



Schweizerische Eidgenossenschaft
Confédération suisse
Confederazione Svizzera
Confederaziun svizra

Département fédéral de l'économie,
de la formation et de la recherche DEFR

Agroscope

Contrôle d'agrobacterium en culture de substrat **A**grobacterium-Kontrolle in Substratkultur

C. Camps.

20.11.2019

www.agroscope.ch | une bonne alimentation, un environnement sain



Groupe de Recherche Culture sous serre.

Agroscope Conthey

Équipe (3 à 4 pers.) - [Die Forschungsgruppe](#)

Cédric Camps (Gruppenleiter "Gewächshauskultur")

?? (Ingenieur-Gewächshaus)

?? (Scientifique)

Vincent Michel 20% (Wissenschaftler - Phytopathologie)

Robert Farinet (Gartenbautechniker)

2-3 Aushilfen, 1-3 Auszubildende

Serres / [Gewächshäuser \(2000m²\)](#)

4 x 360m² Venlo Gewächshäuser (2 Oberirdischer Anbau, 2 Bodenkultur)

4 x 90m²

6 x 60m²

3 phytotrons – chambres de cultures / [Wachstums-kammern](#)

Laboratoires - [Laboratorien](#)

Qualitäts- / Texturanalysen

einfache molekularbiologische Analysen (qPCR)

phytopathologische Analysen



GreenResilient - EU

Greenhouse Inter-Cropping Systems / **B**io-Gewächshäuser Mischkulturanbau

<https://www.greenresilient.net/>

GreenResilient-Projektpartnerländer -

Pays partenaires du projet GreenResilient.

Italie, Espagne, France, Suisse, Belgique, Pays-Bas, Danemark, Autriche, etc.

Versuchsstandorte des GreenResilient-Projekts.

Sites expérimentaux du projet GreenResilient.

Italie, France, Espagne (phytosanitaire), Suisse, Belgique, Danemark (énergie).





Cropping System-Anbausysteme

GreenHouse Cropping Systems: Contre plantation

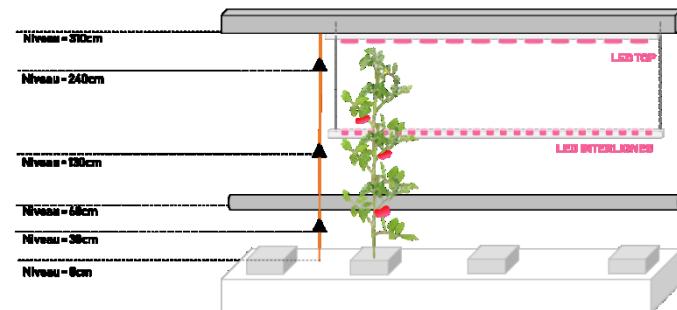
Gewächshaus-Anbausysteme: Winterkultur



Serre pour une culture d'hiver de tomate cherry avec éclairages LED interlignes et TOP.

Gewächshaus für eine Kirschtomaten-Winterkultur mit interlinearer und TOP-LED-Beleuchtung.

Schéma de montage pour la Serre H1

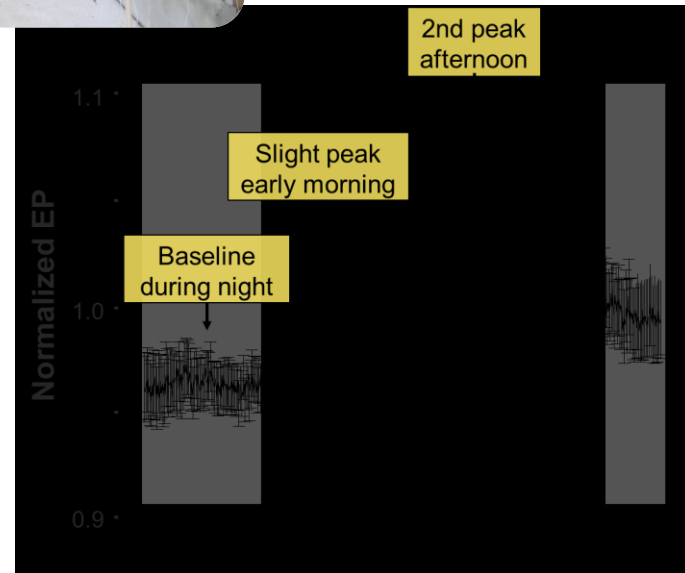
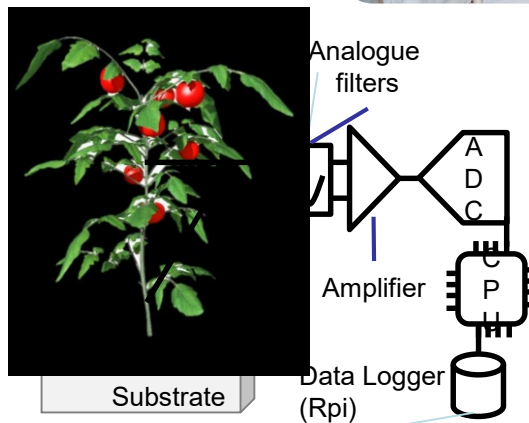


Montage des éclairages LED dans la serre ainsi que des capteurs de P.A.R. et de température (travail microclimat).

Installation der LED-Lampen im Gewächshaus mit P.A.R.- und Temperatur- Sensoren (Mikroklimatemanagement)



Digitalisation - Digitalisierung (1)



Electrophysiology.

Modélisation des besoins hydrique et nutritionnels des plantes de tomate en serre et des stress.

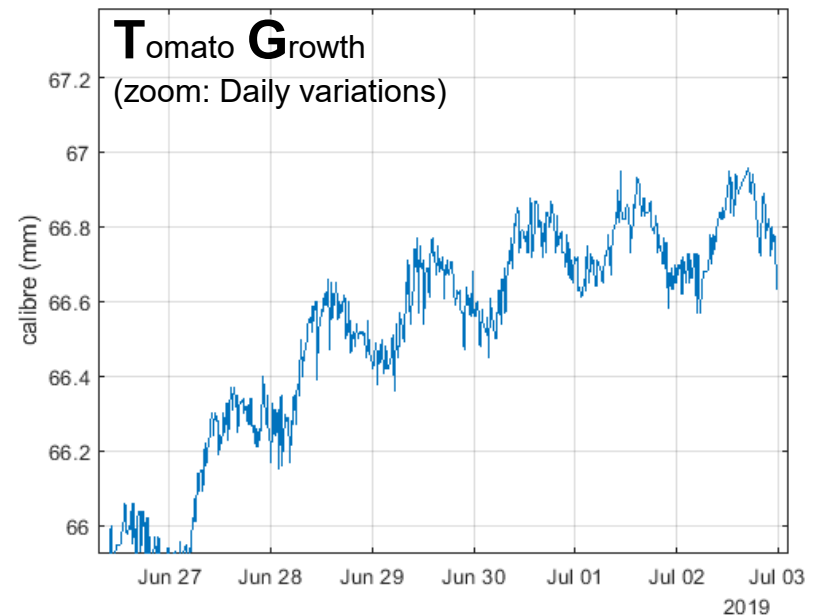
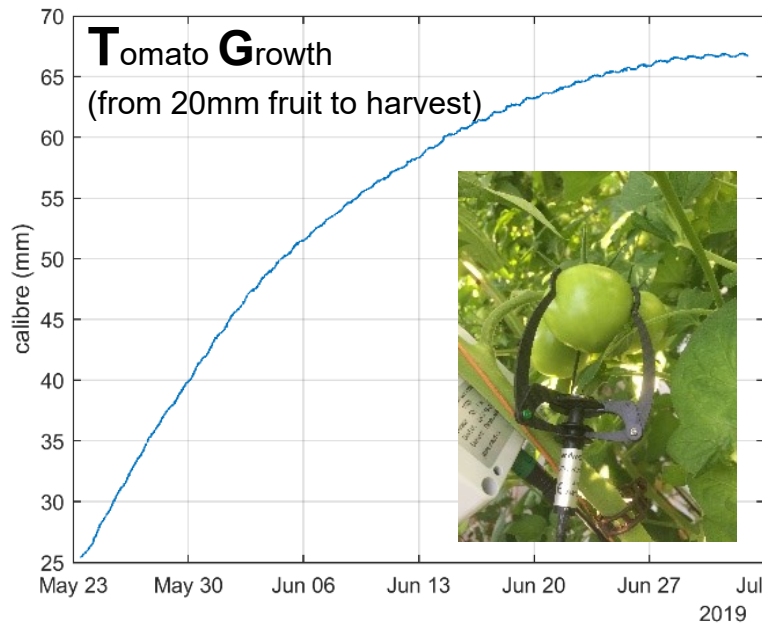
Modellierung von Bedarf an Wasser und an Nährstoffen von Tomatenpflanzen im Gewächshaus, sowie von Stresstoleranz.



Digitalisation - Digitalisierung (3)

Smart-Dendro / **Ü**berwachung online im Gewächshaus vom Fruchtwachstum und Modellierung des Wachstums in Abhängigkeit vom abiotischen Umfeld

Suivi de la croissance des fruits en serre on-line et modélisation des la croissance en fonction des conditions abiotiques environnementales.





Projet «Hairy Root Disease - Crazy roots - Haarwurzelkrankheit»

I

Introduction

Projet crazy roots vs. *A. Rhizogenes*
Problèmes en culture serre sur substrat

L

Le projet

qPCR & Image analyses
Techniques culturales (pains de culture)
Désinfections (H_2O_2) et autres produits
Lutte par BCO

C

Conclusions

E

Einführung

Projekt übermäßige Wurzelwucherung vs. *A. rhizogenes*
Probleme in der Gewächshauskultur auf Substrat

D

Das Projekt

qPCR & Bildanalysen
Kulturtechniken (Anzuchtmatten)
Desinfektion (H_2O_2) und andere Produkte
Bekämpfung mit BCO

S

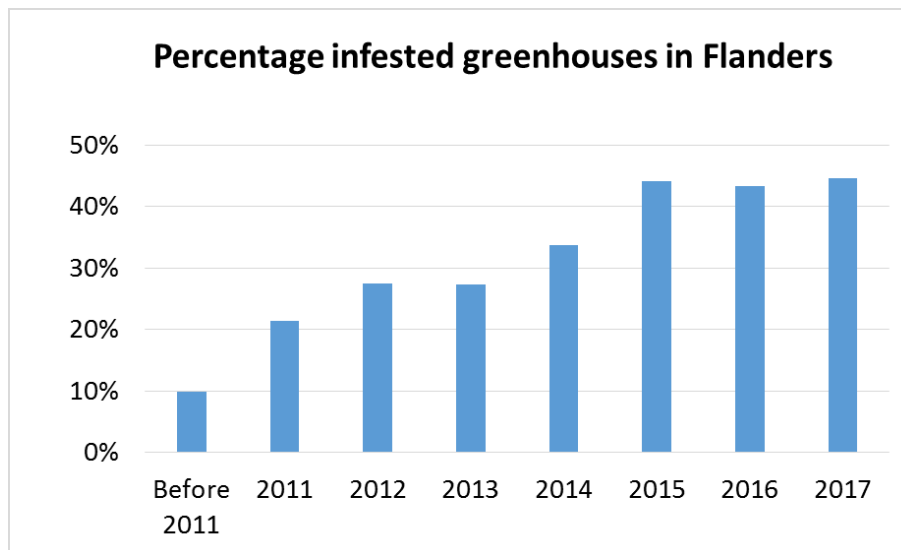
Schlussfolgerungen

Histoire - Geschichte

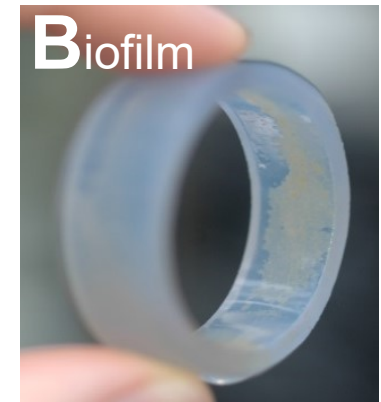
First symptoms: 1970, UK

Tomaten, Gurken, Auberginen (Hydrokultur)

Schnell zunehmende Krankheit



Techniques culturales (pains de culture) - Kulturtechniken (oberirdisch)





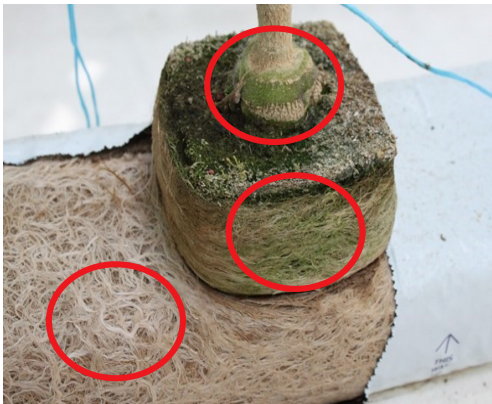
Problématique - Problematik

Europäisches C-IPM-Projekt zwischen Belgien, Frankreich und der Schweiz.

Problematik *Agrobacterium rhizogenes*

- prolifération anormale des racines,
→ plantes végétatives, diminution des rendements,
- formation de biofilms **autour des racines et dans le réseau d'irrigation.**

- anormale Vermehrung von Wurzeln
→ vegetative Pflanzen, verringerte Erträge
→ - Biofilmbildung **um die Wurzeln und im Bewässerungsnetz.**



Symptômes sur aubergine



Biofilm



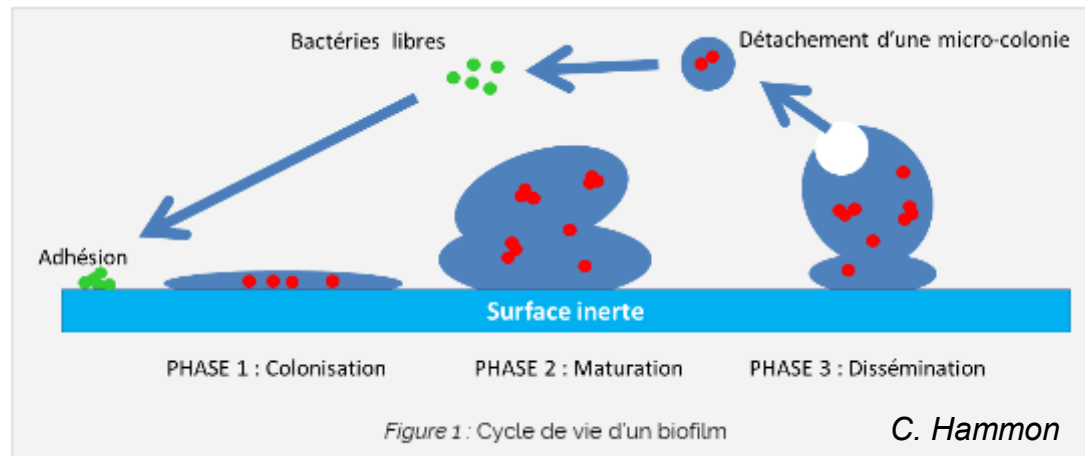
Was ist ein Biofilm?

Un biofilm est une **forteresse biologique** (R. Briandet).

- Certaines bactéries sont capables de former des amas structurés de cellules bactériennes enrobés dans une matrice et attachés à une surface: le biofilm.
- Le biofilm protège les bactéries et leur permet de survivre dans des conditions difficiles.
- Plusieurs phases se succèdent, lors de la formation d'un biofilm:

Ein Biofilm ist eine biologische Festung (R. Briandet).

- Einige Bakterien sind in der Lage, strukturierte Cluster von Bakterienzellen zu bilden, die in eine Matrix eingebettet und an eine Oberfläche gebunden sind: den Biofilm.
- Der Biofilm schützt die Bakterien und ermöglicht ihnen, unter schwierigen Bedingungen zu überleben.
- Bei der Bildung eines Biofilms folgen mehrere Phasen aufeinander:





Project Strategy

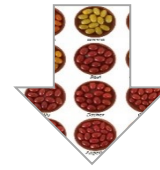
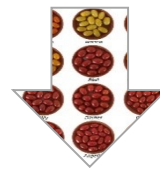
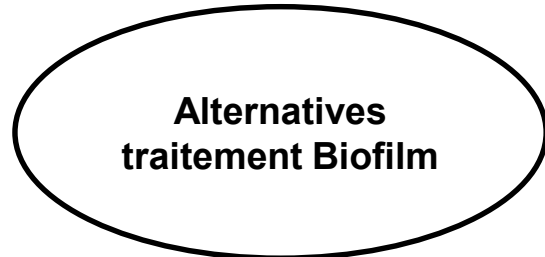
*Développer des solutions IPM durables à long terme
permettant de réduire les problèmes HRD: tomate, concombre et aubergine*

Entwicklung von nachhaltigen IPM-Lösungen auf lange Sicht
um HRD-Probleme zu reduzieren: Tomaten, Gurken und Auberginen

Système d'irrigation : stratégies pour prévenir la formation des biofilms,
Bewässerungssystem: Strategien zur Verhinderung der Bildung von Biofilmen,

Plante : méthodes culturales, techniques pour limiter l'expression des symptômes.
Pflanze: Kulturmethoden, Techniken zur Einschränkung des Ausprägung von Symptomen.

Rhizosphère (microflore) : recherche d'organismes de biocontrôle (BCO),
Rhizosphäre (Mikroflora): Suche nach Biokontrollorganismen (BCO),

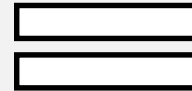
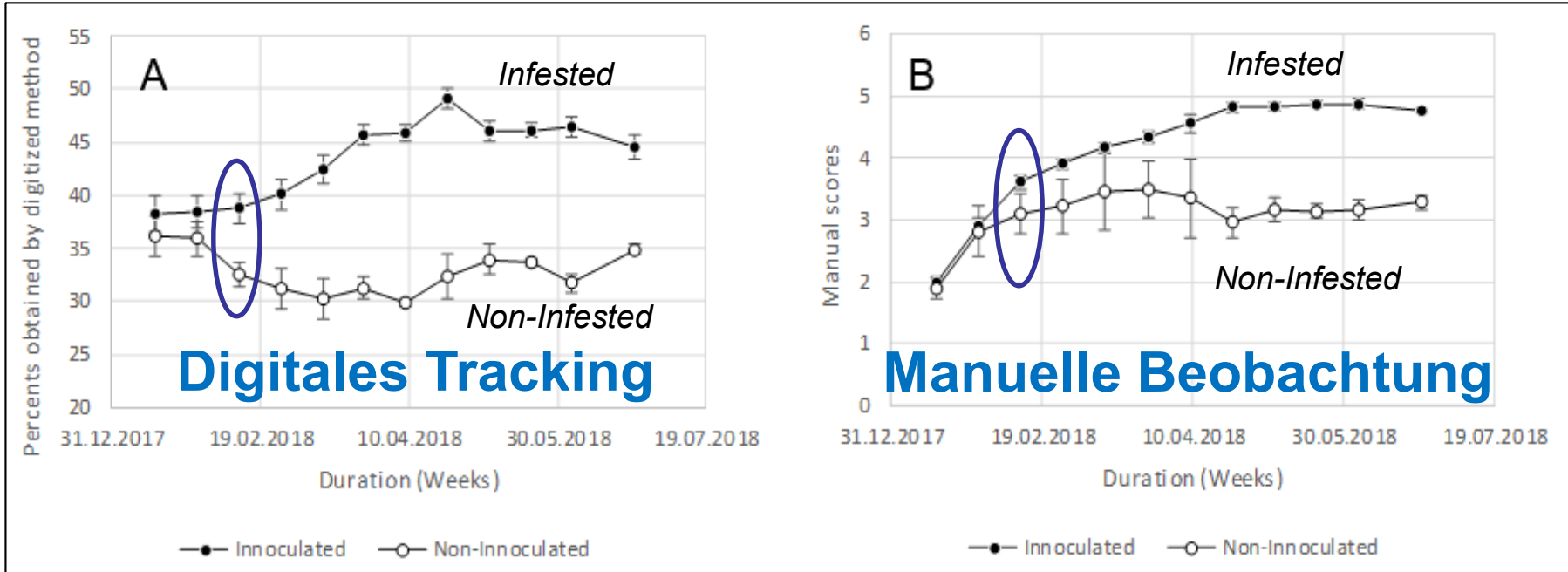


81 strains isolated from **81 Bakterienstämme isoliert** in the Netherlands, Switzerland, France, Germany, Poland, Russia, Canada, Belgium, Japan, and UK.



Diagnostics/ suivi de la maladie

Diagnose / Beobachtung der Krankheit



**Prozentsatz der Wurzel
im Wachstumsmedium
(%)**



Itinéraire chez les producteurs

Strategie für Hersteller(Belgien)

Pests & Diseases	Actions
Tuta absoluta	<p>2 x {Light traps} / ha qui brûlent chaque nuit. 24/24 lors des rotations de culture. Remplacées annuellement.</p> <p>Avant la plantation, des phéromones de perturbation de la reproduction sont placées (1000 / ha) ainsi que des pièges collants contenant des phéromones (10 / ha). Ils sont remplacés toutes les 6 semaines jusqu'à Avril à Mai.</p> <p>Macrolophus sont lâchés fin janvier.</p>
Whitefly	<p>Plus tard ait une</p>
Spider Mites	<p>Plus tard ait une</p>
Caterpillars	<p>2 x {pièges lumineux} sont placés en haut des cultures. Sous chaque piège lumineux, un container d'eau et de détergent est placé. En cas d'infestation, une application par spray de Dipel® est effectué.</p>
Russet mites	<p>Surveillance par les ouvriers de la serre. En Mars, la culture entière est sprayée, une fois avec Biosulfur et Magnesium sulfate. De mi-Avril à Octobre, le top 1.2m de la culture est sprayée 2 x par semaine de sorte que chaque tige soit sprayée 2 à 3 fois avec Biosulfur et magnesium sulfate.</p>

Die Bekämpfungsstrategie gegen *A. rhizogenes* ist fester Bestandteil einer globalen Gewächshausstrategie.

La stratégie de lutte contre *A. rhizogenes* est incluse dans une stratégie globale en serre.

ré au

Plus tard ait une

s
tion est
tué. Si la
réalisés

Itinéraire chez les producteurs

Strategie für Gewächshaushersteller

HRD «Agrobacterium»

Plusieurs semaines avant la fin de culture, un désinfectant est utilisé pour désinfecter les tuyaux d'irrigation.

Pendant le cycle de production, le stockage de l'eau utilisé est désinfecté.

Pendant les premières semaines de la nouvelle culture, le désinfectant est aussi utilisé (purge tuyaux et repart avec eau propre 1ere irrigation).

Le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) est utilisé à un niveau de 30ppm avant la désinfection UV.

Les eaux de pluies et de drainage sont aussi désinfectées par la combinaison H_2O_2 + UV.

Chaque matin, les tuyaux d'irrigation sont rincés de sorte que l'irrigation démarre avec une eau propre.

HRD "Agrobacterium"

Einige Wochen vor Kultivierungsende werden die Spülrohre mit einem Desinfektionsmittel desinfiziert.

Während des Produktionszyklus wird die Lagerung des verwendeten Wassers desinfiziert.

In den ersten Wochen der neuen Ernte wird auch das Desinfektionsmittel verwendet (Rohre und Blätter mit sauberem Wasser spülen, 1. Bewässerung).

Wasserstoffperoxid (H_2O_2) wird in einer Menge von 30 ppm vor der UV-Desinfektion verwendet.

Regenwasser und Drainage werden ebenfalls mit der H_2O_2 + UV-Kombination desinfiziert.

Jeden Morgen werden die Bewässerungsrohre gespült, damit die Bewässerung mit sauberem Wasser beginnt.



11 produits commerciaux testés

11 kommerzielle Produkte getestet

Table 1. List of the 11 commercial compounds evaluated for their preventive and/or curative effects against the biofilm formed by *A. rhizogenes*.

N°	Name	Supplier	Composition
Reference	CHLORE	GAMA29	Chlore à 2,6%
1	CLORIOUS 2	BRENNTAG	Dioxyde de chlore à 6000ppm
2	OXEE SHOCK	L&J AGROTECHNOLOGY	Peroxyde d'hydrogène à 50%
3	OXEE BACK	L&J AGROTECHNOLOGY	Peroxyde d'hydrogène à 35%
4	HUWA-SAN	BOAM TECHNOLOGY	Peroxyde d'hydrogène à 50%
5	UNIDELGO	TRAITAGRI	
6	AQUACEET	CEETAL	
7	ASPARCID	JYMSEA	
8	PM 0,03	JYMSEA	
9	ACTIVEG	ENERCAT	
10	MEXEL IRRIGATION	AQUAYAL	
11	VEG'LYS	PHYTOAUXILIUM	Composés tensioactifs (COV à base d'eau) à 78% et émulsifiant (polysorbate) à 22%

Curatif / Heilung

Asparcid et Oxee Back sont actuellement en évaluation dans un système pilote de production en France (projet français AGROFILM).

Asparcid und Oxee Back werden derzeit in einem Pilotproduktionssystem in Frankreich (französisches Projekt AGROFILM) evaluiert.

Préventifs / präventiv

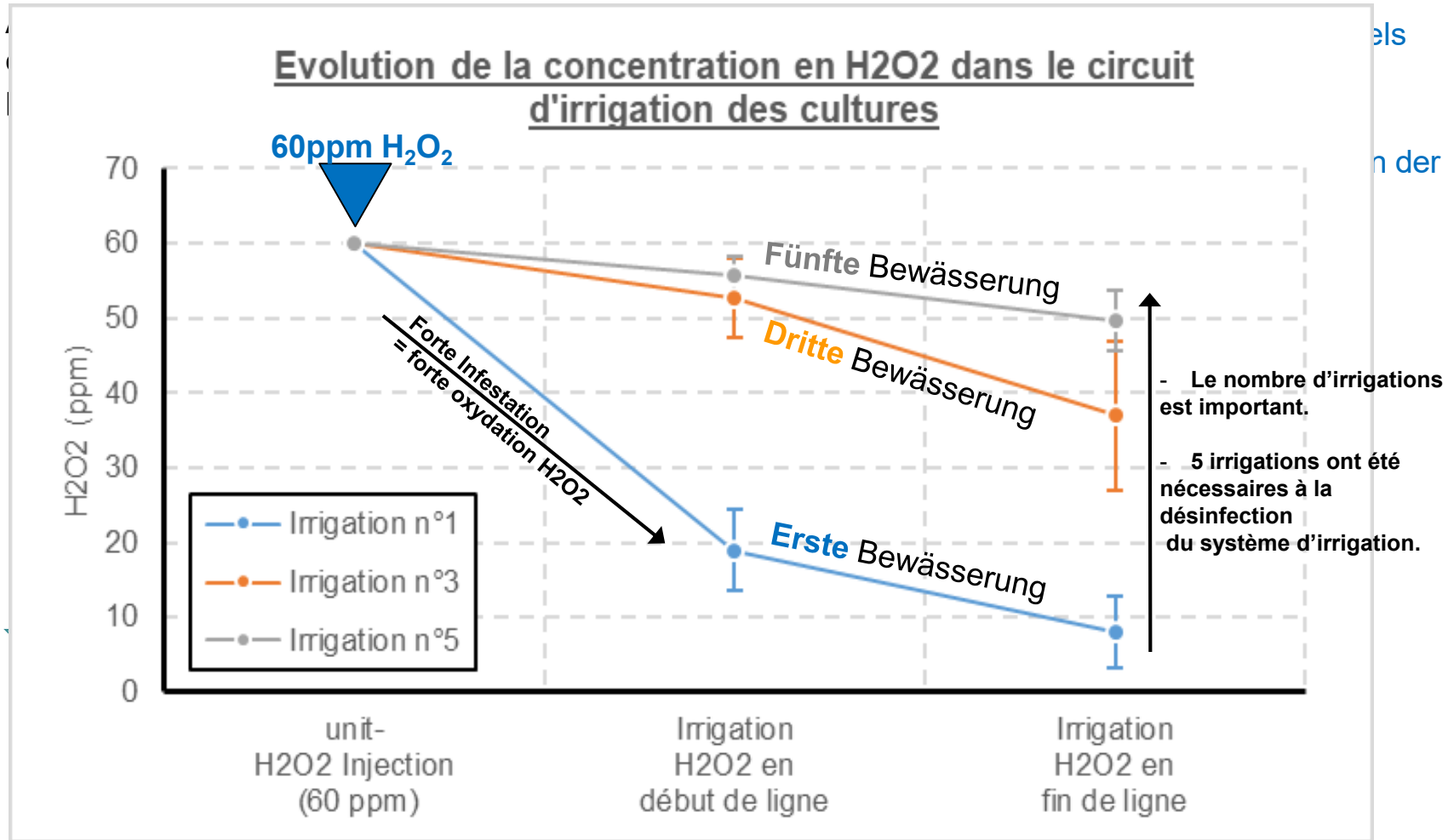


Systeme d'irrigation - biofilm

Attention, pas encore autorisé en Suisse
Achtung, in der Schweiz noch nicht erlaubt

Durant la culture:

Während der Kultur:





Systeme d'irrigation – biofilm

Bewässerungssystem - Biofilm

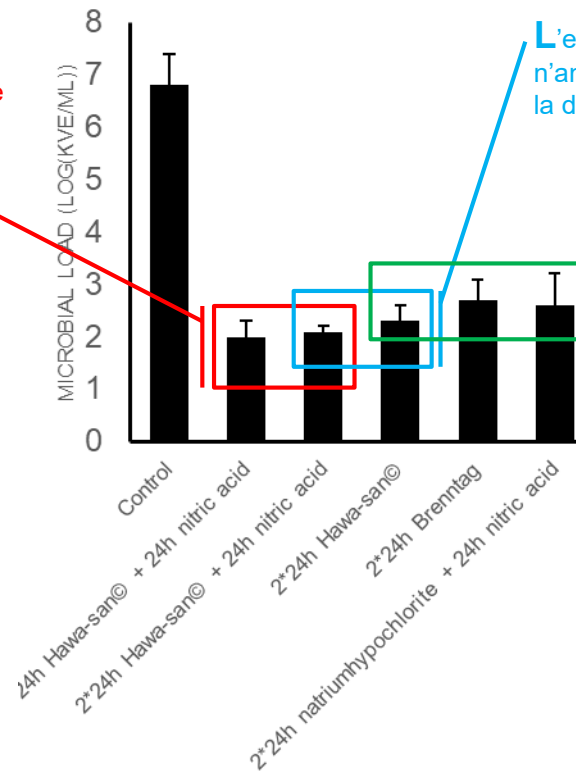
Entre 2 cultures:

Le **nombre** et le **temps** de traitement sont plus importants que le type de produit pour les biofilms.

Zwischen 2 Kulturen:

Die Anzahl und der Zeitpunkt der Behandlung sind wichtiger als die Art des Produkts gegen Biofilme.

La durée d'application ne donne pas d'amélioration significative



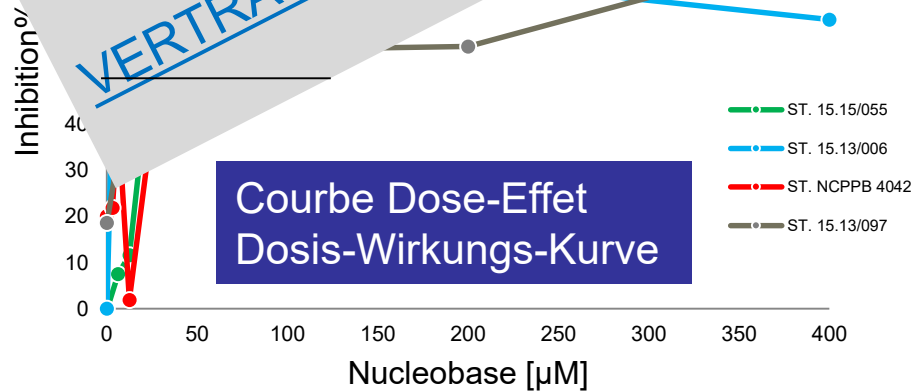
L'effet de l'acide nitrique n'améliore pas significativement la désinfection.

Le type de produit semble avoir un effet sur l'efficacité de la désinfection.

Dosage de nouveaux composés pour la réduction du biofilm

Des composés "anti-biofilm" isolés de microorganismes ont été trouvés et testés in-vitro. Évaluation de la dose nécessaire pour atteindre EC50 sur 4 souches d'agrobacterium (ex: nucleobase).

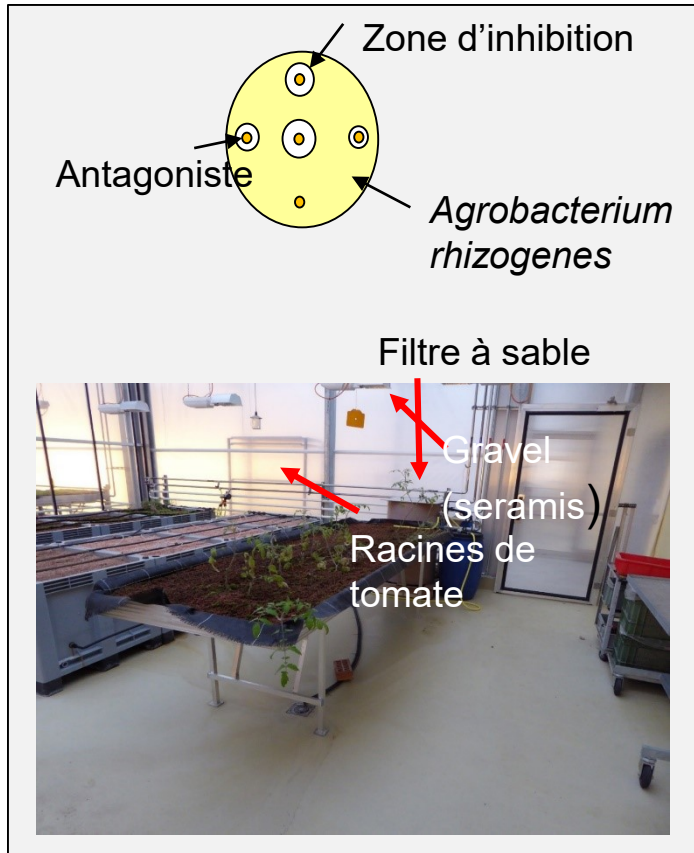
Aus Mikroorganismen isolierte "Anti-Biofilm" Substanzen in vitro gefunden und getestet. Bewertung der Dosis, die zu einer 50%igen Reduktion der Biofilmbildung führt (EC50) bei 4 Stämmen von Agrobacterium (z. B. Nucleobase).





Rhizosphère – BCO

Rhizosphäre - BCO



BCOs isolés et mis en culture par les différents partenaires.

Inoculation dans les cultures pour tests

Von den verschiedenen Partnern isolierte und kultivierte BCOs.

Inokulation in Testkulturen

- Env. 400 isolats extraits du système,
 - Env. 4 % des isolats ont montré une activité élever contre *A. rhizogenes* dans les essais en laboratoire,
 - 12 isolats ont été sélectionnés pour des tests.
-
- Ca.400 aus dem System extrahierte Isolate,
 - Ca. 4% der Isolate zeigten in Labortests Aktivität gegen *A. rhizogenes*,
 - 12 Isolate wurden zum Testen ausgewählt.



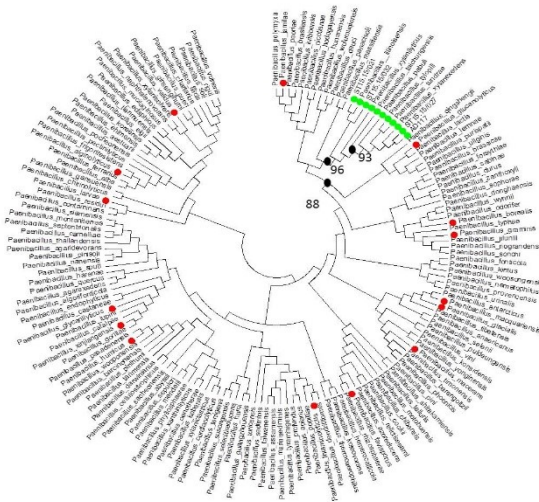
Rhizosphère – BCO

Rhizosphäre - BCO

Pre-screening

Sur plus de 130 souches testées, un clade d'espèces bactériennes apparentées phylogénétiquement a montré une activité antagoniste

Von mehr als 130 getesteten Stämmen zeigte eine Gruppe von phylogenetisch verwandten Bakterienarten eine antagonistische Aktivität



Paenibacillus clade:

- P. illinoisensis*
- P. pabuli*
- P. taichungensis*
- P. tundrae*
- P. tylopili*
- P. xylanexedens*
- P. xylanilyticus*

PUBLICATION: Bosmans et al. (2017). Potential for biocontrol of hairy root disease by a Paenibacillus clade exhibiting antagonistic activity against rhizogenic Agrobacterium biovar 1 strains. *Frontiers in Microbiology* 8, 243031.



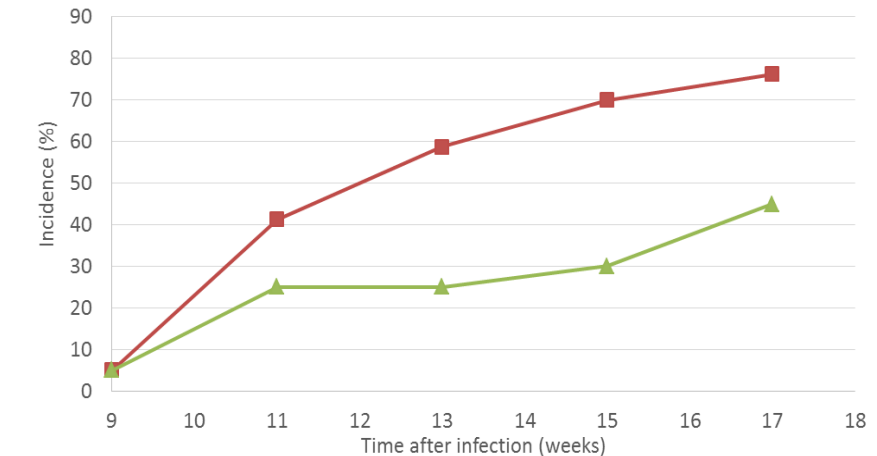
Biological solution (I)

■ Evaluation strains under greenhouse conditions

- Application of a combination of two of these strains in greenhouse conditions resulted in a significant reduction of HRD

■ **Bewertungsstämme unter Gewächshausbedingungen**

Die Anwendung einer Kombination von zwei dieser Stämmen unter Gewächshausbedingungen führte zu einer signifikanten Verringerung der HRD

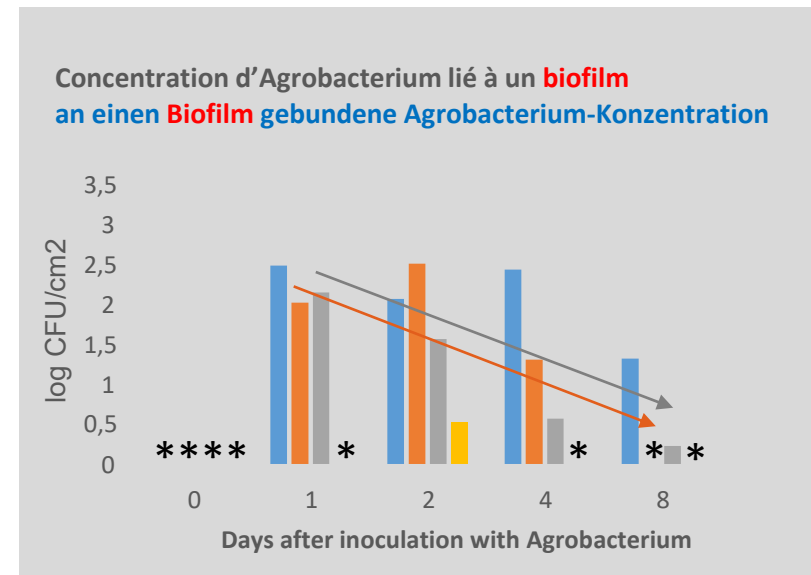
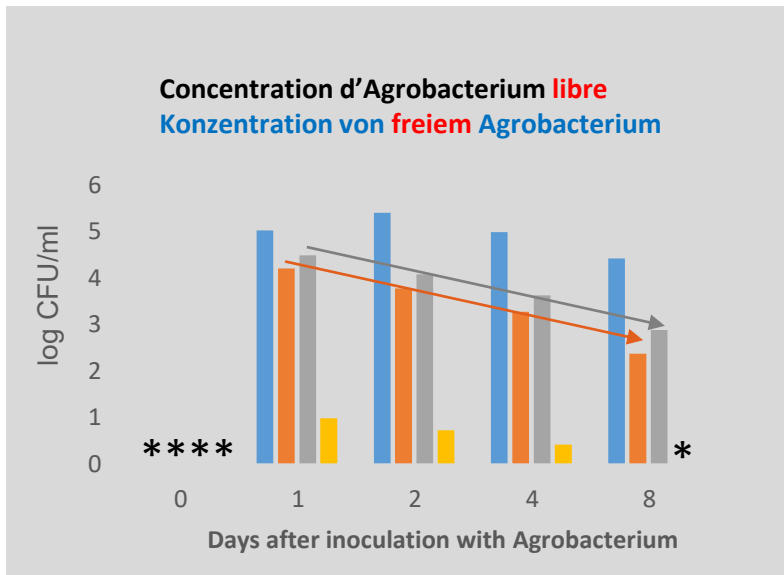


PUBLICATION: Bosmans et al. (2016). Development of a qPCR assay for detection and quantification of rhizogenic agrobacterium biovar 1 strains. European Journal of Plant Pathology 145 , 719-730.



Evaluation de nouveaux BCOs dans un système pilote. Evaluierung neuer BCOs in einem Pilotsystem.

Les résultats préliminaires indiquent que lorsque le BCO a été inoculé dans le circuit d'eau, le nombre d'agrobactéries rhizogéniques *libres* et associées à un *biofilm* a diminué au fil du temps.
Vorläufige Ergebnisse deuten darauf hin, dass die Anzahl der freien rhizogenen Agrobakterien, die mit einem Biofilm assoziiert sind, mit der Zeit abnimmt, wenn BCO in das Wassersystem geimpft wird.



Monitoring of free-living (A) and biofilm-associated (B) rhizogenic agrobacteria in de the pilot-scale system. The water circuit was inoculated with a BCO (either strain AD117 or strain ST15.15/027). After three days Agrobacterium is added and the number of agrobacteria is compared with a water circuit to which only Agrobacterium or only BCO strain ST15.15/027 was added. (*: below detection limit)



Aubergines: techniques culturales

Auberginen: Anbautechniken

Incidences d'Agrobacterium:

Diamètre de tige du porte-greffe: +9 à 15%
Elongation: +12 à 22%

Effet greffage:

Utiliser des porte-greffes génératif (Beaufort) permet de mieux contrôler les symptômes de Agrobacterium comparé à des porte-greffes végétatifs (Kaiser).

Effet substrat:

les dimensions du substrat et ses propriétés drainantes ont un effet important.

BCOs:

BCOs utilisés n'ont pas apporté de solution efficace.

Auswirkungen von Agrobacterium:

Stammdurchmesser: +9 bis 15%
Längenausdehnung: +12 bis 22%

Pfropfwirkung:

Die Verwendung von generativen Wurzelstöcken (Beaufort) hilft, die Symptome von Agrobacterium, im Vergleich zu vegetativen Wurzelstöcken (Kaiser), besser zu kontrollieren.

Substrateffekt:

die Dimensionen des Substrats und seine drainierenden Eigenschaften haben einen signifikanten Einfluss.

BCOs:

Die verwendeten BCOs lieferten keine wirksame Lösung.

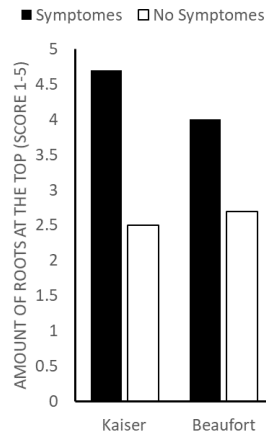


Kulturtechniken

Porte-greffe / Die Unterlage

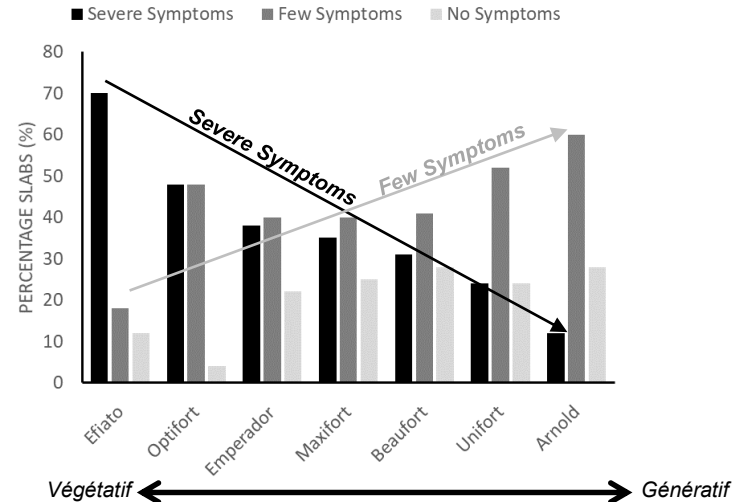
Un porte-greffe plus **génératif** réduit le nombre de plantes avec symptômes (sur tomates et aubergines).

Eine generativere Unterlage reduziert die Anzahl der Pflanzen mit Symptomen (auf Tomaten und Auberginen).



Aubergines infectées greffées sur Beaufort (porte-greffe génératif) présentent moins de symptômes en comparaison avec Kaiser (porte-greffe plus végétatif).

Les symptômes sont apparus plus tard dans la saison sur Beaufort.



Différents porte-greffe classés du plus végétatif (à gauche) au plus génératif (à droite).

Les tomates greffées sur un porte-greffe plus génératif montrent moins de symptômes (variété de tomate Plaisance sur pains de fibres de coco).



Techniques culturales

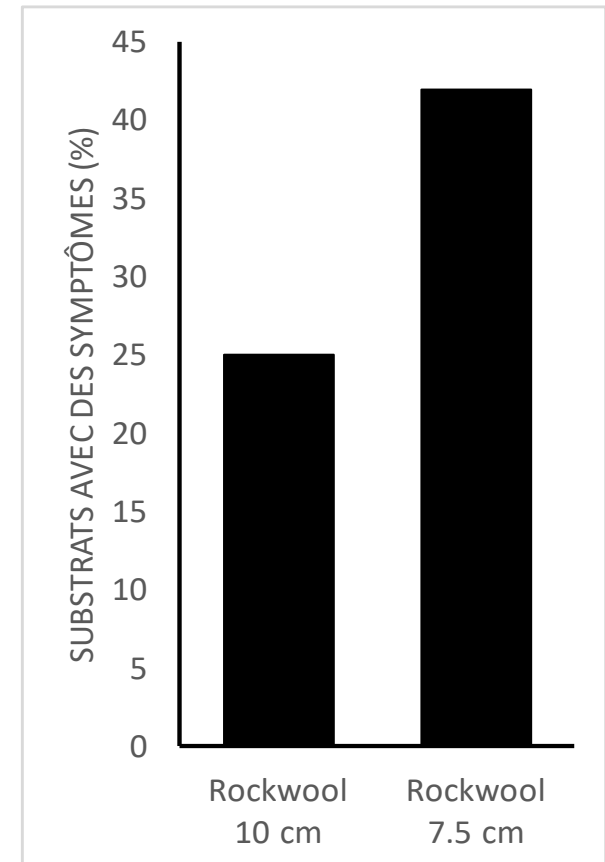
Substrat

Un substrat plus sec donne moins de symptômes. Selon le substrat choisi, il est plus facile de créer un environnement sec pour les racines.

Ein trockeneres Substrat führt zu weniger Symptomen. Je nach gewähltem Untergrund ist es einfacher, eine trockene Umgebung für die Wurzeln zu schaffen.

Des pains de laines de roche plus haut créent un environnement plus sec au dessus du pain et donc limitent l'expression des symptômes.

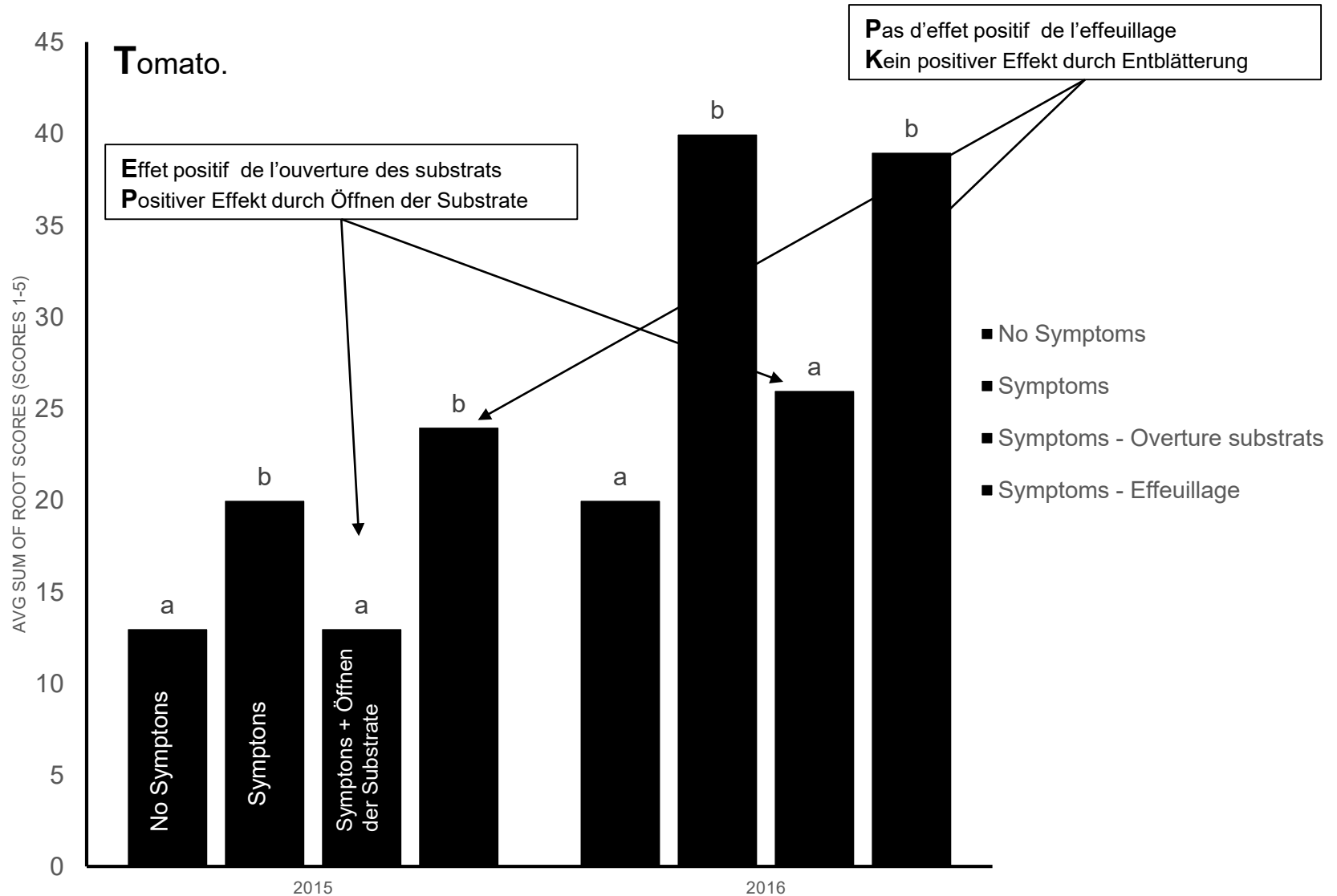
Dickere Steinwolle-Anzuchtmatte erzeugen eine trockenere Umgebung über der Anzuchtmatte und begrenzen daher die Ausprägung von Symptomen.





Techniques culturales

Effeillage & ouverture des substrats **Entblätterung & Öffnen der Substrate**



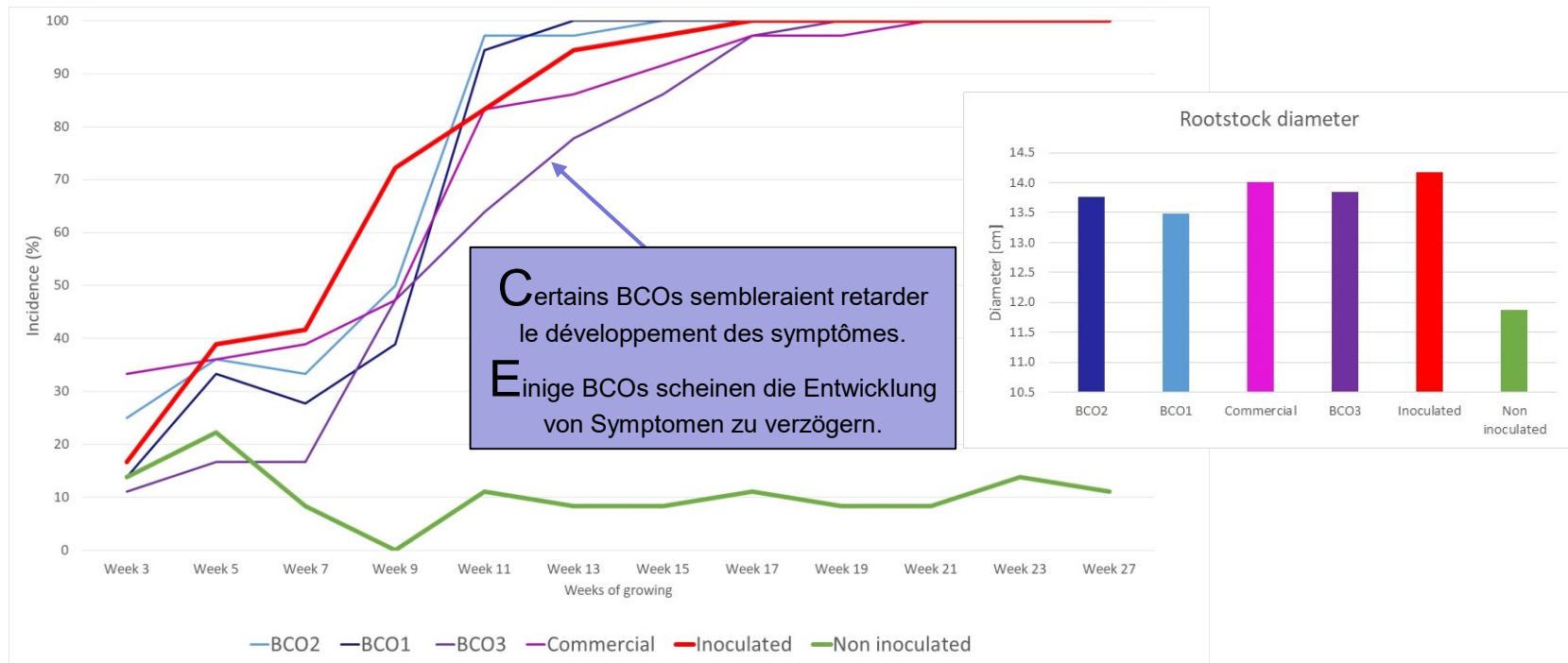


Evaluation des BCOs en serre sur aubergines

Bewertung von BCOs im Gewächshaus an Auberginen

L'application de trois souches différentes dans des conditions de serre n'a entraîné aucune réduction significative des symptômes de HDR (symptômes sur les racines)

Die Anwendung von drei verschiedenen Stämmen unter Gewächshausbedingungen führte zu keiner signifikanten Reduktion der HDR-Symptome (Wurzelsymptome)





Conclusions et perspectives

Schlussfolgerungen und Perspektiven

Gestion de cette maladie doit être **spécifique à l'exploitation** (à la souche présente).

Réaction **rapide et suivi** lors de la culture :
désinfection et suivi des concentrations de désinfectant aux goutteurs, ouverture des pains.

Désinfection entre les cultures.

Anticipation nécessaire : choix du porte-greffe et du substrat de culture.

Essais avec organismes de biocontrôle (**BCO**) encore en cours.

Das Management dieser Krankheit muss spezifisch auf den Betrieb zugeschnitten sein (je nach vorliegendem Stamm).

Schnelle Reaktion und Beobachtung während der Kultur: Desinfektion und Überwachung der Desinfektionsmittelkonzentrationen in den Tropfern, Öffnen der Anzuchtmatten.

Desinfektion zwischen Kulturen

Antizipation ist erforderlich: Wahl des Wurzelstocks und des Substrats.

Versuche mit Biocontrol-Organismen (BCO) sind noch im Gange.



Merci pour votre attention

Cédric Camps
cedric.camps@agroscope.admin.ch

Agroscope une bonne alimentation, un environnement sain
www.agroscope.admin.ch