

Mémoire de Fin d'Etudes

Master 2 Mention Biologie Végétale (BV)

Parcours : Gestion de la Santé des Plantes (GSP)

Année universitaire 2022 - 2023

Etude de l'interaction des leviers azote, SDP et génétique pour l'amélioration de l'immunité du pommier vis-à-vis de la tavelure

Par : Solène ALEXANDRE



Soutenu à Angers le : 05/09/2023

Maîtres de stage : Mickaël DELAIRE et Mathilde ORSEL-BALDWIN

Mémoire de Fin d'Etudes

Master 2 Mention Biologie Végétale (BV)

Parcours : Gestion de la Santé des Plantes (GSP)

Année universitaire 2022 - 2023

Etude de l'interaction des leviers azote, SDP et génétique pour l'amélioration de l'immunité du pommier vis-à-vis de la tavelure

Par : Solène ALEXANDRE



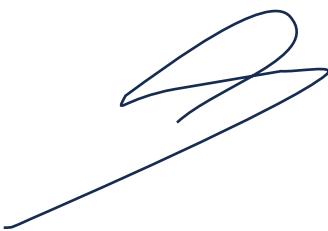
Soutenu à Angers le : 05/09/2023

Maîtres de stage : Mickaël DELAIRE et Mathilde ORSEL-BALDWIN

ENGAGEMENT DE NON PLAGIAT

Je, soussigné (e) Solène Alexandre,
déclare être pleinement conscient(e) que le plagiat de documents ou d'une partie d'un document publiés sur toutes formes de support, y compris l'internet, constitue une violation des droits d'auteur ainsi qu'une fraude caractérisée. En conséquence, je m'engage à citer toutes les sources que j'ai utilisées pour écrire ce rapport ou mémoire.

Signature :



Remerciements

Je tiens tout d'abord à remercier Marie-Noëlle Brisset, cheffe de l'équipe ResPom, pour m'avoir accueilli dans son laboratoire et pour sa bienveillance, ainsi que l'ensemble de l'équipe pour leur accueil. Je remercie également le GIS Fruits pour avoir financé ce stage

Je remercie mes tuteurs de stage, Mathilde Orsel Baldwin ainsi que Mickaël Delaire. Tout d'abord pour m'avoir choisie comme stagiaire ce qui m'a permis de vivre une belle expérience et de découvrir de nouvelles pratiques de laboratoire en améliorant mes connaissances. Je les remercie pour leur aide concernant les manipulations mais aussi pour leur accompagnement tout au long de ce stage ainsi que pour le temps passé à la lecture et à la correction de ce rapport.

J'adresse aussi mes remerciements à Térance Mobarak avant tout pour m'avoir accueilli au sein de son projet de thèse. Mais aussi pour l'ensemble des techniques de laboratoire que j'ai pu apprendre à ses côtés, à son aide pour l'ensemble des manipulations et des analyses de résultats et plus généralement pour son accompagnement durant ce stage.

Mes remerciements vont naturellement vers mes collègues de bureau, Corisande, Grégoire et Lydie. Je vous remercie pour votre bonne humeur, pour nos discussions et nos rires ainsi que pour vos conseils. Remerciements particuliers pour Grégoire pour toutes les fois où il m'a permis d'avancer sur un problème.

Mes remerciements vont aussi à l'ensemble de l'équipe, Anthony pour sa bonne humeur communicative, pour l'ensemble des manipulations que nous avons faites ensemble et pour son aide précieuse lors de mes dernières qPCR ; Bao, Brice et Axelle pour les discussions sur notre passion des plantes ; ainsi que Florent, Romain, Catherine, Laure, Matthieu, Alexandre, Raphaël, Christelle pour leur accueil. Je tiens aussi à remercier la partie de l'équipe travaillant sur la génétique, notamment Julie et Camille pour ces moments de notations sympathiques et pour nous avoir laissé les plants de la « famille F ».

Je tiens aussi à remercier l'ensemble des personnes de la plateforme Phenotic, notamment Christian, Céline, Kaat et Emile pour leur aide avec les plantes durant l'ensemble du stage.

Je remercie l'équipe du CTIFL de la Morinière pour leur accueil durant les deux jours de notation de la tavelure en verger, notamment Anne Duval-Chaboussou et Antony Leblois. Merci pour l'ensemble des documents qui m'ont été envoyés.

Je remercie sincèrement mon compagnon Donovan pour la force et le courage qu'il me donne chaque jour et pour son soutien ainsi que pour la relecture et les corrections apportées à ce rapport.

Pour finir, je remercie les correcteurs de ce rapport, en espérant qu'ils y trouvent un intérêt, et leur souhaite une bonne lecture.

Table des matières

Glossaire	1
Liste des abréviations	1
Table des annexes.....	1
Table des figures.....	1
Table des tableaux	1
Etude de l'interaction des leviers azote, SDP et génétique pour l'amélioration de l'immunité du pommier vis-à-vis de la tavelure	1
1. Introduction	1
1.1. Structure d'accueil : équipe ResPom de l'UMR IRHS	1
1.2. Contexte de l'étude	2
1.2.1. La production de pomme dans le monde et en France	2
1.2.2. <i>Venturia inaequalis</i> , agent de la tavelure du pommier	2
a) Le cycle biologique de <i>Venturia inaequalis</i>	2
b) Symptômes de tavelure sur pommier	3
1.2.3. Les défenses du pommier face à ces bioagresseurs.....	3
1.2.3.1. Les barrières physiques et chimiques et les systèmes de défense ETI/PTI	3
1.2.3.2. La résistance systémique acquise	4
1.2.4. Méthodes de lutte contre la tavelure	5
1.2.4.1. Prophylaxie et lutte physique	5
1.2.4.2. Lutte biologique	5
1.2.4.3. Lutte génétique.....	5
1.2.4.4. Lutte chimique	6
1.2.4.5. Stimulateurs de défense des plantes	6
1.2.4.6. La fertilisation azotée	7
a) L'assimilation de l'azote	7
b) Rôle dans la défense des plantes	8
1.2.4.7. L'impact des combinaisons de méthodes comme axe de recherche.....	9
1.2.5. Objectifs du stage	9
2. Matériel et méthodes.....	10
2.1. Effet de la fertilisation azotée sur l'efficacité du Bion® contre la tavelure.....	10
2.1.1. Matériel biologique	10
2.1.1.1. Matériel végétal	10
2.1.1.2. Matériel fongique	10
2.1.2. Régimes azotés et traitements testés	10
2.1.2.1. Application des traitements	11
2.1.2.2. Inoculation de la souche de <i>V. inaequalis</i>	11
2.1.2.3. Notation de symptômes	11

2.1.2.4. Analyse des résultats.....	12
2.2. Effet de la fertilisation azotée et du génotype des individus sur l'efficacité du Bion® contre la tavelure	12
2.2.1. Matériel biologique	12
2.2.1.1. Matériel végétal	12
2.2.1.2. Matériel fongique	12
2.2.1. Application du régime azoté	12
2.2.2. Application des traitements	13
2.2.2.1. Inoculation de la souche de <i>V. inaequalis</i>	13
2.2.2.2. Notation de symptômes	13
2.2.2.3. Analyse des résultats.....	14
2.2.3. Analyse de biologie moléculaire	14
2.2.3.1. Echantillonnage	14
2.2.3.2. Extraction des ARN totaux	14
2.2.3.1. Reverse transcription.....	14
2.2.3.2. Analyses qPCR	14
2.3. Les stimulateurs de défense des plantes : en application en verger	15
2.3.1. Matériel végétal	15
2.3.1. Conduite expérimentale	15
2.3.1.1. Itinéraire technique	15
2.3.1.2. Notation de symptômes	16
2.3.1.3. Analyse des résultats.....	16
3. Résultats.....	17
3.1. Effet de la fertilisation azotée sur l'efficacité du Bion® contre la tavelure.....	17
3.2. Effet de la fertilisation azotée et du génotype des individus sur l'efficacité du Bion® contre la tavelure	18
3.3. Efficacité du Soriale® dans un itinéraire technique pour 2025	21
4. Discussions	22
5. Conclusion et perspectives.....	26
Bibliographie	27
Ressources en ligne	29

Glossaire

Ascospore : Spores issues de la reproduction sexuée chez les Ascomycètes, se formant à l'intérieur d'un asque qui est lui-même produit dans un périthèce, un cléistothèce, voire sur une apothécie [1].

Asque : Cellule en forme de "sac" dans laquelle généralement 8 ascospores sont formées et qui caractérise les Ascomycètes [1].

Hôte réservoir : Organisme hébergeant un agent infectieux, lequel peut être transmis à un autre organisme d'une espèce différente [2].

Indicateur de fréquence de traitement : Indicateur de suivi de l'utilisation des produits phytopharmaceutiques (pesticides) à l'échelle de l'exploitation agricole ou d'un groupe d'exploitations. L'IFT comptabilise le nombre de doses de référence utilisées par hectare au cours d'une campagne culturale [3].

Phase parasitaire : Phase pendant laquelle un organisme vit aux dépens d'un autre organisme appelé hôte dont il utilise les ressources pour se développer et se reproduire [1].

Phase saprophytique : Phase non parasitaire pendant laquelle un organisme tire les substances qui lui sont nécessaires des matières organiques en décomposition [1].

Pseudothèces : Organe issu de la reproduction sexuée (stade parfait) contenant des asques, ressemblant à un périthèce mais contenu dans un stroma [1].

Résistance ontogénique : La résistance ontogénique ou liée à l'âge décrit la capacité de plante entière ou de partie de plantes à résister ou tolérer les maladies à mesure qu'elles vieillissent (Ficke *et al.*, 2002).

Résistance qualitative : Résistance réduisant la capacité d'un agent pathogène à infecter une plante (Caffier *et al.*, 2016).

Résistance quantitative : Résistance réduisant les traits quantitatifs de la pathogénicité (taux d'infection, période de latence, taux de sporulation) (Caffier *et al.*, 2016).

Stimulateur de défense des plantes : Substances ou produits, naturels ou non, capables d'induire (ou de préparer à l'induction), chez les plantes traitées, des réponses de défense conduisant à une meilleure résistance de la plante face à des stress biotiques [4].

Taux d'incidence d'une maladie : Nombre de nouveaux cas observés d'une pathologie pendant une période donnée et qui se rapporte à la taille de la population étudiée [5].

Liste des abréviations

ASM : Acibenzolar-S-Méthyl

AUDPC : Area Under Disease Progression Curve (aire sous la courbe de la progression de la maladie)

CTIFL : Centre Technique Interprofessionnel des Fruits et Légumes

ETI : Effector-Triggered Immunity (immunité déclenchée par l'effecteur)

HN : High Nitrogen (fort azote)

IFT : Indicateur de Fréquence de Traitement

ITK : Itinéraire technique

JF : Jeune Feuille

JFN : Jeune Feuille Nouvelle

LN : Low Nitrogen (faible azote)

PCR : Polymerase Chain Reaction (amplification en chaîne par polymérase)

PFI : Production Fruitière Intégrée

PTI : Pattern-Triggered Immunity (immunité déclenchée par des motifs)

qPCR : PCR quantitative

qPFD : Puce quantitative à Faible Densité

QTL : Quantitative Trait Locus (Locus de caractères quantitatifs)

RT : Reverse Transcription (transcription inverse)

SAR : Systemic Acquired Resistance (résistance systémique acquise)

SDP : Stimulateur de Défense des Plantes

VF : Vieille Feuille

Table des annexes

Annexe 1 : Analyse de l'eau fertilisée utilisée en serre	27
Annexe 2 : Liste des gènes marqueurs de défense, rapporteurs du statut azoté et des gènes de référence ainsi que des primers pour chacun des gènes.....	28
Annexe 3 : Complément des itinéraires techniques pour les intrants autres que les fongicides contre la tavelure	29
Annexe 4 : Incidence de la maladie par rosette (gauche) et par pousse (gauche) à la notation de mai et juin selon les différentes modalités testées (témoin, ref pfi et 2025 pfi). Les différents chiffres au-dessus des barres indiquent des différences significatives selon le test statistique de Kruskall-Wallis et Mann-Whitney ($\alpha=5\%$, $n = 120$, moyenne des incidences +/- déviation standard)	30
Annexe 5 : Graphique du haut représentant les conditions climatiques (pluviométrie et température) du 20 février au 19 juin 2023. Graphique du bas représentant la pression de la maladie par des valeurs d'infection et d'éjection prédicts par RIMpro du 17 mars au 14 mai 2023. Les flèches bleues représentent les traitements préventifs et les flèches rouges les traitements curatifs qui ont été appliqués en vergers pour les deux itinéraires techniques.Mai	30

Table des figures

Figure 1 : Organisation des activités de recherche de l'UMR IRHS selon 4 axes scientifiques (à gauche) et positionnement des 14 équipes de recherche selon ces 4 axes (à droite)[6]. ..	1
Figure 2 : Cycle de vie de Venturia inaequalis sur pommier (d'après Agrios, 1988 et Petit, 2018) [13]	1
Figure 3 : Graphique représentant les courbes de Mills : estimation des risques de contamination par les ascospores selon le nombre d'heures d'humectation et la température (d'après Parisi, 1990) [13]	1
Figure 4 : Schéma des étapes impliquées dans le métabolisme azoté de la plante (Kishorekumar <i>et al.</i> , 2020).	1
Figure 5 : Boxplot de la distribution de la sévérité relative du feu bactérien 21 jours après inoculation d' <i>Erwinia amylovora</i> chez des semis de Gala soumis à différents régimes azotées (situation de confort en azote ou de limitation en azote pendant 12j : Ante et Post) et de traitement (eau ou Bion®). Les traitements ont été effectués soit avant un retour en confort azoté (Ante) soit après (Post). ANOVA à un facteur et test de Tukey ($\alpha=0,05$) 2 à 2 sur le facteur modalité (NxBion®) avec classement par groupes ($n = 3$). Les lettres différentes au-dessus des boxplots indiquent des différences significatives. Les losanges gris représentent la moyenne pour chaque modalité et les points noirs représentent la distribution des individus. Les pourcentages indiquent l'efficacité de protection du Bion par rapport à la modalité traitée à l'eau pour chaque régime azoté (Thèse de T. Mobarak).	1
Figure 6 : Schéma du dispositif de culture en subirrigation pour les tests azote x SDP (Mobarak, 2022). Le bac du dessous est le bac réservoir (contenant 40L de solution nutritive) et le bac du dessus est le bac de culture où sont placées les 40 plantes repiquées en godets remplis de perlite. Une pompe, gérée par un programmeur, est immergée dans le bac réservoir et permet la subirrigation des plantes. Un système de trop plein situé dans le bac de culture permet de réguler la hauteur de l'eau. Lorsque l'irrigation est terminée, une évacuation située au fond du bac de culture permet la vidange de l'eau dans le bac réservoir.	1
Figure 7 : Représentation du moment de l'application du traitement et de l'inoculation sur les différentes modalités azotées testées : confort en azote et limitation azoté avec un traitement réalisé après (Post 12) ou avant (Ante 12) la remise en confort azoté.....	1
Figure 8 : Représentation du nombre de plante associées aux différentes modalités testées	1
Figure 9 : Echelle de classe de symptôme et d'intensité d'attaque de la tavelure sur feuilles de pommier (source interne).....	1
Figure 10 : Schéma du dispositif de subirrigation sur table de culture pour le test azote x SDP x génétique. La cuve contient une pompe qui est raccordée à une table de culture sur laquelle les plantes sont disposées. Lorsque l'arrosage est déclenché, la table s'inonde durant le temps d'irrigation programmé. Ainsi, les plantes sont irriguées par bassinage. Après irrigation, l'eau de la table s'écoule et retourne dans la cuve.....	1
Figure 11 : Schéma de l'ensemble des conditions testées pour l'essai intégrant le Soriale® dans un itinéraire technique en PFI en verger	1
Figure 12 : Schéma des structures fructifères sur lesquelles les notations sont réalisées (feuilles de pousses et feuilles de rosette)	1
Figure 13 : Box plots présentant l'aire moyenne sous la courbe de progression de la sévérité de la maladie (AUDPC) de la jeune feuille déroulée au moment du traitement (A et C) et des feuilles déroulées après le	

traitement et l'inoculation (B et D) en serre (A et B) et en chambre climatique (C et D) en fonction des modalités azotées (Confort N, Ante 12 et Post 12) et des traitements appliqués (eau ou Bion®). Les losanges rouges représentent la moyenne pour chaque modalité et les points bleus/jaunes représentent la distribution des individus. Les différentes lettres au-dessus des box plots indiquent des différences significatives selon le test statistique de Kruskall-Wallis et Mann-Whitney ($\alpha=5\%$ et $n=31$ individus). 1

Figure 14 : (A) Valeurs moyenne ($n=40$) des teneurs en chlorophylle évaluées au Dualex® à deux dates ($d_1 : 01/06$; $d_2 : 09/06$) pour les feuilles déroulées à la date d_1 (F1) et celles à la date d_2 (F2) de plantes en conditions de limitation (LN) ou confort (HN) en azote. (B) Différences de teneur en chlorophylle entre les 2 dates de mesures pour la feuille F1 et entre les 2 types de feuilles à la date d_2 . Les barres correspondent à l'intervalle de confiance sur la moyenne. 18

Figure 15 : Sévérité moyenne de la maladie à 21 jours après l'inoculation pour l'ensemble des individus portant des allèles favorables (+) ou défavorables (-) pour chacun des QTLs de résistance à la tavelure (QTL T1, F11, T13, F17) en fonction des différents régimes azotés (HN : *High Nitrogen*, LN : *Low Nitrogen*) et des traitements appliqués (eau ou Bion®). Les différentes lettres au-dessus des box plots indiquent des différences significatives selon le test statistique de Kruskall-Wallis et Mann-Whitney ($\alpha=5\%$ et $n : 59$ à 134, moyenne des scores +/- intervalle de confiance). 18

Figure 16 : Sévérité moyenne de la maladie à 21 jours après l'inoculation pour l'ensemble des individus portant des allèles favorables (+) ou défavorables (-) aux 4 QTLs de résistance à la tavelure (QTL T1, F11, T13, F17) en fonction des différents régimes azotés (HN : *High Nitrogen*, LN : *Low Nitrogen*) et des traitements appliqués (eau ou Bion®). $n : 5$ à 22, moyenne des scores +/- intervalle de confiance). 18

Figure 17 : Pourcentage moyen de feuilles de rosette tavelées à la notation en mai (A) et juin (B) selon les différentes modalités testées (témoin, ref pfi et 2025 pfi). Les losanges noirs représentent la moyenne pour chaque modalité et les points bleus, orange et verts représentent la distribution des individus. Les différentes lettres au-dessus des box plots indiquent des différences significatives selon le test statistique de Kruskall-Wallis et Mann-Whitney ($\alpha=5\%$ et $n : 120$). 18

Table des tableaux

Tableau 1 : Concentrations des différents ions composant les 2 types de solution nutritive utilisées pour les différents régimes azotés.....	1
Tableau 2 : Conditions climatiques appliquées en serre ou en chambre climatique à partir de l'inoculation et jusqu'à la fin de l'essai	1
Tableau 3 : Répartition des génotypes dans les différentes modalités.....	1
Tableau 4 : Teneur en engrais 0-15-40 et en ammonitrare (34,5 %) ajoutée à la l'eau de la serre pour la fabrication des solutions nutritives utilisées pour les deux régimes azotés : HN ou LN.....	1
Tableau 5 : Traitements fongicides appliqués sur les arbres à différentes dates selon les modalités testées.	1
Tableau 6 : Expression relative des gènes de défense et gènes marqueurs du statut azoté 2 jours après le traitement Bion (Log Ratio))	1
Tableau 7 : Pourcentages d'efficacité de la limitation azotée et du Bion® seuls ou en combinaison. Les efficacités de la limitation azotée seule et de la combinaison limitation x Bion® sont déterminées à partir de la modalité en confort azoté traitée à l'eau. L'efficacité du Bion® est déterminée à partir du traitement eau associé à la modalité observée. Les valeurs sont calculées à partir de l'AUDPC de l'essai en serre et de celui en chambre climatique 18	
Tableau 8 : Pourcentage d'efficacité de la limitation azotée et du Bion® seuls ou en combinaison. Les efficacités de la limitation azotée seule et de la combinaison limitation x Bion® sont déterminées à partir de la modalité en confort azoté traitée à l'eau. L'efficacité du Bion® est déterminée à partir du traitement eau associé à la modalité observée. Les valeurs sont calculées à partir du score moyen à 21 jours pour les allèles favorables et défavorables aux 4 QTLs.....	18

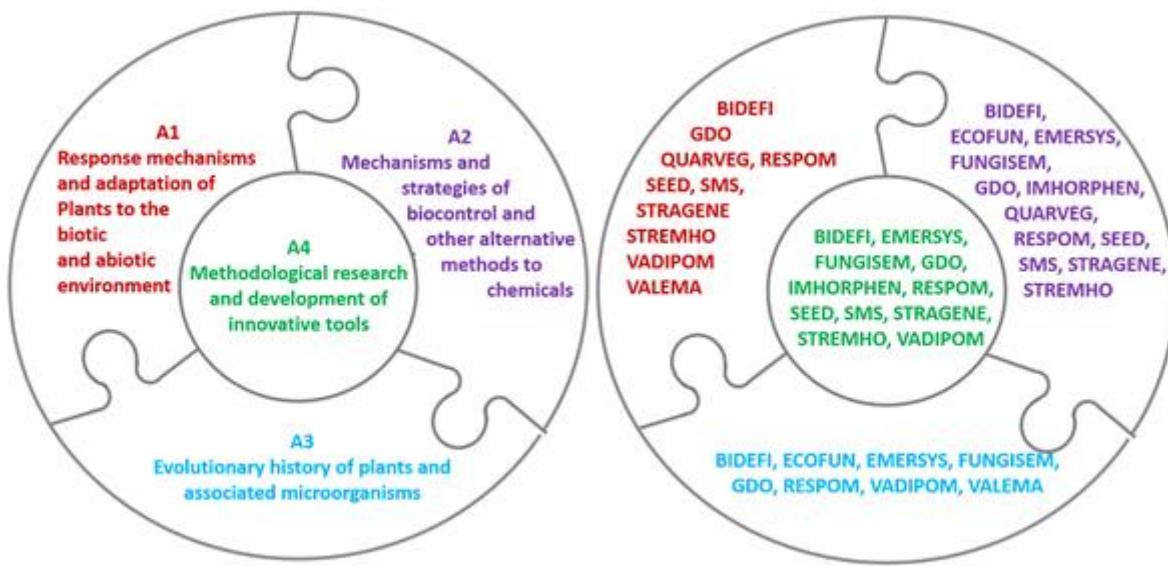


Figure 1 : Organisation des activités de recherche de l'UMR IRHS selon 4 axes scientifiques (à gauche) et positionnement des 14 équipes de recherche selon ces 4 axes (à droite)[6].

Etude de l'interaction des leviers azote, SDP et génétique pour l'amélioration de l'immunité du pommier vis-à-vis de la tavelure

1. Introduction

1.1. Structure d'accueil : équipe ResPom de l'UMR IRHS

L'IRHS (Institut de Recherche en Horticulture et Semences) est une unité mixte de recherche entre INRAE, l'Institut Agro et l'Université d'Angers, dont les travaux portent sur la qualité des cultures horticoles, la santé des plantes et la qualité des semences. L'unité compte 260 personnes travaillant en génétique, génomique, phytopathologie, physiologie, écophysiologie, biochimie, modélisation et bioinformatique. Elle est structurée selon quatre axes scientifiques qui sont : 1. Mécanismes de réponse et adaptation des plantes au milieu biotique et abiotique ; 2. Mécanismes et stratégies de biocontrôle et autres méthodes alternatives aux produits chimiques de synthèse ; 3. Histoire évolutive des plantes et des micro-organismes associés ; 4. Recherche méthodologique et développement d'outils innovants ; et comprend quatorze équipes de recherche (fig. 1) [6].

L'équipe ResPom possède des activités de recherche dans ces quatre axes scientifiques et a pour objectif principal l'amélioration de la résistance du pommier et du poirier à leurs bioagresseurs majeurs par le levier de la génétique ou par l'application de stimulateurs de défense des plantes* (SDP) (immunité induite). Sur pommier les trois bioagresseurs ciblés sont *Venturia inaequalis* (agent de la tavelure), *Erwinia amylovora* (agent du feu bactérien) et *Dysaphis plantaginea* (puceron cendré). L'équipe ResPom travaille ainsi sur trois axes de recherches qui sont : l'exploration approfondie des mécanismes moléculaires permettant les résistances (génétiques ou induites) ; l'évaluation des effets des facteurs environnementaux, incluant conditions climatiques et pratiques culturelles, sur l'immunité ; ainsi que le décryptage des multiples interactions entre leviers, telles que la combinaison Génétique x Environnement x Pratiques culturelles, afin d'optimiser l'immunité du pommier.

Ainsi, ses activités de recherche sont totalement cohérentes avec les différents plans gouvernementaux pour réduire l'utilisation des produits phytosanitaires de synthèse. En effet, en 2008, le gouvernement a mis en place le plan Ecophyto à la suite du Grenelle de l'environnement et en réponse à une forte attente des citoyens pour une réduction de l'usage des produits phytosanitaires. Ce plan vise à « réduire le recours, les risques et les impacts des produits phytopharmaceutiques » et avait pour objectif de diminuer l'usage des produits phytosanitaires* de 50% en 2018 tout en maintenant une agriculture économiquement performante. Au vu de la complexité à réduire cet usage, l'objectif a été reporté à 2025 [7, 8]. Le gouvernement souhaite ainsi se diriger vers une agriculture productive plus respectueuse de l'environnement et de la santé humaine. Il est donc nécessaire d'avoir une activité de recherche sur le développement de produits alternatifs aux produits phytosanitaires de synthèse mais également sur la compréhension et le développement de l'immunité des plantes afin de réduire globalement l'utilisation d'intrants.

Le projet de recherche qui m'a été confié durant ce stage s'inscrit dans la compréhension de l'effet combiné de plusieurs leviers sur l'immunité du pommier vis-à-vis de la tavelure. Ainsi, le premier objectif du stage est

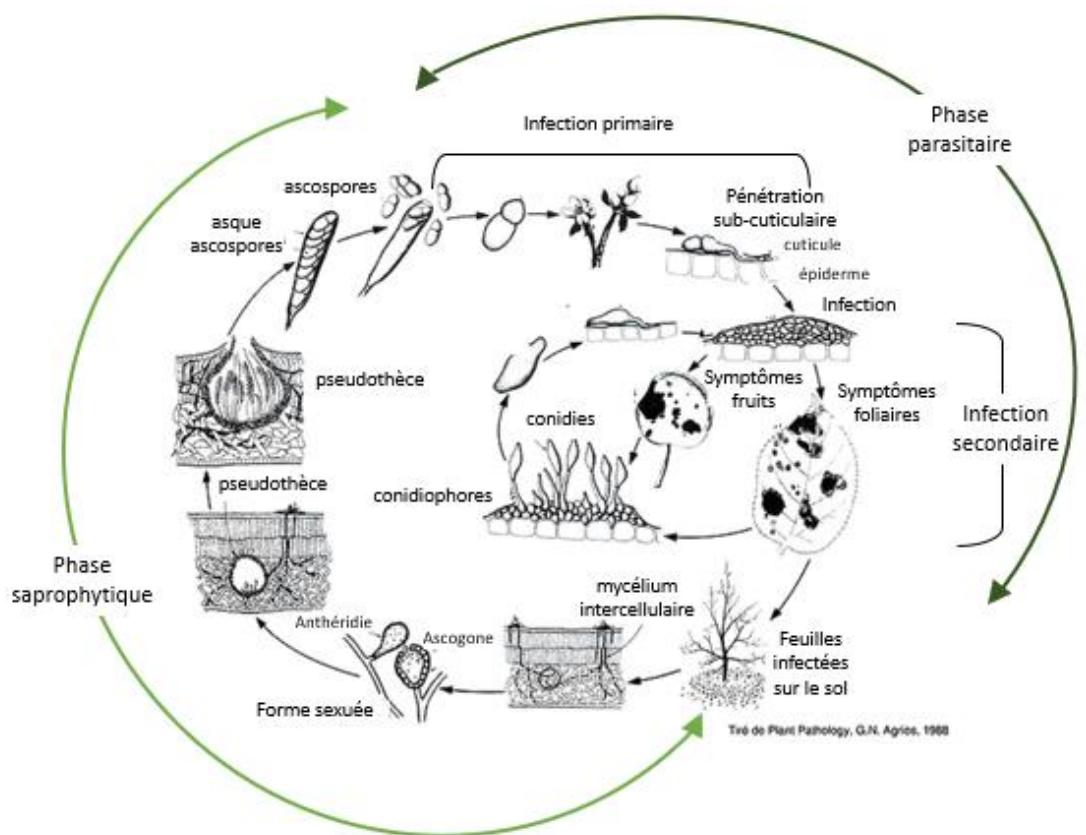


Figure 2 : Cycle de vie de Venturia inaequalis sur pommier (d'après Agrios, 1988 et Petit, 2018) [13]

d'étudier les effets de plusieurs leviers, notamment la fertilisation azotée, l'application d'un SDP et le génotype du pommier, afin de réduire la pression de *V. inaequalis*. De plus, ce stage s'inscrit aussi dans l'intégration de stimulateur de défense des plantes en verger. Ainsi, le deuxième objectif est d'intégrer un SDP dans un nouvel itinéraire technique utilisable après 2025 en verger, permettant de réduire la pression de la tavelure.

1.2. Contexte de l'étude

1.2.1. La production de pomme dans le monde et en France

La production mondiale de pomme s'est élevée à plus de 90 millions de tonnes en 2021, faisant de celle-ci le deuxième fruit le plus consommé au monde après la banane [9]. En France, c'est le fruit préféré des français avec une moyenne de 16 kg consommés par an et par ménage [10]. En 2015, Greenpeace dénonçait l'utilisation importante de produits phytosanitaires de synthèse dans les vergers de pommiers en Europe [11]. En effet, en France et en 2018, la production de pomme avait un IFT (Indicateur de Fréquence de Traitement*) moyen de 29,5 plaçant la pomme en première position des produits issus de l'arboriculture fruitière recevant le plus de traitements devant la pêche (18,4) et l'abricot (9,3) [12]. Ces traitements permettent de lutter contre les principaux bioagresseurs du pommier, et plus particulièrement contre l'ascomycète *Venturia inaequalis*, agent de la tavelure du pommier.

1.2.2. *Venturia inaequalis*, agent de la tavelure du pommier

Le genre *Venturia* appartient à l'embranchement des Ascomycètes et à la classe des Dothideomycètes. Ce genre fongique inclut plusieurs espèces d'agents pathogènes responsables de la tavelure, une maladie cryptogamique causant des dommages économiques importants sur les cultures fruitières de nombreux pays (Bowen *et al.*, 2011).

La tavelure du pommier est causée par le champignon hémibiotrophe *Venturia inaequalis* (Cooke) Wint. Cette maladie se développe rapidement dans les zones tempérées ayant un climat frais et humide au début du printemps. Elle est présente dans presque tous les pays où *Malus x domestica* est cultivé, faisant d'elle la maladie sur pomme la plus dommageable économiquement (Bowen *et al.*, 2011 ; Belete et Boyraz, 2017). En effet, la tavelure peut provoquer une réduction de la production de pommes allant jusqu'à 70 %. Cette diminution de rendement résulte majoritairement des fruits infectés non commercialisables (Desmyttere *et al.*, 2019). Ainsi, deux-tiers des traitements appliqués sur la pomme sont des fongicides (soit un IFT fongicide de 19,5), principalement utilisés pour lutter contre *V. inaequalis* [12].

a) Le cycle biologique de *Venturia inaequalis*

Le cycle biologique de *V. inaequalis* comprend deux phases. La première est une phase saprophytique* de l'automne au printemps, permettant la reproduction sexuée du champignon dans les feuilles mortes tombées au sol. La seconde est une phase parasitaire* du printemps à l'automne, permettant la reproduction asexuée de *V. inaequalis* sur les feuilles et les fruits (fig.2) (Belete et Boyraz, 2017). Le développement des asques* et des ascospores* est réalisé dans un organe de reproduction appelé le pseudothèce*. Au printemps, la pluie permet de faire gonfler les asques entraînant alors leurs ruptures et permettant l'éjection des ascospores une par une. Ainsi, la majeure partie des ascospores sont libérées au moment de l'émergence des bourgeons du pommier (stade débourrement) (Belete et Boyraz, 2017). Cette synchronisation permet à *V. inaequalis* d'infecter son hôte

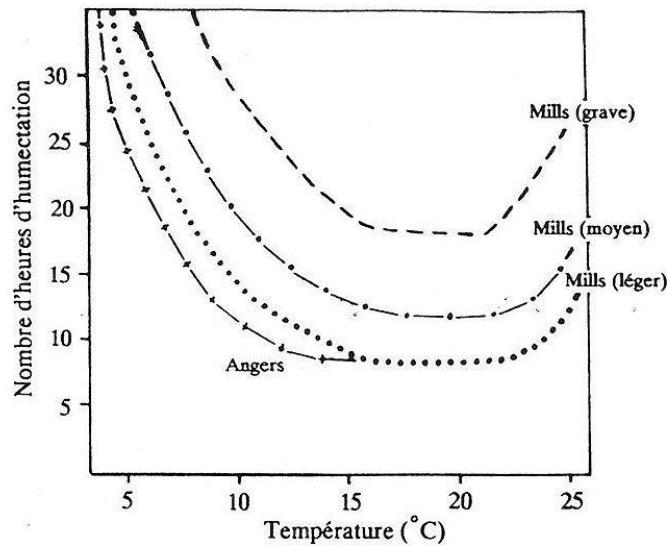


Figure 3 : Graphique représentant les courbes de Mills : estimation des risques de contamination par les ascospores selon le nombre d'heures d'humectation et la température (d'après Parisi, 1990) [13]

avec succès. En effet, *V. inaequalis* infecte plus facilement les jeunes feuilles qui, contrairement aux feuilles les plus âgées, ne présentent pas de résistance ontogénique* limitant le développement du champignon. Le reste des ascospores est projeté au cours de la saison (mars à juin) pour infecter les nouvelles feuilles (MacHardy et al., 2001).

La phase parasitaire commence dès que les ascospores atteignent les feuilles de l'arbre. Elles germent grâce à la présence d'eau sur les feuilles et développent un appressorium perçant la cuticule. Dès lors, l'infection primaire commence. Environ dix jours après l'infection, les hyphes se développent sous la cuticule et produisent des conidiophores provoquant des lésions à la surface de la feuille. Les conidiophores produisent des conidies qui sont la forme de reproduction asexuée et la source d'inoculum secondaire. Lorsqu'un film d'eau recouvre les conidiophores, les conidies sont libérées puis dispersées par la pluie et le vent. La durée d'humectation permettant la germination des conidies varie selon la température : sur feuille, l'infection suit des courbes proches de celles définies pour les ascospores (voir courbes de Mills fig. 3). Comme pour les ascospores, les conidies infectent plus facilement des jeunes feuilles que des feuilles plus âgées et se développent également sur les fruits et les rameaux (MacHardy et al., 2001 ; Bowen et al., 2011 ; Belete et Boyraz, 2017).

b) Symptômes de tavelure sur pommier

Venturia inaequalis altère l'aspect extérieur des feuilles et des fruits. Des lésions apparaissent sur les jeunes feuilles une dizaine de jours après l'infection (début avril à mi-mai), sous forme de zones vert clair, différentes de la couleur du tissu foliaire, ou de taches translucides. À la suite de la production de conidies, la taille de ces lésions augmente et devient de couleur vert foncé, avec un aspect velouté. Les symptômes sont situés principalement sur la face supérieure et étendues le long des nervures. Il est possible que les tissus affectés se déforment et se plissent. En été, les symptômes sur feuille peuvent évoluer en nécroses sèches. Des taches peuvent aussi apparaître sur les fleurs et entraîner leur dessèchement. Les branches gravement infectées sont exposées à la chute prématuée des fruits et accélérée des feuilles (Belete et Boyraz, 2017). Lorsque plusieurs défoliations ont lieu, l'arbre est affaibli avec un risque de diminution des bourgeons à fruits l'année suivante (Proctor et al, 1983). Concernant les fruits, *V. inaequalis* provoque la formation de croûtes noirâtres liègeuses, plus ou moins crevassées. En post-récolte, les fruits peuvent également être affectés par la tavelure latente visible après conservation au froid, vers février-mars. Elle est caractérisée par de petites croûtes noires superficielles [13]. Ces symptômes sur fruits sont un problème majeur dans la production commerciale de pomme. En effet, une pomme infectée ne pourra pas être vendue à cause de son esthétisme. Afin de trouver des solutions pour lutter contre la tavelure, de nombreuses recherches sont effectuées [14].

1.2.3. Les défenses du pommier face à ces bioagresseurs

1.2.3.1. Les barrières physiques et chimiques et les systèmes de défense ETI/PTI

Les plantes possèdent plusieurs systèmes de défense pour lutter contre leurs agents pathogènes. Tout d'abord, des barrières physiques et chimiques sont présentes à la surface de la plante pour limiter leur entrée comme les couches de cire et de cutine, les parois cellulaires rigides, les lipides cuticulaires, les enzymes antimicrobiennes et les métabolites secondaires (Muthamilarasan et Prasad, 2013). Ces premières barrières

permettent aux plantes de résister à la majorité des agents pathogènes et forment ainsi ce qui est appelée la résistance non-hôte.

Le premier niveau du système immunitaire des plantes permet la reconnaissance de motifs moléculaires associés à des agents pathogènes (*pathogen-associated molecular pattern* ou PAMP), à des agents microbiens (*microbe-associated molecular pattern* ou MAMP) ou résultant de dommages (*damage-associated molecular pattern* ou DAMP) grâce à des récepteurs de reconnaissance de motifs, appelé PRR (*pattern-recognition receptors*). Cette reconnaissance permet de déclencher la PTI (immunité induite par les motifs ou *pattern-triggered immunity*) (Sun *et al.*, 2020). En réponse, les agents pathogènes peuvent alors synthétiser des molécules (effecteurs) bloquant l'induction de la PTI. Les plantes qui ne sont pas capables de reconnaître ces effecteurs sont sensibles à l'agent pathogène. Celles qui les reconnaissent peuvent mettre en place une réponse immunitaire appelée immunité déclenchée par les effecteurs (*effector-triggered immunity* - ETI). L'ETI est une réponse de défense plus longue que la PTI mais est spécifique à certains agents pathogènes de la plante (Sun *et al.*, 2020). Plusieurs mécanismes de défense sont mis en place après la détection de l'agent pathogène, notamment la fermeture des stomates, la production et la sécrétion de composés antimicrobiens (phytoalexines et protéines liés à la défense), la génération d'espèces réactives de l'oxygène (ROS), la mort cellulaire programmée (PCD) appelée réponse hypersensible (HR). L'induction de ces mécanismes de défense a lieu grâce à un réseau complexe de voies de signalisation (Bigeard *et al.*, 2015).

1.2.3.2. La résistance systémique acquise

Une PTI et/ou une ETI peuvent induire une résistance systémique acquise (*systemic acquired resistance* - SAR) dans les feuilles éloignées de la zone d'infection primaire (Lim, 2023). Pour ce faire, des signaux sont émis, établissant ainsi une défense à long terme (jusqu'à plusieurs mois) contre un large spectre d'agents pathogènes (Muthamilarasan et Prasad, 2013). Les zones saines induites par la SAR subissent des modifications transcriptionnelles préparant la plante à l'induction de gènes de défense pour une infection ultérieure (Zeier, 2021). Ainsi, la SAR permet une immunité renforcée qui peut être transgénérationnelle (Kachroo et Robin, 2013).

La SAR se déroule en plusieurs étapes : premièrement, des signaux de la SAR sont générés dans le site d'infection primaire (dans les 4 à 6 heures) ; deuxièmement, les signaux de la SAR sont transloqués de manière systémique ; troisièmement, les signaux sont perçus dans les tissus ; quatrièmement, les tissus sains ont la capacité d'induire rapidement une défense. Actuellement, les signaux mobiles ne sont pas tous identifiés, cependant plusieurs molécules ont été identifiées telles que l'acide salicylique (SA), l'acide méthylsalicylique (MeSA), l'acide azélaïque (AzA), le dihydroabétinal, le glycérol-3-phosphate (G3P), l'acide pipécolique (Pip) et l'acide N-hydroxy-pipécolique (NHP), les espèces réactives de l'oxygène (ROS) et les galactolipides (Lim, 2023).

Les systèmes de défense mis en place par la plante ne sont cependant pas suffisants pour limiter les pertes importantes de rendements provoquées par *V. inaequalis*. En effet, l'infection par des agents pathogènes a un fort impact sur le métabolisme primaire et secondaire des plantes, affectant notamment leur croissance et leur développement (Fagard *et al.*, 2014). Ainsi des méthodes de lutte sont mises en place pour limiter les dégâts provoqués par cet agent pathogène sur la production fruitière.

1.2.4. Méthodes de lutte contre la tavelure

La lutte contre la tavelure du pommier se base sur des méthodes préventives et curatives afin de perturber le cycle de l'agent pathogène. Les méthodes préventives permettent de réduire la production d'ascospores et d'utiliser la résistance génétique du pommier en y associant des moyens chimiques, biologiques et physiques. Les méthodes curatives permettent de protéger l'arbre contre l'infection par les ascospores et les conidies et se font généralement par l'application de fongicides (Belete et Boyraz, 2017).

1.2.4.1. Prophylaxie et lutte physique

La réduction de la pression de *V. inaequalis* sur pommier passe par la destruction des feuilles et des fruits tombant à l'automne afin de limiter la production d'ascospores (broyage, enfouissement ou apport de compost pour privilégier une décomposition rapide) (Rosenberger, 1990). La mise en place du verger (orientation et conduite des arbres) doit être pensée pour maximiser l'aération et ainsi limiter l'infection par *V. inaequalis* en accélérant le séchage des feuilles et des fruits. Pour cette même raison, la taille doit être réalisée de façon à favoriser l'aération et la perception lumineuse (Belete et Boyraz, 2017).

1.2.4.2. Lutte biologique

Concernant la lutte biologique, des études ont montré que le coelomycète *Microsphaeropsis ochracea* étaient un bon antagoniste de *V. inaequalis*. Ce dernier permet de réduire de 95 % à 99 % la production d'ascospores printanières par rapport au témoin non traité (Carisse et Rolland, 2004). Cependant cet antagoniste ne possède pas d'homologation en France, tout comme *Chaetomium globosum* et *Athelia bombacina* qui diminuent la production d'ascospores de 80 à 100 % (Heye et Andrews, 1983). La bactérie *Bacillus subtilis*, vendue sous le nom commercial de Serenade®, peut être utilisée pour lutter contre la tavelure (Desmyttere et al., 2019). En condition de terrain, son utilisation (2 L/ha) a permis de réduire le taux d'incidence sur fruit de près de 50 % par rapport au témoin non traité. De plus, la sévérité de la maladie (le nombre de lésions par fruit) était plus faible pour les individus traités que pour le témoin non traité (5 contre 14,5 lésions par fruit) (Jimenez et al., 2018).

1.2.4.3. Lutte génétique

L'amélioration variétale est également efficace pour lutter contre *V. inaequalis*. Il existe des pommiers avec des résistances majeures (ex : variété 'Ariane') mais aussi avec des résistances partielles (ex : variété 'Reinette'). Cependant, les résistances qualitatives*, basées sur l'utilisation de gènes majeurs de résistance, ne sont pas suffisamment durables en raison de l'évolution rapide des populations d'agents pathogènes, entraînant des contournements des résistances. Les résistances quantitatives*, aussi appelées résistances partielles, basées sur des locus de caractères quantitatifs (QTL), sont supposées plus durables que les résistances qualitatives et permettent une réduction partielle du développement des agents pathogènes (Caffier et al., 2016). Malgré cela, la résistance quantitative peut sélectionner des souches ayant un niveau élevé de pathogénicité, conduisant à l'érosion de la résistance (Caffier et al., 2016).

L'utilisation de cultivars résistants, associés à des pratiques culturales (effeuillage) et des méthodes de lutte chimique (fongicides) permettent de réduire la pression de *V. inaequalis* en verger.

En effet, l'étude de Didelot *et al.* (2016), montre que l'association du cultivar résistant Reine des Reinettes à un nombre réduit de traitements fongicides et à un effeuillage a permis de contenir la tavelure à un faible niveau (3 % à 17 % d'arbres tavelés et entre 0,2 % et 1,5 % de fruits tavelés). Ainsi, les associations avec d'autres méthodes de lutte offrent une meilleure efficacité de résistance et limitent l'érosion de la résistance quantitative (Didelot *et al.*, 2016).

1.2.4.4. Lutte chimique

Les fongicides restent le mode d'action le plus efficace pour lutter contre la tavelure du pommier (Desmyttere *et al.*, 2019). Leurs applications commencent dès le débourrement jusqu'à fin juin afin de protéger les nouvelles pousses. Des applications de traitements préventifs sont à réaliser avant un passage pluvieux ou lorsqu'il y a un risque de contamination par les ascospores. Les traitements curatifs sont appliqués après une pluie contaminatrice mais sont reconnus généralement moins efficaces qu'une lutte préventive [15].

Cependant, l'application répétée de ces fongicides entraîne une diminution de leur efficacité en induisant la sélection de souches résistantes vis-à-vis des inhibiteurs de la biosynthèse des stérols (IBS) (Remuson *et al.*, 2003). Il est donc important de réaliser un programme de traitements avec des produits ayant des modes d'action différents pour limiter ces phénomènes de résistances [15]. Pour lutter contre la tavelure, les arboriculteurs utilisent également des fongicides minéraux comme le soufre et le cuivre (Schmid et Henggeler, 1988). Cependant, l'utilisation du cuivre conduit actuellement à de nombreuses controverses à propos de son effet négatif potentiel pour la biodiversité du sol (contamination aigüe et chronique) (Karimi *et al.*, 2021 ; Imfeld *et al.*, 2021). Afin de positionner les traitements et de réaliser une application raisonnée des fongicides, les producteurs utilisent des modèles de prévision des risques d'infection tel que RIMpro [16].

Dans l'objectif de réduire l'utilisation des produits phytosanitaires de synthèse et d'avoir une alternative plus durable pour lutter contre l'apparition de résistance chez les bioagresseurs, il est nécessaire de développer des substances ou des produits induisant les défenses des plantes (Marolleau *et al.*, 2017).

1.2.4.5. Stimulateurs de défense des plantes

Les stimulateurs de défense des plantes (SDP) sont des substances ou produits, naturels ou non, capables d'induire (ou de préparer à l'induction), chez les plantes traitées, des réponses de défense conduisant à une meilleure résistance de la plante face à des stress biotiques [4]. Un SDP est donc une molécule qui est reconnue par la plante et déclenche des événements permettant l'expression de la résistance. Ces molécules peuvent être reconnues comme éliciteurs ou analogues hormonaux. Les premiers miment l'infection par un agent pathogène : les récepteurs cellulaires reconnaissent le SDP comme un élément d'infection (PAMP, MAMP ou DAMP) entraînant une stratégie défensive des plantes. Les analogues hormonaux (comme l'acibenzolar-S-méthyl - ASM) agissent directement sur la modulation des voies de signalisation hormonale (Benhamou et Rey, 2012 ; Benejam, 2021).

Plusieurs critères doivent être respectés pour qu'un produit ou une substance soit défini comme un SDP : a) ne montrer aucune activité antimicrobienne directe ; b) protéger contre une gamme d'agents pathogènes sans spécificité ; c) activer des mécanismes de défense de l'hôte similaires à ceux induits de manière systémique après une activation biologique de la SAR et même dans des tissus non confrontés au produit ou à la substance (Brisset *et al.*, 2000).

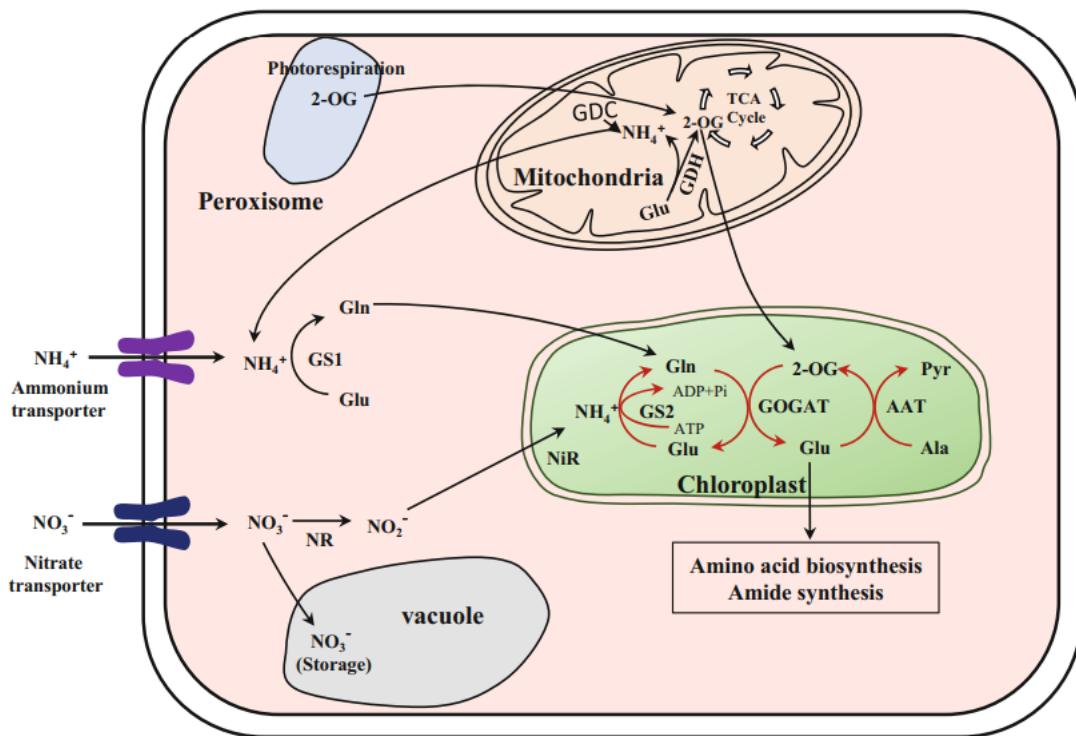


Figure 4 : Schéma des étapes impliquées dans le métabolisme azoté de la plante
(Kishorekumar *et al.*, 2020).

Des produits à base de laminarine (polysaccharide extrait de l’algue marine, la laminaire), tel que Iodus 2®, sont déjà commercialisés pour lutter contre la tavelure sur pommier [17]. Des études montrent que l’acibenzolar-S-méthyl (ASM), un analogue de l’acide salicylique appartenant à la famille des benzothiadiazoles (BTB), permet de limiter le développement de *V. inaequalis*. L’ASM est donc reconnu par les récepteurs de l’acide salicylique (notamment SABP2) grâce à son homologie avec ce dernier. Ainsi, il favorise l’induction de défenses dont la synthèse de protéines PR, permettant de protéger de nombreuses espèces végétales contre un large spectre d’agents pathogènes (Benejam, 2021). Bengtsson *et al.* (2008) ont réalisé un traitement à l’ASM deux jours avant l’inoculation par *V. inaequalis* et ont observé une réduction du pourcentage de germination des conidies de 30 % trois jours après l’inoculation en comparaison avec un témoin traité à l’eau. En France, plusieurs spécialités commerciales existent pour l’ASM, notamment Bion 50 WG® ou Bion MX®, Azcenzae®, Peon WG® ou bien Ressivi Tournesol®, cependant aucun n’est homologué sur fruits à pépins [18].

Gaucher *et al.* (2022) ont montré l’efficacité de protection du phosphonate de potassium (produit commercial : Soriale®) sur plusieurs bioagresseurs du pommier dont *V. inaequalis*, en conditions semi-contrôlées. En effet, le phosphonate de potassium permet un taux de protection allant de 40 à 75 % contre la tavelure. Ce produit possède une activité biocide en plus d’une activité de stimulateur de défense des plantes.

Cependant, malgré ces efficacités de protection démontrées dans des conditions plus ou moins contrôlées, de nombreuses études doivent encore être réalisées pour optimiser leur utilisation et leur efficacité afin de les intégrer dans des itinéraires techniques et les utiliser durablement en verger. En effet, l’efficacité des SDP varie selon plusieurs facteurs dont le génotype, l’environnement et les pratiques culturales (Marolleau *et al.*, 2017). Parmi ces facteurs, le statut azoté du pommier pourrait provoquer un effet différentiel d’induction des défenses par les SDP.

1.2.4.6. La fertilisation azotée

a) L’assimilation de l’azote

L’azote (N) est un macronutritriment essentiel pour la croissance et le développement des plantes. Cet élément est un constituant des acides aminés, protéines, acides nucléiques, chlorophylles et phytohormones et est lié à des processus physiologiques ou métaboliques tels que la photosynthèse, la photorespiration, la respiration et le cycle de l’acide tricarboxylique (TCA) (Sun *et al.*, 2020 ; Sun *et al.*, 2021).

Plusieurs enzymes sont impliquées dans l’assimilation de l’azote et plus particulièrement des ions nitrate (NO_3^-) et ammonium (NH_4^+). Une fois absorbé par les racines, le NO_3^- traverse la membrane plasmique grâce à différents types de transporteurs spécifiques. Il est ensuite réduit dans le cytosol en nitrite (NO_2^-) par la nitrate reductase (NR). Le nitrite, toxique pour les cellules, est rapidement réduit en ammonium par la nitrite reductase (NiR) dans les chloroplastes ou les plastides. Ce dernier est ensuite assimilé par différentes voies via le cycle de la glutamine synthétase/glutamine oxoglutarate aminotransferase (GS/GOGAT). L’ammonium généré par la photorespiration et la voie de dégradation des protéines est également réassimilé par le cycle GS/GOGAT tout comme l’ammonium prélevé directement du sol. L’excès de NO_3^- est stocké dans les vacuoles et permet l’osmorégulation (Sun *et al.*, 2020) (fig. 4). L’assimilation de l’azote est interconnectée avec le métabolisme du

carbone (C). En effet, le métabolisme primaire du carbone dépend de l'assimilation de l'azote puisqu'une grande partie de l'azote de la plante est utilisée pour les protéines et la chlorophylle. De plus, l'assimilation de l'azote nécessite un approvisionnement continu en énergie et en squelettes carbonés (Foyer *et al.*, 2001). Une carence en azote entraîne alors une limitation de la croissance et du développement des plantes (Sun *et al.*, 2021). Lorsque l'azote est limitant chez les plantes, des changements dans l'expression de gènes majeurs liés au processus biologique du métabolisme primaire ont lieu (gènes impliqués dans l'accumulation du nitrate, la photosynthèse, la détoxicification de l'azote...). Ainsi, les gènes liés au métabolisme primaire sont réprimés en condition de forte limitation azotée tandis que les gènes liés au métabolisme secondaire sont induits notamment les gènes de la voie de biosynthèse des flavonoïdes impliqués dans les mécanismes de défense (Sun *et al.*, 2021). L'augmentation de la défense des plantes se ferait donc au détriment de la croissance suivant la théorie de la balance croissance/défense (Fagard *et al.*, 2014).

b) Rôle dans la défense des plantes

L'azote est également impliqué dans les réponses des plantes aux stress biotiques et abiotiques. En effet, sa disponibilité peut affecter le développement des agents pathogènes ainsi que l'élicitation et le déploiement des défenses des plantes (Sun *et al.*, 2020).

Des études sur d'autres pathosystèmes ont montré des réponses différentes à la limitation azotée. En effet, la limitation azotée peut avoir un effet bénéfique ou négatif sur le développement de l'agent pathogène (Fagard *et al.*, 2014). Par exemple, une limitation azotée à 2 mM chez *Arabidopsis thaliana* augmente sa sensibilité à *E. amylovora*, tandis que la même limitation réduit sa sensibilité à *Botrytis cinerea* par rapport à une fertilisation à 10 mM (Fagard *et al.*, 2014). Hoffland *et al.* (2000) ont montré qu'un apport élevé en azote chez la tomate conduit à une sensibilité accrue vis-à-vis de la bactérie *Pseudomonas syringae* pv *tomato* ainsi qu'à l'oïdium causé par *Oidium lycopersicum* mais n'affecte pas sa sensibilité à l'agent du flétrissement *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*.

Sur la variété 'Golden Delicious' une nutrition azotée de 13 g/arbre/an a augmenté l'indice de maladie de *V. inaequalis* de 45,8 % tandis qu'une nutrition azotée de 3,6 g/arbre/an l'a diminuée à 18,4 % (Rühmann *et al.*, 2002). Comme vu précédemment l'augmentation du rapport C/N, liée à une limitation en azote, provoque l'augmentation de composés phénoliques, facteurs de résistance importants, et plus particulièrement ceux du métabolisme des phénol-propanoïdes (Rühmann *et al.*, 2002).

Des études ont également montré des effets différents sur la résistance aux maladies selon les formes d'azote apportées : ammonium (NH_4^+) ou nitrate (NO_3^-), s'expliquant par l'utilisation de différentes voies d'assimilation et de métabolisme (Mur *et al.*, 2017 ; Sun *et al.*, 2020). Ainsi, une augmentation des symptômes de pourriture racinaire par *Rhizoctonia solani* sur betteraves à sucre a été observée après une nutrition en NH_4^+ . Cette nutrition augmente la teneur en sucres, en acides aminés apoplastiques ainsi qu'en GABA (acide gamma-aminobutyrique), augmentant alors la disponibilité de nutriments pour le pathogène. A l'inverse, une nutrition en NO_3^- chez la tomate conduit à une résistance accrue à *P. syringae* pv *tomato*, grâce à une augmentation de la synthèse de polyamines, connues pour augmenter la résistance des plantes (Mur *et al.*, 2017).

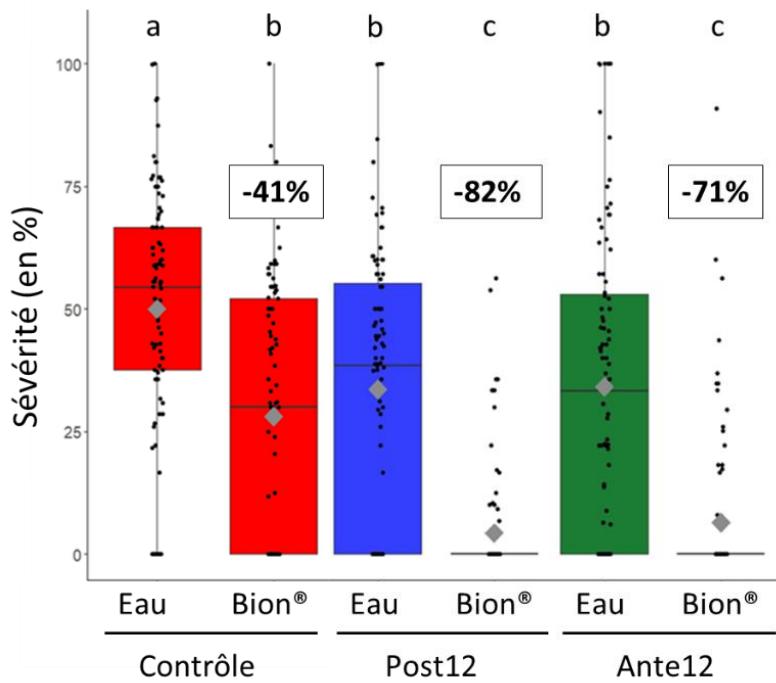


Figure 5 : Boxplot de la distribution de la sévérité relative du feu bactérien 21 jours après inoculation d'*Erwinia amylovora* chez des semis de Gala soumis à différents régimes azotées (situation de confort en azote ou de limitation en azote pendant 12j : Ante et Post) et de traitement (eau ou Bion®). Les traitements ont été effectués soit avant un retour en confort azoté (Ante) soit après (Post). ANOVA à un facteur et test de Tukey ($\alpha=0,05$) 2 à 2 sur le facteur modalité (NxBion®) avec classement par groupes ($n = 3$). Les lettres différentes au-dessus des boxplots indiquent des différences significatives. Les losanges gris représentent la moyenne pour chaque modalité et les points noirs représentent la distribution des individus. Les pourcentages indiquent l'efficacité de protection du Bion par rapport à la modalité traitée à l'eau pour chaque régime azoté (Thèse de T. Mobarak).

1.2.4.7. L'impact des combinaisons de méthodes comme axe de recherche

L'un des projets de recherche de l'équipe ResPom porte sur la mise en place de combinaisons de leviers à effet immunitaire afin de lutter contre les bioagresseurs sur pommier. Ce projet, intitulé CapZeroPhyto est financé par l'ANR (agence nationale de la recherche) via le Programme Prioritaire de Recherche (PPR) « Cultiver et protéger autrement » et vise à proposer de nouvelles stratégies de protection des cultures chez le pommier et la tomate par l'utilisation combinée de leviers immunitaires modulant les mécanismes de défense des plantes [19]. Chez le pommier, cinq leviers immunitaires sont étudiés individuellement et en association : résistance génétique, plantes de service, solutions de biocontrôle avec une action SDP (stimulateur de défense des plantes), flashes d'UV-C et fertilisation azotée ; pour lutter contre ses trois principaux bioagresseurs : *Venturia inaequalis* (tavelure), *Erwinia amylovora* (feu bactérien) et *Dysaphis plantaginea* (puceron cendré).

Dans l'équipe ResPom, des résultats ont déjà été obtenus sur l'interaction du statut azoté et d'un stimulateur de défense des plantes sur le feu bactérien (Thèse de Térance Mobarak, en cours). Ainsi, des semis de pommier soumis à une limitation en azote seule ou en combinaison avec un traitement au Bion® montrent une meilleure résistance au feu bactérien comparés à des plantes traitées à l'eau et/ou en confort azoté (fig. 5). L'application du Bion® au moment où les plantes sont en limitation en azote (Ante12) ou bien juste après leur remise en confort en azote (Post 12), améliore de manière significative l'efficacité de protection du Bion® vis-à-vis du feu bactérien.

1.2.5. Objectifs du stage

La problématique de ce stage est donc d'étudier l'interaction des leviers azote, SDP et génétique pour améliorer l'immunité du pommier vis-à-vis de la tavelure. Cette étude s'inscrit dans le cadre de la thèse de Térance Mobarak, en cours, portant sur l'interactions statut azoté et SDP pour un meilleur compromis entre productivité et immunité chez le pommier.

Afin de répondre à cette problématique, deux objectifs ont été déterminés pendant le stage. Le premier objectif porte sur l'étude de l'effet de deux combinaisons de leviers : Combinaison 1) fertilisation azotée x SDP sur tavelure ; Combinaison 2) fertilisation azotée x SDP x résistance génétique sur la tavelure. Pour ces deux combinaisons, des régimes azotés contrastés sont testés afin d'étudier l'impact du statut azoté seul et/ou en combinaison avec le Bion® et/ou la génétique sur la protection du pommier vis-à-vis de la tavelure. La combinaison 1 vise à vérifier que les résultats obtenus pour le feu bactérien, indiqués plus haut, sont transposables à la tavelure. La combinaison 2 ajoute la résistance génétique à ces deux leviers. Ici l'objectif est d'analyser si les deux premiers leviers (fertilisation azotée et SDP) ont un effet additif et/ou des interactions positives/négatives sur l'effet des QTL de résistance à la tavelure.

Le deuxième objectif de ce stage s'inscrit dans l'étude d'un itinéraire technique (ITK) intégrant un stimulateur de défense des plantes : le phosphonate de potassium et plus particulièrement le produit commercial Soriale®. Ici, l'objectif est de tester un itinéraire technique permettant de réduire la pression de *V. inaequalis* en utilisant des produits phytosanitaires toujours homologués après 2025. Cette partie du stage s'inscrit dans le cadre d'un partenariat avec le CTIFL de la Morinière.

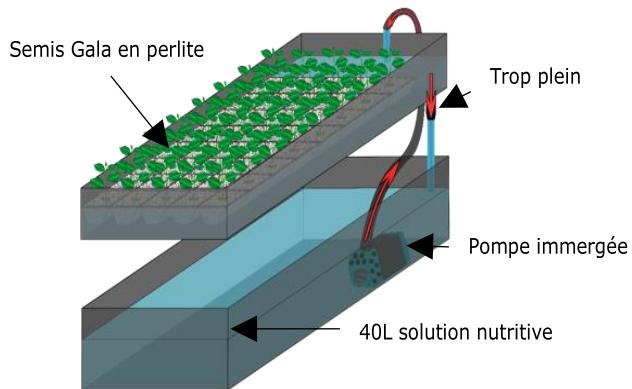


Figure 6 : Schéma du dispositif de culture en subirrigation pour les tests azote x SDP (Mobarak, 2022). Le bac du dessous est le bac réservoir (contenant 40L de solution nutritive) et le bac du dessus est le bac de culture où sont placées les 40 plantes repiquées en godets remplis de perlite. Une pompe, gérée par un programmeur, est immergée dans le bac réservoir et permet la subirrigation des plantes. Un système de trop plein situé dans le bac de culture permet de réguler la hauteur de l'eau. Lorsque l'irrigation est terminée, une évacuation située au fond du bac de culture permet la vidange de l'eau dans le bac réservoir.

Tableau 1 : Concentrations des différents ions composant les 2 types de solution nutritive utilisées pour les différents régimes azotés.

Solutions nutritives	Concentrations (en mM) des différents ions							
	NO ₃ -	K+	Ca ²⁺	Mg ²⁺	SO ₄ ²⁻	PO ₄ ³⁻	EDTA-Fe	Oligo-éléments
HN	7	3	3,5	1,5	2,5	1	0,043	1/10000
LN	0,5	3	3,5	1,5	5,75	1	0,043	1/10000

2. Matériel et méthodes

2.1. Effet de la fertilisation azotée sur l'efficacité du Bion® contre la tavelure

2.1.1. Matériel biologique

2.1.1.1. Matériel végétal

La variété de pomme 'Gala' a été choisie dans cet essai pour sa sensibilité à la tavelure en plus d'être la deuxième variété la plus produite en France [20]. De plus, l'équipe ResPom dispose d'une parcelle de Gala dédiée à l'étude de la combinaison azote x SDP.

Pour l'étude de cette interaction, 480 semis de pomme Gala issus de deux lots de pépins (2013 et 2022) ont été utilisés. Ces lots sont issus du croisement entre la variété 'Gala' et un parent inconnu (pollinisation libre). Avant semis, les pépins subissent une étape de stratification pendant laquelle les pépins sont placés à 4 °C avec une forte humidité pendant 70 jours. Les pépins ont ensuite été semés dans des bouchons de laine de roche et irrigués tous les deux jours pendant deux semaines d'abord à l'eau claire puis avec une eau fertilisée à demi-concentré (annexe 1). La culture des semis a été réalisée en conditions contrôlées sous serre : température de 21 ± 3 °C jour, 18 ± 3 °C nuit ; lumière (16h de jour à partir du lever du soleil avec compensation par éclairage d'appoint lorsque le rayonnement solaire est inférieur à 200 W) ; hygrométrie oscillant entre 60 et 90%. Lorsque les plantules ont atteint le stade 2 à 3 feuilles (environ deux semaines après le semis), elles ont été repiquées en godets avec perlite (substrat minéral inerte), placées par lots de 40 dans des bacs de culture en subirrigation et ferti-irriguées deux fois par jour (à 9h et 18h) pendant 20 minutes (fig. 6).

2.1.1.2. Matériel fongique

La souche 104 de l'espèce *V. inaequalis* a été utilisée pour cet essai qui est la souche de référence pour l'équipe. Cette souche a été isolée sur la variété 'Golden Delicious' et provient de la collection INRA d'Angers.

2.1.2. Régimes azotés et traitements testés

Jusqu'au stade 5-6 feuilles, les plantules ont d'abord été fertilisées avec une solution nutritive riche en azote pour laquelle la seule source d'azote disponible était le nitrate (notée "HN" pour *High Nitrogen* à 7mM ; tableau 1). Puis, deux régimes azotés différents ont été testés : un régime où les plantes sont maintenues en confort en azote (solution HN) ; un autre où les plantes sont d'abord fertilisées avec une solution limitée (notée « LN » pour *Low Nitrogen* à 0,5 mM de nitrate ; tableau 1) pendant 12 jours avant d'être remises en confort en azote (solution HN) pour le reste de l'essai. Les solutions nutritives ont été renouvelées tous les 10 à 12 jours pendant l'essai afin de limiter les risques d'appauvrissement dus à l'absorption des éléments nutritifs par les plantes ou de concentration liée à l'évaporation. Deux traitements ont été appliqués : eau osmosée ou SDP (Bion 50 WG®, 50% ASM ; Syngenta, Basel, Switzerland).

Pour les plantes soumises à une limitation en azote, le traitement a été réalisé 2 jours avant (modalité Ante 12) ou 1 jour après (Post 12) leur remise en confort azoté. Afin de réaliser les traitements le même jour pour l'ensemble des plantes, la mise en limitation azotée des plantes sous la modalité Post 12 a été réalisée

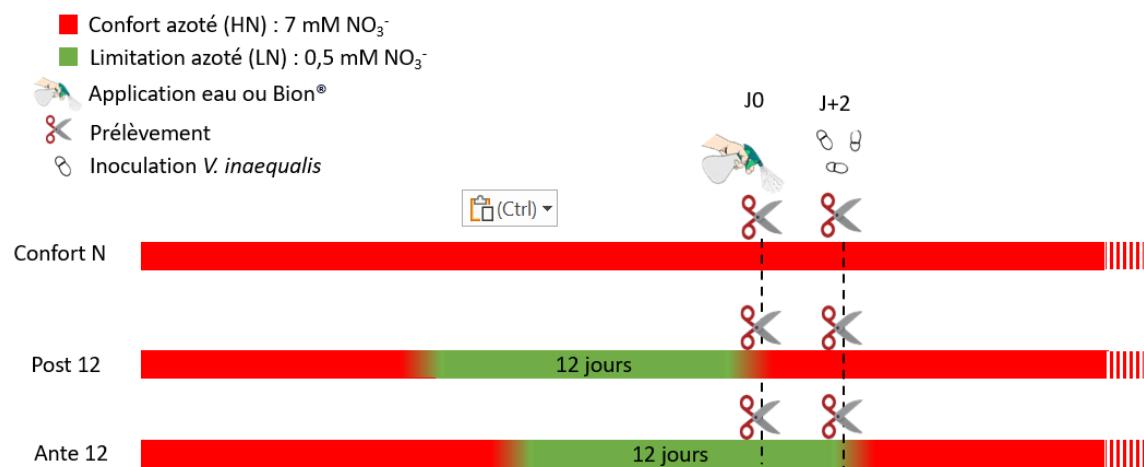


Figure 7 : Représentation du moment de l'application du traitement et de l'inoculation sur les différentes modalités azotées testées : confort en azote et limitation azoté avec un traitement réalisé après (Post 12) ou avant (Ante 12) la remise en confort azoté

Régime azoté		High Nitrogen	Low Nitrogen Ante 12	Low Nitrogen Post 12
Traitement	Eau			
	Bion® 0,4 g/L			

Figure 8 : Représentation du nombre de plante associées aux différentes modalités testées

Tableau 2 : Conditions climatiques appliquées en serre ou en chambre climatique à partir de l'inoculation et jusqu'à la fin de l'essai

Température (en °C)	pendant 3 semaines	17°C pendant 3 semaines
Hygrométrie	85 % pendant 48 h puis 70 % pendant 3 semaines	90 % pendant 3 semaines
Luminosité	Fermeture des rideaux pendant 3 semaines	Extinction des lampes pendant 48 h puis photopériode de 16 h de jour pendant 3 semaines par éclairage artificiel

3 jours avant celle des plantes sous la modalité Ante 12 (fig. 7). Deux jours après le traitement à l'eau ou au SDP, *Venturia inaequalis* a été inoculé sur l'ensemble des plantes. L'essai est donc constitué de six modalités (fig. 8) répétées deux fois. Pour une des répétitions, l'ensemble de l'essai a été réalisé sous serre alors que pour l'autre, les plantes ont été transférées en chambre climatique juste avant l'inoculation.

2.1.2.1. Application des traitements

Comme indiqué précédemment, les plantes sont traitées au Bion 50 WG® ou à l'eau osmosée. Le Bion 50 WG® a été utilisé à une concentration de 0,4 g/L (concentration évitant des effets de phytotoxicité sur pommier). Le Bion 50 WG® est mis en solution dans de l'eau osmosée et pulvérisé sur les jeunes feuilles à l'aide d'un pulvérisateur manuel jusqu'à recouvrir la surface des feuilles à la limite du point de ruissellement.

2.1.2.2. Inoculation de la souche de *V. inaequalis*

L'inoculum a été préparé en mettant en suspension dans de l'eau osmosée les spores de *V. inaequalis* présentes sur des feuilles séchées et tavelées (conservées au congélateur à -20 °C). La suspension de spores a été ajustée à $2,5 \times 10^5$ conidies par mL et pulvérisée sur les jeunes feuilles à l'aide d'un pulvérisateur manuel jusqu'à recouvrir la surface des feuilles à la limite du point de ruissellement. Après l'inoculation, les plantes ont été recouvertes d'une bâche afin de maintenir un taux d'humidité élevé. Pour favoriser la germination et le développement des souches sur les hôtes, les températures et l'hygrométrie ont été ajustées différemment selon les répétitions en serre ou en cellule climatique (tableau 2). Les plantes ont été débâchées 48 h après l'inoculation.

2.1.2.3. Notation de symptômes

Les notations ont été réalisées sur 30 plantes pour chaque modalité. L'incidence de la maladie a été déterminée en considérant deux classes : présence/absence de taches sporulantes, et la sévérité des symptômes a été déterminée en notant la surface de sporulation des feuilles à l'aide d'un score allant de 0 à 7, décrit par Calenge *et al.* (2004) (fig 9). D'autres éléments ont également été notés tels que le nombre de feuilles par plante ainsi que le nombre de feuilles tavelées et leur étage foliaire respectif. Les notations ont été réalisées à 14, 21 et 28 jours après l'inoculation de la tavelure. Ces notations ont été intégrées dans une AUDPC (aire sous la courbe de progression de la maladie), permettant d'obtenir une valeur représentative de l'intensité de la maladie au cours du temps. L'AUDPC a été calculée selon la formule suivante où y est la sévérité au temps t pour une succession de points de mesure i .

$$AUDPC = \sum_{i=1}^{n-1} \left(\frac{y_i + y_{i+1}}{2} \right) (t_{i+1} - t_i)$$

L'efficacité de protection du Bion® pour chaque modalité azotée testée a été calculée comme le pourcentage de réduction de l'incidence de la maladie sur feuille pour les plantes traitées au Bion® par rapport à celles traitées à l'eau. De la même façon, l'efficacité de protection de la limitation azotée a été calculée pour les plantes mises en limitation azotée et traitées à l'eau par rapport à celles en confort azoté. L'efficacité de la combinaison régime azotée et Bion® a été calculée pour les plantes mises en limitation azotée et traitées au Bion® par rapport à celles traitées à l'eau et en confort azoté.

Classe de symptômes	
0	Pas de taches sporulantes
1	Présence de taches sporulantes
Intensité de l'attaque	
0	pas de symptômes
1	moins de 1%
2	de 1% à 5%
3	de 5% à 10%
4	de 10% à 25%
5	de 25% à 50%
6	de 50% à 75%
7	de 75% à 100%

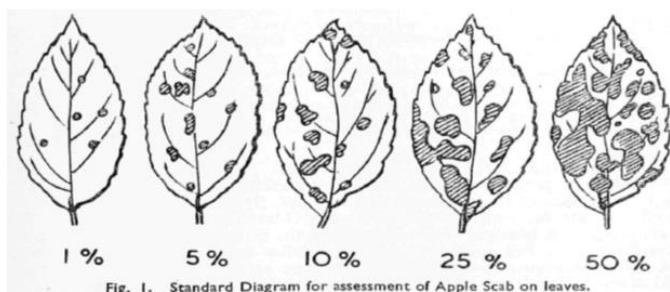


Figure 9 : Echelle de classe de symptôme et d'intensité d'attaque de la tavelure sur feuilles de pommier (source interne).

Tableau 3 : Répartition des génotypes dans les différentes modalités

T1	F11	F17	T13	HN						LN						Total	
				a		b		c		d		e		f			
				CtrI	PRI	PRI	CtrI	CtrI	PRI	CtrI	PRI	PRI	CtrI	CtrI	CtrI	PRI	
T1-	F11-	F17-	T13-	4	4	4	4	1		4	4	3	3	1	1	33	
			T13+	4	4	3	4		1	4	4	3	3	1	1	32	
		F17+	T13-	4	4	6	5	11	12	4	4	6	6	11	10	83	
			T13+	4	4	6	6	7	7	4	4	4	4	7	9	66	
	F11 +	F17-	T13-	4	4	3	2			4	4	3	3			27	
			T13+	4	4	1	2			4	4	1	1			21	
		F17+	T13-	4	4	5	4	6	6	4	4	5	5	7	6	60	
			T13+	4	4	4	5	6	7	4	4	6	6	5	5	60	
T1+	F11-	F17-	T13-	4	4	4	4	2	2	4	4	4	4	3	3	42	
			T13+	4	4	3	3	1	1	4	4	4	4			31	
		F17+	T13-	4	4	5	5	8	8	4	4	5	5	9	8	69	
			T13+	4	4	5	5	9	8	4	4	5	5	8	9	70	
	F11 +	F17-	T13-	4	4	2	2	1		4	4	2	3			26	
			T13+	4	4	3	3			4	4	2	2			26	
		F17+	T13-	4	4	5	5	6	7	4	4	4	5	6	7	61	
			T13+	4	4	4	5	8	7	4	4	4	4	9	8	65	
Total				64	64	63	64	66	66	64	64	61	62	67	67	772	

2.1.2.4. Analyse des résultats

Afin de vérifier l'hypothèse selon laquelle des différences significatives existent entre les conditions testées, une analyse statistique est réalisée sur le score en utilisant le logiciel R (v. 4.3.1). L'homoscédasticité des variances étant refusée (test de Bartlett) et les variables ne suivant pas une loi normale (test de Shapiro-Wilk), le test non paramétrique de Kruskall-Wallis a donc été utilisé. Les valeurs de p-value inférieures à 0,05 sont considérées comme significatives.

2.2. Effet de la fertilisation azotée et du génotype des individus sur l'efficacité du Bion® contre la tavelure

2.2.1. Matériel biologique

2.2.1.1. Matériel végétal

Le test portant sur l'interaction azote x SDP x génétique a été réalisé sur 772 semis âgés de 6 mois issus du croisement entre le génotype TN10-8 et la variété 'Fiesta' pour lesquels 4 QTLs de résistance à la tavelure ont été identifiés (Benejam, 2021) : T1, F11, F17 et T13. L'hybride TN10-8 est issu du croisement entre les variétés 'Reinette Clochard' (faible sensibilité à la tavelure) et 'Schmidt's Antonovka P.I.172632' (résistant à la tavelure) et est porteur des allèles favorables aux QTLs de résistance T1 et T13. La variété 'Fiesta', issue du croisement entre la variété 'Cox's Orange Pippin' (faible sensibilité à la tavelure) et la variété 'Idared' (sensible à la tavelure), porte les allèles favorables aux QTLs de résistance F11 et F17.

La sélection des 772 génotypes a été réalisée de manière à constituer des lots d'individus combinant un ou plusieurs allèles favorables aux QTL de résistance T1, F11, F17 et T13 (tableau 3) préalablement identifiés par génotypage de l'ensemble de la population. Ainsi, les individus ont été répartis en 4 groupes équilibrés (pour les 4 modalités testées) en fonction des allèles favorables ou défavorables portés par chaque individu aux 4 QTL de résistance. Trois blocs ont été constitués au sein de ces groupes mais il n'a pas été possible d'avoir une répartition homogène des génotypes entre les blocs : les blocs c et f sont ainsi enrichis en individus portants l'allèle favorables au QTL F17. Les plantes ont été placées dans des pots de 1L remplis d'un substrat composé de perlite moyenne (40%), de tourbe blonde balte B1 (25%), de tourbe blonde baltique 5/20 (25%), de fibre de coco (10%) et d'engrais organiques PG Mix 14-16-18 (1 Kg/m³) et disposées sur des tables de culture en subirrigation (fig. 10).

2.2.1.2. Matériel fongique

La souche 09BCZ14 (Origine : France, hôte : TN10-8 × Prima progeny) de *V. inaequalis* a été utilisée. Cette souche a été choisie pour sa capacité à contourner le QTL majeur de résistance présent sur le groupe de liaison 1 de TN10-8 (QTL T1) permettant ainsi de mieux évaluer les effets des autres QTLs (Benejam, 2021).

2.2.1.3. Application du régime azoté

De la même façon que pour le test portant sur l'interaction azote x SDP, deux régimes azotés ont été appliqués. Un premier où les plantes sont d'abord placées en limitation azotée (solution LN à 0,6 mM d'azote) avant une remise en confort en azote (solution HN à 6,16 mM d'azote) et un deuxième où les plantes sont maintenues en confort azoté pendant tout l'essai. Contrairement à l'essai sur l'interaction azote x SDP, la source

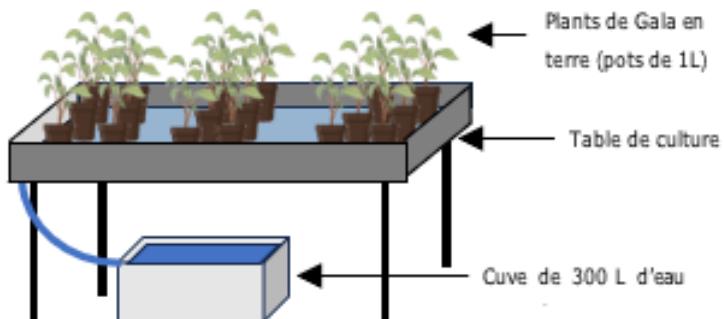


Figure 10 : Schéma du dispositif de subirrigation sur table de culture pour le test azote x SDP x génétique. La cuve contient une pompe qui est raccordée à une table de culture sur laquelle les plantes sont disposées. Lorsque l'arrosage est déclenché, la table s'inonde durant le temps d'irrigation programmé. Ainsi, les plantes sont irriguées par bassinage. Après irrigation, l'eau de la table s'écoule et retourne dans la cuve.

Tableau 4 : Teneur en engrais 0-15-40 et en ammonitrates (34,5 %) ajoutée à la l'eau de la serre pour la fabrication des solutions nutritives utilisées pour les

	HN	LN
Masse engrais 0-15-40 sans N (en g/L)	0,5	0,5
Masse d'ammonitrates à 34,5% (en g/L)	0,25	0,0125
Concentration en azote (en mM)	6,16	0,6

d'azote disponible dans les solutions nutritives était l'ammonitrat. Les solutions nutritives ont été fabriquées à partir d'un engrais (0-15-40) sans azote avec 15 % de phosphore et 40 % de potassium, à une concentration de 0,5 g/L et de granulés d'ammonitrat à 34,5 % à des doses différentes pour les deux régimes azotés (tableau 4).

Pour ce test, l'équipe n'ayant pas de recul sur la durée nécessaire pour une mise en limitation azotée effective sur des semis âgés de 6 mois, des mesures ont été faites avec le Dualex® dans le but de suivre l'évolution de la teneur en chlorophylle connue pour être indicatrice du statut azoté. Ainsi, lorsqu'une différence de cette teneur est apparue entre les plantes en confort azoté et celles en limitation, les traitements ont pu être réalisés. A la première date (le 01/06, noté d1), la teneur en chlorophylle de la jeune feuille déroulée au moment de la mesure (notée F1) a été mesurée. Puis à la deuxième date (le 09/06, noté d2), 8 jours plus tard, la teneur en chlorophylle de cette même feuille a été à nouveau mesurée ainsi que celle de la nouvelle feuille déroulée entre la première et la deuxième date (notée F2). Les relevés de la teneur en chlorophylle des feuilles mesurée par le Dualex® ont permis d'observer une différence de cette teneur, entre les conditions LN et HN, 50 jours après le début de la limitation azotée. Les plantes ont ensuite été traitées à l'eau ou au Bion® 2 jours avant d'être inoculées avec *V. inaequalis*. Les plantes soumises à la limitation azotée ont été remises en confort nutritionnel 4 jours après leur inoculation.

2.2.2. Application des traitements

Les pommiers ont été traités avec du Bion 50 WG® utilisé à une concentration de 0,2 g/L ou de l'eau osmosée. Le Bion 50 WG® a été préparé et les traitements effectués de la même manière que pour le test d'interaction azote x SDP (se référer à la partie 2.1.2.1). Les traitements ont été effectués 53 jours après la mise en limitation azotée des plantes de la modalité LN.

2.2.2.1. Inoculation de la souche de *V. inaequalis*

L'inoculum a été préparé et appliqué de la même façon qu'avec le test portant sur l'interaction azote x SDP (se référer à la partie 2.1.2.3). Après l'inoculation, les plantes ont été recouvertes d'une bâche pour maintenir un taux d'humidité élevé. Les conditions ont été ajustées à 15°C ($\pm 3^{\circ}\text{C}$) et 85 % d'humidité pendant 48h. Par la suite, les plantes ont été débâchées et la température a été augmentée à 17°C.

2.2.2.2. Notation de symptômes

La sévérité des symptômes a été déterminée en notant la surface de sporulation de la feuille la plus tavelée de chaque plante à l'aide d'un score allant de 0 à 7, décrit par Calenge *et al.* (2004) (fig. 9). Les notations ont été réalisées à 14, 21 et 28 jours après l'inoculation de la tavelure.

L'efficacité de protection du Bion®, de la limitation azotée et de la combinaison des deux sur les différents génotypes a été calculée de la même manière que pour l'essai sur l'interaction azote x SDP (partie 2.1 du matériel et méthode) en utilisant la sévérité de la maladie sur les feuilles.

2.2.2.3. Analyse des résultats

Afin de vérifier l'hypothèse selon laquelle des différences significatives existent entre les conditions testées, une analyse statistique est réalisée sur le score en utilisant le logiciel R (v. 4.3.1). L'homoscédasticité des variances étant refusée (test de Bartlett) et les variables ne suivant pas une loi normale (test de Shapiro-Wilk), le test non paramétrique de Kruskall-Wallis a donc été utilisé. Les valeurs de p-value inférieures à 0,05 sont considérées comme significatives.

2.2.3. Analyse de biologie moléculaire

2.2.3.1. Echantillonnage

Pour les tests portant sur l'interaction azote x SDP, la plus jeune feuille déroulée a été prélevée juste avant le traitement (J0) et l'inoculation (J+2) pour 5 à 8 plantes. Les échantillons J0 permettent d'évaluer le statut azoté des plantes créé par la mise en limitation. Les échantillons J+2 permettent d'évaluer l'induction des défenses des plantes par le traitement SDP. Après le prélèvement, les feuilles sont directement déposées dans des papillotes en aluminium et congelées dans l'azote liquide puis conservées à - 80 °C.

2.2.3.2. Extraction des ARN totaux

Afin d'extraire les ARN totaux des échantillons, les feuilles sont broyées au mortier dans l'azote liquide jusqu'à obtenir une poudre fine. L'extraction est réalisée sur environ 50 mg de matière fraîche à l'aide du kit Nucleospin RNA Plant (Macherey-Nagel) selon la procédure du fabricant. La concentration des ARN totaux a été estimée au nanodrop. Les ARN sont conservés à 80 °C jusqu'à utilisation.

2.2.3.1. Reverse transcription

Les ADNc double brin ont été synthétisés par reverse transcription (RT) à l'aide de l'enzyme M-MLV reverse transcriptase (Promega) sur 2 µg pour 30 µL de volume réactionnel selon les instructions du fabricant. L'efficacité de la RT et l'absence de contamination par de l'ADN génomique (ADNg) ont été vérifiées par PCR en utilisant des amorces ciblant un gène du facteur d'elongation (EF)-1 α de part et d'autre d'un intron, amplifié par GoTaq® Flexi DNA Polymerase (M3008, Promega), selon le protocole du fabricant. Une électrophorèse a ensuite été réalisée avec les produits PCR qui ont été placés sur gel agarose 2% et soumis à une tension de 100V pendant 20 minutes pour la migration. La révélation a été réalisée par trempage du gel pendant 15 minutes en bain de bromure d'éthidium (BET) à 2 mg/L puis a été rincé dans un bain d'eau distillée. Les bandes d'amplicons ont été visualisées sous UV à l'aide du système d'imagerie Infinity (Vilber) et comparées au SmartLadder®(Eurogentec, Seraing, Belgique) donnant une échelle de taille de 200pb à 10kb.

2.2.3.2. Analyses qPCR

Des analyses par PCR quantitative en temps réel (qPCR) ont été réalisées pour une sélection de gènes

Traitements		Témoin	Itinéraire technique de référence en PFI	Itinéraire technique testé pour 2025 en PFI
Blocs	1	x 6 arbres	x 6 arbres	x 6 arbres
	2	x 6 arbres	x 6 arbres	x 6 arbres
	3	x 6 arbres	x 6 arbres	x 6 arbres
	4	x 6 arbres	x 6 arbres	x 6 arbres

Figure 11 : Schéma de l'ensemble des conditions testées pour l'essai intégrant le Soriale® dans un itinéraire technique en PFI en verger

Tableau 5 : Traitements fongicides appliqués sur les arbres à différentes dates selon les modalités testées.

Date de traitement	Stade phénologique (code Baggioletti)	Référence production fruitière intégrée	Production fruitière intégrée après 2025
21-mars	C	Macc80® (2 kg/ha) + MSD® (6 kg/ha)	Armicarb® (5 kg/ha) + Thiopron® (7,3 L/ha)
24-mars	C	Curatio® (10 L/ha)	Curatio® (10 L/ha)
27-mars	C-C3	Curatio® (10 L/ha)	Curatio® (10 L/ha)
30-mars	D	Delan SC® (0,7 L/ha) + Amulette® (0,5 kg/ha)	Armicarb® (5 kg/ha) + Thiopron® (7,3 L/ha)
06-avr	D3	Delan SC® (0,7 L/ha)	Armicarb® (5 kg/ha) + Thiopron® (7,3 L/ha)
11-avr	E	Delan Pro® (2,5 L/ha)	Armicarb® (5 kg/ha) + Thiopron® (7,3 L/ha)
15-avr	F1	Curatio® (10 L/ha)	Curatio® (10 L/ha)
21-avr	F2-G	Delan Pro® (2,5 L/ha)	Soriale® (1,9 L/ha) + Thiopron® (3 L/ha)
28-avr	G-H	Curatio® (10 L/ha)	Curatio® (10 L/ha)
04-mai	H	Delan Pro® (2,5 L/ha)	Luna Care® (3 kg/ha)
10-mai	H-I	Curatio® (10 L/ha)	Curatio® (10 L/ha)
12-mai	I	Delan Pro® (2,5 L/ha)	Soriale® (1,9 L/ha) + Thiopron® (4 L/ha)

de défense présents dans la qPFD (Puce à Faible Densité quantitative) (Dugé de Bernonville et al., 2014)(annexe 2) ainsi que des gènes rapporteurs du statut azoté (en cours de développement au laboratoire). Les qPCR ont été réalisées avec un appareil Biorad CFX Maestro (Bio-Rad iQ5, Hercules, CA, USA). Les réactions qPCR sont réalisées sur 0,15 µL d'ADNc non dilué dans un volume total de 15µL avec des couples d'amorces spécifiques à chaque gène selon la concentration déterminée (annexe 2), et le MesaBlue MasterMix selon la procédure du fabricant (Eurogentec, Seraing, Liège, Belgique) et 4,35 µL d'eau qualité PCR.

Les valeurs de Ct (valeur de cycle seuil) pour chaque gène ont été obtenues par la méthode de régression de la version 3.1 du logiciel CFX Manager (Bio Rad, Hercules, CA, USA). Les réactions ont été réalisées en trois répliques techniques et le niveau d'expression relative calculé selon la méthode $2^{-\Delta\Delta Ct}$ (Vandesompele et al., 2002) en utilisant 4 gènes de références pour calculer les facteurs de normalisation et un des échantillons contrôle comme calibreur.

2.3. Les stimulateurs de défense des plantes : en application en verger

2.3.1. Matériel végétal

L'essai a été réalisé au CTIFL de la Morinière (Saint Epain, 37) et effectué sur un verger greffé avec la variété 'Granny Smith' en 2008 puis surgreffé en 2016 avec la variété 'Galaval' (clone de Gala) et dont le porte-greffe est Emla. Le verger est implanté sur un sol limono-argileux avec un pH de 6-7. Les arbres sont conduits en axe vertical et ont été plantés avec un inter-rang de 4m et une distance inter-arbre de 1m. Les arbres sont irrigués sous frondaison par micro-jet à partir du mois de mai.

2.3.1. Conduite expérimentale

Pour cet essai trois modalités sont comparées entre elles : une modalité témoin sans traitement contre la tavelure, une modalité de référence en production fruitière intégrée (PFI) et une modalité correspondant à un nouvel ITK permettant de diminuer la pression de la tavelure et utilisant des produits qui seront encore utilisables après 2025. Quatre blocs de six arbres ont été évalués par modalités testées (fig. 11).

2.3.1.1. Itinéraire technique

Plusieurs fongicides ont été utilisés pour diminuer la pression de tavelure au cours de l'année (tableau 5).

Pour la modalité de référence en PFI (noté ref pfi), les fongicides qui ont été utilisés sont : Mac80® associé au MSD®, Curatio®, Delan SC® seul ou associé à Amulette® et Delan Pro®. Concernant la modalité testant un ITK efficace et utilisable après 2025 (noté 2025 pfi), les fongicides qui ont été appliqués sont : Armicarb® associé au Thiopron®, Curatio®, **Soriale®** associé au Thiopron® et Luna Care®. Les apports de fongicide ont été réalisés selon les doses recommandées par les fabricants et selon l'outils d'aide à la décision RIMpro. Basé sur les relevés météo du site, RIMpro permet d'estimer le risque d'infection par les ascospores de *V. inaequalis* dans le verger en cas de non-traitement. Des informations supplémentaires sur l'itinéraire technique des parcelles concernant les autres intrants appliqués sur la parcelle sont visibles dans l'annexe 3.

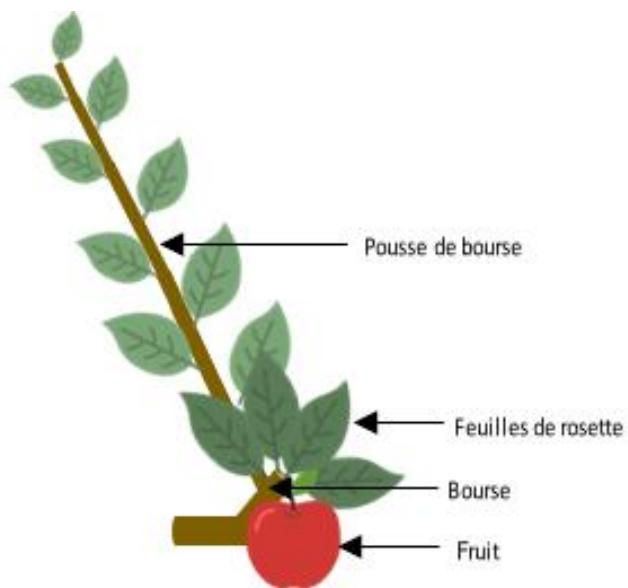


Figure 12 : Schéma des structures fructifères sur lesquelles les notations sont réalisées (feuilles de pousse et feuilles de rosette)

2.3.1.2. Notation de symptômes

Pour chaque bloc et modalité, 30 structures fruitières (fig. 12) sont choisies au hasard sur l'ensemble des 6 arbres pour lesquelles les symptômes sont évalués à la fois sur les feuilles de rosette et les feuilles de la pousse de bourse (appelée pousse par la suite), soit 120 (30 x 4 blocs) notations par modalité et par type de feuille. Le taux d'incidence et la sévérité relative de la maladie ont été déterminés en comptant le nombre de feuilles présentant au moins une tache de tavelure sur le nombre de feuilles totales pour les feuilles de rosettes et de pousses.

L'efficacité de protection de l'ITK de référence ou de l'ITK testé pour 2025 a été calculée comme le pourcentage de réduction de la sévérité de la maladie sur feuilles de pousse et de rosette pour les plantes traitées aux fongicides par rapport aux arbres non traités (Témoin). Les notations ont été réalisées les semaines du 22 mai et du 19 juin.

2.3.1.3. Analyse des résultats

Afin de vérifier l'hypothèse selon laquelle des différences significatives existent entre les conditions testées, une analyse statistique est réalisée sur le pourcentage moyen de feuilles infectées pour les rosettes et les pousses en utilisant le logiciel R (v. 4.3.1). L'homoscédasticité des variances étant refusée (test de Bartlett) et les variables ne suivant pas une loi normale (test de Shapiro-Wilk), le test non paramétrique de Kruskall-Wallis a donc été utilisé.

Tableau 6 : Expression relative des gènes de défense et gènes marqueurs du statut azoté 2 jours après le traitement Bion (Log Ratio))

Echantillons	PR4	PR5	PR10	PPO	CSL	BIS2	AGG	FER1	NRT2.5	GPD1	SPX1	Cals	EF1- α	SGF29	Actin	NTC
HCH_SS07	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
HTH_SS08	8,63	2,28	4,35	6,22	4,57	7,38	9,35	0,80	1,71	0,20	-0,75	-0,33	0,15	-0,37	0,18	-1,63
LLCH_SS09	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	-0,38	2,30	-3,79	-5,21	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
LLTH_SS10	3,03	5,64	0,81	1,23	0,34	1,17	8,10	-1,70	2,44	-4,06	-5,85	0,12	0,08	-0,25	-0,20	-0,42
LLHC_SS11	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	-4,54	-1,16	-0,75	-1,85	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
LLHT_SS12	5,75	4,47	4,13	4,10	2,81	7,26	8,63	-4,63	1,86	-0,02	-1,41	-0,54	0,36	-0,27	0,18	-0,98
HCH_2_SS31	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	-0,43	0,49	-0,29	-0,06	-0,96
HTH_2_SS32	4,96	4,74	2,76	5,35	2,10	7,23	9,79	0,03	1,59	0,47	0,41	-0,41	0,17	-0,49	0,24	-1,53
LLCH_2_SS33	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	-1,02	2,89	-4,22	-5,74	-0,51	0,06	0,09	0,45	-1,54
LLTH_2_SS34	0,28	2,92	1,30	-0,25	0,13	1,97	7,30	-1,68	3,05	-4,03	-5,34	-0,42	0,09	0,00	0,32	-1,32
LLHC_2_SS35	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	-3,67	0,20	-0,07	-0,73	-0,59	0,57	-0,44	0,01	-1,54
LLHT_2_SS36	6,02	4,85	1,75	2,68	3,13	6,92	8,61	-3,01	1,27	-0,22	-0,87	-0,70	0,56	-0,77	0,13	-1,20

3. Résultats

3.1. Effet de la fertilisation azotée sur l'efficacité du Bion® contre la tavelure

L'objectif de cet essai est de montrer l'efficacité du Bion 50 WG® sur la tavelure lorsqu'il est combiné à différents régimes azotés (confort ou limitant) et lorsqu'il est appliqué avant ou après une remise en confort azoté (ante ou post 12 jours de limitation) (partie 2.1. du matériel et méthode). Plusieurs variables ont été analysées (pourcentage moyen de surface tavelée et incidence de la maladie pour les feuilles déroulées après le traitement et pour les feuilles se situant sous la jeune feuille déroulée au moment du traitement pour les trois notations) mais ne sont pas présentées ici car les résultats qu'elles montrent ne sont pas différents de ceux obtenus avec l'AUDPC, variable qui prend en compte l'ensemble des notations (notations à 14, 21 et 28 jours).

Les résultats des analyses moléculaires, réalisées sur les feuilles prélevées à J+2 (soit le jour de la remise en confort en azote pour la modalité Ante 12 et 3 jours après pour Post 12), ont permis de montrer que les plantes traitées au Bion® ont réagi au traitement puisque des gènes marqueurs de défense sont surexprimés pour les modalités traitées au SDP par rapport aux contrôles eau. En conditions de limitation azotée (Ante12), les gènes rapporteurs du confort azoté (GDPD1 et SPX1) sont réprimés tandis que les gènes rapporteurs de la limitation (NRT2.5) sont surexprimés par rapport aux conditions de confort azoté (tableau 6). De plus, les gènes rapporteurs du confort azoté sont moins réprimés pour les modalité Post 12 pour lesquelles les plantes sont de nouveaux en confort azoté depuis 3 jours. La limitation azotée et la remise en confort ont donc bien été perçues par les plantes.

La figure 13 montre les résultats obtenus pour l'AUDPC calculée à partir de l'échelle de symptôme (de 0 à 7) attribuée aux feuilles déroulées au moment et après le traitement pour l'essai mené en serre (A et B) et en chambre de culture (C et D).

Pour l'essai en serre et pour les feuilles déroulées au moment du traitement (fig. 13 A), les 2 modalités traitées à l'eau et en limitation azotée conduisent à une réduction de la maladie par rapport à la situation de confort en azote. Cela se traduit par des efficacités de protection de la limitation azotée de 37% pour Ante 12 et 40% pour Post 12 (tableau 7). Cependant, l'analyse statistique ne montre pas de différence significative par rapport à la situation traitée à l'eau et en confort azoté. Quel que soit le régime azoté, l'application de Bion® conduit à une réduction significative de l'AUDPC par rapport au traitement à l'eau. Cette réduction est beaucoup plus marquée pour les plantes ayant subi une limitation en azote pour lesquelles l'efficacité de protection du Bion® atteint 79% pour Ante 12 et même 95% pour Post 12 alors qu'elle reste inférieure à 70% pour la modalité confort en azote.

La combinaison de la limitation azotée et du traitement Bion® conduit à une très nette réduction de l'AUDPC par rapport à la situation traitée à l'eau et en confort azoté avec des efficacités de protection atteignant 87% pour Ante 12 et 97% pour Post 12.

Pour les feuilles déroulées après le traitement (fig. 13 B), les mêmes types de résultats sont obtenus concernant l'effet de la limitation en azote par rapport à la situation confort traitée à l'eau : réduction non

significative de l'AUDPC et une efficacité de protection proche de 40 % (45 % pour Ante 12 et 41 % pour Post 12). Comme pour

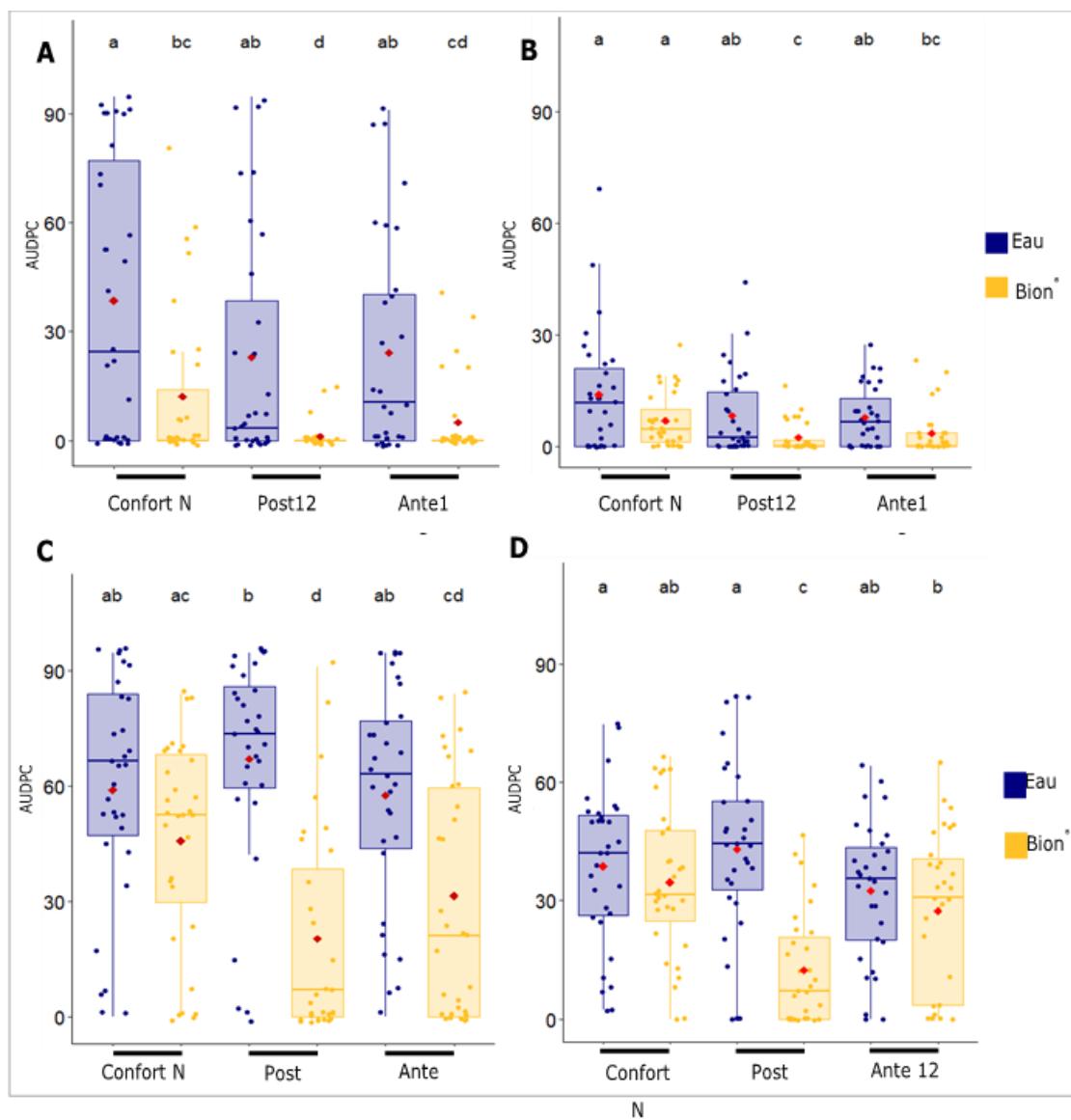


Figure 13 : Box plots présentant l'aire moyenne sous la courbe de progression de la sévérité de la maladie (AUDPC) de la jeune feuille déroulée au moment du traitement (A et C) et des feuilles déroulées après le traitement et l'inoculation (B et D) en serre (A et B) et en chambre climatique (C et D) en fonction des modalités azotées (Confort N, Ante 12 et Post 12) et des traitements appliqués (eau ou Bion®). Les losanges rouges représentent la moyenne pour chaque modalité et les points bleus/jaunes représentent la distribution des individus. Les différentes lettres au-dessus des box plots indiquent des différences significatives selon le test statistique de Kruskall-Wallis et Mann-Whitney ($\alpha=5\%$ et $n=31$ individus).

les feuilles déroulées au moment du traitement, quel que soit le régime azoté, l'application de Bion® conduit à une réduction de l'AUDPC par rapport au traitement à l'eau. Cependant, cette réduction est significative uniquement pour la modalité Post 12. Les efficacités de protection du Bion® sont plus faibles que celles mesurées pour les feuilles déroulées au moment du traitement et atteignent 50% pour la situation confort en azote, 55% et 72% respectivement pour les modalités Ante 12 et Post 12. La combinaison de la limitation azotée et du traitement Bion® conduit, comme pour les feuilles déroulées au moment du traitement, à une réduction significative de l'AUDPC et à de fortes efficacités de protection (75 % pour Ante 12 et 83% pour Post 12) mais qui restent toutefois inférieures à celles mesurées pour les feuilles déroulées au moment du traitement.

Pour l'essai réalisé en chambre climatique, les valeurs d'AUDPC sont globalement plus élevées que celles mesurées pour l'essai en serre (fig. 13 C et D). Contrairement à l'essai en serre, la limitation en azote ne conduit pas à une réduction nette de l'AUDPC quel que soit le type de feuille, ce qui se traduit par des efficacités de protection entre 2 et 16% pour Ante 12 et de 0% pour Post 12.

En revanche, on observe bien une réduction de l'AUDPC suite au traitement Bion®, quel que soit le régime azoté ou le type de feuille. Toutefois cette réduction n'est significative que pour les modalités en limitation azotée (Ante 12 et Post 12) pour la feuille déroulée au moment du traitement et uniquement pour la modalité Post 12 pour les feuilles déroulées après le traitement. Globalement, les efficacités de protection du Bion® sont plus faibles que celles mesurées pour l'essai en serre à l'exception de celle associée à la modalité Post 12 sur feuilles déroulées après traitement.

Comme pour l'essai en serre et pour les deux types de feuilles, la combinaison de la limitation azotée et du traitement Bion® conduit à une réduction significative de l'AUDPC. Toutefois, les valeurs d'efficacité de protection de la combinaison restent plus faibles que celles mesurées pour l'essai en serre avec 47% et 29% pour Ante 12, respectivement sur feuilles déroulées au moment du traitement et après le traitement, et 66% et 68% pour Post 12.

Globalement, quel que soit l'essai, la modalité Post 12, pour laquelle le traitement au Bion® est appliqué un jour après la remise en confort en azote, conduit aux meilleurs résultats de protection par rapport à la modalité Ante 12. De plus, l'effet positif et significatif de cette modalité sur la réduction de la maladie est maintenue dans l'essai en chambre climatique pour lequel les efficacités de protection sont fortement réduites pour les autres modalités. Quel que soit l'essai ou la modalité, l'effet positif du Bion® sur la réduction de la maladie s'observe aussi bien sur les feuilles déroulées au moment ou après le traitement, avec un effet toutefois plus marqué pour celles présentes au moment du traitement.

3.2. Effet de la fertilisation azotée et du génotype des individus sur l'efficacité du Bion® contre la tavelure

L'objectif de cet essai est de montrer l'impact du statut azoté du pommier lorsqu'il est combiné à un traitement au Bion® sur plusieurs génotypes afin de lutter contre la tavelure (partie 2.2. du matériel et méthode).

Le statut azoté des plantes a été suivi par l'évaluation de la teneur en chlorophylle des jeunes feuilles mesurée avec le Dualex® à deux dates au cours de l'essai. Le graphique 14 montre une teneur en chlorophylle

Tableau 7 : Pourcentages d'efficacité de la limitation azotée et du Bion® seuls ou en combinaison. Les efficacités de la limitation azotée seule et de la combinaison limitation x Bion® sont déterminées à partir de la modalité en confort azoté traitée à l'eau. L'efficacité du Bion® est déterminée à partir du traitement eau associé à la modalité observée. Les valeurs sont calculées à partir de l'AUDPC de l'essai en serre et de celui en chambre climatique

Lieu de l'essai	Type de feuille	Effet de protection	Confort azoté	Post 12	Ante 12
Serre	Feuille déroulée au moment du traitement	De la limitation azotée	-	40 %	37 %
		Du Bion®	68 %	95 %	79 %
		De la combinaison limitation azotée + Bion®	-	97 %	87 %
	Feuilles déroulées après le traitement	De la limitation azotée	-	41 %	45 %
		Du Bion®	50 %	72 %	55 %
		De la combinaison limitation azotée + Bion®	-	83 %	75 %
Chambre climatique	Feuille déroulée au moment du traitement	De la limitation azotée	-	0 %	2 %
		Du Bion®	22 %	70 %	45 %
		De la combinaison limitation azotée + Bion®	-	66 %	47 %
	Feuilles déroulées après le traitement	De la limitation azotée	-	0 %	16 %
		Du Bion®	10 %	71 %	16 %
		De la combinaison limitation azotée + Bion®	-	68 %	29 %

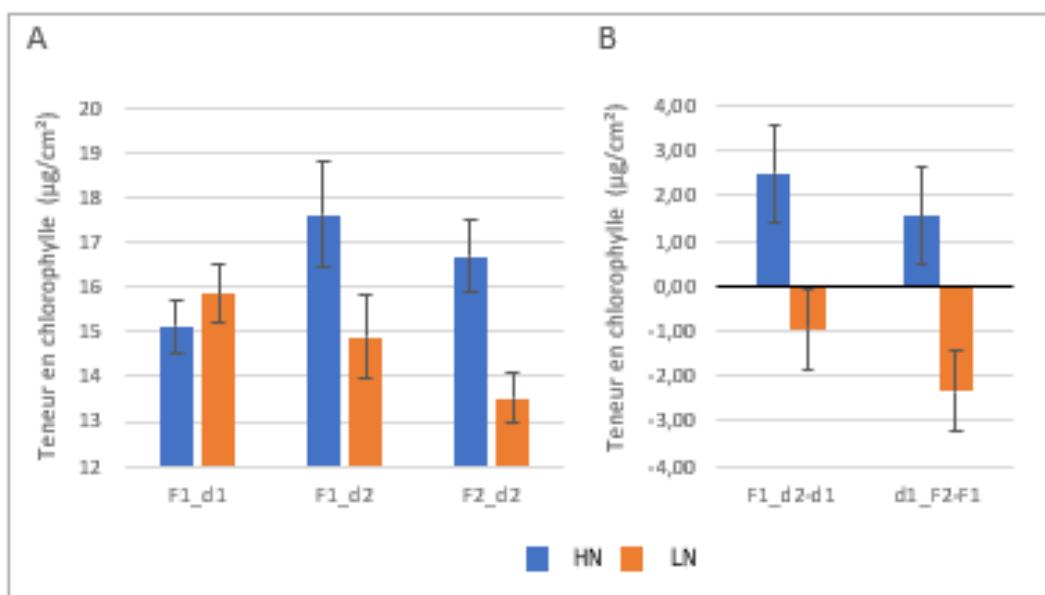


Figure 14 : (A) Valeurs moyenne (n=40) des teneurs en chlorophylle évaluées au Dualex® à deux dates (d1 : 01/06 ; d2 : 09/06) pour les feuilles déroulées à la date d1 (F1) et celles à la date d2 (F2) de plantes en conditions de limitation (LN) ou confort (HN) en azote. (B) Différences de teneur en chlorophylle entre les 2 dates de mesures pour la feuille F1 et entre les 2 types de feuilles à la date d2. Les barres correspondent à l'intervalle de confiance sur la moyenne.

nettement plus faible à la deuxième date pour les jeunes feuilles déroulée à la date d1 (notées F1), pour les plantes en condition limitante en azote comparées à celles en confort azoté. L'effet de la limitation azoté sur la diminution de la teneur en chlorophylle est confirmée et même amplifiée sur les jeunes feuilles (F2) déroulées lors de la deuxième date de mesure (d2) (fig.14 A). Les calculs de variation des teneurs en azote confirment ces résultats (fig. 14 B) Ainsi, ce différentiel a permis de valider le changement de statut azoté des pommiers entre les deux modalités, permettant de réaliser les traitements.

Les graphiques (fig. 15) présentent la sévérité de la maladie sur la feuille déroulée lors du traitement 21 jours après l'inoculation pour l'ensemble des individus, en fonction des allèles favorables ou défavorables pour chacun des QTLs de résistance à la tavelure (QTL T1, F11, F17 et T13) et selon les régimes azotés et les traitements appliqués.

La figure 15 A montre les résultats obtenus pour les scores moyens des individus portant un allèle favorable (T1+) ou défavorable (T1-) au QTL T1. L'efficacité de protection par la limitation azotée atteint 25 % pour les individus T1+ et 29 % pour les individus T1-. Cependant, la diminution est significative seulement pour les individus T1- comparée aux individus en confort azoté et traités à l'eau. En confort azoté, les analyses statistiques montrent une diminution significative de la sévérité de la maladie pour les individus T1+ et T1- lorsqu'ils sont traités au Bion® (48% d'efficacité de protection). En limitation azotée, l'efficacité de protection du Bion® atteint 40 % pour les individus T1+ et 27 % pour les individus T1-. Pour les deux classes de génotypes, la combinaison de la limitation azotée et du traitement au Bion® permet une diminution de la sévérité significativement différente de la modalité en confort azotée et traitée à l'eau, mais n'offre pas de protection supérieure à l'effet du Bion® seul.

La figure 15 B montre les résultats obtenus pour la sévérité de la maladie des individus portant un allèle favorable (F11+) ou défavorable (F11-) au QTL F11. Pour les modalités traitées à l'eau, l'efficacité de protection par la limitation azotée atteint 22 % pour les individus F11+ et 29 % pour les individus F11-. Ces derniers montrent une diminution significative de la sévérité comparée aux individus F11- en confort azoté et traités à l'eau. En condition de confort, l'application du Bion® permet une diminution significative de la sévérité et une efficacité de protection respectivement de 50 % et 48 % pour les individus F11+ et F11-. Cependant, en conditions de limitation en azote, l'efficacité du Bion® n'atteint que 28 % pour les individus F11+ et 36 % pour les individus F11- et la diminution de la sévérité n'est significative que pour les individus F11-. Pour les deux classes de génotypes, la combinaison de la limitation azotée et du traitement au Bion® permet une diminution de la sévérité significativement différente de la modalité en confort azotée et traitée à l'eau mais n'offre pas de protection supérieure à l'effet du Bion® seul.

La figure 15 C montre les résultats obtenus pour la sévérité de la maladie des individus portant un allèle favorable (F17+) ou défavorable (F17-) au QTL F17. Pour les modalités traitées à l'eau, l'efficacité de protection de la limitation azotée atteint 38 % pour les individus F17+ et 11 % pour les individus F17-. Ainsi, une diminution significative de la sévérité de la maladie est observée pour F17+ comparée à ceux en confort azoté et traités à l'eau. En condition de confort, l'application du Bion® permet une diminution significative de la sévérité et une efficacité de protection de 52 % et 42 % pour les individus F17+ et F17- respectivement. En condition de limitation azotée, l'efficacité du Bion® atteint 39 % pour les individus F17+ et 29 % pour les individus F17- et la diminution

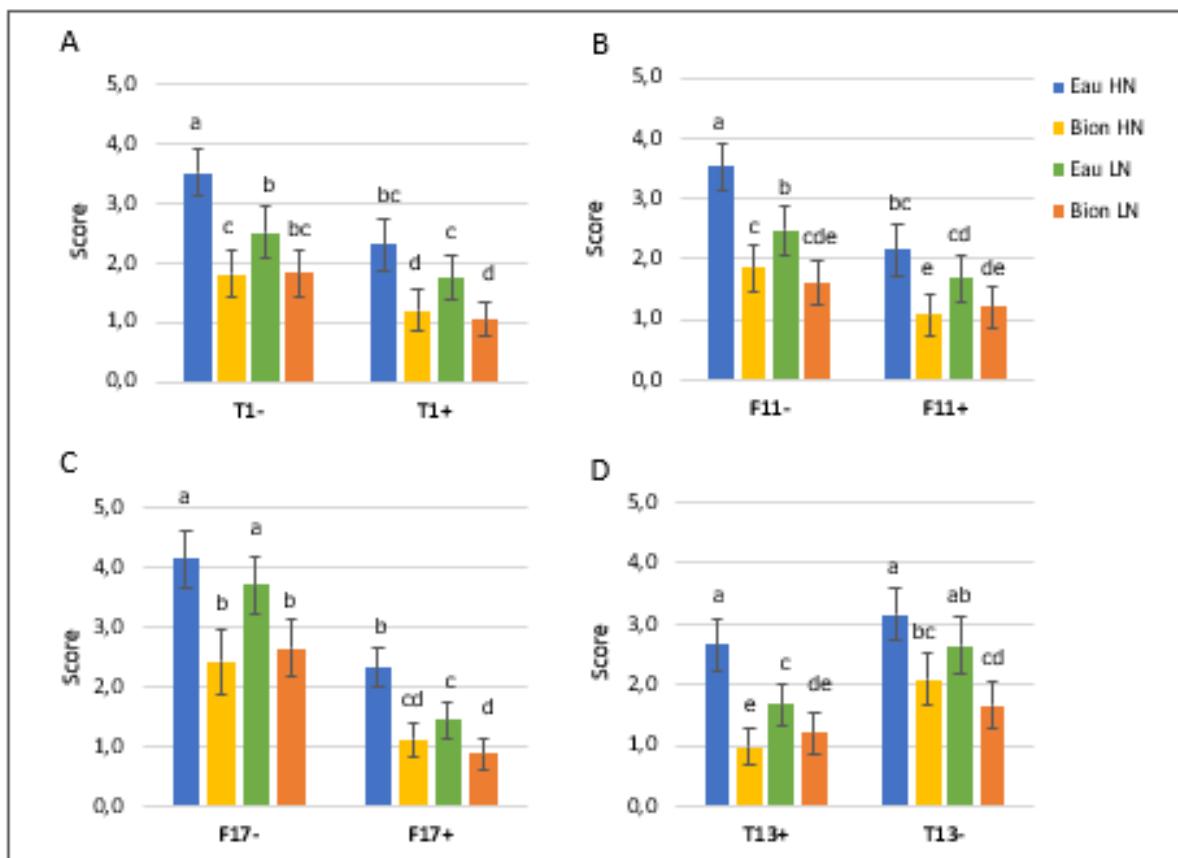


Figure 15 : Sévérité moyenne de la maladie à 21 jours après l'inoculation pour l'ensemble des individus portant des allèles favorables (+) ou défavorables (-) pour chacun des QTLs de résistance à la tavelure (QTL T1, F11, T13, F17) en fonction des différents régimes azotés (HN : *High Nitrogen*, LN : *Low Nitrogen*) et des traitements appliqués (eau ou Bion®). Les différentes lettres au-dessus des box plots indiquent des différences significatives selon le test statistique de Kruskall-Wallis et Mann-Whitney ($\alpha=5\%$ et $n : 59$ à 134 , moyenne des scores +/- intervalle de confiance).

de la sévérité est significative pour les deux allèles comparée aux individus en limitation azoté et traités à l'eau. Pour les deux classes de génotypes, la combinaison de la limitation azotée et du traitement au Bion® permet une diminution de la sévérité significativement différente de la modalité en confort azotée et traitée à l'eau mais n'offre pas de protection supérieure à l'effet du Bion® seul.

La figure 15 D montre les résultats obtenus pour la sévérité de la maladie des individus portant un allèle favorable (T13+) ou défavorable (T13) au QTL T13. Pour les modalités traitées à l'eau, l'efficacité de protection de la limitation azotée atteint 37 % pour les individus T13+ et 16 % pour les individus T13- (tableau 8). Ainsi, une diminution significative de la sévérité de la maladie est observée pour T13+ comparée à ceux en confort azoté et traités à l'eau. En condition de confort, l'application du Bion® permet une diminution significative de la sévérité et une efficacité de protection respectivement de 63 % et 34 % pour les individus T13+ et T13-. En condition de limitation azotée, l'efficacité du Bion® atteint 28 % pour les individus T13+ et 37 % pour les individus T13- et la diminution de la sévérité est significative pour les deux allèles comparée aux individus en limitation azoté et traités à l'eau. Pour les deux classes de génotypes, la combinaison de la limitation azotée et du traitement au Bion® permet une diminution de la sévérité significativement différente de la modalité en confort azotée et traitée à l'eau mais n'offre pas de protection supérieure à l'effet du Bion® seul.

En résumé, quelles que soit la modalité observée, la sévérité est significativement diminuée chez les individus portant l'allèle favorable pour les QTL T1 et F17 par rapport aux individus portant les allèles défavorables. Tandis que pour les QTL F11 et T13, les résultats ne montrent pas de différence significative entre les individus portant l'allèle favorable ou défavorable à ces QTLs pour certaines modalités. Cependant l'efficacité de protection reste la plus élevée avec les allèles favorables à ces QTLs. L'efficacité de protection par la limitation azotée est plus élevée chez les individus portant les allèles défavorables pour les QTL T1 et F11 comparée aux individus portant les allèles favorables. Le résultat inverse est observé pour les QTLs F17 et T13. La limitation azotée montre une efficacité de protection plus élevée chez les individus portant les allèles favorables pour ces deux QTLs comparés aux individus portant les allèles défavorables.

La figure 16 montre la sévérité de la maladie pour les différentes combinaisons alléliques aux 4 QTLs de résistance (= 16 classes de génotypes) en fonction des différents régimes azotés (HN et LN) et traitements appliqués (eau et Bion®). Pour ces données, les analyses statistiques sont en cours de réalisation. Comme attendu, les individus ne possédant aucun allèle favorable aux QTLs de résistance sont ceux présentant la sévérité la plus élevée. A contrario, les individus possédant l'ensemble des 4 allèles favorables aux 4 QTLs de résistance possèdent le score le plus faible. Les individus possédant un allèle favorable au QTL F17, quel que soient les allèles aux autres QTL, semblent présenter un score plus faible que ceux ne portant pas cet allèle. L'association des allèles favorables aux QTL T1 et T13 semble également diminuer le score.

Plusieurs situations sont visibles dans ce graphique. Tout d'abord, lors d'un traitement à l'eau ou au SDP, certains génotypes (F17-,F11-,T1-,T13- ; F17-,F11+,T1+,T13- et F17-,F11+,T1-,T13-) ne semblent pas présenter de différence de sévérité entre la situation confort et la limitation azotée. Ensuite, en situation limitantes, la sévérité de la maladie de certains génotypes ne semble pas montrer de différence significative lorsque les individus sont traités à l'eau ou au Bion® comparée à ceux de la modalité traitée à l'eau et en confort (F17+ F11- T1- T13+ ; F17+ F11+ T1+ T13-). Dans d'autres cas, la modalité en limitation azotée et traitée à l'eau augmente la sévérité

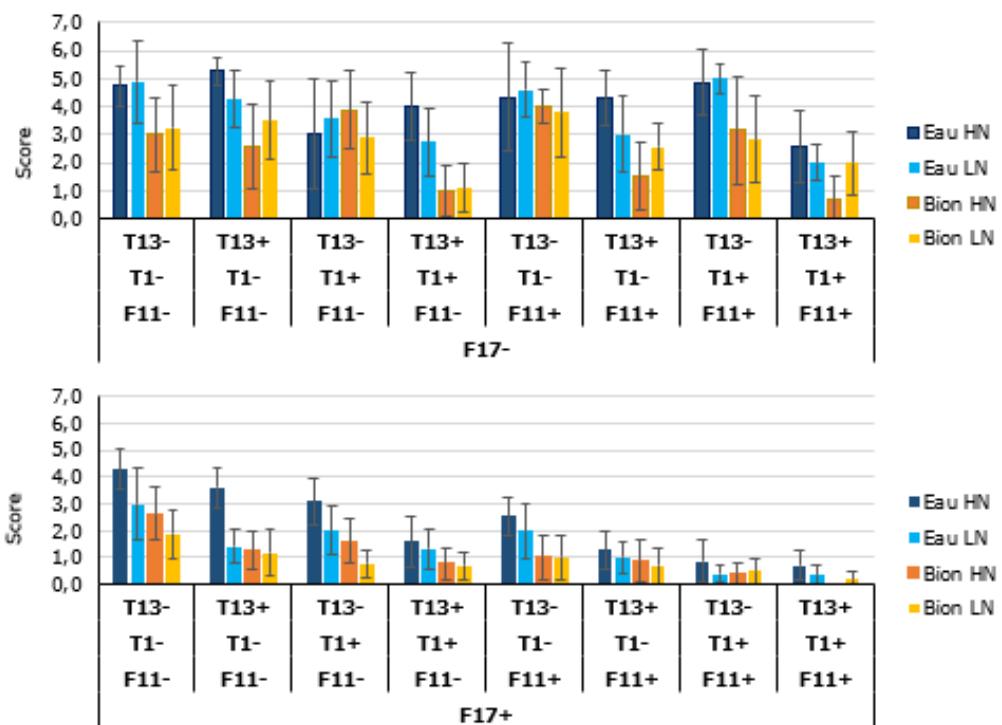


Figure 16 : Sévérité moyenne de la maladie à 21 jours après l'inoculation pour l'ensemble des individus portant des allèles favorables (+) ou défavorables (-) aux 4 QTLs de résistance à la tavelure (QTL T1, F11, T13, F17) en fonction des différents régimes azotés (HN : *High Nitrogen*, LN : *Low Nitrogen*) et des traitements appliqués (eau ou Bion®). n : 5 à 22, moyenne des scores +/- intervalle de confiance).

de la maladie comparée à la modalité confort azoté et traitée à l'eau (F17- F11+ T1- T13- ; F17- F11+ T1+ T13-). En conditions limitantes en azote, les individus possédant l'allèle favorable au QTL F17 présentent une sévérité plus faible que ceux ne portant pas cet allèle. Cette diminution de la sévérité est d'autant plus marquée si les individus portent également l'allèle défavorable au QTL F11 (F17+ F11-). La limitation azotée est aussi efficace que le traitement au Bion® sur la combinaison F17+ F11- T1- T13+.

3.3. Efficacité du Soriale® dans un itinéraire technique pour 2025

L'objectif de cet essai est d'intégrer le Soriale® dans un itinéraire technique utilisable en PFI après 2025 pour lutter contre la tavelure (partie 2.3. du matériel et méthode).

La figure 17 montre les résultats obtenus en mai et juin sur la sévérité de la tavelure sur feuilles de rosette et feuilles de pousse, exprimées en pourcentages de feuilles tavelées par rapport à l'effectif total pour chaque structure fructifère phénotypée. Pour les deux dates et quelle que soit la modalité, le pourcentage moyen de feuilles de rosette tavelées est très faible avec des valeurs inférieures à 5% (fig. 17 A et B). En mai, les deux ITK testés conduisent à une réduction de la sévérité de la maladie sur feuilles de rosette par rapport au témoin non traité mais significative seulement pour l'ITK testé pour 2025 avec aucune feuille de rosette tavelée (efficacité de protection de 100%). En juin, les valeurs moyennes de sévérité augmentent un peu par rapport au mois de mai mais restent relativement faibles. Les deux ITK testés conduisent à une réduction significative de la sévérité sur feuilles de rosette par rapport au témoin avec toutefois un niveau de protection plus important pour la référence PFI (94%) que pour l'ITK testé pour 2025 (74%).

Concernant les feuilles de pousse et pour les deux dates, les pommiers non traités montrent un niveau de sévérité de la tavelure significativement plus élevé que ceux ayant reçu des traitements pour lesquels la réduction de la sévérité de la maladie dépasse 95% en mai et oscille entre 71% (pour l'ITK testé pour 2025) et 91% (pour l'ITK de référence) en juin (fig. 17 C et D). Aucune différence significative n'est observée en mai entre les 2 ITK testés alors qu'en juin, le niveau de sévérité de la maladie est significativement réduit pour les arbres soumis à l'ITK de référence par rapport à l'ITK testé pour 2025.

L'incidence de la maladie sur les rosettes et les pousses a aussi été analysée et les résultats (annexe 4) ne montrent pas de différence avec ceux relatifs à la sévérité présentés ici.

Tableau 8 : Pourcentage d'efficacité de la limitation azotée et du Bion® seuls ou en combinaison. Les efficacités de la limitation azotée seule et de la combinaison limitation x Bion® sont déterminées à partir de la modalité en confort azoté traitée à l'eau. L'efficacité du Bion® est déterminée à partir du traitement eau associé à la modalité observée. Les valeurs sont calculées à partir du score moyen à 21 jours pour les allèles favorables et défavorables aux 4 QTLs.

Effet de protection		Confort azoté	Limitation azotée
T1+	De la limitation azotée	-	25 %
	Du Bion®	48 %	40 %
	De la combinaison limitation azotée + Bion®	-	55 %
T1-	De la limitation azotée	-	29 %
	Du Bion®	48 %	27 %
	De la combinaison limitation azotée + Bion®	-	48 %
F11+	De la limitation azotée	-	22 %
	Du Bion®	50 %	28 %
	De la combinaison limitation azotée + Bion®	-	44 %
F11-	De la limitation azotée	-	29 %
	Du Bion®	48 %	36 %
	De la combinaison limitation azotée + Bion®	-	55 %
F17+	De la limitation azotée	-	38 %
	Du Bion®	52 %	39 %
	De la combinaison limitation azotée + Bion®	-	62 %
F17-	De la limitation azotée	-	11 %
	Du Bion®	42 %	29 %
	De la combinaison limitation azotée + Bion®	-	36 %
T13+	De la limitation azotée	-	37 %
	Du Bion®	63 %	28 %
	De la combinaison limitation azotée + Bion®	-	55 %
T13-	De la limitation azotée	-	16 %
	Du Bion®	34 %	37 %
	De la combinaison limitation azotée + Bion®	-	47 %

4. Discussions

Cette étude visait dans un premier temps à déterminer l'effet de combinaisons de leviers (régime azoté x SDP et régime azoté x SDP x génotype) pour améliorer l'immunité du pommier face à l'un de ces principaux bioagresseurs : *V. inaequalis*. Pour ce faire, des tests de protection, des mesures physiologiques et des analyses de biologie moléculaire ont été réalisés. Dans un second temps, cette étude avait pour objectif d'introduire un SDP dans un itinéraire technique utilisable après 2025 en PFI pour lutter contre la tavelure. Pour cela des mesures de la sévérité de la maladie ont été faites en verger.

Les résultats des analyses statistiques sur les tests de protection pour l'interaction azote x SDP ont montré de fortes différences de la sévérité de la maladie en fonction des conditions dans lesquelles l'essai a été mené : serre ou chambre climatique. Effectivement, la pression de la tavelure était beaucoup plus élevée en chambre climatique qu'en serre. Plusieurs facteurs peuvent expliquer cette différence de pression de maladie, notamment, la qualité de l'inoculum de *V. inaequalis*, la qualité d'application des traitements et de l'inoculum ainsi que les conditions climatiques. Les inocula de *V. inaequalis* de ces deux essais ont été réalisés simultanément à partir de deux lots de feuilles tavelées (un lot par essai) provenant de la même expérimentation et les suspensions ont été réalisées dans l'heure précédent l'inoculation. L'inoculation et les traitements ont été réalisés par les mêmes applicateurs, limitant les différences de pulvérisation. Ainsi, la qualité de l'inoculum et celle de l'application des traitements et de l'inoculum ne semblent pas être les facteurs expliquant cette différence. En revanche, comme cité dans le matériel et méthode , les conditions climatiques étaient différentes entre les deux essais, alors que la germination des conidies et leur sporulation sont fortement impactées par le climat (González-Domínguez et al., 2017). Les conditions optimales pour la germination des conidies de *V. inaequalis* sont une température proche de 20 °C et une humidité relative de 94 à 99 %. Concernant sa sporulation, l'optimum est une température située entre 15 et 20°C et une humidité relative de 90% (González-Domínguez et al., 2017). Ces valeurs presque similaires aux conditions climatiques appliquées en chambre, peuvent ainsi expliquer le fort différentiel de pression de la maladie entre les deux essais. Cette forte pression de la tavelure en chambre climatique n'a pas permis d'observer de diminution significative ni pour le traitement par le Bion®, ni par la limitation azotée, comme cela a été observé en serre. Afin de pouvoir observer l'effet de tous les facteurs appliqués, les conditions climatiques en chambre climatique pourraient être revues en abaissant l'humidité relative ou en augmentant légèrement la température afin de se rapprocher des conditions sous serre.

En chambre climatique et en serre les résultats montrent que la limitation azotée augmente l'efficacité de protection du Bion®, notamment lorsque la remise en confort azoté est réalisée avant le traitement (Post 12) pour les feuilles déroulées lors du traitement et après le traitement. Ces résultats sont donc similaires à ceux obtenus précédemment par l'équipe sur feu bactérien. En effet, des travaux ont montré qu'une limitation azotée de 12 jours avec une remise en confort réalisée avant le traitement permet une diminution plus marquée de la sévérité du feu bactérien sur pommier. Afin de mieux comprendre la raison impactant le développement d'*E. amylovora*, plusieurs analyses sont actuellement réalisées dans l'équipe notamment des analyses transcriptomiques par RNAseq ainsi que des analyses élémentaires et métabolomiques. Ces mêmes analyses pourraient être menées pour les modalités testées sur *V. inaequalis*. Cela permettrait de comparer les résultats obtenus avec ceux portant sur *E. amylovora* et d'analyser les gènes surexprimés ou sous-exprimés ainsi que les métabolites produits en fonction des différentes modalités testées. Ainsi, l'étude de ces résultats permettra

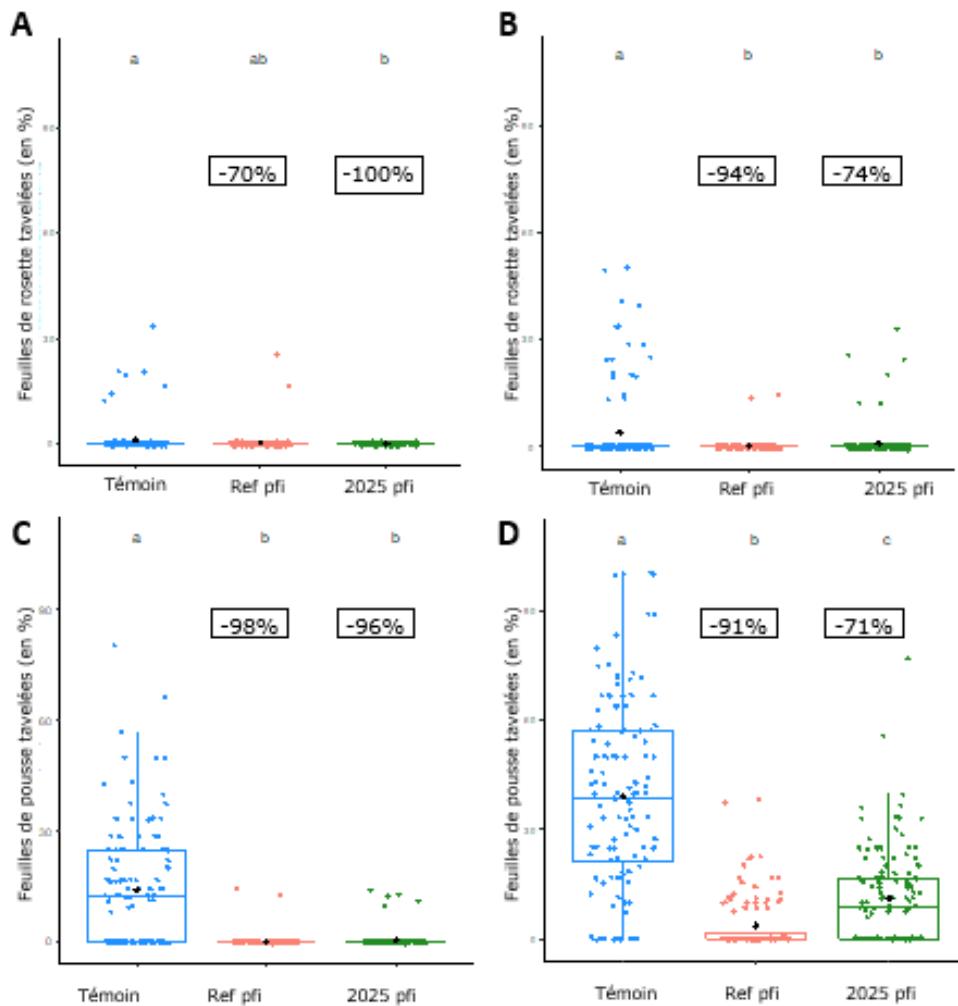


Figure 17 : Pourcentage moyen de feuilles de rosette tavelées à la notation en mai (A) et juin (B) selon les différentes modalités testées (témoin, ref pfi et 2025 pfi). Les losanges noirs représentent la moyenne pour chaque modalité et les points bleus, orange et verts représentent la distribution des individus. Les différentes lettres au-dessus des box plots indiquent des différences significatives selon le test statistique de Kruskall-Wallis et Mann-Whitney ($\alpha=5\%$ et $n : 120$).

d'éclaircir la raison pour laquelle les résultats obtenus lorsque la remise en confort azotée est réalisée avant le traitement sont significativement diminuées comparés à une remise en confort après le traitement. De plus, cette étude permettrait d'identifier les métabolites favorables au développement de *V. inaequalis*. Il pourrait alors être envisagé d'aller rechercher la présence ou l'absence de ces métabolites à partir d'extractions du liquide apoplastique des feuilles des plantes soumises aux différentes modalités de régime azoté et de traitement.

Les résultats obtenus pour l'interaction azote x SDP x génotype indiquent, comme attendu, que la combinaison des allèles favorables aux 4 QTLs de résistance diminuent fortement la sévérité de la maladie par rapport aux individus ne portant aucun allèle favorable à ces QTLs. Les individus portant l'allèle de résistance favorable au QTL F17 montrent une sévérité de la maladie moins élevée comparée aux individus ne portant pas cet allèle. L'efficacité de protection de la limitation est plus élevée chez les individus portant les allèles favorables pour les QTL T1 et F11 comparée aux individus portant les allèles défavorables. Concernant les QTLs F17 et T13, la limitation azotée montre une efficacité de protection plus élevée chez les individus portant les allèles défavorables à ces deux QTLs comparés aux individus portant les allèles favorables.

Ces résultats sont cohérents avec ce qui était attendu puisque la souche de *V.inaequalis* utilisée contourne l'allèle favorable au QTL T1, réduisant son efficacité de protection. De plus, des résultats similaires ont été obtenus par Benejam (2021) sur la diminution de sévérité qui est plus importante lorsque les individus portent les allèles favorables aux QTLs F11 et F17 et lorsqu'ils sont traités au Bion®. Les résultats obtenus sont également similaires à ceux acquis dans l'interaction azote x SDP. En effet, l'efficacité de protection du Bion® est augmentée dans des conditions limitantes en azote.

Ces résultats montrent en plus que la limitation azotée et le traitement au Bion® augmentent le niveau de résistance apportés par les QTLs au sein des génotypes. Cette observation ne montre pas d'interaction négative entre les résistances génétiques, le traitement au Bion® et la fertilisation azotée, comme cela a pu être le cas sur *Brachypodium distachyon* dont la résistance face à *Rhizoctonia solani* diminue avec un traitement à l'ASM (Kouzaï *et al.*, 2018). Au vu des résultats obtenus, l'effet des résistances combinées est majoritairement supérieur à l'effet des résistances individuelles et l'application du Bion® et de la limitation azotée améliore la résistance génétique. D'après cela, il semblerait que l'application du Bion® combinée à une limitation azotée a un effet additif et positif ou partiellement complémentaire sur la résistance génétique. Cette hypothèse pourrait être appuyée par les analyses statistiques en cours, évaluant l'interaction entre les trois facteurs : génotype, modalité azotée et SDP.

Globalement, ces résultats montrent que la combinaison de l'ensemble des facteurs étudiés permet une meilleure protection vis-à-vis de la tavelure, que l'un ou l'autre des facteurs étudiés séparément. Il serait donc intéressant de prendre en compte les facteurs abiotiques tels que la limitation azotée lors des recherches de QTL de résistance. Ces résultats indiquent également que la limitation nutritionnelle est impliquée dans la réduction de la sévérité de la maladie sur pommier. Deux hypothèses peuvent être émises pour expliquer ce phénomène :

1. La limitation azotée induit des gènes liés au métabolisme secondaire permettant ainsi la production de molécules impliquées dans la défense des plantes
2. La limitation azotée provoque la diminution de la production de composés azotés utilisés par les agents pathogènes au cours de l'infection.

La fertilisation azotée a un effet variable sur la maladie puisqu'elle renforce la défense des plantes et augmente la disponibilité des composés azotés utilisable par les agents pathogènes.

La première hypothèse se base sur l'induction de gènes de défense par les plantes en conditions de limitation azotée. Une étude a montré que les plantes cultivées en limitation azotée et traitées au Bion® ont un niveau réduit d'enzymes associées à la défense, notamment les chitinases et les chitosanases (appartenant au groupe des protéines liées à la pathogénèse – PR) ainsi que les peroxydases (impliquées dans les réactions d'hypersensibilité – HR), comparé aux plantes cultivées en confort azoté. Il a aussi été observé qu'une limitation azotée diminue le niveau de polyamines, composé connu pour augmenter la résistance des plantes via le déclenchement de la mort cellulaire programmée. Cependant, d'autres études émettent l'hypothèse qu'il y aurait un compromis entre la croissance et la défense des plantes (Dietrich *et al.*, 2004, Farjad *et al.*, 2018).

La deuxième hypothèse se base donc sur le fait que la limitation azotée réduit la disponibilité de composés azotés pouvant être utilisés par la tavelure. En effet, le succès de la colonisation par l'agent pathogène dépend de sa capacité à récupérer les nutriments de l'hôte. En condition de confort nutritionnelle, les plantes contiennent suffisamment de nutriments permettant alors à l'agent pathogène de se développer. Cependant, en condition limitante, la disponibilité de ces molécules semble être diminuée notamment la concentration d'acides aminés dans l'apoplasmme et d'autres molécules de faibles poids moléculaires (Tavernier *et al.*, 2007). La réduction du développement des agents pathogènes expliquée par une réduction de la disponibilité dans la plante de l'utilisation des composés azotés semble être un phénomène prédominant pour les agents pathogènes biotrophes et hémibiotrophes (Tavernier *et al.*, 2007). Venturia inaequalis étant un champignon hémibiotrophe, il est fort probable que l'hypothèse 2 reflète l'interaction entre l'agent pathogène et la plante en limitation azotée.

Les résultats obtenus sur l'interaction azote x SDP x génotypes montrent aussi que les feuilles déroulées après le traitement et la remise en azote présentent une AUDPC plus faible lorsqu'il y a eu un traitement au Bion® et une limitation azotée et plus particulièrement lorsque la remise en confort azoté est réalisée avant le traitement (Post 12). Dans l'équipe ResPom, des analyses ont été réalisées visant à démontrer la systémie du signal d'élicitation par le Bion® sur les étages foliaires (feuilles juvéniles et enroulées et à l'état de primordia) situés au-dessus de la dernière feuille déroulée au moment du traitement. Les résultats de l'analyse qPFD démontrent la systémie et la persistance de l'élicitation par le Bion® cinq jours après le traitement avec des profils d'expression des gènes de défense similaires aux feuilles traitées (données non publiées). Ainsi, au vu de ces résultats, la prise en compte du nombre de feuilles tavelées par étage foliaire de chaque plante est une variable pertinente pour déterminer si une systémie des traitements a lieu entre les différents étages foliaires.

D'autres répétitions biologiques sont prévues pour l'étude de l'interaction azote x SDP x génotypes. Il est conseillé pour ces prochains tests de garder les mêmes plantes pour les modalités traitées au Bion® afin de ne pas induire un biais si des modifications physiologiques ou métaboliques ont été induites dans la plante à la suite du traitement. En effet, il a été montré qu'un traitement à l'ASM provoqué des modifications dans H3K4me2 et H3K4me3 ainsi que dans l'acétylation de H3 et H4 dans plusieurs promoteurs de facteurs de transcription WRKY (Alonso *et al.*, 2018). Pour les prochaines répétitions, il serait également pertinent de mélanger les individus des blocs HN et LN après inoculation afin de limiter, s'il y en a, les effets de variation dus au placement sur les tables. En effet, des interactions blocs étaient visibles sur le test portant sur l'interaction azote x SDP x génotypes, mais

cet effet était majoritairement expliqué par la répartition non homogène des génotypes au sein des blocs, inhérente à la constitution non homogène des blocs.

Concernant les essais portant sur l'itinéraire technique testé pour 2025 en PFI, les résultats de l'analyse statistique ont montré que cet ITK permettait de diminuer le pourcentage de feuilles tavelées. Cependant, celui-ci ne semble pas aussi efficace que l'ITK de référence PFI, utilisé actuellement dans les vergers de pommier. En effet, les résultats obtenus en juin ont montré que l'ITK de référence permettait de diminuer le taux de feuilles de pousse tavelées d'environ 90 % par rapport au témoin contre une diminution d'environ 70 % pour l'ITK testé pour 2025 en PFI. Ce nouvel itinéraire technique permet toutefois une bonne efficacité de protection, permettant de maintenir une faible pression de la tavelure. Ce test devra être répéter sur plusieurs années puisque les conditions climatiques pourraient affecter les résultats d'une année sur l'autre.

Les résultats ont montré que le pourcentage de feuille de rosette tavelées est faible quelle que soit la modalité. En effet, peu d'évènements pluvieux ont eu lieu au moment où les feuilles de rosette étaient les plus sensibles (stade C jusqu'à E2). De plus, le risque de projection des ascospores n'a pas atteint le seuil de risque extrême avant le 15 avril. Ainsi, la faible pluviométrie et la faible pression de tavelure a induit un faible pourcentage de feuilles de rosette tavelées (annexe 5). De plus, les feuilles de rosette étant préformées, elles ont rapidement acquis une résistance ontogénique, les rendant moins sensibles à la tavelure. Les pousses, quant à elles, continuent de se développer toute la saison, les feuilles sont donc exposées à un risque plus élevé d'infection par la tavelure, agent pathogène infectant principalement les jeunes tissus. De plus, la pluviométrie a été plus importante au mois de mai (55 mm) qu'au mois de mars et d'avril (32 mm et 51,8 mm respectivement).

5. Conclusion et perspectives

Cette étude a permis d'analyser l'effet de la fertilisation azotée et du génotype sur l'efficacité d'un SDP contre la tavelure, en étudiant deux combinaisons : azote x SDP et azote x SDP x génotype. L'étude portait aussi sur l'insertion d'un SDP dans un itinéraire technique efficace et utilisable après 2025 pour lutter contre *V. inaequalis* en verger.

Les résultats montrent que la limitation azotée réduit la sévérité des symptômes et augmente l'efficacité de protection du Bion® contre la tavelure. Cette efficacité est la plus élevée lorsque la remise en confort est réalisée avant le traitement au SDP. Pour la deuxième combinaison, les mêmes résultats que la combinaison azote x SDP sont obtenus pour la limitation azotée seule ou combinée avec l'application d'un SDP. Les individus possédant les allèles favorables à ces 4 QTLs montrent une réduction de la sévérité des symptômes par rapport aux individus ne possédant pas ces allèles. L'utilisation d'une souche contournant le QTL de résistance T1 montre que les individus portant l'allèle de résistance au QTL F17 sont globalement moins malades que les individus ne portant pas cet allèle. La combinaison de cet allèle avec l'allèle favorable au QTL F17 et défavorable au QTL F11 indique une diminution de la sévérité encore plus marquée. Ainsi, ces résultats suggèrent que la limitation azotée impacte le développement de *V. inaequalis*. Cela pourrait s'expliquer par une diminution de la synthèse de composés azotés utilisables par *V. inaequalis* lors d'une limitation azotée. Cette hypothèse doit cependant être confirmée par des expériences complémentaires.

Concernant l'intégration du Soriale® dans un itinéraire technique utilisable après 2025 en PFI, les résultats montrent que cet itinéraire ne permet pas d'obtenir un taux de protection aussi élevée que l'itinéraire technique de référence. Cependant, son efficacité de protection reste suffisamment élevée pour limiter le développement de la tavelure en verger. La limitation azotée est donc un facteur abiotique important à prendre en compte pour la gestion de la tavelure du pommier. Des réductions d'apports d'engrais azotés peuvent être mis en place pour améliorer l'efficacité de protection des itinéraires techniques dirigés pour limiter la pression de la tavelure en verger.

En perspective, d'autres répétitions biologiques doivent être effectuées afin de valider les résultats observés. De même, l'étude des mécanismes conduisant à la réduction de la sévérité de la maladie en condition de limitation azotée devra être entreprise par des analyses transcriptomiques et métabolomiques. Pour répondre aux objectifs du projet de recherche CapZeroPhyto, dont le but est l'utilisation combinée de leviers destinés à améliorer l'immunité des cultures, cette étude pourra aussi être menée sur d'autres SDP du pommier et d'autres combinaisons de leviers pour améliorer l'application et l'efficacité de ces stimulateurs. Dans l'équipe, des tests portant sur l'interaction SDP x azote x UV-C ont déjà été étudié sur le feu bactérien. Cependant, les résultats ont montré que les UV-C présentaient un taux de protection faible, par rapport à l'effet seul d'un traitement au Bion® ou d'une limitation azotée. La combinaison de ces trois facteurs ne montrait pas non plus d'amélioration de l'efficacité de protection supérieur à la combinaison Bion® x azote (données non publiées). D'autres bioagresseurs du pommier pourront aussi être étudiés puisque la limitation azotée impacte différemment la sévérité de la maladie sur d'autres pathosystème

Bibliographie

- Agrios, G.N. (1988). *Plant Pathology*. 3rd éd., Academic Press, New York, pp. 845.
- Alonso C., Ramos-Cruz D. et Becker, C. (2018). The role of plant epigenetics in biotic interactions. *New Phytologist*, 221(2), 731–737.
- Belete T. et Boyraz N. (2017). Critical review on apple scab (*Venturia inaequalis*) biology, epidemiology, economic importance, management and defense mechanisms to the causal agent. *Journal of Plant Physiology and Pathology*, 5:2.
- Benejam J. (2021). *Résistances du pommier à la tavelure et au feu bactérien : interactions entre les résistances génétiques et induites par les SDP*. Thèse de doctorat, Université d'Angers, Angers, 260p.
- Bengtsson M., Wulff E. G., Jørgensen H. J. L., Pham A., Lübeck M. et Hockenhull J. (2009). Comparative studies on the effects of a yucca extract and acibenzolar-S-methyl (ASM) on inhibition of *Venturia inaequalis* in apple leaves. *European Journal of Plant Pathology*, 124(2), 187–198.
- Benhamou N. et Rey P. (2012). Stimulateurs des défenses naturelles des plantes : une nouvelle stratégie phytosanitaire dans un contexte d'écoproduction durable : II. Intérêt des SDN en protection des cultures. *Phytoprotection*, 92(1), 24-35
- Bigeard J., Colcombet J. et Hirt H. (2015). Signaling mechanisms in pattern-triggered immunity (PTI). *Molecular Plant*, 8(4), 521–539.
- Bowen J. K., Mesarich C. H., Bus V. G. M., Beresford R. M., Plummer K. M. et Templeton M. R. (2011). *Venturia inaequalis*: the causal agent of apple scab. *Molecular Plant Pathology*, 12(2), 105–122.
- Brisset M., Cesbron S., Thomson S. V. et Paulin J. (2000). Acibenzolar-S-methyl induces the accumulation of defense-related enzymes in apple and protects from fire blight. *European Journal of Plant Pathology*, 106(6), 529–536.
- Caffier V., Le Cam B., Rifai M. A., Bellanger M., Comby M., Denance C., Didelot F., Expert P., Kerdraon T., Lemarquand A., Ravon E. et Durel C. E. (2016). Slow erosion of a quantitative apple resistance to *Venturia inaequalis* based on an isolate-specific Quantitative Trait Locus. *Infection, Genetics and Evolution*, 44, 541–548.
- Carisse O. et Rolland D. (2004). Effect of timing of application of the biological control agent *Microsphaeropsis ochracea* on the production and ejection pattern of ascospores by *Venturia inaequalis*. *Phytopathology*, 94(12), 1305–1314.
- Desmyttere H., Deweer C., Muchembled J., Sahmer K., Jacquin J., Coutte F. et Jacques P. (2019). Antifungal activities of *Bacillus subtilis* lipopeptides to two *Venturia inaequalis* strains possessing different tebuconazole sensitivity. *Frontiers in Microbiology*, 10.
- Didelot F., Caffier V., Orain G., Lemarquand A. et Parisi L. (2016). Sustainable management of scab control through the integration of apple resistant cultivars in a low-fungicide input system. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 217, 41–48.
- Dietrich R. A., Ploss K. et Heil M. (2004). Constitutive and induced resistance to pathogens in *Arabidopsis thaliana* depends on nitrogen supply. *Plant Cell and Environment*, 27(7), 896–906.
- Dugé De Bernonville T., Marolleau B., Staub J., Gaucher M., et Brisset M. (2014). Using molecular tools to decipher the complex world of plant resistance inducers: an apple case study. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 62(47), 11403–11411.

Fagard M., Launay A., Clément G., Courtial J., Dellagi A., Farjad M., Krapp A., Soulié M.-C. et Masclaux-Daubresse C. (2014). Nitrogen metabolism meets phytopathology. *Journal of Experimental Botany*, 65(19), 5643–5656.

Farjad M., Rigault M., Pateyron S., Martin-Magniette M., Krapp A., Meyer C. et Fagard M. (2018). Nitrogen limitation alters the response of specific genes to biotic stress. *International Journal of Molecular Sciences*, 19(11), 3364.

Ficke A., Gadoury D. M., et Seem R. C. (2002). Ontogenetic resistance and plant disease management: A case study of grape powdery mildew. *Phytopathology*, 92(6), 671–675.

Foyer C. H., Ferrario-Méry S. et Noctor G. (2001). Interactions between carbon and nitrogen metabolism. In: *Plant Nitrogen*. Lea P. J. et Morot-Gaudry, J. F. (eds.), Springer, Berlin, pp. 237-254.

Gaucher M., Heintz C., Cournol R., Juillard A., Bellevaux C., Cavaignac S., Coureau C., Giraud M., Lemaguet J., Berud M., Koké E., Crété X., Lemarquand A., Orain G., et Brisset M. (2022). The use of potassium phosphonate (KHP) for the control of major apple pests. *Plant Disease*, 106(12), 3166-3177.

González-Domínguez E., Armengol J., et Rossi V. (2017). Biology and epidemiology of *Venturia* Species affecting fruit crops : a review. *Frontiers in Plant Science*, 8.

He Z., Webster S. et He S. Y. (2022). Growth–defense trade-offs in plants. *Current Biology*, 32(12), R634–R639.

Heye C. C. et Andrews, J. H. (1983). Antagonism of Athelia bombacina and Chaetomium globosum to the apple scab pathogen, *Venturia inaequalis*. *Phytopathology*, 73, 650-654.

Hoffland E., Jeger M. J. et Van Beusichem M. L. (2000). Effect of nitrogen supply rate on disease resistance in tomato depends on the pathogen. *Plant and Soil*, 218, 239–247.

Imfeld G., Duplay J. et Payraudeau S. (2021). Prise en compte du stockage et de la disponibilité du cuivre dans les sols viticoles pour en évaluer son écotoxicité. *Étude et Gestion des Sols*, 28, 181–185.

Jimenez M.D.C.M., Hernández F.D., Alcalá E.I.L., Morales G.G., Valdés R.A. et Reyes F.C. (2018). Biological effectiveness of *Bacillus* spp. and *Trichoderma* spp. on apple scab (*Venturia inaequalis*) in vitro and under field conditions. *European Journal of Physical and Agricultural Sciences*, 6(2), 7-17.

Kachroo A. et Robin G. (2013). Systemic signaling during plant defense. *Current Opinion in Plant Biology*, 16(4), 527–533.

Karimi B., Masson V., Guilland C., Leroy E., Pellegrinelli S., Giboulot E., Maron P. et Ranjard L. (2021). La biodiversité des sols est-elle impactée par l'apport de cuivre ou son accumulation dans les sols vignes ? Synthèse des connaissances scientifiques. *Étude et Gestion des Sols*, 28, 71-92.

Lateur M. (2002). Perspectives de lutte contre les maladies des arbres fruitiers à pépins au moyen de substances naturelles inductrices d'une résistance systémique. *Biotechnologie, Agronomie, Société Et Environnement*, 6(2), 67–77.

Leser C. et Treutter D. (2005). Effects of nitrogen supply on growth, contents of phenolic compounds and pathogen (scab) resistance of apple trees. *Physiologia Plantarum*, 123(1), 49–56.

Lim G. (2023). Regulation of Salicylic Acid and N-Hydroxy-Pipecolic Acid in Systemic Acquired Resistance. *Plant Pathology Journal*, 39(1), 21–27.

Machardy W. E., Gadoury D. M. et Gessler C. (2001). Parasitic and Biological Fitness of *Venturia inaequalis*: Relationship to Disease Management Strategies. *Plant Disease*, 85(10), 1036–1051.

Marolleau, B., Gaucher, M., Heintz, C., Degrave, A., Warneys, R., Orain, G., Lemarquand, A., & Brisset, M. (2017). When a plant resistance inducer leaves the lab for the field: integrating ASM into routine apple protection practices. *Frontiers in Plant Science*, 8.

Mur L. A. J., Simpson C., Kumari A., Gupta A. K. et Gupta, K. J. (2017). Moving nitrogen to the centre of plant defence against pathogens. *Annals of Botany*, 119(5), 703-709.

Muthamilarasan M. et Prasad M. (2013). Plant innate immunity: An updated insight into defense mechanism. *Journal of Biosciences*, 38(2), 433-449.

Kishorekumar R., Bulle M., Wany A. et Gupta, K. J. (2020). An overview of important enzymes involved in nitrogen assimilation of plants. In: *Nitrogen metabolism in plants - Methods and Protocols*. Gupta, K. J. (ed.), Springer Science+Business Media, New York, pp. 1-13.

Kouzaï Y., Noutoshi Y., Inoue K., Shimizu M., Onda Y. et Mochida, K. (2018). Benzothiadiazole, a plant defense inducer, negatively regulates sheath blight resistance in *Brachypodium distachyon*. *Scientific Reports*, 8(1).

Remuson F., Breniaux D. et Micoud A. (2003). La tavelure des pommes (*Venturia inaequalis*) : comportement aux inhibiteurs de la biosynthèse des stérols (I.B.S.). In : Septième conférence Internationale sur les maladies des plantes, Tours, le 3-5 décembre 2003.

Röhmann S., Leser C., Bannert M. et Treutter, D. (2002). Relationship between growth, secondary metabolism, and resistance of Apple. *Plant Biology*, 4(2), 137-143

Sun Y., Wang M., Mur L. A. J., Shen Q. et Guo S. (2020). Unravelling the Roles of Nitrogen Nutrition in Plant Disease Defences. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(2), 572.

Sun T., Zhang J., Zhang Q., Li X., Minji L., Yang Y., Zhou J., Qinping W. et Beibei Z. (2021). Integrative physiological, transcriptome, and metabolome analysis reveals the effects of nitrogen sufficiency and deficiency conditions in apple leaves and roots. *Environmental and Experimental Botany*, 192, 104633.

Tavernier V., Cadiou S., Pageau K., Laugé R., Reisdorf-Cren M., Langin T. et Masclaux-Daubresse C. (2007). The plant nitrogen mobilization promoted by *Colletotrichum lindemuthianum* in *Phaseolus* leaves depends on fungus pathogenicity. *Journal of Experimental Botany*, 58(12), 3351-3360.

Zeier, J. (2021). Metabolic regulation of systemic acquired resistance. *Current Opinion in Plant Biology*, 62, 102050.

Zeng Q., Johnson K., Mukhtar S., Nason S., Huntley R., Millet F., Yang C.-H., Hassani M. A., Zuverza-Mena, N. et Sundin W. S. (2023). *Aureobasidium pullulans* from the fire blight biocontrol product, Blossom Protect, induces host resistance in apple flowers. *Phytopathology*.

Ressources en ligne

- [1] IRIIS phytoprotection (s.d.) *Glossaire*. <https://www.iriisphytoprotection.qc.ca/accueil/glossaire> (09/06/2023).
- [2] CNRTL (s.d.). *Réservoir*. <https://www.cnrtl.fr/definition/reservoir> (consulté le 09/06/2023).
- [3] Ministère de l'agriculture et de la souveraineté alimentaire (2022). *Indicateur de Fréquence de Traitements phytosanitaires (IFT)*. <https://agriculture.gouv.fr/indicateur-de-frequence-de-traitements-phytosanitaires-ift> (consulté le 09/06/2023).
- [4] Ephytia (2020). *Fiche 24 - Stimulateurs de Défense des Plantes (SDP)*. <http://ephytia.inra.fr/fr/C/22210/Guide-Eco-Fruits-Stimulateurs-de-Defense-des-Plantes-SDP#:~:text=D%C3%A9finition%20%3A%20les%20stimulateurs%20de%20d%C3%A9fense,C%20DT%20N%C2%B018> (consulté le 09/06/2023).
- [5] Insee (2016). *Taux d'incidence*. <https://www.insee.fr/fr/metadonnees/definition/c1060> (consulté le 09/06/2023).
- [6] INRAE (2020). *L'Institut de Recherche en Horticulture et Semences*. <https://www6.angers-nantes.inrae.fr/irhs/L-Institut> (consulté le 20/03/2023).
- [7] Ministère de l'Agriculture et de la Souveraineté alimentaire (2022). *Le plan Ecophyto, qu'est-ce que c'est ?* <https://agriculture.gouv.fr/le-plan-ecophyto-quest-ce-que-cest> (consulté le 08/03/2023).
- [8] Chambres d'agriculture (s. d.). *Ecophyto*. <https://chambres-agriculture.fr/agriculteur-et-politiques/ecophyto/> (consulté le 08/03/2023).
- [9] Food and Agriculture Organization of the United Nations (2023). <https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL> (consulté le 05/04/2023).
- [10] Association Nationale Pommes Poires (2023). *Consommation en France*. <https://lapomme.org/chiffres/consommation-en-france#:~:text=La%20pomme%20est%20le%20fruit,reste%20va%20%C3%A0%20la%20transformation> (consulté le 05/04/2023).

- [11] GreenPeace (2015). *Pommes empoisonnées - Mettre fin à la contamination des vergers par les pesticides grâce à l'agriculture écologique.* https://cdn.greenpeace.fr/site/uploads/2017/02/Rapport-Pommes_FR.pdf?ga=2.136743090.324064628.1680705262-989666445.1680705262 (consulté le 06/04/2023).
- [12] Agreste (2021). *Chiffres et données - Mai 2021, n°8 - Enquête Pratiques phytosanitaires en arboriculture en 2018 IFT et nombre de traitements.* https://agreste.agriculture.gouv.fr/agreste-web/download/publication/publie/Chd2108/cd2021-8IFT-phytofruits_2018.pdf (consulté le 06/04/2023).
- [13] Ephytia (2018). *Venturia inaequalis (tavelure du pommier).* <http://ephytia.inra.fr/fr/C/20848/Pomme-Biologie-epidemiologie> (consulté le 29/05/2023).
- [14] Saudreau M. (2015). *Pommier - Tavelure.* <https://www6.inrae.fr/epiarch/Pathosystemes/Pommier-Tavelure> (consulté le 06/04/2023).
- [15] Phyteis (2021). *La tavelure du pommier et du poirier.* <https://phyteis.fr/maladie/la-tavelure-du-pommier-et-du-poirier/> (consulté le 25/07/2023).
- [16] Weenat (s.d.). OAD RIMpro. <https://weenat.com/oad/rimpro/#:~:text=Il%20couvre%20plusieurs%20maladies%2C%20comme,minisman%20les%20risques%20de%20maladie>. (consulté le 04/06/2023).
- [17] Ephy (2022). *Iodus 2 cultures spécialisées.* <https://ephy.anses.fr/ppp/iodus-2-cultures-specialisees> (consulté le 04/06/2023).
- [18] Ephy (2022). *acibenzolar-S-méthyle.* <https://ephy.anses.fr/substance/acibenzolar-s-methyl> (consulté le 04/06/2023).
- [19] EcophytoPIC (2019). *Appel à Projet ANR - PPR "Cultiver et Protéger Autrement".* <https://ecophytopic.fr/recherche-innovation/prevenir/appel-projet-anr-ppr-cultiver-et-proteger-autrement> (consulté le 08/03/2023).
- [20] Association Nationale Pommes Poires (2023). *Production en France par variétés.* <https://www.lapomme.org/chiffres/production-en-france-par-varietes> (consulté le 16/08/2023).

Annexes

Annexe 1 : Analyse de l'eau fertilisée utilisée en serre

 <p>ANALYSE RÉALISÉE POUR : IRHS INEM AGROCAMPUS OUEST 49000 ANGERS Technicien : GARDET Rémi</p>		<p>ORGANISME : AGROCAMPUS OUEST CENTRE D'ANGERS 2 RUE LE NOTRE 49045 ANGERS CEDEX 1</p>																																																																																																																																																																																																																																																																																																				
<p>N° de laboratoire 1991706</p>		<p>Référence échantillon EAU FERTI</p>																																																																																																																																																																																																																																																																																																				
<p>Dates repères</p>		<p>Date de prélèvement : 25/02/2015</p>																																																																																																																																																																																																																																																																																																				
<p>Date de réception : 27/02/2015</p>		<p>Date de sortie : 27/02/2015</p>																																																																																																																																																																																																																																																																																																				
<p>SN7 - COMPLETE</p>		<p>Solution Nutritive Solution nutritive</p>																																																																																																																																																																																																																																																																																																				
<table border="1"> <thead> <tr> <th>Déterminations</th> <th>Symbol</th> <th colspan="7">Résultats</th> </tr> <tr> <th>pH eau</th> <td></td> <th colspan="7">6.06</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Conductivité EC</td> <td>ms/cm</td> <td colspan="7">1.50</td> </tr> <tr> <td>Anions</td> <td></td> <td>mg/l</td> <td>meq/l</td> <td>Très faible</td> <td>Faible</td> <td>Un peu faible</td> <td>Satisfaisant</td> <td>Un peu élevé</td> <td>Elevé</td> <td>Très élevé</td> </tr> <tr> <td>Azote nitrique</td> <td>N-NO₃⁻</td> <td>138.40</td> <td>9.88</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>Phosphate</td> <td>H₂PO₄⁻</td> <td>152.33</td> <td>1.57</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>Sulfates</td> <td>SO₄²⁻</td> <td>24.77</td> <td>0.52</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>Chlorures</td> <td>Cl⁻</td> <td>64.69</td> <td>1.82</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>Carbonates</td> <td>CO₃²⁻</td> <td>0</td> <td>0</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>Bicarbonates</td> <td>HCO₃⁻</td> <td>43.92</td> <td>0.72</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>Cations</td> <td></td> <td>mg/l</td> <td>meq/l</td> <td>Très faible</td> <td>Faible</td> <td>Un peu faible</td> <td>Satisfaisant</td> <td>Un peu élevé</td> <td>Elevé</td> <td>Très élevé</td> </tr> <tr> <td>Azote ammoniacal</td> <td>N-NH₄⁺</td> <td>54.98</td> <td>3.92</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>Potassium</td> <td>K</td> <td>264.97</td> <td>6.78</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>Magnésium</td> <td>Mg</td> <td>6.34</td> <td>0.52</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>Calcium</td> <td>Ca</td> <td>57.66</td> <td>2.88</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>Sodium</td> <td>Na</td> <td>24.21</td> <td>1.05</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>Oligo-éléments</td> <td></td> <td>mg/l</td> <td></td> <td>Très faible</td> <td>Faible</td> <td>Un peu faible</td> <td>Satisfaisant</td> <td>Un peu élevé</td> <td>Elevé</td> <td>Très élevé</td> </tr> <tr> <td>Cuivre</td> <td>Cu</td> <td>0.416</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>Zinc</td> <td>Zn</td> <td>0.488</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>Manganèse</td> <td>Mn</td> <td>0.473</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>Bore</td> <td>B</td> <td>0.200</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>Fer</td> <td>Fe</td> <td>1.221</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>Abaissement du pH</td> <td></td> <td>ml d'acide nitrique 38° B/m³ d'eau</td> <td></td> <td>100</td> <td>200</td> <td>300</td> <td>400</td> <td>500</td> <td>600</td> <td>700</td> </tr> <tr> <td>pH 6,5</td> <td></td> </tr> <tr> <td>pH 6,0</td> <td></td> </tr> <tr> <td>pH 5,5</td> <td></td> </tr> <tr> <td colspan="4"> <p>Commentaires</p> </td><td colspan="7"></td></tr> </tbody></table>				Déterminations	Symbol	Résultats							pH eau		6.06							Conductivité EC	ms/cm	1.50							Anions		mg/l	meq/l	Très faible	Faible	Un peu faible	Satisfaisant	Un peu élevé	Elevé	Très élevé	Azote nitrique	N-NO ₃ ⁻	138.40	9.88								Phosphate	H ₂ PO ₄ ⁻	152.33	1.57								Sulfates	SO ₄ ²⁻	24.77	0.52								Chlorures	Cl ⁻	64.69	1.82								Carbonates	CO ₃ ²⁻	0	0								Bicarbonates	HCO ₃ ⁻	43.92	0.72								Cations		mg/l	meq/l	Très faible	Faible	Un peu faible	Satisfaisant	Un peu élevé	Elevé	Très élevé	Azote ammoniacal	N-NH ₄ ⁺	54.98	3.92								Potassium	K	264.97	6.78								Magnésium	Mg	6.34	0.52								Calcium	Ca	57.66	2.88								Sodium	Na	24.21	1.05								Oligo-éléments		mg/l		Très faible	Faible	Un peu faible	Satisfaisant	Un peu élevé	Elevé	Très élevé	Cuivre	Cu	0.416									Zinc	Zn	0.488									Manganèse	Mn	0.473									Bore	B	0.200									Fer	Fe	1.221									Abaissement du pH		ml d'acide nitrique 38° B/m³ d'eau		100	200	300	400	500	600	700	pH 6,5											pH 6,0											pH 5,5											<p>Commentaires</p>										
Déterminations	Symbol	Résultats																																																																																																																																																																																																																																																																																																				
pH eau		6.06																																																																																																																																																																																																																																																																																																				
Conductivité EC	ms/cm	1.50																																																																																																																																																																																																																																																																																																				
Anions		mg/l	meq/l	Très faible	Faible	Un peu faible	Satisfaisant	Un peu élevé	Elevé	Très élevé																																																																																																																																																																																																																																																																																												
Azote nitrique	N-NO ₃ ⁻	138.40	9.88																																																																																																																																																																																																																																																																																																			
Phosphate	H ₂ PO ₄ ⁻	152.33	1.57																																																																																																																																																																																																																																																																																																			
Sulfates	SO ₄ ²⁻	24.77	0.52																																																																																																																																																																																																																																																																																																			
Chlorures	Cl ⁻	64.69	1.82																																																																																																																																																																																																																																																																																																			
Carbonates	CO ₃ ²⁻	0	0																																																																																																																																																																																																																																																																																																			
Bicarbonates	HCO ₃ ⁻	43.92	0.72																																																																																																																																																																																																																																																																																																			
Cations		mg/l	meq/l	Très faible	Faible	Un peu faible	Satisfaisant	Un peu élevé	Elevé	Très élevé																																																																																																																																																																																																																																																																																												
Azote ammoniacal	N-NH ₄ ⁺	54.98	3.92																																																																																																																																																																																																																																																																																																			
Potassium	K	264.97	6.78																																																																																																																																																																																																																																																																																																			
Magnésium	Mg	6.34	0.52																																																																																																																																																																																																																																																																																																			
Calcium	Ca	57.66	2.88																																																																																																																																																																																																																																																																																																			
Sodium	Na	24.21	1.05																																																																																																																																																																																																																																																																																																			
Oligo-éléments		mg/l		Très faible	Faible	Un peu faible	Satisfaisant	Un peu élevé	Elevé	Très élevé																																																																																																																																																																																																																																																																																												
Cuivre	Cu	0.416																																																																																																																																																																																																																																																																																																				
Zinc	Zn	0.488																																																																																																																																																																																																																																																																																																				
Manganèse	Mn	0.473																																																																																																																																																																																																																																																																																																				
Bore	B	0.200																																																																																																																																																																																																																																																																																																				
Fer	Fe	1.221																																																																																																																																																																																																																																																																																																				
Abaissement du pH		ml d'acide nitrique 38° B/m³ d'eau		100	200	300	400	500	600	700																																																																																																																																																																																																																																																																																												
pH 6,5																																																																																																																																																																																																																																																																																																						
pH 6,0																																																																																																																																																																																																																																																																																																						
pH 5,5																																																																																																																																																																																																																																																																																																						
<p>Commentaires</p>																																																																																																																																																																																																																																																																																																						



SAS LABORATOIRE - 270 avenue de la pomme de pin - BP 10636 - ARDON - 45166 OLIVET
Tél : 02 38 69 26 31 - Fax : 02 38 76 24 01 - email : info@saslaboratoire.com - site : www.saslaboratoire.com

© SAS Laboratoire - 12-2011 - Solution Nutritive - 30-12-2011

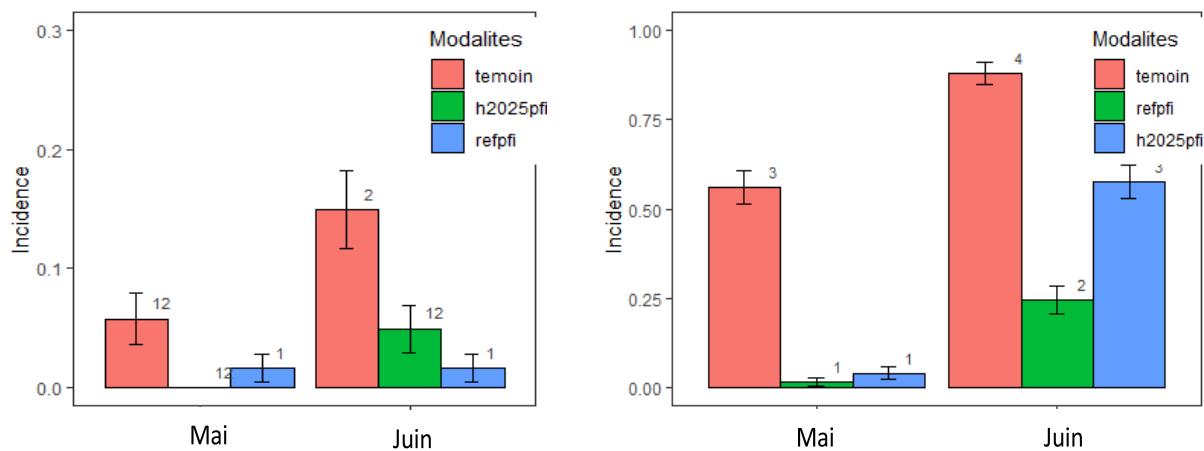
Annexe 2 : Liste des gènes marqueurs de défense, rapporteurs du statut azoté et des gènes de référence ainsi que des primers pour chacun des gènes.

	Classes	Noms	Annotation fonctionnelle	N° accession Malus	Noms amores	Séquences amores	Concentration des amores (en nM)
Gènes marqueurs des défenses	Protéines PR	PR-4	Chitinase type I,II	CN877594	PR4-di	GAAGGTGCCTTGGTG	200
					PR4-re	CGTCGGTCAATTGG	
		PR-5	Thaumatin like	AJ243427	PR5-di	GCTTGCCTGCGTTGG	600
					PR5-re	CGTAGTCAGGTCCACAC	
		PR10	Proteinase inhibitor	AY176584	Cys-di	CCTCCTGATCTGCCTCTTC	200
					Cys-re	TCTGCCTGTTACTCCTCACCG	
	Voies phénylpropanoïdes	BIS	Biphenyl synthase	MDP0000208899	mdBIS-di	CCTGATTCTGTTGAGTCAC	200
					mdBIS-re	TTGGGACCTCAGGGTCA	
		PPO	Polyphénol oxidase	L29450	PPO-di	TGCCCGCCGCTCCAC	200
					PPO-re	GCTCCATCGCTTGTAGTATTGTC	
		Voie des cystéine sulfoxides	Cystéine sulfoxide lyase	AY347795	mdCSL-di	CACCCCTGCTGTTCCAATCG	200
					mdCSLre	AGCAATCTTATCTTCCCTCTC	
	Agglutinine	AGG	Agglutinine	MD10G1026620	mdAGG-di	CAGCTGCTGACCGAAATGAAAC	300
					mdAGG-re	TCTGACTTGGGAGACTGAGTAGAT	
Gènes rapporteurs du statut azoté	Low nitrogen	FER1	Ferritin-3, chloroplastic	MD12G1178500		ACCCATTACTCATCAAGGCTGGC	200
						GCTGGACAGGGAGAGCTTGAGG	
		NRT2.5	High affinity nitrate transporter 2.5	MDP0000266497	NRT2.5-di	GGGGTGGCATGTTGTTGGTCC	200
					NRT2.5-re	ACATGCGCCGGTCAAATCTCA	
	High nitrogen	GDPD1	Glycerophosphodiester phosphodiesterase GDP1, chloroplastic	MDP0000140386	GDPD1-di	CCCCTCTGCACGCTCCAAGA	200
					GDPD1-re	GGCCGCATCAGGTTGGAAGC	
		SPX	SPX domain-containing protein 1	MDP0000644109	SPX-di	CCAGAAGGCTTGCACAGCCC	200
					SPX-re	CGCCTGTCGCCCCATCAGA	
Gènes de référence		Actin	β-actin	CV151413	Actin-di	CAACCTCTCGTCTGTGATAATG	100
					Actin-re	GCATCTTCTGTCCCATCC	
		CalS	Callose synthase	C0068501	CalS-di	GATGAAATTGGTTGGAGAAGGG	200
					CalS-re	CGCACCAACCATGAAGTAATGTC	
		SGF29	SGF29 Tudor-like domain	MD17G1021800	SGF29-di	TACTGGAAGACCGTTTG	100
					SGF29-re	CTTCCTCGTCGTATCGAAT	
		EF-1α	Elongation factor 1-α	MD04G1011300	EF-1α -di	ATTCAAGTATGCCCTGGGTGC	200
					EF-1α -re	CAGTCAGCCTGTGATGTTCC	

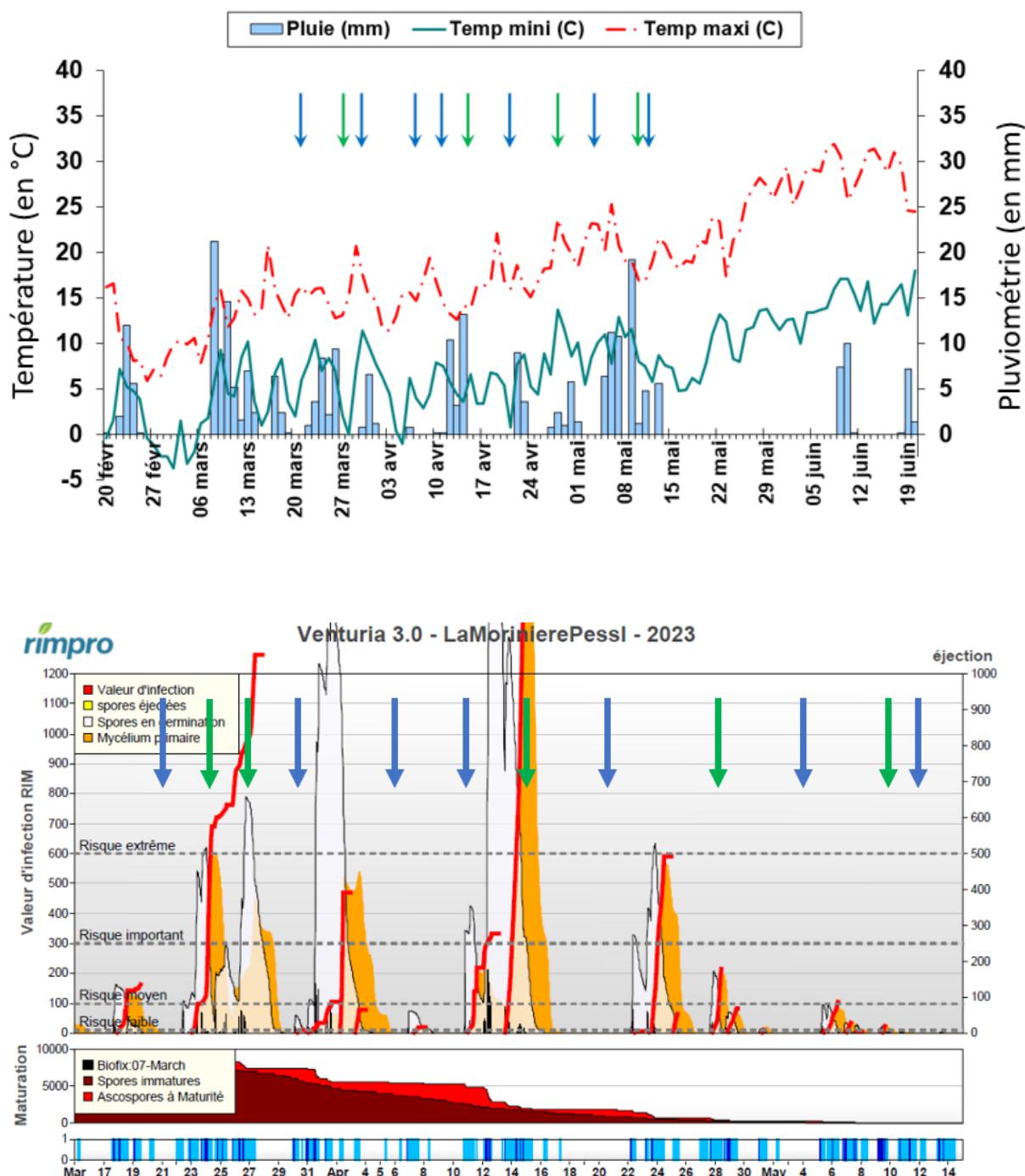
Annexe 3 : Complément des itinéraires techniques pour les intrants autres que les fongicides contre la tavelure

Date	PC	Cible	Dose (L ou kg/ha)
20-févr	Penbowl + Hurricane	Adventices + Mouillant	6 + 0,5
06-mars	Amonitratre	Engrais	130
16-mars	Ovipron + Manica	Pucerons + Chancre	20 + 1,5
05-avr	Teppeki	Pucerons	0,14
17-avr	Glyphosate + Hurricane	Adventices + Mouillant	4 + 0,5
18-avr	Sunset	Eclaircissement	3
24-avr	Novaflor	Engrais	15
24-avr	Nitrate de potasse	Engrais	150
28-avr	Kusti	Hoplocampe	0,11
04-mai	Rhodofix + Exilis	Eclaircissement	1,5 + 5
04-mai	Movento	Pucerons	1,9
11-mai	Exilis	Eclaircissement	5
17-mai	Brevis	Eclaircissement	1,8
19-mai	Macc80 + Cyflodium	Tavelure Secondaire + Oïdium	1 + 0,5
23-mai	Sunset	Eclaircissement	3
26-mai	Sigma + Cyflodium	Tavelure Secondaire + Oïdium	1,8 + 0,5
02-juin	Coragen + Nimrod	Carpocapse + Oïdium	0,175 + 0,6
05-juin	Nitrate de chaux	Engrais	150
08-juin	Sigma	Tavelure Secondaire	1,8
16-juin	Sigma + Nimrod	Tavelure Secondaire + Oïdium	1,8 + 0,6
22-juin	Curatio	Tavelure Secondaire	6
30-juin	Vivacuivre	Tavelure Secondaire	0,9
05-juil	Sigma + Invelop	Tavelure Secondaire + Brûlure	0,9 + 25

Annexe 4 : Incidence de la maladie par rosette (gauche) et par pousse (gauche) à la notation de mai et juin selon les différentes modalités testées (témoin, ref pfi et 2025 pfi). Les différents chiffres au-dessus



Annexe 5 : Graphique du haut représentant les conditions climatiques (pluviométrie et température) du 20 février au 19 juin 2023. Graphique du bas représentant la pression de la maladie par des valeurs d'infection et d'éjection prédicts par RIMpro du 17 mars au 14 mai 2023. Les flèches bleues représentent les traitements préventifs et les flèches rouges les traitements curatifs qui ont été appliqués en vergers pour les deux itinéraires techniques



  	<p>Diplôme: Master Mention : Biologie Végétale (BV) Parcours : Gestion de la Santé des Plantes (GSP)</p>
Auteur(s) : Solène Alexandre Date de naissance* : 08/08/2000	Organisme d'accueil : Institut de Recherche en Horticulture et Semences (IRHS) Adresse : 42 Rue Georges Morel, 49070 Beaucouzé Maîtres de stage : Mathilde Orsel-Baldwin et Mickaël Delaire
Nb pages : 30 Annexe(s) : 5	
Année de soutenance : 2023	
Titre français : Etude de l'interaction des leviers azote, SDP et génétique pour l'amélioration de l'immunité du pommier vis-à-vis de la tavelure Titre anglais : Study of the interaction of nitrogen, PRI and genetic levers for improving apple tree immunity against scab	
<p>Résumé (1600 caractères maximum) :</p> <p><i>Venturia inaequalis</i>, agent causal de la tavelure, est le principal bioagresseur sur pommier. Sa gestion nécessite de nombreuses applications de fongicides, or, le développement de résistances et la baisse du nombre de fongicides autorisés conduisent à développer de nouvelles stratégies de lutte efficaces et durables contre la maladie, tel que les Stimulateurs de Défense des Plantes (SDP). Mais leur efficacité en verger peut être diminuée par les pratiques culturelles, le climat et le génotype des plantes. Il est donc indispensable de prendre en compte ces facteurs pour améliorer l'efficacité des SDP. Ainsi, nous avons étudié l'effet de deux régimes azotée (limité ou confort) et du génotype sur l'efficacité d'un SDP (Bion 50 WG®) contre la tavelure du pommier. De plus, un autre SDP, le Soriale®, a été testé en verger pour valider son efficacité dans un itinéraire technique utilisable après 2025. Les résultats montrent que la limitation azotée réduit la sévérité de la tavelure et permet d'augmenter l'efficacité de protection du Bion®. Cette efficacité est la plus élevée lorsque la remise en confort se fait avant le traitement au SDP. De plus, peu importe la combinaison d'allèles favorables/défavorables aux 4 QTLs observés, la limitation azotée combinée ou non au Bion® permet de réduire la sévérité de la tavelure. Sur le Soriale®, les résultats ont montré que le nouvel ITK testé pour 2025 ne permet pas un aussi bon contrôle de la tavelure que l'ITK de référence ; mais son efficacité reste suffisante pour préserver une faible pression de la tavelure</p>	
<p>Abstract (1600 caractères maximum) :</p> <p><i>Venturia inaequalis</i>, the causal agent of scab, is the main pest on apple trees. It is controlled by a large number of fungicide applications, however, the development of resistance and the decline in the number of available fungicides lead to the development of new effective and sustainable strategies against the disease, like Plant Resistance Inducer (PRI). But, their effectiveness in orchards can be reduced by cultural practices, climate and the genotype of plants. So, it is important to take these factors into account to improve the effectiveness of PRIs. Thus, we studied the effect of two nitrogen regimes (limited or comfort) and the genotype on the effectiveness of PRI (Bion 50 WG®) against apple scab. In addition, another PRI, Soriale was tested in orchard to validate its effectiveness in the strategy of orchard management after 2025. The results show that nitrogen limitation reduce the severity of scab and increase the effectiveness of protection by Bion®. This efficiency is highest when the nitrogen availability is restored before PRI treatment. In addition, no matter what the combination of favorable/unfavorable alleles at the 4 QTLs observed, nitrogen limitation, combined or not with Bion, reduces the scab severity. Concerning Soriale, the results show that the new strategy management tested for 2025 does not show as effectiveness as the reference for scab control management in orchard. But, its effectiveness is sufficient to preserve low scab pressure.</p>	
<p>Mots-clés : SDP, limitation azotée, tavelure du pommier, subirrigation</p> <p>Key Words: PRI, nitrogen limitation, apple scab, subirrigation</p>	

