

Évaluation de produits alternatifs contre la galle du collet (*Agrobacterium* spp.) dans les cultures biologiques de framboises

Octobre 2023

Table des matières

Résumé.....	1
Introduction	2
Matériel et méthodes.....	3
Résultats	6
Discussion et conclusions	9
Références.....	10

Auteurs

André Ançay¹
 Frédéric Grossmann Schlupe²
 Louis Sutter^{1*}
 Michael Bochsler³
 Bastien Christ¹

¹ Agroscope, Conthey

² Biohof Feld, Schnottwil

³ Watair GmbH, Frauenkappelen

* Auteur correspondant

Résumé

La galle du collet, causée par des souches pathogènes d'*Agrobacterium* spp. et de *Rhizobium* spp., se caractérise par la formation de tumeurs sur la couronne et les racines des plantes herbacées et ligneuses chez de nombreuses familles végétales. Les cultures de baies, telles que les framboises, les mûres et les myrtilles, peuvent être gravement affectées par la maladie. En cas de forte infestation, la vigueur de croissance de la plante peut être altérée et le rendement considérablement réduit.

Il n'existe actuellement aucun produit homologué en Suisse (conventionnel et biologique) pour lutter contre la propagation des bactéries tumorigènes, et les seules mesures efficaces connues sont (1) l'utilisation de jeunes plantes saines, (2) l'élimination des plantes infectées et (3) la rotation des cultures.

L'objectif de cette étude réalisée en 2021 était d'évaluer l'efficacité de plusieurs stratégies basées sur des produits alternatifs pour contrôler la propagation de bactéries tumorigènes dans les cultures de framboises. Nos données suggèrent que l'ajout de Xeral dans l'eau d'irrigation pourrait être un traitement curatif très efficace contre la maladie.



Figure 1: Galles sur les racines de framboisiers



Introduction

Les bactéries tumorigènes et induisant une forte croissance anormale des racines («cary roots») affectent de nombreuses espèces de plantes et causent des pertes significatives dans la production de fruits et légumes (Pulawska, 2010). La galle du collet chez le framboisier (*Rubus idaeus* L.; figure 1) et d'autres *Rubus* spp. est causée par des souches tumorigènes d'*Agrobacterium* et de *Rhizobium* (appelées par la suite *Agrobacterium* spp.) et a été décrite dans la plupart des zones de production à travers le monde (De Cleene and De Ley, 1976; Weller et al., 2004). Les *Agrobacterium* spp. vivent dans le sol ou à la surface des plantes. Une fois présentes dans un champ, elles peuvent survivre pendant des années dans le sol en tant que saprophytes. Elles sont disséminées par les éclaboussures de pluie, l'eau d'irrigation, les outils de taille, le vent, les insectes, les machines agricoles et le matériel de propagation contaminé (boutures et greffons). Ces bactéries sont des agents pathogènes des plaies et l'infection se produit au niveau de la couronne et des racines. Les blessures sont induites par le développement des racines latérales, les cicatrices foliaires et les dégâts causés par l'hiver. Les blessures mécaniques se produisent lors de la taille, de l'élevage et de la récolte. En cas de forte infestation, la vigueur de croissance de la plante peut être affectée et le rendement peut être réduit de manière significative (De Cleene and De Ley, 1976; Weller et al., 2004).

En Suisse, il n'existe actuellement aucune méthode conventionnelle ou biologique homologuée pour lutter contre la propagation d'*Agrobacterium* spp. Les seules mesures efficaces connues sont (1) l'utilisation de jeunes plantes saines, (2) l'élimination des plantes infectées et (3) la rotation des cultures. Une lutte biologique efficace contre les *Agrobacterium* spp. tumorigènes a été décrite avec des souches d'*Agrobacterium radiobacter* (telles que K-84 et K-1026), mais les produits commerciaux ne sont pas disponibles en Suisse car la plupart des souches sont considérées comme génétiquement modifiées.

L'objectif de cet essai réalisé *on farm* en 2021 à Schnottwill (SO) était d'évaluer l'efficacité de plusieurs stratégies basées sur des produits alternatifs pour contrôler la propagation d'*Agrobacterium* spp. dans les cultures de framboises biologiques. Les produits, substances actives / micro-organismes suivants et leurs activités supposées ont été testés:

- **RV**, RhizoVital42 (Andermatt Biocontrol), *Bacillus amyloliquefaciens* FZB42, compétition avec *Agrobacterium* spp. dans le sol;
- **XED**, Xeral (Watair), acide hypochloreux, désinfection du système d'irrigation, contrôle des *Agrobacterium* spp. dans les couches supérieures du sol, stimulation de la croissance et de la défense des plantes;
- **SB**, S-system - Brotaverd (Idai Nature), S-system (manganèse sous forme de sulfate 1 % et zinc sous forme de sulfate 1 %), Brotaverd (engrais), stimulation de la croissance/défense des plantes;
- **BB**, Bactosand (Agribort phyto), complexe de cuivre, stimulation de la croissance et de la défense des plantes.

Différentes stratégies ont été mises en œuvre dans le cadre de trois essais indépendants sur trois variétés de framboises plantées en 2019 et 2021.

Matériel et méthodes

Traitements

Les traitements et les produits évalués dans le cadre de cette étude sont résumés dans le tableau 1.

Tableau 1: Résumé des produits et des stratégies de contrôle utilisés dans cette étude.

ID	Traitement	Produit	Substance active	Mode d'action supposé	Dose	Type de traitement	Fréquence d'application
NU	Témoin non traité	-	-	-	-	-	
RV	RhizoVital42	RhizoVital42 (Andermatt Biocontrol)	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> FZB42 (mini. $2,5 \times 10^{10}$ spores/ml)	Compétition avec <i>Agrobacterium</i> spp. dans le sol	2 l/ha	Arrosage (ponctuel)	Deux fois par saison
XED	Xeral (dosatron)	Xeral (Watair)	Acide hypochloreux (330 ppm)	Désinfection du système d'irrigation, contrôle d' <i>Agrobacterium</i> spp. dans les couches supérieures du sol, stimulation de la croissance / défense des plantes	2,0 % dans le système d'arrosage	Arrosage (continu avec Dosatron)	Lors de chaque cycle d'arrosage
RV+ XE	Xeral et Rhizovital	Xeral (Watair) et Rhizovital	Acide hypochloreux (330 ppm) et <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> FZB42 (mini. $2,5 \times 10^{10}$ spores/ml)	Compétition avec <i>Agrobacterium</i> spp. dans le sol + contrôle d' <i>Agrobacterium</i> spp. dans les couches supérieures du sol, stimulation de la croissance / défense des plantes	RV, 2 l/ha XE, 5 %, 2 l/m	Arrosage (ponctuel)	RV, deux fois par saison; XE, une fois avant le premier traitement par RV
SB	S-system - Brotaverd	Système S et Brotaverd (Idai Nature)	Système S (manganèse sous forme de sulfate 1 % et zinc sous forme de sulfate 1 %); Brotaverd (engrais; Cu 3,6 %, Mn 1,6 %, Zn 1 %).	Stimulation de la croissance et de la défense des plantes	Système S, 5 l/ha; Brotaverd, 8 l/ha	Arrosage (ponctuel)	Toutes les trois semaines pendant la saison
BB	Bactos et	Bactosand Forte (Agribort phyto)	Complexe de cuivre (Cu 12 %, chitosan, 2 %)	Stimulation de la croissance et de la défense des plantes	8 l/ha	Arrosage (ponctuel)	Toutes les trois semaines pendant la saison

Tableau 2: Traitements et calendrier d'évaluation.

Date	Application du produit
31.03.2021	Essai n°3 - Traitement n°1 [RV, SB, BB] sur les rangs 14 à 23 -; Xeral [XED] injecté à 2 % [rangs 18 et 23].
21.04.2021	Essai n°3 - Traitement n°2 [SB, BB] sur les rangs 14 à 23
21.05.2021	Essai n°1 - Traitement n°1 [RV, SB, RVXE] sur les rangs 6 à 9 Essai n°3 - Traitement n°3 [RV, SB, BB] sur les rangs 14 à 23
16.06.2021	Essai n°1 - Traitement n°2 [RV, SB, RVXE] sur les rangs 6 à 9 Essai n°2 - Traitement n°1 [RV, SB, RVXE] sur les rangs 10 à 13 Essai n°3 - Traitement n°4 [SB, BB] sur les rangs 14 à 23
19.07.2021	Essai n°3 - Xeral [XED] @ 0 % [rangs 18 et 23]
09.08.2021	Essai n°1 - Traitement n°3 [SB] sur les rangs 6 à 9 Essai n°2 - Traitement n°2 [RV, SB, RVXE] sur les rangs 10 à 13 Essai n°3 - Traitement n°5 [SB, BB] sur les rangs 14 à 23
20.09.2021	Essai n°1 - Traitement n°4 [SB] sur les rangs 6 à 9 Essai n°2 - Traitement n°3 [SB] sur les rangs 10 à 13 Essai n°3 - Traitement n°6 [SB, BB] sur les rangs 14 à 23
15.02.2022	Évaluation détaillée de la pression en maladie

Évaluation de l'efficacité

Une évaluation détaillée de l'efficacité a été réalisée le 15.02.2022 en évaluant la proportion de plantes avec des galles pour chaque répétition. Un total de huit (bloc de 16 m) plantes ou quatre plantes (bloc de 7 m) ont été évaluées comme suit. Les 10 cm supérieurs du système racinaire de la plante faisant face à l'extérieur (180°) de la ligne ont été observés en enlevant la terre à l'aide d'une petite pelle et des mains. L'absence et la présence de galles sur le système racinaire et la couronne de la tige ont été notées. L'analyse statistique a été effectuée comme décrit dans les légendes des figures.

Résultats

Efficacité du produit

L'évaluation de l'efficacité du produit a été réalisée le 15.02.2022. Le pourcentage de plantes avec galles sur la parcelle d'essai est représenté dans la figure 3.

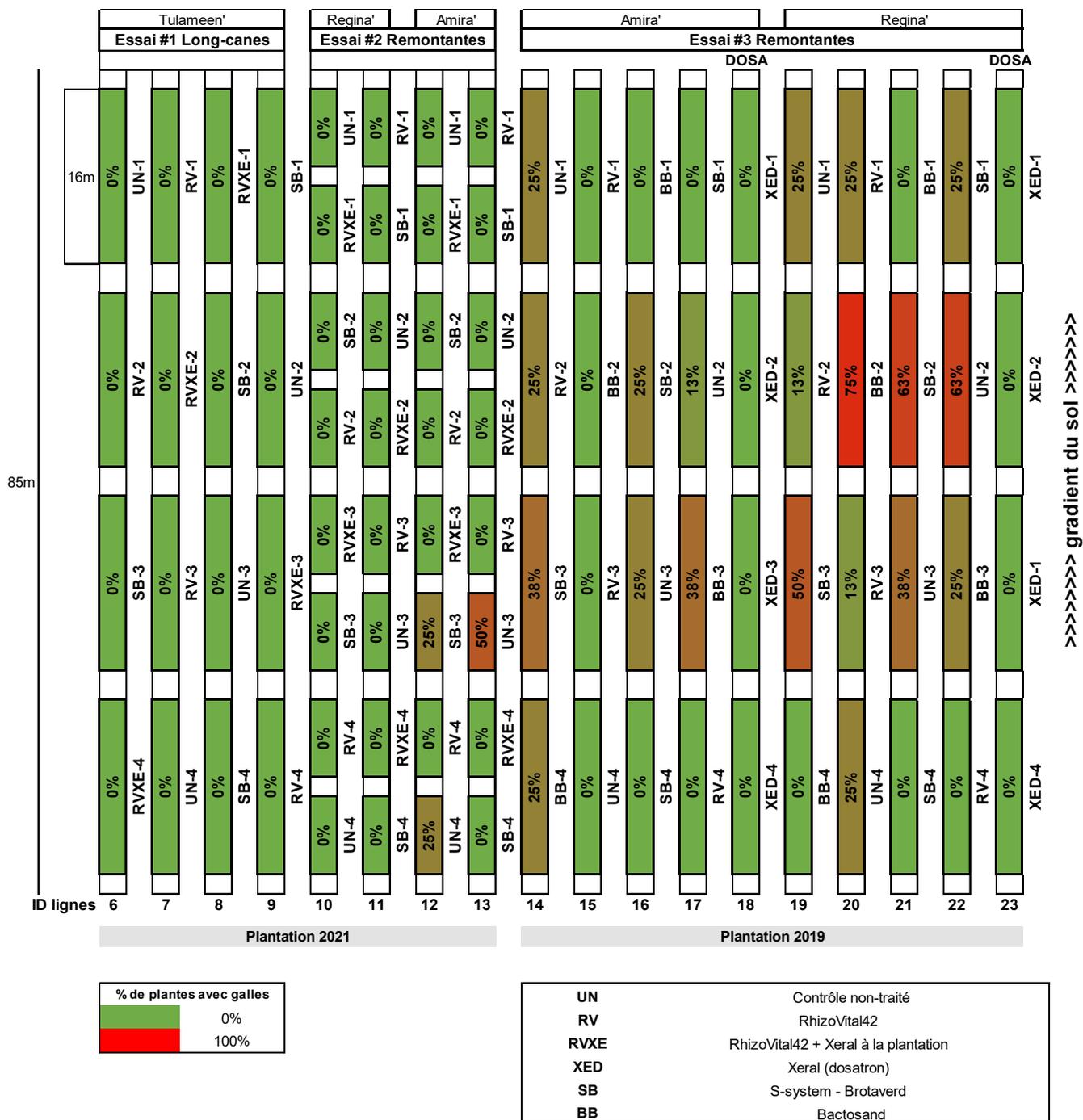


Figure 3: Pourcentage de framboisiers avec des galles dans chaque répétition spatiale.

Les framboisiers plantés en 2021 (essais #1 et #2, lignes 6-13) n'étaient pas, ou seulement faiblement, infestés par *Agrobacterium* spp. Des taux d'infestation plus élevés ont pu être observés pour les lignes «Amira» et «Regina» plantés en 2019 (essai #3, rangs 14-23). Malgré une variabilité assez élevée entre les répétitions spatiales, nos données pourraient indiquer que RhizoVital42 (RV) et Xeral (XED) peuvent réduire le taux d'infestation, comme le montrent les figures 3 et 4. La différence entre le témoin non traité et le RhizoVital 42 n'est cependant pas statistiquement significative. Le taux d'infestation des plantes traitées en continu avec du Xeral (2 % dans l'eau d'irrigation) était de 0 %, car nous n'avons trouvé aucune plante avec des galles dans les huit répétitions de ce traitement. L'analyse statistique indique que le traitement au Xeral induit une réduction statistiquement significative par rapport au témoin non traité pour les plantes «Regina» plantées en 2019 (valeur $p = 0,0095$; essai n°3), pour lesquelles le taux d'infestation est globalement plus élevé que pour «Amira». Enfin, les stratégies BB et SB basées sur les nutriments et le cuivre ne semblent pas avoir d'impact sur l'infestation des plantes par *Agrobacterium* spp.

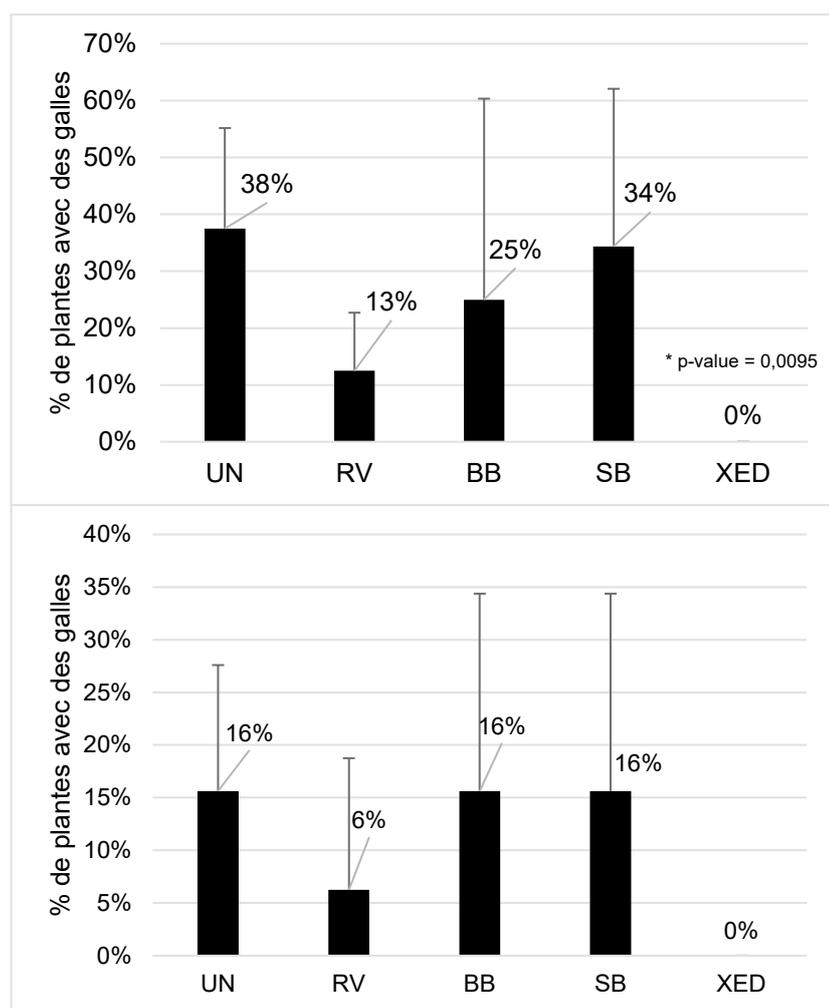


Figure 4: Taux d'infestation moyen (% de plantes avec des galles) sur les plantes «Regina» (en haut) et «Amira» (en bas) plantées en 2019. Les barres d'erreur représentent l'écart-type. * indique les traitements qui sont statistiquement significatifs par rapport au témoin non traité (UN) sur la base du test de Kruskal-Wallis suivi d'un traitement post-hoc FDR pour l'ajustement de la valeur p .

Résidus de chlorate

L'utilisation de produits contenant du chlore peut conduire à l'accumulation de chlorate (Hakme et al., 2022). Les résidus de chlorate dans les fruits mesurés par Eurofins (méthode LC-MS/MS accréditée ISO) sont présentés dans le tableau 3.

Tableau 3: Teneur en chlorate des fruits le 29.07.2022. La limite maximale de résidus (LMR) dans les framboises est de 0,05 mg/kg, conformément au règlement (UE) 2020/749 de la Commission.

Ligne et variété	Type d'échantillon	Variété	Traitement	Teneur en chlorate (mg/kg)
Ligne 18 - Amira	Fruits	Amira	Xeral (dosatron) à 2 % [31.03 - 19.07.2022]	< 0,01 mg/kg
Ligne 23 - Regina	Fruits	Regina	Xeral (dosatron) à 2 % [31.03 - 19.07.2022]	< 0,01 mg/kg

Le sol a été échantillonné le 15.02.2022 et le taux de chlorate a été mesuré chez Eurofins selon la méthode interne SPG-14.169.4 (tableau 4).

Tableau 4: Teneur en chlorate du sol échantillonné le 15.02.2022

Ligne et variété	Type d'échantillon	Traitement	Teneur en chlorate (mg/kg)
Ligne 17 - Amira	Sol	UN – témoin non-traité	< 0,01 mg/kg
Ligne 18 - Amira	Sol	XED (Xeral (dosatron)) à 2 % [31.03 - 19.07.2022]	< 0,01 mg/kg
Ligne 22 - Regina	Sol	UN – témoin non-traité	< 0,01 mg/kg
Ligne 23 - Regina	Sol	XED (Xeral (dosatron)) à 2 % [31.03 - 19.07.2022]	< 0,01 mg/kg

Discussion et conclusions

Cet essai réalisé *on farm* en 2021 révèle que le traitement au Xeral (solution d'acide hypochloreux) pourrait être une solution efficace pour éviter la propagation d'*Agrobacterium* spp. en plein champ (effet curatif potentiel). Bien que nous n'ayons pas investigué l'origine d'*Agrobacterium* spp. dans la parcelle d'étude, il est probable que la bactérie ait été introduite via des jeunes plantes contaminées. La bactérie s'est ensuite propagée dans le sol par le biais des mouvements d'eau et des pratiques agricoles. Xeral permet probablement de diminuer la propagation des bactéries dans la couche supérieure du sol en induisant une désinfection partielle et temporaire.

Les niveaux de chlorate dans les fruits sont inférieurs aux niveaux de détection (< 0,01 mg/kg). En outre, le chlorate ne semble pas s'accumuler dans le sol dans cet essai, car l'analyse des échantillons de sol le 15.02.2022 a montré que les niveaux de chlorate étaient inférieurs à la limite de détection. Les résidus de chlorate doivent être à nouveau contrôlés dans d'autres essais, y compris dans d'autres tissus tels que les feuilles, afin d'éviter toute accumulation dans les fruits et dans l'environnement.

Nous avons également observé une tendance (effet non statistiquement significatif par rapport aux témoins non traités) avec RhizoVital 42 (*Bacillus amyloliquefaciens* FZB42), qui pourrait également réduire partiellement le taux d'infestation. Si cet effet est confirmé dans d'autres essais, il pourrait être utile de combiner un traitement au Xeral (au cours d'une saison) avec une application de RhizoVital 42 (la saison suivante) étant donné qu'ils pourraient avoir des modes d'action complémentaires. Dans le cadre de nouveaux essais, nous recommandons donc de tester une injection temporaire de Xeral à 2 % pendant 3 mois (avril, mai et juin; injection à chaque cycle d'irrigation), suivie d'une application de Rhizovital 42 en juillet et août de la même année, et en avril et mai de l'année suivante. Ce traitement combiné est susceptible de montrer une bonne efficacité pour réduire la propagation d'*Agrobacterium* spp. Il peut également être recommandé d'appliquer préventivement Xeral pendant deux mois après la plantation de nouvelles cultures, car cela pourrait éviter la propagation d'*Agrobacterium* spp. à partir des jeunes plantes.

La production alimentaire dépend fortement de la protection des cultures. On estime qu'au moins 30 % des rendements agricoles seraient perdus en l'absence de lutte contre les ravageurs (Oerke and Dehne, 2004). Cependant, les systèmes de production conventionnels dépendent fortement de l'utilisation de produits phytosanitaires de synthèse qui peuvent avoir des effets négatifs sur l'environnement et la santé humaine (Pimentel and Burgess, 2013). Par conséquent, les produits phytosanitaires de synthèse sont progressivement interdits en réponse aux nouvelles législations en matière de sécurité (Chandler et al., 2011) et l'intérêt des consommateurs pour les aliments produits de manière durable ne cesse de croître (Yiridoe et al., 2005). Pour relever ce défi majeur, l'innovation scientifique est nécessaire pour développer de nouveaux produits permettant d'améliorer la protection des cultures contre les ravageurs tout en améliorant les rendements commercialisables. Cette étude sur *Agrobacterium* spp. montre que des produits innovants tels que Xeral peuvent faire partie de cette transition. Xeral possède de fortes activités bactéricides, fongicides et virucides associées à un faible coût du produit (0,02CHF/l), à un faible risque pour l'homme et l'environnement, et à une manipulation simple et sûre (Kim et al., 2000; Landa-Solis et al., 2005; Rivera-Garcia et al., 2019; Block and Rowan, 2020). Sur la base de ses applications homologuées actuelles dans divers domaines tels que l'industrie alimentaire, le traitement des brûlures et des troubles cutanés chez les humains et les animaux, la désinfection de l'eau et la protection contre les virus (y compris COVID-19), nous émettons l'hypothèse que Xeral pourrait être très utile pour améliorer la santé des plantes et la productivité des cultures, diminuer les impacts négatifs des systèmes agricoles sur l'environnement liés à la protection des cultures et améliorer la sécurité des agriculteurs et des denrées alimentaires.

Références

- Block MS, Rowan BG** (2020) Hypochlorous Acid: A Review. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery* **78**: 1461-1466
- Chandler D, Bailey AS, Tatchell GM, Davidson G, Greaves J, Grant WP** (2011) The development, regulation and use of biopesticides for integrated pest management. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* **366**: 1987-1998
- De Cleene M, De Ley J** (1976) The host range of crown gall. *The Botanical Review* **42**: 389-466
- Hakme E, Herrmann SS, Poulsen ME** (2022) Chlorate and perchlorate residues in food products on the Danish market. *Food Additives & Contaminants: Part A* **39**: 551-559
- Kim C, Hung Y-C, Brackett RE** (2000) Efficacy of electrolyzed oxidizing (EO) and chemically modified water on different types of foodborne pathogens. *International Journal of Food Microbiology* **61**: 199-207
- Landa-Solis C, Gonzalez-Espinosa D, Guzman-Soriano B, Snyder M, Reyes-Teran G, Torres K, Gutierrez AA** (2005) Microcyn: a novel super-oxidized water with neutral pH and disinfectant activity. *J Hosp Infect* **61**: 291-299
- Oerke EC, Dehne HW** (2004) Safeguarding production—losses in major crops and the role of crop protection. *Crop Protection* **23**: 275-285
- Pimentel D, Burgess M** (2013) Environmental and Economic Costs of the Application of Pesticides Primarily in the United States. *Integrated Pest Management* **3**: 47-71
- Pulawska J** (2010) Crown gall of stone fruits and nuts, economic significance and diversity of its causal agents: tumorigenic *Agrobacterium* spp. *Journal of Plant Pathology* **92**: S87-S98
- Rivera-Garcia A, Santos-Ferro L, Ramirez-Orejuel JC, Agredano-Moreno LT, Jimenez-Garcia LF, Paez-Esquiliano D, Andrade-Esquivel E, Cano-Buendia JA** (2019) The effect of neutral electrolyzed water as a disinfectant of eggshells artificially contaminated with *Listeria monocytogenes*. *Food Science & Nutrition* **7**: 2252-2260
- Weller SA, Stead DE, Mazzucchi U** (2004) Crown and cane gall of a blackberry-raspberry hybrid caused by *Agrobacterium rhizogenes* in northern Italy. *Journal of Plant Pathology* **86**: 161-165
- Yiridoe EK, Bonti-Ankomah S, Martin RC** (2005) Comparison of consumer perceptions and preference toward organic versus conventionally produced foods: A review and update of the literature. *Renewable Agriculture and Food Systems* **20**: 193-205

Impression

Éditeur	Agroscope Route des Eterpys 18 1964 Conthey www.agroscope
Informations	louis.sutter@agroscope.admin.ch
Copyright	© Agroscope 2023
ISSN	2296-7230

Exclusion de responsabilité

Agroscope décline toute responsabilité en lien avec la mise en œuvre des informations mentionnées ici. La jurisprudence suisse actuelle est applicable.