

Interaction entre stimulateurs de défense des plantes et génotypes de blé tendre dans la lutte contre la septoriose

Claude MAUMENE^{1*}, Ali SIAH², Marie-Éva ORS³, Gilles COULEAUD¹, Béatrice RANDOUX³, Pierre RIGOLLE⁵, Sameh SELIM⁴, Patrice HALAMA², Philippe REIGNAULT³

1 - ARVALIS - Institut du Végétal - Station expérimentale, 91720 BOIGNEVILLE
 2 - ISA Lille - 48 Bd Vauban, 59046 LILLE Cedex
 3 - ULCO - CS 80699, 62228 CALAIS cedex
 4 - Lasalle-Beauvais - 19 rue Pierre Wagué, BP 30313, 60026 BEAUVAIS Cedex
 5 - GIE CLUB 5 - 83 avenue de la Grande Armée, 75782 Paris Cedex 16
 * Coordinateur : Claude MAUMENE, c.maumene@arvalisinstitutduvegetal.fr

1. Introduction

La septoriose causée par *Mycosphaerella graminicola* (anamorphe: *Zymoseptoria tritici*) est l'une des maladies les plus fréquentes et les plus nuisibles sur les cultures de blé. La lutte contre cette maladie repose essentiellement sur l'utilisation des fongicides et des ressources variétales. Bien que la résistance variétale réduise de façon significative la pression parasitaire au champ, la lutte chimique reste aujourd'hui le moyen le plus utilisé pour contrôler cette maladie. Le contexte environnemental actuel vise à réduire l'utilisation des produits phytosanitaires en agriculture (Ecophyto 2018, Agricultures: produisons autrement, ...). Dans un objectif de plus grande durabilité de l'agriculture, la recherche de nouvelles stratégies de lutte contre les maladies des plantes est fortement encouragée. L'utilisation des stimulateurs de défense des plantes (SDP) est une solution pouvant se substituer partiellement à la lutte chimique tout en permettant d'assurer une rentabilité optimale de la culture. Le mode d'action de ces produits diffère de celui des pesticides conventionnels car ils n'agissent pas directement sur le bio-agresseur, mais ils induisent son inhibition *via* la stimulation des réactions de défense de la plante. Dans ce contexte, le présent projet vise à étudier l'interaction SDP-cultivar sur le pathosystème blé-septoriose. Après un criblage initial de quatorze SDP, l'efficacité et le mode d'action contre la septoriose de trois d'entre eux ont été étudiés sur trois génotypes de blé tendre présentant des niveaux de résistance différents à la septoriose.

2. Matériels et méthodes

Cultivars et SDP utilisés et conditions d'application

Trois cultivars de blé tendre sont utilisés: Alixan (sensible), Premio (moyennement sensible) et Altigo (résistant). Les travaux ont été conduits en conditions contrôlées (armoires de croissance), semi-contrôlées (serre) et de terrain (champ). Les inoculations artificielles en conditions contrôlées et semi-contrôlées ont été effectuées avec une souche française de *M. graminicola* (T01193) choisie après un criblage de huit souches sur les trois cultivars.

Au total, quatorze SDP ont été évalués sur les trois cultivars de blé, en conditions de laboratoire, pour leur niveau de protection vis-à-vis de la septoriose. Pour des raisons de confidentialité, les noms des produits ont été codés de FSOV1 à FSOV12 (Tableau 1). Tous les produits ont été fournis par des sociétés privées et sont majoritairement en cours de développement. Le criblage initial a été réalisé au laboratoire avec deux doses utilisées: une dose « forte » D1 (appliquée à la concentration d'une bouillie de 150 L/ha préparée sur la base de la dose/ha préconisée au champ) et une dose « faible » D4 (ajustée pour appliquer au laboratoire une quantité par feuille se rapprochant de la quantité de substance active reçue par feuille au champ dans le cadre d'un traitement à la dose/ha préconisée). Une dose intermédiaire, D2 (=D1+D4/2), a été utilisée lors des travaux ultérieurs pour quatre SDP sélectionnés (FSOV2, FSOV7, FSOV8 et FSOV10). Les SDP retenus pour l'étude du mode d'action (FSOV2, FSOV7, FSOV10) ont été testés avec D3 (=D2+D4/2), une autre dose intermédiaire entre D2 et D4.

Pour les essais au champ, les SDP ont été appliqués à la dose préconisée par les fournisseurs dans les conditions du terrain (Tableau 1).

Tableau 1. SDP utilisés dans cette étude

Produit	Nom commercial ou principe actif	Dose préconisée
FSOV1	Acibenzolar-S-Methyl (Bion®)	0,06 Kg/ha
FSOV2	Nutri-phite® Excel	3 L/ha
FSOV2Bis	LBG01F34®/Etonan®	2 L/ha
FSOV3	SDP de synthèse	1 L/ha
FSOV3Bis	SDP de synthèse	1 L/ha
FSOV4	Iodus® 2 Céréales	0,5 L/ha
FSOV6	SDP de synthèse	1 L/ha
FSOV7	Extrait de <i>Trichoderma harzanium</i>	5 L/ha
FSOV8	Extrait de microorganismes	6,75 L/ha
FSOV8Bis	Extrait de microorganismes	3,75 L/ha
FSOV9	Acides organiques	3 L/ha
FSOV10	Chitosan	15 L/ha
FSOV11	Extrait de fenugrec	1,5 kg/ha
FSOV12	Polysaccharides issus d'algues vertes	5 L/ha

Les essais au champ ont été réalisés sur trois années (2011, 2012 et 2013) avec les trois cultivars. Le choix des produits pour chaque année est basé sur les résultats du criblage réalisé en serre. Sept produits ont été testés en 2011 (FSOV1, FSOV2, FSOV6, FSOV7, FSOV8, FSOV 8Bis et FSOV10), dix produits ou combinaisons de produits en 2012 (FSOV2, FSOV2Bis, FSOV7, FSOV8, FSOV8Bis, FSOV9, FSOV10, FSOV12, FSOV4+FSOV2 et FSOV4+FSOV10) et six produits ou combinaisons de produits en 2013 (FSOV2, FSOV2Bis, FSOV7, FSOV8, FSOV10 et FSOV4+FSOV2Bis). En complément, les produits FSOV7 (en 2011) et FSOV2Bis (en 2012 et 2013) ont été testés sur une trentaine de cultivars, afin de tester leurs interactions avec un plus grand nombre de génotypes de blé. Les essais ont été réalisés chaque année en répétition sur les sites de Florimond Desprez (Cappelle-en-Pévèle), Limagrain (Verneuil l'Etang), RAGT (Prêmesques) et Syngenta (Orgerus). Pour chaque essai, le SDP a été appliqué seul ou en association à un programme fongicide intensif ou extensif.

Essais de protection des SDP

Le niveau de protection conféré par les SDP en conditions de laboratoire a été évalué sur des plantes de blé au stade quatrième feuille sortante selon le protocole décrit par Siah *et al.* (2010a). Les traitements ont été réalisés à l'aide d'un pulvérisateur manuel à 48h avant inoculation avec la souche T01193. Trois pots de douze plantes (36 plantes) ont été utilisés pour chaque modalité. L'efficacité des produits sur les symptômes (% de surface foliaire avec nécroses ou chloroses) et la sporulation (densité des pycnides) a été mesurée sur la troisième feuille à 21 jours post-inoculation (jpi).

Les tests de protection au champ ont été réalisés dans la station expérimentale de Boigneville, sur des micro-parcelles de 21 m² (2m x 10,5m) organisées en bloc de Fischer en 2011 et 2012 et en Split-Plot en 2013. L'intensité de la maladie a été estimée sur 60 plantes/modalité toutes les une ou deux semaines en mesurant le % de surface foliaire malade sur les feuilles F1 (drapeau), F2 et F3. Le rendement (q/ha) a également été mesuré pour chaque modalité. Afin de mieux cerner l'apport protectif des SDP, trois modalités de référence à base de fongicides conventionnels ont été incluses dans les essais : une référence haute (une pleine dose¹ de Cherokee® (1,6 L/ha) en T1 et une pleine dose de Viverda® (1 L/ha) en T2), une référence intermédiaire (une pleine dose de Cherokee® en T1 et une demi-dose de Viverda® en T2) et enfin une référence basse (une demi-dose de Cherokee® en T1 et une demi-dose de Viverda® en T2). T1 correspond au stade Z32-37 pour les années 2011 et 2012 et Z37 pour l'année 2013. T2 correspond au stade Z45-55 pour l'année 2012 et Z40 pour l'année 2013. Pour les modalités SDP, les produits ont été appliqués seuls en T0 (stade Z30) et en association avec Cherokee® demi-dose en T1 suivi d'une application de Bell® à demi-dose en T2. Lors de l'année 2012, la dose de Cherokee® a été ajustée à 1,4 L/ha et la dose de Viverda® a été conservée à 1 L/ha. En 2011, seule une dose de 1,6 L/ha de Cherokee® a été appliquée. Le T2 a été supprimé compte tenu de la faible pression de septoriose due à la sécheresse de printemps.

Caractérisation du mode d'action des SDP

¹ Dans un souci de simplification nous avons qualifié de dose pleine, la dose la plus souvent utilisée en pratique. Elle est généralement inférieure à la

dose d'autorisation de mise en marché. La demi-dose correspond ici à la moitié de cette dose pleine.

Effet biocide *in vitro*

L'éventuel effet biocide direct des SDP sur le champignon a été évalué *in vitro* selon les protocoles rapportés par Siah *et al.* (2010b). L'effet sur la germination des spores a été réalisé sur des boîtes de Petri. L'effet sur la croissance mycélienne a été déterminé sur des microplaques de 96 puits. Cinq concentrations sont utilisées pour chaque produit, obtenues par dilutions successives de 3 fois à partir de la concentration C1, correspondant à la dose D1.

Effet sur le processus infectieux du champignon

L'effet *in planta* des SDP sur la germination des spores, la pénétration des feuilles et la colonisation du mésophylle a été estimé à 1, 5 et 21 jours post-inoculation (jpi), respectivement, avec les méthodes décrites par Siah *et al.* (2010a). Trois segments foliaires issus de pots différents sont utilisés pour chaque modalité. Cent événements cytologiques sont comptés au microscope sur chaque segment pour déterminer les pourcentages de spores germées, de tubes germinatifs donnant lieu à un événement de pénétration (stomatique et direct), de cavités sous-stomatiques colonisées et de cavités sous-stomatiques colonisées avec pycnides.

Effet sur les CWDE du champignon

L'effet des SDP sur les enzymes de dégradation des parois cellulaires (CWDE) produites *in planta* par le champignon (xylanases, glucanases et protéases) a été évalué à 1, 5, 11, 17 et 21 jpi. Les dosages ont été effectués selon les techniques décrites par Siah *et al.* (2010a) pour l'activité xylanase, Douaiher *et al.* (2007) pour l'activité glucanase et Hellweg (2003) pour l'activité protéase. Une biomasse de 2,5 g de feuilles a été utilisée pour chaque modalité.

Induction des activités PO et PAL du blé

L'induction des activités peroxydase (PO) et phénylalanine ammonia-lyase (PAL) par les SDP a été quantifiée sur les trois cultivars à 12, 24, 48, 60 et 72 heures après traitement (hat) selon les méthodes de Mitchell *et al.* (1994) pour la PO et Reglinski *et al.* (1994) pour la PAL.

Trois feuilles issues de pots différents sont utilisées pour chaque modalité.

Induction des gènes de défense du blé

Neuf gènes de défense ont été suivis à 12, 24, 48, 60 et 72 heures post-inoculation (hpi) pour leur niveau d'expression après application des SDP: *pr1* (pathogenesis related protein1), *chit2* (chitinase 2), *gluc* (β -1,3-glucanase), *lox* (lipoxygénase), *aos* (allene oxide synthase), *pal* (phénylalanine ammonia-lyase), *chs* (chalcone synthase), *pox2* (peroxydase 2) et *oxo* (oxalate oxydase). Les codes d'accès GenBank pour ces gènes sont HQ848391, AB029935, DQ090946, U32428, AY196004, AY005474, AY286097, X85228 et AJ556991, respectivement. Les gènes de référence utilisés sont *tub6* (β -tubuline 6) et *gapdh* (glycéraldéhyde-3-phosphate déshydrogénase) dont les codes d'accès GenBank sont U76897 et AF251217. Six feuilles issues de pots différents sont utilisées pour chaque modalité.

Analyses des données

L'ensemble des expérimentations réalisées au laboratoire a été répété au minimum deux fois dans le temps. Les résultats sont exprimés en calculant la moyenne entre ces répétitions. Deux modalités témoins sont incluses dans les essais : une modalité témoin non traitée inoculée (nTI) utilisée pour les tests de protection, les colorations cytologiques et pour les tests CWDE et une modalité témoin non traitée non inoculée (nTnI) utilisée pour les tests CWDE et d'induction des enzymes et gènes de défense.

L'effet biocide direct *in vitro* des SDP a été déterminé en calculant la concentration inhibant 50 % de la germination des spores ou de la croissance mycélienne (CI_{50}). Les notations phénotypiques au champ ont été synthétisées pour chaque modalité en calculant la moyenne des AUDPC (*area under disease progress curve*) pour les feuilles F1, F2 et F3. La comparaison des différentes modalités pour l'ensemble des paramètres a été réalisée avec le test ANOVA de Tukey à $P = 0,05$ avec le logiciel Xlstat, sauf pour les niveaux de sporulation qui ont été comparés avec le test non paramétrique de Kruskal-Wallis à $P = 0,05$. L'analyse des modalités au champ a été effectuée avec le test ANOVA de Tukey à l'aide du logiciel R.

La corrélation entre les différents paramètres étudiés au laboratoire a été déterminée avec le test de corrélation de Spearman à l'aide de Xlstat.

3. Résultats

Efficacité de protection des SDP en conditions de laboratoire

Le comportement des trois cultivars vis-à-vis de la souche T01193 en conditions non traitées a été conforme à leurs niveaux de résistance rapportés précédemment par Arvalis-Institut du Végétal (Figure 1). Altigo se distingue de Premio et Alixan par ses faibles niveaux de symptômes, alors que Premio se différencie d'Alixan par son faible niveau de sporulation.

Aucun SDP n'a montré une efficacité significative avec la dose D4. En revanche, sur les quatorze SDP criblés avec la dose D1 sur les trois cultivars, en conditions contrôlées et semi-contrôlées, six ont montré des efficacités de protection significatives sur la septoriose (FSOV2, FSOV7, FSOV8, FSOV8Bis, FSOV9 et FSOV10). Cette efficacité a été observée à la fois sur les symptômes et la sporulation et sur les trois cultivars. FSOV2, FSOV7, FSOV8, FSOV8Bis, FSOV9 et FSOV10 ont réduit respectivement les symptômes de 58, 96, 50, 39, 100 et 70 % sur Alixan, de 78, 96, 78, 13, 100 et 88 % sur Premio et de 69, 97, 80, 71, 100 et 44 % sur Altigo. Les analyses statistiques ont révélé la présence d'interactions SDP-cultivar significatives pour certains produits, comme FSOV2, FSOV8 et FSOV8Bis (*résultats non présentés*). Bien qu'il ait été le plus efficace, FSOV9a présenté une forte phytotoxicité qui se manifestait par un raccourcissement de la taille des plantes. Un test supplémentaire de ce produit avec une demi-dose de D1 a permis de supprimer cet effet phytotoxique tout en gardant une bonne efficacité sur la maladie (-72% sur Alixan, -81% sur Premio et -82 % sur Altigo). Toutefois, FSOV9 a également présenté *in vitro* un effet biocide direct très élevé, avec des CI_{50} de 0,003 mL/L (D1/6666) et 0,009 mL/L (D1/2222) pour la germination des spores et la croissance mycélienne, respectivement. Ce produit a ainsi été écarté pour la suite des travaux pour cette raison.

Pour les autres produits, FSOV8 et FSOV8Bis n'ont montré aucun effet biocide direct, alors que FSOV7, FSOV2 et FSOV10 ont présenté avec la dose D1 des effets très faibles, faibles et élevés, respectivement (*résultats non présentés*).

Afin de vérifier l'effet dose sur l'efficacité des SDP, les produits FSOV2, FSOV7, FSOV8 et FSOV10 ont été criblés ultérieurement avec trois doses (D1, D2 et D3) sur les trois cultivars, avec l'utilisation d'une référence fongicide conventionnelle (Opus®). Les résultats ont mis en évidence un effet dose pour les quatre produits ainsi que pour le fongicide utilisé (Tableau 2). La dose D1 a été la plus efficace sur les trois cultivars, alors que la dose D3 a été la moins efficace. La dose D2 a présenté des efficacités intermédiaires sur les trois cultivars. Le produit FSOV8 a présenté des niveaux d'efficacité avec D1 moins importantes que lors des essais préliminaires. Cela pourrait être dû au lot ou à la stabilité biochimique du produit, dans la mesure où ce produit est d'origine naturelle.

Tableau 2. Pourcentage de réduction des symptômes en serre sur les trois cultivars après traitement avec le fongicide Opus®, FSOV2, FSOV7, FSOV8 et FSOV10 à D1, D2 et D3.

	Alixan			Premio			Altigo		
	D1	D2	D3	D1	D2	D3	D1	D2	D3
Opus®	99	93	7	99	86	13	99	99	20
FSOV2	79	63	2	73	67	9	15	38	10
FSOV7	96	94	8	96	93	34	97	95	25
FSOV8	0	18	0	27	3	12	39	14	0
FSOV10	70	20	0	88	40	6	44	38	12

Efficacité de protection des SDP au champ

En 2011, la pression septoriose a été faible à l'échelle nationale, due à la très faible pluviométrie de cette année. Peu de différences ont ainsi pu être mises en évidence entre les différentes modalités testées. Seul FSOV10, sur la variété Alixan, a induit une efficacité supérieure à celle de la référence basse et équivalente à celle de la référence haute (*résultats non présentés*). Des symptômes de phytotoxicité (taches nécrotiques) ont été observés avec FSOV10 sur Alixan, et surtout Altigo. Par ailleurs, le produit FSOV7 testé sur d'autres génotypes de blé n'a montré aucune efficacité (*résultats non présentés*).

En 2012, la pression de la maladie a été significative sur les trois variétés.

En considérant l'ensemble des variétés, en particulier l'AUDPC sur l'étage foliaire F2, mais également le rendement, seule la combinaison FSOV2+FSOV4 appliquée en association avec les fongicides s'est régulièrement distinguée statistiquement de la référence basse (*résultats non présentés*).

Si l'on considère exclusivement l'AUDPC sur la F2, aucun des autres produits testés ne s'est statistiquement différencié de la référence basse.

En revanche, FSOV2, FSOV7, FSOV8Bis et FSOV10+FSOV4, appliqués également en association avec les fongicides, ont présenté des niveaux de rendement statistiquement supérieurs à la référence basse sur la variété Alixan uniquement.

FSOV2Bis, FSOV4 et FSOV9, appliqués seuls (sans être associés à un traitement conventionnel), n'ont produit aucune efficacité. Pour l'année 2012, le dispositif expérimental mis en place n'était pas adapté pour tester statistiquement l'interaction génotype-SDP.

Pour les essais réalisés en 2012 avec FSOV2Bis sur un plus grand nombre de cultivars, aucune interaction SDP-cultivar significative n'a été obtenue. Seules des différences entre les conduites culturales extensive et intensive ont été détectées (*résultats non présentés*).

En 2013, la pression septoriose a été significative et a permis d'évaluer l'efficacité des SDP sur chacune des variétés et de tester l'interaction SDP-variété. Les données AUDPC pour les trois dernières feuilles, mais également date par date pour chacune des feuilles, ont été traitées en Split-Plot.

Les résultats ont mis en évidence des effets variété et traitement significatifs pour la plupart des variables analysées (Tableau 3). L'interaction est principalement significative sur F1 (AUDPC et notation du 04 et du 09 juillet) sur F2 (notation du 04 juillet) et sur F3 (notation du 10 juin).

Tableau 3. Niveaux de signification statistique des effets variété, traitement SDP et de leur interaction sur le contrôle de la septoriose. ***, **, * : significatif à $P = 0,001$, $0,01$ et $0,05$, respectivement. - : non significatif.

Effet variété	Effet traitement	Effet variété x traitement
---------------	------------------	----------------------------

AUDPCF1	***	***	***
AUDPCF2	**	***	-
AUDPCF3	**	***	-
F1 09 juillet	***	***	***
F1 04 juillet	***	***	**
F1 25 juin	**	*	-
F2 09 juillet	**	***	-
F2 04 juillet	**	***	*
F2 25 juin	*	***	-
F2 10 juin	*	***	-
F3 25 juin	-	*	-
F3 10 juin	**	**	*
F3 28 mai	-	-	-

Pour mieux apprécier la structure des interactions, les taux de réduction de l'AUDPC de chaque SDP par rapport à la référence basse et par rapport à la référence intermédiaire ont été calculés pour chaque variété et pour étage foliaire (Tableaux 4 et 5).

Tableau 4. Variation de l'AUDPC sur les différents étages foliaires et du rendement (Rdt) en % par rapport à la référence basse (en gras et grisé les réductions significatives à $P = 0,05$ et en gras les augmentations significatives à $P = 0,05$).

		FSOV2	FSOV2Bis	FSOV7	FSOV8	FSOV10	FSOV2Bis + FSOV4
Alixan	F1	-11	+8	-2	+2	-30	+44
	F2	-10	-3	+2	+5	-31	+18
	F3	-25	-28	-17	+4	-34	-8
	Rdt	+1,5	+1,1	-0,8	+0,9	+2,0	-1,1
Premio	F1	-25	-22	-9	-2	-36	+67
	F2	-23	-12	-36	-8	-39	-8
	F3	0	+1	-23	-5	-25	-9
	Rdt	+1,9	+1,5	+1,2	-0,1	+0,8	+0,6
Altigo	F1	-47	-34	-49	-34	-71	-4
	F2	-27	-28	-35	-18	-46	-16
	F3	-21	-18	-24	-20	-34	-15
	Rdt	+1,0	+1,7	+1,8	+1,6	+2,3	+0,5

Tableau 5. Variation de l'AUDPC sur les différents étages foliaires et du rendement (Rdt) en % par rapport à la référence intermédiaire (en gras et grisé les réductions significatives à $P = 0,05$ et en gras les augmentations significatives à $P = 0,05$).

		FSOV2	FSOV2Bis	FSOV7	FSOV8	FSOV10	FSOV2Bis + FSOV4
Alixan	F1	+23	+49	+36	+41	-3	+101
	F2	+9	+17	+23	+26	-18	+42
	F3	-15	-18	-6	+18	-22	+4
	Rdt	+1,3	+0,8	-1,1	+0,6	+1,7	-1,4
Premio	F1	+91	+97	+131	+149	+63	+331
	F2	+21	+32	+8	+36	+5	+36
	F3	+17	+19	-10	+11	-12	+7
	Rdt	+0,1	-0,2	-0,6	-1,9	-1,0	-1,1
Altigo	F1	+33	+65	+29	+67	-27	+143
	F2	+5	+4	-5	+19	-21	+22
	F3	-12	-8	-16	-11	-26	-6
	Rdt	-0,5	+0,3	+0,3	+0,2	+0,9	-0,9

Dans l'ensemble, la variété Altigo a présenté la plus forte réponse aux SDP, suivie d'Alixan puis Premio (Tableau 4). Pour ce qui est des produits, FSOV10 a été le plus régulier sur l'efficacité par rapport à la référence basse, particulièrement sur Altigo et Alixan (Tableau 4). Son efficacité n'est généralement pas significativement différente de la référence intermédiaire (Tableau 5). L'association FSOV2Bis + FSOV4 n'a présenté aucune efficacité significative sur les trois cultivars (Tableaux 4 et 5).

Les efficacités de FSOV2, FSOV2Bis, FSOV7 et FSOV8 semblent pour une part variété-dépendantes (Tableau 4). Sur l'étage foliaire F1, ces quatre produits apportent une protection significative par rapport à la référence basse uniquement sur Altigo (Tableau 4). Ce résultat indique la présence, dans les conditions du champ, d'interactions SDP-cultivar entre ces produits et les variétés utilisées. Aucun effet marqué des SDP sur le rendement n'a été constaté. Pour les quatre expérimentations de 2013 réalisées avec FSOV2Bis sur un plus grand nombre de cultivars, la pression de maladie a été particulièrement faible et/ou tardive. La protection fongicide appliquée au T2 avec Viverda® 1 L/ha semble avoir « lissé » les effets potentiels de la protection SDP appliquée au T0 et en association au T1.

Caractérisation des interactions SDP-cultivar dans les conditions de la serre

Après les travaux de criblage, trois SDP (FSOV2, FSOV7 et FSOV10) sont sélectionnés et étudiés pour leur interaction avec les trois cultivars et pour leurs modes d'action. Ces travaux de caractérisation sont réalisés avec la dose D3. FSOV7 a significativement réduit l'intensité de la maladie (symptômes et sporulation) sur les trois cultivars, alors que FSOV2 l'a réduit sur seulement Alixan et Altigo et FSOV10 sur seulement Premio et Altigo (Figure 1). Ces résultats confirment la présence d'interactions SDP-cultivar significatives vis-à-vis de la septoriose entre certains SDP et génotypes de blé tendre étudiés. Les trois produits présentent globalement une même tendance d'effets sur les symptômes et la sporulation (Figure 1).

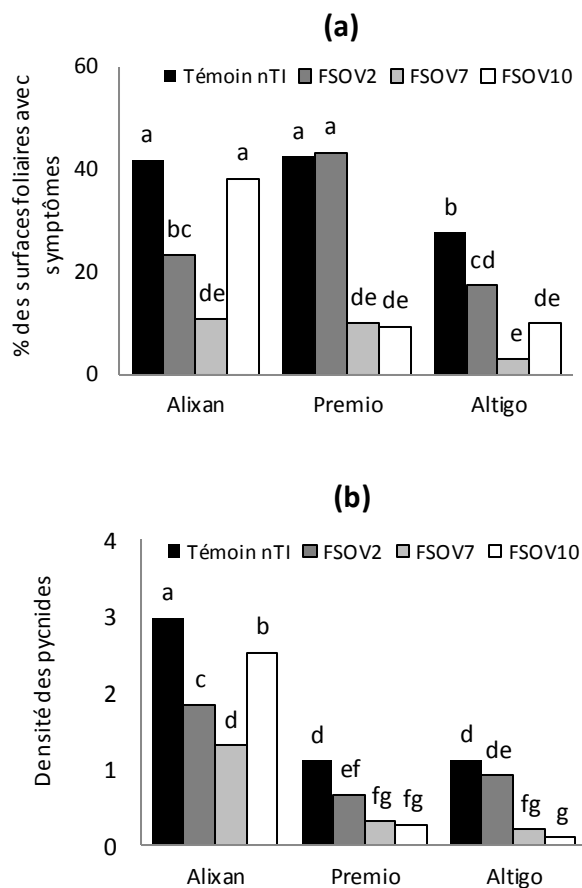


Figure 1. Efficacité de protection en serre de FSOV2, FSOV7 et FSOV10 sur les symptômes (a) et la sporulation (b) à 21 jpi sur les trois cultivars. Les moyennes taguées avec une lettre commune ne sont pas significativement différentes avec le test de Tukey à $P = 0.05$.

L'efficacité de protection est liée à la colonisation, mais pas à la germination et la pénétration

L'effet des SDP sur le processus infectieux du champignon a été évalué sur les trois cultivars. Aucun produit n'a montré d'effet direct sur la germination des spores, à l'exception de FSOV10 qui a légèrement réduit le taux de spores germées sur Premio et Altigo (Tableau 6). Ce résultat corrobore l'effet biocide direct partiel décelé *in vitro* pour ce produit. Aucune corrélation entre la germination des spores et l'efficacité de protection n'a été détectée (Tableau 7).

La pénétration des feuilles par le champignon a également été influencée par les produits. Le taux de pénétration a significativement été diminué par FSOV2 et FSOV7 sur Alixan et par FSOV10 sur Premio (Tableau 6). Globalement, le taux de pénétration ne semble pas être corrélé avec les efficacités de protection (Tableau 7).

Un effet marqué sur la colonisation a été observé sur les trois cultivars pour au moins un des produits (Tableau 6).

Cet effet est en liaison avec les taux de protection obtenus avec les SDP. Les niveaux de protection les plus élevés correspondent dans l'ensemble aux niveaux de colonisation les plus faibles (Figure 1, Tableau 6). L'analyse de corrélation a confirmé cette tendance et a montré une forte association entre le taux de colonisation et l'efficacité de protection (Tableau 7).

Tableau 6. Effet de FSOV2, FSOV7 et FSOV10 sur le processus infectieux du champignon sur les trois cultivars. Les moyennes d'une même colonne taguées avec une lettre commune se sont pas significativement différentes avec le test de Tukey à $P = 0.05$.

		% SG	% SGP	% CC	% CCP
Alixan	nTI	69 abc	53 ab	79 a	19 abc
	FSOV2	72 ab	35 cd	77 ab	12 abc
	FSOV7	73 a	33 cd	55 bcd	13 abc
	FSOV10	59 abc	41 abcd	76 abc	25 a
Premio	nTI	71 ab	55 a	72 abc	24 ab
	FSOV2	58 abc	44 abc	68 abc	13 abc
	FSOV7	66 abc	44 abc	31 ef	4 c
	FSOV10	53 c	38 bcd	33 def	7 bc
Altigo	nTI	73 a	39 abcd	73 abc	5 c
	FSOV2	68 abc	53 ab	53 cde	4 c
	FSOV7	70 abc	33 cd	28 f	4 c
	FSOV10	55 bc	25 d	40 def	3 c

SG: spores germées; SGP: spores germées donnant lieu à un évènement de pénétration; CC: cavités stomatiques colonisées; CCP: cavités stomatiques colonisées avec pycnides; nTI, témoin non traité inoculé.

L'efficacité de protection est liée à la réduction des activités CWDE fongiques

L'impact des SDP sur les activités xylanase, glucanase et protéase du champignon a été étudié sur les trois cultivars. La production de ces activités sur les témoins non traités inoculés débute à 17 jpi, au moment du basculement du parasite vers la phase nécrotrophe (*résultats non présentés*). Le taux de ces activités ensuite augmente jusqu'à 21 jpi, avec une cinétique qui coïncide avec la sporulation. Une production marquée de ces activités a été obtenue seulement sur Alixan (Figure 2), due probablement à son niveau de sensibilité et donc de sporulation plus élevé comparativement à Premio et Altigo (Figure 1). Le traitement avec les SDP a réduit le niveau d'activité de ces enzymes sur Alixan, avec une réduction des symptômes et de la densité de pycnides. Seuls les produits efficaces (FSOV2 et FSOV7) ont également réduit le niveau de ces activités enzymatiques (Figure 1, Figure 2). Une corrélation élevée entre l'efficacité de protection et la réduction de ces trois activités a été mise en évidence (Tableau 7).

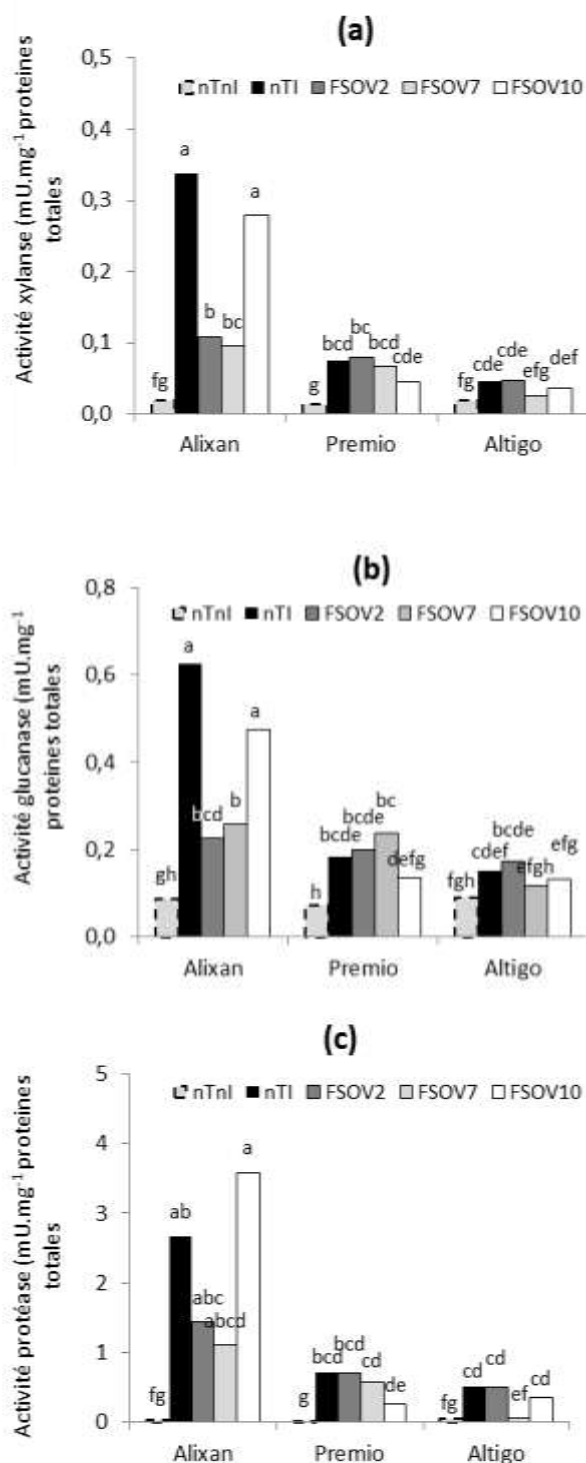


Figure 2. Effet de FSOV2, FSOV7 et FSOV10 sur les activités xylanase (a), glucanase (b) et protéase (c) à 21 jpi sur les trois cultivars. nTI, témoin non traité non inoculé. nTI, témoin non traité inoculé. Les moyennes taguées avec une lettre commune se sont pas significativement différentes selon le test de Tukey à $P = 0.05$.

Tableau 7. Coefficient de corrélation entre le niveau de la maladie (symptômes et sporulation) et les différentes composantes du pouvoir pathogène du champignon en conditions traitées inoculées.

	Symptômes 21 jpi	Sporulation 21 jpi
Germination 1 jpi	0,13	0,12
Pénétration 5 jpi	0,36	0,29
Colonisation 21 jpi	0,81	0,71
Xylanase 21 jpi	0,45	0,64
Glucanase 21 jpi	0,46	0,72
Protéase 21 jpi	0,45	0,73

En gras les valeurs élevées

Absence de corrélation entre les activités PO et PAL et l'efficacité de protection

L'induction de la PO et de la PAL par les trois SDP a été suivie lors des premières heures après traitement, en conditions non inoculées. Seul FSOV10 a induit la PO (Figure 3). L'induction de cette activité prend effet de façon très précoce, dès 12 hat. Toutefois, aucune corrélation n'a été obtenue entre l'induction de cette activité et l'efficacité de protection (*résultats non présentés*). Pour la PAL, FSOV10 est le SDP qui a également induit les quantités les plus élevées de cette enzyme. Comme pour la PO, aucune association entre l'induction de la PAL et l'efficacité de protection n'a été observée (*résultats non présentés*).

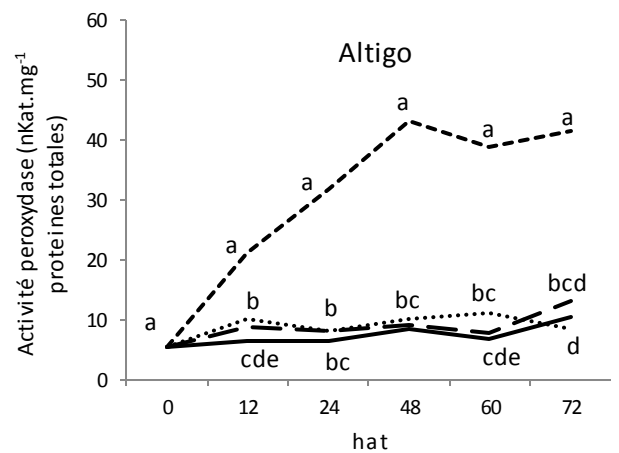
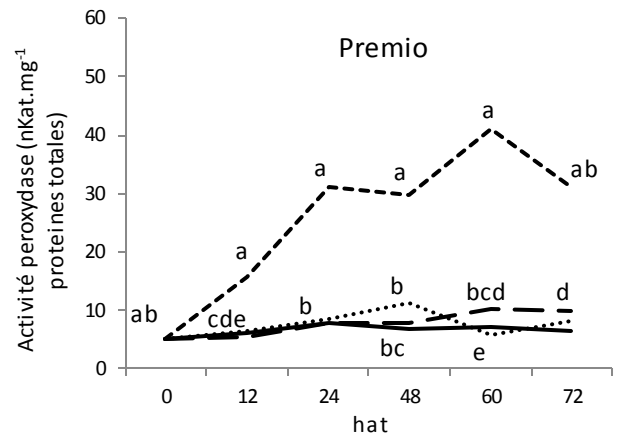
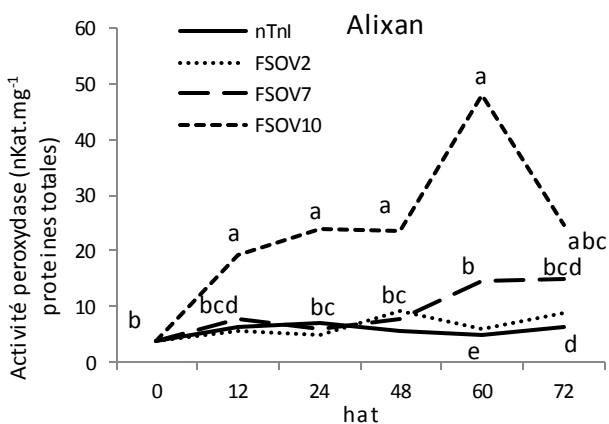


Figure 3. Elicitation de l'activité peroxydase chez les trois cultivars après traitement avec FSOV2, FSOV7 et FSOV10 en conditions non inoculées. nTnl, témoin non traité non inoculé. Les moyennes de chaque jour après traitement taguées avec une lettre commune se sont pas significativement différentes selon le test de Tukey à $P = 0.05$.

Absence d'association entre le niveau d'induction des dix gènes de défense étudiés et l'efficacité de protection

L'expression de dix gènes de défense a également été évaluée lors des premières heures après traitement, en conditions non inoculées. Premio et Altigo ont présenté pour tous les gènes étudiés des niveaux d'expression intrinsèque plus élevés comparativement à Alixan (Tableau 8). Le niveau d'expression entre Premio et Altigo varie en fonction du gène considéré.

Tableau 8. Effet cultivar sur l'expression relative des dix gènes de défense étudiés en conditions non traitées non inoculées. Les moyennes d'une même ligne taguées avec une lettre commune se sont pas significativement différentes selon le test de Tukey à $P = 0.05$.

	Alixan	Premio	Altigo
<i>pr1</i>	1 ^b	10.9 ^a	9.1 ^a
<i>chit2</i>	1.0 ^b	2.1 ^a	1.4 ^b
<i>gluc</i>	1.0 ^b	9.9 ^a	10.8 ^a
<i>lox</i>	1.0 ^b	1.5 ^a	1.2 ^{ab}
<i>aos</i>	1.0 ^b	3.6 ^a	4.5 ^a
<i>pal</i>	1.0 ^b	2.7 ^a	1.4 ^b
<i>chs</i>	1.0 ^a	0.6 ^b	0.6 ^b
<i>pox2</i>	1.0 ^b	2.1 ^a	0.8 ^b
<i>oxo</i>	1.0 ^b	5.1 ^a	1.5 ^b

Tous les produits ont induit l'expression des gènes étudiés sur les trois cultivars, mais le niveau d'expression, ainsi que le moment de l'induction, dépendent grandement du produit et du cultivar considéré (Figure 4). Les profils d'expression des gènes *pox2* et *pal* (codant pour une PO et une PAL, respectivement) ne semblent pas suivre les profils d'activité enzymatique obtenus pour la PO et la PAL (Figure 3, Figure 4). Cette différence peut s'expliquer par le fait que la PO et la PAL sont des activités enzymatiques déterminées de façon polygénique. Aucune liaison entre le profil d'expression des gènes et l'efficacité de protection ne peut être constatée (Figure 1, Figure 4).

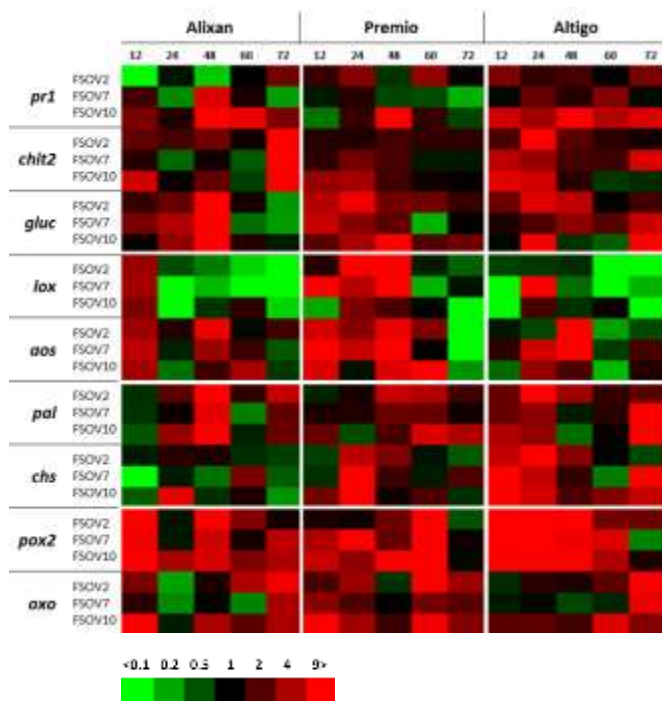


Figure 4. Expression relative des dix gènes de défense étudiés sur Alixan, Premio et Altigo après traitement avec FSOV2, FSOV7 et FSOV10 en conditions non inoculées. Les chiffres indiquent l'heure après traitement.

4. Conclusions

Ce projet a permis d'étudier pour la première fois le fonctionnement des SDP sur le pathosystème blé-septoriose. Sur les quatorze SDP criblés en conditions de laboratoire sur les trois cultivars, seuls six présentent des efficacités significatives, et dose-dépendantes, vis-à-vis de la maladie.

Certains produits ont été écartés de l'étude à cause de leur forte activité biocide directe, comme FSOV9, qui a présenté un niveau d'effet direct comparable à celui des pesticides conventionnels. Une irrégularité d'efficacité a été observée pour certains produits, comme FSOV8, due probablement à son principe actif d'origine naturelle, potentiellement instable.

Au champ, l'efficacité des produits dépend de leur insertion ou non dans un programme conventionnel. Aucun SDP appliqué seul n'a montré une quelconque efficacité. Seuls ceux associés à un traitement fongicide ont apporté un complément d'efficacité, mais le plus souvent non significatif statistiquement. La nécessité de recourir à des associations avec des produits conventionnels pour améliorer la performance des SDP au champ est ainsi à souligner.

Les résultats ont décelé des interactions SDP-cultivar significatives à la fois en serre et au champ. En serre, ces interactions ont été marquées pour FSOV2 et FSOV10, alors qu'au champ, elles l'ont été pour FSOV2, FSOV2Bis, FSOV7 et FSOV8 principalement sur l'étage foliaire F1. Ces résultats soulignent l'importance du choix variétal dans l'utilisation des SDP pour lutter contre la septoriose du blé, mais également pour évaluer l'activité de nouveaux candidats.

La caractérisation du mode d'action de FSOV2, FSOV7 et FSOV10 a montré que l'efficacité de ces produits est fortement corrélée à certains paramètres caractérisant le développement du champignon comme la colonisation du mésophile, la sporulation et la production de CWDE (xylanases, glucanases et protéases). En revanche, l'efficacité de ces SDP ne semble pas être associée, ni à l'élicitation des activités PO et PAL, ni à l'expression des gènes *pr1*, *chit2*, *gluc*, *lox*, *aos*, *pal*, *chs*, *pox2* et *oxo* chez le blé.

L'absence d'activité biocide directe associée à une efficacité *in planta* pour FSOV2 et FSOV7 à la dose D3

suggère cependant que leur efficacité est due à une stimulation de réactions de défense de la plante qu'il reste à caractériser.

Pour FSOV10, son efficacité pourrait être liée à un double effet (direct et indirect), qui pourrait expliquer ses bons résultats procurés au champ dans certaines conditions. Les travaux engagés sur ce pathosystème ont permis de souligner la complexité des interactions en jeu et invite à une caractérisation complémentaire du mode d'action des trois produits sélectionnés pour identifier les voies de défense associées à leur efficacité.

Références bibliographiques

Douaiher M.N., Nowak E., Dumortier V., Durand R., Reignault P., Halama P., (2007) *Mycosphaerella graminicola* produces a range of cell wall-degrading enzyme activities in vitro that vary with the carbon source. *European Journal of Plant Pathology* 117, 71-79.

Hellweg M. (2003) Molecular biological and biochemical studies of proteolytic enzymes of the cereal pathogen *Fusarium graminearum*. *PhD thesis*, Münster University, Germany.

Mitchell H.J., Hall J.L., Barber M.S. (1994) Elicitor-induced cinnamyl alcohol dehydrogenase activity in lignifying wheat (*Triticum aestivum* L.) leaves. *Plant Physiology* 104: 551-556

Reglinski T., Lyon G.D., Newton A.C. (1994) Assessment of the ability of yeast-derived elicitors to control barley powdery mildew in field. *New Phytologist* 101: 1-10.

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

Siah A., Deweer C., Morand E., Reignault Ph., Halama P. (2010b) Azoxystrobin resistance of French *Mycosphaerella graminicola* strains assessed by four in vitro bioassays and by screening of G143A substitution. *Crop Protection* 29: 737-743.

Tian S.M., Weinert J., Zaho Q.H. (2009) Correlation between cell wall-degrading enzymes in wheat leaves infected by *Septoria tritici* and disease severity. *Canadian Journal of Plant Pathology* 31: 387-392.