

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'utilisation des plantes de services pour lutter
contre les pathogènes telluriques des cultures
maraîchères ligériennes**

Par : Rania MISSAOUI

Soutenu à Angers le : 08/09/2023

Maître de stage : Charlotte BERTHELOT
Enseignant référent : Philippe SIMIER

ENGAGEMENT DE NON PLAGIAT

Je, soussigné (e), Rania MISSAOUI

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 :

Rania MISSAOUI


Remerciement

Je tiens tout d'abord à exprimer ma profonde gratitude envers Ctifl pour m'avoir offert l'opportunité de réaliser mon stage de Master 2 au sein de leurs équipes. Ce fut une expérience inestimable qui m'a permis d'approfondir mes connaissances et compétences dans le domaine de protection des cultures.

Mes remerciements vont à Charlotte Berthelot pour avoir partagé son expertise dans le domaine d'agriculture biologique et d'écologie microbienne et pour ses conseils et remarques qui m'ont aidé dans la définition des orientations et dans la rédaction du rapport.

Je tiens également à remercier M Philippe SIMIER, pour sa disponibilité tout au long de la période de stage. Ses retours constructifs et ses orientations précieuses ont grandement contribué à l'avancement de mon projet.

J'adresse aussi un remerciement à tous les membres de l'unité DSPL pour leur accueil chaleureux, leur collaboration et leurs échanges enrichissants.

Un grand merci à Séverine Bosseur, Vanessa Demoisson et à Loic Fouyer pour partager leurs connaissances et leur expertise. Merci aussi pour votre gentillesse et votre bonne humeur.

Je n'oublie pas de mentionner mes collègues stagiaires avec qui j'ai partagé cette expérience. Leurs points de vue, leurs discussions et leurs conseils ont contribué à créer une ambiance de travail stimulante et conviviale.

Enfin, je suis profondément reconnaissant envers ma famille et mes amis pour leur soutien indéfectible tout au long de mon parcours académique et professionnel.

Les leçons que j'ai apprises et les expériences que j'ai vécues resteront gravées dans ma mémoire et me guideront dans ma future carrière. Merci encore pour cette opportunité exceptionnelle.

Table des matières

Introduction.....	1
I. Présentation de la structure d'accueil	1
II. Contexte général et enjeux	2
Etat de l'art	3
I. Maladies telluriques de la laitue	3
II. Utilisation des plantes de services pour lutter contre les agents pathogènes telluriques.....	3
1. Importance de l'introduction des plantes de services dans les agrosystèmes	3
2. Potentiel assainissant de l'association culturale avec les plantes de service	3
a. Rotation culturale ou culture intermédiaire.....	4
b. Association culturale ou plantes compagnes	4
III. Etude de l'impact de potentiel allélopathique des plantes de services sur les pathogènes telluriques.....	4
1. Allélopathie et régulation des agents pathogènes du sol	4
2. Allélopathie directe ou spécifique.....	5
3. Allélopathie indirecte ou générale	6
a. Effet via la stimulation d'antagonistes spécifiques dans le sol	6
b. Effet via l'induction de système immunitaire de la culture compagne	6
III. Impact de la symbiose plantes de services-mycorhize sur la réponse des plantes au stress biotique	6
1. Les champignons mycorhiziens à arbuscules.....	6
2. La mycorhization, un outil de bioprotection contre les maladies telluriques très versatile.....	7
a. La multiplication de la communauté de mycorhizes indigènes : bioprotection rhizosphérique	
32	
b. L'inoculation par des racines mycorhizées : bioamplification	8
Objectifs du stage	9
Matériels et méthodes	9
1. Matériels.....	10
a. Substrat.....	10
b. Matériel végétal.....	10
c. Inoculum.....	11
2. Méthodes	11
2.1. Conditions de culture et caractéristiques de la serre à plants	11
2.2. Dispositif expérimental.....	11
a. Protocole plante campagne.....	11
b. Protocole Bioamplification	12

2.3. Variables mesurées	13
a. Mesure des pigments foliaires	13
b. Evaluation du taux de mycorhization de la laitue.....	13
c. Mesure de la biomasse fraîche.....	13
d. Notation du pourcentage de nécrose.....	14
e. Réalisation des isolements à partir des symptômes	14
2.4. Traitement statistique des données	14
Résultats	15
I. Plantes compagnes : allélopathiques et mycorhizotrophes	15
1. Impact sur la fitness de la laitue.....	15
2. Impact sur le rendement de la laitue	16
3. Impact sur la santé de la laitue.....	17
4. Impact sur la colonisation racinaire de la laitue par les mycorhizes	18
II. Plantes bioamplifiactrices des mycorhizes	19
1. Impact sur la fitness et la productivité de la laitue	19
2. Impact sur la santé de la laitue.....	19
3. Impact sur la colonisation racinaire de la laitue.....	20
Discussion.....	21
1. Validation des conditions d'expérimentations	21
2. Plantes de services d'intérêt	21
3. Mécanismes d'action potentiel des plantes de services d'intérêt	22
a. La modification du rhizo-microbiome	22
b. La production de métabolites secondaires biostimulants et/ou biocides.....	24
4. Plantes de services potentiellement intéressantes et voies d'amélioration envisageables.....	25
a. Plantes potentiellement intéressantes.....	25
b. Pistes d'amélioration	26
Conclusion	28
Bibliographie.....	29
Sitographie.....	32

Liste des abréviations

CTIFL : Centre Technique Interprofessionnel des Fruits et Légumes

F&L : fruits et légumes

DPSA : Durabilité et Performance des Production Sous-Abris

DSPL : Durabilité des Systèmes de Productions Légumières

DVT : Direction de la Valorisation et Transfert

SAU : Surface Agricole Utile

PPS : produits phytosanitaires de synthèse

PdS : plantes de services

GSL : glucosinolates

CMA : champignons mycorhiziens à arbuscules

JA : Acide jasmonique

PR : protéines liées à la pathogenèse

PGPR : Plant Growth-Promoting Rhizobacteria

PNPP : préparations naturelles peu préoccupantes

SUPERNOMA : SUPprimer les pathogènes En Repérant les NOuveautés en Maraîchage

CMA : Corn Meal Agar

MEA : Malt-Agar

NBI : Indice d'équilibre azoté

IN : indice de nécrose

Liste des annexes

Annexe I : Fiche présentative des principaux bioagresseurs de la laitue

Annexe II : Résultats du test nitrate pour le sol de la parcelle 6 du Ctifl (26/05/23)

Annexe III : Liste des agents pathogènes et milieux de culture utilisées pour la préparation de l'inoculum

Annexe IV : Méthodes d'estimation de la colonisation racinaire par les CMA d'après Trouvelot *et al.*, 1986.

Annexe V : Script R

Table des figures

Figure 1 : Représentation schématique en vue de dessus de la serre à plants et de la position des tablettes de culture : Compartiment Est (à gauche) et compartiment Ouest (à droite).

Figure 2 : Vue d'ensemble du dispositif « plante compagne ». A : plantes de services plantées en même temps avec la laitue (association) ; B : plantes de services semées 4 semaines avant la plantation de la laitue (Rotation). (Source : Rania Missaoui).

Figure 3 : Vue d'ensemble du dispositif « Bioamplification ». A : phase de multiplication de l'inoculum ; B : phase de transfert. (Source : Rania Missaoui).

Figure 4 : Différentes structures des champignons mycorhiziens à arbuscules observées sur une racine de laitue associée au poireau. (Source : Rania MISSAOUI)

Figure 5 : Echelle de notation des nécroses sur les feuilles de laitue (Source : Rania MISSAOUI).

Figure 6 : Teneurs en chlorophylles (A) et en flavoinoides (B) au stade récolte (BBCH46) chez la laitue en fonction des plantes compagnes.

Figure 7 : Statut azotée (A) et Biomasse fraîche aérienne(B) de la laitue au stade récolte (BBCH46) en fonction des plantes compagnes.

Figure 8.1 : Biomasse fraîche racinaire de la laitue au stade récolte (BBCH46) en fonction des plantes compagnes. Figure 8.2 : Symptômes de brunissement des vaisseaux (à gauche), morphologie du mycélium et caractéristiques des spores de *Fusarium oxysporum* isolés à partir du collet de laitue lors de l'essai « plantes campagnes ». (Source : Rania MISSAOUI)

Figure 9 : Indice de nécrose (A) chez la laitue au stade récolte (BBCH46) en fonction des plantes compagnes. (B) : Classes de nécrose foliaire (en pourcentage) chez la laitue au stade récolte en fonction des plantes compagnes.

Figure 10 : Teneurs en chlorophylles (A) et en flavoinoides (B) des feuilles de laitue au stade récolte (BBCH46) en fonction des modalités de l'essai « Bioamplification ».

Figure 11 : Biomasses fraîches (A) et indice de nécrose (B) de la laitue au stade récolte (BBCH46) en fonction des différentes modalités de l'essai « Bioamplification ».

Figure 12 : Fréquence de colonisation racinaire (F%) des différentes modalités de l'essai « Bioamplification ».

Figure 13 : Intensité de colonisation racinaire par des hyphes intraradiculaires (m%) et des arbuscules (a%) des différentes modalités de l'essai « Bioamplification ».

Figure 14 : Heatmap récapitulatif représentant la variation de l'ensemble de paramètres de suivi en fonction de différentes modalités d'inoculation pour l'essai « plante campagne ».

Figure 15 : Heatmap récapitulatif représentant la variation de l'ensemble de paramètres de suivi en fonction de différentes modalités d'inoculation pour l'essai « bioamplification ».

Table des tableaux

Tableau 1 : Liste des Pds citées en bibliographie et sélectionnées pour le screening des deux essais « plantes campagnes » et « bioamplification ». (Source : Rania MISSAOUI)

Tableau 2 : Densité de plantation et mode d'association pour l'essai « plante campagne ».

Tableau 3 : Pourcentage de mycorhization (fréquence, intensité et teneur en arbuscules) chez la laitue associée à différentes plantes compagnes.

Introduction

I. Présentation de la structure d'accueil

Le Centre Technique Interprofessionnel des Fruits et Légumes (CTIFL) est un institut technique agricole fondé en 1952 qui joue un rôle essentiel en matière de recherche et développement au sein de la filière fruits et légumes (F&L). Son siège social est basé à Paris et il est réparti sur l'ensemble du territoire français au travers 5 centres opérationnels (Balandran, Lanxade, Saint-Rémy, La Morinière, Carquefou), deux antennes (Rungis et Nancy) et 32 stations régionales d'expérimentation pour constituer un réseau d'expérimentation unique en Europe. Il a pour objectif d'aider les professionnels F&L à relever les défis de compétitivité, d'innovation et de production durable via des programmes d'expérimentation et de recherche, de formation et de transfert des connaissances et des technologies innovantes. Ses principaux axes stratégiques sont la recherche sur la réduction des intrants (énergie, produits phytosanitaires), le maintien de la qualité des F&L, l'amélioration des itinéraires techniques en commercialisation, la digitalisation de la filière F&L et le développement de produits répondant aux nouveaux modes de consommation et aux nouveaux marchés des F&L [1].

Je réalise mon stage au centre de Carquefou, situé près de Nantes, qui a pour mission de réaliser l'expérimentation spécifique des cultures légumières sous serre et de pleins champs de l'Ouest de la France telles que : tomate (*Solanum lycopersicum* L., Solanacées), concombre (*Cucumis sativus*, Cucurbitacées), mache (*Valerianella locusta*, Valerianacées), poireau (*Allium ampeloprasum*, Amaryllidacées), radis (*Raphanus sativus*, Brassicacées), courge (*Cucurbita* sp., Cucurbitacées) et laitues (*Lactuca sativa*, Astéracées). Il permet également d'accompagner et de réaliser des prestations techniques auprès des producteurs des F&L des régions du Grand Ouest et du Nord de la France. Le centre de Carquefou est constitué de quatre unités de recherche et d'expérimentation :

- L'unité Durabilité et Performance des Production Sous-Abris (**DPSA**) travaille sur des thématiques en relation avec la physiologie de la culture de tomate et de concombre produites sous serres.
- L'unité Durabilité des Systèmes de Productions Légumières (**DSPL**) traite des sujets en relation avec l'agroécologie, la biodiversité et la durabilité des sols et des cultures maraîchères de pleins champs.
- L'unité de Direction de la Valorisation et Transfert (**DVT**) propose un service de formations, d'accompagnement et de conseil pour entreprises de la filière des F&L.
- Et l'unité Brindas qui traite du maraîchage péri-urbain et du maraîchage diversifié sur petites surfaces.

II. Contexte général et enjeux

Les cultures légumières ligériennes occupent des superficies d'environ 13 000 ha soit 0,7 % de la Surface Agricole Utile (SAU) national. En maraîchage, les Pays de la Loire sont leader dans la production de mâche et de radis avec des croissances de volume de plus de 20 % depuis 10 ans menant respectivement à des volumes de 84 % et 33 % de la production nationale. La région est aussi leader en production du poireau et navet et se positionne en deuxième rang en production d'échalote mais avec des volumes de production en régression [2].

Concernant les autres salades, excluant la mâche et les endives, on observe une régression de la production dans la région (-13,6 % sur une période de 10 ans), ce qui place la région au sixième rang en termes de production nationale, représentant seulement 6,2 % de la production totale du pays. La superficie consacrée à la culture de la laitue dans le bassin ligérien est de 595 hectares, soit environ 8 % de la superficie totale du pays. Cependant, cette superficie a diminué de 8%, en 2022 en impactant plus spécialement la laitue à couper. Par conséquent le tonnage a diminué de 7,6% par rapport à la campagne précédente. Celui-ci est dû au manque des précipitations en hiver et au printemps et à l'augmentation des températures et de l'humidité en été. Ces conditions peuvent générer un microclimat plus ou moins favorable au développement des problèmes sanitaires, notamment les maladies fongiques [3].

La première préoccupation des producteurs est la régulation des populations de bioagresseurs présents dans leurs agrosystèmes. Leur défi n'est pas seulement d'augmenter les rendements mais aussi de satisfaire les besoins des consommateurs qui sont de plus en plus exigeants en termes d'origine et de qualité de produit. La majorité des traitements existants est basée sur des produits phytosanitaires de synthèse (PPS) montrant différentes limites : impact négatif sur la santé et l'environnement, apparition de pathogènes résistants aux pesticides, coût élevé des PPS et fragilisation des écosystèmes (Declerck *et al.*, 2013). Par conséquent, les réglementations en vigueur, tant au niveau européen (directive 2009/128/CE) et national (plans Ecophyto II+), réduisent l'utilisation des PPS de synthèse et opèrent une transition agroécologique (Djian-Caporalino *et al.*, 2020). A cet effet, la recherche des alternatives aux PPS devient une nécessité, notamment le recours à la lutte biologique, e.g. d'extraits de plantes (Al-Askar and Rashad, 2010a), produits de biocontrôle (microorganismes bénéfiques) (Al-Askar and Rashad, 2010b) ainsi que l'intégration des plantes de services dans les systèmes (Djian-Caporalino *et al.*, 2020).

Etat de l'art

I. Maladies telluriques de la laitue

D'après une enquête réalisée en 2019 et 2020 par le Ctifl auprès de 31 producteurs de production légumière dans le Sud et l'Ouest de la France, les cultures les plus sensibles aux maladies cryptogamiques sont la tomate et la laitue [4]. Le mildiou et l'oïdium apparaissent comme les maladies fongiques prédominantes, suivies par la sclerotinirose et la pourriture grise. Les systèmes de culture tomate-salade représentent un réservoir important pour l'installation des maladies telluriques (Bressoud, 2003). Ces dernières peuvent être classées en 6 catégories : les fontes de semis, la pourriture grise, la sclerotinirose, la rhizoctoniose et les pythium vasculaires (THICOIPE, 1997) (**Annexe 1**). Depuis 2017, la fusariose de la laitue s'installe sur le territoire français. La race 4 de *Fusarium oxysporum* sp. *lactucae* inquiète tout particulièrement les producteurs du fait de sa virulence et de ses larges optima de température.

II. Utilisation des plantes de services pour lutter contre les agents pathogènes telluriques

1. Importance de l'introduction des plantes de services dans les agrosystèmes

On désigne par plantes de services (PdS) les espèces végétales cultivées dans la même zone agricole que les cultures commerciales (ou cultures de rente), soit en rotation, soit en interculture ou en couvertures permanentes. Elles offrent une large gamme de services écosystémiques permettant l'amélioration des processus biologiques du sol sans produire directement des produits agricoles commercialisables ou consommables [5] ; l'enrichissement du sol en N, l'augmentation de la productivité de la culture de rente, et la préservation des propriétés physicochimiques et biologiques des sols. Les PdS sont utilisés pour lutter contre les adventices et les bioagresseurs (insectes et agents pathogènes). En effet, elles apportent un service de régulation des bioagresseurs de manière directe. Leur impact se manifeste de différentes manières : en détectant la présence des bioagresseurs, en les repoussant, en les attirant loin des cultures, ou en diminuant leur potentiel infectieux (Djian-Caporalino et al., 2020).

2. Potentiel assainissant de l'association culturale avec les plantes de service

Les plantes assainissantes, telles que les plantes biocides et les plantes biofumigantes, jouent un rôle important dans la lutte contre les bioagresseurs telluriques. Les plantes biocides sont utilisées vivantes et cultivées en association avec la culture de rente et permettent, grâce aux composés biocides qu'elles sécrètent par leurs racines, de tuer ou empêcher la reproduction des bioagresseurs. Les plantes biofumigantes, quant à elles, sont utilisées en rotation et permettent de rompre le cycle de reproduction du bioagresseur via la production des molécules toxiques après leur enfouissement dans le sol.

Le but dans les deux cas est de réduire l'inoculum infectieux des bioagresseurs sous le seuil de tolérance pour la culture associée ou la culture suivante (Djian-Caporalino *et al.*, 2020).

a. Rotation culturelle ou culture intermédiaire

Il s'agit d'une association dans le temps de différentes cultures sur une même parcelle (Mohler and Johnson, 2009). Elle contribue au contrôle des agents pathogènes des cultures en jouant directement sur leur cycle de vie (Gerowitz, 2003). Les différentes espèces peuvent assurer des services de gestion des bioagresseurs des cultures, notamment via la production de métabolites secondaires à effet biocide engendrant des phénomènes d'allélopathie (Farooq *et al.*, 2011). En effet, les plantes de service cultivées en rotation produisent des molécules volatiles toxiques après leur fauchage et enfouissement dans le sol.

b. Association culturelle ou plantes compagnes

Il s'agit de la culture simultanée de deux espèces ou plus, sur la même surface, pendant une période significative de leur cycle de croissance (Willey, 1979). Les PdS cultivées en association avec la culture commerciale sont appelés « plantes de couvert associées à la culture » ou « plantes compagnes ». Comme pour les couverts d'interculture, les plantes compagnes peuvent être exploitées pour leurs différentes caractéristiques dans la lutte contre les phyto-parasites, à condition que leur développement ne pénalise pas celui de la culture de rente [6]. En effet, une plante compagnie peut aussi libérer des substances biocides qui ont des effets alléopathiques sur ces parasites. De plus, en se décomposant et en restituant de la matière organique, ces plantes contribuent à accroître la diversité des ressources disponibles pour la chaîne alimentaire, favorisent ainsi la diversité des organismes vivants et créent un environnement propice au développement d'organismes qui régulent les phyto-parasites (Dorel *et al.*, 2011).

III. Etude de l'impact de potentiel allélopathique des plantes de services sur les pathogènes telluriques

1. Allélopathie et régulation des agents pathogènes du sol

L'allélopathie est « l'effet positif ou négatif, direct ou indirect, de végétaux ou de microorganismes sur des végétaux ou des micro-organismes, par le biais de composés allélochimiques libérés dans l'environnement » (Rice, 1984) par les feuilles, la dégradation des tissus végétaux et/ou par les exsudats racinaires. Ces exsudats contiennent des ions minéraux, des enzymes, du mucilage et des produits des métabolismes primaire et secondaire (L'Etang, 2012). Certains composés sont exsudés constitutivement, tandis que d'autres ne sont exsudés qu'en réponse à une attaque de bioagresseurs. Ces composés protègent contre les agents soit de manière directe, en formant une barrière physique autour des racines sous forme de mucilage et/ou en secrétant des molécules ayant des propriétés antifongiques ou antibactériennes (Uren, 2007 ; Bais *et al.*, 2006), soit de manière indirecte, en attirant des micro-organismes prédateurs ou parasites des bioagresseurs de la culture de rente (Haichar *et al.*, 2014 ; Huang *et al.*, 2014).

2. Allélopathie directe ou spécifique

Cette forme d'allélopathie est rendue possible grâce à l'effet biocide des PdS par la libération en continu de métabolites secondaires lors de la période de culture, ou être accentuée lors de la destruction des couverts par la libération d'une grande quantité de ces composés biocides ; c'est le principe de biofumigation (Matthiessen and Kirkegaard, 2006). En effet, la biofumigation est une méthode culturelle développée dans plusieurs pays, tels que l'Australie, les Etats-Unis et l'Italie (Morra, 2004). Parmi les plantes biofumigantes, les Brassicacées, telles que les moutardes (*Brassica juncea*, *Sinapis alba*), la roquette (*Eruca sativa*) et le radis (*Raphanus sativus*), sont connues pour la production d'une grande quantité de molécules biocides, essentiellement issus de la dégradation des glucosinolates (GSL) (Michel et al., 2007).

Les GSL ont un effet biocide sur les phytopathogènes (Höglund et al., 1991). Leurs dérivés sont utilisés pour lutter contre des maladies causées par *Verticillium dahliae*, *Rhizoctonia solani* et *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici*. A titre d'exemple, une étude en culture de plein champ de chou-fleur (*B. oleracea* ssp. *Botrytis*) montre que l'introduction de brocoli (*B. oleracea* ssp. *Botrytis italicica*) comme culture intermédiaire induit une diminution d'environ 50% de l'incidence et de la gravité de la maladie, ainsi que de l'abondance de micro-sclérotes de *V. dahliae* sur les racines de chou-fleur (Xiao et al., 1998). D'autre part, l'introduction de colza (*B. napus*) ou de moutarde brune (*B. juncea*) en tête de rotation permet la diminution de 70% de la sévérité de la maladie de piétin échaudage (*G. graminis* var. *tritici*) chez le blé (Kirkegaard and Koetz, 2002).

Les racines de certaines plantes ont la capacité à la fois d'attirer les zoospores d'oomycètes pathogènes et de secréter des composés antifongiques contre ces dernières. Ce mécanisme, connu sous le nom « attirer et tuer », ou « attract and kill », a été démontré dans le système intercalaire maïs-poivron. En effet, les exsudats racinaires du maïs (*Zea mays*, Poacées) attirent les zoospores de ***Phytophthora capsici***, un pathogène tellurique qui provoque la brûlure et la pourriture des fruits des poivrons, et secrètent simultanément une toxine vis-à-vis de microorganismes et d'insectes, le 2,4-dihydroxy-7-méthoxy-2H-1,4-benzoxazine-3(4H) ou DIMBOA (Yang et al., 2014). La verge d'or (*Solidago canadensis* L., Asteracées) exsude par ses racines des métabolites secondaires (flavones, composés phénoliques et saponines) antifongique contre *Pythium ultimum* et *R. solani* (Zhang et al., 2011). En effet, des extraits de racines et de rhizomes de *S. canadensis* inhibent la croissance et l'activité pathogène de ces deux agents.

3. Allélopathie indirecte ou générale

a. Effet via la stimulation d'antagonistes spécifiques dans le sol

L'effet indirect de l'allélopathie réside dans la capacité des cultures associées à protéger les racines contre des infections possibles par des micro-organismes pathogènes du sol en favorisant les microorganismes bénéfiques, tels que les **champignons mycorhiziens à arbuscules** (CMA) ou les champignons antagonistes tel que *Trichoderma* (Harman *et al.*, 2004; Kirkegaard et Matthiessen, 2004)). Ces derniers rentrent en compétition avec les pathogènes du sol lors de la mise en place du réseau mycélien interne dans le cortex des racines, par la sécrétion de molécules antibiotiques ou par la chélation d'oligoéléments. Ils renforcent aussi la tolérance des plantes en facilitant l'accès à l'eau et aux nutriments grâce au leur réseau mycélien externe.

b. Effet via l'induction de système immunitaire de la culture compagne

Une étude montre que la culture de la pastèque (*Citrullus lanatus (Thunb.) Matsum. et Nakai var. Zaojia 8424*, Cucurbitacées) associée au blé (*Triticum aestivum L. var. Emai 18*, Poacées) permet d'augmenter sa résistance à la fusariose par rapport à la pastèque cultivée seule (Xu *et al.*, 2015). En présence de *Fusarium oxysporum*, l'association avec le blé avec induit la synthèse de métabolites secondaires (flavonoïdes, composés phénoliques) et la surexpression de six gènes de défense impliqués dans la voie de biosynthèse de l'acide jasmonique, du shikimate, du phénylpropanoïde et de la lignine. De même, l'association de la tomate à l'oignon permet la diminution de l'incidence du flétrissement de la tomate causé par l'agent pathogène du sol *V. dahliae* en induisant la surexpression de gènes impliqués dans la défense (Fu *et al.*, 2015) *i.e.* dans la biosynthèse de l'éthylène, de l'acide salicylique (facteurs de transcription TGA 2 et WRKY et protéine PR-1) et de la lignine (Laccase, Peroxydase, Phénylalanine ammoniaque-lyase, Hydroxycinnamoyl transférase). Les protéines liées à la pathogenèse (PR), à savoir PR5, PR6, PR1b, 'Endochitinase et la Beta-1,3-glucanase, ont été significativement augmentées chez la tomate associée à l'oignon par rapport à celle de la tomate cultivée seule.

III. Impact de la symbiose plantes de services-mycorhize sur la réponse des plantes au stress biotique

1. Les champignons mycorhiziens à arbuscules.

Les mycorhizes à arbuscules résultent de la symbiose obligatoire entre les racines des végétaux herbacés et certains champignons du sol appartenant au phylum des Gloméromycètes : les champignon mycorhizien à arbuscules (CMA) (Janos, 1980 ; Gobat *et al.*, 2003). Des études ont montré que pour 10 000 espèces végétales, 86% présentaient des structures mycorhiziennes, à l'exception de celles appartenant aux familles des Brassicacées et des Chénopodiacées (Brundrett, 2009 ; Tedersoo *et al.*, 2010). Celui-ci pourrait s'expliquer par le fait que les Brassicacées秘ètent dans leur rhizosphère des dérivées des GSL plus spécifiquement des ITC toxiques qui ont un effet biocide non sélectif sur les champignons, y compris les mycorhizes (Reau *et al.*, 2005).

Les CMA sont constituées des structures fongiques de transport (le mycélium), de transfert (l'arbuscule) et de stockage (la vésicule), et par un réseau de mycélium se développant dans le sol rhizosphérique (Reau *et al.*, 2005). Les mycorhizes à arbuscules sont, elles, caractérisées par l'absence d'enveloppe hyphale extérieure à la racine et l'invasion d'hyphes fongiques dans les cellules corticales.

2. La mycorhization, un outil de bioprotection contre les maladies telluriques très versatile

Les CMA jouent un rôle important tant sur le plan écologique que physiologique et surtout agronomique. Ils permettent une absorption meilleure et efficace d'eau et des minéraux, en particulier le phosphore et l'azote. Ainsi, l'amélioration de la nutrition de la plante induit par les CMA permet de stimuler la croissance des plantes et de promouvoir leur tolérance au stress biotique et abiotiques (Mora-Romero *et al.*, 2015). Cependant, plusieurs facteurs d'ordre anthropiques et abiotiques peuvent avoir un impact négatif sur la biodiversité l'abondance et l'activité de la communauté des CMA dans le sol. Ainsi, les pratiques agricoles intensives à savoir la monoculture, le travail fréquent et profond du sol, l'utilisation excessive des pesticides et des engrains inorganiques, constituent une vraie menace pour les CMA. Parmi les facteurs abiotiques, le taux élevé de phosphore biodisponible du sol peut limiter l'abondance et l'activité des CMA.

D'autre part, il est important de noter que les réserves mondiales de phosphore ont tendance à diminuer au fil du temps (Lheureux *et al.*, 2020). Dans cette perspective, promouvoir la mycorhization se révèle être une alternative durable à l'utilisation excessive d'engrais à base de phosphates. A cet effet, de nombreux producteurs se tournent vers l'ajout d'inoculum exogènes commerciaux. Cependant, les biotechnologies actuelles ne permettent la multiplication et la commercialisation que d'une faible proportion des inocula. Ainsi, le statut de biotrophe obligatoire des CMA qui ne peuvent pas se multiplier sans plante hôte, rend leur synthèse très complexe (Chave, 2015). Aussi, l'entretien des collections de référence de CMA nécessite des infrastructures encombrantes et des techniques spécifiques impliquant des coûts exorbitants et non compétitifs par rapport aux fertilisants (Berruti *et al.*, 2014). En outre, la difficulté des interactions entre les plantes et les CMA, associée à l'incertitude qui de leur manipulation, complique considérablement leur contrôle et leur étude. En effet, il est actuellement difficile d'évaluer par une méthode non destructive le taux de mycorhization d'une plante, de quantifier la densité du réseau mycorhizien dans un sol et/ou de différencier des champignons introduits, des ceux naturellement présents dans le sol (Chave, 2015). D'autres part, la compétition entre les souches introduites et les souches indigènes, qui peuvent être plus abondantes et/ou plus acclimatées aux conditions agricoles locales, peut entraîner un changement du comportement classique de l'inoculum et réduire considérablement ses effets bénéfiques (Rodriguez and Sanders, 2015).

Face à ces contraintes, de nouvelles méthodes de multiplication et d'inoculation sont à tester. Le processus de la mycorhization peut se faire naturellement en favorisant la multiplication de la communauté de mycorhizes indigènes ou être amplifiée par une inoculation avec des racines mycorhizées exogènes.

a. La multiplication de la communauté de mycorhizes indigènes : bioprotection rhizosphérique

Elle consiste à une stimulation du pouvoir mycorhizien du sol en cultivant des plantes dites « receveuses » en association ou en rotation avec des plantes mycorhizotrophes ou « donneuses », c'est-à-dire à haut potentiel de mycorhization, et ce sans inoculation exogène. Parmi ces plantes donneuses, la luzerne (*Medicago truncatula*, Fabacées) permet une mycorhization rapide et importante des plants de pomme de terre cultivés *in vitro* (Voets *et al.*, 2009). Aussi, la cive (*Allium fistulosum*, Liliacées) permet une colonisation mycorhizienne très importante chez la tomate, ce qui permet de lutter contre l'agent de flétrissement bactérien chez les producteurs de tomate en Martinique (Deberdt *et al.*, 2012).

Les plantes mycorhizotrophes se protègent contre les pathogènes telluriques en modifiant naturellement la composition des populations microbiennes de la rhizosphère dans des sols dits suppressifs. C'est un moyen de bioprotection très efficace qui se base sur l'ingénierie des microbiotes (Ryan *et al.*, 2009), dont l'efficacité a été démontrée dans la protection contre *Pythium spp.* (Manici *et al.*, 2005), *R. solani* (Ghini and Morandi, 2006) et *Fusarium spp.* (Borrero *et al.*, 2006). Aussi les plantes, y compris les plantes mycorhizotrophes, ont la capacité de modifier la composition de la communauté microbienne rhizosphérique, en sélectionnant des organismes antagonistes et en diminuant la population des pathogènes telluriques par différents mécanismes, y compris la compétition, l'exclusion de niche, le parasitisme, la production de composés antifongiques ou antibiotiques et la production d'enzymes lytiques (Berendsen *et al.*, 2012). Ainsi, des études ont montré que l'application d'exsudats racinaires de plantes mycorhizées diminuait la sporulation de Phytophtora ou la population de Fusarium dans la rhizosphère de plants mycorhizés de tomate (Azcón-Aguilar and Barea, 1997). Aussi, de fortes interactions existent entre les micro-organismes bénéfiques du sol comme les PGPRs (Plant Growth-Promoting Rhizobacteria) et les CMA. Les PGPRs faciliteraient l'établissement de la symbiose et optimiseraient son fonctionnement (Bora and Lokhandwala, 2016). Ces modifications d'exsudation racinaire pourraient également être à l'origine d'une plus forte concentration de champignons antagonistes dans la rhizosphère. Le développement d'antagonistes de phytopathogènes telluriques tels que Trichoderma n'impacte pas en effet le développement des CMA (Azcón-Aguilar and Barea, 1997).

b. L'inoculation par des racines mycorhizées : bioamplification

Le processus de bioamplification consiste en premier lieu à cultiver des plantes à fort potentiel de mycorhization (poireau, oignon, maïs, sorgho, avoine ...) et de les soumettre à un stress minéral pour amplifier la colonisation de leurs racines par les champignons mycorhiziens. Ces racines sont ensuite récoltées, broyées et conditionnées sous forme de poudres ou de granulés ou ajoutées directement au substrat des cultures (Ijdo *et al.*, 2011).

L'efficacité de différentes stratégies de mycorhization (inoculant commercial, bioprotection et bioamplification) a été très peu testé en maraîchage. On dénote une seule étude réalisées sur le modèle tomate (Chave, 2015) . Cette étude souligne de meilleurs taux de mycorhization, par rapport au témoin non mycorhisé ou au traitement avec l'inoculant commercial, pour les modalités de bioamplification avec des racines mycorhizées de cive (ou ciboule, *Allium fistulosum*, Amaryllidacées) et de bioprotection avec un semis de tomate en association avec la cive (35% et 20% de racines de tomate mycorhizées, respectivement).

Objectifs du stage

Face à une pression sociétale de plus en plus forte et à l'interdiction de certains produits de fumigation ou PPS et pour aider les maraîchers à protéger leurs cultures contre les pathogènes telluriques, le Ctifl Carquefou mise sur l'expérimentation pour trouver de nouvelles solutions de lutte basées sur l'utilisation de plantes allélopathiques, la mycorhization, le déploiement des préparations naturelles peu préoccupantes (PNPP), l'installation de plantes pièges et l'apport d'intrants suppressifs. Ces expérimentations s'inscrivent dans le cadre du projet **SUPERNOMA** : **SUPprimer les pathogènes En Repérant les NOUveautés en Maraîchage**. Ce projet, financé par la région Pays de la Loire et Interfel, est programmé sur une durée de 3 ans de janvier 2022 à décembre 2024. Il s'articule autour de 2 principales actions : **1/ L'identification et l'essai de plantes assainissantes (allélopathiques, biofumigantes et mycorhizotrophes)**. **2/ L'identification et l'essai d'intrants exogènes d'origine naturelle à effet biocide, répulsif et stimulateur de défense des plantes**.

Les objectifs de mon stage s'inscrivent dans l'action 1 du projet et consistent :

- 1) à réaliser une synthèse bibliographique sur les plantes à potentiel assainissant susceptible de protéger la culture de laitue contre les principaux bioagresseurs ligériens, *Rhizoctonia*, *Sclerotinia*, *Pythium*, *Fusarium* ...
- 2) tester en conditions contrôlées ces plantes en association ou en rotation avec la laitue, pour quantifier leur effet sur l'état sanitaire et sur le rendement de la laitue.

Le choix de la laitue se justifie de fait que c'est une culture à cycle court permettant ainsi de réaliser plusieurs séries d'essais. C'est aussi une culture sensible à une large gamme de pathogènes.

Tableau 1 : Liste des Pds citées en bibliographie et sélectionnées pour le screening des deux essais « plantes campagnes » et « bioamplification ». **A** : plantes allélopathiques ; **M** : plantes mycorhizotrophes ; **B** : Bioamplification ; (-) : Données indisponibles. (Source : Rania MISSAOUI)

Nom commun	Nom scientifique	Variété	Utilisation			Source
			A	M	B	
Ail	<i>Allium sativum</i>	Flavor	×			Singh <i>et al.</i> , 2001
Basilic	<i>Ocimum basilicum</i>	Genovese	×			Bais <i>et al.</i> , 2006
Blé	<i>Triticum aestivum</i>	-	×			
Brocoli	<i>Brassica oleracea</i>	Steel Succes	×			Gao <i>et al.</i> , 2020
Chénopode Blanche	<i>Chenopodium album</i>	Bon Henri	×			Javaid, Shoaib 2013
Cive	<i>Allium fistulosum</i>	Evegreen nebuca	×	×		Chave, 2015.
Herbe de bouc	<i>Ageratum conzyoides</i>	-	×			Xuan <i>et al.</i> , 2005
Luzerne	<i>Medicago sativa</i>	Flamande	×	×	×	Xuan <i>et al.</i> , 2005
Maïs	<i>Zea mais</i>	Molennon	×	×	×	Yang <i>et al.</i> , 2014
Moutarde brune	<i>Brassica juncea</i>	-	×			Larkin, Griffin 2007
Mizuna	<i>Brassica rapa japonica</i>	japonica	×			Larkin, Griffin 2007
Morelle de Balbis	<i>Solanum sisymbifolium</i>	lilacinum	×			
Oseille hybride	<i>Rumex scutatus hybride</i>	Oseille vierge	×			Heděnec <i>et al.</i> , 2014
Colza	<i>Brassica napus</i>	-	×			Fang <i>et al.</i> , 2016
Navet	<i>Brassica rapa</i>	White	×			Larkin, Griffin 2007
Roquette cultivée	<i>Eruca vesicaria</i>	-	×			Jin <i>et al.</i> , (2019)
Rose d'Inde	<i>Tagetes erecta</i>	Crackerjack	×			Hooks <i>et al.</i> , (2010)
Oignon	<i>Allium cepa</i>	Snowball	×	×	×	Fu <i>et al.</i> , 2015
Orge	<i>Hordeum vulgare</i>	-	×			Fu <i>et al.</i> , 2015
Sarrasin	<i>Fagopyrum esculentum</i>	SARRASIN	×			Abbasi <i>et al.</i> , 2019
Verge d'or	<i>Solidago canadensis</i>	Golden Baby	×			(Zhang <i>et al.</i> , 2011)
Crotalaire	<i>Crotalaria spectabilis</i>	-		×		Offroy Chave 2015
Haricot	<i>Phaseolus vulgaris</i>	Pongo		×		Kumar, Saxena 2017
Menthe poivrée	<i>Mentha piperata</i>	Menthe poivrée		×		Silveira <i>et al.</i> , 2006
Sétaire d'Italie	<i>Setaria italica</i>	-		×		Kumar, Saxena 2017
Pomme de terre	<i>Solanum tuberosum</i>	Alienor		×		Puri, Adholeya 2013
Pois chiche	<i>Cicer arietinum</i>	Twist		×		Kumar, Saxena 2017
Triticale	<i>Triticum aestivum</i>	-		×		Kumar, Saxena 2017
Avoine	<i>Avena sativa</i>	SAIA 6		×	×	Kumar, Saxena 2017
Sorgho	<i>Sorghum nigrum</i>	-		×	×	Kumar, Saxena 2017
Poireau	<i>Allium porrum</i>	Belton		×	×	Huang <i>et al.</i> , 2013
Patate douce	<i>Ipomoea batatas</i>	Evangeline			×	

Matériels et méthodes

1. Matériels

a. Substrat

Des pots (3,14x16,5 cm) sont remplis d'un mélange de 70% (v/v/v) sable, 20% terre, et 10% terreau (Inoculum). Le terreau est préalablement stérilisé à l'autoclave : 2 x 2 heures à 120°C, à 48h d'intervalle. Le sol est prélevé sur la parcelle 6 du Ctifl. Il s'agit d'un sol de texture sable limoneux et de pH égal à 8. La teneur en matière organique est de l'ordre de 18,4 g/kg. La teneur en phosphore soluble dans l'eau est égale à 24 mg/kg P₂O₅ et celle de phosphore assimilable est de l'ordre de 0,76 g/kg P₂O₅.

Un test Nitrate est réalisé avant la préparation du chaque mélange. Ce test permet de mesurer le taux d'azote nitrique (NO₃⁻) dans le sol à l'aide d'un réfractomètre nitrachek (lecteur optique) à bandelettes réactives. La teneur en azote du sol est un facteur important à prendre en considération par le fait qu'il influe le potentiel mycorhizogène du sol (**Annexe II**).

b. Matériel végétal

Culture de rente

Pour l'ensemble des essais réalisés, la culture de rente étudiée est la laitue (*Lactuca sativa* L., Astéracées), Type Beurre, variété « Dicata ». Cette variété peut être cultivée en fin de printemps, été et en automne. Elle est connue par sa forte résistance au Mildiou *Bremia Lactucae* et au puceron *Nasonovia Ribisnigri*. Elle est aussi partiellement résistante au Virus de la Mosaïque [7]. Les plants de laitue sont produits par la société René Briand (Saint-Julien-de-Concelles, France) et sont livrées sous forme de mottes de 4 cm, dans un substrat de type 50 % terreau / 50 % perlite (v/v), au stade BBCH17.

Plantes de services

Le criblage des plantes est réalisé en se basant sur différents critères. En effet, il est essentiel de vérifier le statut hôte/non hôte de la PdS et de s'assurer qu'elle n'héberge pas le pathogène à l'état latent et ne favorise pas sa multiplication. D'autre part, ces plantes doivent avoir une croissance rapide et un cycle court équivalent à celui de la culture de la laitue (entre 5 et 12 semaines). Aussi elles doivent être adaptées à la nature du climat et du sol ligérien. Finalement, il faut sélectionner des plantes qui ne rentrent pas en compétition avec la laitue pour l'eau et les éléments nutritifs.

Les plants proviennent en majorité de la pépinière René Briant. Pour les plantes dont nous n'avons pas trouvé de plants, ces derniers sont préparés sur le site du CTIFL à partir des semences. La majorité des graines sont issues de la ferme Sainte Marthe, de l'entreprise Promesse de fleurs ou du stock présent sur le site du CTIFL.

Les plantes que nous avons testées sont précisées dans le **Tableau 1**. Le choix des variétés est basé sur le conseil des firmes de biocontrôle et sur l'acclimatation avec les conditions pédoclimatiques ligériennes.

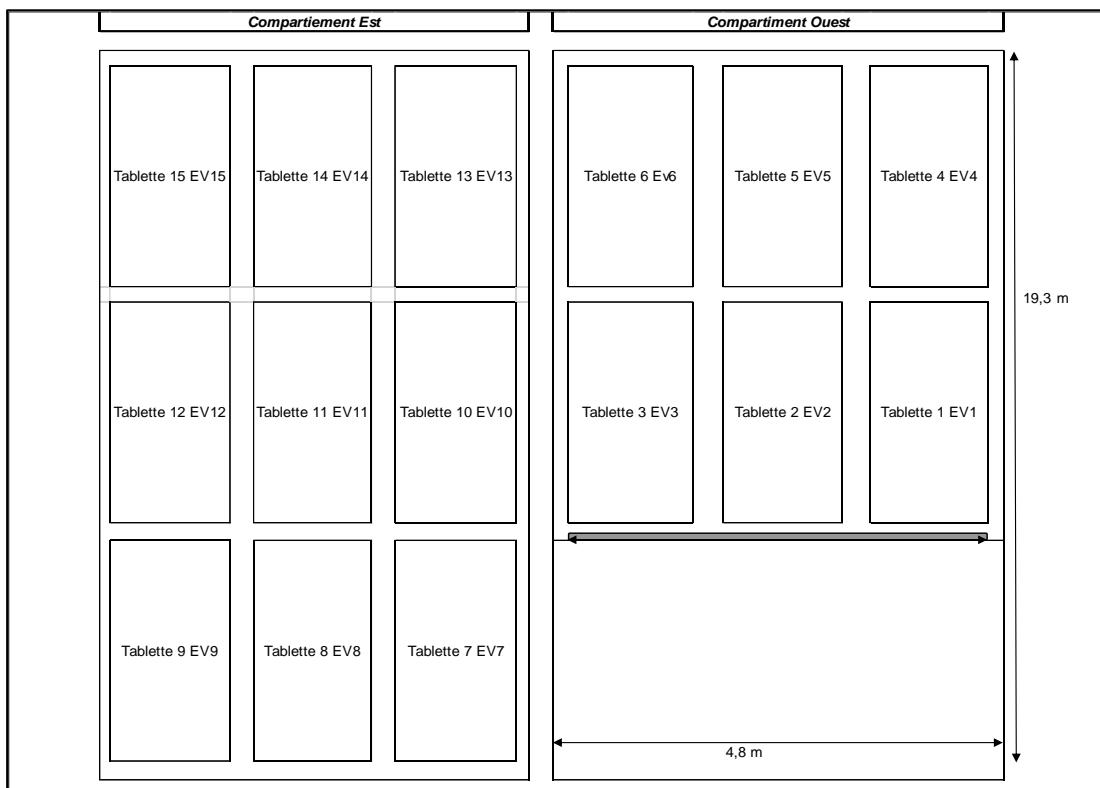


Figure 1 : Représentation schématique en vue de dessus de la serre à plants et de la position des tablettes de culture : Compartiment Est (à gauche) et compartiment Ouest (à droite).



Figure 2 : Vue d'ensemble du dispositif « **plante compagne** ». **A** : plantes de services plantées en même temps avec la laitue (association) ; **B** : plantes de services semées 4 semaines avant la plantation de la laitue (Rotation). (Source : Rania Missaoui).

c. Inoculum

Les différentes souches fongiques utilisées sont issues de la mycothèque du CTIFL de Carquefou (**Annexe III**). Elles ont été isolées entre 2015 et 2021 à partir de symptômes de cultures ou de sols des parcelles des maraîchers ligériens. Pour préparer l'inoculum des repiquages sur des milieux de cultures gélosés spécifiques (CMA (Corn Meal Agar) ou MEA (Malt-Agar), **Annexe III**) sont réalisées au minimum 6 semaines avant la mise en place de l'essai. Ensuite les boîtes sont incubées en chambre de culture à 20°C et à l'obscurité pendant 2 à 3 semaines. Une fois le mycélium développé sur la totalité de la boîte, ce dernier est découpé en explants de 7 mm de diamètre puis utilisé pour inoculer le terreau préalablement stérilisé. Les sacs de terreau sont incubés à 20 °C et à l'obscurité durant 1 à 2 semaines avant d'être mélangé avec le substrat (terre et sable). Un test de viabilité d'inoculum et d'absence de contamination est réalisé une semaine avant le début de l'essai.

2. Méthodes

2.1. Conditions de culture et caractéristiques de la serre à plants

L'ensemble des essais est conduit dans une serre vitrée, orientée Nord-Sud mesurant 19,3m de long sur 10m de large et équipée d'aérations latérales et de chéneaux de toits. La régulation thermique de la serre est programmée pour s'activer dès lors que la température est supérieure à 16°C. Pour des raisons de sécurité, elle est inopérante si la vitesse du vent dépasse les 50km/h. Cet abri est composé de 15 tablettes de culture et peut être modulable en deux compartiments de 92,64 m² chacun (Compartiment Est et Compartiment Ouest) (**Figure 1**). L'arrosage est assuré par goutte à goutte par apport de 180 ml d'eau de pluie répartis en 2 apports journaliers (10h00 et 14h00).

2.2. Dispositif expérimental

a. Protocole plante campagne

Deux modalités sont étudiées : la laitue est soit cultivée seule – Modalité témoin (**T**) soit la laitue est associée à une espèce de plante de service Pds - Modalité plante compagne (**Pc**).

Pour chaque modalité, des pots de 11 L (3,14 x 16,5 cm) sont remplis avec un ratio 10 :1 de substrat (terre et sable) et d'inoculum tel que décrit dans le paragraphe « substrat ». Les plantes sont disposées sur les tablettes de culture en blocs aléatoires par espèce. Chaque tablette contient 4 espèces. En gros, 17 espèces ont été testé avec 5 réplicas afin de limiter les biais expérimentaux ce qui correspond à 20 plantes par tablettes (**Figure 2**).

Tableau 2 : Densité de plantation et mode d'association pour l'essai « *plante campagne* ».

Plante de services	Densité	Mode de culture
Rose d'inde	2 plants	Association
Verge d'or	2 plants	Association
Basilic	3 plants	Association
Oseille	3 plants	Association
Herbe de bouc	3 plants	Association
Haricot	3 plants	Association
Pois chiche	5 plants	Association
Poireau	5 plants	Association
Morelle de balbis	3 plants	Association
Chénopode	3 plants	Association
Oignon	4 plants	Association
Menthe	2 plants	Association
Cive	4 plants	Association
Brocoli	3 plants	Rotation
Luzerne	30 kg/ha	Rotation
Avoine	35 kg/ha	Rotation
Sorgho	35 kg/ha	Rotation



Figure 3 : Vue d'ensemble du dispositif « *Bioamplification* ». A : phase de multiplication de l'inoculum ; B : phase de transfert. (Source : Rania Missaoui).

Pour la modalité Pc, les plants sont mis en coculture avec la laitue selon un des deux modes explicités ci-dessous :

- En même temps avec la laitue (association) : dans un même pot, un plant de laitue est placé au centre, entourée par les plantes compagnes. La densité de plantation est fournie dans le **Tableau 2**.
- Avant la plantation de laitue (Rotation) : les couverts (plantes de services) sont semés pour une période de 4 semaines. Après le semis, la partie aérienne des couverts est détruite et la laitue est plantée dans le sol contenant les racines de la culture précédente.

Les conditions climatiques s'opérant pendant chaque culture sont mesurées en continue afin de pouvoir évaluer l'impact de ces paramètres sur la comparaison des différents essais.

b. Protocole Bioamplification

L'objectif de cette expérience est d'améliorer la mycorhization de la laitue, en s'affranchissant de la présence d'une Pds pendant le cycle de culture de la laitue. Il s'agit du même dispositif expérimental que cité précédemment (Bloc aléatoire à 5 répétitions). Cependant, dans ce cas l'expérimentation est réalisée en deux phases :

- Phase 1 ou phase de multiplication de l'inoculum : Elle dure 4 semaines et consiste à cultiver des plantes à haut potentiel de mycorhization (plante donneuse= donor plant) dans un sol pauvre en nutriments (phosphore et azote) dans le but de stimuler l'activité des mycorhizes (**Figure 3, A**). Les plantes mises en culture sont présentées dans le **Tableau 1**.
- Phase 2 ou phase de transfert : A l'issu de la phase 1, les racines des plantes mycorhizotrophes sont prélevées aléatoirement, lavées afin d'évaluer leur taux de mycorhization. Une fois la mycorhization vérifiée, les racines les plus fines sont découpées et mélangées avec le substrat utilisé pour la mise en culture de la laitue. Il a été choisi une dose de 60 g de racines en se référant à la plus faible biomasse racinaire notée chez la luzerne. Cette phase peut durer de 3 à 4 semaines (**Figure 3, B**).

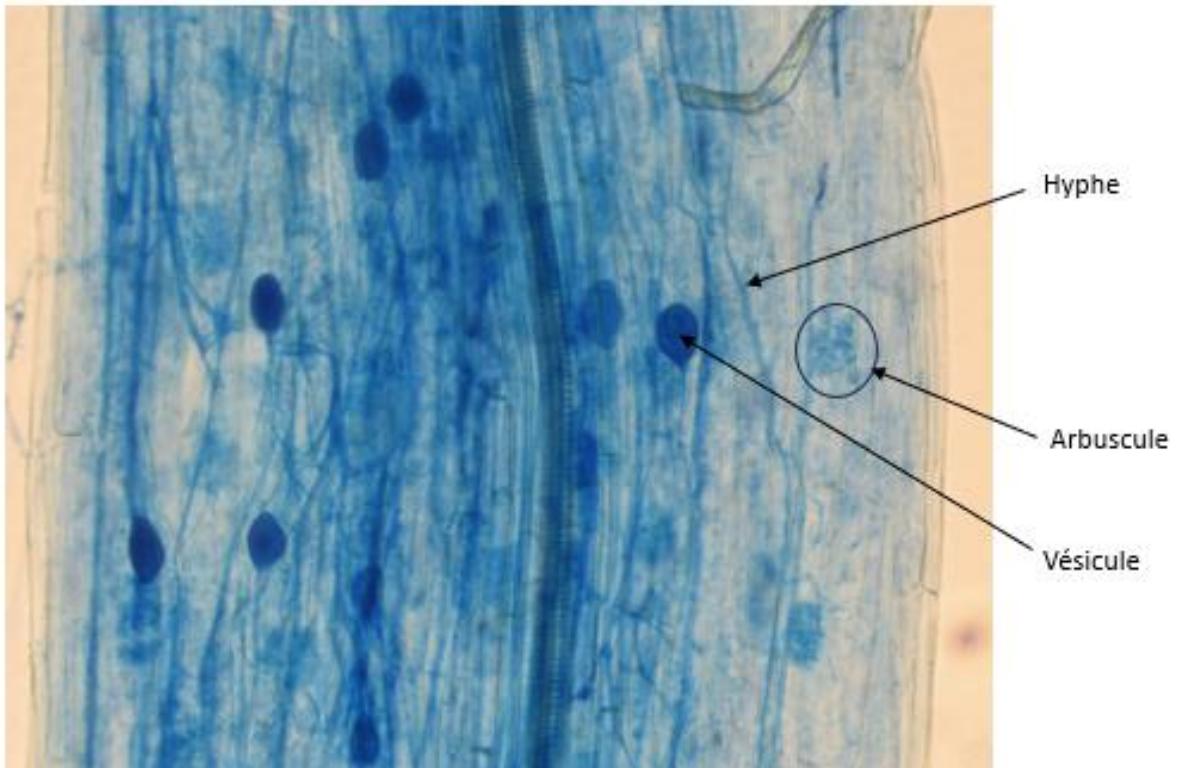


Figure 4 : Différentes structures des champignons mycorhiziens à arbuscules observées sur une racine de laitue associée au poireau. (Source : Rania MISSAOUI)

2.3. Variables mesurées

a. Mesure des pigments foliaires

La teneur en chlorophylles, en polyphénols (flavonoïdes et anthocyanes) ainsi que l'indice d'équilibre azoté (NBI) des laitues sont évalués à l'aide d'un capteur optique (Dualex®, FORCE-A). Cet outil permet une mesure instantanée et non-destructive de ces composées. Ce capteur permet de fournir une réponse linéaire proportionnelle à l'augmentation de la teneur en chlorophylles des feuilles.

Il permet le dosage simultané des chlorophylles et des flavonoïdes à une longueur d'onde égal à 710 nm, ce qui permet de générer par la suite le (NBI) (Cerovic *et al.*, 2012). Ces indices fournissent des informations sur la fitness et l'état physiologique de la plante. Ainsi, trois mesures sont réalisées sur chaque individu à partir de feuilles au même stade de développement et exposées à la même intensité lumineuse. Les mesures sont réalisées de manière régulière toutes les deux semaines.

b. Evaluation du taux de mycorhization de la laitue

Afin d'évaluer le taux de mycorhization, les racines secondaires de la laitue qui sont les plus fines sont découpées et lavées à l'eau de robinet. Ensuite, elles sont décolorées en les plaçant dans un bain marie durant 15 minutes à 90 °C et dans une solution d'hydroxyde de potassium (KOH 5%, p/v). Après les avoir rincées à l'eau clair, elles sont neutralisées durant une nuit dans de l'acide chlorhydrique (1%, v/v). La coloration au bleu trypan des structures fongiques a été effectuée en utilisant le protocole de Phillips et Hayman (1970). Ce colorant permet la visualisation des structures fongiques (hyphes intercellulaires, arbuscules et vésicules inter- et intracellulaires (**Figure 4**)). Les racines sont incubées à température ambiante dans une solution de bleu Trypan (1g de Bleu Trypan dans 100 ml de HCl (1%) pendant 4 heures puis rincées à l'eau osmosée au minimum 2 fois avant d'être stockées dans une solution de décoloration (50 ml HCl 1% v/v, 450 ml d'eau osmosée, 500 ml de glycérol) jusqu'à leur observation. Ensuite, les fragments de racines les plus fines sont alignés parallèlement au grand axe de la lame et observés au grossissement 200X. Ainsi, la fréquence de colonisation (F%), l'intensité de colonisation par des hyphes intraradiculaires (m%) et l'intensité de colonisation par des arbuscules (a%) sont déterminées au microscope photonique (OLYMPUS BX51, Grosseron SAS, France) à partir de quinze fragments racinaires de 1 cm de long, par modalité, en utilisant le protocole de quantification de Trouvelot (1986) et le logiciel MYCOCALC (**ANNEXE IV**).

c. Mesure de la biomasse fraîche

La récolte est réalisée lorsque la laitue atteint le stade BBCH46. Ainsi, les biomasses fraîches aérienne et racinaire sont pesées après rinçage des racines à l'eau.



Figure 5 : Echelle de notation des nécroses sur les feuilles de laitue (Source : Rania MISSAOUI).

d. Notation du pourcentage de nécrose

A la récolte, une notation des nécroses est réalisée à l'aide d'une échelle de classe allant de 0 à 4 (**Figure 5**). Cette échelle a été réalisée et discutée par l'ensemble des personnes de l'unité afin d'avoir une évaluation suffisamment objective des nécroses. Ensuite, l'indice de nécrose (IN) adapté à l'indice de pathogénicité (IP) est calculé selon la formule suivante :

$$IN = \frac{1*n \text{ classe 0} + 2*n \text{ classe 1} + 3*n \text{ classe 2} + 4*n \text{ classe 3} + 5*n \text{ classe 4}}{\text{nombre total des feuilles}} \text{ avec } n \text{ classe i représentant le}$$

nombre des feuilles appartenant à la classe i sur l'échelle de notation de nécrose.

e. Réalisation des isolements à partir des symptômes

Un isolement est réalisé à partir des symptômes pour identifier les phytopathogènes qui en sont à l'origine. Tout d'abord, les symptômes sont prélevés sur feuilles. Ensuite, chaque laitue est coupée en deux pour observer les éventuels symptômes dans le système vasculaire. Les échantillons présentant des symptômes sont placés en condition stérile, sous la hotte. Les zones en bordure des symptômes, à la limite des tissus sains, sont isolés. Les fragments ainsi obtenus sont trempés 20 secondes environ dans de l'éthanol à 70°C (v/v), puis rincés dans trois bains d'eau osmosée stérile pendant 1 minute chacun. À l'issue du dernier bain, les fragments sont séchés entre plusieurs épaisseurs de papier filtre stérile, puis découpés en fragments de taille inférieure à 1 mm. Cinq fragments sont déposés sur milieux gélosés.

Pour chaque symptôme, deux isolements sont effectués, l'un sur corn meal agar (CMA) et l'autre sur milieu Malt. Les boîtes sont ensuite para filmées et placées en chambre de culture à 20°C à l'obscurité. Le développement des champignons est ensuite surveillé quotidiennement et une fois le mycélium développé, des purifications de la souche de champignon sont réalisées par repiquage sur des nouveaux milieux de cultures : Malt + streptomycine et CMA + streptomycine. La streptomycine est utilisée pour éviter les éventuelles contaminations bactériennes. A ce stade, l'aspect des hyphes, la présence ou l'absence de septum, la nature de la production et les caractéristiques des fructifications et des spores sont visualisées sous microscope photonique (OLYMPUS BX51, Grosser SAS, France) pour permettre une identification des microorganismes. Un prélèvement sur lame et coloration au bleu lactique ou bleu coton (0,1 g de bleu de méthyle + 20 ml eau osmosée + 20 ml d'acide lactique (50% v/v)) est réalisé pour faciliter l'identification des spores.

2.4. Traitement statistique des données

Dans un premier temps, il a été nécessaire de déterminer si les données suivent une distribution normale. Pour cela, un test Shapiro-Wilk a été initialement utilisé. Les hypothèses suivantes ont été formulées :

- H0 : Il n'existe pas de différence significative entre la distribution observée des variables et la distribution théorique attendue sous l'hypothèse qu'elle suit une loi normale.
- H1 : Il existe une différence significative entre la distribution observée des variables et la distribution théorique attendue sous l'hypothèse qu'elle suit une loi normale.

Ensuite, l'homoscédasticité des variances a été étudié en utilisant le test de Bartlett. Lorsque ces deux conditions sont respectées les modalités sont comparées en utilisant un test ANOVA suivi d'un post-hoc de Tukey. Tandis qu'un test de Kruskal Wallis suivi d'un test post-hoc de Wilcoxon sont utilisées lors qu'une des deux conditions est non vérifiée. L'analyse statistique a été réalisée à l'aide du logiciel R Studio (v 4.2.1). Les valeurs exprimées en pourcentages sont transformées par la fonction arcsinus de la valeur avant analyse statistique. Les résultats sont considérés comme significatifs pour une valeur seuil de $\alpha = 0,05$.

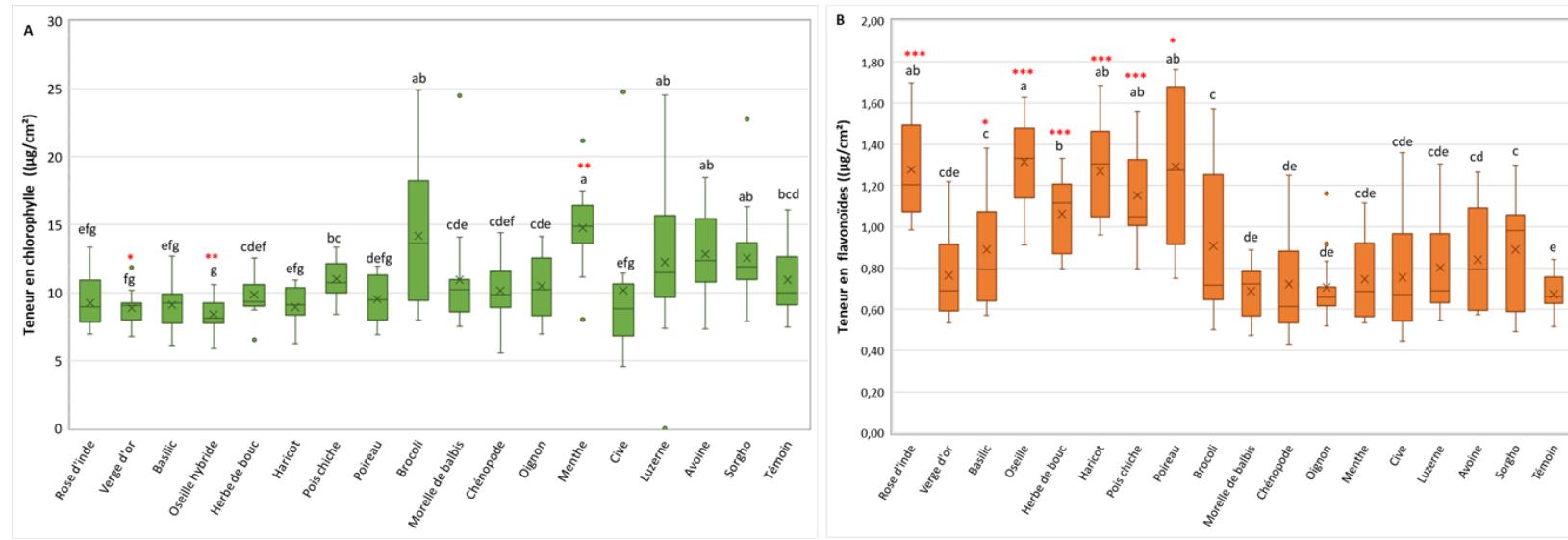


Figure 6 : Teneurs en chlorophylle (A) et en flavonoïdes (B) au stade récolte (BBCH46) chez la laitue en fonction des plantes compagnes. Les valeurs représentent les médianes \pm quartiles ($n=15$). La significativité est mise en évidence par des astérisques (Kruskall Wallis, P -value: 0,05-0,01(*); 0,01-0,001(**); <0,001(***)).

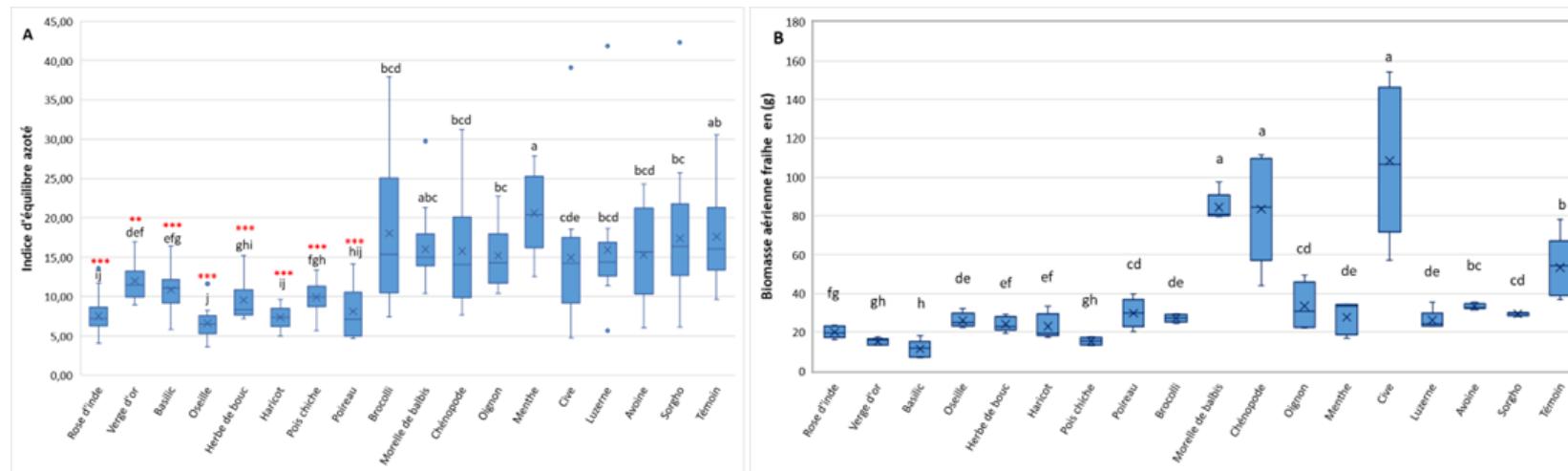


Figure 7 : Statut azotée (A) et Biomasse fraîche aérienne (B) de la laitue au stade récolte (BBCH46) en fonction des plantes compagnes. Les valeurs représentent les médianes \pm quartiles ($n=5$). Les valeurs significativement différentes du témoin sont présentées avec des lettres différentes (Kruskall Wallis, P -value < 0,05).

Résultats

I. Plantes compagnes : allélopathiques et mycorhizotrophes

1. Impact sur la fitness de la laitue

Les mesures effectuées grâce au Dualex au stade de récolte montrent que les teneurs en chlorophylles de la laitue cultivée en association avec le haricot ($8,94 \pm 0,63 \mu\text{g/cm}^2$), la rose d'Inde ($9,22 \pm 0,86 \mu\text{g/cm}^2$), le basilic ($9,10 \pm 0,80 \mu\text{g/cm}^2$), la cive ($10,17 \pm 2,50 \mu\text{g/cm}^2$), la verge d'or ($8,85 \pm 0,56 \mu\text{g/cm}^2$) et l'oseille ($8,39 \pm 0,52 \mu\text{g/cm}^2$) sont significativement inférieures à celle du témoin ($10,93 \pm 1,15 \mu\text{g/cm}^2$) (**Figure 6, A**). À l'inverse, l'association de la laitue avec la menthe augmente significativement la teneur en chlorophylles ($14,75 \pm 1,34 \mu\text{g/cm}^2$) d'un facteur de 1,4 par rapport au témoin.

D'autre part, les teneurs en flavonoides sont supérieures au témoin sur l'ensemble des modalités, sauf pour les laitues associées à la luzerne, cive, menthe, l'oignon, chénopode, morelle et verge d'or, qui présentent des valeurs statistiquement identiques au témoin (**Figure 6, B**). En effet, la teneur moyenne en flavonoides des laitues associées à la Rose d'Inde ($1,28 \pm 0,10 \mu\text{g/cm}^2$), oseille ($1,32 \pm 0,09 \mu\text{g/cm}^2$), herbe de bouc ($1,06 \pm 0,08 \mu\text{g/cm}^2$), haricot ($1,27 \pm 0,10 \mu\text{g/cm}^2$), pois chiche ($1,15 \pm 0,10 \mu\text{g/cm}^2$), basilic ($0,89 \pm 0,12 \mu\text{g/cm}^2$) et poireau ($1,29 \pm 0,16 \mu\text{g/cm}^2$) sont significativement supérieures (d'un facteur de 1,3 à 2,2) à celle du témoin ($0,67 \pm 0,05 \mu\text{g/cm}^2$).

Neufs mesures de l'indice d'équilibre azoté (NBI) sont très inférieurs au témoin ($17,59 \pm 2,64$) à savoir : la rose d'inde ($7,53 \pm 1,11$), la verge d'or ($12 \pm 1,01$), le basilic ($10,85 \pm 1,3$), l'oseille ($6,62 \pm 0,84$), l'herbe de bouc ($9,55 \pm 1,14$), le haricot ($7,34 \pm 0,66$), le pois chiche ($9,89 \pm 0,96$) et le poireau ($8,10 \pm 1,45$) (**Figure 7, A**). Les autres modalités ont un NBI équivalent à celui du témoin.

2. Impact sur le rendement de la laitue

La biomasse fraîche aérienne moyenne de la laitue est comprise entre $11,82 \pm 2,06 \text{ g}$ (basilic) et $108,44 \pm 17,46 \text{ g}$ (cive) (**Figure 7, B**). En outre, quasiment toutes modalités présentent des biomasses fraîches inférieures à celle de la modalité témoin, à l'exception des associations avec la morelle de balbis ($84,43 \pm 3,32 \text{ g}$), le chénopode ($83,60 \pm 12,44 \text{ g}$) et la cive ($108,44 \pm 17,46 \text{ g}$) dont les valeurs sont significativement supérieures (d'un facteur de 1,6 à 2) au témoin ($53,03 \pm 7,24 \text{ g}$). De même, l'ensemble des modalités présentent des biomasses racinaires inférieures au témoin ($22,17 \pm 1,5 \text{ g}$), qui peuvent aller jusqu'à - 43% pour la Rose d'inde ($12,57 \pm 0,72 \text{ g}$) et - 69% dans le cas de la laitue associé à du sorgho ($6,9 \pm 0,27 \text{ g}$) (**Figure 8.1**). Seuls le chénopode, l'herbe de bouc et l'oseille présentent des valeurs similaires au témoin, avec respectivement ($19,02 \pm 1,08 \text{ g}$), ($21,22 \pm 0,5 \text{ g}$) et ($18,23 \pm 0,6 \text{ g}$).

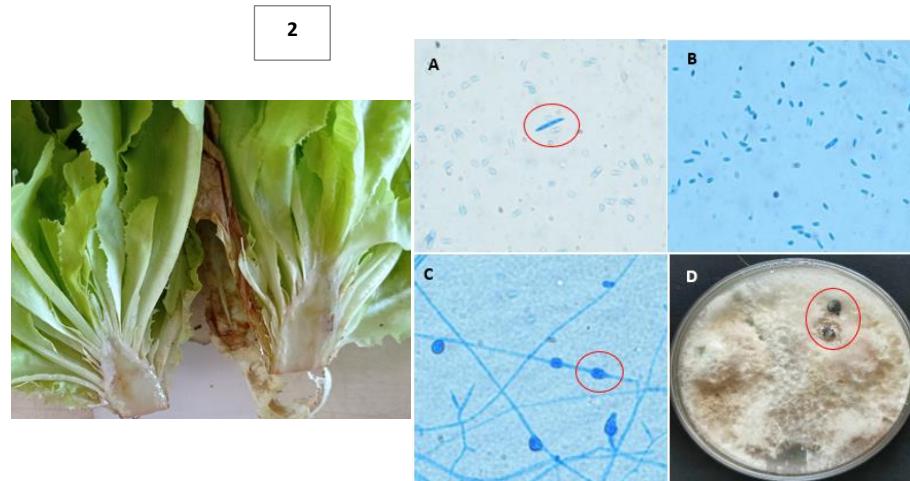
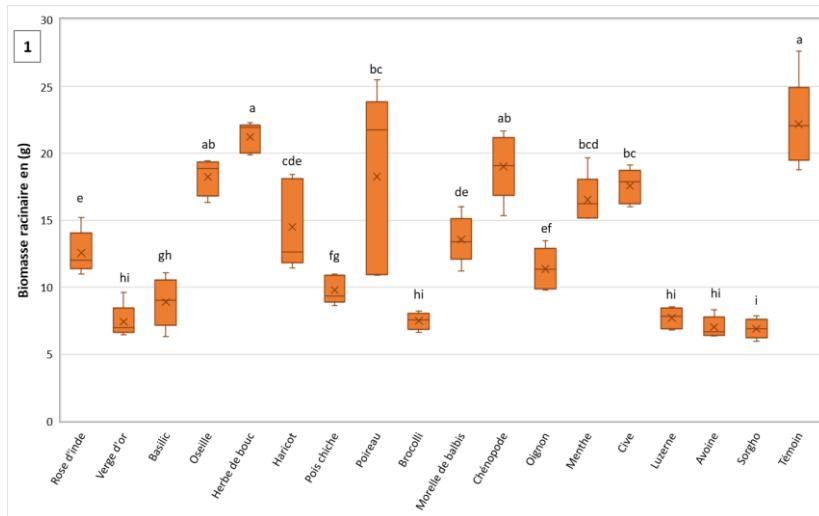


Figure 8.1 : Biomasse fraîche racinaire de la laitue au stade récolte (BBCH46) en fonction des plantes compagnes. Les valeurs représentent les médianes \pm quartiles ($n=5$). Les valeurs significativement différentes du témoin sont présentées avec des lettres différentes (Kruskall Wallis, P -value $< 0,05$) ; Figure 8.2 : Symptômes de brunissement des vaisseaux (à gauche), morphologie du mycélium et caractéristiques des spores de *Fusarium oxysporum* isolés à partir du collet de laitue lors de l'essai « plantes compagnes ». A : macroconidies ; B : microconidies ; C : Chlamydospores ; D : Mycélium et Sclérotes de *F. oxysporum* (Source : Rania MISSAOUI)

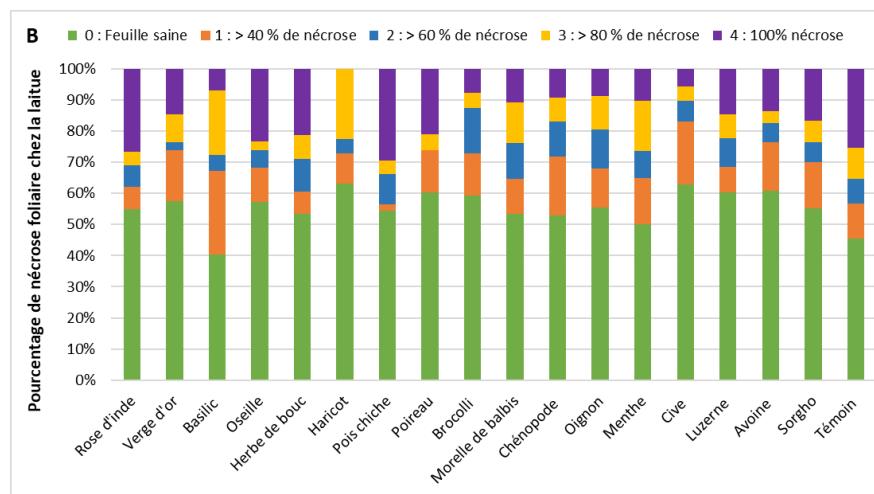
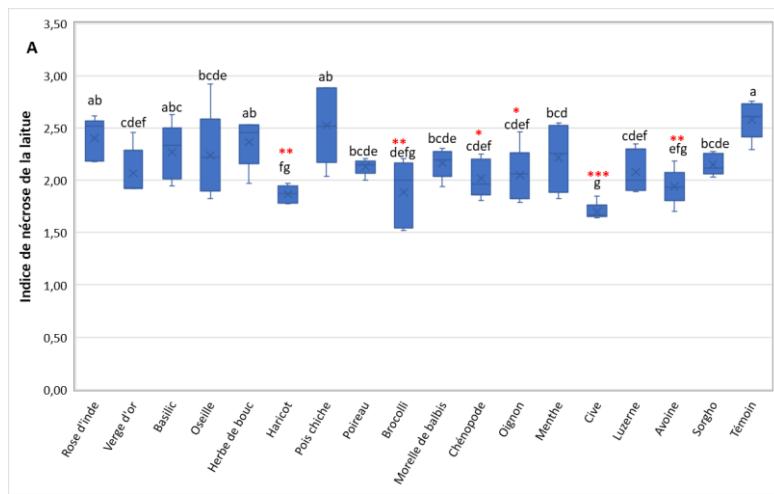


Figure 9 : Indice de nécrose (A) chez la laitue au stade récolte (BBCH46) en fonction des plantes compagnes. Les valeurs représentent les médianes \pm quartiles ($n=5$). Les valeurs significativement différentes du témoin sont présentées par des lettres différentes (Kruskall Wallis, P -value $< 0,05$). (B) : Classes de nécrose foliaire (en pourcentage) chez la laitue au stade récolte en fonction des plantes compagnes. Les valeurs représentent les moyennes ($n=5$).

3. Impact sur la santé de la laitue

L'observation en coupe longitudinale des collets des plants témoins révèlent des symptômes bruns rouges au niveau des vaisseaux conducteurs. La réalisation d'isolesments microbiologiques à partir des symptômes prélevés sur la laitue montre la présence d'un mycélium blanc rosée et de sclérotes (**Figure 8.2**). L'observation microscopique du mycélium met en évidence la présence de trois types de spores : (i) Macrospores ou macroconoides à 3 cloisons (longueur de 13-15 μm), (ii) microspores ou microconoides ellipsoïdales (longueur de 4,5-5,5 μm) ; et (iii) chlamydospores. Les informations fournies par l'observation microscopique des spores laisse supposer qu'il s'agit d'un *Fusarium oxysporum*.

L'étude des indices de nécrose montre que le témoin est une des modalités la plus attaquée ($2,58 \pm 0,08$), avec une dominance de classe 0 (45,75%) suivie par la classe 4 (25,28%). Le pois chiche, l'herbe de bouc, le basilic et la rose d'Inde présentent des indices de nécrose similaires à celui de témoin (**Figure 9, A**). Les autres modalités présentent des indices de nécroses inférieurs à celui du témoin. En outre, l'haricot ($1,86 \pm 0,03$), la brocolli ($1,88 \pm 0,14$), le chénopode ($2,02 \pm 0,08$), l'oignon ($2,05 \pm 0,11$), la cive ($1,7 \pm 0,03$) et l'avoine ($1,94 \pm 0,07$) ont une tendance à diminuer significativement cet indice en présentant une dominance pour la classe 0 suivie par la classe 1 (**Figure 9, B**).

Tableau 3 : Pourcentage de mycorhization (fréquence, intensité et teneur en arbuscules) chez la laitue associée à différentes plantes compagnes. Les valeurs représentent la moyenne \pm erreur standard ($n=3$). Les valeurs significativement différentes du témoin sont présentées par des lettres différentes (Kruskall Wallis, P -value $< 0,05$). En rouge : les valeurs significativement différentes au témoin ; En vert : valeurs similaires au témoin.

Mycorhization en %	Fréquence de colonisation (F%)	Intensité de colonisation par les hyphes (m%)	Intensité de colonisation par les arbuscules (a%)
Poireau	96,875 \pm 3,13 ^a	36,6 \pm 4,80% ^{ab}	34,26 \pm 10,26% ^{abc}
Rose d'inde	73,335 \pm 6,67 ^{ab}	34,01 \pm 8,09% ^{abc}	29,8 \pm 6,30% ^{abcde}
Menthe	60 \pm 13,33 ^{abc}	7,26 \pm 1,56% ^{defg}	49,485 \pm 9,49% ^a
Luzerne	56,66 \pm 3,34 ^{abc}	29,15 \pm 15,41% ^{abcd}	46,67 \pm 43,23% ^{abcd}
Verge d'or	46,16 \pm 2,41 ^{abc}	12,47 \pm 2,62% ^{cdefg}	13,77 \pm 9,42% ^{bcdefg}
Haricot	58,54 \pm 14,79 ^{abc}	43,94 \pm 7,51% ^a	52,32 \pm 10,62% ^a
Avoine	54,83 \pm 1,50 ^{abc}	31,94 \pm 18,06% ^{abcd}	32,14 \pm 1,64% ^{abcd}
Herbe de bouc	62,08 \pm 24,59 ^{abc}	29,10 \pm 6,28% ^{abcd}	28,85 \pm 5,82% ^{abcde}
Oignon	36,67 \pm 8,00 ^{abc}	8,85 \pm 2,35% ^{defg}	2,27 \pm 2,28% ^{efg}
Oseille	50 \pm 30,00% ^{bcd}	6,62 \pm 2,96% ^{defg}	20,39 \pm 11,43% ^{abcdefg}
Cive	46,66 \pm 6,66% ^{bcd}	15,25 \pm 12,25% ^{abcdef}	39,18 \pm 3,04% ^{ab}
Brocoli	43,33 \pm 3,34% ^{bcd}	19,43 \pm 18,43% ^{acdef}	27,12 \pm 22,13% ^{abcde}
Pois chiche	46,66 \pm 6,66% ^{cde}	6,5 \pm 5,50% ^{fg}	11,5 \pm 2,50% ^{abcdefg}
Morelle de balbis	36,66 \pm 3,34% ^{cde}	3,46 \pm 0,87% ^{fg}	5,77 \pm 1,92% ^{cdefg}
Sorgho	22,5 \pm 2,50% ^{de}	9,16 \pm 4,17% ^{defg}	3,75 \pm 3,75% ^{defg}
Basilic	16,66 \pm 3,33% ^{de}	17,5 \pm 12,50% ^{abcdef}	15 \pm 15,00% ^{cdefg}
Chénopode	8,33 \pm 1,67% ^e	5,75 \pm 4,75% ^{efg}	0,24 \pm 0,24% ^g
Témoin	17,90 \pm 2,91% ^e	11,11 \pm 0,28% ^g	17,39 \pm 2,07% ^{fg}

4. Impact sur la colonisation racinaire de la laitue par les mycorhizes

Les fréquences de mycorhization (F%) des racines de l'ensemble des modalités associées sont supérieures à celle de témoin (**Tableau 3**). Les valeurs de F% varient entre $43,33 \pm 3,34$ % chez la laitue associée au brocoli à $96,87 \pm 3,13$ % pour l'association laitue-poireau, contre seulement $17,9 \pm 2,91$ % pour la laitue cultivée seule. Les laitues associées avec le pois chiche, morelle de balbis, sorgho, basilic et chénopode ne présentent pas de différences avec le témoin.

D'autre part, une différence significative de l'intensité de colonisation par les hyphes intraradiculaires (m%) est observée entre les différentes modalités et le témoin dans le cas des associations avec l'haricot ($43,94 \pm 7,51$ %), poireau ($36,6 \pm 4,80$ %), rose d'Inde ($34,01 \pm 8,09$ %), avoine ($31,94 \pm 18,06$ %), luzerne ($29,15 \pm 15,41$ %), herbe de bouc ($29,10 \pm 6,28$ %), brocoli ($19,43 \pm 18,43$ %), basilic ($17,5 \pm 12,50$) et cive ($15,25 \pm 12,25$ %). Les autres modalités présentent des valeurs qui sont pas statistiquement différentes du témoin. L'intensité de colonisation des racines de laitue par des arbuscules de CMA est significativement supérieure dans la modalité « menthe » à celle du témoin » ($49,485 \pm 9,49$ %).

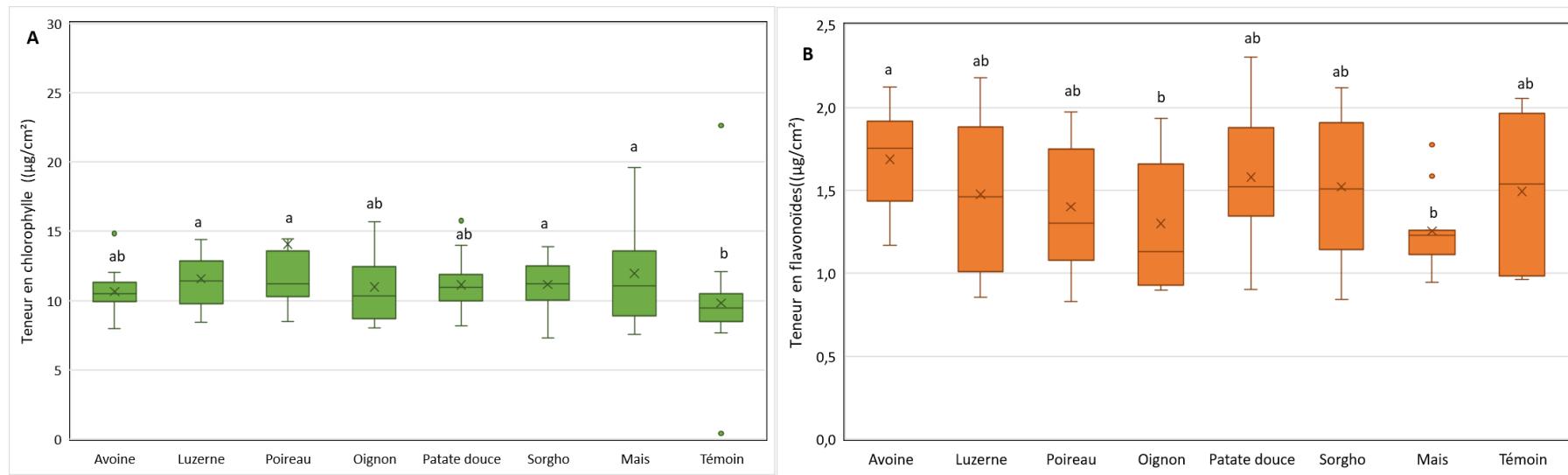


Figure 10 : Teneurs en chlorophylles (A) et en flavonoïdes (B) des feuilles de laitue au stade récolte (BBCH46) en fonction des modalités de l'essai « Bioamplification ». Les valeurs représentent les médianes \pm quartiles ($n=15$). Les valeurs significativement différentes du témoin sont présentées avec des lettres différentes (Kruskall Wallis, P -value $< 0,05$).

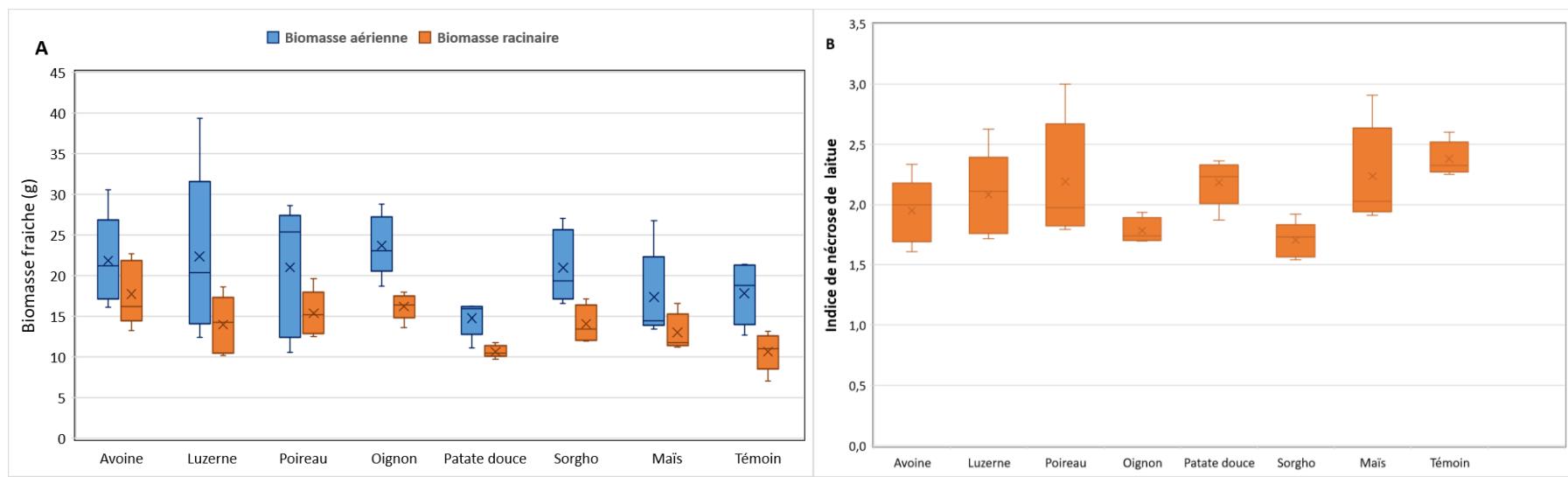


Figure 11 : Biomasses fraîches (A) et indice de nécrose (B) de la laitue au stade récolte (BBCH46) en fonction des différentes modalités de l'essai « Bioamplification ». Les valeurs représentent les médianes \pm quartiles ($n=5$). Les valeurs significativement différentes du témoin sont mises en évidence par des lettres différentes (Kruskall Wallis, P -value $< 0,05$).

II. Plantes bioamplifiactrices des mycorhizes

1. Impact sur la fitness et la productivité de la laitue

Les teneurs en chlorophylles des laitues témoins ($9,83 \pm 1,98 \mu\text{g/cm}^2$) sont significativement inférieures aux modalités d'inoculation du sol avec les racines mycorhizées de poireau ($14,06 \pm 4,48 \mu\text{g/cm}^2$), maïs ($11,96 \pm 1,67 \mu\text{g/cm}^2$), luzerne ($11,58 \pm 0,85 \mu\text{g/cm}^2$) et sorgho ($11,15 \pm 0,77 \mu\text{g/cm}^2$) (**Figure 10, A**). Les différences sont non significatives dans le cas des inoculations avec les racines mycorhizées des autres espèces testées.

La teneur en flavinoïdes des laitues varie entre $1,25 \pm 0,10 \mu\text{g/cm}^2$ (maïs) et $1,96 \pm 0,14 \mu\text{g/cm}^2$ (avoine) sans qu'aucune valeurs ne soient différentes statistiquement du témoin ($1,49 \pm 0,14 \mu\text{g/cm}^2$) (**Figure 10, B**). Similairement, les valeurs de NBI sont identiques statistiquement entre toutes les modalités (données non présentées).

L'analyse des biomasses fraîches aérienne montre qu'il n'existe pas de différences significatives entre les laitues inoculées avec les racines des plantes bio amplificatrices de mycorhizes et les laitues non inoculées (**Figure 11, A**). A l'inverse, les laitues cultivées dans des sols inoculés avec les racines mycorhizées d'avoine, poireau, oignon et sorgho une meilleure biomasse racinaire, avec respectivement : $17,74 \pm 1,75 \text{ g}$; $15,38 \pm 1,27 \text{ g}$; $16,20 \pm 0,72 \text{ g}$; $14,08 \pm 1,02 \text{ g}$ contre seulement $10,66 \pm 1,02 \text{ g}$ chez le témoin. Les modalités luzerne, patate douce et maïs ont des valeurs similaires au témoin (**Figure 11, A**).

2. Impact sur la santé de la laitue

L'analyse de la **Figure 11, B** montre que les indices de nécrose sont compris entre $2,38 \pm 0,19$ (témoin) et $1,71 \pm 0,07$ (Sorgho). Les laitues cultivées dans des sols inoculés avec les racines d'avoine, d'oignon et de sorgho présentent des indices de nécrose significativement inférieurs à celui de témoin, avec des diminutions comprises entre -18% (avoine) et -28% (sorgho).

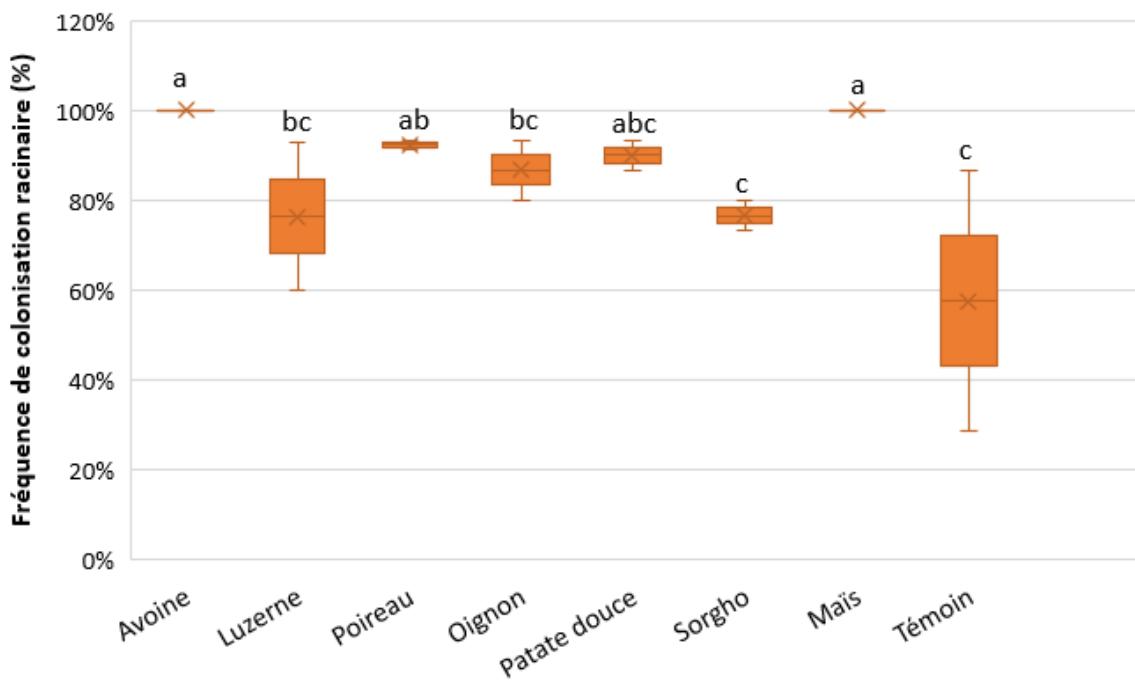


Figure 12 : Fréquence de colonisation racinaire (F%) des différentes modalités de l'essai « Bioamplification ». Les valeurs représentent les médianes \pm quartiles ($n=5$). Les valeurs significativement différentes du témoin sont présentées par des lettres différentes (Kruskall Wallis, P -value $< 0,05$).

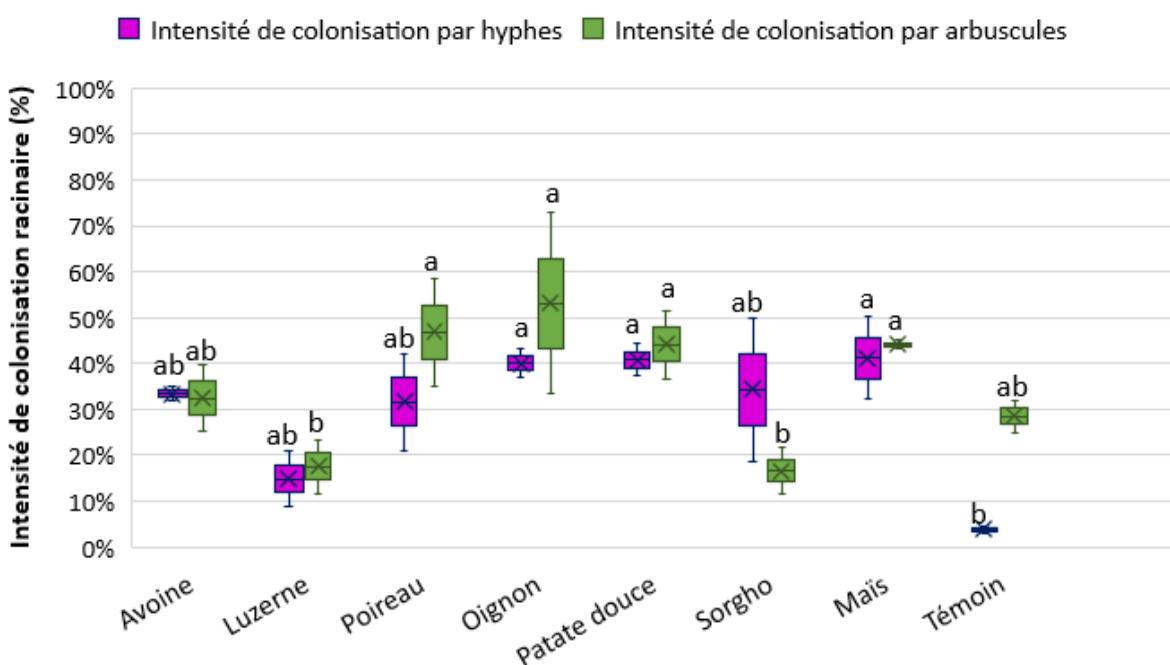


Figure 13 : Intensité de colonisation racinaire par des hyphes intraradiculaires (m%) et des arbuscules (a%) des différentes modalités de l'essai « Bioamplification ». Les valeurs représentent les médianes \pm quartiles ($n=5$). Les valeurs significativement différentes du témoin sont présentées par des lettres différentes (ANOVA - test de Tukey, P -value $< 0,05$).

3. Impact sur la colonisation racinaire de la laitue

L'inoculation du sol par des fragments racinaires d'avoine, de maïs et de poireaux augmente significativement la fréquence de colonisation racinaire de la laitue (**Figure 12**). La fréquence de colonisation (F%) atteint son maximum (100%) avec le maïs et l'avoine, 92% pour le poireau et seulement $57 \pm 29,05\%$ pour le témoin.

Les intensités de colonisation hyphale (m%) et arbusculaire (a%) sont différentes entre les modalités (**Figure 13**). En effet, les plants de laitue cultivées dans des sols contenant des racines d'oignon, de patate douce et de maïs présentent des m% les plus élevées, avec des valeurs qui atteignent $41,23 \pm 8,90\%$ dans le cas de racines de maïs. D'autre part, a% en arbuscules n'est pas différente entre les modalités.

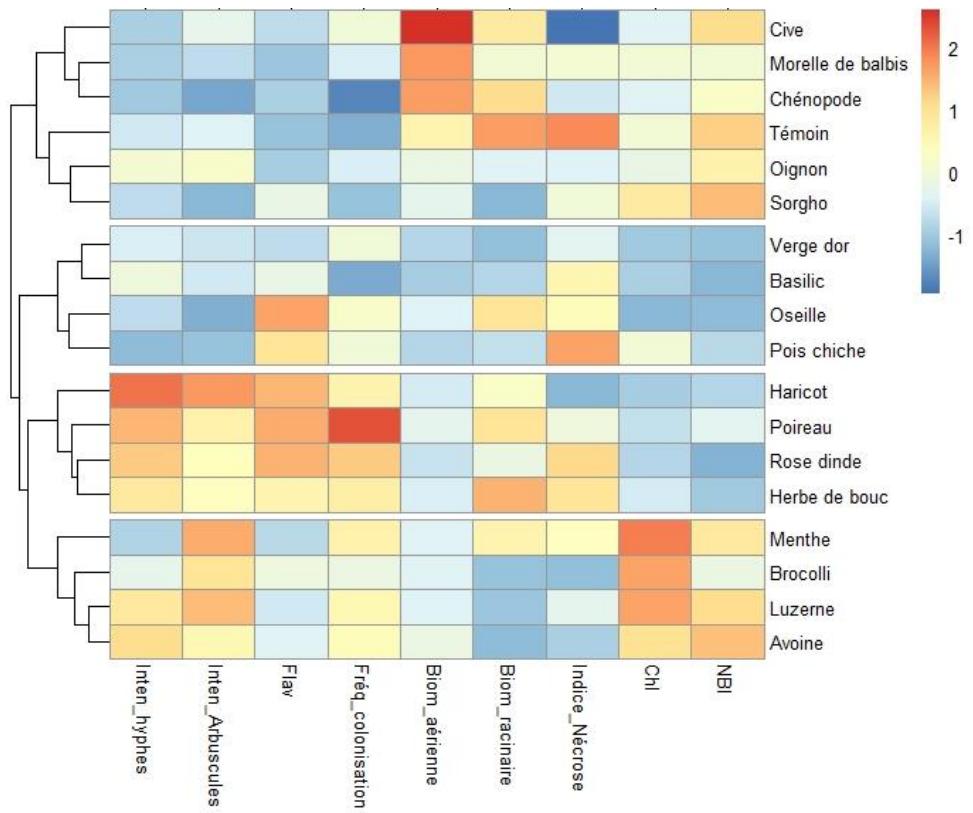


Figure 14 : Heatmap récapitulatif représentant la variation de l'ensemble de paramètres de suivi en fonction de différentes modalités d'association pour l'essai « plante campagne ».

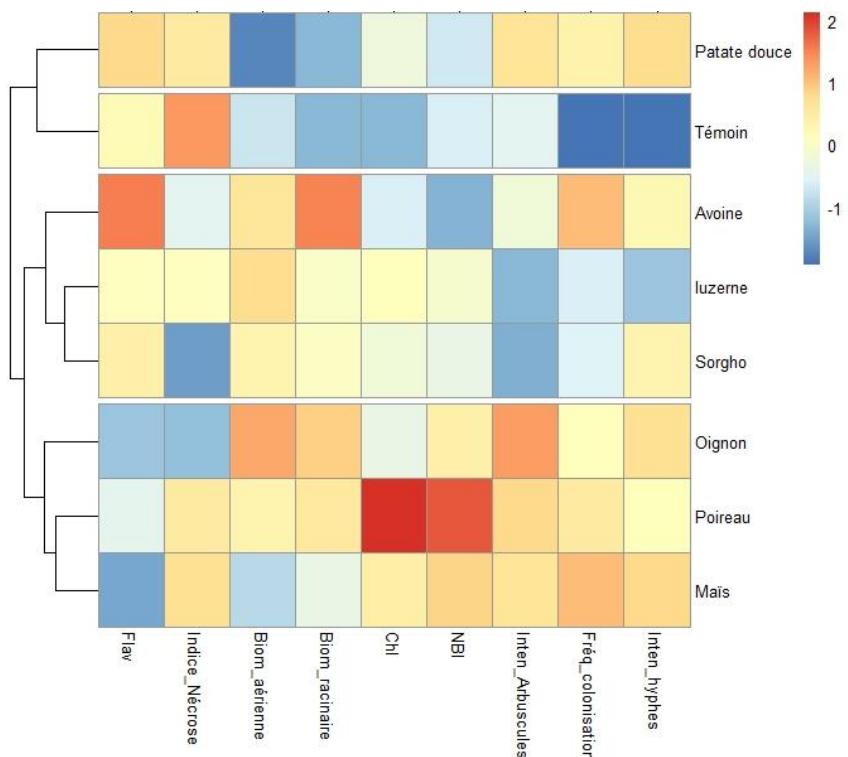


Figure 15 : Heatmap récapitulatif représentant la variation de l'ensemble de paramètres de suivi en fonction de différentes modalités d'inoculation pour l'essai « bioamplification »

Discussion

1. Validation des conditions d'expérimentations

Cette partie discute les résultats de la sélection de PdS protégeant la laitue contre les agents pathogènes du sol. Pour réussir les criblages, il était impératif de travailler sur des plantes atteintes de maladies. Pour cela, des inoculations artificielles par un consortium d'agents pathogènes ont été réalisées. Faute de place et de main d'œuvre, il n'a pas été possible de réaliser des séries de tests « non contaminées ». La virulence des agents pathogènes a été évalué indirectement. Les biomasses des laitues obtenues ont été comparées à des valeurs de référence obtenues après plusieurs années d'expérience. Les biomasses de laitue obtenues après contamination du sol sont de $37,36 \pm 3,69$ g. Dans un précédent essai avec des laitues « contaminées » ou « non contaminées » de biomasse de 29,84 g dans le premier cas et de 155 g dans le second avaient été obtenues (Beaubois, 2022).

La vérification de la bonne installation de l'inoculum est également faite par la recherche de symptômes sur les plantes, suivie de leur isolement qui permet de vérifier la présence d'agents pathogènes. Des symptômes de nécrose ont été décelés dans les essais en association directe et indirecte. Ainsi, seule la présence de *Fusarium sp.* a été détectée dans les essais mis en place en interaction directe. Des conditions climatiques défavorables peuvent engendrer une mauvaise installation d'une partie du consortium de champignons dans le sol. Le suivi du climat de la serre (Compartiment Est) pendant l'essai montre une température moyenne de 24,78°C et une humidité relative de 83,55%. Ces conditions semblent défavorables au développement de *Sclerotinia minor* qui exige à la fois une température de 23 à 27°C et 92 % d'humidité relative pour la germination des spores (ephytia). Pour *Botrytis cinerea*, l'infection est favorisée par une température entre 16 et 25 °C et exige une humidité relative voisine de 90-95 % pendant au moins 6 heures consécutives (ephytia). La validité des essais semblent donc en partie validée (poids et isolement d'une partie du consortium fongique) mais des essais complémentaires seront à réaliser pour confirmer les résultats obtenus.

2. Plantes de services d'intérêt

L'objectif du stage était de trouver des PdS capables de protéger la laitue contre un consortium d'agents pathogènes telluriques. Les PdS ont été utilisées en association directe (simultanée dans le temps = plantes compagnes) ou indirecte (fragments racinaire mycorhizées). Les résultats des critères de sélection des PdS sont résumés au travers de deux cartes de couleurs présenté en (Figure 14Figure 15). Sept espèces se sont révélées comme de bonnes candidates à une utilisation en protection contre les agents pathogènes de la laitue : La cive, la morelle de balbis, le chénopode, l'avoine, le sorgho et l'oignon.

Associés directement avec la laitue, la cive, la morelle de balbis, le chénopode et l'avoine permettent de diminuer les indices de nécrose. En terme de biomasse fraîche aérienne, les associations avec la morelle de balbis, le chénopode et la cive présentent des valeurs nettement supérieures à celle du témoin. Il est démontré dans la littérature que les extraits foliaires de chénopode permet de supprimer la croissance mycélienne de *Macrophomina phaseolina*, un champignon tellurique très polyphage (Javaid and Amin, 2009). Aussi, les feuilles et les racines de la ciboulette chinoise contiennent des composés volatiles caractérisés par une forte activité antimicrobienne contre *F. oxysporum* (Zhang et al., 2013).

Lors de l'étude des associations indirectes, les teneurs en chlorophylles de toutes les laitues inoculées avec des racines mycorhizées sont significativement supérieures à celles des laitues témoins. Cependant seules les associations indirectes avec de l'avoine, du sorgho et de l'oignon ont permis à la fois de promouvoir/maintenir la productivité des laitues et la protection contre les agents pathogènes.

3. Mécanismes d'action potentiel des plantes de services d'intérêt

L'absence de symptômes des maladies et la diminution de l'indice de nécrose dans les essais, et plus précisément dans les modalités d'association directe avec les plantes compagnes, pourraient être attribuées à plusieurs facteurs interdépendants qui convergent pour renforcer la défense des plantes aux pathogènes : (a) la modification du rhizo-microbiome, et (b) la production de métabolites secondaires biostimulants et/ou biocides.

a. La modification du rhizo-microbiome

L'exsudation racinaire peut permettre de recruter des microrganismes pour le développement et la protection des cultures (Rahmann et al., 2018). La sécretion de flavonoïdes peut attirer les rhizobia et ainsi indirectement aider à la nutrition azotée de la plante. La sécretion d'acides organiques (malate, fumarate) ou de stricgolactone peut contribuer à augmenter l'abondance et la diversité en CMA ou en *Pseudomonas* sp. pouvant aider à la fois à la solubilisation des éléments insolubles et la protection contre les agents pathogènes (Syed Ab Rahman et al., 2018). L'association de une à plusieurs espèces végétales ensemble peut amplifier ces phénomènes et permettre une amélioration de la protection contre les stress biotiques et abiotiques des plantes. De nombreuses études mettent en évidence que l'association d'espèces végétales à incidence sur la composition des communautés microbiennes rhizosphériques, que ce soit en terme de diversité ou d'abondance. Ainsi, les recherches attendues par (Abdullahi and Lihan, 2014) ont révélé que l'oignon favorisait la prolifération de diverses espèces de CMA, notamment *Glomus mosseae* et *Glomus geosporum*. Tandis que la cive stimule les micro-organismes bénéfiques du sol et plus précisément favorise la symbiose mycorhizienne (Chave, 2015). Cette dernière apporte des avantages en termes de nutrition pour la culture partenaire.

L'évaluation de la fréquence de mycorhization (F%) des racines notre essai montre que 12 des associations testées présentent des F% plus élevées que le témoin, avec la meilleure performance constatée dans l'association laitue-poireau. Hage-Ahmed *et al.*, (2013) ont démontré que l'association du poireau avec la tomate entraîne une augmentation de 20% de la colonisation mycorhizienne par rapport à la tomate seule. Plus particulièrement, l'association de la laitue avec le chénopode, l'oignon, la cive et l'avoine induisent une colonisation racinaire mycorhizienne supérieure à celle du témoin et une diminution significative de l'indice de nécrose de la laitue. L'étude approfondie des résultats des modalités avoine ; à la fois ; dans les essais associations directes (plante entière vivante) et indirectes (fragments racinaires) mettent en évidence une diminution de l'indice de nécrose en parallèle d'une augmentation de F% des racines par les CMA. Ces résultats suggèrent que les CMA pourraient avoir joué un rôle positif dans la réduction des dommages (Jeffries et Barea, 2001). De nombreux travaux ont mis en évidence que la mycorhization peut protéger directement ou indirectement les cultures contre les agents pathogènes (Azcón-Aguilar et Barea, 1997). Directement, la présence de mycorhizes dans la racine joue un rôle de barrière physique pour les agents pathogènes telluriques : là où les structures mycorhizienves sont présentes, les structures pathogènes ne peuvent pas s'installer (Ryan *et al.*, 2009). Indirectement, les CMA sécrètent des molécules antibiotiques et des molécules chélatantes engendrant des carences nutritionnelles ou des phénomènes d'antibioses pour les agents pathogènes. De plus, ils peuvent améliorer la santé et le développement de la plante via une amélioration de la nutrition hydrique et minérale.

Cependant, l'intensité de la colonisation racinaire ne semblent pas être directement corrélée au niveau de réponse biocontrôle du moins pour toutes les modalités. En effet, des symptômes de brunissement vasculaire sont révélés sur les laitues associées avec le haricot malgré une forte intensité de colonisation par les CMA. Ces constatations peuvent être confirmées par Hage-Ahmed *et al.*, (2013) qui ont noté une diminution de l'incidence de la maladie causée par *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* dans le cas des tomates associées au basilic malgré une colonisation mycorhizienne relativement faible. En outre, dans ces mêmes travaux malgré une colonisation très significative de la tomate dans l'association tomate-poireau, les symptômes de la fusariose ont persisté. Ces travaux mettent en évidence que l'effet biocontrôle est prioritairement modulé par la diversité d'espèces colonisatrices, toutes n'ont pas une activité biocontrôle plutôt que par l'intensité de la colonisation.

b. La production de métabolites secondaires biostimulants et/ou biocides

Les associations laitue (L) – morelle de balbis, L – chénopode, L - oignon et L – sorgho mettent en évidence une diminution des symptômes de nécroses sans modification de la fréquence de colonisation racinaire. Ces résultats laissent supposer que (i) ces espèces ont un impact en modifiant les communautés autres que mycorhiziennes ou (ii) que les plantes modifient chimiquement ou physiquement l'environnement rhizosphérique avec pour conséquence une diminution de la pression en maladies.

Les plantes excrètent des métabolites toxiques au niveau des racines. Ils ont la capacité de supprimer la croissance des pathogènes du sol en entravant leur développement ou en perturbant leurs cycles de vie. Ainsi les lixiviats aqueux des racines de la ciboulette chinoise (*Allium ramosum*, Amaryllidacées) contiennent des composés volatiles (2-méthyl-2-penténal, disulfure de diméthyle trisulfure de diméthyle) qui ont montré une forte activité antimicrobienne sur *F. oxysporum* f. sp. cubensis race 4, l'agent causal de la maladie de Panama chez le bananier (Zhang et al., 2013). D'autre part, lors d'une association pastèque-riz l'acide p-coumaric synthétisé par les racines du riz inhibe la croissance de *F. oxysporum* sp. *niveum*, agent pathogène de la pastèque (Hao et al., 2010).

Une troisième hypothèse peut être émise concernant le sorgho et l'oignon : leur tissus racinaires possède une composition chimique biocide. En effet, pour ces deux espèces la diminution des indices de nécrose est observable à la fois lors d'une association directe ou indirecte. Le sorgho est une plante couramment utilisée en biofumigation du fait de la grande concentration en diurine dans ces feuilles. Il est possible qu'une fraction de diurine soit également présente dans les racines. Lors de la dégradation dans le sol du tissus, la diurine est hydrolysée en cyanure d'hydrogène, un composé biocide (Berthelot et al., 2021). D'autre part, Abd-El-Khair et El-gamal (2011) ont montré que les extraits aqueux de l'oignon (*Allium cepa*, Amaryllidacées) permet une réduction de 60 à 74 % de la croissance du mycélium de *F. solani* et de 42 à 71 % de celui de *R. solani*. De même, ils ont montré que le traitement des semences de haricot et/ou du sol avec la matière sèche de l'oignon diminue de manière significative l'incidence de la maladie de la fonte des semis en pré- et post-levée et améliore par ailleurs certains paramètres de croissance et de rendement du haricot.

Enfin, certains travaux mettent également en évidence la présence d'une communication interplante aboutissant à l'induction des systèmes de défense de la culture campagne : l'association de la tomate à l'oignon permet la diminution de l'incidence du flétrissement de la tomate causé par l'agent pathogène du sol *V. dahliae* en induisant la surexpression de gènes impliqués dans la défense (Fu et al., 2015) tel que les gènes de la biosynthèse de l'éthylène, de l'acide salicylique et de la lignine.

La caractérisation plus fine des mécanismes d'action est un des objectifs du projet SUPERNOMA dans lequel s'insère ce stage. Des prélèvements de sol de chaque modalités ont été réalisés et stockés à -80°C afin de réaliser des analyses métabolomiques et génomiques (16S et 18S). Elles serviront à inventorier les populations bactériennes et fongiques présentes ainsi qu'un certains nombres de métabolites secondaires. D'autre part, des feuilles de chaque modalités ont été prélevées et conservées à -80°C afin de réaliser des dosages de malondialdéhydes et de composés antioxydants. Ces dosages permettront de savoir si les associations candidates ont un effet sur le statut redox des laitues.

4. Plantes de services potentiellement intéressantes et voies d'amélioration envisageables

a. Plantes potentiellement intéressantes

Parmi les associations observées, 7 espèces diminuent significativement les symptômes de maladies sur la laitue tout en diminuant la biomasse aérienne de la laitue. Il s'agit de la verge d'or, de l'oseille, du brocoli, du haricot, du poireau, de la menthe, et de la luzerne. En 2022, la réalisation d'essais préliminaires avec la luzerne et la menthe avaient engendré des résultats similaires (Beaubois, 2022). Plusieurs hypothèses peuvent expliquer ces résultats : (i) la compétition hydrique ou nutritionnelle (ii) la compétition lumineuse, (iii) l'émission de molécules toxiques et (iv) la favorisation des agents pathogènes.

(i) Compétition hydrique et /ou nutritionnelle

Dans les modalités oseille, pois chiche, haricot, poireaux, rose d'inde et herbe de bouc, les indices de nutrition azotés sont inférieurs aux témoins tandis qu'inversement les teneurs en les teneurs en flavonoïdes sont supérieures à celles du témoin. Les flavonoïdes sont impliquées dans différents fonctions biologiques des plantes dont la photoprotection, l'adaptation au stress oxydatif générés par les carences en eau ou en nutriments (Grace et Logan, 2000 ; Emeraux, 2021). Ainsi, Tattini *et al.* (2004) montrent que l'appauvrissement du sol en azote/phosphore, la salinité ou la sécheresse sont des facteurs stimulants la biosynthèse des flavonoïdes. Les résultats d'indice azoté et de teneurs en flavonoides obtenus dans notre essai soulèvent l'hypothèse que l'association de la laitue avec les 7 PdS a engendré un état de stress nutritif ou hydrique de la laitue. L'association des espèces dans un petit volume de sol a très rapidement pu compromettre la croissance de l'une, l'autre ou les deux plantes. Aussi, les essais seraient à mener en conditions réelles ou avec un volume de sol supérieur.

(ii) Compétition lumineuse

Les associations avec le haricot, la rose d'Inde, la verge d'or, l'oseille et le basilic présentent des teneurs en chlorophylles inférieures à celles du témoin sans modification des teneurs en flavonoides ou de leur indice de nutrition azoté.

Ces résultats suggèrent une compétition lumineuse entre la laitue et ces plantes compagnes. En effet les laitues et les plantes compagnes sont plantées à proximité dans un même pot. La laitue à un port bas avoisinant les 15-20 cm maximum. A l'inverse le haricot, la rose d'inde, la verge d'or, l'oseille et le basilic ont des ports moyens à haut (30-60 cm) et un feuillage dense. Il est possible que ces caractéristiques aient empêchée la laitue d'accéder à la lumière et donc à réaliser correctement sa photosynthèse.

(iii) Emission de molécules toxiques

Les associations avec l'oignon, la menthe, le sorgho, le brocoli et la luzerne présentent des teneurs en chlorophylles et en azote similaires au témoin. Néanmoins, ils impactent négativement la biomasse de la laitue suggérant une compétition chimique. En effet, l'étude de Dang Xuan *et al.*, (2005) sur l'utilisation de l'allélopathie comme moyen de lutte contre les adventices et les pathogènes de riz a montré que parmi une vingtaine de plantes testées, *Medicago sativa* L. (luzerne cv. Rasen) présente le plus fort potentiel allélopathique avec des effets inhibiteurs sur la laitue, le radis et le riz. Moždžení *et al.* (2019) a identifié un effet allélopathique de la menthe sur la germination et sur l'allongement des parties aériennes de la laitue et de la tomate. Sarheed *et al.* (2020) ont révélé que les composés menthone et isomenthone, libérés par la menthe, exerçaient un effet cytotoxique sur les plantes environnantes en perturbant la synthèse des microtubules et en induisant une altération de la perméabilité membranaire. Czarnota *et al.* (2003) montrent que les exudats racinaires de *Sorghum* spp contiennent des composées allélochimiques dont la sorgoleone, le 5-ethoxysorgoleone et le 2,5-dimethoxysorgoleone inhibant le photosystème II.

(iv) Favorisation des agents pathogènes

Certaines associations ne sont pas compatibles car elles hébergent des agents pathogènes communs ce qui concourt à une multiplication du stock de propagules pathogènes. Dans le cadre du projet Best4soils [H2020 2018-2020] un outil d'aide à la décision (OAD) sur les associations de légumes et d'agents pathogènes a été réalisé afin d'évaluer quelles les associations à éviter. L'OAD fait ressortir que les associations de la laitue avec l'épinard, la roquette, la laitue, la mâche, du radis et du persil sont déconseillées du fait de leur sensibilité commune à *F. oxysporum* f. sp. *raphani* ; *Pythium* spp., *R. solani*, *S. minor* et *S. sclerotiorum* (Berthelot *et al.*, 2021).

b. Pistes d'amélioration

Certaines pistes d'amélioration sont à tester pour obtenir des associations de culture permettant de maintenir la production de la culture de rente tout en protégeant contre les agents pathogènes telluriques : (i) la conduite culturelle (ii) la nutrition et de l'irrigation, (iii) l'évaluation de génotypes ou variétés différentes.

(i) Modification de la conduite culturale

Lors de la biofumigation, la date de semis et de destruction du couvert conditionne la biosynthèse des GSL et leur dégradation. D'autre part, il est observable que certaines espèces peuvent avoir un intérêt lorsqu'elles sont utilisées dans un type d'association et pas/peu d'intérêt dans un autre type d'association. Dans l'essai réalisé au CTIFL, le sorgho et l'oignon ont permis de protéger et de stimuler la productivité de la laitue lors d'une utilisation en bioamplification tandis qu'ils ont protégé contre les agents pathogènes mais diminués la productivité de la laitue lors d'une utilisation en association directe. Ce paramètre est donc à prendre en compte dans la poursuite des criblages. De même, les associations avec la luzerne et le basilic ont diminués l'accès à la lumière pour la mâche durant la première année d'essai. Par la suite, une diminution de la densité ou une implantation uniquement latérale ou en rotation ont été proposés. Finalement, la nature et la méthode de mycorhization a un impact sur l'efficacité de la colonisation racinaire par les CMA. Chave (2015) compare des approches de mycorhization de tomate. La mycorhization par association de la tomate avec la cive (*Allium fistulosum*) a été plus rapide et plus élevée que l'inoculation avec des racines mycorhizées de cive.

(ii) Modulation de la nutrition et de l'irrigation

La qualité de la nutrition des cultures possède un impact indirect sur leur santé. Dordas (2008) a montré qu'une nutrition équilibrée en NPK et en microélément diminue la sensibilité des cultures aux agents pathogènes. Néanmoins, la réponse à l'apport de N diffère entre les microorganismes : un niveau élevé favorise les parasites obligatoires mais réduit les parasites facultatifs, les rhizobia et les symbioses mycorhiziennes. D'autre part, dans les sols des concentrations importantes en N et P diminuent très fortement la biosynthèse et la libération des métabolites secondaires dont les composés allélopathiques (Tang *et al.*, 1995 ; Koeppe *et al.*, 1976). Les stress thermiques et les carences hydriques peuvent également moduler la libération de molécules allélopathiques (Reigosa Roger Pedrol, 2001) et la mise en place de la symbiose mycorhizienne.

En outre, les propriétés physicochimiques du sol (potentiel hydrique, porosité, pH, température) influencent la disponibilité des allélochimiques comme les GSL dans le sol, ainsi que leur affinité vis-à-vis des organismes cibles (Reau *et al.*, 2005). L'analyse physicochimique du sol de CTIFL montre des teneurs en phosphore égal à 0,76 g/kg P₂O₅ alors que des valeurs souhaitables en grandes cultures sont plutôt de l'ordre de 0,05 g/kg, le pH du sol est de 8.1. Il faut également noter que durant les essais, nous avons eu des problèmes d'irrigation menant à un phénomène de stress hydrique. Il est donc possible que tous ces facteurs pris seuls ou simultanément aient impacté l'efficacité des plantes allélopathiques, mycorhizotrophes et bio amplificatrices.

(iii) Evaluation de génotypes ou variétés différentes

La teneur en métabolites varie en fonction du stade de développement de la plante et du génotype. Chez le colza une forte production de GSL s'observe à des stades de croissance avancée (mi et pleine floraison) (Clossais-besnard, 1991). La teneur et le type de GSL diffèrent selon les espèces, les variétés au sein d'une même espèce (Zhu *et al.*, 2013) et entre les différents organes d'une plante (Dam *et al.*, 2009). D'autre part, l'espèce et la variété de plantes mycorhizotrophes est un facteur déterminant pour la réussite de la mycorhization : les légumineuses (luzerne, haricot, pois chiche...) et les alliacées (poireau, oignon, cive ...) ainsi que les variétés rustiques et peu sélectionnées sont plus favorables au développement du réseau mycorhizien.

Conclusion

Cette étude a pour objectif l'identification et l'évaluation de PdS (allélopathiques et mycorhizotrophes) susceptibles de protéger les cultures maraîchères contre les agents pathogènes telluriques. Pour se faire, deux dispositifs expérimentaux ont été mises en place sur un modèle « Laitue » : laitue cultivée avec la plante de service (association directe) et laitue inoculée par des racines des plantes mycorhizotrophes (association indirecte).

Sept espèces ont été identifiées comme des candidates prometteuses pour cette utilisation : la cive, la morelle de balbis, le chénopode, l'avoine, le sorgho et l'oignon. Ces plantes ont montré des résultats positifs en particulier en diminuant les symptômes de nécrose et en améliorant la biomasse de la laitue. Plusieurs mécanismes ont été identifiés comme contribuant aux effets bénéfiques des plantes de service. Ils incluent la modification du rhizo-microbiome, la production de métabolites secondaires biostimulants et/ou biocides. Ces Pds peuvent modifier la composition des communautés microbiennes du sol, produire des métabolites qui inhibent la croissance des pathogènes et stimuler les défenses de la plante hôte. Parmi les plantes testées, certaines ont montré des résultats atténués, protégeant la laitue mais impactant la productivité. Ces plantes sont la verge d'or, l'oseille, le brocoli, le haricot, le poireau, la menthe et la luzerne. L'impact négatif sur la biomasse peut être dû à des plusieurs facteurs tels que la compétition hydrique, la compétition lumineuse, l'émission de molécules toxiques ou la favorisation d'agents pathogènes communs. Des pistes d'amélioration ont été suggérées, notamment en ajustant l'aménagement spatial des cultures, en modulant la nutrition et l'irrigation, et en évaluant différentes variétés de plantes.

Cette étude souligne l'importance de poursuivre la recherche pour mieux comprendre ces interactions complexes entre les plantes, les micro-organismes du sol à savoir les CMA et les agents pathogènes. Des analyses métabolomiques et génomiques ont été prévues pour mieux comprendre les mécanismes d'action. De plus, des essais en conditions réelles sur d'autres cultures et sur différentes variétés sont nécessaires pour valider les résultats.

Bibliographie

Abdullahi R, Lihan S. 2014. Isolation of indigenous arbuscular mycorrhizal fungi and selection of host plant for inoculum production. doi: 10.12692/ijb/5.12.116-122.

Al-Askar AA, Rashad YM. 2010a. Efficacy of Some Plant Extracts Against Rhizoctonia Solani on Pea. *Journal of Plant Protection Research* doi: 10.2478/v10045-010-0042-0.

Al-Askar A, Rashad Y. 2010b. Arbuscular Mycorrhizal Fungi: A Biocontrol Agent against Common Bean Fusarium Root Rot Disease. *Plant Pathology Journal* **9**.

Azcón-Aguilar C, Barea JM. 1997. Arbuscular mycorrhizas and biological control of soil-borne plant pathogens - an overview of the mechanisms involved. *Mycorrhiza* **6**, 457–464.

Berendsen RL, Pieterse CMJ, Bakker PAHM. 2012. The rhizosphere microbiome and plant health. *Trends in Plant Science* **17**, 478–486.

Berruti A, Borriello R, Orgiazzi A, Barbera A, Lumini E, Bianciotto V. 2014. Arbuscular Mycorrhizal Fungi and their Value for Ecosystem Management.

Berthelot CH, Jean R et Torres M, CTIFL. 2021. BEST4SOIL, un réseau européen pour la préservation des sols. *InfoCtfl*. **7**.

Blancard D, Lot H, Maisonneuve BB. 2003. *Maladies des salades. Identifier, connaître et maîtriser*. INRA Editions.

Bora M, Lokhandwala A. 2016. Mycorrhizal Association: A Safeguard for Plant Pathogen. In: Hakeem KR, Akhtar MS, eds. *Plant, Soil and Microbes: Volume 2: Mechanisms and Molecular Interactions*. Cham: Springer International Publishing, 253–275.

Borrero C, Ordovás J, Trillas MI, Aviles M. 2006. Tomato Fusarium wilt suppressiveness. The relationship between the organic plant growth media and their microbial communities as characterised by Biolog®. *Soil Biology and Biochemistry* **38**, 1631–1637.

Bressoud F. 2003. Systèmes de culture intensifs salade-tomate et maladies telluriques. *in press*.

Cerovic ZG, Masdoumier G, Ghozlen NB, Latouche G. 2012. A new optical leaf-clip meter for simultaneous non-destructive assessment of leaf chlorophyll and epidermal flavonoids. *Physiologia Plantarum* **146**, 251–260.

Chave M. 2015. Ingénierie agroécologique et santé des cultures. Conception innovante de systèmes de cultures recourant aux plantes mycorhizotrophes pour la bioprotection de la tomate contre le flétrissement bactérien: Conception innovante de systèmes de cultures recourant aux plantes mycorhizotrophes pour la bioprotection de la tomate contre le flétrissement bactérien.

CLOSSAIS-BESNARD N. 1991. Aspects analytiques et physiologiques de l'accumulation des glucosinolates chez le colza (brassica napus l.). *These de doctorat*, Rennes 1.

Czarnota MA, Rimando AM, Weston LA. 2003. Evaluation of Root Exudates of Seven Sorghum Accessions. *Journal of Chemical Ecology* **29**, 2073–2083.

Dam N, Tytgat T, Kirkegaard J. 2009. Root and shoot glucosinolates: A comparison of their diversity, function and interactions in natural and managed ecosystems. *Phytochemistry Reviews* **8**, 171–186.

Dang Xuan T, Tawata S, Khanh T, Chung I. 2005. Biological control of weeds and plant pathogens in paddy rice by exploiting plant allelopathy: An overview. *Crop Protection* **24**, 197–206.

Deberdt P, Perrin B, Coranson-Beaudu R, Duyck P-F, Wicker E. 2012. Effect of Allium fistulosum Extract on Ralstonia solanacearum Populations and Tomato Bacterial Wilt. *Plant Disease* **96**, 687–692.

Declerck S, de Boulois HD, de Stage M, Chave M. 2013. Evaluation in vitro du potentiel bioprotecteur des champignons mycorhiziens à arbuscules contre le flétrissement bactérien de la tomate. *in press*.

Djian-Caporalino C, Caravel C, Rhino B, et al. 2020. Agrosystèmes légumiers: les plantes de service contre les bioagresseurs. *in press*.

Dorel M, Tixier P, Zanoletti S. 2011. Alternatives aux intrants chimiques en culture bananière. *in press*.

Emeraux E. 2021. Propriétés biologiques des flavonoïdes: étude bibliographique et évaluation de l'activité antioxydante. *in press*.

Farooq M, Jabran K, Cheema ZA, Wahid A, Siddique KHM. 2011. The role of allelopathy in agricultural pest management. *Pest Management Science* **67**, 493–506.

Fu X, Wu X, Zhou X, Liu S, Shen Y, Wu F. 2015. Companion cropping with potato onion enhances the disease resistance of tomato against *Verticillium dahliae*. *Frontiers in Plant Science* **6**.

Gerowitt B. 2003. Development and control of weeds in arable farming systems. *Agriculture, Ecosystems & Environment* **98**, 247–254.

Ghini R, Morandi M. 2006. Biotic and abiotic factors associated with soil suppressiveness to *Rhizodonia solani*. *Scientia Agricola* **63**.

Grace SC, Logan BA. 2000. Energy dissipation and radical scavenging by the plant phenylpropanoid pathway. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* **355**, 1499–1510.

Hage-Ahmed K, Krammer J, Steinkeilner S. 2013. The intercropping partner affects arbuscular mycorrhizal fungi and *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* interactions in tomato. *Mycorrhiza* **23**, 543–550.

Harman GE, Howell CR, Viterbo A, Chet I, Lorito M. 2004. Trichoderma species--opportunistic, avirulent plant symbionts. *Nature Reviews Microbiology* **2**, 43–56.

Höglund AS, Lenman M, Falk A, Rask L. 1991. Distribution of myrosinase in rapeseed tissues. *Plant Physiology* **95**, 213–221.

Hooks CRR, Wang K-H, Ploeg A, McSorley R. 2010. Using marigold (*Tagetes* spp.) as a cover crop to protect crops from plant-parasitic nematodes. *Applied Soil Ecology* **46**, 307–320.

Ijdo M, Cranenbrouck S, Declerck S. 2011. Methods for large-scale production of AM fungi: past, present, and future. *Mycorrhiza* **21**, 1–16.

Inderjit, Dakshini. K, Einhelling. FA. (1995). Allélopathie : organismes, processus et applications. Société américaine de chimie, Washington, 381 p.

Javaid A, Amin M. 2009. Antifungal activity of methanol and n-hexane extracts of three *Chenopodium* species against *Macrophomina phaseolina*. *Natural Product Research* **23**, 1120–1127.

JAVAID, Arshad et SHOAIB, Amna, 2013. Allelopathy for the management of phytopathogens. In: CHEEMA, Zahid A., FAROOQ, Muhammad et WAHID, Abdul (éd.), *Allelopathy*. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg. pp. 299-319. ISBN 978-3-642-30594-8

Jeffries P, Barea JM. 2001. Arbuscular Mycorrhiza — a Key Component of Sustainable Plant-Soil Ecosystems. In: Hock B, ed. *Fungal Associations*. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 95–113.

Kirkegaard J, Koetz E. 2002. Comparison of canola, Indian mustard and Linola in two contrasting environments. *Field Crops Research* *in press*.

Koeppe DE, Southwick LM, Southwick LM. 1976. The relationship of tissue chlorogenic acid concentrations and leaching of phenolics from sunflowers grown under varying phosphate nutrient conditions. <https://cdnsciencepub.com/doi/abs/10.1139/b76-060>. Accessed August 2023.

KUMAR, Murugan et SAXENA, Anil Kumar, 2017. Conventional methods for mass multiplication of AMF. In: VARMA, Ajit, PRASAD, Ram et TUTEJA, Narendra (éd.), *Mycorrhiza - Nutrient Uptake, Biocontrol, Ecorestoration*. Cham: Springer International Publishing. pp. 287-300. ISBN 978-3-319-68866-4.

LARKIN, Robert P. et GRIFFIN, Timothy S., 2007. Control of soilborne potato diseases using *Brassica* green manures. *Crop Protection*. juillet 2007. Vol. 26, no. 7, pp. 1067-1077. DOI 10.1016/j.cropro.2006.10.004.

FANG, Yuting, ZHANG, Limeng, JIAO, Yongge, LIAO, Jingjing, LUO, Lifen, JI, Sigui, LI, Jiangzhou, DAI, Kuai, ZHU, Shusheng et YANG, Min, 2016. Tobacco rotated with rapeseed for soil-borne *Phytophthora* pathogen biocontrol: Mediated by rapeseed root exudates. *Frontiers in Microbiology*. [en ligne]. 2016. Vol. 7. DOI 10.3389/fmicb.2016.00894.

Manici LM, Caputo F, Baruzzi G. 2005. Additional experiences to elucidate the microbial component of soil suppressiveness towards strawberry black root rot complex. *Annals of Applied Biology* **146**, 421–431.

Matthiessen J, Kirkegaard J. 2006. Biofumigation and Enhanced Biodegradation: Opportunity and Challenge in Soilborne Pest and Disease Management. *Critical Reviews in Plant Sciences - CRIT REV PLANT SCI* **25**, 235–265.

Michel V, DUTHEIL A, AHMED A. 2007. La biofumigation, une méthode de lutte contre les maladies du sol. *in press*.

Mohler CL, Johnson SE. 2009. Crop Rotation on Organic Farms. <https://www.sare.org/resources/crop-rotation-on-organic-farms/>. Accessed June 2023.

Mora-Romero GA, Cervantes-Gámez RG, Galindo-Flores H, González-Ortíz MA, Félix-Gastélum R, Maldonado-Mendoza IE, Salinas Pérez R, León-Félix J, Martínez-Valenzuela MC, López-Meyer M. 2015. Mycorrhiza-induced protection against pathogens is both genotype-specific and graft-transmissible. *Symbiosis* **66**, 55–64.

Morra M. 2004. Controlling soil-borne plant pests using glucosinolate-containing tissues. *Agroindustria* **3**, 251–255.

Moźdżen K, Barabasz-Krasny B, Stachurska-Swakon A, Zandi P, Puła J. 2019. Effect of Aqueous Extracts of Peppermint (*Mentha × piperita* L.) on the Germination and the Growth of Selected Vegetable and Cereal Seeds. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca* **47**.

PURI, Anshul et ADHOLEYA, Alok, 2013. A new system using *Solanum tuberosum* for the co-cultivation of *Glomus intraradices* and its potential for mass producing spores of arbuscular mycorrhizal fungi. *Symbiosis*. février 2013. Vol. 59, no. 2, pp. 87-97. DOI 10.1007/s13199-012-0213-z.

Reau R, Bodet J-M, Bordes J-P, et al. 2005. Effets alléopathiques des Brassicacées via leurs actions sur les agents pathogènes telluriques et les mycorhizes : analyse bibliographique. Partie 1. Oléagineux, Corps gras, Lipides **12**, 261–271.

Reigosa Roger M, Pedrol N. 2001. *Allelopathy from Molecules to Ecosystems*.

Rice EL. 1984. *Allelopathy*. Elsevier Science.

Rodriguez A, Sanders IR. 2015. The role of community and population ecology in applying mycorrhizal fungi for improved food security. *The ISME Journal* **9**, 1053–1061.

Ryan P, Dessaix Y, Thomashow L, Weller D. 2009. Rhizosphere engineering and management for sustainable agriculture. *Plant and Soil* **321**, 363–383.

Sarheed MM, Rajabi F, Kunert M, Boland W, Wetters S, Madowitz K, Kaźmierczak A, Sahi VP, Nick P. 2020. Cellular Base of Mint Allelopathy: Menthone Affects Plant Microtubules. *Frontiers in Plant Science* **11**.

SILVEIRA, Samar, LORSCHITER, Rafael, BARROS, Ingrid, SCHWARZ, Sergio et SOUZA, Paulo, 2006. *Mentha piperita* as a multiplying of arbuscular mycorrhizal fungi. *Revista Brasileira de Plantas Medicinais*. 1 janvier 2006. Vol. 8, pp. 91-97.

SINGH, H. P., BATISH, Daizy R. et KOHLI, R. K., 2001. Allelopathy in agroecosystems: An overview. *Journal of Crop Production*. juin 2001. Vol. 4, no. 2, pp. 1-41. DOI 10.1300/J144v04n02_01.

Syed Ab Rahman SF, Singh E, Pieterse CMJ, Schenk PM. 2018. Emerging microbial biocontrol strategies for plant pathogens. *Plant Science* **267**, 102–111.

Tattini M, Galardi C, Pinelli P, Massai R, Remorini D, Agati G. 2004. Differential accumulation of flavonoids and hydroxycinnamates in leaves of *Ligustrum vulgare* under excess light and drought stress. *The New Phytologist* **163**, 547–561.

THICOIPE J-P. 1997. Les laitues. <https://www.ctifl.fr/les-laitues>. Accessed May 2023.

Villeneuve F. 2022. Un pathogène tellurique en pleine expansion infos_ctifl 383. <https://www.ctifl.fr/un-pathogene-tellurique-en-pleine-expansion-infos-ctifl-383>. Accessed June 2023.

Voets L, de la Providencia IE, Fernandez K, IJdo M, Cranenbrouck S, Declerck S. 2009. Extraradical mycelium network of arbuscular mycorrhizal fungi allows fast colonization of seedlings under in vitro conditions. *Mycorrhiza* **19**, 347–356.

Xiao CL, Subbarao KV, Schulbach KF, Koike ST. 1998. Effects of Crop Rotation and Irrigation on *Verticillium dahliae* Microsclerotia in Soil and Wilt in Cauliflower. *Phytopathology* **88**, 1046–1055.

XUAN, Tran Dang, SHINKICHI, Tawata, KHANH, Tran Dang et CHUNG, III Min, 2005. Biological control of weeds and plant pathogens in paddy rice by exploiting plant allelopathy: an overview. *Crop Protection*. mars 2005. Vol. 24, no. 3, pp. 197-206. DOI 10.1016/j.cropro.2004.08.004

Xu W, Wang Z, Wu F. 2015. Companion cropping with wheat increases resistance to Fusarium wilt in watermelon and the roles of root exudates in watermelon root growth. *Physiological and Molecular Plant Pathology* **90**, 12–20.

Yang M, Zhang Y, Qi L, et al. 2014. Plant-Plant-Microbe Mechanisms Involved in Soil-Borne Disease Suppression on a Maize and Pepper Intercropping System. *PLOS ONE* **9**, e115052.

Zhang S, Zhu W, Wang B, Tang J, Chen X. 2011. Secondary metabolites from the invasive *Solidago canadensis* L. accumulation in soil and contribution to inhibition of soil pathogen *Pythium ultimum*. *Applied Soil Ecology* **48**, 280–286.

Zhu B, Yang J, Zhu Z. 2013. Variation in glucosinolates in pak choi cultivars and various organs at different stages of vegetative growth during the harvest period. *Journal of Zhejiang University. Science. B* **14**, 309–317.

Sitographie

[1] Le CTIFL en quelques mots. [Consulté le 11/07/23]. Disponible [en ligne] sur : <https://www.ctifl.fr/le-ctifl-en-quelques-mots-ses-missions-ses-actions>

[2] Chambre d'agriculture Pays de la Loire (2016). Etat des lieux de la filière légumière en Pays de la Loire. [Consulté le 12/07/23]. Disponible [en ligne] sur : <https://www.paysdelaloire.fr/sites/default/files/2019-10/etat-des-lieux-de-la-filiere-legumiere.pdf>

[3] Direction régionale de l'alimentation, de l'agriculture et de la forêt des Pays de la Loire (2023). [Consulté le 12/07/23]. Disponible [en ligne] sur : https://draaf.pays-de-la-loire.agriculture.gouv.fr/IMG/pdf/bilan_2021-2022_chicorees_laitues_poireaux.pdf

[4] Grisey A, Berthelot C, Rossdeutsch L, Lalaux PY, Brajeul E. Info Ctifl (2021). Résultats de l'enquête sur le parc d'abris froids et peu chauffés - Les abris froids à la loupe. [Consulté le 15/05/23]. Disponible [en ligne] sur : <https://www.ctifl.fr/les-abris-froids-a-la-loupe-infos-ctifl-371>

[5] Site Geves. Les plantes de services. [Consulté le 15/05/23]. Disponible [en ligne] sur : <https://www.geves.fr/expertises-varietes-semences/plantes-de-services/quest-qu'une-plante-de-service/>

[6] M.Gayrard, O.Ligot et P. Delval (2018). Associer des plantes de couvert / de service pour diversifier une culture. [Consulté le 15/05/23]. Disponible [en ligne] sur : <https://ecophytopic.fr/leviers/prevenir/associer-des-plantes-de-couvert-de-service-pour-diversifier-une-culture>

[7] Site Enza Zeden.Catalogue SALADE plein champ 2023. [Consulté le 15/05/23]. Disponible [en ligne] sur : <https://www.enzazaden.com/fr/products-and-services/brochures-and-leaflets>

[8] Eric Beliard (2003). Maladies et ravageurs de la laitue et de la chicorée à salade en AB. [Consulté le 18/05/23]. Disponible [en ligne] sur : http://www.itab.asso.fr/downloads/Fiches-techniques_maraichage/fiche-salademini.pdf

[9] Chambre régionale d'agriculture d'Occitanie (2022). Prophylaxie et méthodes alternatives en production de salades plein champ. Bulletin de santé du végétal maraîchage. [Consulté le 18/05/23]. Disponible [en ligne] sur : https://draaf.occitanie.agriculture.gouv.fr/IMG/pdf/bsv_maraichage_hs_salade_fiche_prophylaxie_2022-1_cle812a3a-1.pdf#:~:text=La%20prophylaxie%20et%20la%20mise,sant%C3%A9%20humaine%20et%20l'environnement

[10] J. Garnodier et al., (2020). La fusariose de la laitue : un pathogène émergent en plein champ et sous abri. [Consulté le 21/05/23]. Disponible [en ligne] sur : <https://ecophytopic.fr/pic/prevenir/la-fusariose-de-la-laitue-un-pathogene-emergent-en-plein-champ-et-sous-abri>

[11] D. Blancar (2013). Salade-Fusariose (*Fusarium oxysporum* f. sp. *Lactucae*). [Consulté le 23/07/23]. Disponible [en ligne] sur : <http://ephytia.inra.fr/fr/C/5837/Salades-Biologie-epidemiologie>

Annexe I : Fiche présentative des principaux bioagresseurs de la laitue

1. Fonte de semis

Cette maladie regroupe plusieurs pathogènes qui attaquent principalement les parties souterraines de la plante (racines et collet), mais ils peuvent également se développer sur le feuillage ou les fruits (Blancard *et al.*, 2003). Cette maladie provoque l'absence de la levée ou l'effondrement des plantules. L'agent causal de la fonte de semis est défini en fonction de la nature de l'inoculum primaire. En effet, *Botrytis cinerea* est généralement conservé sur graines, cependant *Pythium* et *Rhizoctonia* préfèrent se conserver dans des terreaux très humides et de mauvaise qualité sanitaire (THICOIPE, 1997)

2. Pourriture grise

Elle est causée par le champignon phytopathogène *Botrytis cinerea*, un champignon polyphage non spécifique de la laitue.

- Biologie : *B.cinerea* survit sur les tissus vivants ou morts (parasite facultatif ou saprophyte) ou dans le sol sous forme des sclérotes. Lorsque les conditions sont favorables à l'infection (climat frais et humide, plantes blessées ou étiolées), cette maladie peut occasionner des dégâts importants sur laitue et chicorée, surtout sous abris. Elle est souvent la conséquence d'une perte de qualité rendant les plants invendables, et peut même causer leur mort [8].
- Symptômes : ce champignon peut attaquer la laitue à deux stades différents :
 - **Semis** : Développement d'un mycélium stérile blanc-grisâtre empêchant la levée des plantules.
 - **Jeunes plants** : *B cinerea* peut également attaquer le collet en provoquant des taches brun-rougeâtre sur le pivot. L'attaque du collet peut se généraliser pour atteindre les feuilles ou rester latente jusqu'à la pommaison (THICOIPE, 1997).



3. Sclerotinia ou pourriture molle aqueuse

Source : Blancard, 2016 (INRAe)

C'est une maladie causée par deux espèces de *Sclerotinia*, *Sclerotinia minor* qui affecte les salades en commençant par les feuilles inférieures puis en atteignant le collet de la plante.

- Biologie : c'est un parasite facultatif ayant un potentiel saprophyte important. *Sclerotinia minor* est spécifique de la laitue et caractérisé par des petits sclérotes de 2mm et moins. *Sclerotinia sclerotiorum* peut infecter une large gamme d'hôtes, notamment de nombreuses cultures légumières cultivées en rotation avec la tomate, comme la laitue, les haricots, le chou, les poivrons, les aubergines et de nombreuses Cucurbitacées. Elle produit des sclérotes de grandes tailles (3mm et plus).
- Symptômes : généralement, les dégâts sont plus fréquents au moment de la pommaison. En effet, les plants de laitue attaqués par ce pathogène présentent un port flasque et un feuillage étiolé.

Ils peuvent être facilement arrachés du sol, révélant une pourriture du collet et la présence générale d'un mycélium blanc, plus ou moins cotonneux, caractéristique des Sclerotinia.



Source : Blancard, 2016 (INRAe)

4. Rhizoctonia

L'agent causal de cette maladie est *Rhizoctonia solani*, un champignon du sol polyphage.

- Biologie : les attaques sont dues principalement à deux souches : la souche AG4 s'attaque à la laitue, à la chicoré (Astéracées) mais aussi à des Fabacées, Solanacées et Cucurbitacées. La souche AG1 est encore plus polyphage sur cultures légumières, ainsi que sur Poacées. La maladie est favorisée par une forte humidité du sol et par des températures relativement élevées (18 à 26°C). L'excès d'azote peut être aussi une condition favorable au développement de ce champignon [9].
- Symptômes : les symptômes se manifestent généralement au stade de maturité des laitues. En effet, les plantes malades présentent des lésions rougeâtres sur les nervures des feuilles en contact avec le sol. Ces lésions commencent à la base des feuilles et peuvent se propager jusqu'au pivot de la plante, entraînant une pourriture du collet ou envahissant même le limbe des feuilles jusqu'à atteindre le cœur de la laitue.



Source : Blancard, 2016 (INRAe)

5. Pythium vasculaires

Cette maladie, principalement causée par *Pythium tracheiphylum*, peut être due également à *Pythium ultimum*.

- Biologie : *Pythium tracheiphylum* se conserve dans le sol sous forme d'oospores. Son développement est favorisé par une forte humidité du sol (90 % de la capacité de rétention) et par des températures voisines de 20-24°C [9].

- Symptômes : les plantes malades présentent des symptômes de flétrissement, une réduction de la taille et aussi un jaunissement des feuilles. Cette maladie impacte l'aspect, la couleur et la densité des racines. En effet, les racines deviennent grises et d'aspect rugueux et le nombre des racines secondaires se réduit fortement. Au niveau du collet, un brunissement des vaisseaux conducteurs peut être observé.



Source : Blancard, 2016 (INRAe)

6. Fusariose

Il s'agit d'une maladie émergente dans les cultures sous abris et de plein champ. Elle a été identifiée la première fois récemment en France, en 2015, dans les régions des Alpes-Maritimes [10]. Elle est causée par l'agent pathogène *Fusarium oxysporum* f.sp. *lactucae*.

- Biologie : *Fusarium oxysporum* est un champignon polyphage, qui peut s'attaquer à un très grand nombre (environ 150) d'espèces végétales. Cependant, une forme spéciale (f.sp.) est capable d'infecter un hôte unique ou un ensemble limité d'hôtes (Villeneuve, 2022). La température optimale de croissance de *F. oxysporum* est de l'ordre de 28°C. Il s'agit d'un champignon biotrophe, qui pénètre les racines via des blessures ou des ouvertures épidermiques et forment des hyphes qui colonisent ces racines. A ce stade, le champignon produit une structure spécialisée, appelée haustorium, qui permet d'absorber les nutriments au niveau des vaisseaux du xylème. *F. oxysporum* est capable de survivre pendant plusieurs années dans le sol sur des débris végétaux, sous forme des chlamydospores aux parois épaisses et résistantes [11].

- Symptômes

- Retard de croissance et absence de pommaison
- Brunissement des racines et des vaisseaux
- Jaunissement des feuilles, pouvant évoluer jusqu'à la mort des plantules.



Source : Blancard, 2016 (INRAe)

Annexe II : Résultats du test nitrate pour le sol de la parcelle 6 du Ctifl (26/05/23)

Date	N° échantillon	Concentration étalon en mg/l	Résultat Bandelette 1 en ppm	Résultat Bandelette 2 en ppm	Résultat Bandelette 3 en ppm	Moyenne
26/05/2023	1	100	334	288	262	294,67
	2	100	126	210	181	172,33
	3	100	237	269	233	246,33
	4	100	331	330	279	313,33
	5	100	183	163	164	170,00
	6	100	354	377	395	375,33
	7	100	380	348	339	355,67
	8	100	402	440	460	434,00

Annexe III : Liste des agents pathogènes et milieux de culture

Agents pathogènes : (-) = données indisponibles

Nom de la souche	Pathogène	Hôte végétal	Origine	Année d'entrée en collection
21-001 Bc	<i>Botrytis cinerea</i>	Laitue	CTIFL Carquefou	2021
11-046 Sm	<i>Sclerotinia minor</i>	-	INRA Avignon	2011
P.ulc souche K	<i>Pythium ultimum</i>	-	UNILET	-
P.ulc souche 8	<i>Pythium ultimum</i>	-	UNILET	-
P.ulc souche 16	<i>Pythium ultimum</i>	-	UNILET	-
P.vio 18-002	<i>Pythium Violae</i>	-	SILEBAN	2018
20-003 Rs	<i>Rhizoctonia solani</i>	Fenouil	CDDM	2020
20-004 Rs	<i>Rhizoctonia solani</i>	Radis	CDDM	2020
20-013 Rs	<i>Rhizoctonia solani</i>	Radis	CDDM	2020
20-014 Rs	<i>Rhizoctonia solani</i>	Radis	CDDM	2020
20-016 Rs	<i>Rhizoctonia solani</i>	Radis	CDDM	2020
20-028 Rs	<i>Rhizoctonia solani</i>	Radis	CDDM	2020
Souche 1-1	<i>Pythium sp</i>	Carotte	SILEBAN	2021
Souche 1-9	<i>Pythium sp</i>	Carotte	SILEBAN	2021
Souche 4-3	<i>Pythium sp</i>	Carotte	SILEBAN	2021
Souche 4-1	<i>Pythium sp</i>	Carotte	SILEBAN	2021

Milieux de culture

Milieu CMA (Corn Meal Agar) :

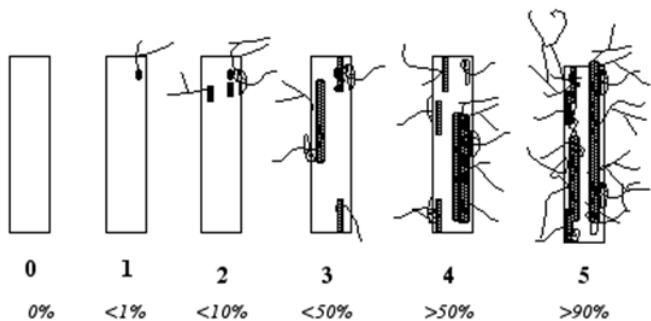
Le CMA est un milieu utilisé (i) pour l'entretien et la multiplication quotidienne des différents *Pythium* sp. et pour (ii) l'isolement de champignons à partir de symptômes de plantes. Pour un litre de milieu, il est composé de 17 g de CMA et de 5g d'agar.

Milieu MEA (Malt extract agar) :

Le milieu est utilisé (i) pour l'entretien et la multiplication quotidienne des différentes souches appartenant au genre *Sclerotium*, *Botrytis*, *Rhizoctonia*, *Fusarium* et de *Thielaviopsis*, ainsi que (ii) pour l'isolement de champignons à partir de symptômes des plantes. Pour un litre de milieu, il est composé de 12 gr d'extrait de malt et de 15 gr d'agar.

Annexe IV : Méthodes d'estimation de la colonisation racinaire par les CMA d'après Trouvelot et al., 1986

**SCORING MYCORRHIZAL COLONIZATION
IN CLASSES FROM 0 TO 5**



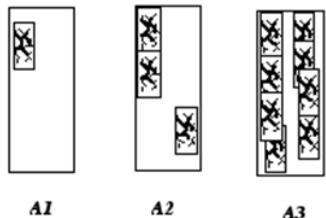
SCORING ARBUSCULE ABUNDANCE

None : A0

Few arbuscules : A1

Frequent : A2

Abundant : A3



0	1	2	3	4	5
	A2	A2	A1	A0	
1					
2					
3					
4					
5					
6					
7					
8					
9					
10					
11					
12					
13					
14					
15					
16					
17					
18					
19					
20					
21					
22					
23					
24					
25					
26					
27					
28					
29					
30					
Tot					

Annexe V : Script R

```
Source on Save | 🔎 | ✎ | 📁
#installer le package "readxl"
install.packages("readxl")
#working directory
setwd("C:/Users/utilisateur/Documents/SUPERNOMA/stat")
#Importer les jeux de données
dualex <- readxl::read_xlsx("C:/Users/utilisateur/Documents/SUPERNOMA/Excel/Pds/Dualex/Dualex Pds for R.xlsx")
#Aperçu des données
str(dualex)
#Mixer le jeu de donn?
attach(dualex)
summary(dualex)
#vérifier que ma colonne est un facteur
dualex$moda = as.factor(dualex$moda)
Factor1=moda
#vérification des postulats
##Chlorophyle
shapiro.test(chl)
bartlett.test(chl,moda)
#p-values< 0,05 donc postulats non validées --> L'homoscedasticité et la normalité des résidus ne sont pas vérifiées
#test non paramétrique
install.packages("agricolae")
library(agricolae)
kruskal.test(dualex$chl,dualex$moda)
#on charge le package agricolae
install.packages("agricolae")
library(agricolae)
#####Chlorophylle
kch=kruskal(dualex$chl,moda)
kch
#Pour comparaison 2 à 2 --> Comparaison wilcoxon
pairwise.wilcox.test(dualex$chl,dualex$moda,group=TRUE,
                      p.adjust.method = "BH")
```

Ce script a été utilisé dans l'essai plante campagne pour la variable chlorophylle. Il est applicable sur tous les autres paramètres de l'essai plante campagnes ainsi que l'essai bioamplification

```
## Importer les jeux de données
Daata<-read.table("heatmapPds.csv", header = TRUE, sep = ";", dec=",", stringsAsFactors = TRUE, row.names = 1);
View(Daata)
str(Daata)
dim(Daata)### Voir nombre de dimension de notre donn?
summary(Daata)

#####Heatmaps sur donn?e plantes campagnes
dff <- scale(Daata)
dff

#####heatmap(Donn?es, scale = "row")
# Default plot
col<- colorRampPalette(c("red", "white", "blue"))(256)
col
View(dff)
heatmap(dff, scale = "none")
View(df)

###Enhanced heat maps: heatmap.2
# install.packages("gplots")

install.packages("gplots")
library("gplots")

heatmap.2(dff, scale = "none", col = bluered(100),
           trace = "none", density.info = "none")
###Pheatmap
# install.packages("pheatmap")

install.packages("pheatmap")
library("pheatmap")

pheatmap(dff, cutree_rows = 4)
```

Ce script est utilisé pour créer les "heatmaps" des deux essai « plante campagne » et « Bioamplification ».

Auteur(s) : Rania MISSAOUI

Date de naissance* : 04/09/1994

Nb pages : 28 Annexe(s) : 7

Année de soutenance : 2023

Organisme d'accueil : CTIFL centre de Carquefou

Adresse : 35 allée des sapins, ZI Antarès, Belle Etoile, 44483 Carquefou.

Maître de stage : Charlotte BERTHELOT

Titre français : Etude de l'utilisation des plantes de services pour lutter contre les pathogènes telluriques des cultures maraîchères ligériennes.

Titre anglais : Study of the use of service plants to control soil-borne pathogens in Loire Valley market garden crops.

Résumé (1600 caractères maximum) :

La sécurité alimentaire revêt une importance croissante dans un contexte de retrait progressif des produits phytosanitaires de synthèse. La recherche de méthodes alternatives et écologiques pour lutter contre les pathogènes du sol est devenue une priorité. L'utilisation de plantes allélopathiques, mycorhizotrophes et bioamplificatrices des mycorhizes semble prometteuse. Pour tester le potentiel assainissant de ces plantes, des essais ont été conduits dans des conditions de contamination artificielle de sol par des agents pathogènes. Les laitues sont cultivées soit en associations directes avec les plantes mycorhizotrophes et allélopathiques soit indirectes avec les plantes bioamplificatrices. La cive, la morelle de balbis, le chénopode, l'avoine, le sorgho et l'oignon ont permis une réduction des symptômes de nécrose et un maintien de la biomasse de la laitue. Différents mécanismes ont été identifiés comme le recrutement dans les racines de champignons mycorhiziens à arbuscules, permettant le développement et la protection des cultures, la production de métabolites biostimulants et/ou biocides stimulant la défense de la plante ou inhibant la croissance des pathogènes. Les associations avec la verge d'or et le brocoli, diminuent les maladies mais en impactant la biomasse de la laitue à cause des phénomènes de compétition. Des pistes d'amélioration des associations sont proposées au travers de la sélection variétale et l'amménagement des conduites culturales.

Abstract (1600 caractères maximum):

Food safety is becoming increasingly important in a context of progressive withdrawal of pesticides. The research of alternative and ecological methods to control soil borne pathogens is becoming a priority. The use of allelopathic, donor and nurse plants seems promising. To test the purifying potential of these plants, trials have been carried out under soil artificial contaminating conditions by pathogens. Lettuce are grown either in direct associations with allelopathic and donor plants or in indirect association with nurse plants. Chive, Litchi Tomato, chenopod, oats, sorghum and onions helped to reduce necrosis symptoms and to maintain lettuce biomass. Various mechanisms have been identified, such as the recruitment of arbuscular mycorrhizal fungi into the roots, enabling crop development and protection, and the production of biostimulant and/or biocidal metabolites that stimulate plant defence or inhibit the growth of pathogens. Associations with goldenrod and broccoli reduce disease, but have an impact on lettuce biomass due to competition. Possible ways of improvement are suggested through varietal selection and improved cropping practices.

Mots-clés : Pathogènes du sol, laitue, plantes allélopathiques, plantes mycorhizotrophes, plantes bioamplificatrices, association.

Key Words: Soil borne pathogens, lettuce, allelopathic plants, donor plants, nurse plants, association.