNPP                                                                                      | saule, prêle, ortie                                                    | Élicitation (préventif)                                                                                                                                                                                                                                                  | Efficace sur Vigne /Mildiou et Fraise/Oidium (en laboratoire et sur terrain)                                                                                                                                           |
| CL (Mendinbio, Belgique) = PNPP                                                                                      | Prêle, ajowan, giroflier, cannellier                                   | Antigerminatif<br>Résultats les plus probants :<br>Sur plante : en co-inoculation du pathogène ou très rapidement après l'inoculation<br>Boîte de Pétri : en mélange du milieu de culture (après la stérilisation)                                                       | Efficace sur Vigne /Mildiou et Fraise/Oidium (en laboratoire et sur terrain)                                                                                                                                           |
| Bion                                                                                                                 | Témoin positif                                                         | SDP (voie de l'acide salicylique)                                                                                                                                                                                                                                        |                                                                                                                                                                                                                        |
| Méthyl jasmonate                                                                                                     | Témoin positif                                                         | SDP (voie de l'acide jasmonique)                                                                                                                                                                                                                                         |                                                                                                                                                                                                                        |

L'étude du mode d'action des produits de biocontrôle s'est faite par : (i) l'évaluation de leurs effets directs sur les pathogènes (parasitisme, inhibition de la germination des spores), (ii) leurs capacités à

stimuler les voies de défense des plantes par l'étude de l'expression de gènes (à l'aide d'une puce qPFD®, puce à Faible Densité Quantitative ; Marolleau et al., 2013), en utilisant l'H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> comme agent "mimant" une attaque d'agent pathogène.

Deux difficultés ont été rencontrées :

- Les taux de germination des spores d'oïdium sur témoin non traité n'ont été que de 10 à 20%, ce taux n'est pas suffisant pour pouvoir conclure sur l'effet direct des produits sur l'inhibition de la germination des spores. Pour ne pas retarder l'avancement du projet, il a alors été décidé d'évaluer les produits directement sur plantes entières sur un génotype sensible, en serre.

- Les conditions extérieures pendant la durée du projet n'ont pas été suffisamment favorables à la présence du mildiou : l'agent pathogène était peu présent et/ou ses symptômes insuffisamment sporulants pour permettre son maintien en conditions contrôlées. L'efficacité des produits sur le mildiou n'a donc pas pu être testée en conditions contrôlées (opérations 1 et 2). Malgré cela, il restait possible de tester l'efficacité des produits, en interaction avec la résistance variétale, sur cet agent pathogène grâce aux essais multisites (opération 3).

Au cours du projet, une autre maladie, la rouille, non identifiée jusqu'à présent comme majeure pour le rosier, est apparue sur plusieurs sites. Il a alors été décidé de développer un pathotest sur plantes entières en conditions contrôlées vis-à-vis de l'agent pathogène responsable de cette maladie : *Phragmidium mucronatum*.

En sortie de cette opération, les cinq produits ayant montré la meilleure efficacité par action directe et/ou par activation des gènes de défense du rosier et/ou par effet de protection sur génotype sensible ont été sélectionnés pour l'opération 2.

#### Opération 2 : Evaluation de l'interaction biocontrôle x résistance variétale sur la gestion des pathogènes fongiques du rosier, en conditions contrôlées

Cinq génotypes de rosier (tableau 2) ont été notés en conditions contrôlées. Ces génotypes ont été choisis pour présenter différents niveaux de résistance génétique vis-à-vis des agents pathogènes ciblés (données de la littérature et/ou d'obteneurs).

**Tableau 2.** Caractéristiques des cinq génotypes de rosier retenus (source : IRHS).

| Génotypes                         | Groupes horticoles                                          | Feuillage/Port                                      |                                                                                       |
|-----------------------------------|-------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------|
| <i>Rosa chinensis</i> 'Old Blush' | Chinensis, remontant                                        | feuillage vert moyen<br>port buissonnant semi-érigé |  |
| Eddy Mitchell® MEirysett          | Hybride de Thé, rosier à grandes fleurs, remontant          | feuillage mi-mat, vert<br>port buissonnant          |  |
| Chartreuse de Parme® DELviola     | Hybride de Thé, rosier à grandes fleurs groupées, remontant | feuillage vert foncé, mi-lustré<br>port buissonnant |  |
| Paul Bocuse® MASpaujeu            | Generosa®                                                   | feuillage vert mat<br>port buissonnant              |  |
| La Garçonne® TANeiglat            | Hybride de Thé, rosier à grandes fleurs, remontant          | feuillage vert brillant<br>port érigé               |  |

Les cinq produits de biocontrôle précédemment sélectionnés (Limocide, Soriale, Fytosave, CL et Triatum) ont été testés ainsi que des témoins positifs (Bion et Méthyljasmonate) et négatif (eau). Des pathotests pour la maladie des taches noires et l'oïdium avaient été mis au point dans le cadre de

projets antérieurs (projet CASDAR Belarosa 2015-2016, Marolleau et al. 2020 ; protocole interne à Vegenov). Le pathotest pour la rouille a été, quant à lui, développé dans le cadre de ce projet.

Les deux(trois) produits de biocontrôle ayant donné les niveaux de protection les plus intéressants ont été sélectionnés pour être testés en conditions naturelles (opération 3).

### Opération 3 : Validation de l'interaction biocontrôle x résistance variétale sur la gestion des pathogènes fongiques du rosier, en conditions naturelles

Les génotypes de rosier notés en plein champ étaient les mêmes que ceux étudiés dans l'opération 2.

Avant le lancement de l'opération 3, nous avons appris que le Bion (jusque-là envisagé comme témoin positif) allait être retiré de la commercialisation. Il a donc été décidé de choisir un autre produit de référence. Le choix s'est porté sur le Limocide car : (i) il était efficace contre la maladie des taches noires et l'oïdium en conditions contrôlées, (ii) il était déjà homologué contre ces deux maladies sur rosier. Au champ, ont alors été testés le Limocide (témoin positif), le Soriale, le Fytosave et un témoin négatif (eau).

Ce test en conditions naturelles a été réalisé, une année, sur cinq sites expérimentaux (figure 1) présentant des conditions environnementales variées.



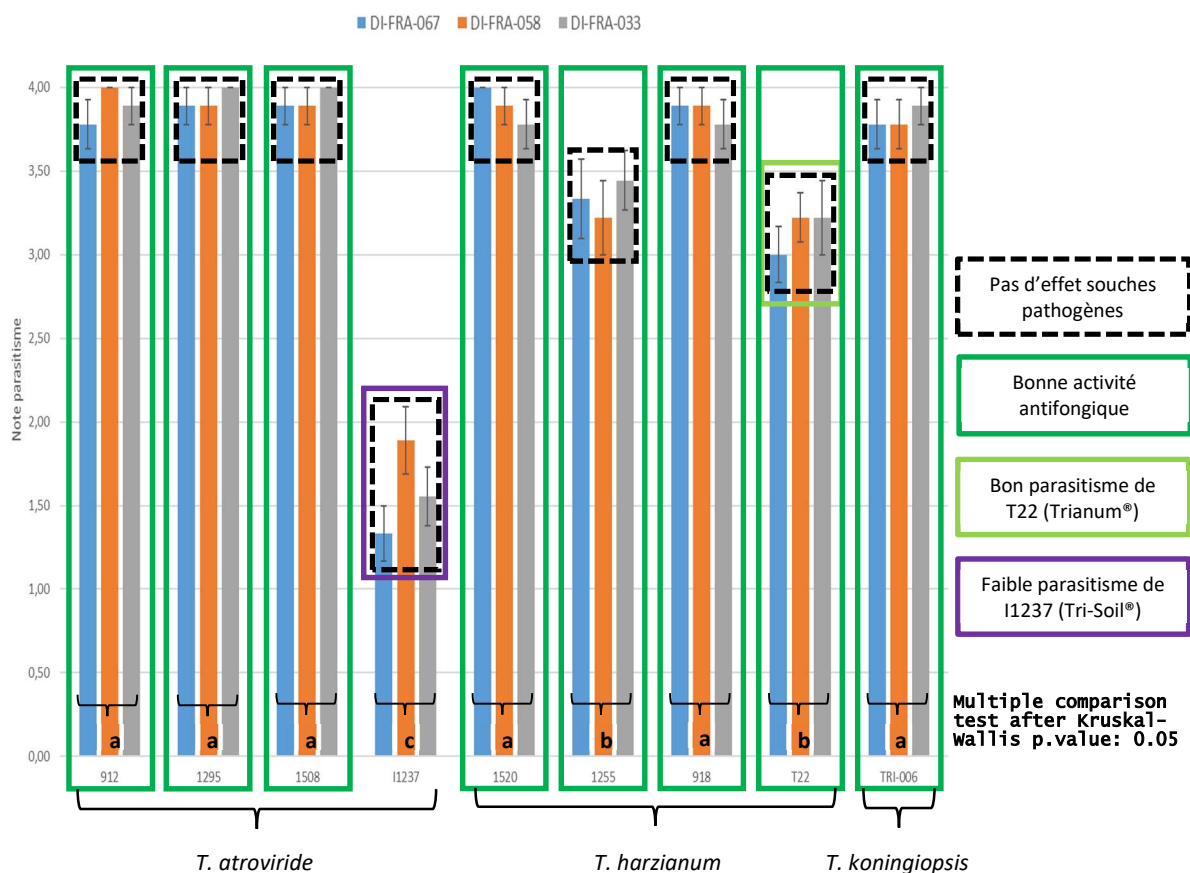
**Figure 1.** Répartition des sites expérimentaux pour les essais au champ.

## Résultats obtenus

L'action des produits de biocontrôle a été évaluée par : (i) leurs effets directs sur les pathogènes, (ii) leurs capacités à stimuler les voies de défense des plantes par l'étude de l'expression de gènes (à l'aide d'une puce qPFD®, puce à Faible Densité Quantitative).

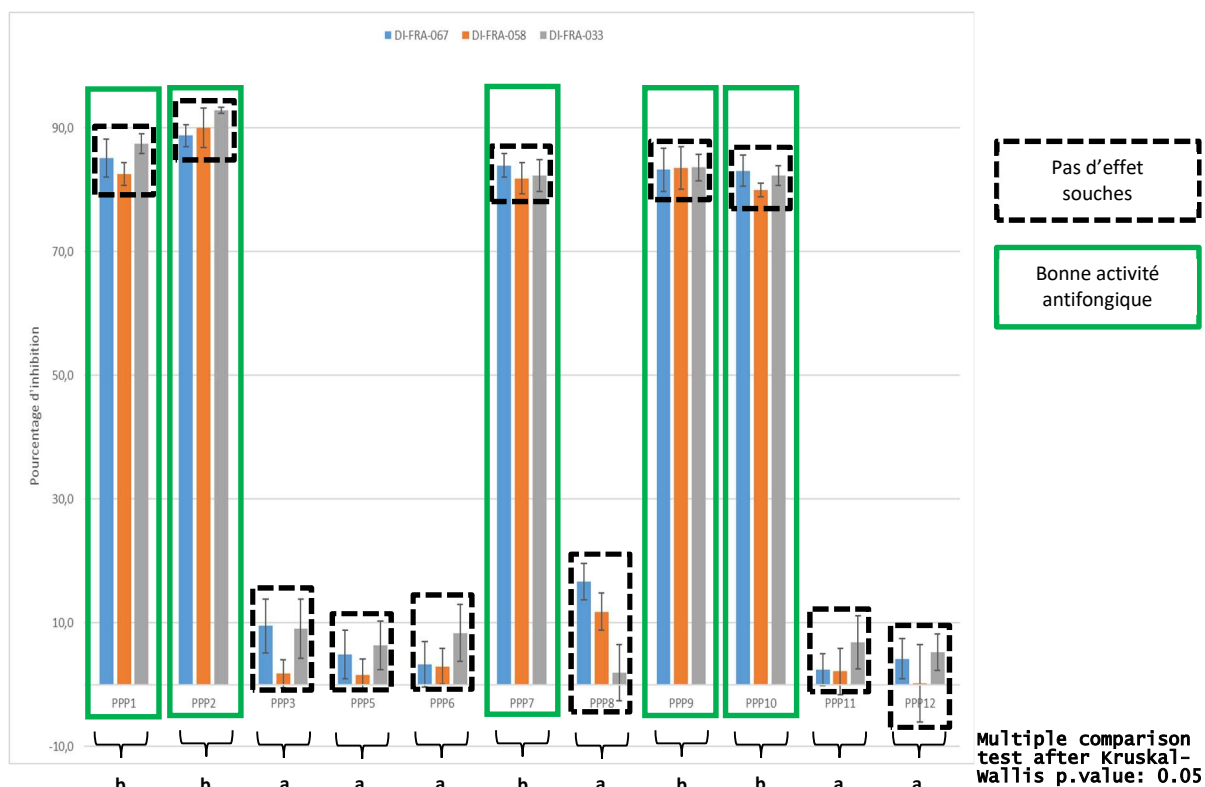
L'étude des effets directs des produits de biocontrôle en laboratoire sur *Diplocarpon rosae*, agent responsable de la maladie des taches noires, ont montré que :

- L'efficacité était différente selon les produits avec cinq produits qui se dégageaient : Limocide (huile essentielle d'orange), Soriale (phosphonates de potassium), Complexe Phyta Natura V25 (macérations hydro-alcooliques dans huiles essentielles), SD (saule, prêle, ortie) et CL (prêle, ajowan, giroflier, cannellier). Ces produits avaient un effet antifongique satisfaisant sur les trois souches pathogènes ; il n'y avait donc pas d'effet "souche pathogène" (figure 2).



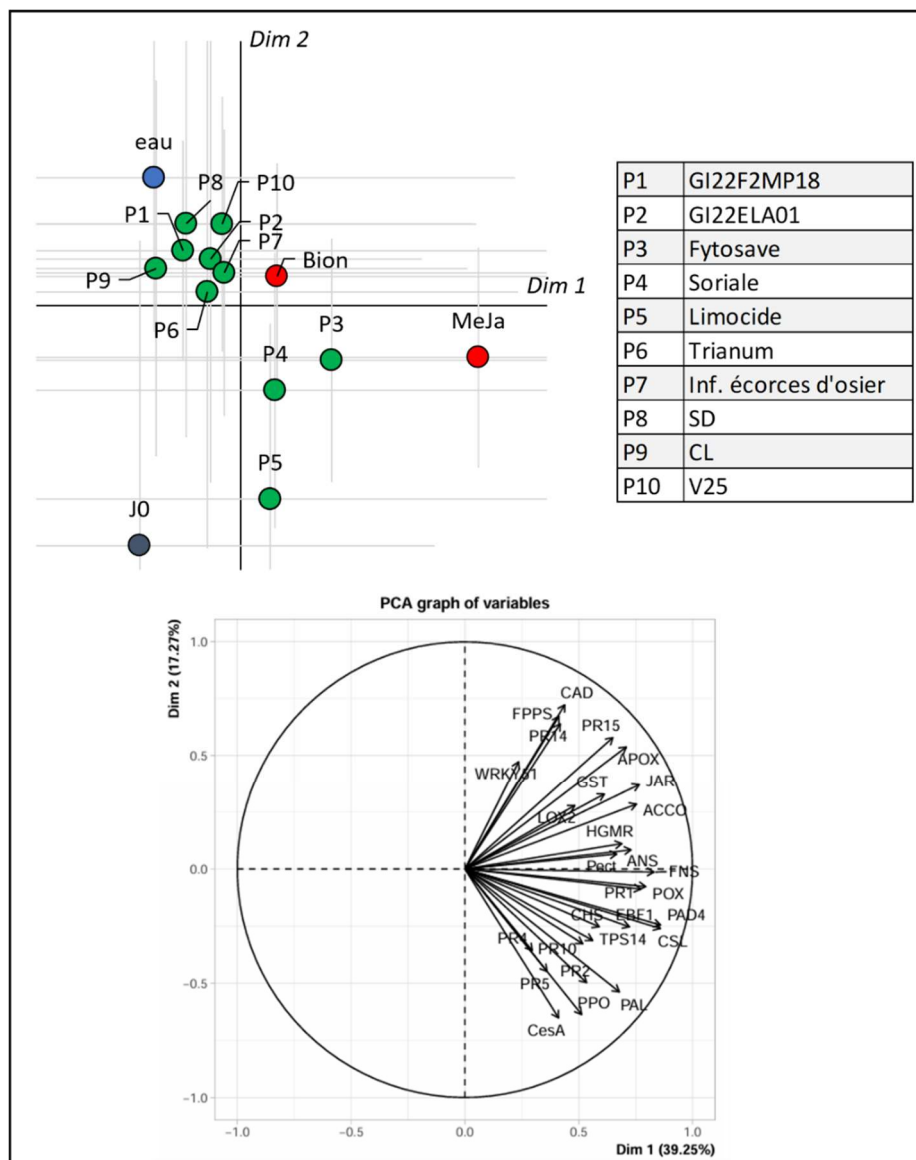
**Figure 2.** Pourcentage d'inhibition de la germination des conidies de trois souches de *Diplocarpon rosae* après traitement avec différents produits de biocontrôle/substances de base.

- L'effet de parasitisme de *Trichoderma sp.* était fort pour la quasi-totalité des souches de *Trichoderma sp.* testées. Le taux de parasitisme était similaire pour les trois souches pathogènes de *D. rosae* : il n'y avait pas d'effet "souche pathogène". L'antagonisme de *Trichoderma sp.* n'était pas espèce dépendante car des souches des trois espèces *T. atroviride*, *T. harzianum* et *T. koningiopsis* parasitaient de façon similaire *D. rosae*. En revanche, les souches au sein d'une même espèce de *Trichoderma* n'avaient pas la même capacité à parasiter *D. rosae*. La souche de *Trichoderma harzianum* T22 (produit commercial Trianum-P® Koppert sélectionné pour le projet) montrait un taux de parasitisme satisfaisant contrairement à l'autre produit commercial Tri-Soil® Agrauxine (figure 3).



**Figure 3.** Notes de parasitisme de neuf souches de *Trichoderma* sp. vis-à-vis de trois souches de *Diplocarpon rosae*.

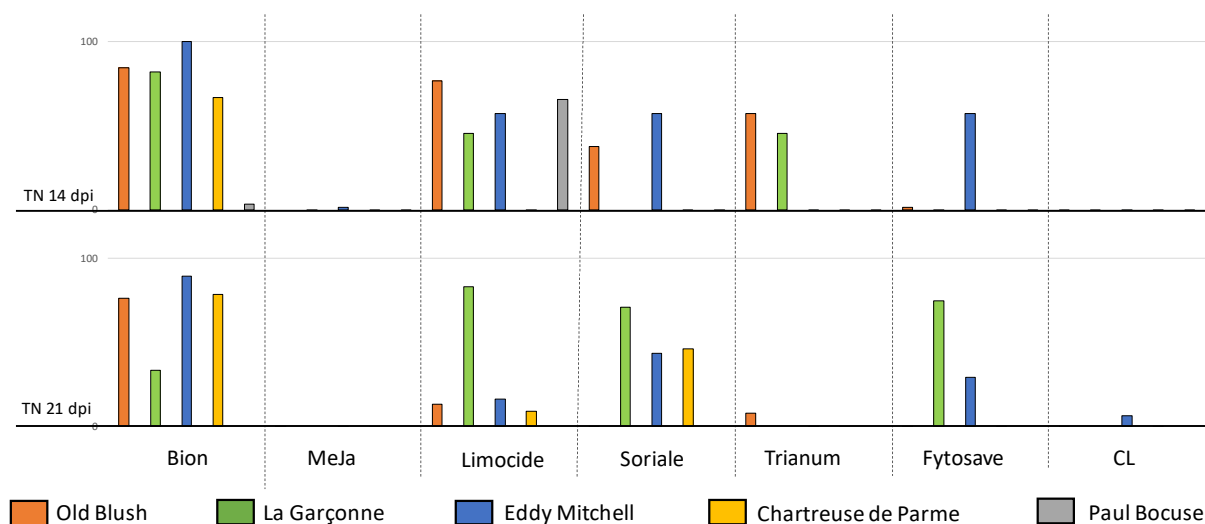
La puce qPFD® a été développée chez le rosier, permettant d'analyser l'expression de 28 gènes répartis dans les principales voies de défenses. Les produits inducteurs de défenses qui semblaient être les plus prometteurs étaient Limocide, Fytosave et Soriale (figure 4).



**Figure 4.** Analyse en composantes principales (ACP) réalisée sur l'ensemble des individus. Seuls les barycentres de chaque condition sont représentés.

Le criblage des produits de biocontrôle en fonction de leurs modes d'action a permis de sélectionner cinq produits à tester en conditions contrôlées (serre) : Limocide, Soriale, Fytosave, Trianium et CL.

Les tests de protection en serre de ces cinq produits, en interaction avec la résistance variétale, ont montré des différences d'efficacité entre les produits que ce soit vis-à-vis de la maladie des taches noires ou de l'oïdium. L'efficacité d'un produit pouvait également varier selon les génotypes de rosier (figures 5 et 6).

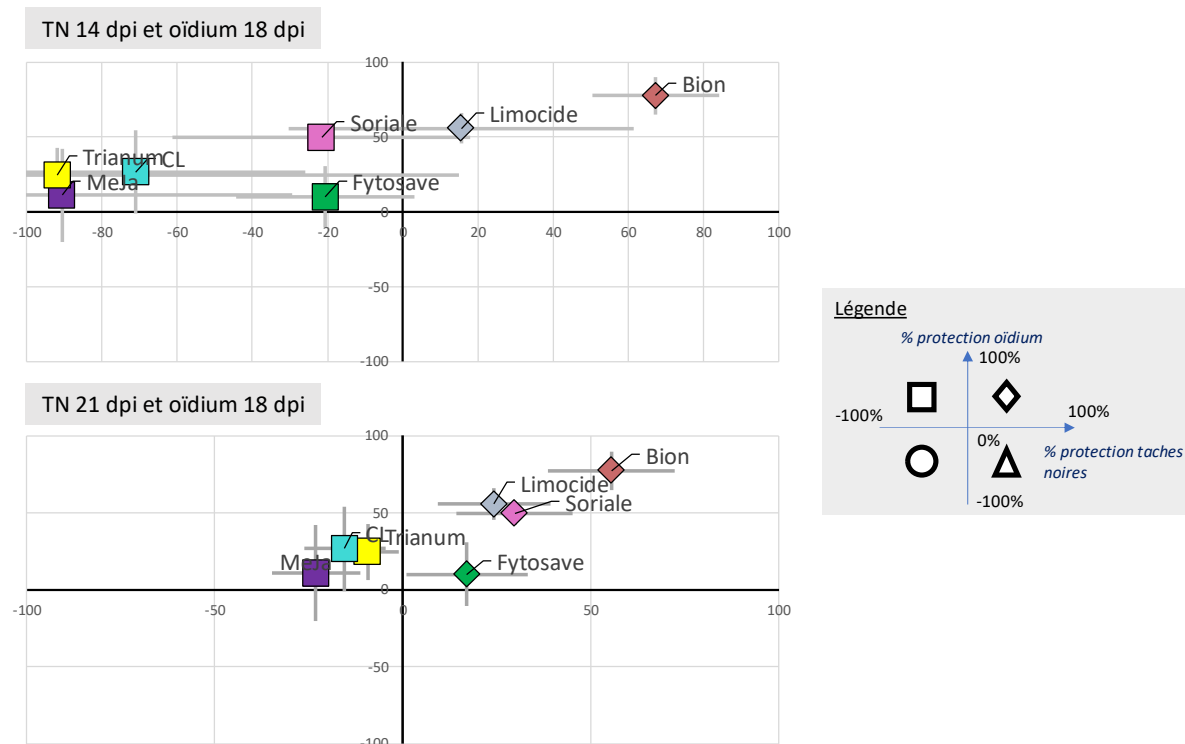


**Figure 5.** Pourcentage de protection des produits contre la maladie des taches noires (TN), 14 et 21 jours après inoculation (14 et 21 dpi), en serre, pour chacun des cinq génotypes de rosier.

**Tableau 10.** Pourcentage de protection des produits contre l'oïdium pour chacun des cinq génotypes de rosier.

|         |                     |                     | Produits |          |          |         |     |         |
|---------|---------------------|---------------------|----------|----------|----------|---------|-----|---------|
| Essai   | Date de traitements | Génotypes           | Bion     | Fytosave | Limocide | Soriale | CL  | Trianum |
| Essai 1 | J-7/J-2             | Old Blush           | 80       | 20       | 20       | 40      | 60  | 0       |
|         |                     | Paul Bocuse         | 60       | 0        | 40       | 0       | 20  | 0       |
|         |                     | Eddy Mitchel        | 0        | 0        | 100      | 0       | 100 | 0       |
|         |                     | Chartreuse de Parme | 67       | 0        | 0        | 0       | 100 | 100     |
|         |                     | La Garçonne         | 0        | 0        | 0        | 0       | 0   | 0       |
| Essai 2 | J-7/J-2             | Old Blush           | 67       | 0        | 11       | 22      | 11  | 0       |
|         |                     | Paul Bocuse         | 100      | 36       | 64       | 36      | 57  | 57      |
|         |                     | Eddy Mitchel        | 84       | 34       | 50       | 67      | 42  | 42      |
|         |                     | Chartreuse de Parme | 43       | 33       | 10       | 10      | 38  | 15      |

Considérant conjointement ces résultats sur la moyenne des cinq génotypes (figure 7), les produits les plus prometteurs étaient : Limocide, Soriale et Fytosave.



**Figure 7.** Pourcentage de protection moyenne (sur les cinq génotypes) des produits contre la maladie des taches noires (TN à 14 et 21 dpi) et l'oïdium (18 dpi). Les barres d'erreurs représentent les erreurs standards.

Les premiers tests de protection vis-à-vis de la rouille (pathotest développé dans le cadre de ce projet) ont confirmé les résultats obtenus pour les deux autres maladies : efficacité variable selon les génotypes et meilleure protection par le Limocide (figure 8).



**Figure 8.** Représentation de l'efficacité de cinq produits en fonction des trois génotypes de rosier vis-à-vis de la rouille.

Les produits ayant montré la meilleure efficacité en serre (Limocide, Soriale et Fytosave) ont été testés au champ, sur cinq sites expérimentaux, sur les mêmes génotypes de rosier.

Nous avons fait un premier constat : l'année de l'essai n'a pas été favorable au développement des différentes maladies étudiées dans ce projet : seule la maladie des taches noires a été observée, et ce quel que soit le site. La protection apportée par les produits n'a donc pu être évaluée que vis-à-vis de cette maladie. L'évaluation de la maladie s'est faite à travers deux notes complémentaires (note de défoliation + note de pourcentage de folioles infectées). Ces notes ont été analysées : (i) par date de notation par site afin de repérer d'éventuels effets ponctuels des produits au cours de l'épidémie, (ii) via le calcul de l'AUDPC (Area Under Disease Progression Curve) par site afin d'avoir une représentation du niveau d'infection sur l'ensemble de l'épidémie.

Les analyses d'AUDPC, pour les deux notes de maladie, ont révélé un effet Génotype sur chaque site, avec en particulier le génotype La Garçonne® qui ressortait le moins attaqué. L'effet Produit a en revanche été peu mis en évidence et variait selon la note de maladie considérée : le Soriale semblerait se distinguer sur les sites de Delbard et Astredhor Méditerranée à partir de la note de pourcentage de folioles infectées ; l'efficacité du Limocide était significative par rapport au témoin non traité sur le site de Delbard à partir de la note de défoliation.

Pour ce qui est de l'analyse des notes par date et par site, les premiers résultats révèlent également un effet Génotype sur chaque site. En revanche, un effet Produit n'a pas clairement été détecté. A ce stade des analyses, quelques problèmes de respect des postulats (normalité des résidus en particulier) persistent et nécessitent d'être résolus.

Jusqu'alors, les deux notes complémentaires permettant d'évaluer le niveau de maladie (note de défoliation + note de pourcentage de folioles infectées) ont été exploitées séparément. Etant donné que seule la maladie des taches noires s'est développée sur tous les sites, et qu'aucun autre problème sanitaire ou physiologique n'a été observé, la défoliation peut être attribuée à cette maladie des taches noires. Il paraît alors pertinent de rassembler les deux notes en une note unique, ce qui permettrait d'évaluer au mieux le comportement des génotypes de rosier au cours de l'épidémie.

D'un point de vue plus global, le projet ROBIO avait pour objectif de tester l'efficacité de produits de biocontrôle en suivant une démarche progressive qui allait de tests en laboratoire vers l'expérimentation multi-locale sur le terrain. Nous pouvons considérer que la démarche proposée a été validée : les produits sélectionnés suite aux essais en laboratoire ont montré une efficacité sur plantes entières en serre et sembleraient être les plus prometteurs au champ même si ces résultats restent à vérifier.

Le projet ne recherchait pas simplement à évaluer l'efficacité de produits de biocontrôle, il y associait la résistance variétale. Les résultats obtenus en conditions contrôlées et au champ ont révélé une variabilité génétique, ce qui conforte le besoin de combiner différents leviers en vue d'une protection du rosier face à ses maladies foliaires.

## **Implications pratiques, recommandations, réalisations pratiques, valorisation**

### Implications pratiques :

Le Limocide, et plus particulièrement le Limocide J qui présente les mêmes caractéristiques que le Limocide (communication personnelle par le fournisseur Vivagro), est un produit déjà homologué et autorisé dans les jardins sur rosier pour la gestion de la maladie des taches noires et de l'oïdium (site e-phy). Les résultats du projet ROBIO obtenus en laboratoire, en serre et au champ confirment la protection du Limocide vis-à-vis de la maladie des taches noires, et notamment contre plusieurs souches de l'agent pathogène (essai en laboratoire). L'efficacité de ce produit a également été validée

contre l'oïdium en conditions contrôlées. Le projet a permis de démontrer son efficacité vis-à-vis d'une autre maladie, la rouille, même si celle-ci n'a pas pu être vérifiée qu'en conditions contrôlées.

### Recommandations :

La maladie des taches noires reste la maladie majoritairement présente sur le territoire national. En vue d'une protection efficace du rosier contre cette maladie (et plus généralement contre toutes maladies), il est conseillé de combiner différents leviers. La résistance génétique en est un : il est important de privilégier l'implantation des variétés les moins sensibles. Le projet a permis d'identifier une variété intéressante : La Garçonne®.

En ce qui concerne les produits de biocontrôle, leur efficacité au champ reste à confirmer. Nous avons notamment vu qu'un intervalle de 10-14 jours entre deux applications pouvait être trop long. Il pourrait être suggéré de réduire cet intervalle à 7 jours (intervalle indiqué pour le Limocide et Limocide J). Il faut également veiller à appliquer le produit dans les conditions optimales pour assurer une efficacité maximale du produit en limitant les risques de lessivage, de détérioration du produit par la chaleur. Il ne faut pas oublier que le nombre d'applications d'un produit est limité, il faut donc agir en tout début d'infection pour ne pas laisser le temps à la maladie de s'installer et que le niveau d'infestation ne soit pas trop élevé pour mettre le produit en conditions optimales.

Afin de réduire l'inoculum primaire, il est également recommandé de retirer la litière foliaire aux pieds des rosiers : les agents pathogènes peuvent survivre dans les feuilles mortes tombées au sol.

### Limites ou généralisations éventuelles des résultats :

L'efficacité des produits de biocontrôle a été testée en conditions naturelles sur différents sites géographiques présentant des caractéristiques climatiques et des pressions pathogènes variables. Cela devait permettre de juger de la stabilité de l'efficacité de ces produits sur le territoire national. L'année de l'essai au champ n'a cependant pas été favorable au développement des différentes maladies étudiées dans ce projet (taches noires, oïdium, rouille, mildiou) : seule la maladie des taches noires a été observée, et ce quel que soit le site. La protection apportée par les produits n'a donc pu être évaluée que vis-à-vis de cette maladie. Les observations au champ restent à confirmer en approfondissant les analyses de données.

### Réalisations pratiques et valorisation :

La démarche progressive proposée dans le projet ROBIO pour tester l'efficacité de produits de biocontrôle semble être validée : les produits sélectionnés suite aux essais en laboratoire ont montré une certaine efficacité sur plantes entières en serre et sembleraient être les plus prometteurs au champ. Cette démarche pourrait être envisagée pour tester d'autres produits de biocontrôle et/ou d'autres bioagresseurs.

La puce qPFD®, outil moléculaire permettant d'analyser l'expression de gènes impliqués dans différentes voies de défense, a été développée sur rosier et une demande d'extension du brevet est actuellement en cours. Ce brevet pourrait ensuite être exploité par des structures telle Vegenov pour des prestations de service.

Un pathotest permettant d'évaluer le niveau de résistance du rosier à la rouille a été élaboré par Vegenov, il pourra être proposé pour de futures prestations de service.

Un dispositif expérimental au champ a été mis en place et est maintenu sur cinq sites répartis sur le territoire national et donc présentant différentes conditions environnementales et possiblement des pressions en bioagresseurs variées. Ces dispositifs pourront être utilisés pour de futurs projets.

## Partenariats mis en place, projetés, envisagés

Ce projet, porté par l'équipe GDO (Génétique et Diversité des plantes Ornementales) de l'UMR IRHS (Institut de Recherche en Horticulture et Semences), a été développé en partenariat avec :

- d'autres équipes de l'IRHS : équipes Fungisem (Pathologies fongiques des semences), ResPom (Résistance du pommier et du poirier aux bioagresseurs) et EcoFun (Ecologie évolutive chez les champignons),
- l'Unité Expérimentale Horticole,
- Vegenov,
- la station expérimentale du CATE,
- la station ASTREDHOR Méditerranée,
- des producteurs/obteneurs de rosiers : Société Nouvelle des Pépinières et Roseraies Georges DELBARD, SCEA SIRPHE et Pépinières CHASTEL.

Les dispositifs expérimentaux au champ sont maintenus sur les cinq sites géographiques (Unité Expérimentale Horticole, CATE, ASTREDHOR Méditerranée, Société Nouvelle des Pépinières et Roseraies Georges DELBARD, SCEA SIRPHE) pour d'éventuels futurs projets (qui restent à définir).

## Pour en savoir plus (quelques références)

- Debener, T., Byrne, D.H. (2014). Disease resistance breeding in rose: Current status and potential of biotechnological tools. *Plant Science* 228, 107-117.
- Marolleau, B., Staub, J., Barrière, Q., Indiana, A., Gravouil, C., Chartier, R., Heintz, C., Devaux, M., Tharaud, M., Paulin, J.P., Dugé de Bernonville, T. and Brisset, M.N. (2013). La qPDF, un outil de criblage des SDP alias stimulateurs de défense des plantes. *Phytoma*. 664. 42-45.
- Marolleau, B., Petiteau, A., Bellanger, M.N., Sannier, M., Le Pocreau, N., Porcher, L., Paillard, S., Foucher, F., Thouroude, T., Serres-Giardi, L., *et al.* (2020). Strong differentiation within *Diplocarpon rosae* strains based on microsatellite markers and greenhouse-based inoculation protocol on *Rosa*. *Plant Pathology* 69, 1093-1107.

## Liste des opérations de valorisations issues du contrat (articles de valorisation, participation à des colloques, enseignement et formation, communication, expertises...)

|                                        |                                                                                             |
|----------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------|
| PUBLICATIONS SCIENTIFIQUES             |                                                                                             |
| Publications scientifiques parues      |                                                                                             |
| Publications scientifiques à paraître  |                                                                                             |
| Publications scientifiques prévues     | Publication sur la démarche progressive pour tester l'efficacité de produits de biocontrôle |
|                                        | Publication sur le développement de la puce qPDF® rosier                                    |
| COLLOQUES                              |                                                                                             |
| Participations passées à des colloques |                                                                                             |
| Participations futures à des colloques |                                                                                             |

|                                                    |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |
|----------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| THÈSES                                             |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |
| Thèses passées                                     |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |
| Thèses en cours                                    |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |
| ARTICLES DE VALORISATION/ VULGARISATION            |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |
| Articles de valorisation parus                     | <p>Fiche projet dans le recueil des faits marquants de l'INRAE – Département BAP (2022) : "Présentation du projet ROBIO, vers une protection intégrée contre les maladies du rosier"</p> <p>Fiche projet dans le recueil des faits marquants de l'Institut Agro Rennes-Angers (2022) : "Présentation du projet ROBIO, vers une protection intégrée contre les maladies du rosier"</p> <p>Poster - Journée Centre INRAe Pays-de-la-Loire (juin 2023) : "Présentation du projet ROBIO, vers une protection intégrée contre les maladies du rosier"</p> <p>Bulletin d'information 'Atout Fleurs' (Bulletin d'information de l'horticulture et de la pépinière méditerranéenne, n° ISSN 1148-0785, trimestriel de 52 pages) :<br/>N°132 – décembre 2023 : "Présentation du projet ROBIO, vers une protection intégrée contre les maladies du rosier"</p> |
| Articles de valorisation à paraître                |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |
| Articles de valorisation prévus                    | <p>Bulletin d'information 'Atout Fleurs' (Bulletin d'information de l'horticulture et de la pépinière méditerranéenne, n° ISSN 1148-0785) :<br/>N°135 – avril 2025 ou N°138 (octobre 2025) :<br/>"Synthèse des résultats du projet ROBIO, vers une protection intégrée contre les maladies du rosier"</p> <p>Billet de blog sur le site de Vegenov : "Synthèse des résultats du projet ROBIO, vers une protection intégrée contre les maladies du rosier"</p> <p>Article sur le développement de la puce qPDF® rosier</p>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |
| AUTRES ACTIONS VERS LES MÉDIAS                     |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |
| Actions vers les médias (interviews...) effectuées | Post sur LinkedIn Vegenov : Présentation du pathotest rosier-rouille (31/01/2025)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |
| Actions vers les médias prévues                    |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |
| ENSEIGNEMENT/ FORMATION                            |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |
| Enseignements/formations dispensés                 | Cours auprès d'étudiants M1 de l'Institut Agro Rennes-Angers dans le module d'enseignement 'De                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |

|                                      |                                                                                                             |
|--------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Enseignements/formations prévus      | la création variétale à la commercialisation : enjeux d'une filière horticole' : "Démarche du projet ROBIO" |
| EXPERTISES                           |                                                                                                             |
| Expertises menées                    |                                                                                                             |
| Expertises en cours                  |                                                                                                             |
| Expertises prévues                   |                                                                                                             |
| MÉTHODOLOGIES (GUIDES...)            |                                                                                                             |
| Méthodologies produites              | Développement de la puce qPFD® sur rosier (demande d'extension de brevet en cours)                          |
|                                      | Pathotest rosier-rouille                                                                                    |
| Méthodologies en cours d'élaboration |                                                                                                             |
| Méthodologies prévues                |                                                                                                             |
| AUTRES                               |                                                                                                             |
| Précisez...                          |                                                                                                             |

## Résumés

### ☐ Résumé court

Le contexte réglementaire (Plans Ecophyto, loi Labbé) amène à promouvoir le développement de méthodes alternatives aux produits phytopharmaceutiques conventionnels, et ce d'autant plus pour les espèces ornementales. Le projet ROBIO a étudié l'association de produits de biocontrôle avec la résistance variétale afin d'apporter une solution intégrée permettant de réduire la sensibilité du rosier aux maladies foliaires fongiques.

### ☐ Résumé long

- Contexte général et enjeux scientifiques et techniques

Le rosier est la plante ornementale la plus importante au niveau mondial. Sa qualité esthétique peut être altérée par la présence de ravageurs et maladies.

Le contexte réglementaire fixe l'objectif de réduire l'utilisation des produits phytopharmaceutiques de 50% et de leurs risques d'ici à 2030 pour les producteurs (Plans Ecophyto) ; dans la filière ornementale, un effort important doit être consenti sur des alternatives pour les gestionnaires d'espaces publics et les jardiniers amateurs pour lesquels l'utilisation de ces produits est interdite (loi Labbé).

Afin d'atteindre une protection suffisante des plantes, tout en respectant la santé humaine et l'environnement, il s'avère nécessaire de viser une protection intégrée des plantes en combinant différents leviers d'action. Le projet ROBIO s'est intéressé à l'association des produits de biocontrôle avec la résistance variétale. Il visait à évaluer l'efficacité et caractériser le mode d'action de ces produits contre les principales maladies foliaires du rosier (la maladie des taches noires, l'oïdium, le mildiou et la rouille) chez des génotypes de rosier présentant différents fonds génétiques.

- Objectifs

Le projet avait pour objectif d'évaluer l'efficacité de produits de biocontrôle, en interaction avec la résistance variétale, par une démarche progressive : les tests menés en conditions contrôlées permettaient de repérer les produits de biocontrôle présentant un "réel" potentiel de protection. Les essais sur le terrain étaient ainsi réservés à ces produits, d'où un gain de temps, d'énergie et d'argent considérable.

L'efficacité des produits de biocontrôle était testée en conditions naturelles sur différents sites géographiques (présentant des caractéristiques climatiques et des pressions pathogènes variables), ce qui permit de juger de la stabilité de l'efficacité de ces produits sur le territoire national. Les résultats obtenus pourront être communiqués aux obtenteurs, producteurs, gestionnaires des JEVI publics et privés ; ils permettront d'aider au déploiement du biocontrôle sur le terrain.

- Méthodologie

Le projet ROBIO a suivi une démarche progressive déclinée en trois opérations.

*Opération 1 : Criblage de produits de biocontrôle en laboratoire en fonction de leur mode d'action*  
Dix produits de biocontrôle ont été testés en focalisant sur les substances naturelles et les micro-organismes compte tenu des agents pathogènes visés. L'étude du mode d'action de ces produits s'est faite par : (i) l'évaluation de leurs effets directs sur les pathogènes (parasitisme, inhibition de la germination des spores), (ii) leurs capacités à stimuler les voies de défense des plantes par l'étude de l'expression de gènes (à l'aide d'une puce qPFD®, puce à Faible Densité Quantitative), en utilisant l'H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> comme agent "mimant" une attaque d'agent pathogène.

*Opération 2 : Evaluation de l'interaction biocontrôle x résistance variétale sur la gestion des pathogènes fongiques du rosier, en conditions contrôlées*

Les cinq produits de biocontrôle sélectionnés d'après les résultats de l'opération 1 ont été testés en serre. Cinq géotypes de rosier, présentant différents niveaux de résistance génétique vis-à-vis des agents pathogènes ciblés, ont été notés en conditions contrôlées.

*Opération 3 : Validation de l'interaction biocontrôle x résistance variétale sur la gestion des pathogènes fongiques du rosier, en conditions naturelles*

Les trois produits de biocontrôle ayant donné les niveaux de protection les plus intéressants en conditions contrôlées (opération 2) ont été testés en conditions naturelles. Les géotypes de rosier notés en plein champ étaient les mêmes que ceux étudiés dans l'opération 2. Ce test en conditions naturelles a été réalisé sur cinq sites expérimentaux présentant des conditions environnementales variées.

- Principaux résultats obtenus

Le projet ROBIO avait pour objectif de tester l'efficacité de produits de biocontrôle en suivant une démarche progressive qui allait de tests en laboratoire vers l'expérimentation multi-locale sur le terrain. Nous pouvons considérer que la démarche proposée a été validée : les produits sélectionnés suite aux essais en laboratoire ont montré une certaine efficacité sur plantes entières en serre et sembleraient être les plus prometteurs au champ même si ces résultats restent à vérifier.

Le projet ne recherchait pas simplement à évaluer l'efficacité de produits de biocontrôle, il y associait la résistance variétale. Les résultats obtenus en conditions contrôlées et au champ ont révélé une variabilité génétique, ce qui conforte le besoin de combiner différents leviers en vue d'une protection du rosier face à ses maladies foliaires.

- Sorties opérationnelles pour décideurs, applications éventuelles

Le Limocide et le Limocide J (autorisé dans les jardins) sont des produits déjà homologués sur rosier pour la gestion de la maladie des taches noires et de l'oïdium. Les résultats du projet ROBIO obtenus en laboratoire, en serre et au champ confirment la protection du Limocide vis-à-vis de la maladie des taches noires. L'efficacité de ce produit a également été validée contre l'oïdium en conditions contrôlées. Le projet a aussi permis de démontrer son efficacité vis-à-vis d'une autre maladie, la rouille, même si celle-ci n'a pas pu être vérifiée qu'en conditions contrôlées.

- Recommandations

La maladie des taches noires reste la maladie majoritairement présente sur le territoire national. En vue d'une protection efficace du rosier contre cette maladie (et plus généralement contre toutes maladies), il est conseillé de combiner différents leviers. La résistance génétique en est un : il est important de privilégier l'implantation des variétés les moins sensibles. Le projet a permis d'identifier une variété intéressante : La Garçonne®.

En ce qui concerne les produits de biocontrôle, leur efficacité au champ reste à confirmer. Nous avons notamment vu qu'un intervalle de 10-14 jours entre deux applications pouvait être trop long. Il pourrait être suggéré de réduire cet intervalle à 7 jours (intervalle indiqué pour le Limocide et Limocide J). Il faut également veiller à appliquer le produit dans les conditions optimales pour assurer une efficacité maximale du produit en limitant les risques de lessivage, de détérioration du produit par la chaleur. Il ne faut pas oublier que le nombre d'applications d'un produit est limité, il faut donc agir en tout début d'infection pour ne pas laisser le temps à la maladie de s'installer.

Afin de réduire l'inoculum primaire, il est également recommandé de retirer la litière foliaire aux pieds des rosiers : les agents pathogènes peuvent survivre dans les feuilles mortes tombées au sol.

Mots-clés : rosier, taches noires, oïdium, rouille, mildiou, biocontrôle, résistance génétique

## RAPPORT SCIENTIFIQUE

### ROBIO

## Vers une protection intégrée du ROsier contre les maladies foliaires fongiques : BIOcontrôle et résistance variétale

« Plan Ecophyto II+ – Volet 1 Appel à projets national 2020 – 2021 »

### *Rapport final*

***Soufflet-Freslon V., Monot C., Didelot F., Coutant J., Mary L.,  
De Lagarde M., Riou M.***

*09/02/2025*

**Organisme chef de file :** INRAE – UMR IRHS (Institut de Recherche en Horticulture et Semences), 42  
Rue Georges Morel – 49070 BEAUCOUZE

**Cheffe de projet :** Vanessa SOUFFLET-FRESLON, [vanessa.soufflet-freslon@institut-agro.fr](mailto:vanessa.soufflet-freslon@institut-agro.fr)

**Partenaires du projet :**



Action pilotée par les Ministères chargés de la Transition Ecologique et de la Cohésion des Territoires (MTECT), de l'Agriculture et de la Souveraineté Alimentaire (MASA), du Travail, de la Santé et des Solidarités (MTSS), et de la l'Enseignement Supérieur et de la Recherche (MESR), avec l'appui financier de l'Office Français pour la Biodiversité (OFB), par les crédits issus de la redevance pour pollutions diffuses attribués au plan Écophyto II+

## CONTEXTE

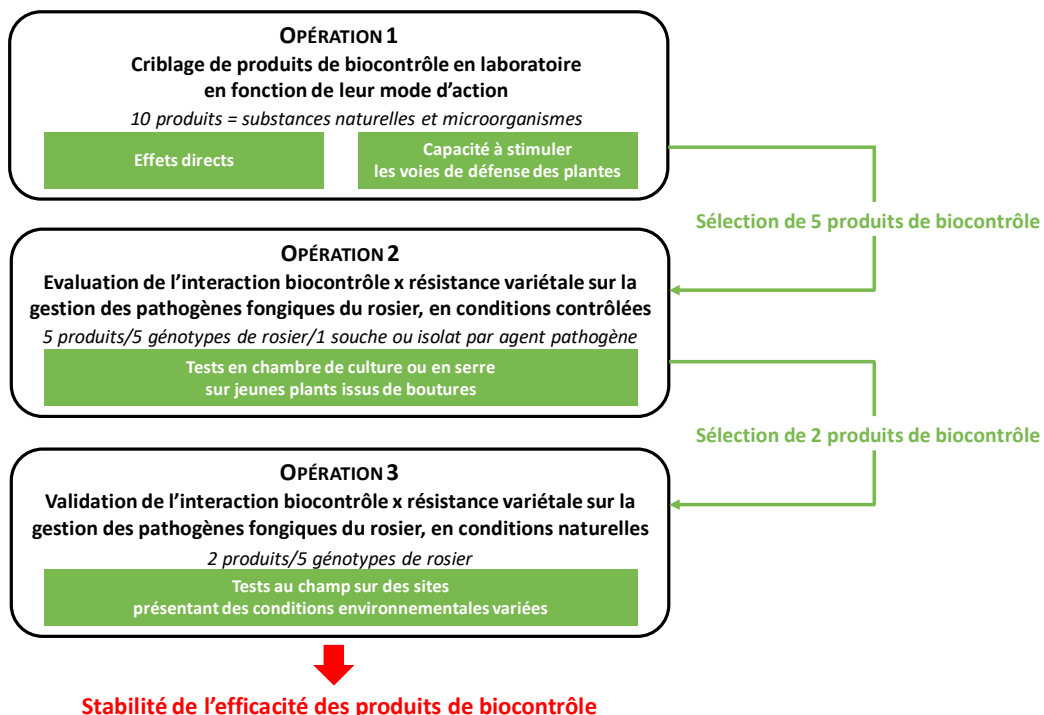
La rose est la culture ornementale la plus importante au niveau mondial. L'industrie de la rose a un poids économique mondial évalué à 10 millions de dollars (Debener & Byrne, 2014). Pour les plantes ornementales, l'aspect esthétique est un critère de qualité majeur. Cette qualité esthétique peut être diminuée par les dégâts causés par les bioagresseurs, notamment des champignons. Les principaux pathogènes fongiques rencontrés chez le rosier sont : *Diplocarpon rosae* (maladie des taches noires), *Podosphaera pannosa* (oïdium), *Peronospora sparsa* (mildiou) et *Phragmidium mucronatum* (rouille). Ces maladies foliaires sont observées tant chez les producteurs que dans les aménagements paysagers publics ou privés.

Les pathogènes fongiques, comme les autres bioagresseurs, ont longtemps été maîtrisés grâce aux pesticides de synthèse. Or la réduction de l'usage des produits phytopharmaceutiques constitue une attente citoyenne forte et une nécessité pour préserver la santé humaine et la biodiversité. Le contexte réglementaire (Plans Ecophyto) fixe l'objectif de réduire l'utilisation des produits phytopharmaceutiques de 50% et de leurs risques d'ici à 2030 pour les producteurs. Dans la filière ornementale, un effort important doit être consenti sur des alternatives pour les gestionnaires d'espaces publics et les jardiniers amateurs pour lesquels l'utilisation de ces produits est interdite (loi Labbé, amendée par la loi relative à la transition énergétique pour la croissance verte).

Parmi les méthodes alternatives possibles, le recours au biocontrôle ouvre de nouvelles perspectives. Le biocontrôle est un ensemble de méthodes de protection des végétaux basées sur l'utilisation d'organismes vivants ou de substances naturelles. De nombreux travaux de recherche sur le biocontrôle pour lutter contre les maladies cryptogamiques foliaires ont été menés dans les filières des grandes cultures, de la viticulture, de l'arboriculture fruitière et du maraîchage alors qu'il existe encore peu de recherches en horticulture ornementale, et notamment pour les plantes pérennes comme le rosier. Même si l'horticulture ornementale représente une faible part de l'agriculture (environ 2% des surfaces agricoles utiles), les jardins/terrasses privés et les espaces verts publics représentent, quant à eux, une surface d'environ 1,15 millions d'ha (<https://www.valhor.fr/>). Dans ce contexte, il est indispensable de maîtriser, de certifier, de contrôler les produits qui seront mis sur le marché tant pour leur efficacité que pour leur impact agro-écologique.

La majorité des produits de biocontrôle apporte généralement une efficacité de protection inférieure aux produits phytosanitaires conventionnels. Elle est par ailleurs souvent instable sur le terrain. Il est alors nécessaire d'identifier les conditions d'utilisation de ces produits favorisant à la fois leur efficacité et leur stabilité. L'interaction entre la génétique de la plante et l'application de produits de biocontrôle doit notamment être prise en compte. Des projets collaboratifs ont déjà démontré un effet de la résistance variétale sur l'efficacité des produits, c'est le cas du projet ONEMA DEFILeg (2010-2013), porté par le CTIFL, sur le mildiou de la laitue et l'oïdium du melon.

Afin d'atteindre une protection suffisante des plantes, tout en respectant la santé humaine et l'environnement, il s'avère nécessaire de viser une protection intégrée des plantes en combinant différentes solutions de lutte. Le projet proposé ici s'est intéressé à l'**association des produits de biocontrôle/substances de base avec la résistance variétale**. Il visait à caractériser le mode d'action de ces produits contre les principales maladies foliaires du **rosier** que sont **la maladie des taches noires, l'oïdium, le mildiou et la rouille**, et à en évaluer l'efficacité en interaction avec la résistance variétale. Pour ce faire, l'évaluation de l'efficacité des produits a suivi une démarche progressive (figure 1). Après un premier criblage des produits en laboratoire, les tests menés en conditions contrôlées ont permis de repérer les produits présentant un "réel" potentiel de protection. Les essais sur le terrain ont ainsi été réservés à ces produits, d'où un gain de temps, d'énergie et d'argent considérable.



**Figure 1.** Représentation de la démarche progressive mise en place dans le projet ROBIO.

## **OPERATION 1 : CRIBLAGE DE PRODUITS DE BIOCONTROLE/SUBSTANCES DE BASE EN LABORATOIRE EN FONCTION DE LEUR MODE D'ACTION**

L'objectif de cette première opération consistait à sélectionner des produits de biocontrôle ou substances de base en fonction de leur mode d'action.

### **1- Choix des 10 produits à tester**

L'une des premières étapes a consisté à sélectionner les 10 produits de biocontrôle ou substances de base. Ce choix s'est basé sur les critères présentés ci-dessous :

- Parmi les produits de biocontrôle, les micro-organismes et substances naturelles ont été privilégiés compte tenu des agents pathogènes ciblés dans le projet.
- Outre des produits de biocontrôle, des substances de base ont également été retenues car l'utilisation de ces substances est possible après l'acceptation d'une extension d'usage (une autorisation de mise sur le marché n'est pas demandée), ce qui permet une mise sur le marché plus rapide pour les utilisateurs.
- Une large gamme de substances actives a été considérée étant donné qu'il s'agissait ici du premier projet étudiant l'usage de produits de biocontrôle/substances de base sur rosier.
- Le choix s'est porté sur des produits homologués ou des produits en cours de développement, notamment pour la raison évoquée précédemment. Compte tenu de la réglementation en vigueur dans les JEVI (Jardins, Espaces Végétalisés et Infrastructures), les produits homologués retenus devaient être *a minima* inscrits sur la liste des produits de biocontrôle voire présenter la mention "emploi autorisé dans les jardins". De plus, des produits déjà homologués sur rosier ou plus largement sur plantes ornementales ont été privilégiés afin qu'ils puissent rapidement, après le projet, être proposés aux gestionnaires des JEVI s'ils s'avéraient être efficaces envers les quatre agents pathogènes. Quant aux produits en cours de développement, le choix s'est porté sur des produits ayant montré des résultats prometteurs sur d'autres pathosystèmes, et pour lesquels une étude toxicologique avait été menée.

- Les différents modes d'action des produits (stimulation des défenses de la plante, action directe sur l'agent pathogène...) ont été considérés afin de cibler différentes étapes du cycle des agents pathogènes.

- La disponibilité des produits a également été prise en compte.

A ces 10 produits ont été ajoutés deux témoins positifs (Bion et Méthyljasmonate) et un témoin négatif (eau). L'ensemble des produits retenus est listé dans le tableau 1.

**Tableau 1.** Liste des produits retenus.

|                                                                                                                    | microorganisme ou dérivé                                               |                                                                                                                                                                                                                                                                           |                                                                                                                                                                                                                        |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                                                                                                                    | oligosaccharide                                                        |                                                                                                                                                                                                                                                                           |                                                                                                                                                                                                                        |
|                                                                                                                    | origine minérale                                                       |                                                                                                                                                                                                                                                                           |                                                                                                                                                                                                                        |
|                                                                                                                    | origine végétale                                                       |                                                                                                                                                                                                                                                                           |                                                                                                                                                                                                                        |
| Nom commercial (fabricant)                                                                                         | Substance active                                                       | Mode d'action                                                                                                                                                                                                                                                             | Usages                                                                                                                                                                                                                 |
| Limocide (Vivagro)<br>            | huile essentielle d'orange                                             | Agit par contact sur les foyers récents (oïdium, mildiou) en imprégnant les organes externes du champignon (mycélium et sporanges) causant leur déshydratation (par destruction des phospholipides des parois cellulaires des champignons).                               | Rosier/Oïdium ( <i>et Taches noires pour Limocide J</i> )<br>+ autres pathosystèmes                                                                                                                                    |
| Soriale (BASF France SAS)<br>     | phosphonates de potassium                                              | Systémique et stimulateur des défenses des plantes.<br>Combine une action directe et indirecte sur les champignons                                                                                                                                                        | Pommier/Tavelure                                                                                                                                                                                                       |
| Fytosave (Fytofend, Belgique)<br> | COS-OGA (= ChitoOlygoSaccharides et OligoGAlacturonides)               | SDP, type éliciteur                                                                                                                                                                                                                                                       | Cultures ornementales<br>Vigne                                                                                                                                                                                         |
| Triatum-P (Koppert)<br>           | <i>Trichoderma harzianum</i><br><i>Rifai strains T-22 and ITEM-908</i> | Parasite de champignons (les hyphes voire les spores parfois), occupe la niche écologique (sol et partie aérienne), fait antibiose à distance<br>Effet SDP pour certaines souches                                                                                         | Cultures ornementales                                                                                                                                                                                                  |
| GI22F2MP18 (Green Impulse), en développement                                                                       | alcaloïdes et xanthones d'origine végétale                             | Techno Sensitives®MEX. Produit type ARPI (Adaptative Response Pathway Inhibitor) = Sensitine<br>Molécules d'origine naturelle qui handicapent le pathogène pour se protéger contre les défenses de la plante, elles sensibilisent le champignon aux défenses de la plante | Efficace sur chou/ <i>Botrytis cinerea</i> et <i>Alternaria brassicicola</i> (plus actif sur <i>Alternaria</i> que sur <i>Botrytis</i> )<br>Intéressant sur vigne/mildiou vigne, beaucoup moins pomme de terre/mildiou |
| GI22ELA01 (Green Impulse), en développement = substance de base                                                    | chlorhydrate de chitosan                                               | Effet éliciteur et fongistatique                                                                                                                                                                                                                                          | Vigne, pomme de terre, laitue/Mildiou<br>Pommier/Tavelure                                                                                                                                                              |
| Complexe Phyta Natura V25 (Herbovital) = substance de base                                                         | macérations hydro-alcooliques dans huiles essentielles                 | Agit par contact contre les champignons de surface                                                                                                                                                                                                                        | Vigne/Mildiou, oïdium                                                                                                                                                                                                  |
| Infusion d'écorces d'osier <i>Salix spp. cortex</i> = substance de base                                            | fragments d'écorces sèches de <i>Salix spp cortex</i>                  | Hautement concentrée en principes actifs (acide salicylique, polyphénols, etc), l'infusion d'écorces d'osier permet de stimuler les défenses naturelles des plantes                                                                                                       | Vigne/Mildiou et oïdium<br>Pommier/Tavelure et oïdium                                                                                                                                                                  |
| SD (Mendinbio, Belgique) = PNPP                                                                                    | saule, prêle, ortie                                                    | Élicitation (préventif)                                                                                                                                                                                                                                                   | Efficace sur Vigne /Mildiou et Fraise/Oïdium (en laboratoire et sur terrain)                                                                                                                                           |
| CL (Mendinbio, Belgique) = PNPP                                                                                    | Prêle, ajowan, giroflier, cannellier                                   | Antigerminatif<br>Résultats les plus probants :<br>Sur plante : en co-inoculation du pathogène ou très rapidement après l'inoculation<br>Boîte de Pétri : en mélange du milieu de culture (après la stérilisation)                                                        | Efficace sur Vigne /Mildiou et Fraise/Oïdium (en laboratoire et sur terrain)                                                                                                                                           |
| Bion                                                                                                               | Témoin positif                                                         | SDP (voie de l'acide salicylique)                                                                                                                                                                                                                                         |                                                                                                                                                                                                                        |
| Méthyl jasmonate                                                                                                   | Témoin positif                                                         | SDP (voie de l'acide jamonique)                                                                                                                                                                                                                                           |                                                                                                                                                                                                                        |

## 2- Etude du mode d'action des produits

L'action des produits a été évaluée par : (i) leurs effets directs sur les pathogènes (antibiose, compétition spatiale et nutritive, parasitisme, inhibition de la germination des spores), (ii) leurs capacités à stimuler les voies de défense des plantes par l'étude de l'expression de gènes (développement d'une puce qPFD®, puce à Faible Densité Quantitative).

### 2-1- Evaluation des effets directs sur les agents pathogènes

#### 2-1-1- *Diplocarpon rosae*, agent responsable de la maladie des taches noires

##### a) Matériels et méthodes

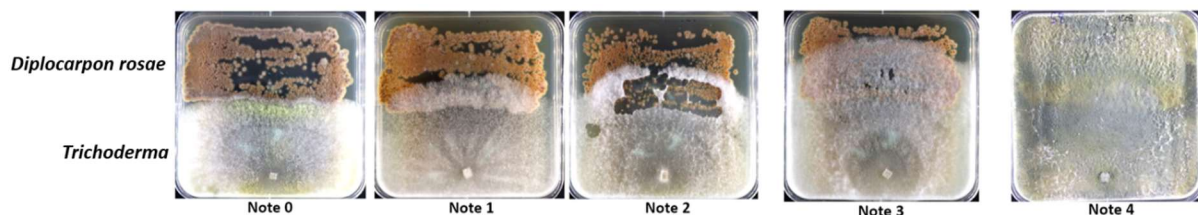
##### *Souches de Diplocarpon rosae*

Dans le cadre d'un projet antérieur (projet CASDAR Belarosa, 2015-2016), l'équipe GDO-IRHS avait constitué, en collaboration avec l'équipe EcoFun-IRHS, une collection de 77 souches monosporées de *Diplocarpon rosae* regroupant 50 souches échantillonnées sur des rosiers cultivés eurasiens et 27 souches sur des rosiers sauvages kazakhs (Soufflet-Freslon et al., 2019, Marolleau et al., 2020). Le niveau d'agressivité de 10 souches avait été caractérisé envers un panel de rosiers. Pour l'évaluation des effets directs des produits, trois souches, ainsi connues pour montrer différents niveaux d'agressivité, ont été testées : Di-FRA33, Di-FRA58 (deux souches fortement agressives envers des génotypes sensibles et résistants) et Di-FRA67 (souche discriminante entre génotypes résistants et génotypes sensibles). Ces trois souches ont été utilisées pour étudier *in vitro* les effets antagoniste et antifongique des produits.

##### *Etude in vitro de l'effet antagoniste*

L'activité antagoniste des souches de *Trichoderma sp.* vis-à-vis des souches monosporées de *Diplocarpon rosae* a été étudiée *in vitro* selon la technique de confrontation. *Trichoderma* est connu comme agent biologique pour lutter contre des agents pathogènes telluriques mais également aériens (Srivastava et al., 2013 ; Pascouau et al., 2023 ; Tun Nisa et al., 2023 ; Chateau et al., 2024 ; Gouit et al., 2024).

A partir d'une même culture d'une souche donnée de *D. rosae*, 100µl d'une suspension de 10<sup>4</sup> conidies/ml ont été étalés sur trois boîtes de Petri avec milieu PDA (Potato Dextrose Agar). Ces boîtes ont ensuite été conservées à 22°C à l'obscurité. Quinze jours après repiquage de *D. rosae*, une même souche de *Trichoderma* a été repiquée dans chacune des trois boîtes. La lecture s'est faite 15 jours après le début de la confrontation selon l'échelle de notation présentée sur la figure 2. Les trois boîtes constituaient des répliques techniques. La confrontation entre un couple donné souche de *D. rosae*/souche de *Trichoderma sp.* a été expérimentée trois fois à partir de cultures différentes de chacun des deux champignons (= trois répliques biologiques).



**Figure 2.** Echelle de notation du parasitisme de *Trichoderma* vis-à-vis de *Diplocarpon rosae* (source : IRHS).

Neuf souches de *Trichoderma sp.*, appartenant à trois espèces différentes (*T. atroviride*, *T. harzianum* et *T. koningiopsis*) ont été testées. A la souche commerciale *Trichoderma harzianum* T22 (produit Trianum-P® Koppert), ont été ajoutées une autre souche commerciale, *Trichoderma atroviride* I1237 (produit Tri-Soil® Agrauxine) et huit souches à l'étude par l'équipe FungiSem-IRHS (tableau 2).

**Tableau 2.** Liste des souches de *Trichoderma sp.* testées pour le test de confrontation avec *Diplocarpon rosae* (source : IRHS).

| Espèce                          | Code    | Lieu Origine | Hôte Origine         |
|---------------------------------|---------|--------------|----------------------|
| <i>Trichoderma atroviride</i>   | 912     | La Tara      | Sédiments de surface |
| <i>Trichoderma atroviride</i>   | 1295    | La Couplasse | Sédiments de surface |
| <i>Trichoderma atroviride</i>   | 1508    | Bonne Anse   | Moules               |
| <i>Trichoderma atroviride</i>   | I1237   | Agrauxine    | Tri-Soil®            |
| <i>Trichoderma harzianum</i>    | 1520    | Bonne Anse   | Moules               |
| <i>Trichoderma harzianum</i>    | 1255    | Port du Bec  | Sédiments de surface |
| <i>Trichoderma harzianum</i>    | 918     | Le Croisic   | Sédiments de surface |
| <i>Trichoderma harzianum</i>    | T22     | Koppert      | Trianum®             |
| <i>Trichoderma koningiopsis</i> | TRI-006 | Vix          | Sol Vitis vinifera   |

#### *Etude in vitro de l'effet antifongique*

L'activité antifongique des produits a été recherchée *in vitro* sur milieu PDA. Pour cela, chaque produit a été préparé à la dose recommandée par le fournisseur. A cette solution, a été ajoutée une suspension conidiale de *D. rosae* à 10<sup>3</sup> conidies/ml. Ce "mélange produit + *D. rosae*" a été réparti et étalé dans trois boîtes de Petri avec milieu PDA (= trois répliques techniques). Ces boîtes ont ensuite été conservées à 22°C à l'obscurité. Quinze jours après étalement, 100 conidies ont été observées au microscope et un pourcentage de germination a alors pu être déterminé. L'ensemble de ces opérations a été réalisé à trois dates différentes (= trois répliques biologiques).

Neuf produits candidats et les témoins (tableau 3) ont ainsi été testés.

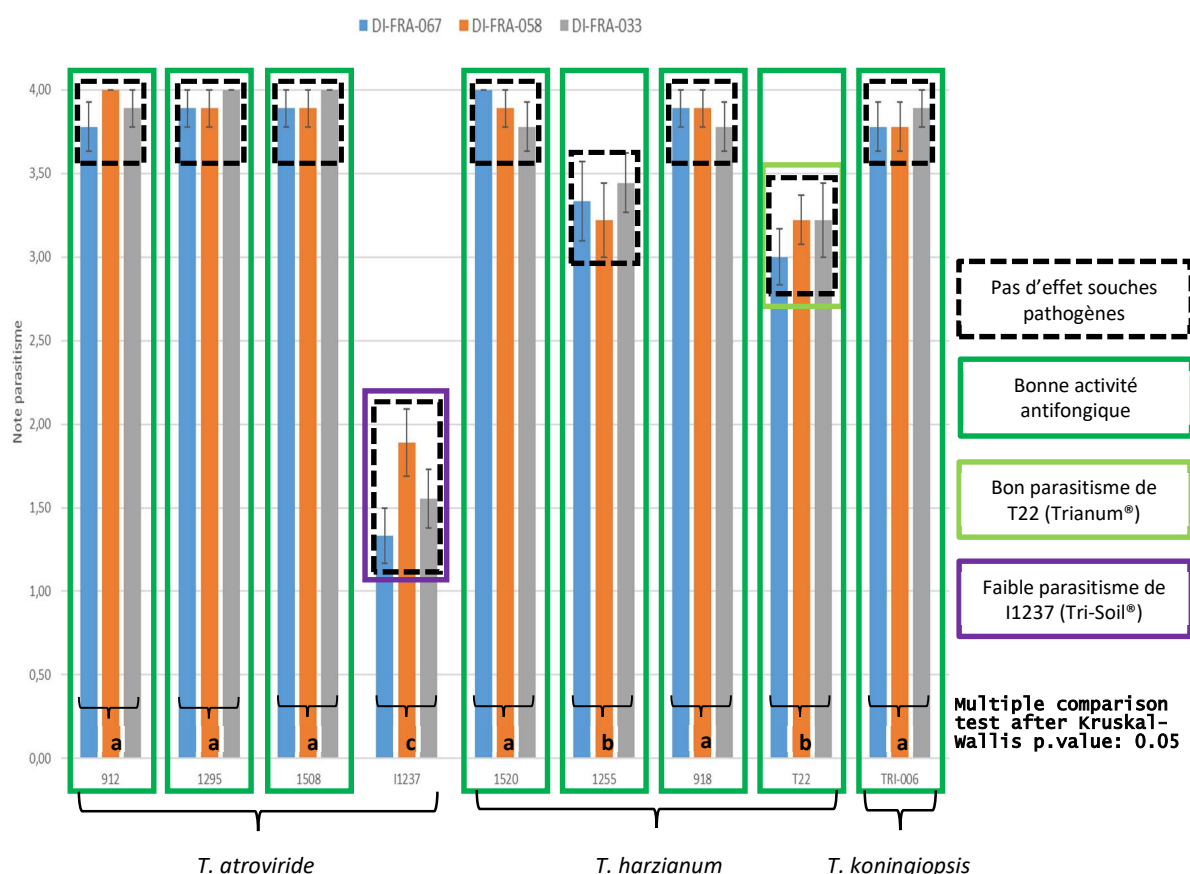
**Tableau 3.** Liste des produits et témoins testés pour l'étude *in vitro* de l'effet antifongique.

| Code  | Nom commercial                                      | Fournisseur           | Substance active                                          |
|-------|-----------------------------------------------------|-----------------------|-----------------------------------------------------------|
| PPP1  | Limocide                                            | Vivagro, France       | huile essentielle d'orange                                |
| PPP2  | Sorale                                              | BASF, France          | phosphonates de potassium<br>COS-OGA (=                   |
| PPP3  | Fytosave                                            | Fytofend, Belgique    | ChitoOlygoSaccharides et<br>OligoGAlacturonides)          |
| PPP5  | GI22F2MP18                                          | Green Impulse, France | alcaloïdes et xanthones d'origine<br>végétale             |
| PPP6  | GI22ELA01                                           | Green Impulse, France | chlorhydrate de chitosan                                  |
| PPP7  | Complexe Phyta Natura V25                           | Herbovital, France    | macérations hydro-alcooliques<br>dans huiles essentielles |
| PPP8  | Infusion d'écorces d'osier <i>Salix spp. cortex</i> | Biovitis, France      | fragments d'écorces sèches de<br><i>Salix spp cortex</i>  |
| PPP9  | SD                                                  | Mendinbio, Belgique   | saule, prêle, ortie                                       |
| PPP10 | CL                                                  | Mendinbio, Belgique   | prêle, ajowan, giroflier, cannellier                      |
| PPP11 | Bion                                                |                       | témoin positif                                            |
| PPP12 | Méthyl jasmonate                                    |                       | témoin positif                                            |

## b) Résultats

### Etude in vitro de l'effet antagoniste

Les résultats de l'étude de l'effet antagoniste du genre *Trichoderma* sp. sont représentés sur la figure 3.



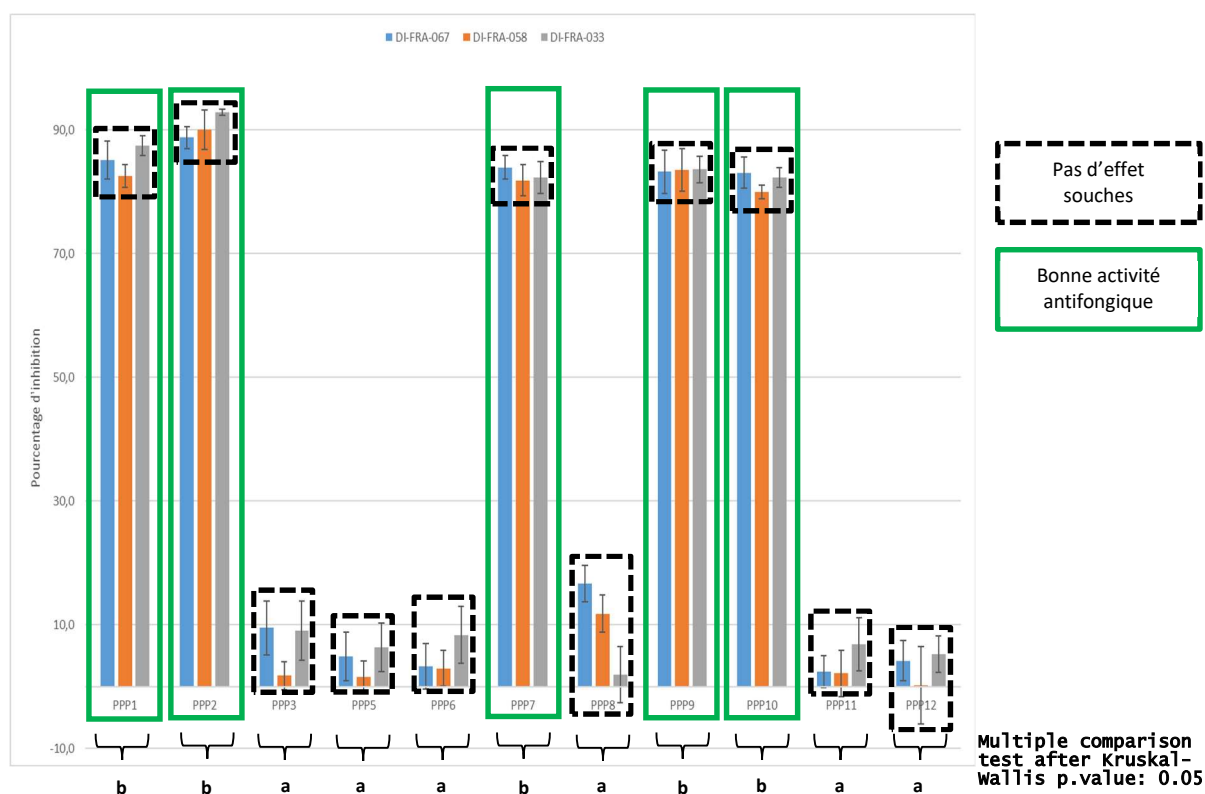
**Figure 3.** Notes de parasitisme de neuf souches de *Trichoderma* sp. vis-à-vis de trois souches de *Diplocarpon rosae*.

*Trichoderma* sp. a agi par un phénomène de parasitisme (Pascouau et al., 2023 ; Chateau et al., 2024) sur *D. rosae*.

Pour chacune des souches de *Trichoderma* sp., le taux de parasitisme était similaire pour les trois souches pathogènes de *D. rosae* : il n'y avait pas d'effet "souche pathogène". De plus, cet effet de parasitisme était fort pour la quasi-totalité des souches de *Trichoderma* sp. testées. L'antagonisme de *Trichoderma* sp. n'était pas espèce dépendante car des souches des trois espèces *T. atroviride*, *T. harzianum* et *T. koningiopsis* parasitaient de façon similaire *D. rosae*. En revanche, les souches au sein d'une même espèce de *Trichoderma* n'avaient pas la même capacité à parasiter *D. rosae*. La souche de *Trichoderma harzianum* T22 (produit commercial Trianium-P® Koppert sélectionné pour le projet) montrait un taux de parasitisme satisfaisant (notes  $\geq 3$ ), ce qui n'était pas le cas pour l'autre produit commercial Tri-Soil® Agrauxine.

## Etude in vitro de l'effet antifongique

Les résultats de l'étude de l'effet antifongique des produits sont représentés sur la figure 4.



**Figure 4.** Pourcentage d'inhibition de la germination des conidies de trois souches de *Diplocarpon rosae* après traitement avec différents produits de biocontrôle/substances de base.

Cinq produits ont montré une efficacité satisfaisante (pourcentage d'inhibition  $\geq 80\%$ ) : Limocide (huile essentielle d'orange ; PPP1), Soriale (phosphonates de potassium ; PPP2), Complexe Phyta Natura V25 (macérations hydro-alcooliques dans huiles essentielles ; PPP7), SD (saule, prêle, ortie ; PPP9) et CL (prêle, ajowan, giroflier, cannellier ; PPP10). De plus, pour chacun de ces produits, le pourcentage d'inhibition de germination des spores était similaire pour les trois souches pathogènes de *D. rosae*, il n'y avait donc pas d'effet "souche pathogène".

### 2-1-2- *Podosphaera pannosa*, agent responsable de l'oïdium

#### a) Matériels et méthodes

##### Isolat de *Podosphaera pannosa*

*Podosphaera pannosa* est un pathogène obligatoire, il est donc nécessaire de prévoir des plantes hôtes sensibles pour son maintien. Pour ce faire, Vegenov disposait d'une variété sensible à l'oïdium, 'Mariana', maintenue *in vitro*. Des sevrages de plantes ont été réalisés pour acclimater et multiplier ces plantes en salle de culture.

Une plante contaminée a été achetée en jardinerie et a servi de source d'inoculum pour la contamination de jeunes plantes de la variété 'Mariana'. Celles-ci ont été placées en serre chauffée. La ventilation et une humidité au pied entretenue par des nappes d'irrigation ont permis un bon

développement de l'oïdium sur ces plantes de maintien. Le travail a ensuite été réalisé à partir de cet isolat.

#### *Etude in vitro de l'effet sur la germination des spores*

L'étude de l'effet direct des produits sur des pathogènes obligatoires peut être faite en mesurant le taux de germination des spores du pathogène sur boîte de Petri. Le taux d'inhibition de cette germination par un produit peut être calculé par rapport à un témoin non traité (eau). Cette méthodologie n'est en revanche pas adaptée à des produits à base de micro-organismes tel le produit Triatum-P® Koppert (*Trichoderma harzianum* T22).

Les spores d'oïdium sont hydrophobes et n'apprécient pas être maintenues dans une solution à base d'eau. Cependant il est tout à fait possible de réaliser des tests d'effet direct ou des inoculations via une suspension de spores dans de l'eau avec un temps d'application relativement court entre la mise en suspension des spores dans l'eau et l'application sur un support (feuilles ou milieu de culture). Cette méthode est utilisée en routine au laboratoire de Vegenov pour les couples tomate-oïdium, melon-oïdium, courgette-oïdium.

Trois essais de germination des spores de *Podosphaera pannosa* en boîte de Petri ont été réalisés, sans produit. Pour chaque essai, une suspension de spores a été préparée et calibrée à 50 000 sp/ml. 250µL ont été étalés par boîte de Petri (sur un milieu composé d'eau gélosée à 8 g/L). Quatre comptages ont été effectués par boîte de Petri, un sur chaque quartile de la boîte de Petri. Le nombre de spores germées et non germées a été comptabilisé. Trois répétitions d'une boîte de Petri ont été réalisées par modalité.

Le pourcentage de germination a été calculé :

$$\frac{\text{nombre de spores germées}}{(\text{nombre de spores germées} + \text{nombre de spores non germées})} * 100$$

Pour évaluer l'effet d'un produit sur la germination des spores, le produit à sa dose \*2 a été mélangé V/V avec la suspension de spores. Ce mélange a été étalé sur des boîtes de Petri et mis à incuber 24h à 20°C à l'obscurité. Le comptage a été effectué comme décrit ci-dessus.

Le taux d'inhibition de la germination d'un produit a alors été calculé par rapport au témoin eau :

$$\frac{(\% \text{ de germination de l'eau} - \% \text{ de germination du produit})}{\% \text{ de germination de l'eau}} * 100$$

#### b) Résultats

#### *Etude in vitro de l'effet sur la germination des spores*

Les taux de germination obtenus lors des trois essais avec l'eau ont été seulement de 10 à 20%. Ce taux n'est pas suffisant pour pouvoir conclure sur l'effet direct des produits sur l'inhibition de la germination des spores d'oïdium. Pour ne pas retarder l'avancement du projet, il a alors été décidé d'évaluer les produits directement sur plantes entières en serre (un pathotest pour l'oïdium était déjà maîtrisé en interne par Vegenov). En parallèle, de nouvelles tentatives d'essais *in vitro* ont été menées, en faisant varier les conditions de température et d'humidité, mais sans succès.

### Etude sur plantes entières (génotype sensible 'Old Blush')

Il était initialement prévu de réaliser les essais plantes entières sur la variété sensible 'Mariana'. Or Vegenov a rencontré des soucis sanitaires (pucerons, thrips, acariens et oïdium). Plusieurs traitements curatifs ont été appliqués pour tenter d'assainir les plantes mais sans succès. Fin 2022, il a donc été décidé de repartir de nouvelles boutures transmises par l'IRHS et de faire les essais sur la variété *R. chinensis* 'Old Blush', également sensible à l'oïdium.

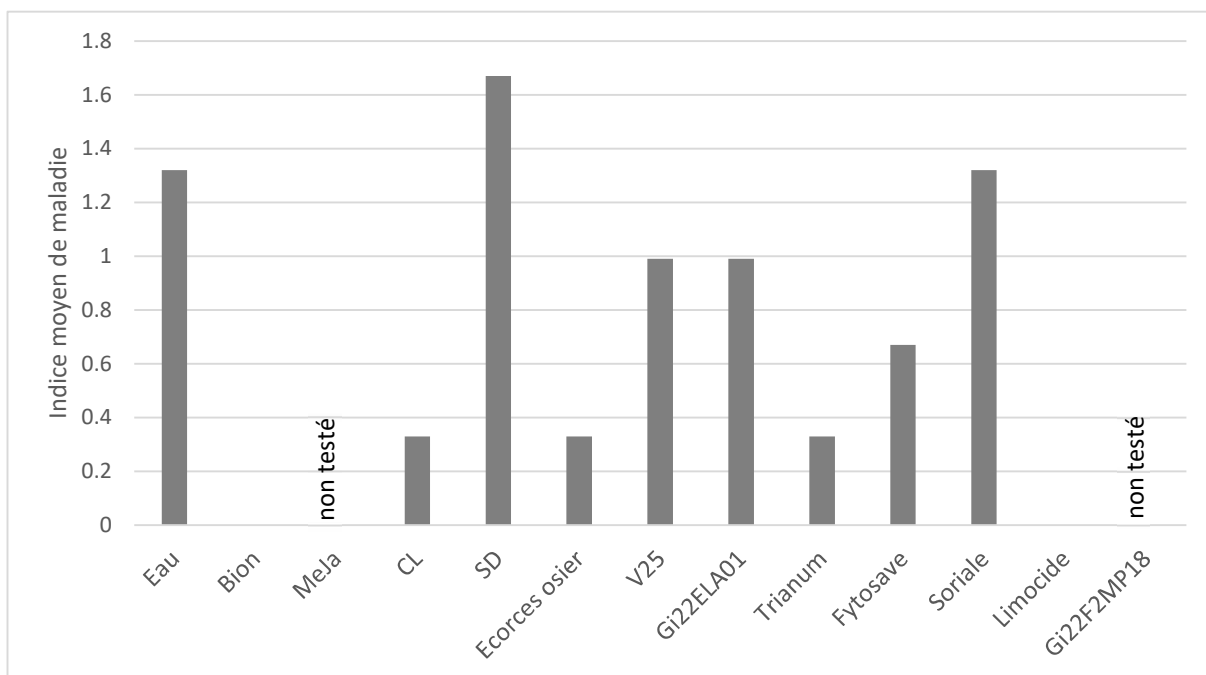
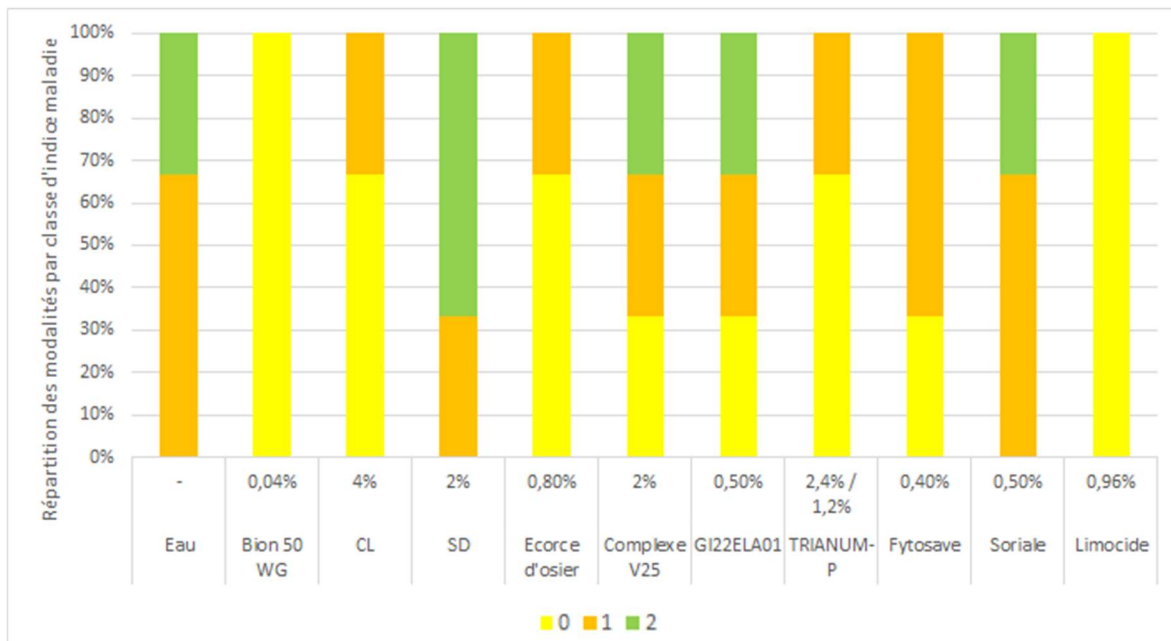
Les essais ont été conduits en conditions semi-contrôlées sur de jeunes plants issus de boutures âgés de 4 à 8 semaines. Les jeunes plants ont été traités par vaporisation foliaire 7 et 2 jours avant l'inoculation. L'inoculation a été réalisée par vaporisation d'une suspension de spores fraîches calibrée à  $10^5$  spores/ml. Les plants ont été maintenus à une température de 20-22°C minimum et sous hygrométrie supérieure à 80%. Les symptômes ont été notés entre 10 et 24 jours après inoculation, selon l'échelle de notation de 0 à 6 décrite dans le tableau 4.

**Tableau 4.** Echelle de notation de l'oïdium sur rosier, en conditions contrôlées (source : Vegenov).

| Note | Descriptif                                                                                                                                         |
|------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 0    | Aucun symptôme                                                                                                                                     |
| 1    | Infection localisée : 1 ou 2 petit(s) symptôme(s) sur une foliole                                                                                  |
| 2    | Faible sporulation sur une ou deux feuilles, surface touchée inférieure à 10% du feuillage total                                                   |
| 3    | Sporulation moyenne sur plusieurs folioles/feuilles, représentant une surface touchée de 10 à 50% du feuillage total                               |
| 4    | Forte sporulation sur une ou plusieurs feuilles, ou sporulation moyenne sur de nombreuses feuilles représentant 50 à 75% du feuillage total        |
| 5    | Forte à très forte sporulation, touchant de nombreuses feuilles, supérieure à 50% du feuillage ou sporulation moyenne sur plus de 75% du feuillage |
| 6    | Forte à très forte sporulation, touchant la totalité de la plante                                                                                  |

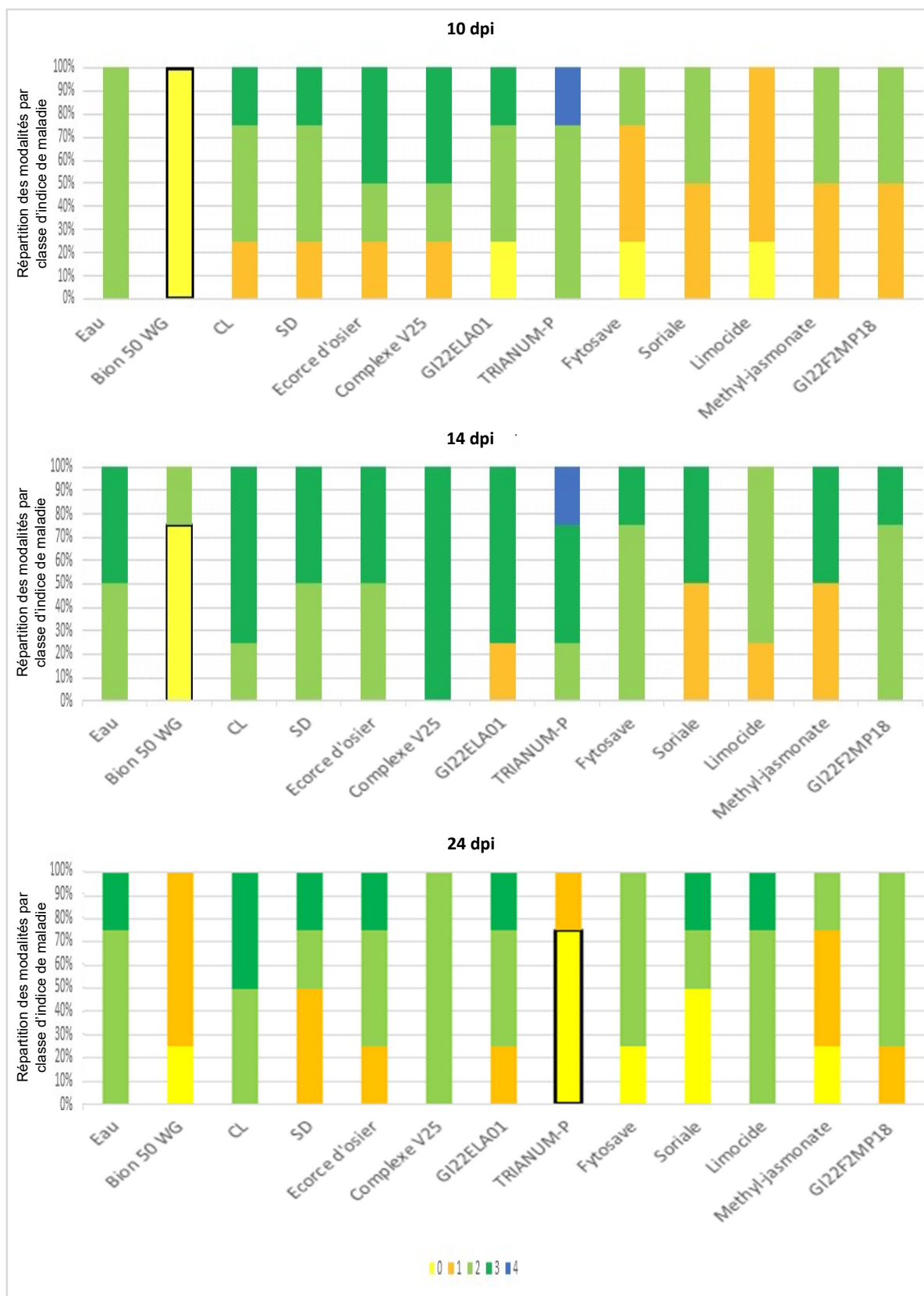
Deux essais ont été menés au cours du projet (février 2023 et avril 2023). Les résultats de ces essais sont représentés sur les figures 5 et 6.

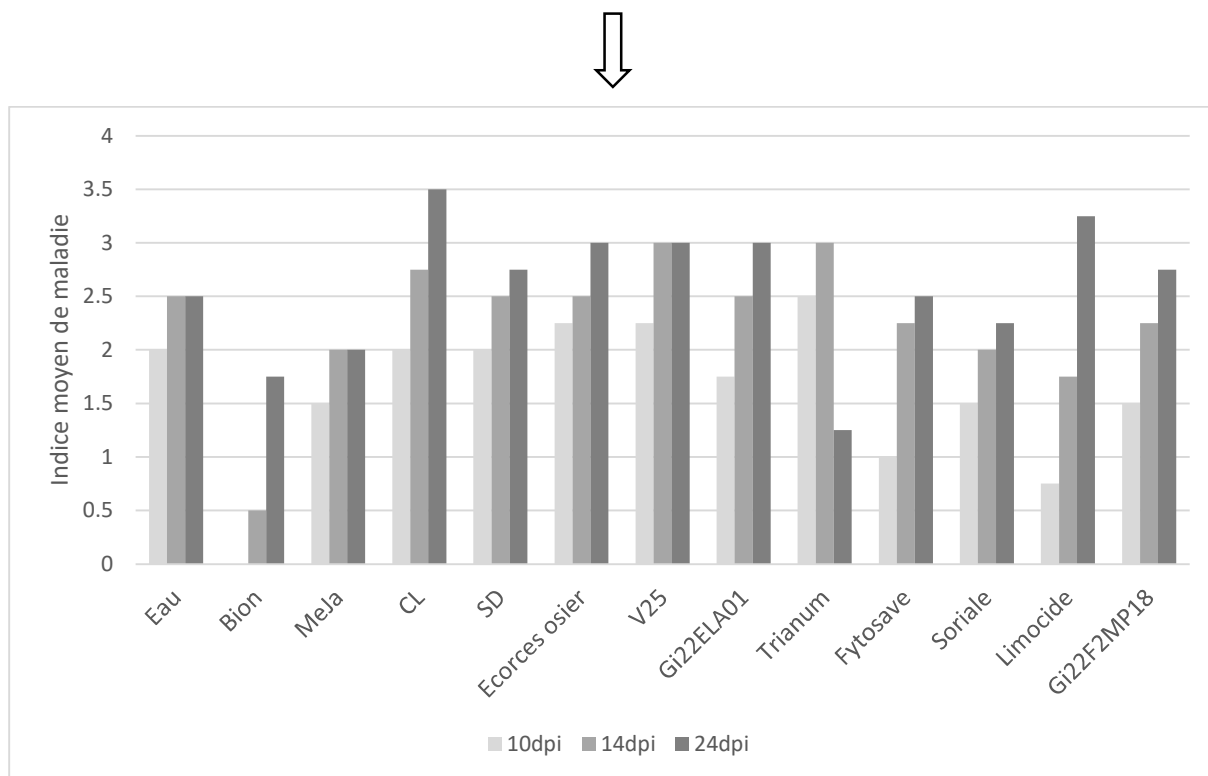
18 dpi



**Figure 5.** Résultats de l'essai Oïdium 1 plantes entières sur le génotype sensible *R. chinensis* 'Old Blush'.

L'essai 1 a révélé des différences d'efficacité entre les produits même si la maladie s'était faiblement développée (notes maximales de 2) : Limocide > CL = Trianum = Ecorces d'osier > Fytosave > V25 = Gi22ELA01.





**Figure 6.** Résultats de l'essai Oïdium 2 plantes entières sur le génotype sensible *R. chinensis* 'Old Blush'.

La maladie s'est davantage développée lors de l'essai 2 (notes maximales de 5) et a permis de confirmer la différence d'efficacité entre les produits sur le génotype sensible 'Old Blush'. Les produits les plus prometteurs étaient : Limocide, Soriale et Fytosave.

#### 2-1-3- *Peronospora sparsa*, agent responsable du mildiou

Le mildiou du rosier étant insuffisamment connu par les partenaires du projet, une recherche bibliographique a été conduite par Vegenov pour mieux connaître le cycle de *Peronospora sparsa*.

Les conditions d'incubation favorables au développement de symptômes sont des températures comprises entre 15 et 20°C pendant le processus infectieux (germination des spores asexuées) et 20 à 25°C lors de la phase de développement dans les tissus végétaux. Une photopériode de 12h a été citée. Une période d'hygrométrie saturante de 10h minimale est recommandée. La durée d'incubation est de 14 jours dans ces conditions (Yamile et al., 2013 ; Salgado et al., 2018).

#### Isolat de *Peronospora sparsa*

Des dizaines d'échantillons avec des feuilles potentiellement contaminées par du mildiou ont été envoyées par les différents partenaires et réceptionnées à Vegenov au cours des trois années du projet. Ces échantillons ont été placés 24 à 48h en conditions favorables. Des observations à la loupe binoculaire et microscope n'ont pas permis de visualiser des spores caractéristiques de mildiou, que ce soit sur les feuilles ou après leur rinçage dans un petit volume d'eau (figure 7).



**Figure 7.** Protocole de recherche de spores de mildiou : de la réception des feuilles à l'observation microscopique (source : Vegenov).

Les conditions extérieures pendant la durée du projet n'ont pas été suffisamment favorables à la présence du mildiou : l'agent pathogène était peu présent et/ou ses symptômes insuffisamment sporulants pour permettre son maintien en conditions contrôlées. Malgré cela, il restait possible de tester l'efficacité des produits, en interaction avec la résistance variétale, sur cet agent pathogène grâce aux essais multisites.

Au cours du projet, une autre maladie, la rouille, non identifiée jusqu'à présent comme majeure pour le rosier semblait apparaître sur plusieurs sites partenaires. Il a alors été décidé (en 2024) de développer un pathotest en conditions contrôlées vis-à-vis de l'agent pathogène responsable de cette maladie : *Phragmidium mucronatum*.

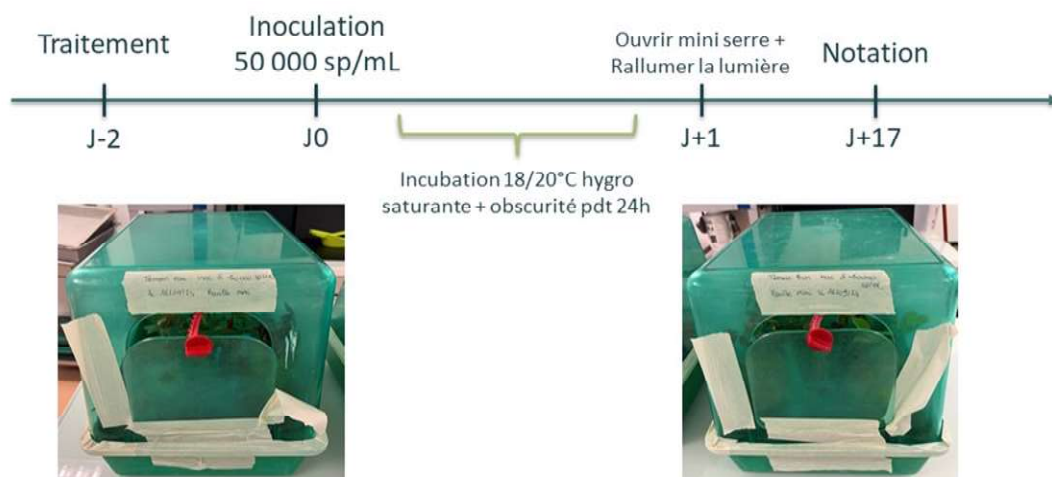
#### 2-1-4- *Phragmidium mucronatum*, agent responsable de la rouille

##### a) Matériels et méthodes

##### *Isolat de Phragmidium mucronatum*

*Phragmidium mucronatum* est un pathogène obligatoire. Un isolat a été prélevé sur la variété de rosier 'Queen Elisabeth' dans un jardin de Locquirec (29). Le pathotest a été développé dans le cadre de ce projet. Des spores ont été initialement collectées et déposées à l'aide d'un pinceau sur les deux faces des feuilles de quelques plants de rosier de la variété 'Marianna', *a priori* sensible à la rouille. Les plants ont alors été placés en incubation en salle de culture pendant deux à trois semaines, jusqu'à l'apparition de symptômes caractéristiques. Dans un second temps, il a été possible de réaliser l'inoculation par vaporisation d'une suspension de spores dans de l'eau. La concentration optimale trouvée était de 50 000 spores/ml pour obtenir une infestation homogène et relativement dense sur les feuilles.

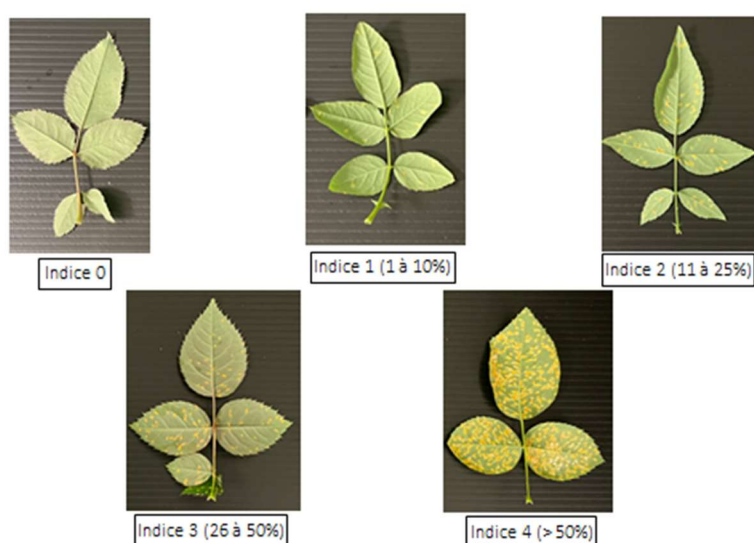
Le descriptif du pathotest est représenté sur la figure 8.



**Figure 8.** Descriptif du dispositif expérimental pour le pathotest rosier-rouille (source : Vegenov).

Trois génotypes ont été testés ('Old Blush', Paul Bocuse® et Eddy Mitchell®) avec un témoin positif (Bion) et un témoin négatif (eau).

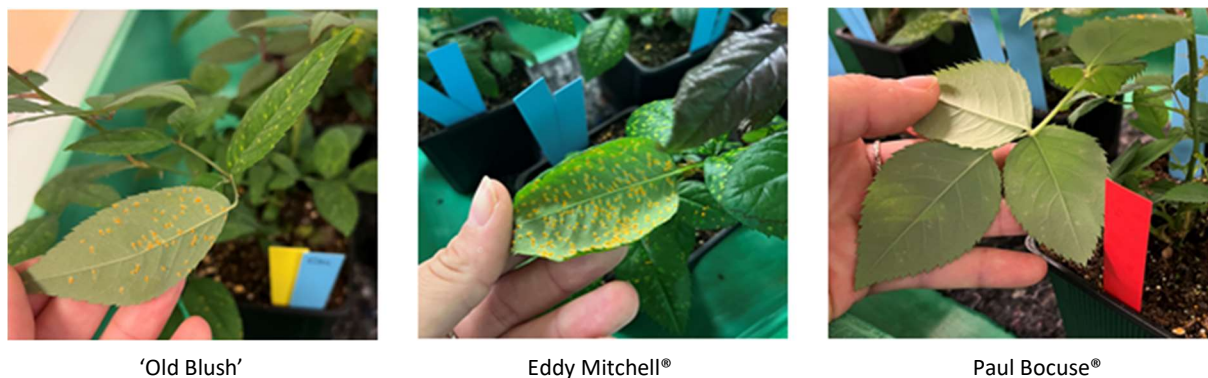
Les symptômes ont été évalués avec une échelle de notation de 0 à 4 (figure 9), mise au point dans le cadre de ce projet.



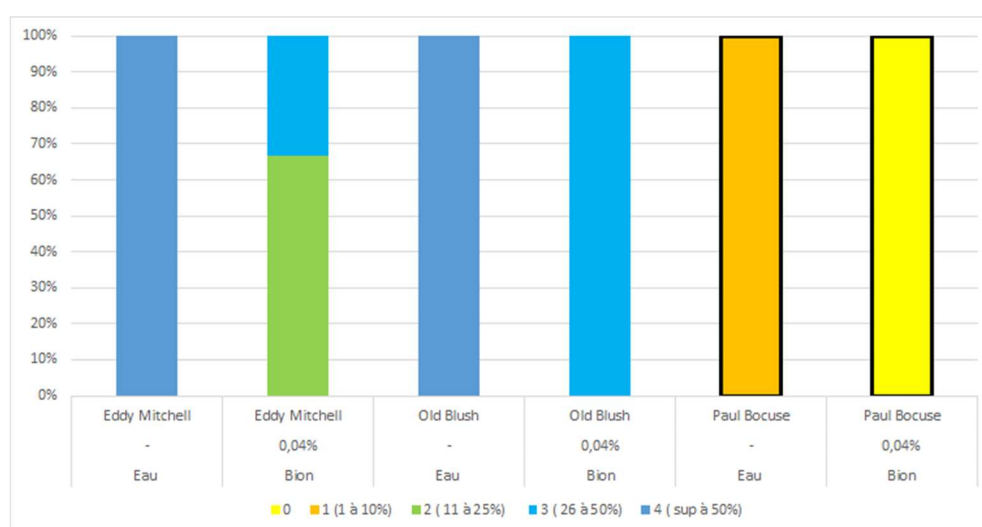
**Figure 9.** Echelle de notation de la rouille sur rosier, en conditions contrôlées (source : Vegenov).

## b) Résultats

Lors de ce premier essai avec inoculation de rouille, les trois génotypes se sont comportés différemment : Eddy Mitchell® et 'Old Blush' ont montré de nombreux symptômes alors que le génotype Paul Bocuse® n'a présenté que très peu de symptômes (figure 10). L'application du Bion a réduit les symptômes, en comparaison au témoin eau, pour les trois génotypes (figure 11).



**Figure 10.** Illustration des symptômes de rouille sur les trois génotypes évalués (de gauche à droite : 'Old Blush', Eddy Mitchell® (présence de nombreuses pustules) et Paul Bocuse® (symptômes très faibles) ; source : Vegenov).



**Figure 11.** Répartition des plants des trois génotypes de rosier évalués selon les classes d'indices de maladie de la rouille, avec application d'eau ou de Bion.

## 2-2- Capacité à stimuler les voies de défenses des plantes (puce qPFD®)

Une puce qPFD® (Puce à Faible Densité Quantitative) est un outil moléculaire permettant d'analyser sur plantes entières le niveau d'expression de 28 gènes de défenses des plantes par qPCR (Polymerase Chain Reaction Quantitative). Ces 28 gènes sont répartis dans neuf groupes représentatifs des principales voies de défenses connues chez les plantes, eux-mêmes répartis dans les trois grandes classes de mécanismes de défenses (barrières physiques, barrières chimiques et signaux). Cet outil a été mis au point sur pommier et breveté par l'équipe ResPom-IRHS (Marolleau et al., 2013 ; brevet INRA WO 2011/161388). L'objectif était ici de transposer cet outil sur rosier.

### 2-2-1- Développement de la puce qPFD® sur rosier

#### a) Matériels et méthodes

Le développement de la puce qPFD® a consisté en la mise au point de 28 couples d'amorces ciblant spécifiquement des gènes de défenses du rosier. Cela s'est déroulé en deux étapes : 1) recherche de séquences d'intérêt et design d'amorces spécifiques, et 2) validation de ces amorces en laboratoire. Dans un premier temps, à partir de données de RNAseq (Neu et al., 2019 ; Lopez-Arias, 2021),

combinées à une base de données de numéro IPR (InterPro scan), 28 séquences de gènes de défenses de la qPFD® ont pu être identifiés. Des couples d'amorces spécifiques à ces 28 séquences géniques ont alors pu être définis. Leur spécificité a ensuite été vérifiée grâce au génome séquencé de *Rosa chinensis* 'Old Blush' (Hibrand-Saint Oyant *et al.* 2018). Dans un second temps, les couples d'amorces ont été testés en laboratoire. Une PCR sur un pool d'ADNc de *R. chinensis* 'Old Blush' et *R. wichurana* a permis de vérifier qu'il y avait bien amplification d'un seul amplicon à la taille attendue. Ensuite, une RT-qPCR, avec une gamme de concentrations de ce même pool d'ADNc, a permis de calculer l'efficacité des amorces (efficacité attendue proche de 100%).

## b) Résultats

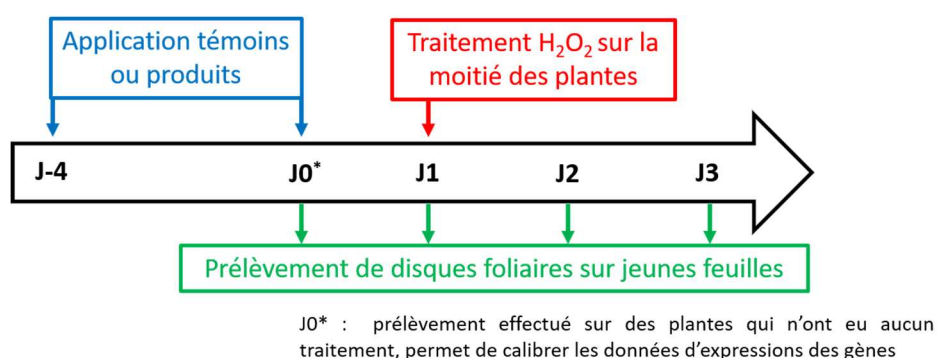
Des couples d'amorces ciblant spécifiquement 28 gènes du rosier, répartis dans les principales voies de défenses, ont pu être définis et validés. La puce qPFD® a ainsi été obtenue sur une nouvelle espèce, le rosier. Une demande d'extension du brevet de la qPFD® au rosier est actuellement en cours.

### 2-2-2- Etude de la capacité des produits à stimuler les défenses des plantes

#### a) Matériels et méthodes

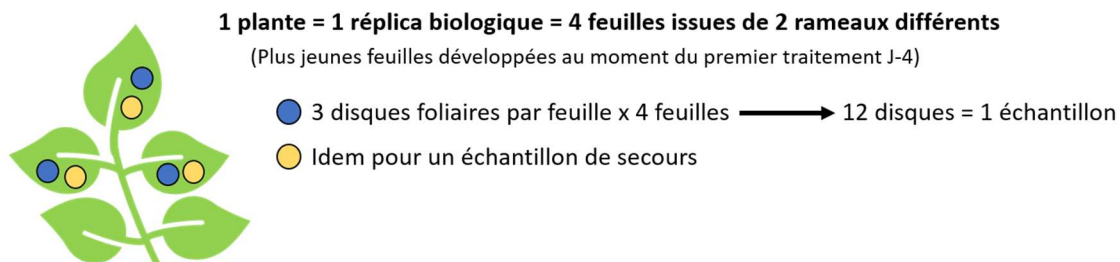
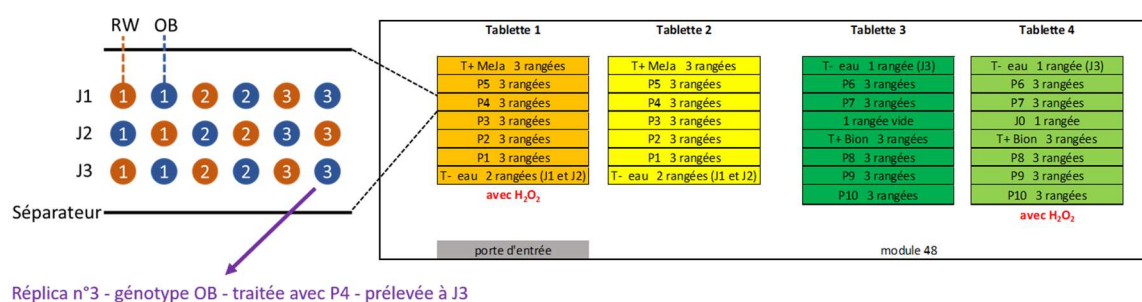
##### *Dispositif expérimental en serre*

L'expérimentation (figure 12) s'est effectuée, en serre, sur des jeunes plants de 15 semaines, issus de boutures de deux génotypes de rosier : *R. chinensis* 'Old Blush' (OB, génotype sensible) et *R. wichurana* (RW, génotype partiellement résistant). Ces jeunes plants ont été pulvérisés, en limite de ruissellement, avec les 10 produits ou témoins (positifs ou négatifs) suivant les recommandations (dose, conditions d'application) des fournisseurs. Une solution de peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ) a été appliquée, le lendemain de la pulvérisation des produits ou témoins, sur la moitié des jeunes plants. Ce traitement vise à mimer une attaque par un bioagresseur. Si des défenses sont induites hors application d' $H_2O_2$ , on en déduit que le produit est un stimulateur direct. Si elles sont induites seulement après application d' $H_2O_2$  (ou induites plus fortement), on aura plutôt affaire à un potentialisateur. L' $H_2O_2$  a été utilisé comme agent "mimant" une attaque d'agent pathogène pour plus de facilité. Mais nous gardons à l'esprit que chaque agent pathogène peut potentiellement induire des voies métaboliques différentes. Les conditions de culture étaient les suivantes : 16h de photopériode, 22°C jour/19°C nuit, et hygrométrie relative de 80%.



**Figure 12.** Protocole expérimental pour l'analyse de l'expression des 28 gènes de défenses de la puce qPFD® (source : IRHS).

Des tissus (disques foliaires) ont été prélevés 0, 1, 2 ou 3 jours après la pulvérisation des produits ou témoins pour y analyser les défenses. A chaque date, trois réplicas biologiques par génotype ont été prélevés puis analysés (figure 13).



**Figure 13.** Dispositif expérimental en serre pour l'analyse de l'expression des 28 gènes de défenses de la puce qPDF® (source : IRHS).

### Mesure du niveau d'expression des 28 gènes de défenses

L'analyse des défenses a été réalisée à l'aide de la puce qPDF® préalablement développée. Les résultats sont des quantifications relatives d'expression des 28 gènes de défense dans les échantillons de tissus ayant reçu les produits candidats par rapport à un échantillon témoin. Ce dernier correspondait à des tissus prélevés sur une plante non traitée avant le début de l'expérimentation (plantes notées J0). Les données de  $C_q$  (quantification cycle) de la qPCR ont été analysées par la méthode du  $2^{-\Delta\Delta C_T}$  (Livak *et al.*, 2001) qui nécessitait de comparer les données avec un calibrateur, correspondant aux plantes J0 du génotype 'Old Blush' (OB J0) dans notre cas. Ceci permet de montrer que les gènes de défenses sont peu activés dans le témoin négatif (eau) et fortement activés (pour certains) dans nos deux témoins positifs (Bion et Méthyljasmonate). Ensuite les données du témoin négatif sont soustraites aux données relatives aux produits ou témoins positifs afin de mettre en évidence l'effet de ceux-ci sur l'expression des gènes de la puce.

### b) Résultats

Les prélèvements à J3 ont été analysés suivant la méthodologie présentée ci-dessus. Le point J3 a été privilégié car l'expression des gènes est maximale à ce temps (communication personnelle, équipe ResPom-IRHS).

Dans ce projet, l'utilisation de la puce qPDF® visait principalement à sélectionner les produits les plus prometteurs à tester ensuite en conditions contrôlées. Les données d'expression des gènes ont montré que le Bion et le Méthyljasmonate (MeJa) activaient plusieurs gènes de défenses mais de façon différente entre les deux génotypes de rosier étudiés (tableau 5). En effet, le MeJa stimulait fortement les gènes *PR* chez 'Old Blush' (OB) alors que c'est le Bion qui avait cet effet chez *Rosa wichurana* (RW). Par ailleurs, nous observions une activation des gènes *CHS* (voie des phénylpropanoïdes) et *TPS14* (voie des isoprénoïdes) par le MeJa aussi bien chez OB que RW. Un autre produit, le Limocide, stimulait de façon significative des gènes appartenant à différentes voies de défenses, à la fois chez OB et RW mais

avec un effet plus marqué chez RW. Nous voyions également un effet SDP d'autres produits comme le Soriale, le Fytosave ou le Trianium mais avec des niveaux moindres.

**Tableau 5.** Expressions (log2 ratios) des 28 gènes de défenses de la puce qPFD® chez 'Old Blush' (OB, en haut) et *R. wickurana* (RW, en bas).

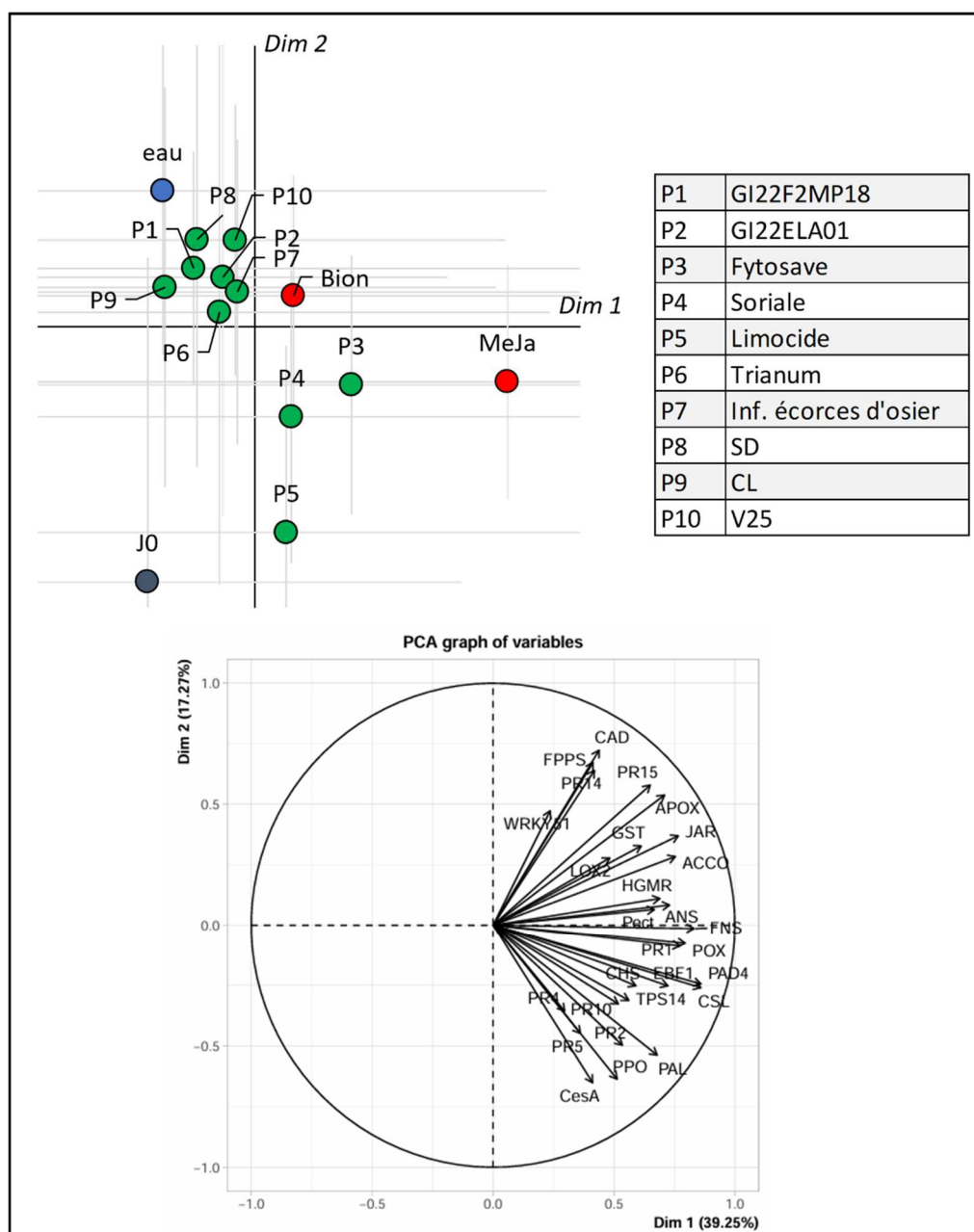
Expressions relatives des gènes dans les échantillons de tissus ayant reçu les produits candidats par rapport à l'échantillon témoin (eau) de chaque génotype. S : significativité définie par un test de Kruskal-Wallis (\* : p-value ≤0,05).

| OB     | Bion  |   | MeJa  |   | GI22 F2MP18 |   | GI22 ELA01 |   | Fytosave |   | Soriale |   | Limocide |   | Trianium |   | Inf. éc. osier |   | SD    |   | CL    |   | V25   |   |
|--------|-------|---|-------|---|-------------|---|------------|---|----------|---|---------|---|----------|---|----------|---|----------------|---|-------|---|-------|---|-------|---|
|        | log2  | S | log2  | S | log2        | S | log2       | S | log2     | S | log2    | S | log2     | S | log2     | S | log2           | S | log2  | S | log2  | S | log2  | S |
| PR1    | -1,54 |   | -0,20 |   | -1,15       |   | 1,25       |   | 1,25     | * | 0,33    |   | 0,11     |   | -0,98    |   | 0,05           |   | -0,43 |   | -0,51 |   | -0,71 |   |
| PR2    | 4,11  | * | 5,36  | * | 0,61        |   | -1,68      |   | 1,21     |   | 1,61    |   | 3,08     | * | 0,28     |   | 0,05           |   | -0,56 |   | -2,08 |   | -0,25 |   |
| PR4    | 0,25  |   | 5,95  | * | 0,68        |   | -1,92      |   | 0,71     |   | 1,51    |   | 3,52     | * | 0,96     |   | 0,14           |   | -0,95 |   | -1,34 |   | 1,44  |   |
| PR5    | 2,47  | * | 8,63  | * | 1,41        |   | -0,72      |   | 3,09     |   | 2,73    |   | 4,26     | * | 3,52     | * | 1,25           |   | -0,56 |   | -0,46 |   | 2,81  |   |
| PR10   | 1,51  | * | 4,50  | * | 1,69        |   | -1,24      |   | 0,95     |   | 1,26    |   | 3,74     | * | 0,51     |   | 0,97           |   | -0,60 |   | -1,51 |   | 0,55  |   |
| PR14   | -1,96 | * | -0,91 |   | -0,92       |   | 0,02       |   | -0,29    |   | -2,47   | * | -1,74    | * | -3,05    | * | -2,32          | * | -1,65 |   | -2,38 | * | -2,56 | * |
| PR15   | -4,03 | * | -1,42 |   | -1,60       |   | -1,60      |   | -1,13    |   | -2,75   | * | -2,42    | * | -3,65    | * | -3,63          | * | -2,89 | * | -3,57 | * | -3,83 | * |
| PAL    | 1,04  |   | 2,40  |   | 0,69        |   | 1,26       | * | 1,96     | * | 2,12    | * | 2,10     | * | 0,29     |   | 1,53           |   | 0,35  |   | 0,59  |   | 1,10  |   |
| FNS    | 0,62  | * | -0,07 |   | -0,34       |   | -0,15      |   | 0,53     |   | 0,34    |   | 0,35     |   | -0,08    |   | 0,63           |   | -0,43 |   | -0,47 |   | -0,25 |   |
| CHS    | 0,24  |   | 4,53  | * | -2,16       |   | -0,48      |   | 0,54     |   | 0,65    |   | 0,55     |   | -0,99    |   | -0,32          |   | -1,15 |   | -1,31 |   | 0,16  |   |
| ANS    | -0,17 |   | 3,01  |   | -0,56       |   | 0,20       |   | 0,29     |   | -0,14   |   | 0,07     |   | -0,93    |   | -0,56          |   | -0,72 |   | -1,24 | * | -0,75 | * |
| PPO    | 0,76  |   | 1,26  |   | -0,57       |   | 1,24       |   | 2,01     | * | 2,31    | * | 1,73     | * | 0,87     | * | 2,04           | * | 0,77  |   | 0,70  |   | 1,37  | * |
| HGMR   | 0,22  |   | 0,48  |   | 0,12        |   | 0,81       |   | 0,97     | * | 1,43    |   | 0,39     |   | 0,09     |   | -0,10          |   | -0,31 |   | -0,73 |   | -0,40 |   |
| FPPS   | -0,65 |   | -0,98 | * | -0,70       |   | -0,45      |   | -0,61    |   | -1,55   | * | -1,11    | * | -1,26    |   | -1,22          | * | -1,18 |   | -1,42 | * | -1,55 | * |
| TPS14  | -0,40 |   | 3,13  | * | 1,56        | * | -0,51      | * | 0,53     |   | 0,13    |   | 0,39     |   | -1,17    | * | -0,72          |   | -1,06 |   | -1,26 | * | -1,38 |   |
| CSL    | 0,21  |   | 0,55  |   | 0,27        |   | -0,78      |   | 0,29     |   | -0,19   |   | -0,02    |   | -1,28    |   | -0,44          |   | -0,66 |   | -0,92 |   | -0,59 |   |
| APOX   | -0,02 |   | -0,37 |   | -0,12       |   | 0,60       |   | 0,15     |   | -0,01   |   | -0,14    |   | 0,05     |   | 0,15           |   | -0,26 |   | -0,40 |   | -0,61 |   |
| POX    | 1,88  | * | 1,52  | * | -0,31       |   | -2,58      | * | -0,46    |   | -0,55   |   | 0,39     |   | -1,62    |   | -1,16          |   | -1,42 | * | -2,54 | * | -1,97 |   |
| GST    | 0,63  | * | 0,43  |   | -0,23       |   | -1,32      | * | -0,99    | * | -0,58   |   | 0,10     |   | -0,34    |   | -0,27          |   | -0,55 |   | -1,07 | * | -0,65 |   |
| CesA   | 0,53  |   | 0,22  |   | -1,57       |   | 0,26       |   | 1,43     |   | 2,14    |   | 0,62     |   | 0,73     |   | 1,92           |   | 0,15  |   | 0,11  |   | 0,76  |   |
| CAD    | 0,18  | * | -0,05 |   | 0,23        | * | -0,75      | * | -0,44    | * | -0,51   |   | -0,25    |   | 0,08     |   | 0,01           |   | -0,46 | * | -0,38 | * | -0,82 | * |
| Pect   | -1,31 | * | -0,19 |   | 1,05        |   | 1,41       |   | 1,03     | * | 0,27    |   | 0,35     |   | -1,41    |   | -0,59          |   | -0,51 |   | -1,11 |   | -0,87 | * |
| PAD4   | 0,85  | * | 0,59  |   | 1,07        |   | 0,50       |   | 0,97     | * | 0,80    |   | 0,80     |   | -0,26    |   | 0,49           |   | -0,35 |   | -0,51 |   | -0,05 |   |
| WRKY51 | 1,07  | * | 0,12  |   | 1,19        | * | 0,15       |   | 0,78     |   | 1,02    | * | 0,37     |   | 0,39     |   | -0,06          |   | -0,65 |   | -0,14 |   | -0,31 |   |
| LOX2   | 1,08  | * | 2,71  | * | -0,47       |   | -1,72      | * | -0,51    |   | -0,39   |   | 0,16     |   | -0,86    |   | -0,62          |   | -1,50 |   | -1,60 |   | -1,14 | * |
| JAR    | -0,03 |   | -0,02 |   | -0,23       |   | -1,63      | * | -0,74    |   | -1,27   | * | -1,02    |   | -1,11    |   | -0,86          |   | -1,30 | * | -1,60 | * | -1,73 | * |
| EBF1   | 0,35  |   | -0,49 |   | -0,34       |   | -0,93      | * | -0,26    |   | -0,21   |   | -0,20    |   | -1,34    | * | -0,48          |   | -0,98 |   | -1,33 | * | -1,28 |   |
| ACCO   | -0,20 |   | 0,28  |   | 0,21        |   | -0,85      | * | -0,16    |   | -1,10   | * | -0,26    |   | -0,98    |   | -1,11          | * | -0,86 |   | -1,10 | * | -1,33 | * |

| RW     | Bion  |   | MeJa  |   | GI22<br>F2MP18 |   | GI22<br>ELA01 |   | Fytosave |   | Soriale |   | Limocide |   | Trianum |   | Inf. éc.<br>osier |   | SD    |   | CL    |   | V25   |   |
|--------|-------|---|-------|---|----------------|---|---------------|---|----------|---|---------|---|----------|---|---------|---|-------------------|---|-------|---|-------|---|-------|---|
|        | log2  | S | log2  | S | log2           | S | log2          | S | log2     | S | log2    | S | log2     | S | log2    | S | log2              | S | log2  | S | log2  | S | log2  | S |
| PR1    | -3,59 | * | -0,38 |   | -1,40          | * | -2,61         | * | -2,00    | * | -1,22   | * | -0,35    |   | -0,51   |   | -0,45             |   | -0,68 |   | -2,20 | * | -1,14 | * |
| PR2    | 4,93  | * | 1,42  |   | 1,53           |   | 1,88          |   | 1,61     |   | 2,44    | * | 4,25     | * | 2,65    | * | 2,52              | * | 0,85  |   | 0,99  |   | 2,07  |   |
| PR4    | 5,26  | * | 0,41  |   | 0,52           |   | 1,12          |   | 1,49     |   | 2,26    | * | 3,52     | * | 1,47    | * | 0,93              | * | 0,62  |   | -0,12 |   | 0,90  | * |
| PR5    | 8,03  | * | 1,14  |   | 2,52           |   | 1,99          |   | 2,85     |   | 2,53    | * | 5,32     | * | 2,40    | * | 2,21              | * | 2,07  |   | 1,31  |   | 2,09  | * |
| PR10   | 3,27  | * | 2,00  | * | 1,66           |   | 2,21          | * | 1,69     |   | 2,27    | * | 2,99     | * | 1,68    | * | 1,25              |   | -0,13 |   | 0,70  |   | 1,90  |   |
| PR14   | -2,55 | * | -0,86 | * | -1,54          |   | -1,81         | * | -2,04    | * | -2,24   |   | -3,27    | * | -1,53   | * | -1,53             | * | -0,94 |   | -2,73 | * | -0,83 |   |
| PR15   | -2,81 | * | -0,91 |   | -2,36          | * | -2,53         | * | -3,52    | * | -3,40   | * | -2,36    | * | -1,34   |   | -2,11             |   | -2,08 |   | -2,52 | * | -1,82 |   |
| PAL    | 0,87  |   | 3,87  | * | 2,37           | * | 1,14          |   | 1,62     |   | 2,14    | * | 2,15     |   | 2,01    | * | 2,09              | * | 0,71  |   | 0,57  |   | 1,02  |   |
| FNS    | -0,21 |   | 0,51  |   | 0,08           |   | -0,31         |   | 0,27     |   | -0,29   |   | 1,54     |   | 0,34    |   | 0,13              |   | -0,40 |   | 0,23  |   | 0,10  |   |
| CHS    | 2,68  | * | 4,94  | * | 0,60           |   | -0,16         |   | 1,01     |   | 0,80    |   | 2,14     | * | 1,06    |   | 0,65              |   | -0,13 |   | 0,08  |   | 0,07  |   |
| ANS    | 1,26  |   | 3,42  | * | 0,35           |   | -0,51         |   | 0,28     |   | -0,54   |   | 0,65     |   | 0,23    |   | -0,11             |   | -0,31 |   | -0,49 |   | -0,46 |   |
| PPO    | -0,17 |   | 1,95  | * | 0,80           |   | 0,57          |   | 1,44     |   | 2,03    | * | 2,84     | * | 1,88    | * | 1,29              |   | 0,43  |   | 1,34  |   | 0,79  |   |
| HGMR   | -0,56 |   | 1,77  |   | 0,91           |   | -1,24         |   | -0,18    |   | -1,65   |   | 0,90     |   | 0,17    |   | -1,45             |   | -0,47 |   | -1,23 |   | -0,47 |   |
| FPPS   | -0,95 | * | -0,91 | * | -1,05          | * | -1,02         | * | -0,43    |   | -0,77   |   | -0,08    |   | -0,49   |   | -0,53             | * | -0,14 |   | -0,89 | * | -0,35 |   |
| TPS14  | 0,68  |   | 4,97  | * | 2,97           | * | 3,39          | * | 2,55     |   | 3,43    | * | 3,32     | * | 2,05    | * | 2,09              | * | 1,16  | * | 1,93  |   | 2,18  | * |
| CSL    | 0,31  |   | 1,26  | * | 0,14           |   | -0,01         |   | 0,52     |   | 0,50    | * | 0,87     | * | 0,66    | * | 0,43              |   | 0,30  |   | 0,62  |   | 0,12  |   |
| APOX   | -1,36 | * | -0,38 |   | -1,64          | * | -2,54         | * | -1,97    |   | -2,97   | * | -2,56    | * | -0,71   |   | -1,94             |   | -1,21 |   | -1,86 |   | -1,35 |   |
| POX    | 3,28  | * | 1,27  | * | -0,03          |   | -0,01         |   | -1,04    |   | -1,94   |   | 2,26     |   | -0,12   |   | -0,59             |   | -1,69 |   | -1,24 |   | -0,69 |   |
| GST    | 1,25  | * | 0,28  |   | -0,08          |   | 0,27          |   | -0,74    |   | -0,71   |   | -0,90    |   | -0,50   |   | -0,35             |   | 0,23  |   | -0,59 |   | 0,30  |   |
| CesA   | -0,23 |   | 1,35  |   | 1,04           |   | 1,05          |   | 1,31     |   | 2,46    | * | 3,46     | * | 2,71    | * | 2,15              |   | 1,08  |   | 1,59  |   | 1,74  |   |
| CAD    | -0,59 | * | -0,46 | * | -0,76          |   | -0,71         | * | -0,90    |   | -1,76   | * | -1,38    | * | -0,79   |   | -1,10             |   | -0,70 |   | -1,23 |   | -0,59 |   |
| Pect   | -0,77 |   | 0,33  |   | 0,80           |   | 0,44          |   | 0,32     |   | 0,56    |   | 0,78     |   | -0,06   |   | 0,66              |   | 1,03  |   | -0,23 |   | 0,47  |   |
| PAD4   | 0,59  |   | 1,45  | * | 1,44           | * | 1,06          | * | 1,04     |   | 0,99    | * | 1,63     | * | 0,89    | * | 0,70              |   | 0,19  |   | 0,50  |   | 0,74  |   |
| WRKY51 | 0,85  |   | 0,69  |   | 1,56           | * | 1,54          | * | 0,97     |   | 0,86    | * | 1,36     |   | -0,33   |   | -0,02             |   | 0,19  |   | 0,65  |   | 0,82  |   |
| LOX2   | -0,29 |   | 1,63  |   | -0,24          |   | -0,85         |   | -0,01    |   | -1,10   |   | -0,68    |   | -0,68   |   | -0,08             |   | -0,57 |   | 0,06  |   | 0,01  |   |
| JAR    | -0,19 |   | 1,20  | * | -0,16          |   | -0,25         |   | -0,36    |   | -0,67   |   | -0,06    |   | -0,03   |   | 0,10              |   | -0,05 |   | -0,03 |   | 0,11  |   |
| EBF1   | 0,04  |   | 1,25  |   | 1,66           | * | 0,88          |   | 0,76     |   | 1,26    | * | 3,01     | * | 1,69    | * | 2,07              | * | 1,02  |   | 1,22  |   | 1,10  | * |
| ACCO   | -1,19 | * | 0,46  |   | -1,38          |   | -2,24         | * | -1,94    | * | -2,83   |   | -1,18    |   | -1,51   |   | -2,82             | * | -1,78 |   | -2,40 |   | -1,42 |   |

Une synthèse des données d'expression a été réalisée par produit à travers une analyse en composantes principales (ACP ; figure 14). Le Limocide se démarque clairement des autres produits. Le Soriale et le Fytosave ont des positions intermédiaires entre le Bion, le MeJa et le Limocide. L'effet SDP du Soriale et du Fytosave semble plus faible que pour le Limocide mais se retrouve à la fois chez OB et RW. Ceci peut expliquer leur position sur l'ACP et permet de les différencier des sept autres produits qui soit n'activent pas de gènes soit n'activent des gènes que chez un seul génotype.

Même si des problèmes de variabilité entre les réplicas biologiques ont été identifiés, complexifiant l'analyse de ces résultats, un effet SDP a pu être mis en évidence pour trois produits : Limocide, Soriale et Fytosave.



**Figure 14.** Analyse en composantes principales (ACP) réalisée sur l'ensemble des individus, calibrés à la moyenne des OB J0. Seuls les barycentres de chaque condition sont représentés.

### 3- Produits retenus pour l'opération 2

Compte tenu des aléas rencontrés (explicités précédemment) et pour ne pas retarder l'avancement du projet, la sélection des produits retenus pour l'opération 2 s'est basée sur : les résultats obtenus en laboratoire sur *Diplocarpon rosae* + les résultats obtenus lors du premier essai Oïdium sur le rosier sensible 'Old Blush' + les résultats de l'expression des gènes de défenses du rosier à l'aide de la puce qPFD®. L'ensemble de ces résultats sont synthétisés dans le tableau 6. Les produits retenus ont ainsi été :

- Limocide
  - ✓ Effet direct vis-à-vis de *Diplocarpon rosae*
  - ✓ Efficacité vis-à-vis de l'oïdium
  - ✓ Stimulation de gènes de défense
- Soriale

- ✓ Effet direct vis-à-vis de *Diplocarpon rosae*
  - ✓ Stimulation de gènes de défense
- Fytosave
  - ✓ Efficacité modérée vis-à-vis de l'oïdium
  - ✓ Stimulation de gènes de défense
- Trianum
  - ✓ Effet direct vis-à-vis de *Diplocarpon rosae*
  - ✓ Efficacité vis-à-vis de l'oïdium
  - ✓ Seul micro-organisme de la liste des produits proposés
- CL
  - ✓ Effet direct vis-à-vis de *Diplocarpon rosae*
  - ✓ Efficacité vis-à-vis de l'oïdium

**Tableau 6.** Synthèse des résultats de l'opération 1 menant à la sélection des cinq produits pour l'opération 2.

| Nom commercial (fabricant)                                              | Substance active                                                | Mode d'action connu                                                                                                                                                                                                                                                       | Usages                                                                                                                                                                                                                 | Tests en boîtes -<br>Taches noires | Tests sur plantes<br>entières -<br>Oïdium | Expression de gènes<br>de défenses<br>(puce qPFD®) |
|-------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------|-------------------------------------------|----------------------------------------------------|
|                                                                         |                                                                 |                                                                                                                                                                                                                                                                           |                                                                                                                                                                                                                        |                                    |                                           |                                                    |
| Limocide (Vivagro)                                                      | huile essentielle d'orange                                      | Agit par contact sur les foyers récents (oïdium, mildiou) en imprégnant les organes externes du champignon (mycélium et sporanges) causant leur déshydratation (par destruction des phospholipides des parois cellulaires des champignons).                               | Rosier/Oïdium ( <i>et Taches noires pour Limocide J</i> )<br>+ autres pathosystèmes                                                                                                                                    | +                                  | +++                                       | +                                                  |
| Soriale (BASF France SAS)                                               | phosphonates de potassium                                       | Systémique et stimulateur des défenses des plantes.<br>Combine une action directe et indirecte sur les champignons                                                                                                                                                        | Pommier/Tavelure                                                                                                                                                                                                       | +                                  |                                           | +                                                  |
| Fytosave (Fytofend, Belgique)                                           | COS-OGA (= ChitoOlygoSaccharides et OligoGAlacturonides)        | SDP, type éliciteur                                                                                                                                                                                                                                                       | Cultures ornementales<br>Vigne                                                                                                                                                                                         |                                    | +                                         | +                                                  |
| Triatum-P (Koppert)                                                     | <i>Trichoderma harzianum</i><br>Rifai strains T-22 and ITEM-908 | Parasite de champignons (les hyphes voire les spores parfois), occupe la niche écologique (sol et partie aérienne), fait antibiose à distance<br>Effet SDP pour certaines souches                                                                                         | Cultures ornementales                                                                                                                                                                                                  | +                                  | ++                                        | (+)                                                |
| GI22F2MP18 (Green Impulse), en développement                            | alcaloïdes et xanthones d'origine végétale                      | Techno Sensitines®MEX. Produit type ARPI (Adaptative Response Pathway Inhibitor) = Sensitine<br>Molécules d'origine naturelle qui handicapent le pathogène pour se protéger contre les défenses de la plante, elles sensibilisent le champignon aux défenses de la plante | Efficace sur chou/ <i>Botrytis cinerea</i> et <i>Alternaria brassicicola</i> (plus actif sur <i>Alternaria</i> que sur <i>Botrytis</i> )<br>Intéressant sur vigne/mildiou vigne, beaucoup moins pomme de terre/mildiou |                                    | non testé                                 |                                                    |
| GI22ELA01 (Green Impulse), en développement = substance de base         | chlorhydrate de chitosan                                        | Effet éliciteur et fongistatique                                                                                                                                                                                                                                          | Vigne, pomme de terre, laitue/Mildiou<br>Pommier/Tavelure                                                                                                                                                              |                                    | +/-                                       |                                                    |
| Complexe Phyta Natura V25 (Herbovital) = substance de base              | macérations hydro-alcooliques dans huiles essentielles          | Agit par contact contre les champignons de surface                                                                                                                                                                                                                        | Vigne/Mildiou, oïdium                                                                                                                                                                                                  | +                                  | +/-                                       |                                                    |
| Infusion d'écorces d'osier <i>Salix spp.</i> cortex = substance de base | fragments d'écorces sèches de <i>Salix spp</i> cortex           | Hautement concentrée en principes actifs (acide salicylique, polyphénols, etc), l'infusion d'écorces d'osier permet de stimuler les défenses naturelles des plantes                                                                                                       | Vigne/Mildiou et oïdium<br>Pommier/Tavelure et oïdium                                                                                                                                                                  |                                    | ++                                        | (+)                                                |
| SD (Mendinbio, Belgique) = PNPP                                         | saule, prêle, ortie                                             | Élicitation (préventif)                                                                                                                                                                                                                                                   | Efficace sur Vigne /Mildiou et Fraise/Oïdium (en laboratoire et sur terrain)                                                                                                                                           | +                                  |                                           |                                                    |
| CL (Mendinbio, Belgique) = PNPP                                         | Prêle, ajowan, giroflier, cannellier                            | Antigerminatif<br>Résultats les plus probants :<br>Sur plante : en co-inoculation du pathogène ou très rapidement après l'inoculation<br>Boîte de Pétri : en mélange du milieu de culture (après la stérilisation)                                                        | Efficace sur Vigne /Mildiou et Fraise/Oïdium (en laboratoire et sur terrain)                                                                                                                                           | +                                  | ++                                        |                                                    |
| Bion                                                                    | Témoin positif                                                  | SDP (voie de l'acide salicylique)                                                                                                                                                                                                                                         |                                                                                                                                                                                                                        | +                                  | +++                                       | +                                                  |
| Méthyl jasmonate                                                        | Témoin positif                                                  | SDP (voie de l'acide jamonique)                                                                                                                                                                                                                                           |                                                                                                                                                                                                                        | +                                  | non testé                                 | +                                                  |

## OPERATION 2 : EVALUATION DE L'INTERACTION BIOCONTROLE X RESISTANCE VARIETALE SUR LA GESTION DES PATHOGENES FONGIQUES DU ROSIER, EN CONDITIONS CONTROLEES

L'objectif de cette deuxième opération consistait à tester, en conditions contrôlées, l'efficacité des cinq produits sélectionnés en sortie de l'opération 1 (et les témoins positifs et négatif), en interaction avec la résistance variétale.

### 1- Choix des génotypes de rosier

Cinq génotypes de rosier ont été notés en conditions contrôlées. Le choix de ces génotypes s'est basé sur les critères suivants :

- génotypes sensibles ou partiellement résistants aux agents pathogènes ciblés (données de la littérature et/ou des partenaires du projet) ;
- génotypes présentant des fonds génétiques différents (obtenteurs différents, groupes horticoles différents) ;
- génotypes présentant un intérêt commercial ou scientifique ;
- génotypes au port buissonnant ou érigé afin de faciliter leur suivi/entretien en conditions contrôlées et au champ ;
- génotypes avec des feuillages variés ;
- génotypes disponibles en quantité suffisante pour permettre les essais en conditions contrôlées et au champ.

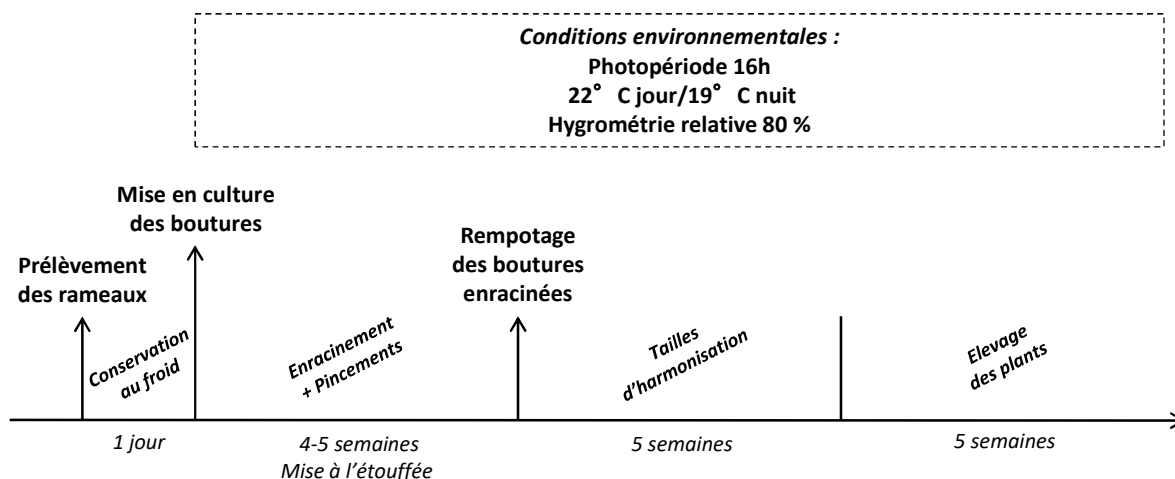
Les cinq génotypes de rosier retenus sont présentés dans le tableau 7.

**Tableau 7.** Caractéristiques des cinq génotypes de rosier retenus (source : IRHS).

| Génotypes                         | Groupes horticoles                                          | Feuillage/Port                                      |                                                                                       |
|-----------------------------------|-------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------|
| <i>Rosa chinensis</i> 'Old Blush' | Chinensis, remontant                                        | feuillage vert moyen<br>port buissonnant semi-érigé |  |
| Eddy Mitchell® MEirysett          | Hybride de Thé, rosier à grandes fleurs, remontant          | feuillage mi-mat, vert<br>port buissonnant          |  |
| Chartreuse de Parme® DELviola     | Hybride de Thé, rosier à grandes fleurs groupées, remontant | feuillage vert foncé, mi-lustré<br>port buissonnant |  |
| Paul Bocuse® MASpaujeu            | Generosa®                                                   | feuillage vert mat<br>port buissonnant              |  |
| La Garçonne® TANEiglat            | Hybride de Thé, rosier à grandes fleurs, remontant          | feuillage vert brillant<br>port érigé               |  |

### 2- Obtention des jeunes plants issus de boutures

L'évaluation de l'efficacité des produits s'est faite sur jeunes plants issus de boutures. L'obtention de ces jeunes plants a suivi le protocole présenté dans la figure 15.



**Figure 15.** Schéma de culture des boutures en serre (source : IRHS).

Pour un génotype donné, les rameaux ont été prélevés sur un même site puis répartis entre l'IRHS et Vegenov. Le nombre de rameaux prélevés permettait de réaliser les deux essais en conditions contrôlées pour chacun des agents pathogènes. Chaque partenaire a ensuite pris en charge la culture de ses boutures.

Certains géotypes de rosier ont montré des difficultés de reprise, aussi plusieurs séries de bouturage ont été réalisées. Pour le géotype La Garçonne®, le taux de reprise étant trop faible malgré cela, des jeunes plants ont directement été demandés aux Pépinières France Pilté.

Par ailleurs, suite aux problèmes sanitaires rencontrés par Vegenov, des boutures enracinées obtenues par l'IRHS ont été envoyées à Vegenov de façon à ce que chacun puisse faire les expérimentations, en conditions contrôlées, sur du matériel sain et en quantité suffisante.

### 3- Essais en conditions contrôlées

#### 3-1- *Diplocarpon rosae*, agent responsable de la maladie des taches noires

##### 3-1-1- Matériels et méthodes

Un pathotest pour la maladie des taches noires avait été mis au point dans le cadre d'un projet antérieur (projet CASDAR Belarosa 2015-2016 ; Marolleau et al., 2020).

Les essais ont été conduits en conditions contrôlées sous serre (photopériode 16h jour/8h nuit, T° jour 23-30°C/T° nuit 17-19°C, HR de 80% minimum) sur de jeunes plants issus de boutures de rosier âgés de 15 à 16 semaines.

Neuf conditions expérimentales ont été définies :

- 5 produits de biocontrôle : Limocide, Soriale, Triatum, Fytosave, CL + inoculation avec *D. rosae*
- 2 témoins positifs "Produit" : Bion et Méthyljasmontate (MeJa) + inoculation avec *D. rosae*
- 1 témoin positif "Test" = témoin négatif "Produit" : eau + inoculation avec *D. rosae*
- 1 témoin négatif "Test" : eau + inoculation avec eau

Quinze plants de rosier ont été testés par condition expérimentale : 5 géotypes avec 3 copies/géotype.

Les produits (et témoins) ont été appliqués par pulvérisation foliaire aux concentrations recommandées par les fournisseurs et indiquées dans le tableau 8. Deux applications ont été réalisées à quatre jours d'intervalle. Deux jours après la dernière application des produits, la souche DiFRA-67 a été inoculée par pulvérisation à 10<sup>4</sup> conidies/ml. Les plants ont été bâchés et maintenus sous hygrométrie saturante (HR entre 90 et 100%) pendant 72h.

**Tableau 8.** Doses d'application des produits et témoins testés en conditions contrôlées.

| Produits | Doses                    |
|----------|--------------------------|
| Limocide | 6L/ha                    |
| Soriale  | 5ml/L                    |
| Fytosave | 4ml/L                    |
| Trianum  | 1,5g/m <sup>2</sup>      |
| CL       | 8% du volume de solution |
| Bion     | 0,4g/L                   |
| MeJa     | 6mM                      |

Les symptômes ont été notés une fois par semaine durant quatre semaines après inoculation et selon une échelle de notation de 0 à 10 (tableau 9).

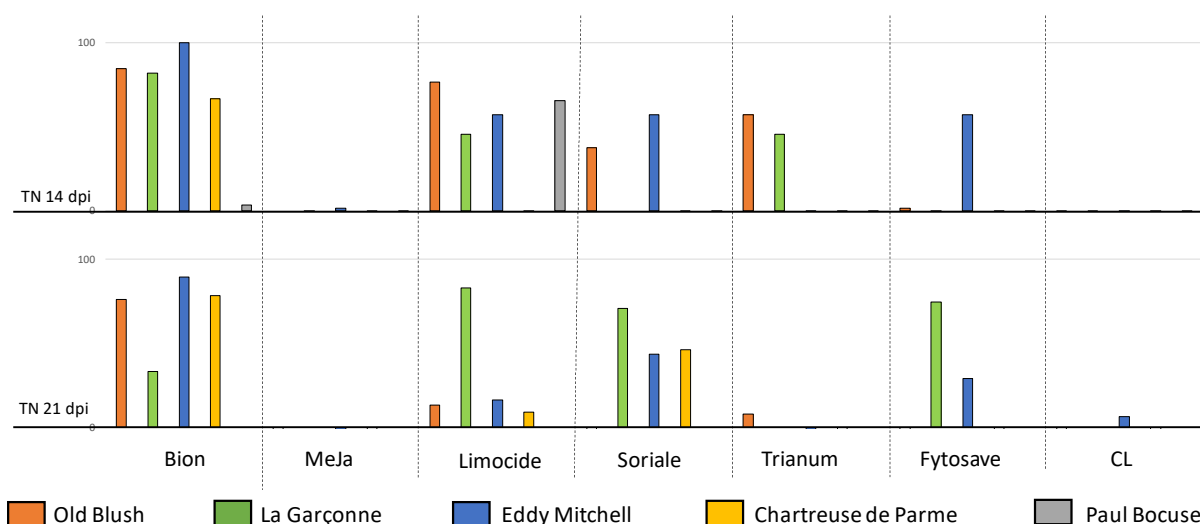
**Tableau 9.** Echelle de notation de la maladie des taches noires sur rosier, en conditions contrôlées.

| Note | Descriptif                              |
|------|-----------------------------------------|
| 0    | Aucun symptôme                          |
| 1    | Quelques taches à 10 % du feuillage     |
| 2    | > 10 % à 25 % du feuillage              |
| 3    | > 25 % à 33 % du feuillage              |
| 4    | > 33 % à 50 % du feuillage              |
| 5    | > 50 % à 66 % du feuillage              |
| 6    | > 66 % à 75 % du feuillage              |
| 7    | > 75 % du feuillage, pas de défoliation |
| 8    | > 75 % du feuillage, défoliation        |
| 9    | 100 % du feuillage, forte défoliation   |
| 10   | Défoliation totale                      |

Deux essais ont été menés au cours du projet (février 2023 et avril 2023).

### 3-1-2- Résultats

Le premier essai s'est révélé peu concluant car la maladie s'est peu développée (notes entre 0 et 2 sur une échelle de 0 à 10) et divers autres symptômes ont pu être observés. Différents prélèvements foliaires ont été réalisés afin de vérifier si ces symptômes n'étaient pas dus à d'autres agents pathogènes : les résultats ont été négatifs. La cause la plus vraisemblable de ces symptômes serait un problème physiologique (sénescences des feuilles). Les résultats de cet essai étant difficilement exploitables, seuls les résultats du second essai sont illustrés ci-après.



**Figure 16.** Pourcentage de protection des produits contre la maladie des taches noires (TN à 14 et 21 dpi) pour chacun des cinq génotypes de rosier.

La figure 16 montre des différences d'efficacité entre les produits légèrement variable au cours du temps. L'efficacité d'un produit peut également varier selon les génotypes. Le Limocide s'est révélé être le produit le plus efficace même si sa protection diminuait au cours du temps. Les autres produits ayant montré une certaine efficacité étaient le Soriale et le Fytosave mais tous les génotypes n'étaient pas réceptifs à ces produits. La Garçonne® et Eddy Mitchell® paraissaient être les génotypes les plus réceptifs quel que soit le produit testé ; 'Old Blush' semblait davantage répondre en début d'infection.

### 3-2- *Podosphaera pannosa*, agent responsable de l'oïdium

#### 3-2-1- Matériels et méthodes

Huit conditions expérimentales ont été définies pour les deux premiers essais réalisés :

- 5 produits de biocontrôle : Limocide, Soriale, Trianum, Fytosave, CL + inoculation avec *P. pannosa*
- 2 témoins positifs "Produit" : Bion et Méthyljasmontate (MeJa) + inoculation avec *P. pannosa*
- 1 témoin positif "Test" = témoin négatif "Produit" : eau + inoculation avec *P. pannosa*

Vingt à 30 plants de rosier ont été testés par condition expérimentale : 5 génotypes avec 4-6 copies/génotype.

Les produits (et témoins) ont été appliqués par pulvérisation foliaire aux mêmes concentrations que précédemment (tableau 8). Deux applications ont été réalisées à cinq jours d'intervalle. Deux jours après la dernière application des produits, l'isolat a été inoculé par pulvérisation à  $10^4$  conidies/ml. Les conditions de culture des plants étaient les mêmes que celles décrites pour les essais sur plantes entières sur le génotype *R. chinensis* 'Old Blush' dans l'opération 1.

Deux essais ont été menés au cours du projet (mai 2023 et février 2024). Notons que le génotype La Garçonne® n'a pu être testé que lors du premier essai par manque de matériel végétal.

Un dernier essai (avril 2024) a été conduit avec trois génotypes ('Old Blush', Paul Bocuse®, Chartreuse de Parme®) et trois produits (Limocide, Soriale et Fytosave)/un témoin (Bion) dans l'objectif d'évaluer l'effet de la poursuite des traitements post-inoculation. Quatre applications ont donc été réalisées : deux aux mêmes délais avant l'inoculation que précédemment et deux autres applications 7 et 14 jours après inoculation. Les conditions de culture des plants étaient les mêmes que précédemment.

Les symptômes ont été notés entre 21 et 28 jours après inoculation, au moment d'infestation suffisante sur le témoin eau et selon l'échelle de notation décrite dans le tableau 4.

### 3-2-2- Résultats

Comme pour la maladie des taches noires, nous avons pu observer des différences d'efficacité entre les produits, et une efficacité variable pour un même produit selon les génotypes (tableau 10).

**Tableau 10.** Pourcentage de protection des produits contre l'oïdium pour chacun des cinq génotypes de rosier.

|         |                     |                     | Produits |          |          |         |     |         |
|---------|---------------------|---------------------|----------|----------|----------|---------|-----|---------|
| Essai   | Date de traitements | Génotypes           | Bion     | Fytosave | Limocide | Soriale | CL  | Trianum |
| Essai 1 | J-7/J-2             | Old Blush           | 80       | 20       | 20       | 40      | 60  | 0       |
|         |                     | Paul Bocuse         | 60       | 0        | 40       | 0       | 20  | 0       |
|         |                     | Eddy Mitchell       | 0        | 0        | 100      | 0       | 100 | 0       |
|         |                     | Chartreuse de Parme | 67       | 0        | 0        | 0       | 100 | 100     |
|         |                     | La Garçonne         | 0        | 0        | 0        | 0       | 0   | 0       |
| Essai 2 | J-7/J-2             | Old Blush           | 67       | 0        | 11       | 22      | 11  | 0       |
|         |                     | Paul Bocuse         | 100      | 36       | 64       | 36      | 57  | 57      |
|         |                     | Eddy Mitchell       | 84       | 34       | 50       | 67      | 42  | 42      |
|         |                     | Chartreuse de Parme | 43       | 33       | 10       | 10      | 38  | 15      |
| Essai 3 | J-7/J-2/J+7/J+14    | Old Blush           | 43       | 21       | 32       | 14      |     |         |
|         |                     | Paul Bocuse         | 38       | 11       | 28       | 23      |     |         |
|         |                     | Chartreuse de Parme | 30       | 30       | 30       | 25      |     |         |

Les efficacités en conditions semi-contrôlées sont partielles et variables selon les génotypes. La forte efficacité de certains produits lors de l'essai 1 (Limocide : 100% sur Eddy Mitchell® ; CL : 100% sur Eddy Mitchell® et Chartreuse de Parme® ; Trianum : 100% sur Chartreuse de Parme®) a été plus limitée lors de l'essai 2 (diminuant de 50% jusqu'à 15%). Aucun produit n'a montré d'efficacité quand appliqué sur La Garçonne®, mais rappelons que ce génotype n'a pu être testé que lors du premier essai.

Les traitements réalisés post-inoculation n'ont pas apporté l'effet escompté dans l'essai 3 : l'efficacité de ces applications s'est limitée entre 11 et 32% par rapport au témoin eau, tous génotypes et produits confondus.

### 3-3- *Phragmidium mucronatum*, agent responsable de la rouille

#### 3-3-1- Matériels et méthodes

Compte tenu de la disponibilité en matériel végétal, l'essai Rouille a dû être réduit par rapport aux essais Taches noires et Oïdium.

Six conditions expérimentales ont alors été définies :

- 4 produits de biocontrôle : Limocide, Soriale, Trianum, Fytosave + inoculation avec *P. mucronatum*
- 1 témoin positif "Produit" : Bion + inoculation avec *P. mucronatum*
- 1 témoin positif "Test" = témoin négatif "Produit" : eau + inoculation avec *P. mucronatum*

Trois génotypes ont pu être testés : 'Old Blush', Eddy Mitchell® et Paul Bocuse®, avec 3 copies/génotype.

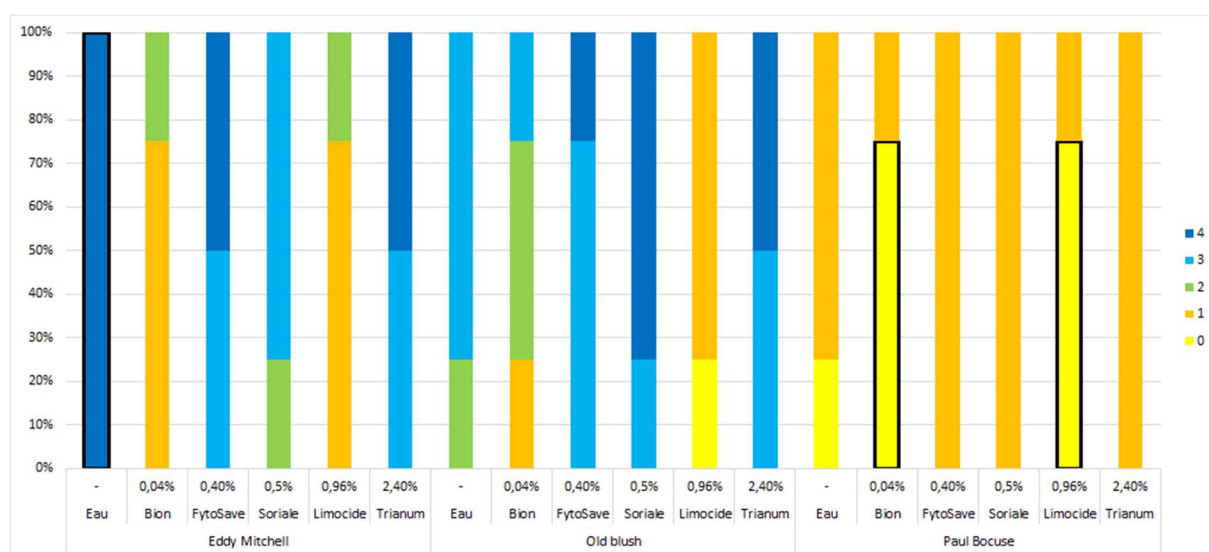
Les produits (et témoin) ont été appliqués par pulvérisation foliaire aux mêmes concentrations que pour les essais Taches noires et Oïdium. Deux applications ont été réalisées à trois jours d'intervalle. Deux jours après la dernière application des produits, l'isolat a été inoculé par pulvérisation à 50 000 conidies/ml. Les plants ont été placés en salle de culture à 18-20°C, dans des mini-serres, afin de maintenir une hygrométrie saturante 48h après l'inoculation.

Les symptômes ont été notés 18 jours après inoculation et selon l'échelle de notation décrite dans la figure 9.

Un seul essai a pu être mené au cours du projet (octobre 2024).

### 3-3-2- Résultats

En se référant à la modalité eau, les trois génotypes évalués ont montré une sensibilité différente à la rouille (figure 17). Eddy Mitchell® était le plus sensible (le maximum de sensibilité par rapport à l'échelle choisie, soit un indice maladie de 4 pour l'ensemble des plantes), 'Old Blush' avait un comportement intermédiaire (avec des indices de maladie de 2 et 3) et Paul Bocuse® s'est montré très tolérant (avec 75% des plantes avec un indice maladie de 0, et 25% avec un indice maladie de 1).



**Figure 17.** Résultat de l'essai d'efficacité de cinq produits sur trois génotypes de rosier vis-à-vis de la rouille (répartition des plants selon les classes d'indices maladie).

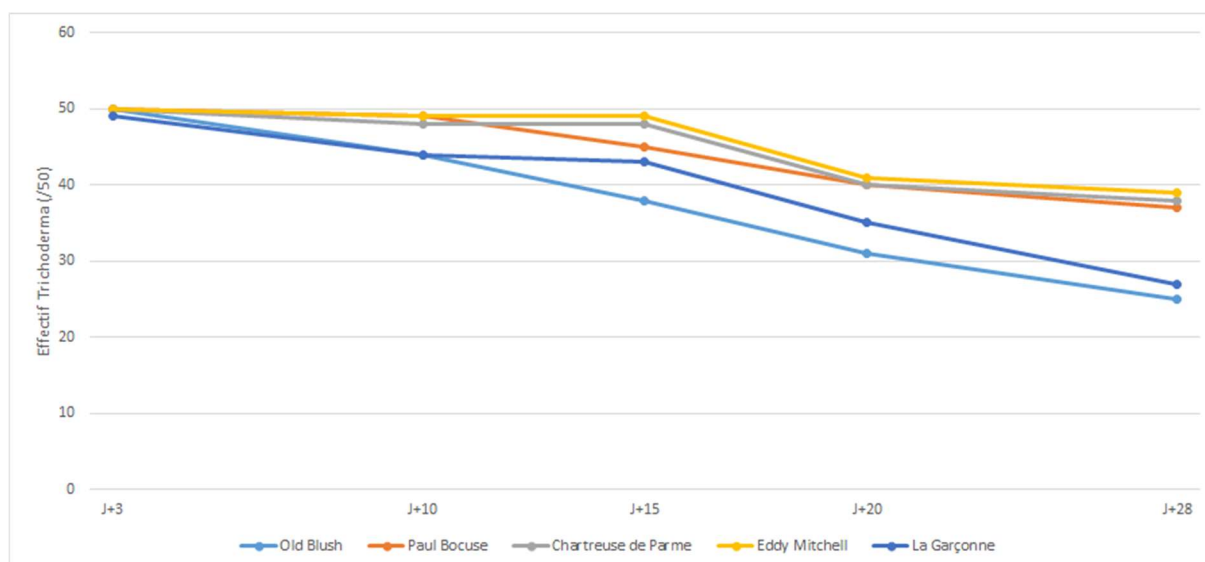
Les produits avaient également une efficacité variable (figure 18). Le Limocide a donné les meilleurs résultats sur l'ensemble des trois génotypes, dépassant même l'efficacité de la référence Bion sur la variété 'Old Blush'. Les trois autres produits (Soriale, Fytosave et Trianum) ont donné des efficacités partielles sur les trois génotypes.



**Figure 18.** Représentation de l'efficacité de cinq produits en fonction des trois génotypes de rosier vis-à-vis de la rouille.

### 3-4- Complément d'expérimentation : étude du développement de *Trichoderma* sur des jeunes plants de rosier (étude exploratoire)

Disposant de quelques jeunes plants de rosier supplémentaires à l'IRHS et connaissant peu le développement potentiel de *Trichoderma* sur les feuilles de rosier, un essai a été mené en serre. Afin d'évaluer la survie des conidies de *Trichoderma* sur les parties aériennes du rosier, des suivis cinétiques de leur capacité de colonisation sur les feuilles ont été réalisés sur les cinq génotypes. Après application du traitement Trianum, cinq feuilles de rosier ont été prélevées par génotype. Dix explants par feuille ont été déposés sur un milieu PDA additionné de streptomycine (500 mg/L), sans désinfection superficielle. Les cultures ont été incubées pendant trois jours à 22°C à l'obscurité, puis le nombre d'explants présentant la présence de *Trichoderma* a été dénombré. Les prélèvements ont été effectués de J+3 à J+28 après traitement.

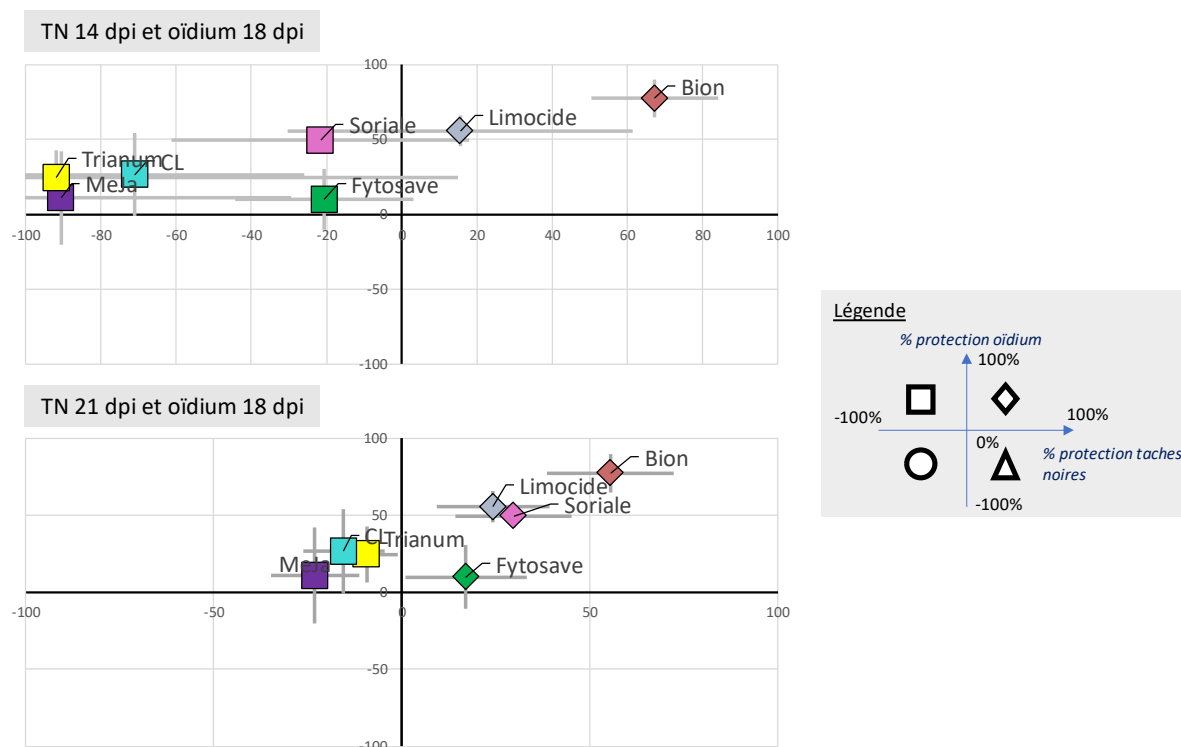


**Figure 19.** Suivi cinétique de la capacité de colonisation de *Trichoderma* sur les feuilles des cinq génotypes de rosier.

Nous avons observé que les conidies de *Trichoderma* survivaient sur les feuilles de rosier jusqu'à 28 jours après traitement, avec plus de 50 % des explants révélant leur présence sous une forme viable (figure 19). Une différence pourrait être notée entre les génotypes : 'Old Blush' et La Garçonne® présentaient un taux de survie de 50 % contre 80 % pour les trois autres génotypes. Des expérimentations supplémentaires seraient nécessaires pour confirmer ces résultats. L'inefficacité du produit Trianum ne résulterait pas de la non-viabilité des conidies sur les feuilles de rosier mais plutôt de leur difficulté à s'y développer.

#### 4- Produits retenus pour l'opération 3

Afin de pouvoir débiter les essais sur le terrain dès le début du printemps 2024, la sélection des produits retenus pour l'opération 3 s'est basée sur : les résultats obtenus en serre pour le second essai Taches noires + les résultats obtenus en serre pour le premier essai Oïdium. Considérant conjointement ces résultats sur la moyenne des cinq génotypes (figure 20), les produits les plus prometteurs étaient : Limocide, Soriale et Fytosave.



**Figure 20.** Pourcentage de protection moyenne (sur les cinq génotypes) des produits contre la maladie des taches noires (TN à 14 et 21 dpi) et l'oïdium (18 dpi). Les barres d'erreurs représentent les erreurs standards.

Une question s'est posée pour le choix du produit de référence (témoin positif). Pour les essais des opérations 1 et 2, les témoins positifs étaient le Bion et le Méthyljasmonate (MeJa). Même si le Bion s'est révélé efficace que soit vis-à-vis de la maladie des taches noires ou de l'oïdium, une information nous était parvenue indiquant que ce produit serait retiré de la commercialisation. Pour ce qui était du MeJa, il n'a montré aucune efficacité vis-à-vis de ces deux maladies en conditions contrôlées. Il a donc été décidé de choisir un autre produit de référence. Le choix s'est porté sur le Limocide car : (i) il était efficace contre la maladie des taches noires et l'oïdium en conditions contrôlées, (ii) il était déjà homologué contre ces deux maladies mais non contre le mildiou et la rouille.

Les deux autres produits retenus ont été :

- Soriale : efficace en conditions contrôlées contre la maladie des taches noires et l'oïdium ;
- Fytosave : efficace en conditions contrôlées contre la maladie des taches noires et l'oïdium mais avec une efficacité réduite pour ce dernier pathogène.

Le CL n'a pas été retenu car malgré une efficacité contre l'oïdium, il était inefficace contre la maladie des taches noires. De même, le Trium s'est révélé pas et peu efficace contre la maladie des taches noires et l'oïdium, respectivement.

### OPERATION 3 : VALIDATION DE L'INTERACTION BIOCONTROLE X RESISTANCE VARIETALE SUR LA GESTION DES PATHOGENES FONGIQUES DU ROSIER, EN CONDITIONS NATURELLES

L'objectif de cette troisième opération consistait à valider, en conditions naturelles, l'efficacité de deux produits sélectionnés en sortie de l'opération 2 (et les témoins positif et négatif), en interaction avec la résistance variétale.

## 1- Matériels et méthodes

### 1-1- Mise en place du dispositif expérimental au champ

Les géotypes de rosier notés en plein champ étaient les mêmes que ceux étudiés en conditions contrôlées.

Le choix s'est porté sur des plants greffés car ce type de plants correspond à ce qui est planté par les gestionnaires des aménagements paysagers publics et les jardiniers amateurs. Les rosiers ont tous été fournis en racines nues.

Pour un géotype de rosier donné, la totalité des plants provenait d'un même fournisseur : Paul Bocuse® de la Roseraie Guillot (roseraie rattachée au partenaire SCEA SIRPHE) ; Chartreuse de Parme® de la Société Nouvelle des Pépinières et Roseraies Georges Delbard ; *R. chinensis* 'Old Blush', Eddy Mitchell® et La Garçonne® des Pépinières Chastel.

La plantation s'est faite fin 2022-début 2023 sur les différents sites (figure 21). L'année 2023 a permis aux plantes de bien s'installer et de former leur architecture avant le début des essais. Le dispositif expérimental mis en place sur chacun des sites était un dispositif en split-plot (expérimentation en blocs aléatoires complets en parcelles divisées). Il comprenait (5 géotypes, avec 3 copies/géotype, x (2 produits à tester + 1 témoin non traité + 1 témoin positif)) x 3 répétitions (3 blocs), soit un total de 180 plantes par site. Un exemple est donné sur la figure 22.



**Figure 21.** Répartition des sites expérimentaux pour les essais au champ.



**Figure 22.** Dispositif expérimental mis en place au champ : exemple du site du CATE.

## 1-2- Evaluation de l'efficacité des produits au champ

L'essai en conditions naturelles a été réalisé sur cinq sites expérimentaux mais n'a pu être mené que sur une seule année (2024).

Les conditions d'application des produits sont indiquées dans le tableau 11.

**Tableau 11.** Conditions d'application au champ des produits de biocontrôle.

| Produits                 | Dose (ml/L) | Temps entre 2 applications (jours)                                              | Nb d'applications |
|--------------------------|-------------|---------------------------------------------------------------------------------|-------------------|
| Limocide<br>= Essen'ciel | 6           | entre 1 <sup>ère</sup> et 2 <sup>ème</sup> : 10±2<br>entre les suivantes : 14±2 | (6) 8             |
| Soriale                  | 5           |                                                                                 |                   |
| Fytosave<br>= Esdeaine   | 4           |                                                                                 |                   |
| Eau                      | -           |                                                                                 |                   |

Note : Le volume de bouillie variait selon le stade physiologique des rosiers et le pulvérisateur utilisé.

Sur chaque site, les applications ont débuté une fois que tous les génotypes avaient atteint (au moins) le stade "2 feuilles déployées", en respectant les conditions suivantes :

- Limocide : 24h sans pluie ni rosée, obligatoire ; température < 30°C au moment de l'application et pendant les 6 heures suivantes ;
- Fytosave : pas de pluie pendant 1h après application ;
- Soriale : température < 25 °C et hygrométrie > 70 % au moment de l'application.

Les quatre maladies foliaires ont été notées sur l'ensemble des sites (maladie des taches noires, oïdium, mildiou et rouille) en suivant des échelles de notation communes :

- une note globale de défoliation (toutes maladies confondues car on ne peut pas être sûr de la cause de la chute des feuilles selon les maladies présentes ; tableau 12) ;
- une note de pourcentage de folioles infectées pour chaque maladie (tableaux 13 à 15).

Les maladies ont été observées 10 jours après chaque application des produits.

**Tableau 12.** Echelle de notation de la défoliation (notation de l'ensemble du rosier).

| Note | Descriptif                      |
|------|---------------------------------|
| 0    | Pas de défoliation              |
| 1    | Défoliation < ¼ de la plante    |
| 2    | Défoliation ≈ ¼ de la plante    |
| 3    | Défoliation ≈ ½ de la plante    |
| 4    | Défoliation ≈ ¾ de la plante    |
| 5    | Défoliation totale de la plante |

**Tableau 13.** Echelle de notation de la maladie des taches noires et du mildiou (notation de l'ensemble du rosier car ces maladies attaquent aussi bien la partie basse que la partie haute des géotypes sensibles).

| Note | Descriptif                                    |
|------|-----------------------------------------------|
| 0    | Aucun symptôme                                |
| 1    | Quelques taches à 10 % des folioles infectées |
| 2    | > 10 % à 25 % des folioles infectées          |
| 3    | > 25 % à 33 % des folioles infectées          |
| 4    | > 33 % à 50 % des folioles infectées          |
| 5    | > 50 % à 66 % des folioles infectées          |
| 6    | > 66 % à 75 % des folioles infectées          |
| 7    | > 75 % à 90 % des folioles infectées          |
| 8    | > 90 % à 100 % des folioles infectées         |

*Note :* on s'intéresse au nombre de folioles infectées et non à la surface foliaire infectée car une foliole avec une seule tache peut ensuite tomber.

**Tableau 14.** Echelle de notation de la rouille (notation de l'ensemble du rosier car cette maladie attaque aussi bien la partie basse que la partie haute des géotypes sensibles).

| Note | Descriptif                                                                                                                 |
|------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 0    | Aucun symptôme                                                                                                             |
| 1    | Quelques taches jaunes/brunes (sur face supérieure) ou pustules orangées (sur face inférieure) à 10 % du feuillage infecté |
| 2    | > 10 % à 25 % des folioles infectées                                                                                       |
| 3    | > 25 % à 33 % des folioles infectées                                                                                       |
| 4    | > 33 % à 50 % des folioles infectées                                                                                       |
| 5    | > 50 % à 66 % des folioles infectées                                                                                       |
| 6    | > 66 % à 75 % des folioles infectées                                                                                       |
| 7    | > 75 % à 90 % des folioles infectées                                                                                       |
| 8    | > 90 % à 100 % des folioles infectées                                                                                      |

*Note :* les taches jaunes/brunes sur la face supérieure des feuilles apparaissent généralement en même temps que les pustules orangées sur la face inférieure des feuilles ; les deux types de symptômes ne sont donc pas à cumuler.

**Tableau 15.** Echelle de notation de l'oïdium (notation de la moitié haute du rosier car l'oïdium attaque essentiellement les parties jeunes de la plante).

| Note | Descriptif                                                                                                                                                        |
|------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 0    | Aucun symptôme                                                                                                                                                    |
| 1    | Légère déformation/crispation de quelques folioles ou organes floraux et/ou quelques taches sporulantes (feutrage blanc) sur quelques folioles ou organes floraux |
| 2    | Feutrage blanc $\leq 10\%$ du feuillage et/ou des organes floraux                                                                                                 |
| 3    | Feutrage blanc $> 10\%$ à $25\%$ du feuillage et/ou des organes floraux                                                                                           |
| 4    | Feutrage blanc $> 25\%$ à $33\%$ du feuillage et/ou des organes floraux                                                                                           |
| 5    | Feutrage blanc $> 33\%$ à $50\%$ du feuillage et/ou des organes floraux                                                                                           |
| 6    | Feutrage blanc $> 50\%$ à $66\%$ du feuillage et/ou des organes floraux                                                                                           |
| 7    | Feutrage blanc $> 66\%$ à $75\%$ du feuillage et/ou des organes floraux                                                                                           |
| 8    | Feutrage blanc $> 75\%$ à $90\%$ du feuillage et/ou des organes floraux                                                                                           |
| 9    | Feutrage blanc $> 90\%$ à $100\%$ du feuillage et/ou des organes floraux                                                                                          |

Note : on s'intéresse aux feuilles et aux organes floraux car l'oïdium peut attaquer les organes floraux sans trop atteindre les feuilles dans un 1<sup>er</sup> temps.

### 1-3- Analyse des données

Plusieurs analyses ont été réalisées :

- analyse des AUDPC (Area Under Disease Progression Curve) calculées à partir des notes séparées de défoliation et de pourcentage de folioles infectées, par site ; cette analyse permet d'avoir une représentation du niveau d'infection sur l'ensemble de l'épidémie.
- analyse séparée des notes de défoliation et de pourcentage de folioles infectées par site et par date ; cette analyse permet de repérer d'éventuels effets ponctuels des produits au cours de l'épidémie.

Pour chacune de ces deux approches, des ANOVA adaptées à un dispositif en split-plot ont été effectuées (appelées modèles linéaires mixtes ; Dagnelie, 2012). Les maladies étaient notées en classes phénotypiques mais il a été possible de les considérer comme des variables quantitatives continues car, dans chaque bloc, une note moyenne a été attribuée à chaque génotype pour un produit donné (moyenne des trois copies du génotype).

## **2- Résultats**

### 2-1- Quelles maladies étaient présentes au champ ?

La maladie des taches noires a été clairement observée sur chacun des sites. L'oïdium est juste apparu sporadiquement sur le site de SIRPHE. La rouille n'a été que passagère sur les sites de SIRPHE et Astredhor Méditerranée. Le mildiou n'a été observé sur aucun des sites. Par conséquent, seules les notations de taches noires ont pu être exploitées.

### 2-2- Analyse des AUDPC par site

Les postulats nécessaires à l'application du modèle linéaire mixte à partir de l'AUDPC, calculé sur les notes des pourcentages de folioles infectées et les notes de défoliation, ont été vérifiés (normalité et homoscedasticité des résidus pour les effets fixes et aléatoires).

## 2-2-1- Notes de % de folioles infectées

**Tableau 16.** Résultats des ANOVA réalisées sur l'AUDPC et des comparaisons multiples effectuées à l'aide des tests de Tukey HSD.

IRHS

| ANOVA                                                         |         |    |        |               |  |  |  |
|---------------------------------------------------------------|---------|----|--------|---------------|--|--|--|
|                                                               | F       | Df | Df.res | Pr(>F)        |  |  |  |
| Produit                                                       | 3.8968  | 3  | 6      | 0.07363 .     |  |  |  |
| Genotype                                                      | 47.3064 | 4  | 32     | 5.394e-13 *** |  |  |  |
| Produit:Genotype                                              | 0.6733  | 12 | 32     | 0.76344       |  |  |  |
| ---                                                           |         |    |        |               |  |  |  |
| Signif. codes: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1 |         |    |        |               |  |  |  |

| Comparaison des produits |        |      |      |          |          |        |
|--------------------------|--------|------|------|----------|----------|--------|
| Produit                  | emmean | SE   | df   | lower.CL | upper.CL | .group |
| Limocide                 | 225    | 12.8 | 5.89 | 180      | 270      | a      |
| Soriale                  | 235    | 12.8 | 5.89 | 190      | 281      | a      |
| Eau                      | 253    | 12.8 | 5.89 | 208      | 299      | a      |
| Fytosave                 | 271    | 12.8 | 5.89 | 226      | 317      | a      |

| Comparaison des génotypes |        |      |      |          |          |        |
|---------------------------|--------|------|------|----------|----------|--------|
| Genotype                  | emmean | SE   | df   | lower.CL | upper.CL | .group |
| La Garçonne               | 134    | 12.7 | 6.99 | 89.7     | 178      | a      |
| Chartreuse de Parme       | 244    | 12.7 | 6.99 | 199.7    | 288      | b      |
| Old Blush                 | 264    | 12.7 | 6.99 | 219.8    | 308      | b      |
| Paul Bocuse               | 280    | 12.7 | 6.99 | 236.3    | 325      | bc     |
| Eddy Mitchell             | 310    | 12.7 | 6.99 | 265.5    | 354      | c      |

DELBARD

| ANOVA                                                         |        |    |        |               |  |  |  |
|---------------------------------------------------------------|--------|----|--------|---------------|--|--|--|
|                                                               | F      | Df | Df.res | Pr(>F)        |  |  |  |
| Produit                                                       | 18.313 | 3  | 6      | 0.002009 **   |  |  |  |
| Genotype                                                      | 71.076 | 4  | 32     | 1.852e-15 *** |  |  |  |
| Produit:Genotype                                              | 1.090  | 12 | 32     | 0.400533      |  |  |  |
| ---                                                           |        |    |        |               |  |  |  |
| Signif. codes: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1 |        |    |        |               |  |  |  |

| Comparaison des produits |        |     |    |          |          |        |
|--------------------------|--------|-----|----|----------|----------|--------|
| Produit                  | emmean | SE  | df | lower.CL | upper.CL | .group |
| Limocide                 | 123    | 4.4 | 8  | 109      | 137      | a      |
| Soriale                  | 136    | 4.4 | 8  | 122      | 151      | a      |
| Fytosave                 | 138    | 4.4 | 8  | 124      | 152      | a      |
| Eau                      | 167    | 4.4 | 8  | 153      | 181      | b      |

| Comparaison des génotypes |        |      |      |          |          |        |
|---------------------------|--------|------|------|----------|----------|--------|
| Genotype                  | emmean | SE   | df   | lower.CL | upper.CL | .group |
| La Garçonne               | 90.1   | 4.33 | 19.8 | 77.8     | 102      | a      |
| Paul Bocuse               | 136.6  | 4.33 | 19.8 | 124.3    | 149      | b      |
| Eddy Mitchell             | 141.5  | 4.33 | 19.8 | 129.2    | 154      | b      |
| Chartreuse de Parme       | 148.9  | 4.33 | 19.8 | 136.6    | 161      | b      |
| Old Blush                 | 188.5  | 4.33 | 19.8 | 176.2    | 201      | c      |

## CATE

| ANOVA                                                         |         |    |        |               |
|---------------------------------------------------------------|---------|----|--------|---------------|
|                                                               | F       | Df | Df.res | Pr(>F)        |
| Produit                                                       | 0.1460  | 3  | 6      | 0.9286        |
| Genotype                                                      | 18.1616 | 4  | 32     | 7.077e-08 *** |
| Produit:Genotype                                              | 1.1189  | 12 | 32     | 0.3795        |
| ---                                                           |         |    |        |               |
| Signif. codes: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1 |         |    |        |               |

## Comparaison des produits

| Produit  | emmean | SE   | df  | lower.CL | upper.CL | .group |
|----------|--------|------|-----|----------|----------|--------|
| Fytosave | 73.2   | 3.17 | 2.6 | 53.6     | 92.9     | a      |
| Limocide | 73.8   | 3.17 | 2.6 | 54.2     | 93.5     | a      |
| Eau      | 74.3   | 3.17 | 2.6 | 54.7     | 93.9     | a      |
| Soriale  | 74.3   | 3.17 | 2.6 | 54.7     | 93.9     | a      |

## Comparaison des génotypes

| Genotype            | emmean | SE   | df   | lower.CL | upper.CL | .group |
|---------------------|--------|------|------|----------|----------|--------|
| Old Blush           | 65.5   | 3.24 | 2.84 | 45.6     | 85.4     | a      |
| La Garçonne         | 71.6   | 3.24 | 2.84 | 51.8     | 91.5     | b      |
| Eddy Mitchell       | 74.9   | 3.24 | 2.84 | 55.0     | 94.8     | b      |
| Chartreuse de Parme | 74.9   | 3.24 | 2.84 | 55.0     | 94.8     | b      |
| Paul Bocuse         | 82.7   | 3.24 | 2.84 | 62.8     | 102.5    | c      |

## AMED

| ANOVA                                                         |         |    |        |               |
|---------------------------------------------------------------|---------|----|--------|---------------|
|                                                               | F       | Df | Df.res | Pr(>F)        |
| Produit                                                       | 9.5388  | 3  | 6      | 0.01062 *     |
| Genotype                                                      | 15.0066 | 4  | 32     | 5.225e-07 *** |
| Produit:Genotype                                              | 0.9652  | 12 | 32     | 0.49988       |
| ---                                                           |         |    |        |               |
| Signif. codes: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1 |         |    |        |               |

## Comparaison des produits

| Produit  | emmean | SE   | df   | lower.CL | upper.CL | .group |
|----------|--------|------|------|----------|----------|--------|
| Soriale  | 333    | 20.5 | 3.07 | 225      | 440      | a      |
| Fytosave | 390    | 20.5 | 3.07 | 283      | 497      | b      |
| Limocide | 393    | 20.5 | 3.07 | 286      | 501      | b      |
| Eau      | 407    | 20.5 | 3.07 | 299      | 514      | b      |

## Comparaison des génotypes

| Genotype            | emmean | SE   | df   | lower.CL | upper.CL | .group |
|---------------------|--------|------|------|----------|----------|--------|
| La Garçonne         | 325    | 20.9 | 3.37 | 216      | 434      | a      |
| Old Blush           | 352    | 20.9 | 3.37 | 243      | 461      | ab     |
| Chartreuse de Parme | 385    | 20.9 | 3.37 | 276      | 494      | bc     |
| Eddy Mitchell       | 406    | 20.9 | 3.37 | 298      | 515      | cd     |
| Paul Bocuse         | 435    | 20.9 | 3.37 | 326      | 544      | d      |

## SIRPHE

| ANOVA                                                         |         |    |        |               |
|---------------------------------------------------------------|---------|----|--------|---------------|
|                                                               | F       | Df | Df.res | Pr(>F)        |
| Produit                                                       | 0.2343  | 3  | 6      | 0.8694        |
| Genotype                                                      | 42.6576 | 4  | 32     | 2.166e-12 *** |
| Produit:Genotype                                              | 1.0258  | 12 | 32     | 0.4499        |
| ---                                                           |         |    |        |               |
| Signif. codes: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1 |         |    |        |               |

## Comparaison des produits

| Produit  | emmean | SE | df | lower.CL | upper.CL | .group |
|----------|--------|----|----|----------|----------|--------|
| Soriale  | 362    | 16 | 8  | 311      | 413      | a      |
| Limocide | 367    | 16 | 8  | 316      | 418      | a      |
| Eau      | 374    | 16 | 8  | 323      | 425      | a      |
| Fytosave | 380    | 16 | 8  | 329      | 431      | a      |

## Comparaison des génotypes

| Genotype            | emmean | SE   | df   | lower.CL | upper.CL | .group |
|---------------------|--------|------|------|----------|----------|--------|
| Old Blush           | 233    | 14.1 | 15.3 | 192      | 275      | a      |
| Paul Bocuse         | 344    | 14.1 | 15.3 | 302      | 385      | b      |
| La Garçonne         | 413    | 14.1 | 15.3 | 372      | 455      | c      |
| Eddy Mitchell       | 432    | 14.1 | 15.3 | 390      | 473      | c      |
| Chartreuse de Parme | 433    | 14.1 | 15.3 | 391      | 474      | c      |

D'après le tableau 16, le modèle n'a révélé aucune interaction Produit x Génotype quel que soit le site expérimental.

Un effet Produit n'a pu être observé que sur deux sites (Delbard et Astredhor Méditerranée, AMED) où le Soriale semblerait se distinguer.

Un effet Génotype a été mis en évidence sur chacun des sites : La Garçonne® présentait le moins de folioles infectées contrairement à Eddy Mitchell® qui était l'un des génotypes présentant le plus de folioles infectées quel que soit le site. Pour ce qui est des génotypes 'Old Blush', Paul Bocuse® et Chartreuse de Parme®, leurs comportements variaient selon les sites.

## 2-2-2- Notes de défoliation

**Tableau 17.** Résultats des ANOVA réalisées sur l'AUDPC et des comparaisons multiples effectuées à l'aide des tests de Tukey HSD.

|         |                                  |          |       |        |          |          |                        |
|---------|----------------------------------|----------|-------|--------|----------|----------|------------------------|
| IRHS    | <b>ANOVA</b>                     |          |       |        |          |          |                        |
|         |                                  | F        | Df    | Df.res | Pr(>F)   |          |                        |
|         | Produit                          | 3.5057   | 3     | 6      | 0.08934  | .        |                        |
|         | Génotype                         | 121.2364 | 4     | 32     | < 2e-16  | ***      |                        |
|         | Produit:Génotype                 | 0.6338   | 12    | 32     | 0.79772  |          |                        |
|         | ---                              |          |       |        |          |          |                        |
|         | Signif. codes:                   | 0        | '***' | 0.001  | '**'     | 0.01     | '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1 |
|         | <b>Comparaison des produits</b>  |          |       |        |          |          |                        |
|         | Produit                          | emmean   | SE    | df     | lower.CL | upper.CL | .group                 |
|         | Soriale                          | 55.0     | 3.09  | 6.59   | 44.5     | 65.5     | a                      |
|         | Limocide                         | 57.8     | 3.09  | 6.59   | 47.3     | 68.3     | a                      |
|         | Eau                              | 60.5     | 3.09  | 6.59   | 50.0     | 71.0     | a                      |
|         | Fytosave                         | 66.6     | 3.09  | 6.59   | 56.1     | 77.1     | a                      |
|         | <b>Comparaison des génotypes</b> |          |       |        |          |          |                        |
|         | Génotype                         | emmean   | SE    | df     | lower.CL | upper.CL | .group                 |
|         | La Garçonne                      | 13.2     | 3.07  | 8.84   | 3.21     | 23.2     | a                      |
|         | Chartreuse de Parme              | 58.4     | 3.07  | 8.84   | 48.36    | 68.4     | b                      |
|         | Paul Bocuse                      | 68.3     | 3.07  | 8.84   | 58.32    | 78.3     | bc                     |
|         | Eddy Mitchell                    | 74.9     | 3.07  | 8.84   | 64.89    | 84.9     | cd                     |
|         | Old Blush                        | 85.2     | 3.07  | 8.84   | 75.18    | 95.2     | d                      |
| DELBARD | <b>ANOVA</b>                     |          |       |        |          |          |                        |
|         |                                  | F        | Df    | Df.res | Pr(>F)   |          |                        |
|         | Produit                          | 6.1333   | 3     | 6      | 0.02936  | *        |                        |
|         | Génotype                         | 119.3539 | 4     | 32     | < 2e-16  | ***      |                        |
|         | Produit:Génotype                 | 1.3688   | 12    | 32     | 0.23112  |          |                        |
|         | ---                              |          |       |        |          |          |                        |
|         | Signif. codes:                   | 0        | '***' | 0.001  | '**'     | 0.01     | '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1 |
|         | <b>Comparaison des produits</b>  |          |       |        |          |          |                        |
|         | Produit                          | emmean   | SE    | df     | lower.CL | upper.CL | .group                 |
|         | Limocide                         | 134      | 5.3   | 7.82   | 117      | 151      | a                      |
|         | Soriale                          | 148      | 5.3   | 7.82   | 131      | 165      | ab                     |
|         | Fytosave                         | 151      | 5.3   | 7.82   | 134      | 168      | ab                     |
|         | Eau                              | 164      | 5.3   | 7.82   | 147      | 181      | b                      |
|         | <b>Comparaison des génotypes</b> |          |       |        |          |          |                        |
|         | Génotype                         | emmean   | SE    | df     | lower.CL | upper.CL | .group                 |
|         | La Garçonne                      | 80.9     | 4.76  | 11.3   | 66.2     | 95.5     | a                      |
|         | Paul Bocuse                      | 150.6    | 4.76  | 11.3   | 136.0    | 165.2    | b                      |
|         | Eddy Mitchell                    | 151.9    | 4.76  | 11.3   | 137.3    | 166.5    | b                      |
|         | Chartreuse de Parme              | 154.2    | 4.76  | 11.3   | 139.6    | 168.9    | b                      |
|         | Old Blush                        | 208.4    | 4.76  | 11.3   | 193.8    | 223.1    | c                      |

## CATE

## ANOVA

```

              F Df Df.res      Pr(>F)
Produit          0.5750  3      6    0.6522
Genotype        10.4800  4     32 1.533e-05 ***
Produit:Genotype  0.7779 12     32    0.6682
---
Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

```

## Comparaison des produits

```

Produit  emmean  SE  df lower.CL upper.CL .group
Soriale   19.8 1.52 5.1    14.1    25.5  a
Eau       20.2 1.52 5.1    14.5    25.9  a
Limocide  21.2 1.52 5.1    15.5    26.9  a
Fytosave  21.7 1.52 5.1    16.0    27.4  a

```

## Comparaison des génotypes

```

Genotype      emmean  SE  df lower.CL upper.CL .group
La Garçonne   16.0 1.59 6.75    10.4    21.6  a
Old Blush     19.0 1.59 6.75    13.4    24.6  a
Eddy Mitchell  19.0 1.59 6.75    13.4    24.6  a
Paul Bocuse   24.8 1.59 6.75    19.2    30.4  b
Chartreuse de Parme 24.8 1.59 6.75    19.2    30.4  b

```

## AMED

## ANOVA

```

              F Df Df.res      Pr(>F)
Produit          0.1539  3      6    0.9234
Genotype        50.0348  4     32 2.515e-13 ***
Produit:Genotype  1.3867 12     32    0.2227
---
Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

```

## Comparaison des produits

```

Produit  emmean  SE  df lower.CL upper.CL .group
Limocide  96.7 3.58 7.96    85.3    108  a
Eau       97.7 3.58 7.96    86.3    109  a
Soriale   99.1 3.58 7.96    87.7    111  a
Fytosave  99.8 3.58 7.96    88.3    111  a

```

## Comparaison des génotypes

```

Genotype      emmean  SE  df lower.CL upper.CL .group
Old Blush     60.9 3.98 22.5    49.7    72.0  a
La Garçonne   76.3 3.98 22.5    65.2    87.5  a
Eddy Mitchell 116.8 3.98 22.5   105.6   128.0  b
Paul Bocuse   118.6 3.98 22.5   107.4   129.8  b
Chartreuse de Parme 119.1 3.98 22.5   107.9   130.2  b

```

## ANOVA

|                                                               | F       | Df | Df.res | Pr(>F)        |
|---------------------------------------------------------------|---------|----|--------|---------------|
| Produit                                                       | 0.2548  | 3  | 6      | 0.8554        |
| Genotype                                                      | 20.2100 | 4  | 32     | 2.181e-08 *** |
| Produit:Genotype                                              | 0.9901  | 12 | 32     | 0.4791        |
| ---                                                           |         |    |        |               |
| Signif. codes: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1 |         |    |        |               |

## Comparaison des produits

| Produit  | emmean | SE   | df  | lower.CL | upper.CL | .group |
|----------|--------|------|-----|----------|----------|--------|
| Fytosave | 132    | 6.19 | 7.8 | 112      | 152      | a      |
| Soriale  | 133    | 6.19 | 7.8 | 113      | 153      | a      |
| Limocide | 135    | 6.19 | 7.8 | 116      | 155      | a      |
| Eau      | 139    | 6.19 | 7.8 | 119      | 159      | a      |

## Comparaison des géotypes

| Genotype            | emmean | SE   | df   | lower.CL | upper.CL | .group |
|---------------------|--------|------|------|----------|----------|--------|
| La Garçonne         | 101    | 6.85 | 19.6 | 81.4     | 120      | a      |
| Old Blush           | 115    | 6.85 | 19.6 | 95.1     | 134      | ab     |
| Paul Bocuse         | 135    | 6.85 | 19.6 | 115.4    | 154      | bc     |
| Eddy Mitchell       | 146    | 6.85 | 19.6 | 126.6    | 166      | c      |
| Chartreuse de Parme | 178    | 6.85 | 19.6 | 158.0    | 197      | d      |

D'après le tableau 17, le modèle n'a de nouveau révélé aucune interaction Produit x Génotype quel que soit le site expérimental.

Un effet Produit n'a ici été observé que sur le site de Delbard avec une efficacité du Limocide significative par rapport au témoin non traité.

Un effet Génotype a de nouveau été mis en évidence sur chaque site : La Garçonne® présentait peu de défoliation quel que soit le site. Paul Bocuse® et Eddy Mitchell® se situaient dans les classes moyennes. Le comportement des géotypes 'Old Blush' et Chartreuse de Parme® variait de nouveau selon les sites.

### 2-3- Analyse des notes par site et par date

Les premiers résultats semblent montrer qu'il n'y a pas d'interaction Produit x Génotype quel que soit le site expérimental. Un effet Génotype a été mis en évidence sur chaque site. En revanche, un effet Produit n'a pas clairement été détecté. A ce stade des analyses, quelques problèmes de respect des postulats (normalité des résidus en particulier) persistent. Ainsi les résultats ne seront pas illustrés dans ce rapport car ils méritent d'être améliorés.

### 2-4- Poursuite des analyses de données

Jusqu'alors, les deux notes complémentaires permettant d'évaluer le niveau de maladie (note de défoliation + note de pourcentage de folioles infectées) ont été exploitées séparément. Etant donné que seule la maladie des taches noires s'est développée sur tous les sites, et qu'aucun autre problème sanitaire ou physiologique n'a été observé, la défoliation peut être attribuée à cette maladie des taches noires. De plus, le développement de l'architecture des géotypes est très variable, ce qui peut impacter l'évaluation des symptômes. Par exemple, 'Old Blush' produit de nouvelles pousses rapidement qui peuvent rendre moins visible le degré de défoliation.

Il nous paraît alors pertinent de rassembler les deux notes en une. Nous proposons ainsi la transformation illustrée dans la figure 23.

**Note de % de folioles infectées (0 à 8) :**

| Note | Descriptif                                    |
|------|-----------------------------------------------|
| 0    | Aucun symptôme                                |
| 1    | Quelques taches à 10 % des folioles infectées |
| 2    | > 10 % à 25 % des folioles infectées          |
| 3    | > 25 % à 33 % des folioles infectées          |
| 4    | > 33 % à 50 % des folioles infectées          |
| 5    | > 50 % à 66 % des folioles infectées          |
| 6    | > 66 % à 75 % des folioles infectées          |
| 7    | > 75 % à 90 % des folioles infectées          |
| 8    | > 90 % à 100 % des folioles infectées         |

**Note de défoliation (0 à 5) :**

| Note | Descriptif                      |
|------|---------------------------------|
| 0    | Pas de défoliation              |
| 1    | Défoliation < ¼ de la plante    |
| 2    | Défoliation ≈ ¼ de la plante    |
| 3    | Défoliation ≈ ½ de la plante    |
| 4    | Défoliation ≈ ¾ de la plante    |
| 5    | Défoliation totale de la plante |

**Une même échelle pour chaque date de notation (0 à 10) = 1 seule note**

| Note | Descriptif                                        |
|------|---------------------------------------------------|
| 0    | Aucun symptôme                                    |
| 1    | Quelques taches à 10 % des folioles infectées     |
| 2    | > 10 % à 25 % des folioles infectées              |
| 3    | > 25 % à 33 % des folioles infectées              |
| 4    | > 33 % à 50 % des folioles infectées              |
| 5    | > 50 % à 66 % des folioles infectées              |
| 6    | > 66 % à 75 % des folioles infectées              |
| 7    | > 75 % des folioles infectées, pas de défoliation |
| 8    | > 75 % des folioles infectées, défoliation        |
| 9    | 100 % des folioles infectées, forte défoliation   |
| 10   | Défoliation totale                                |

**Figure 23.** Echelle de notation regroupant le % de folioles infectées et le degré de défoliation relatifs à la maladie des taches noires.

Cette note de maladie globale nous permettrait d'évaluer au mieux le comportement des génotypes de rosier, et ce au cours de l'épidémie.

### 3- Conclusion

Nous constatons que l'année 2024 n'a pas été favorable au développement des différentes maladies étudiées dans ce projet : seule la maladie des taches noires a été observée.

Les observations au champ restent à confirmer et à approfondir avec les analyses de données proposées ci-dessus. Toutefois, nous pouvons tenter d'expliquer les premiers résultats obtenus. Les maladies pouvant être présentes de mars à octobre, nous avons fait le choix d'effectuer les deux premières applications des produits à 10 jours d'intervalle puis tous les quinze jours afin de couvrir une période maximale tout en limitant le nombre d'applications (nombre maximal d'applications pour les produits homologués : 6-8). Le manque d'efficacité des produits pourrait être dû à un intervalle trop long entre deux applications. De plus, les conditions météorologiques ont pu diminuer l'effet potentiel des produits : même si les conditions d'application des produits ont été respectées au mieux, il y a pu avoir des phénomènes de lessivage ou à l'inverse des pics de chaleurs selon les sites expérimentaux.

## CONCLUSION GENERALE

Le projet ROBIO avait pour objectif de tester l'efficacité de produits de biocontrôle en suivant une démarche progressive qui allait des tests en laboratoire vers l'expérimentation multi-locale sur le terrain. Nous pouvons considérer que la démarche proposée a été validée : les produits sélectionnés suite aux essais en laboratoire ont montré une efficacité en conditions contrôlées et sembleraient être les plus prometteurs au champ même si ces résultats restent encore à confirmer.

Le projet ne recherchait pas simplement à évaluer l'efficacité de produits de biocontrôle, il y associait la résistance variétale. Les résultats obtenus en conditions contrôlées et au champ ont révélé une variabilité génétique, ce qui conforte le besoin de combiner différents leviers en vue d'une protection du rosier face à ses maladies foliaires.

Trois maladies foliaires majeures étaient étudiées simultanément dans le cadre du projet ROBIO : maladies des taches noires, oïdium et mildiou. Face aux difficultés d'isolement de *Peronospora sparsa*, agent responsable du mildiou, et en parallèle à l'apparition sur le terrain d'une autre maladie, la rouille, il a été décidé de : (i) développer un pathotest relatif à cette maladie, et (ii) évaluer l'interaction produits de biocontrôle x résistance variétale en conditions contrôlées et au champ pour ce pathosystème. L'objectif était de proposer une solution intégrée capable de réduire la sensibilité du rosier à ses maladies foliaires.

## Références bibliographiques

- Chateau C., Bastide F., Guillemette T., Hamon B., Longuemare M., Alexandre S., Buronfosse M., Roman H., Leduc N., Poupard P. (2024). *In vitro* and *in vivo* biocontrol studies against *Botrytis cinerea*, the causal agent of grey mould in *Hydrangea macrophylla*. *Biocontrol Science and Technology* 34(3), 269–295.
- Dagnelie, P. (2012). Principes d'expérimentation - Planification des expériences et analyse de leurs résultats. Presses Agronomiques de Gembloux, 413 p.
- Debener, T., Byrne, D.H. (2014). Disease resistance breeding in rose: Current status and potential of biotechnological tools. *Plant Science* 228, 107-17.
- Gouit, S., Chair, I., Belabess, Z., Legrifi, I., Goura, K., Tahiri, A., Lazraq, A., & Lahlali, R. (2024). Harnessing *Trichoderma* spp.: A promising approach to control apple scab disease. *Pathogens*, 13(9), 752.
- Hibrand Saint-Oyant, L., Ruttink, T., Hamama, L., Kirov, I., Lakhwani, D., Zhou, N.N., Bourke, P.M., Daccord, N., Leus, L., Schulz, D., *et al.* (2018). A high-quality genome sequence of *Rosa chinensis* to elucidate ornamental traits. *Nature Plants* 4, 473–484.
- Livak, K.J., and Schmittgen, T.D. (2001). Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2(T)(-Delta Delta C) method. *Methods* 25, 402-408.
- Lopez-Arias, D.C., (2021). Genetics and genomics of black spot disease resistance in garden roses. Thèse de Doctorat en Génétique, Génomique et Bio-informatique : Ecole doctorale Ecologie, Géosciences, Agronomie et Alimentation. 374 p.
- Marolleau, B., Staub, J., Barrière, Q., Indiana, A., Gravouil, C., Chartier, R., Heintz, C., Devaux, M., Tharaud, M., Paulin, J.P., Dugé de Bernonville, T. and Brisset, M.N. (2013). La qPFD, un outil de criblage des SDP alias stimulateurs de défense des plantes. *Phytoma*. 664. 42-45.
- Marolleau, B., Petiteau, A., Bellanger, M.N., Sannier, M., Le Pocreau, N., Porcher, L., Paillard, S., Foucher, F., Thouroude, T., Serres-Giardi, L., *et al.* (2020). Strong differentiation within *Diplocarpon rosae* strains based on microsatellite markers and greenhouse-based inoculation protocol on *Rosa*. *Plant Pathology* 69, 1093-1107.
- Neu, E., and Debener, T. (2019). Prediction of the *Diplocarpon rosae* secretome reveals candidate genes for effectors and virulence factors. *Fungal Biology* 123, 231-239.
- Pascouau, C., Chateau, C., Bastide, F., Le Moullec-Rieu, T., Guillemette, T. *et al.* (2023). Characterization and pathogenicity of *Fusarium* spp. isolates causing root and collar rot on carrot. *Canadian Journal of Plant Pathology* 45 (1), pp.76-91.
- Salgado-Salazar, C., Shiskoff, N., Daughtrey, M., Palmer, C.L., and Crouch J.A. (2018). Downy mildew: a serious disease threat to rose health worldwide. *Plant Disease* 102, 1873-1882.
- Soufflet-Freslon, V., Marolleau, B., Thouroude, T., Chastellier, A., Pierre, S., Bellanger, M.N., Le Cam, B., Bonneau, C., Porcher, L., Leclere, A., *et al.* (2019). Development of tools to study rose resistance to black spot. *Acta Horticulturae* 1232, 213-220.
- Srivastava, A., Naina, N., Sayyed, R. (2013). Bio-control potential of *Trichoderma* species against *Alternaria brassicae*.
- Tun Nisa, R., Kausar, S., Bhat, F.A., Rather, T.R., Bhat, M.A., Dar, K.R., Jeelani, F., Ahmad WANI, A., Bashir, M., Akbar, R., Aasif Sheikh, M., Anjum, N., Majeed Shah, I., and Shakeel, M. (2023). Microscopic interaction between *Trichoderma atroviride* strain TV13 and pathogen *Alternaria mali*. *Pollution Research*. 42 (2): 106-109.
- Yamile Gómez, S., and Filgueira Duarte, J.J. (2013). Monitoring the infective process of the downy mildew causal agent within micropropagated rose plants. *Agronomía Colombiana* 30, 214-221.