



Etude de la combinaison de 3 leviers de lutte contre les nématodes à galles sur tomate : résistance génétique, plante de service, et biostimulant

Lison TRABAUD

Tuteur IUT : M. Laurent Béranger

Tuteur entreprise : Mme Caroline Djian-Caporalino & Claire Caravel

Partenaires : GRAB (Hélène Védie) et APREL (Claire Goillon) GIS

Financement de la bourse de stage : GIS PICLeg

Promotion 2021-2024

BUT Génie Biologique, option Agronomie

IUT Aix-Marseille Université, site de Digne-les-Bains

Remerciements

Je tiens à remercier en tout premier mes deux tuteurs de stage, Mme DJIAN-CAPORALINO Caroline (tuteur entreprise et ingénieur à l'INRAE), et M. BERANGER Laurent (tuteur IUT et professeur à l'IUT). Ils ont tous deux pu me conseiller et me guider sur la rédaction de mon rapport de stage. Mme DJIAN-CAPORALINO m'a accompagné en me formant au travail de recherche et a pu m'enseigner les connaissances théoriques et pratiques à savoir au sujet des nématodes à galles. M. BERANGER a été disponible lorsque j'en avais besoin pour répondre à mes interrogations.

Je tiens à remercier également Claire CARAVEL qui m'a co-encadré avec Mme DJIAN-CAPORALINO, et qui a pris le temps de me former. Comme une "maman oie", elle a répondu à chacune de mes questions et elle m'a montré quoi faire et comment bien le faire.

Je veux également remercier Ornella ROBERT qui a été ma "co-équipière" pendant toute la durée du stage. Ensemble, nous avons pu réfléchir sur les tâches à accomplir et les interrogations liées à notre problématique de stage. Nous avons pu nous soutenir et nous conseiller mutuellement.

Je remercie de manière générale toute l'équipe IPN pour leur accueil chaleureux et la bonne humeur ambiante qui rend l'insertion au sein de l'institut plus facile et agréable.

Je remercie également le GIS PICLég (Groupement d'Intérêt Scientifique pour la Protection Intégrée des Cultures Légumières) pour le financement de ma bourse de stage. Ce qui m'a permis de réaliser une expérience professionnelle formatrice et intéressante.

Je remercie également Claire Goillon (Aprel) et Hélène védie (Grab) pour leur soutien sur ce sujet de stage. Et tous mes remerciements au GIS PICLég pour le financement de ma bourse de stage.

Sommaire

Introduction	4
I. Contexte de l'étude	4
1. Présentation de l'organisme d'accueil	4
2. Présentation de la plante d'étude : La tomate	5
3. Les nématodes à galles des racines	7
4. La combinaison des leviers dans le projet CAP Zero Phyto	9
II. Objectifs de stage	14
III. Matériel et Méthode	15
1. Matériel Biologique utilisé	15
2. Méthode du choix du SDP le plus efficace (expérimentation en chambre climatique)	17
3. Méthode pour évaluer les leviers individuels et comparer les trois leviers de lutte contre les nématodes à galles <i>M. incognita</i>	20
4. Tests statistiques réalisés	24
IV. Résultats et Discussion	25
1. Résultat de l'expérimentation « choix du biostimulant »	25
2. Discussion de l'expérimentation « choix du biostimulant »	26
3. Résultat de l'expérimentation « comparaison de l'efficacité des trois moyens de lutte » au premier cycle	27
4. Résultat de l'expérimentation « comparaison de l'efficacité des trois moyens de lutte » au deuxième cycle	30
5. Discussion de l'expérimentation « comparaison de l'efficacité des trois moyens de lutte » au premier et deuxième cycle	33
6. Discussion Générale	36
Conclusion d'étude	38
1. Conclusion d'étude	38
2. Conclusion personnelle	40

Introduction

Les nématodes à galles phytoparasites (qui s'attaquent aux plantes) du genre *Meloidogyne* sont des vers microscopiques qui induisent des excroissances (galles) aux racines des plantes. Ces galles perturbent l'absorption des nutriments par la plante qui finit par moins produire et dépérir. Ce ravageur est largement répandu dans le monde et représente un problème croissant dans tous les pays méditerranéens. De nos jours, 40% des exploitations en maraîchage dans le sud de la France sont touchées (Djian-Caporalino, 2012). Les pertes économiques occasionnées par ce ravageur représentent des dizaines de milliers d'euros. Les nématodes représentent donc une menace pour les producteurs en agriculture biologique et les exploitations qui tendent à réduire les produits phytosanitaires dans le cadre du plan Ecophyto. En effet, les produits phytopharmaceutiques efficaces contre les nématodes à galles sont aujourd'hui interdits du fait de leur toxicité élevée pour l'homme et son environnement, bien qu'ils aient été utilisés pendant longtemps. Il est donc primordial de trouver des solutions durables.

C'est dans ce contexte que le projet national PPR (programme prioritaire de recherche) CAP ZERO PHYTO (2021-2027) vise à réduire l'utilisation de produits phytosanitaires. Dans le cadre de ce projet, différentes études ont été menées afin d'évaluer différentes stratégies de lutte contre les bioagresseurs de la tomate, dont les nématodes à galles. Plusieurs expérimentations précédentes ont montré qu'il était nécessaire de combiner au moins trois leviers de lutte pour restreindre l'infestation des parcelles par ces bioagresseurs en agissant à la fois sur la plante cultivée, sur la réduction de l'inoculum dans le sol, tout en augmentant l'activité biologique de ce sol (Védie, 2022).

Le but de mon stage, que j'ai effectué au sein de l'INRAE (Institut National de Recherche Agricole et Ecologique), était de déterminer l'effet de la combinaison de 3 leviers bioprotecteurs (résistance génétique, plante de service et biostimulant) pour analyser leurs effets additifs, synergiques, ou antagonistes sur la croissance et l'infestation de la tomate par le nématode à galles *Meloidogyne incognita*.

I. Contexte de l'étude

1. Présentation de l'organisme d'accueil

1.1. INRAE

L'INRAE (Institut National de Recherche pour l'Agriculture, l'Alimentation et l'Environnement) est un institut public chargé de conduire des études scientifiques relatives à l'agriculture et l'environnement. Cet institut est le premier organisme de recherche spécialisé à la fois en environnement, en agriculture et sciences technologiques. L'INRAE a pour but de répondre aux enjeux environnementaux et sociaux tels que : la sécurité alimentaire et nutritionnelle, la transition des agricultures (agroécologie, réduction de la chimie), la gestion des ressources naturelles et des écosystèmes (eau, sol, forêt), l'érosion de la biodiversité, l'économie

circulaire et les risques naturels. L'Institut est réparti sur dix-huit sites à l'échelle du territoire national, dont l'Institut Sophia Agrobiotech (ISA).

1.2. L'institut Sophia Agrobiotech (ISA)

L'ISA est un Institut de recherche faisant partie du Pôle Santé des plantes de l'INRAE PACA. Il a pour but principal l'étude du fonctionnement des interactions entre plantes, bioagresseurs et symbiotes et leur dynamique dans le temps et l'espace. L'ISA regroupe 14 équipes travaillant sur plusieurs thématiques agronomiques et écologiques regroupant l'étude de plusieurs bioagresseurs (nématodes, fongiques, bactéries, virus), de plantes adventives, de la résistance des plantes cultivées ou encore des interactions entre les plantes et bioagresseurs.

1.3. L'équipe Interaction Plante Nématode (IPN)

Les recherches et les expérimentations de l'équipe IPN ont pour principal but d'acquérir des connaissances concernant des mécanismes jouant un rôle dans les interactions entre les plantes et les nématodes phytopathogènes. Différentes expérimentations peuvent se faire à l'échelle moléculaire au laboratoire, et aussi en plein champ en conditions réelles. Le rôle de cette équipe de recherche est aussi de tester et comparer différents moyens de lutte contre les nématodes phytopathogènes afin de trouver des solutions qui limitent l'utilisation de produits phytosanitaires en s'appuyant sur différents leviers : pratiques agricoles, cultivars résistants, Substances de Défense des Plantes (SDP), plantes de service, combinaisons de leviers, auxiliaires de culture. Au sein de l'équipe IPN, plusieurs études sont réalisées sur des plantes d'intérêt agronomique comme le poivron, la courgette, la tomate, la vigne, afin que les conclusions d'études puissent permettre de conseiller les agriculteurs quant aux pratiques agroécologiques à mettre en place.

2. Présentation de la plante d'étude : La tomate

La tomate (*Solanum lycopersicum*) est une plante de la famille des Solanacées originaires du Pérou. Il existe actuellement 500 variétés de tomates différentes sélectionnées selon divers aspects (rusticité, résistance à certains bioagresseurs, couleur, taille, forme, poids des fruits, etc...).

2.1. Production de la tomate

Aujourd'hui, sa production représente 120 millions de tonnes à l'échelle mondiale principalement répartie entre l'Asie, l'Amérique, l'Europe et l'Afrique. La France est le 7ème pays européen à produire de la tomate, cependant elle ne produit seulement que 10% de la consommation nationale. En 2023, 132003 tonnes de tomates ont été produites ce qui en fait la culture la plus cultivée dans la région (Agreste Memento, 2023). Bien que la tomate soit encore très présente dans la région, elle est en baisse depuis quelques années (Tomate - année 2020, DRAAF). C'est pour cela que chambre d'agriculture PACA a pour projet de relancer la

culture de tomate d'ici 2030 avec son projet TOMMATES (Techniques, Outils et Méthanisation pour la Multi performance Agricole des Territoires et des Systèmes) déposé en 2023.

2.2 Paramètres cultureux de la tomate

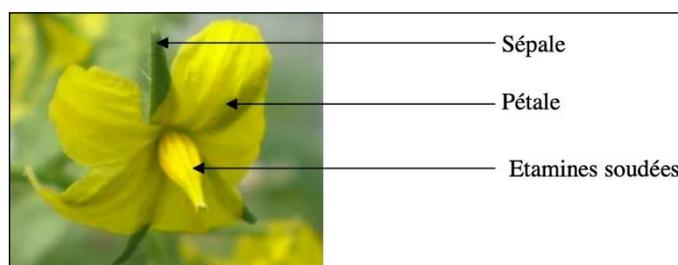
La tomate est une plante dicotylédone annuelle. Son cycle est variable de quatre à sept mois environ selon l'espèce et les conditions pédoclimatiques. En PACA, le semis se fait vers le mois de mai et la récolte commence à partir de juillet dans des conditions de culture en plein champ. Les graines lèvent généralement une semaine après le semis. Suivant les variétés, la croissance peut être indéterminée, déterminée ou semi-déterminée.

La température idéale de germination est comprise entre 18 et 24°C. La température optimale de développement quant à elle, est comprise entre 18 et 25°C le jour et de 15 à 17°C la nuit. Cette culture est adaptée à un sol sablo-limoneux, bien drainé et profond. Elle nécessite une bonne fertilisation du sol. L'humidité ambiante doit être modérée sous peine de risque d'infection fongique. La rhizosphère peut descendre jusqu'à 1 m de profondeur mais les racines s'étendent majoritairement sur les côtés en surface du sol. Son système racinaire est ramifié, très dense et du type pivotant.

La pollinisation des fleurs se fait la plupart du temps de manière entomophile mais peut aussi se faire par contact. Après une culture de tomate, il est conseillé de ne pas implanter sur la parcelle des Solanacées pendant 4 ans pour limiter les risques phytosanitaires et l'appauvrissement du sol.

2.3 Présentation botanique de la tomate

La tige est anguleuse et plus épaisse au niveau des nœuds. Des poils contenant une huile essentielle recouvrent la tige. Les feuilles de cette plante sont en position alternée. Une feuille principale est suivie de plusieurs folioles (5 à 7 folioles), le tout est rattaché à la plante par un pétiole (feuille composée). Le nombre de folioles est impair et la feuille principale se situe au bout du rachis (les feuilles sont imparipennées). Comme la tige, les feuilles sont pubescentes. Le bord du limbe de chaque feuille est denté. Les inflorescences peuvent être simples ou ramifiées et sont réunies en cymes (composée d'une fleur au bout d'un axe)



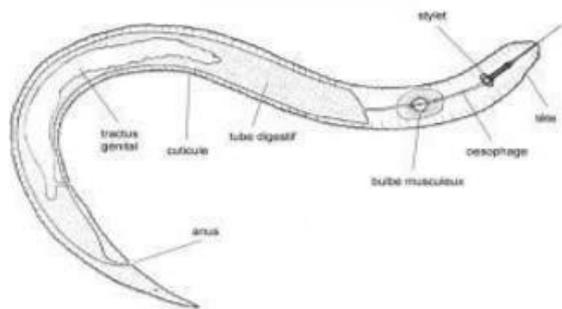
et sont jaunes. Les fleurs sont composées de 5 à 8 sépales, 5 à 8 pétales, 5 à 8 étamines mais d'un seul ovaire avec 2 à 10 carpelles (Figure 1). Le fruit de la tomate est une grosse baie charnue généralement à deux loges. La tomate contient des petites graines velues entourées d'un mucilage.

Figure 1: morphologie de la fleur de tomate; (Ait Boudjema, 2015)

3. Les nématodes à galles des racines

3.1 Présentation générale des nématodes

Les nématodes sont des petits vers ronds non segmentés, filiformes et rustiques faisant partie de la microfaune. Ils peuvent mesurer de 80µm à plus de 10m de long. C'est l'organisme pluricellulaire le plus répandu sur terre. Ils représenteraient 80% du règne animal en nombre d'individus. On compte plus de 200 familles et 27000 espèces sont connues dans le monde mais l'on estime qu'il y aurait entre 250 000 et 1 000 000 d'espèces. Les nématodes peuvent avoir des modes de vie libres ou parasites et vivent aussi bien dans des



milieux terrestres que marins. Ils peuvent être parasites de l'homme, des animaux, des insectes, des champignons mais aussi des plantes appelées phytoparasites. Les nématodes phytoparasites sont caractérisés par un stylet buccal qui leur permet de perforer les cellules du végétal, d'aspirer le contenu des cellules et d'injecter des substances dans le

végétal (Figure 2).

Figure 2 : schémas d'un nématode a galles phytoparasite

3.2 Les nématodes à galles des racines du genre *Meloidogyne*

Le genre *Meloidogyne* fait partie de la famille des *Meloidogynidae*, de l'ordre des *Tylenchida* issu de l'embranchement Nematoda. Il existe 90 espèces de *Meloidogyne* dont 23 ont été détectées en Europe (Wesemael et al., 2011). Dans le Sud de la France, on retrouve en majorité *M. arenaria* et *M. incognita*. C'est sur cette dernière que porte notre étude. *M. incognita* est extrêmement polyphage et s'attaque à plus de 3000 espèces végétales différentes, qu'elles soient cultivées (*Solanacées*, *Cucurbitacées*, *Fabacées*) ou non. Ce sont des nématodes endoparasites sédentaires, c'est-à-dire qu'une fois installé dans la plante hôte, le nématode reste jusqu'à la fin de sa vie.

Leur reproduction peut se faire par parthénogénèse ou bien sexuée suivant les espèces, l'espèce *M. incognita* par exemple, se reproduit seulement par parthénogénèse. Le cycle de développement dure de trois à six semaines en fonction de la température (plus il fait chaud, plus le cycle du nématode est rapide). L'infestation optimale des plantes par *M. incognita* se fait entre 20 et 25°C mais cette espèce est capable d'infester lorsque les températures sont entre 10 et 32°C. Dans le sud de la France il y a environ 4 à 7 générations de nématodes à galles en une année. Les nématodes ne migrent quasiment pas dans le sol. C'est pour cela que, au fur et à mesure des cycles, les nématodes ont tendance à infester plusieurs fois la même plante ou d'infester les plantes proches de celles infectées à l'origine.

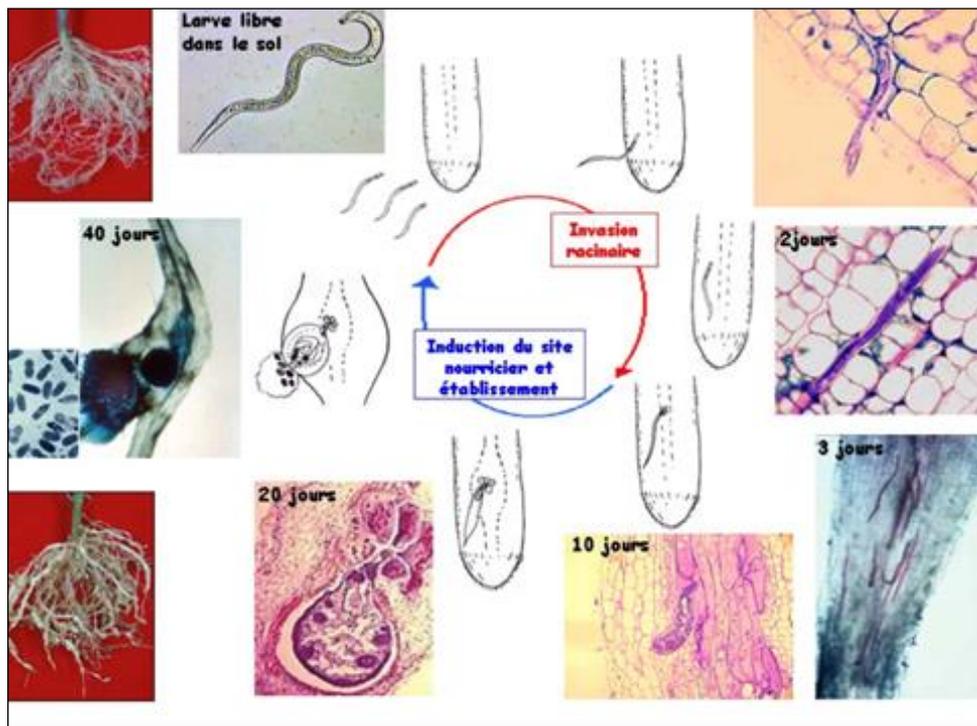


Figure 3: Cycle de vie des nématodes à galle (*Meloidogyne sp.*) ; Source : Mitowski and Abawi (2011)

Le cycle de vie des nématodes à galles (Figure 3), est composé d'un stade oeuf, de 4 stades larvaires et d'un stade adulte. Il se déroule en 2 phases : une phase exophyte (libre dans le sol) et une phase endophyte (à l'intérieur de la racine). Le premier stade larvaire (L1) se trouve dans l'œuf. Une fois que la larve est sortie de l'œuf, la pénétration des larves dans la racine des plantes se fait au stade juvénile 2 (J2), c'est l'invasion racinaire. La larve de nématode va ensuite migrer dans la racine en se faufileant entre les cellules et va se fixer au niveau du cylindre central. La larve réalise alors une mue et évolue au stade juvénile 3 (L3) pour établir son site nourricier. Pour cela, les nématodes vont piquer grâce à leur stylet et injecter leur salive constituée de plusieurs biomolécules (enzymes notamment) dans trois à dix cellules situées près des flux desève. Ces biomolécules vont avoir pour effet de modifier l'activité cellulaire et d'entraîner des divisions cellulaires accumulées mais sans l'étape de cytokinèse ce qui crée des cellules géantes polynuclées. Ces cellules à plusieurs noyaux situées autour de la tête du nématode ont une activité biologique intense ce qui induit un affluent de nutriments à cet endroit ponctionnables par le nématode afin de se nourrir. Durant cette période, le nématode évolue du stage juvénile 4 jusqu'à l'âge adulte. Une fois devenue femelle, le nématode va pondre ses oeufs sous forme de masses d'œufs accrochés à l'extérieur des racines. La femelle nématode peut produire jusqu'à 2000 œufs/ponte.

3.3 Importance économique des nématodes à galles et méthodes de lutte

Les pertes de rendement agricole dues aux nématodes à galles sont estimées à environ 12,3% (Singh et al.,2015). Ces ravageurs impactent de manière significative l'économie agricole : les pertes peuvent atteindre près de 80 Milliards de dollars par an à l'échelle mondiale. Ce sont les plus importants des nématodes phytoparasites par leur importance économique et leur répartition dans le monde (Jones et al., 2013).

Pour prévenir des sinistres, les mesures prophylactiques sont indispensables mais peu suivies (nettoyage et

gestion des outils de travail du sol, pédiluves, pas d'arrosage à la raie, travail du sol des zones saines avant les zones souillées, élimination des plantes adventices hôtes et des résidus de culture). On utilisait jusqu'à des années récentes des nématicides chimiques fumigants (gaz) ou précurseurs de fumigants en désinfection du sol, ou des produits à action systémique (véhiculés par la sève). Tous ces produits étaient extrêmement toxiques pour l'homme et les animaux, destructeurs de la biocénose, pollueurs des nappes phréatiques et dangereux pour la couche d'ozone (Madhava, 2000), leur emploi est quasiment interdit de nos jours (Annexe 1 du règlement européen n° 1107/2009 du 21/10/09), seul le Fluopyram (Velum prime) est encore autorisé en maraîchage. Les méthodes de lutte alternatives les plus connues sont les méthodes agissant de manière physique sur les nématodes (comme la solarisation, (Katan, 1981; Djian-Caporalino & Navarrete et al., 2019), biologique (comme l'utilisation de parasites fongiques des nématodes (Cayrol, 1978; Stirling & Smith, 1998), génétique (grâce à la sélection génétique de variétés résistantes ou au greffage de cultivars sensibles sur des porte-greffes résistants (Djian-Caporalino & Castagnone-Sereno, 2020) ou par des pratiques culturales (comme la mise en place de couverts végétaux nématicides (soit en rotation avant la culture principale, soit en culture associée dans l'inter-rang de la culture principale (Djian-Caporalino et al. 2019). Cependant ces méthodes ont toutes montré leurs limites prises individuellement (Djian-Caporalino et al., 2009 ; Collange, 2011 ; Collange et al., 2011). C'est pour cela qu'il est nécessaire de combiner plusieurs stratégies de lutte, comme suggéré par de précédentes expérimentations terrain réalisées dans le cadre d'autres projets (Djian-Caporalino et al., 2019 ; Gard et al., 2018 ; Védie, 2022). Lorsque différentes techniques sont utilisées sur les mêmes champs, plusieurs scénarios peuvent exister: I) un effet neutre ou antagoniste, dans ce cas, les effets de la combinaison de méthodes seront égaux ou inférieur par rapport aux méthodes utilisées séparément, cela signifie qu'il existe un conflit entre les deux méthodes (Heimpel and Mills, 2017a), (II) un effet additionnel c'est à dire que le résultat de chaque méthode est additionné lorsqu'elles sont appliquées (Dhouibi et al., 1996), (III) un effet synergique c'est à dire que les résultats sont supérieurs à la seule addition des effets de chaque méthodes (Heimpel and Mills, 2017b). Des connaissances sur la compatibilité entre moyens de contrôle et leurs périodes d'efficacité lors du cycle de vie du bioagresseur sont également nécessaires pour permettre le choix de techniques compatibles (Lucas, 2007).

4. La combinaison des leviers dans le projet CapZeroPhyto

Le PPR CPA CAP ZERO PHYTO (ANR-20-PCPA-0003) est un Programme Prioritaire de Recherche (PPR) 'Cultiver et Protéger Autrement' de l'Agence Nationale de Recherche (ANR) financé par le Ministère de l'Enseignement supérieur, de la Recherche et de l'Innovation (programme Investir pour l'Avenir), qui a pour objectif de trouver des stratégies de lutte contre les bioagresseurs des cultures (sur les modèles Solanaceae et Rosaceae) sans utiliser de produits phytosanitaires de synthèse. Ce projet s'inscrit dans le plan Ecophyto national français qui a pour objectif principal de réduire de moitié l'utilisation de produits phytosanitaires de synthèse d'ici 2025 et de retirer les substances les plus préoccupantes utilisées en agriculture. En parallèle, un réseau de fermes expérimentales appelé « Réseau DEPHY EXPE », a été développé pour tester en conditions réelles les stratégies de lutte étudiées. Ce réseau a aussi pour but d'étudier la faisabilité au champ de plus de 500 systèmes de culture pouvant être mis en place pour remplacer l'utilisation de produits phytosanitaires.

Pour atteindre ces objectifs, le projet CAP ZERO PHYTO a pour but de développer l'utilisation combinée de leviers immunitaires destinés à moduler les mécanismes de défense des cultures. Les leviers immunitaires étudiés dans le cadre de ce projet sont : la résistance génétique, les plantes de service, les solutions de biocontrôle notamment avec des biostimulants à action SDP, les flashes d'UV-C, les méthodes de stress mécanique, et enfin l'apport d'azote.

Pour notre étude sur le modèle tomate (Solanaceae) contre les nématodes à galles, les 3 leviers étudiés sont : la résistance génétique, les plantes de service et les stimulateurs de défense des plantes.

4.1. Résistance génétique de la tomate

Bien que les nématodes soient un problème important en agriculture, il existe tout de même des variétés de plantes tolérantes, partiellement résistantes ou totalement résistantes contre les nématodes. Une variété tolérante aux nématodes est une variété sensible qui supporte le développement du bioagresseur sans montrer trop de perte de rendement. Dans ce cas, le bioagresseur continue à se développer et à se reproduire, augmentant ainsi l'inoculum dans le sol. Une variété partiellement résistante limite le développement du bioagresseur sans empêcher complètement sa reproduction, mais elle limite donc l'inoculum dans le sol. Une plante totalement résistante aux nématodes ne présente pas, voire très peu de galles, son développement n'est pas altéré et elle ne permet pas la reproduction du bioagresseur donc diminue encore plus fortement l'inoculum dans le sol.

Plusieurs gènes sont responsables de la résistance partielle ou totale chez les tomates. Parmi ces gènes, on retrouve le gène *Mi-1*, mais aussi d'autres gènes tels que *Mi-2*, *Mi-3*, *Mi-4*, *Mi-5*, *Mi-6*, *Mi-7*, *Mi-8*, *Mi-9* et *Mi-HT*, qui ont également montré des effets protecteurs (Castagnone-Sereno et Djian-Caporalino, 2011; El-Sappah et al., 2019). Malheureusement, le gène *Mi-1* est le seul gène de résistance présent dans les cultivars résistants et les variétés de porte-greffe utilisés en agriculture pour le moment. Il provient de l'accèsion sauvage *Solanum peruvianum* (Cordata et al., 2009). Ce gène confère une résistance aux 3 principales espèces de *Meloidogyne* (*M. incognita*, *M. arenaria*, *M. javanica*) mais avec des niveaux variables selon les espèces de nématodes et les variétés ou porte-greffes (Bhattarai et al., 2008). Ce gène peut en effet se retrouver dans le génotype des plantes à l'état hétérozygote (*Mimi*) (le cas des variétés et porte-greffes commercialisés) ou homozygote (*MiMi*) (cas de la variété Piersol non commercialisée mais construite par Vilmorin à des fins de recherche), c'est sous cette forme que la résistance est la plus efficace (Gabriel et al., 2024). En effet, la résistance du gène peut être contournée lorsque les populations sont très élevées (Castagnone-Sereno, 2002) ou inactive lorsque les températures sont supérieures à 30°C (Marques de Carvalho et al., 2015).

4.2 Les tagètes comme plantes de services

Les plantes de services (PdS) sont des plantes qui apportent un ou plusieurs services à l'agrosystème. Les plantes de service ne sont pas cultivées pour une rente mais elles peuvent être une ressource exploitable supplémentaire (comme le Tagètes minuta qui peut servir à repousser des bioagresseurs mais qui est aussi utilisée en parfumerie) en plus d'être utilisées pour leur service écosystémique. Les plantes de biocontrôle, c'est-à-dire, les plantes qui apportent un service écosystémique de régulation des bioagresseurs font partie des plantes de service (Caravel et al., 2020).

Parmi les plantes de biocontrôle, on retrouve des plantes ayant le rôle de :

-Détecter les bioagresseurs en amont. Pour cela, on utilise des plantes indicatrices.

-Empêcher les bioagresseurs de pénétrer les cultures. Pour cela, on utilise des plantes barrières (intercepte les bioagresseurs de manière physique).

-Repousser les bioagresseurs. Pour cela, on utilise des plantes répulsives (rendent les plantes cultivées moins attractives pour les bioagresseurs car les plantes cultivées sont rendues moins détectables par les bioagresseurs).

-Diminuer le potentiel infectueux du sol. Pour cela, on peut utiliser des plantes coupure, qui permettent de casser le cycle de reproduction du ravageur. Mais aussi des plantes pièges (plantes qui attirent et qui retiennent les bioagresseurs plus que la culture principale pour détourner les bioagresseurs de celle-ci). Ou encore des plantes assainissantes (qui ont pour action de tuer ou d'empêcher la reproduction de bioagresseurs).

Le mode d'action des PdS assainissantes est multiple. Les plantes assainissantes biocides sont cultivées en même temps que la culture d'intérêt pour profiter des molécules biocides qu'elles sécrètent. Les plantes assainissantes biofumigantes sont utilisées pour des rotation de culture. Les matières végétales qui peuvent être fraîches ou sèches sont ensuite détruites et enfouis sur la parcelle. Dans les deux cas, ces PdS agissent sur les bioagresseurs en diffusant des composés biochimiques dans le sol qui ont pour effet de les tuer ou de perturber leur reproduction (Caravel et al., 2020). Parmi les plantes assainissantes on retrouve le fenouil, la ciboule, le Chanvre indien, la Pomme épineuse, et bien d'autres (Fernandes et al., 2012 ; Deberdt et al., 2014 ; Deberdt et al., 2015). Les toxines produites par les plantes peuvent inhiber le développement des ravageurs. Les organes végétaux (tiges, fleurs, feuilles, graines, racines) peuvent être toxiques également. Outre les actions directes que peuvent avoir ces plantes sur le milieu, elles peuvent aussi avoir des actions indirectes bénéfiques pour les cultures comme le fait d'attirer ou de retenir des auxiliaires de culture, soit parce qu'elles apportent des ressources nourricières, soit parce qu'elles fournissent un habitat ou qu'elles constituent des plantes relai ou réservoir de biodiversité.

Parmi les plantes assainissantes utilisées contre les nématodes à galles, les tagètes (œillet d'Inde, rose d'Inde...) sont les plus connues. Les Tagètes sont des plantes de la famille des astéracées originaires de l'Amérique du Sud et centrale mais aujourd'hui ces plantes sont répandues dans le monde entier. Il existe environ 230 à 250 espèces de Tagètes dans le monde. Ce sont des plantes annuelles. Elles poussent dans les endroits ensoleillés, avec des températures plutôt chaudes (environ 25°C pour l'optimum de croissance). Comme toutes les astéracées, les Tagètes sont des plantes dicotylédones. Ses fleurs ont une inflorescence en capitule (multitude fleurs sans pédoncule regroupées sur un réceptacle et entourées de bractées florales). Les fruits sont des akènes (fruit sec indéhiscent dont les parois sont distinctes et renfermant une seule graine).

Il existe une cinquantaine d'espèces de tagètes, et parmi elles, on retrouve trois espèces utilisées contre les nématodes à galles : Tagètes minuta, Tagètes patula et Tagètes erecta. C'est cette dernière espèce qui a été utilisée au cours de cette étude car elle montrait de meilleur effet contre *M. incognita* (Sokunle, 2022) (Figure 5).

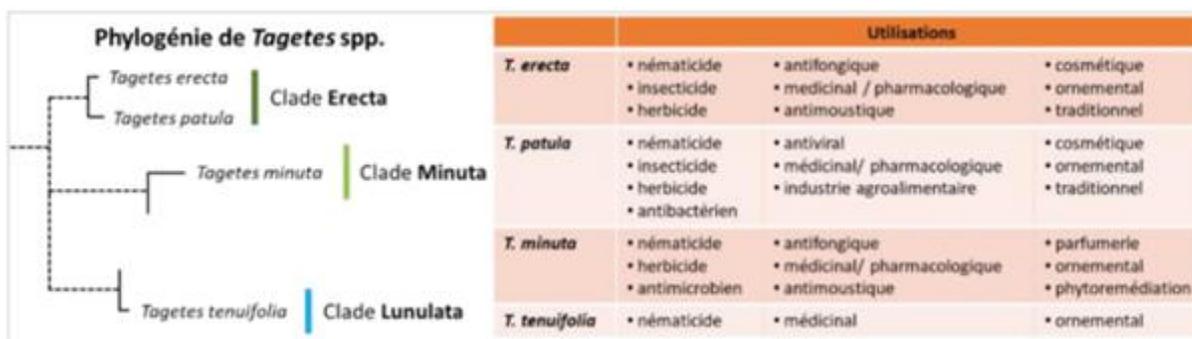


Figure 5 : Schémas phylogénétique de Tagètes et Tableau regroupant les utilisations des Tagètes suivant leurs espèces ; Sources : Njekete, in press

Les tagètes sont également identifiés comme non hôtes et nématocides en particulier pour les nématodes du genre *Meloidogyne* ((Njekete et al., 2023). Si l’environnement global de la plante en culture est bien géré, les Tagètes peuvent faire baisser le taux de nématodes dans le sol de manière significative (Oduor- Owino, 1993 ; Ploeg, 2002, 1999 ; Siddiqui et Alam, 1987 ; Tringovska et al., 2015 ; Zavaleta Mejía et Gómez,1995). Ces affirmations ont été démontrées en agrosystème tomate mais aussi pour d’autres cultures ma- raichères. Les métabolites secondaires (permettant la défense des plantes contre les nématodes) sécrétés par les ta- gètes peuvent être transférés vers les plantes en cultures repoussant ou limitant ainsi l’infestation par les nématodes (Barto et al., 2011). Cependant, le degré d’efficacité des tagètes dépend de la température, en effet, plus la température est élevée, plus la pression des nématodes sera significative ce qui peut limiter l’effet des tagètes (Koon-Hui et al., 2007). Les tagètes sont également connus pour favoriser des micro-or- ganismes antagonistes des nématodes (Ko et Schmitt, 1996 ; Sturz et Kimpinski, 2004)

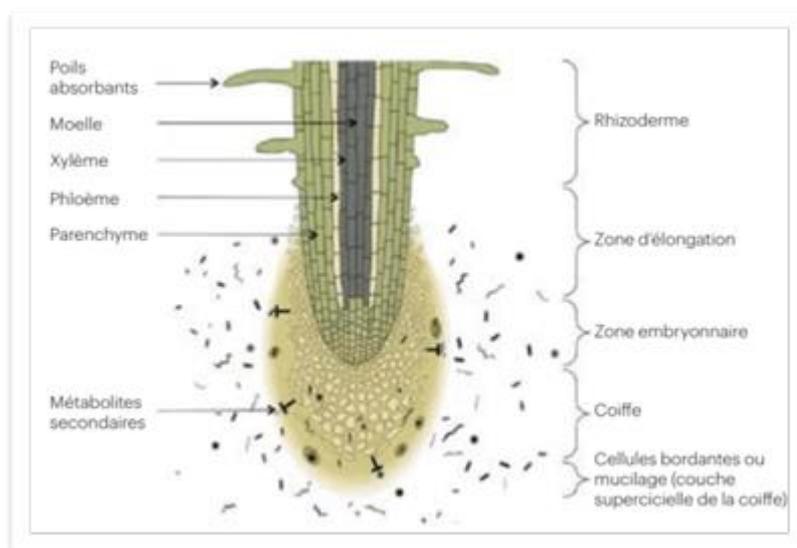


Figure 6 : Schémas expliquant le fonctionnement des exsudats racinaires des PdS ; Source : CTIFL

Le mode d’action des Tagètes contre les nématodes n’est pas encore complètement bien élucidé. Plusieurs mécanismes encore à l’étude au laboratoire ISA-IPN seraient à l’origine du caractère nématocide et non hôte. Les racines des tagètes produisent des métabolites secondaires (Figure 6) sous forme de sécrétions endoracinaires et/ou sous forme d’exsudats qui se répandent dans la rhizosphère. Ces métabolites sont des

composés chimiques comme les thiophènes, les flavonoïdes, les dérivés de bithienyl, le terthienyl, des benzènes et des méthyl polythienyl, sont responsables du caractère nématocide des Tagètes. Ces toxines peuvent également être présentes dans les parties aériennes. Elles peuvent avoir une action ovicide ou répulsive pour les larves (Lahoreau Gilio, 2022 ; Aryal, 2023 ; Faivre, 2023). Des essais en serre par l'équipe IPN ont déjà montré des effets de *Tagetes erecta* pour protéger la tomate contre les nématodes lorsqu'elle était en co-culture mais avec un effet antagoniste sur la croissance de la tomate après 3 mois (Sokunle, 2022). Son incorporation avant la culture de la tomate pour éviter cette interaction négative n'a pas encore été testée.

4.3 Les biostimulants à effet stimulateur de défense des plantes (SDP)

Les biostimulants sont des substances administrées aux plantes pour favoriser leur croissance et leur développement. Leur origine est diverse (acides aminés, substances humiques, extraits végétaux, microorganismes...). Parmi les biostimulants, on retrouve les stimulateurs de défense des plantes (SDP).

Les SDP sont des substances capables de favoriser une résistance des plantes par rapport à un stress biotique induit par des bioagresseurs. Ces substances peuvent être naturelles ou non, de différentes origines (bactéries, algues, huiles essentielles, fongiques, etc...). Certains SDP disposent d'une autorisation de mise sur le marché (AMM). Dans ce cas-là, l'application de ces produits doit figurer sur le registre des traitements (Index Phytosanitaire de l'ACTA, <https://ephy.anses.fr>).

Les SDP ont une action indirecte sur les bioagresseurs. Ces substances vont induire une cascade de mécanismes au sein de la plante qui va lui permettre d'enclencher une réponse immunitaire sur le même principe qu'un vaccin. Les molécules qui sont capables d'activer la résistance des plantes sont des éliciteurs. Ces molécules vont se fixer sur certains récepteurs spécifiques situés sur la paroi des cellules végétales ce qui va entraîner une cascade d'évènements intracellulaires. Ces réactions en chaîne vont avoir deux effets majeurs : d'une part, l'activation de gènes de défense et d'autre part, la production de formes actives d'oxy-gène ce qui va avoir pour effet de renforcer la paroi végétale et d'avoir une action anti-microbienne. Ces actions vont avoir un premier effet de résistance induite localement puis les signaux vont se transmettre dans la plante entière (résistance systémique).

L'efficacité de ces SDP peut s'avérer différente selon la mise en culture des plantes dans des conditions contrôlées ou en plein champ. Leur efficacité dépend également du type de produit associé à l'espèce de la plante, aux bioagresseurs, à l'environnement. Il faut noter que les SDP sont des produits complexes avec plusieurs substances actives. Le résultat sur la plante sera l'effet d'un ensemble d'actions.

Les SDP testés dans le cadre de l'étude sont le Cedroz, le Vacciplant et le Rapsody.

Le Cedroz, commercialisé par UPL France, est le seul à être commercialisé comme nématocide (<https://ephy.anses.fr/ppp/cedroz>). Ce produit est à base de 2 monoterpènes, thymol (41g/l) et géraniol (121g/l). Le thymol est un phénol contenu dans l'huile essentielle de thym et de plusieurs autres plantes, qui a des propriétés antifongiques, antibactériennes, et répulsives contre les insectes ravageurs. Le géraniol est un alcool terpénique insaturé. Il constitue une majeure partie de l'essence de rose et de palmarosa et est présent dans les huiles essentielles de géranium, citron et citronnelle. C'est un agent antimicrobien et insectifuge naturel qui est également connu comme nématocide (Echeverrigaray et al., 2010 ; Nasiou & Giannakou, 2018).

Il aurait une action synergique avec le thymol. L'effet SDP du Cedroz serait obtenu par les deux substances actives qui sont chimiquement identiques aux substances produites par les plantes comme mécanisme de défense contre les attaques parasitaires. L'application se fait par un système d'irrigation goutte à goutte (il faut qu'il soit propagé de manière homogène et au pieds de la plante). Comme le produit est formulé sous forme de suspension de capsules libérant les molécules actives dans l'eau, pour une efficacité maximale il faut que le sol soit déjà humide (on distribue dans un premier temps environ 40 % du volume d'eau d'irrigation prévu, puis le reste est apporté avec l'application du Cedroz).

Le Vacciplant Fruits et Légumes fourni par UPL France, aussi commercialisé sous le nom de Iodus 2 par Laboratoires Goëmar comme SDP maladies (<https://ephy.anses.fr/ppp/iodus-2-cultures-specialisees>), a pour principe actif la Laminarine qui est un extrait d'algue brune récoltée en mer. La Laminarine est concentrée à 45 g/l dans le Vacciplant. Ce principe actif est similaire dans sa conformation à une substance contenue dans la paroi de certains champignons pathogènes. La plante enclenche sa réaction immunitaire et renforce ses parois par synthèse de lignine (barrage physique). Ensuite, la plante produit des phytoalexines (composés phytochimiques en réponse à un stress qui ont pour effet d'inhiber le pathogène). Enfin, la plante produit des protéines PR (Pathogenesis Related protéine) pour contre-attaquer le pathogène. Pour son application contre les maladies, le Vacciplant (concentré soluble) doit être pulvérisé sur les plantes mais il peut également être mis dans le système d'irrigation pour atteindre les racines. On ne sait pas s'il a la même activité de SDP avec ce mode d'application, plus facile pour le producteur.

Le Rhapsody, commercialisé par Bayer également sous le nom de Serenade Aso, est fabriqué à partir de *Bacillus amyloliquefaciens* QST713. Pendant la fermentation des bactéries, des molécules bactéricides (comme les macrolactines et les difficidines), des molécules fongicides (comme des lipopeptides, en l'occurrence des iturines, des agrastatines et des surfactines), et des hormones végétales (indole-acetic-acid et butanédiol) sont sécrétées, ce qui permet en plus une croissance des racines latérales de la plante. Il est a priori commercialisé comme fongicide mais *Bacillus amyloliquefaciens* est une bactérie PGPR (Plant Growth Promoting Rhizobacteria) qui stimulerait les défenses naturelles des plantes et aurait une action contre les nematodes à galles (Aioub et al., 2022). L'application du produit peut se faire avant la plantation, dans ce cas, il faudra l'appliquer sur sol nu et déjà travaillé, il faut que le sol soit déjà réchauffé et humide pour permettre une bonne activité des bactéries.

II. Objectifs de stage

L'objectif principal du stage est de tester l'effet de la combinaison de ces trois leviers bioprotecteurs, à savoir, la résistance génétique partielle, l'utilisation de SDP (substances de défense des plantes) et l'utilisation des plantes de services, dans le but d'analyser leurs effets additifs, synergiques, neutres ou antagonistes sur l'infestation de la tomate par le nématode à galles *Meloidogyne incognita*. Afin de répondre à cet objectif, des expérimentations ont été réalisées en chambre climatique et en serre sur le site de l'INRAE. L'expérimentation en chambre climatique était une pré-expérimentation qui visait à choisir quel SDP entre le Vacciplant, le Cedroz et le Rhapsody était le plus efficace pour protéger la tomate contre le nématode à galles *M. incognita* (Annexe 1).

L'expérimentation en serre visait à tester *Tagetes erecta* en enfouissement, le biostimulant à effet SDP choisi en application foliaire, et la combinaison de ces leviers pour prolonger la durabilité de la résistance de la tomate contre le nématode à galles *M. incognita*. Les leviers ont donc été testés individuellement ou en combinaison.

Le caractère "efficace" et les interactions "additives", "synergiques", "neutres" ou "antagonistes" de ces deux expérimentations ont été déterminés en fonction de :

1. Symptômes d'infestation par *M. incognita* sur racines de tomate : mesure du nombre de galles, du nombre de masses d'œufs et d'œufs par ponte. Ces mesures destructives sont effectuées à la fin du premier cycle de nématodes (sur la moitié des pots) et à la fin d'un deuxième cycle (sur l'autre moitié des pots) afin d'étudier l'efficacité dans le temps. La quantité de nématodes restant dans le sol en toute fin d'expérimentation est analysée pour finir de comparer l'efficacité des différentes modalités entre elles pour limiter la reproduction des nématodes.
2. Cinétique de croissance végétale de la tomate : toutes les semaines, mesure de la taille de la plante, du nombre de feuilles, de fleurs et de fruits pour vérifier qu'aucun effet phytotoxique n'est à déplorer et que les leviers, seuls ou en combinaison, permettent une croissance correcte des plants. La masse fraîche et sèche des parties aériennes est également notée lors des mesures destructives de fin de cycle pour compléter ces mesures.

À l'issue du stage, des conclusions pourront être tirées sur l'efficacité des trois moyens de lutte seuls ou combinés. Ces conclusions serviront pour l'expérimentation en plein champ en 2025. La démarche scientifique doit être réfléchie de manière à ce que les moyens de lutte contre les nématodes soient reproductibles par les agriculteurs en conditions réelles, afin que les résultats de recherche puissent être utiles en production agricole.

III. Matériel et Méthode

1. Matériel Biologique utilisé

1.1. Les variétés de tomate et tagètes utilisées

Les plants de tomates utilisés pour les différentes expérimentations sont de l'espèce *Solanum lycopersicum*. Plusieurs cultivars sensibles ou résistants partiellement au nématode à galles *M. incognita* ont été utilisés. En ce qui concerne les Tagètes, c'est la variété *Tagetes erecta* qui a été utilisée (Figure 7).

Toutes les graines sont stockées dans une « armoire à graines » avec une température constamment maintenue à 15°C. Les productions des plantes de tomates relatives à chaque expérimentation sont détaillées dans les parties 2 et 3.

Tomates			
Variétés	Résistance aux nématodes	Expérimentation dans lesquels les variétés ont été utilisées	Provenance du plant ou des graines
Saint-Pierre	Absence	Choix du biostimulant (expérimentation en pièce climatisée)	INRAE (graines)
Dossimo	Absence	Détermination de l'efficacité des trois leviers de biocontrôle (expérimentation en serre)	EARL les Valleyguettes (13910 Maillane) (plants)
Dossimo greffée sur Maxifort	gène <i>Mi-1</i> (exprimé mais non fonctionnel)		
Tagètes			
<i>T. erecta</i> Cracker Jack	QTL de résistance (notamment <i>gst</i> , <i>ctl</i> , <i>sod</i> , etc...)	Détermination de l'efficacité des trois leviers de biocontrôle (expérimentation en serre)	Lidea Seeds, 2022 (graines)

Figure 7 : tableau résumant les variétés de tomates et tagètes utilisées et leur caractéristique

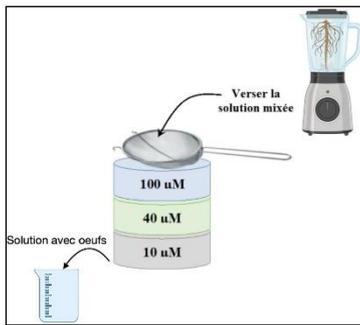
Le cultivar St-Pierre est un homozygote sensible aux nématodes à galles qui ne possède pas le gène *Mi-1*. Ce cultivar utilisé en routine au laboratoire IPN a été utilisé pour l'essai du choix des SDP.

Pour préparer l'essai chez les producteurs maraichers en 2025, les tomates de l'essai en serre ont été choisies en fonction des desiderata des producteurs. Le cultivar Dossimo provient de l'Earl les Valleyguettes, une pépinière spécialisée dans les plants maraichers pour les professionnels. Les plants ont été réceptionnés le 5 avril 2024, âgés d'environ 3 semaines. Ils ont été stockés en chambre climatique le temps du repiquage. Dossimo est très utilisé par les agriculteurs partenaires car c'est une variété vigoureuse, avec des fruits très charnus et réguliers. Dossimo est un hybride F1 sensible aux nématodes à galles, qui ne possède pas le gène *Mi-1*. Cependant, ce cultivar reste intéressant en agriculture car il est résistant à plusieurs autres maladies et/ou ravageurs (*Fusarium oxysporum*, *radicis-lycopersici*, *Fulvia fulva*, etc.).

Mis au point par Bayer, Maxifort provient d'un croisement entre *S. lycopersicum* × *S. peruvianum* × *S. habrochaites*. Ce cultivar est actuellement produit par la société De Ruiters Seeds. Maxifort présente plusieurs résistances fortes contre diverses maladies (virus mosaïque de la tomate, champignon *Fusariose vasculaire*, *Fusarium oxysporum*, etc.), ainsi que des résistances partielles, notamment contre les nématodes à galles *Meloidogyne incognita* (Bayer, 2023). Cette résistance partielle serait due au fait que Maxifort porte un variant du gène *Mi-1* qui est exprimé mais non fonctionnel suivant les souches virulentes de *M. incognita* (Cortada et al., 2008, 2009 et 2012). Des tests rapides réalisés à l'Inrae-ISA dans notre laboratoire semblent montrer que Maxifort serait à terme sensible à *M. incognita* Morelos (Annexe 2). Même si l'équipe IPN a demandé d'autres porte-greffes résistants (Emperador, Kaiser, Protector) qu'elle a validé résistants à *M. incognita*, le seul disponible en région PACA pour Dossimo était Maxifort, considéré comme peut-être tolérant aux nématodes par De Ruiters.

L'Earl les Valleyguettes a réalisé le greffage, et les plants greffés sont arrivés le même jour que les plantes sensibles Dossimo.

1.2. La production des nématodes à galle *Meloidogyne incognita*



Dans le cadre des deux expérimentations en chambre climatique et en serre, le nématode à galles *M. incognita* Morelos, originaire du Mexique, a été utilisé. Cette espèce est produite au sein de l'équipe de l'IPN. *M. incognita* a été utilisé sous forme de larves au stade J2 pour l'expérimentation en chambre climatique, ou sous forme d'œufs pour l'expérimentation en serre. Les méthodes de récupération des œufs et des larves sont détaillées ci-dessous (Figure 8).

Figure 8 : Schéma de la récupération d'œufs de nématodes à partir d'un matériel végétal

Les œufs de *M. incognita* ont été extraits des racines de tomates Saint Pierre infestées. Un plant de tomate de l'élevage IPN permet d'obtenir environ 300 000 œufs. Pour cela, les racines ont été récupérées et nettoyées à l'eau. Elles ont ensuite été découpées en petits morceaux, puis mélangées avec de l'eau de Javel (4,8 % de chlore actif, dilué 20 fois) afin de détruire le mucilage entourant les œufs et de les libérer. Le broyat est ensuite filtré successivement sur trois tamis de 100 µm, de 40 µm et de 10 µm, et les œufs sont récupérés sur le dernier tamis. 10 plants de tomates étaient nécessaires pour produire les 3 millions d'œufs nécessaires à l'expérimentation en serre.

Pour récupérer les larves au stade J2 de *M. incognita*, nécessaire à l'expérimentation en pièce climatisée, il était nécessaire de récolter d'abord les œufs en suivant le même processus expliqué ci-dessus à partir d'un plant de tomate infesté. Les œufs étaient ensuite mis à éclore à 24°C sur un tamis de 10 µm placé dans un cristalliseur avec de l'eau Volvic et un bulle-air, maintenu à 25°C dans une enceinte climatique. Les J2, pouvant traverser le tamis (contrairement aux œufs), étaient alors récupérées et concentrées sur un tamis de 0,5 µm.

2. Méthode du choix du SDP le plus efficace (expérimentation en chambre climatique)

Cette pré-expérimentation en chambre climatique visait à déterminer quel SDP (Stimulateur de Défense des Plantes) parmi le Vacciplant, le Cedroz et le Rhapsody était le plus efficace pour favoriser l'activation des défenses de la tomate contre le nématode à galles *M. incognita*.

L'expérimentation a été réalisée en chambre climatique, offrant des conditions contrôlées et constantes. La température de la chambre était maintenue à 24°C, avec une hygrométrie de 64 %. La photopériode était répartie en 15 heures de jour et 9 heures de nuit, et le système d'éclairage fournissait en moyenne 18 Klux (mesures effectuées sous les lampes).

2.1 Production des plants de tomates

Les graines de tomates Saint Pierre ont été mises à germer en les plaçant dans une boîte de Pétri contenant de l'agar à 0,8 %. Les boîtes ont ensuite été placées à 24°C dans l'obscurité pendant 48 heures. Ensuite, les graines ont été repiquées individuellement dans des pots de 1 litre contenant un sol stérile équilibré (55-60 % de sable, 12-20 % d'argile, 18-20 % de limon, 2 % de matière organique). Les plantes ont été arrosées deux fois par semaine à l'eau claire et une fois par semaine avec du PH4eco, un mélange liquide d'oligo-éléments permettant d'abaisser le pH du sol et ainsi faciliter l'absorption des éléments disponibles dans le sol par la plante (800 µL pour 1 L d'eau, soit 50 ml par plante).

2.2. Application des biostimulants et inoculation des plantes avec *M. incognita*

Quatre semaines après la germination des plantes, les biostimulants ont été appliqués pour la première fois. Le calcul des doses pour chaque SDP a été effectué grâce aux recommandations des fournisseurs. Pour le Vacciplant, la dose recommandée était de 1 L/ha. Pour le Rhapsody, elle était de 10 L/ha et pour le Cedroz, elle était de 9 L/ha. Comme les essais devaient être réalisés en pot, les doses devaient être re-calculées, soit en prenant en compte la surface à traiter dans un pot de 1 L (premier cas), soit en prenant en compte la densité de plants de tomate/ha (deuxième cas).

Pour le premier cas, il faut adapter la dose/ha à la surface du pot pour chaque modalité. La surface d'un pot de 1 L fait environ 0,0154 m² (3,14 (car le pot est cylindrique) x 0,07 x 0,07 = 0,0154 m²). Ce qui nous donne les résultats suivants :

Doses préconisées/ha	Dose / pot (µl /pot)
Vacciplant 1L/ha	$0,0154 \times 1 / 10\ 000 = 1,54$
Rhaphody 10L/ha	$0,0154 \times 10 / 10\ 000 = 15,4$
Cedroz 9L/ha	$0,0154 \times 9 / 10\ 000 = 13,9$

Figure 9 : tableau du calcul des doses/pot calculées par surface du pot

Dans le deuxième cas (dose calculée par rapport à la densité de plantation), on estime qu'un hectare contient 25 000 plants de tomates en moyenne. Les doses à l'hectare sont donc ramenées au plant à l'unité, ce qui nous donne les résultats suivants :

Doses préconisées/ha	Dose / pot (µl /pot)
Vacciplant 1L/ha	$1 / 25\ 000 = 40$
Rhaphody 10L/ha	$10 / 25\ 000 = 400$
Cedroz 9L/ha	$9 / 25\ 000 = 360$

Figure 10 : tableau du calcul des doses/pot en adaptant à densité de plantation

Une première expérience avait été conduite par IPN en utilisant des doses calculées en fonction de la densité de plantation (cas n°2) selon les recommandations de Bayer. Des résultats positifs avaient été observés pour le Rhapsody et le Vacciplant. En revanche, la concentration de Cedroz présentait des effets phytotoxiques fort (mort des plantes). Pour le Cedroz, la concentration utilisée a donc été calculée à partir de la surface du pot (cas n°1), (cf Annexe 3).

Chaque biostimulant a été dilué dans de l'eau claire de manière à apporter 20 mL de solution totale à chaque plante (quantité ne permettant pas de perte de produit par percolation). L'application des biostimulants a été réalisée 7 jours (première application) et 3 jours (deuxième application) avant l'inoculation avec *M. incognita*. Ensuite, les plantes ont été inoculées avec 600 larves de *M. incognita* au stade J2. Trois jours après l'inoculation (troisième application), les plants ont de nouveau reçu une application des biostimulants. Ensuite, les biostimulants ont été appliqués une fois par semaine jusqu'à la fin de l'expérimentation. Les plants témoins ont été arrosés à l'eau claire. Au total, une dizaine de plants ont été utilisés pour chaque modalité. Afin d'éviter les effets de bordure, les plants ont été disposés de manière homogène (en alternance entre les plants témoins et ceux recevant les biostimulants) sur 2 tablettes.

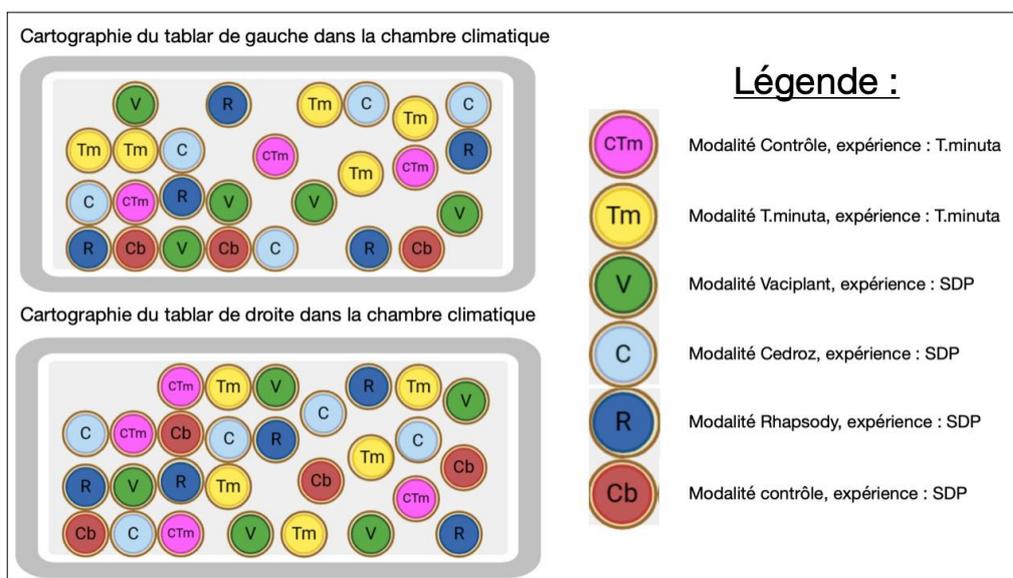


Figure 11 : Photo de la disposition des plantes en pièce climatisée

Au bout de 6 semaines, le cycle du nématode était complet (observation de galles et de masses d'œufs sur les racines), et les plantes ont été récupérées pour réaliser diverses mesures décrites dans le paragraphe ci-dessous.

2.3 Mesures de la croissance végétale et de l'infestation par *M. incognita*

Pour pouvoir comparer la croissance végétale des plantes pour chaque modalité, des mesures non destructives ont été réalisées au début de l'expérimentation (le jour de l'inoculation des plantes) et à la fin de l'expérimentation : mesures de la hauteur des plantes (de la base de la plante jusqu'à la feuille la plus haute) et nombre de feuilles vraies.

À la fin de l'expérience, des mesures destructives ont également été réalisées pour compléter les données : pesée des masses fraîches et sèches des parties aériennes et racinaires (après lavage à l'eau et analyses nématologiques) à l'aide d'une balance de précision. Les masses sèches ont été obtenues en faisant sécher les racines dans un four pendant 3h à x°C.

Les mesures pour comparer l'infestation de *Meloidogyne incognita* consistaient à compter le nombre de galles et de masse d'œufs.

Pour cela, les plantes ont été dépotées délicatement et placées dans des seaux d'eau de rinçage pour enlever la terre des racines. Les racines n'ont pas été lavées avec un jet d'eau pour ne pas décrocher les pontes. Elles ont été pesées puis placées dans des sacs plastiques et congelées individuellement jusqu'à analyse. Pour réaliser les comptages à la loupe binoculaire, les racines ont été placées dans une solution d'éosine à 4,5 g/L pendant environ 10 secondes, puis rincées afin de mieux observer les masses d'œufs. Le nombre de galles par plante et le nombre de pontes par plante ont pu être comptés sous loupe binoculaire (Figure 12).

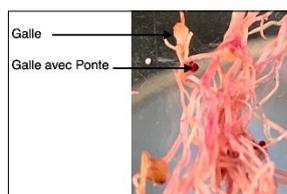


Figure 12 : Photos de racines de tomates colorées à l'éosine pour le comptage du nombre de galles et de pontes

3. Méthode pour évaluer les leviers individuels et comparer les trois leviers de lutte contre les nématodes à galles *M. incognita*

Après avoir interprété les résultats de l'expérimentation en chambre climatique, le biostimulant Vacciplant a été choisi comme levier potentiel pour l'expérimentation en serre. Cette étude visait à tester trois leviers bioprotecteurs potentiels seuls ou en combinaison: la résistance de la tomate, un biostimulant à effet SDP et les tagètes enfouies avant culture comme plantes de service, afin de protéger la tomate contre le nématode à galles *M. incognita*.

L'expérimentation s'est déroulée en serre, dans deux compartiments (2 blocs indépendants pour répéter l'expérience) où les différentes modalités ont été dispersées de manière homogène. Les températures et la luminosité variaient en fonction des conditions extérieures. Cependant, les températures minimales à la base des pots étaient contrôlées à 25°C grâce à l'utilisation d'un tapis chauffant. De plus, les serres étaient équipées d'un système de refroidissement activé à mi-parcours de l'expérimentation pour éviter de dépasser 30°C.

L'arrosage dans les serres a été réalisé via un système d'irrigation automatique par goutte-à-goutte. La

quantité d'eau apportée a été ajustée en fonction des besoins des plantes. Au début de l'expérimentation, 10 litres d'eau étaient distribués à l'ensemble de chaque compartiment, trois fois par jour. Les plantes étaient arrosées à l'eau claire (sans fertilisation afin d'éviter les interactions avec les biostimulants testés). Cette expérimentation a été et est encore menée sur deux cycles de *M. incognita*. Dans le cadre de ce stage, seuls les résultats issus de la fin du premier cycle seront présentés. Celui-ci a duré 5 semaines.

3.1 Production des plants de tomates et de *Tagetes erecta*

Les plants de tomates ont été produits par un pépiniériste, tandis que les plants de *Tagetes erecta* ont été produits au laboratoire.

Concernant les tomates, 125 plants de la variété Dossimo (plante sensible) et 125 plants Dossimo greffés sur le porte-greffe Maxifort ont été réceptionnés à l'âge de 3 semaines. Ces plants ont été stockés en chambre climatique et arrosés à l'eau claire jusqu'à leur repiquage en serre, deux semaines plus tard.

Quant aux tagètes, une dizaine de graines de *T. erecta* ont directement été semées dans des pots de 2 litres de sol (mélange terre-sable) et placées en serre sur tapis chauffant, 3 semaines avant la mise en place de l'expérimentation. Les tagètes ont été arrosés par goutte à goutte trois fois par jour avec 5 litres d'eau claire par compartiment (soit environ 150 ml par pot). Les fleurs de tagètes ont été coupées afin que les plantes puissent consacrer leur énergie à la production de molécules nématocides plutôt qu'au développement de leurs organes reproducteurs. Par la suite, seulement 7 tagètes par pot ont été retenus pour correspondre à la densité estimée de tagètes semés comme cultures de couverture en agriculture. Comme les plantes ont poussé beaucoup plus vite que prévu, seule 1 plante par pot a finalement été conservée pour l'enfouissement.

3.2 Mise en place de l'expérimentation

L'expérimentation a été réalisée en parallèle sur les tomates Dossimo plantées en franc et sur les tomates Dossimo greffées sur porte-greffe Maxifort. Elle comprenait 8 modalités au total : les plants contrôles (pas d'application de SDP ou de *T. erecta*), les plants traités exclusivement avec *T. erecta*, les plants traités exclusivement avec le biostimulant Vacciplant et les plants traités avec *T. erecta* et avec le biostimulant Vacciplant (Figure 13). Chaque modalité contenait 24 plants et toutes les plantes ont été inoculées avec *M. incognita*.

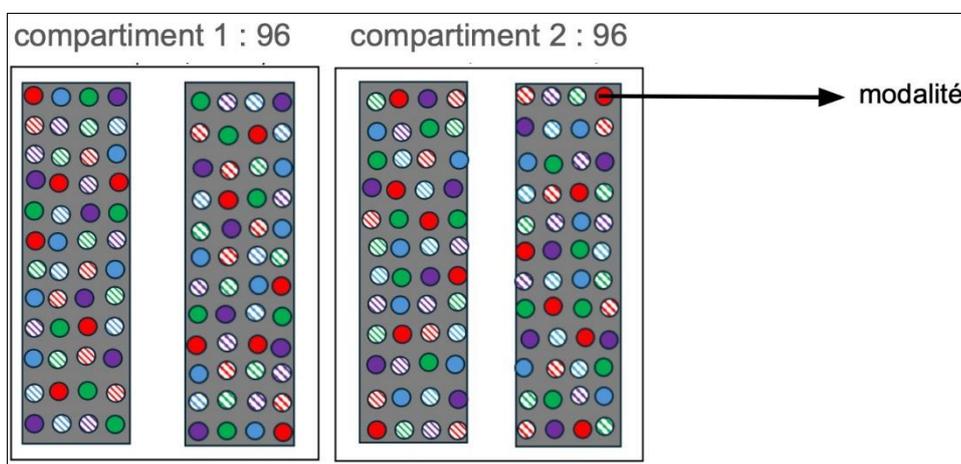


Figure 13 : Schémas de la répartition en serre

3.2.1 Mise en place des plantes pour les modalités avec tagètes

Les tagètes âgées de un mois ont été récupérées et leurs parties aériennes et racinaires ont grossièrement été coupées en morceaux. 72 g de parties aériennes et 42 g de racines de tagètes (proportions basées sur la pesée d'une seule tagète de taille moyenne) ont été mélangés à 1L de sol dans lequel les tagètes ont été produites afin de récupérer leurs exsudats racinaires. Ce sol a ensuite été dilué avec 1L de sol (mélange terre-sable) stérile. Au total, 96 pots ont été préparés. Ce mélange de sol et de tagètes a été mis à reposer pendant trois jours pour mimer ce que ferait l'agriculteur : enfouissement puis pose du goutte à goutte puis repiquage des tomates (sur 2-3 jours) et afin de laisser les tagètes se dégrader un peu dans le sol. Ce que nous n'avons pu réaliser est le paillage plastique avant le repiquage des tomates qui aurait permis une dégradation plus rapide des tagètes enfouies.

3.2.2 Repiquage et inoculation des plants de tomate avec *M. incognita*

L'inoculation et le repiquage des plants ont eu lieu en même temps. La moitié du sol de chaque pot (les pots des modalités avec les tagètes et les pots des autres modalités remplis de 2L de mélange terre-sable) a été inoculée avec 20 000 œufs de *M. incognita* (10 000 œufs/Kg de sol/pot) récupérés comme indiqué dans la partie 1 à partir de 10 plants de tomates infestées pour obtenir les 3 millions d'œufs nécessaires. On utilise cette valeur d'inoculation car on estime qu'elle correspond à une valeur moyenne d'œufs dans un sol bien infesté. Les plants de tomate ont ensuite été directement repiqués en les plaçant dans les pots (remplis de l'autre moitié du sol non inoculé), puis inoculés avec le sol fraîchement infecté. Nous n'avons pu enlever la motte de terreau accrochée aux racines des tomates. Ce point est à souligner car le terreau peut gêner la circulation des molécules de Vacciplant et de Tagetes jusqu'aux racines des tomates.

3.2.3 Application du biostimulant

Le Vacciplant a été appliqué 7 jours (première application) et 3 jours (deuxième application) avant le repiquage des plants de tomates à la dose de 40 µl diluée dans 20 ml d'eau claire (même dose que celle testée pour l'expérimentation en chambre climatique). Pour les autres modalités (contrôle et tagètes seules), 20 ml d'eau claire par plante ont été appliqués afin que toutes les plantes reçoivent le même volume d'eau au cours de l'expérimentation.

3.3 Mesure de la croissance des plantes et de l'infestation par les nématodes

3.3.1 Mesures hebdomadaires

Pendant toute la durée de l'expérimentation, des mesures hebdomadaires et non destructives ont été réalisées sur tous les plants de tomate afin d'étudier la dynamique de croissance de chaque plante selon les modalités pour vérifier la non phytotoxicité des traitements Tagetes et Vacciplant et voir l'apport de tolérance éventuelle et vigueur de Maxifort à Dossimo. Les paramètres mesurés comprenaient la hauteur des plantes de la base du collet à la feuille la plus haute, le nombre de feuilles vraies, le nombre de fleurs ouvertes et fermées, ainsi que le nombre de fruits.

3.3.2 Mesures destructives

Au terme du premier cycle des nématodes, soit 5 semaines après le repiquage et l'inoculation (estimation basée sur une température constante de 25°C dans les pots, équivalant à un cycle des nématodes en 5 semaines), des mesures destructives ont été réalisées sur les plants de tomates. Ces mesures permettent, d'une part, de compléter les données sur la croissance des plantes en fonction des différentes modalités et, d'autre part, d'analyser l'efficacité des différents moyens de lutte contre *Meloidogyne incognita* en observant l'infestation au niveau des racines des plantes. Pour ce faire, la moitié des plants de chaque modalité a été récupérée (l'autre moitié ne sera détruite que 5 semaines plus tard, à la fin du deuxième cycle d'infestation par *M. incognita*), ce qui représente un total de 196 plants. Chaque plant a été délicatement dépoté, les parties aériennes et racinaires séparées au niveau du collet. Ensuite, les racines ont été soigneusement nettoyées à l'eau claire afin d'éliminer tout résidu de sol. Les parties aériennes et racinaires ont ensuite été pesées à l'aide d'une balance de précision (Figure 14). Les parties aériennes ont été mises à sécher en serre, tandis que les racines ont été conservées et congelées en attendant de pouvoir dénombrer le nombre de galles et la masse d'œufs grâce à la coloration des racines à l'éosine. Ces comptages ont été effectués sous loupe binoculaire. Le nombre d'œufs par ponte par plant a pu être estimé. Après les comptages, les racines ont été conservées et mises à sécher dans un four. Les masses sèches aériennes et racinaires ont ensuite été pesées à l'aide de la balance de précision.

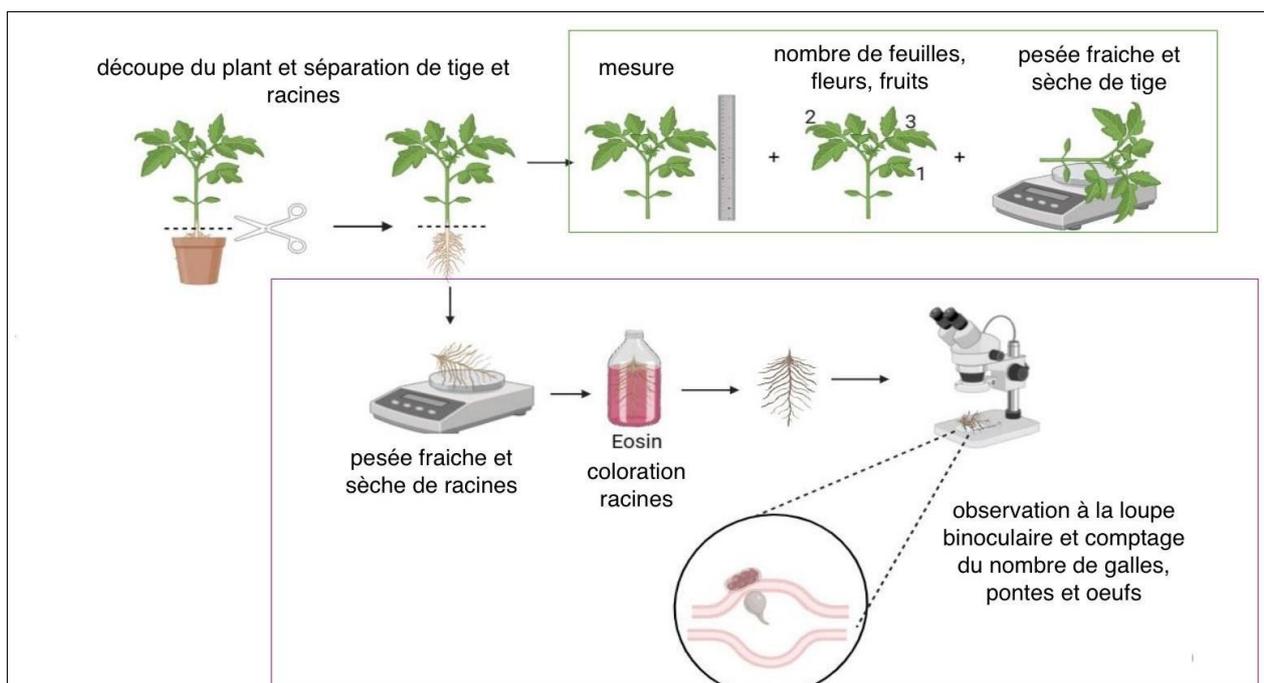


Figure 14 : Schémas des mesures destructives

4. Tests statistiques réalisés

4.1 Analyses statistiques pour la comparaison du taux de galles et de pontes

Pour savoir laquelle des différentes modalités permet de réduire au mieux le nombre de galles et de pontes comparé à un plant témoin, deux hypothèses peuvent être posées :

- Les plants témoins ont un nombre de galles et de pontes moins élevé ou égal à ceux d'une modalité (H_0 : X galles et pontes des plantes témoins $\leq X$ galles et pontes des plantes d'une des modalités)
- Les plants témoins ont un nombre de galles et de pontes plus élevé que ceux d'une modalité (H_1 : X galles et pontes des plantes témoins $> X$ galles et pontes des plantes d'une des modalités)

Afin de pouvoir interpréter ces résultats, des box-plot ont été réalisées grâce au logiciel statistique « Rstudio », permettant de comparer les médianes des différentes modalités entre elles. Toutes les plantes des différentes modalités ont été cultivées et mesurées de la même manière, les variances sont supposées égales entre elles, des tests statistiques adaptés doivent être choisis. Ensuite, avant de déterminer quel test statistique réaliser, on détermine si les lots de données suivent une distribution de la loi Normal grâce à un Shapiro.test. Si les Pvalue obtenus avec le Shapiro.test sont supérieurs à 0,05, alors le jeu de données suit une loi Normal, un « pairwise.student.test » est donc effectué (permet de comparer deux à deux plusieurs modalités entre elles). Dans le cas où les données ne suivent pas une distribution Normal, alors un « pairwise.wilcoxon.test » est effectué. Les valeurs de la Pvalue de ces deux tests permettent de savoir si les différences des médianes observées sur les Box-plot sont significatives.

4.2 Analyses statistiques pour la comparaison du développement des parties aériennes et racinaire

Pour savoir si l'une des modalités permet de favoriser la croissance et le développement des plantes comparées au témoin, les mêmes tests ont été réalisés grâce au logiciel « Rstudio ».

4.3 Comparaison de la croissance des parties aériennes des plantes au cours du cycle

La croissance (hauteur), le nombre de fleurs ouvertes, fermées, de fruits et le nombre de vraies feuilles ont été relevés chaque semaine. Afin de déterminer l'existence d'un lien entre les modalités et le développement des plants en fonction du temps, un test de régression linéaire a été réalisé. L'interprétation des droites graphiques a été faite en observant le coefficient de régression linéaire et le coefficient de détermination (R^2). En effet, le coefficient de régression linéaire permet d'établir un lien quantitatif entre les variables. En d'autres termes, il permet de savoir quelle est l'évolution de la croissance de la plante en fonction du temps.

IV. Résultats et Discussion

1. Résultat de l'expérimentation « choix du biostimulant »

1.1 Comparaison du taux d'infestation des nématodes à galles en fonction des SDP employés

Même si une tendance à une réduction des pontes sur racines de tomates traitées avec Vacciplant est observée ($222 \pm 28,3$ pour tomates traitées et $260 \pm 33,88$ pour tomates seules), l'analyse statistique avec Pairwise.Wilcoxon sur le nombre de galles/plant et le nombre pontes/plant a montré qu'il n'y a aucune différence significative entre le contrôle et les 3 modalités Cedroz, Rhapsodie et Vacciplant (Figure 15, Pvalue=1). En revanche, le test indique une différence significative pour le nombre de pontes entre les modalités Vacciplant et Cedroz (Pvalue=0,0324) et entre les modalités Vacciplant et Rhapsodie (Pvalue=0.0019). Ainsi, on observe moins de pontes pour la modalité Vacciplant comparé aux modalités Cedroz et Rhapsodie.

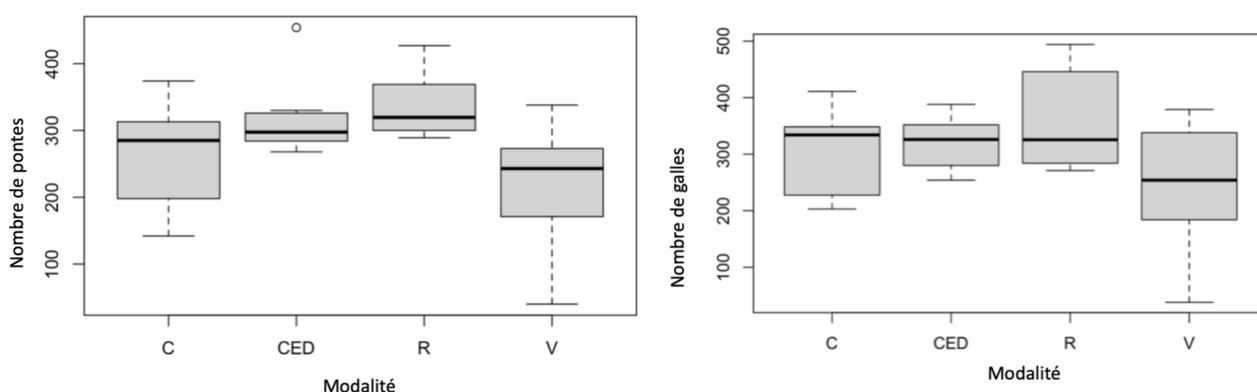


Figure 15 : Box-plot représentant le nombre de pontes (à gauche) et le nombre de galles (à droite) en fonction des différentes modalités : Contrôle(C), Cedroz (CED), Rhapsodie (R) et Vacciplant (V). Analyse statistique réalisée via un test pairwise.wilcoxon sur Rstudio.

1.2 Comparaison de la hauteur des plants en fonction des SDP employés

L'analyse statistique avec Pairwise.Wilcoxon sur la hauteur des plantes (en cm) indique qu'il n'y a pas de différence significative entre le contrôle et les modalités Rhapsodie et Vacciplant (Figure 16). En revanche, il y a une différence significative entre le contrôle et le Cedroz (Pvalue=0,076). Ainsi, on observe que les plantes de la modalité Cedroz sont en moyenne plus grandes comparées au contrôle ($57,33 \pm 1,53$ pour tomates traitées et $52,4 \pm 1,79$ pour tomates seules). On observe cependant pas d'effet phytotoxique.

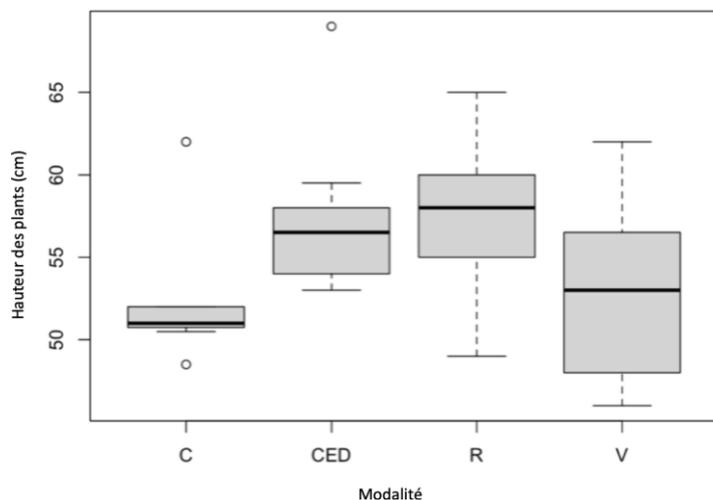


Figure 16 : Box-plot représentant la hauteur des plants en cm en fonction des différentes modalités : Contrôle(C), Cedroz (CED), Rhapsodie (R) et Vacciplant (V). Analyse statistique réalisée via un test pairwise.wilcoxon sur Rstudio.

1.3 Résultats des masses aériennes et racinaires fraîches

Même si une tendance à une augmentation de la masse des tomates traitées avec Rhapsodie est observée, l'analyse statistique avec Pairwise.Wilcoxon et Pairwise.student sur la masse aérienne et racinaire fraîche (en g) montre qu'il n'y a pas de différences significatives entre le contrôle et les différentes modalités. Cependant, on observe une différence significative pour les masses aériennes fraîches entre les modalités Rhapsody et Vacciplant (Pvalue=0,017). La masse aérienne fraîche est plus lourde pour les plantes de la modalité Rhapsodie que pour la modalité Vacciplant ($55 \pm 3,24$ pour tomates traitées avec Rhapsodie et $46,2 \pm 2,8$ pour tomates traitées avec Vacciplant).

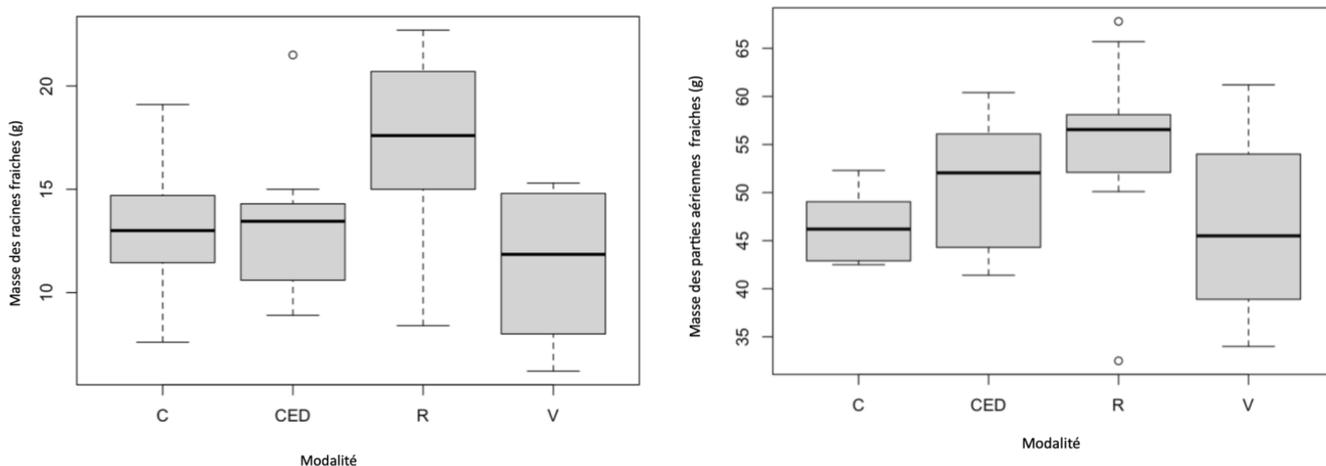


Figure 17 : Box-plot représentant la masse des racines fraîches (gauche) et la masse des parties aériennes (feuille et tige) (droite) des plants en gramme en fonction des différentes modalités : Contrôle(C), Cedroz (CED), Rhapsodie (R) et Vacciplant (V). Analyse statistique réalisée via un test pairwise.wilcoxon sur Rstudio.

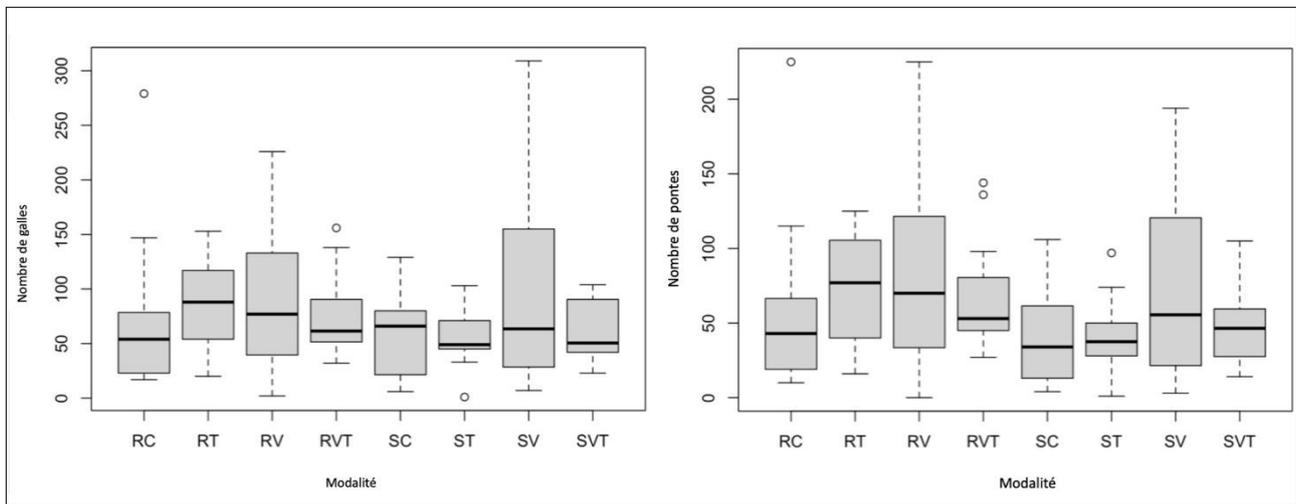


Figure 18 : Box-plot représentant le nombre de pontes (à droite) et le nombre de galles (à gauche) en fonction des différentes modalités : SC = Dossimo seule (Contrôle), SV = Dossimo avec biostimulant Vacciplant, ST = Dossimo avec Tagètes, SVT = Dossimo avec biostimulant Vacciplant et Tagètes, RC = Dossimo sur Maxifort (Contrôle), RV = Dossimo sur Maxifort avec biostimulant Vacciplant, RT = Dossimo sur Maxifort avec Tagètes, RVT = Dossimo sur Maxifort avec biostimulant Vacciplant et Tagètes. Analyse statistique réalisée via un test pairwise.wilcoxon sur Rstudio.

2. Discussion de l'expérimentation « choix du biostimulant »

En conclusion, on confirme ici que le Rhapsodie est un biostimulant permettant une meilleure croissance des tomates (racines et parties aériennes) (Figure X) mais qu'il n'est malheureusement pas actif pour protéger les tomates contre les nématodes. On peut supposer que ce produit ne soit pas efficace car *B. amyloliques* stimule la croissance de racines latérales (Aioub et al., 2022) et donc multiple peut-être la zone de contact avec les nématodes.

Il est étonnant que le Cedroz n'ait eu aucune action sur les nématodes alors qu'il est commercialisé comme nématicide contre ces nématodes à galles. Il est néanmoins à noter que nous n'avons pu utiliser la dose recommandée (18 mL/L = dose calculée par plant de tomate/ha) car elle était phytotoxique (mort des plants de tomate). Un test in vitro sur larves avec 2 doses de Cedroz (1,5 mL/L = dose calculée en dose/ha ramenée par surface de pot, et 3 mL/L = dose double par rapport à la dose donnée par le fournisseur comme DL50) montre que le Cedroz est bien larvicide (mais avec une DL50 = 3 mL/L).

Nous n'avons pu observer d'effet significatif pour le Vacciplant ni sur la croissance des tomates ni sur la réduction des infestations par *M. incognita*, néanmoins ce produit n'est pas phytotoxique et a une tendance à réduire le nombre de galles et diminue significativement le nombre de pontes observées sur les plantes par rapport au Rhapsodie et Cedroz (Figure X). C'est donc ce biostimulant qui a été choisi pour l'expérimentation en serre portant sur la comparaison de l'efficacité des trois moyens de lutte (résistante de la plante, PdS et SDP) contre *M. incognita*.

3. Résultat de l'expérimentation « comparaison de l'efficacité des trois moyens de lutte » au premier cycle

3.1 Comparaison du nombre de galles et pontes entre les différentes modalités

L'analyse statistique (Figure 18) montre que la variété Dossimo non greffée sur Maxifort (SC= modalité

contrôle) présente moins de pontes ($42,5 \pm 3,5$ pontes/plant) que les autres modalités avec ce même cultivar planté en franc. La variété Dossimo greffée sur Maxifort (RC= contrôle) présente aussi moins de pontes ($58 \pm 5,5$ pontes/plant) que les autres modalités. En revanche, le Contrôle SC présente moins de pontes que le Contrôle RC. Cependant ces résultats ne sont pas significatifs ($Pvalue=1$ déterminé grâce au test de pairwise.wilcoxon). Pour le nombre de galles, la modalité Dossimo combinée aux tagètes (ST) présente moins de galles que les contrôles SC et RC et ainsi que pour toutes les autres modalités (bien que les résultats ne soient tout de même pas significatifs; $Pvalue=1$).

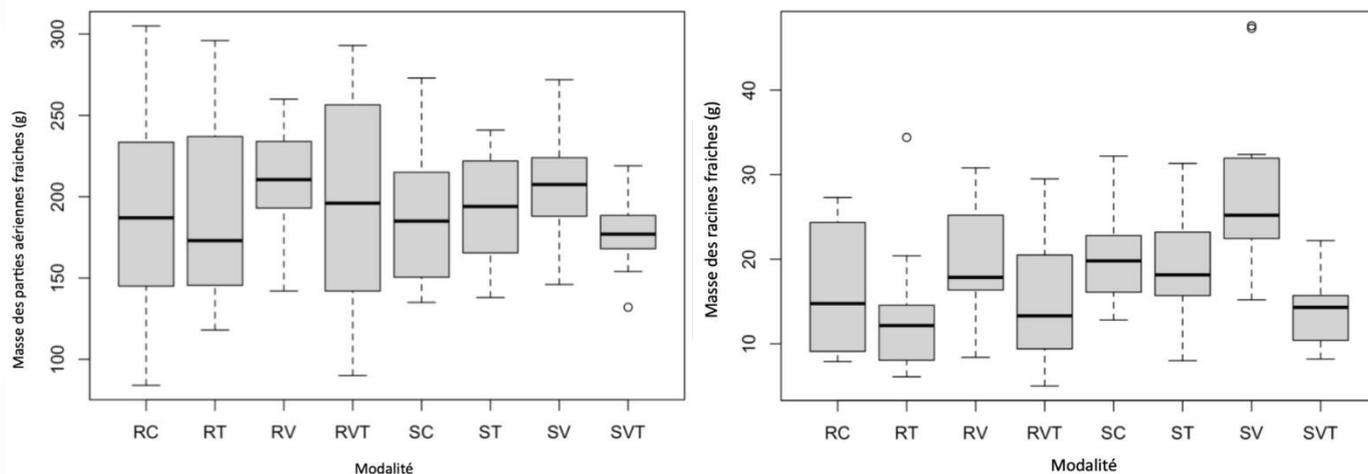


Figure 19 : Box-plot représentant la masse des parties aériennes (tige et feuille) (à gauche) et la masse racinaire (à droite) fraîches en gramme en fonction des différentes modalités : SC = Dossimo seule (Contrôle1), SV = Dossimo avec biostimulant Vacciplant, ST = Dossimo avec Tagètes, SVT = Dossimo avec biostimulant Vacciplant et Tagètes. RC = Dossimo sur Maxifort (Contrôle2), RV = Dossimo sur Maxifort avec biostimulant Vacciplant, RT = Dossimo sur Maxifort avec Tagètes, RVT = Dossimo sur Maxifort avec biostimulant Vacciplant et Tagètes. Analyse statistique réalisée via un test pairwise.wilcoxon sur Rstudio.

3.2 Comparaison des masses végétatives et racinaires fraîches entre les différentes modalités

L'analyse statistique (Figure 19) montre que la modalité Dossimo non greffée combinée avec le Vacciplant (SV) a une masse racinaire et aérienne plus importante que les contrôles SC et RC ($28,8 \pm 1$ g de racine, 207 ± 3 de parties aériennes pour SV ; $20 \pm 0,5$ g de racine, $187 \pm 4,4$ g de parties aériennes pour SC ; $16,8 \pm 0,7$ g de racine, $191 \pm 5,8$ g de parties aériennes pour RC), ainsi que pour les autres modalités à l'exception de la masse aérienne du RV. Cependant, les résultats ne sont pas significatifs ($Pvalue=1$). Seule la modalité SC présente de manière significative une masse racinaire plus importante que la modalité RT ($Pvalue=0,08$). La modalité SV présente aussi une masse racinaire significativement plus importante que les modalités SVT, RVT et RT ($Pvalue=0,0038$, $Pvalue=0,0287$ et $Pvalue=0,0159$).

Pour la masse des parties aériennes fraîches, bien que tous les résultats ne soient pas significatifs ($Pvalue=1$), les modalités ST, SV, RV et RVT ont une masse des parties aériennes plus importantes que le contrôle SC et le contrôle RC. La modalité RV montre une masse des parties aériennes plus importantes que les autres modalités.

3.4 Comparaison de l'évolution de la croissance des plants en hauteur

Le graphique de l'évolution de la hauteur moyenne des plants au cours des 5 semaines après repiquage (Figure 20), a montré que les modalités SV, SVT et ST ont une hauteur finale moyenne respectivement de 148 ± 1 , 151 ± 1 et $152 \pm 0,7$ cm, soit plus importante que la modalité SC (contrôle Dossimo non greffée de $146 \pm 13,53$ cm en moyenne). La modalité RV a une hauteur moyenne plus importante que la modalité RC (contrôle Dossimo sur Maxifort d'une hauteur moyenne de $137 \pm$ cm).

Aussi, les modalités SV, SVT, et ST, ont une hauteur moyenne plus grande comparées aux autres modalités avec le port-greffe Maxifort à t=5 semaines après le repiquage. Les coefficients directeurs des droites des modalités SV, SVT, ST, SC sont respectivement de 21, 23, 22 et 20, tandis que les coefficients directeurs des droites des modalités RC, RVT, RV et RT sont plus faibles : 18, 15,5, 19,6 et 18.

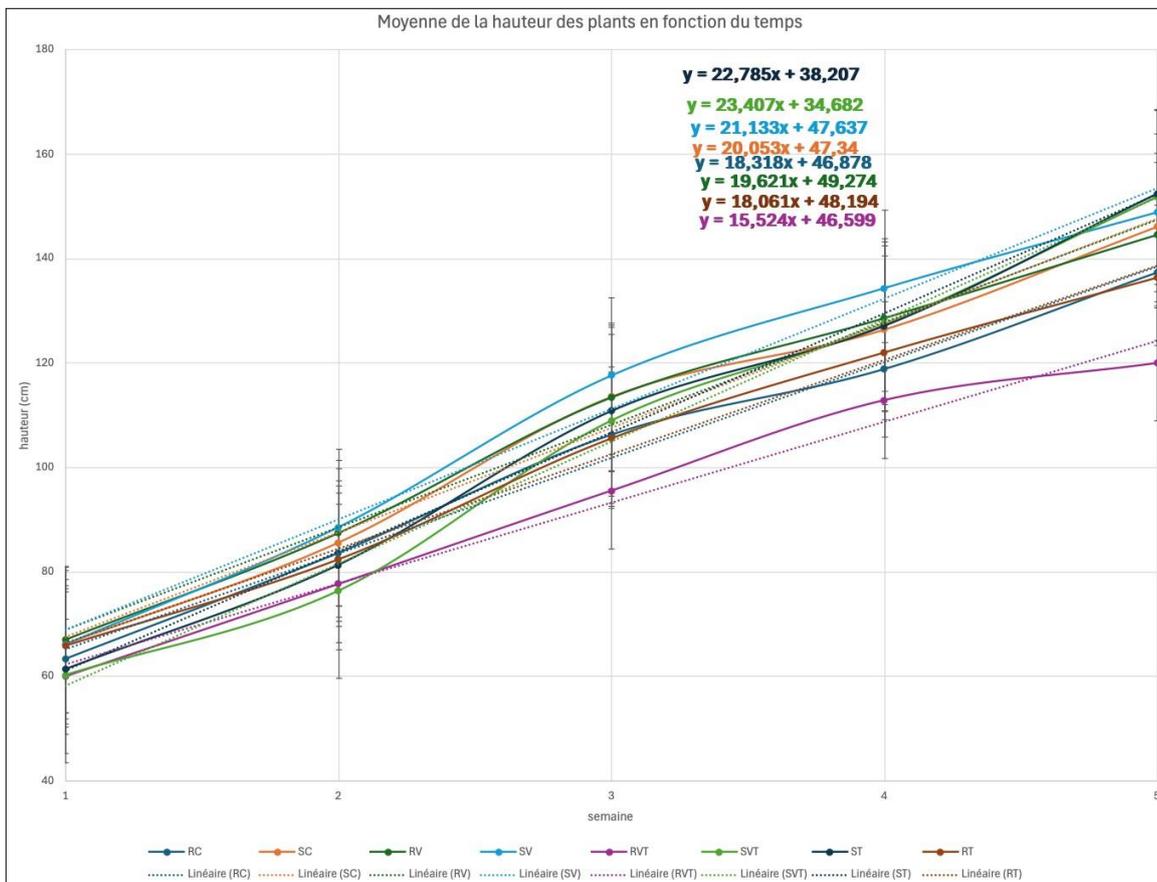


Figure 20 : Graphique de l'évolution de la hauteur en cm au cours d'un cycle de nématodes (5 semaines)

4. Résultat de l'expérimentation « comparaison de l'efficacité des trois moyens de lutte » au deuxième cycle

4.1 Comparaison de l'indice de galle entre les différentes modalités

Bien que le test statistique pairwise wilcoxon n'ait montré de valeur significative, exceptée pour les modalités Maxifort +Vacciplant (RV) et Dossimo en plant franc+Vacciplant (SV), la figure n°21 montre une tendance à ce que :

- les modalités avec le porte greffe Maxifort présentent plus de pourcentage de galles que le contrôle Maxifort (RC).
- les modalités avec Dossimo en plant franc présentent autant voire moins de pourcentage de galles que le contrôle Dossimo (SC).
- les modalités avec le porte greffe Maxifort présentent plus de pourcentage de galles que les modalités avec Dossimo en plant franc.
- la modalité avec porte greffe Maxifort couplé au biostimulant Vacciplant est la modalité avec le plus de pourcentage de galles (55%)
- les modalités avec Maxifort seul (RC), Maxifort+tagètes (RT) et Maxifort+Vacciplant (RV), ont montré une variabilité plus élevée avec des médianes autour de 40%.
- Les modalités avec Dossimo en plant franc seul (SC), Dossimo +tagètes (ST), Dossimo +Vacciplant (SV), et Dossimo +tagètes +Vacciplant (SVT) présentent une variabilité moindre avec des médianes plus faibles, autour de 20%

En revanche, la modalité Dossimo +Vacciplant (SV) présente moins de galles de manière significative comparé à la modalité Maxifort+Vacciplant (RV).

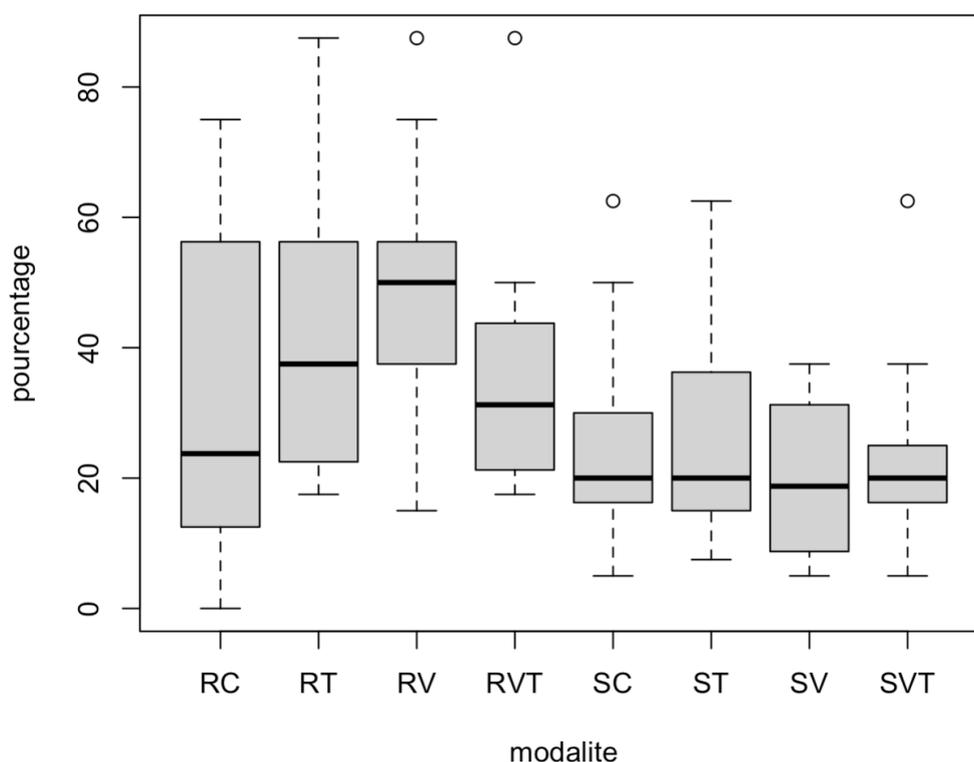


Figure 21 : Box plot du pourcentage du nombre de galles évalué en fonction de l'indice de galle attribué à chaque plante de chaque modalité : SC = Dossimo seule (Contrôle), SV = Dossimo avec biostimulant Vacciplant, ST = Dossimo avec Tagètes, SVT = Dossimo avec biostimulant Vacciplant et Tagètes, RC = Dossimo sur Maxifort (Contrôle), RV = Dossimo sur Maxifort avec biostimulant Vacciplant, RT = Dossimo sur Maxifort avec Tagètes, RVT = Dossimo sur Maxifort avec biostimulant Vacciplant et Tagètes. Analyse statistique réalisée via un test pairwise.wilcoxon sur Rstudio.

4.2 Comparaison du rendement en nombre de fruits et en masse des différentes modalités

La figure n°22 a montré certaines tendances même si aucun résultat ne soit significatif :

- Les modalités Dossimo+Vacciplant+tagètes (SVT) et Dossimo+Vacciplant (SV) présentent une masse de fruits plus élevée que le contrôle Dossimo (SC) et que la modalité avec tagètes (ST) avec des fruits à environ 250 g à 12 semaines d'âge après repiquage.
- le nombre de fruits des modalités Dossimo+Vacciplant+tagètes (SVT) et Dossimo+tagètes (ST) est sensiblement égal à celui du contrôle Dossimo (SC), seule la modalité Dossimo+Vacciplant (SV) a un nombre de fruits plus élevé pour 5 fruits/plant à 12 semaines d'âge après repiquage.
- Aussi bien pour le nombre de fruits que pour la masse, les modalités avec Maxifort présentent des valeurs moins importantes que les modalités avec Dossimo en plants franc.
- En revanche, la modalité Maxifort+Vacciplant (RV) présente une masse de fruits plus élevée (280g) que le contrôle Maxifort (RC).
- Les modalités Maxifort+tagètes (RT) et Maxifort+tagètes+Vacciplant (RVT), présentent une masse de fruits moins importante que le contrôle Maxifort (RC).

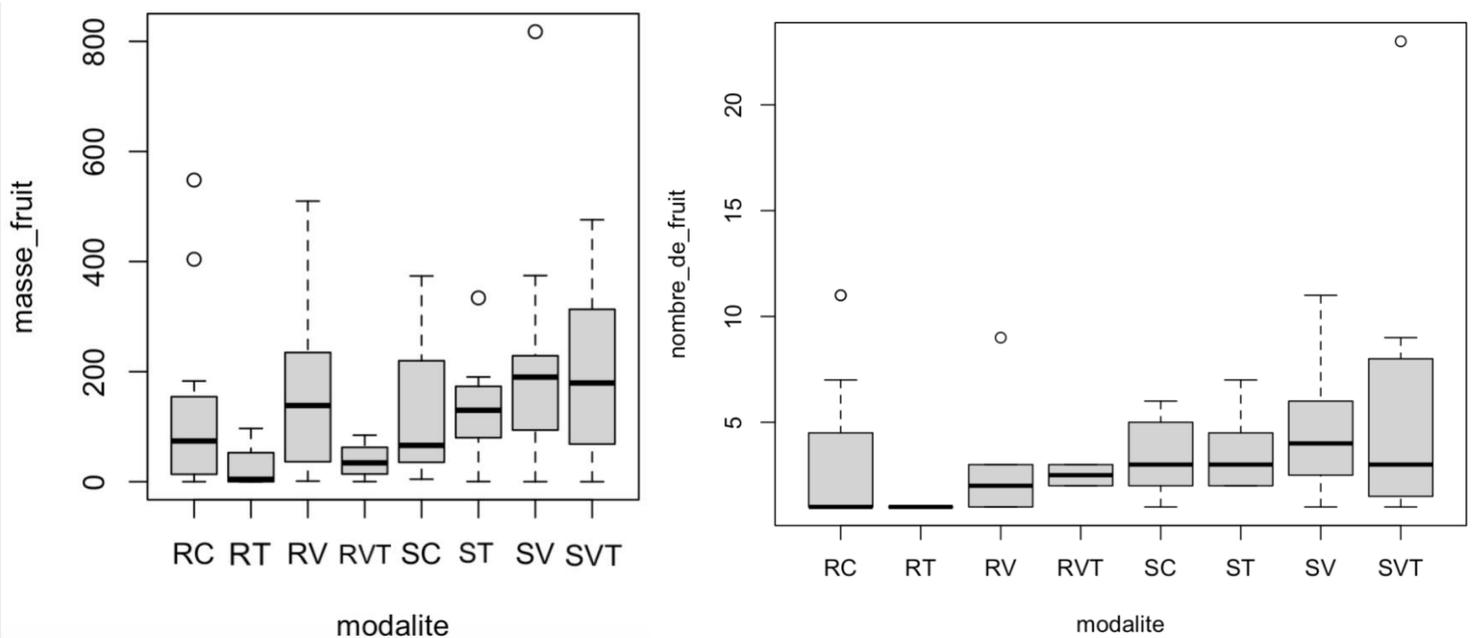


Figure 22 : Box plot de la masse globale de fruit/plant (gauche) et du nombre de fruit/plant (droite) en fonction de chaque modalité : SC = Dossimo seule (Contrôle), SV = Dossimo avec biostimulant Vacciplant, ST = Dossimo avec Tagètes, SVT = Dossimo avec biostimulant Vacciplant et Tagètes, RC = Dossimo sur Maxifort (Contrôle), RV = Dossimo sur Maxifort avec biostimulant Vacciplant, RT = Dossimo sur Maxifort avec Tagètes, RVT = Dossimo sur Maxifort avec biostimulant Vacciplant et Tagètes. Analyse statistique réalisée via un test pairwise.wilcoxon sur Rstudio.

4.3 Comparaison de l'évolution de la croissance des plantes en fonction des modalités en terme de nombre de feuilles

Le graphique montrant l'évolution du nombre de feuilles au cours des 12 semaines d'expérimentation (figure 23), a montré que :

- La modalité Maxifort+tagètes+Vacciplant (RVT) présente un nombre de feuilles plus important que le contrôle (RC) (98 feuilles). Tout comme les modalités Dossimo+tagètes+Vacciplant (SVT) et Dossimo+Vacciplant (SV) qui présentent un nombre de feuilles plus important que le contrôle (SC) (85 feuilles).
- les modalités avec Maxifort (RVT, RC, RT), (sauf la modalité Maxifort+Vacciplant, RV), présentent un nombre de feuilles plus important (en moyenne 100 feuilles à 12 semaines) comparé aux modalités avec Dossimo en plant franc (en moyenne 85 feuilles à 12 semaines).

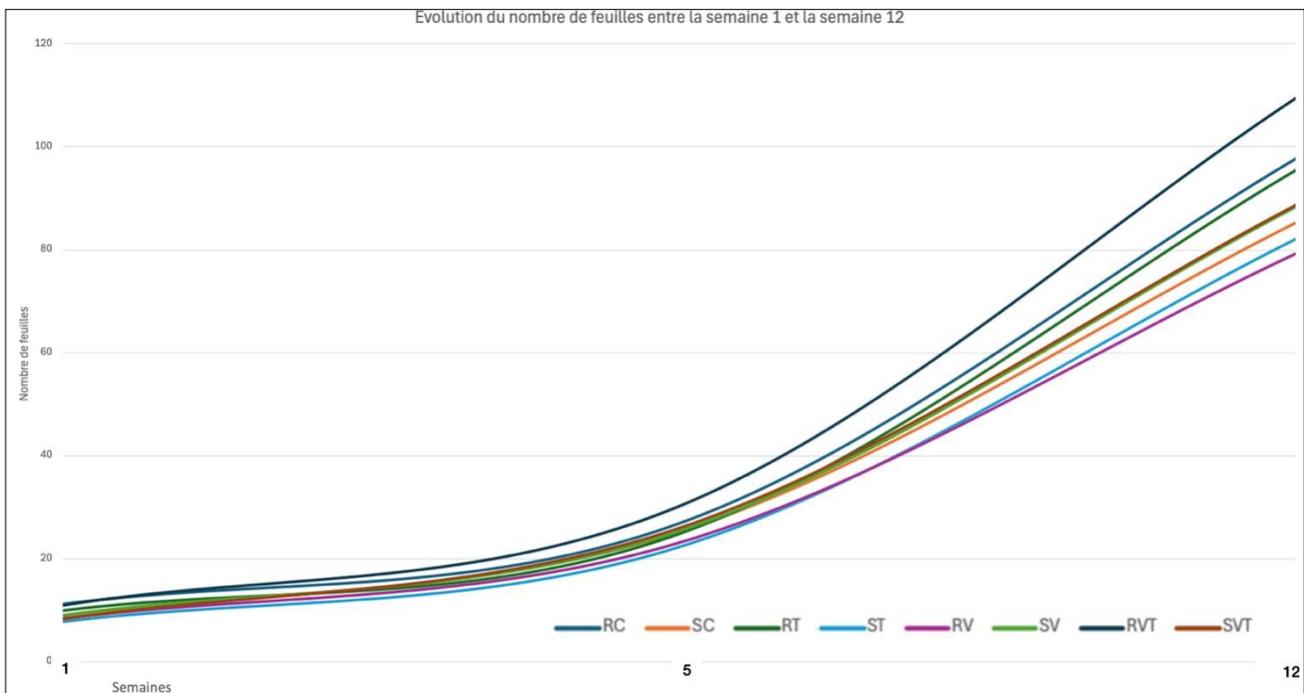


Figure 23 : Graphique de l'évolution du nombre de feuilles moyen au cours de 2 cycles de nématodes (12 semaines) en fonction de chaque modalité : SC = Dossimo seule (Contrôle), SV = Dossimo avec biostimulant Vacciplant, ST = Dossimo avec Tagètes, SVT = Dossimo avec biostimulant Vacciplant et Tagètes, RC = Dossimo sur Maxifort (Contrôle), RV = Dossimo sur Maxifort avec biostimulant Vacciplant, RT = Dossimo sur Maxifort avec Tagètes, RVT = Dossimo sur Maxifort avec biostimulant Vacciplant et Tagètes.

5. Discussion de l'expérimentation « comparaison de l'efficacité des trois moyens de lutte » au premier et deuxième cycle

5.1 Le levier de résistance génétique en utilisant le porte-greffe Maxifort

Pour le premier cycle, les résultats ont montré que, pour les mêmes traitements (Vacciplant, Tagètes et Vacciplant+Tagètes), le nombre de galles et de pontes est plus important pour les modalités avec Dossimo sur Maxifort que pour les modalités avec Dossimo en plant franc, sauf pour les modalités contrôles où les plants Dossimo sur Maxifort ont un peu moins de galles (non significatif) que les plants Dossimo seuls ($72 \pm 6,8$ galles en moyenne pour les Dossimo sur Maxifort et $55 \pm 3,8$ pour les Dossimo en plant franc). Maxifort ne semble pas présenter de résistance à notre population de *M. incognita* Morelos, alors que ce porte-greffe est indiqué à résistance intermédiaire pour *M. incognita* dans l'inscription au catalogue CTPS par le GEVES. D'après ces résultats et ceux obtenus lors d'un test comparatif d'infestation de différentes accessions de tomates (St-Pierre, Dossimo, Maxifort, et autres variétés ou porte-greffes) que nous avons réalisé pour mieux comprendre les résultats (Annexe 2), on peut également supposer que la variété Dossimo en plant franc présente quelques traits de résistance partielle. En effet, les résultats de ce test d'infestation montrent que Dossimo a en moyenne 0,5 ponte/plant contre 5,5 pour Maxifort et 2 galles/plant contre 7,5 pour Maxifort. De même, si on analyse les résultats des nombres d'œufs/plant pour l'essai en serre et donc les Pf/Pi (population finale/population initiale) qui donne le taux de multiplication des nématodes et donc la qualité d'hôte de la plante dans un environnement donné (Sorribas et al., 2020), on obtient globalement des Pf/Pi faibles (<1). Il semble donc que Dossimo et Maxifort aient été mauvais hôtes de *M. incognita*, soit intrinsèquement (facteurs de résistance) soit à cause de facteurs externes (la motte de terreau autour de la racine empêchant les larves de pénétrer ou des œufs en mauvais état n'éclosant pas). Afin de confirmer ou non l'hypothèse de résistance dans Dossimo, des tests RT-PCR sont prévus en utilisant les amorces spécifiques décrites dans la publication de Cordata et al., (2012) pour voir si le gène Mi-1.2 est présent et exprimé dans Dossimo ainsi que dans Maxifort mais non complètement fonctionnel. À la suite de ce test, si aucun gène Mi-1.2 n'est présent et exprimé, d'autres essais devront être effectués en greffant Dossimo sur d'autres porte-greffes validés résistants (Protector, Kaiser, Emperador, cf Annexe 2) en tant que modalité résistante pour l'essai en plein champ et en gardant Dossimo greffé sur Maxifort en tant que modalité témoin plutôt sensible. Pour toutes les modalités, sauf RT/ST, les modalités avec Dossimo sur Maxifort présentent des masses aériennes fraîches plus importantes. Le porte-greffe Maxifort présenterait donc un avantage pour le développement des parties aériennes en terme de masse végétative. Cependant, toutes les modalités avec Dossimo sur Maxifort (R) ont une hauteur moyenne moins importante que les modalités avec Dossimo en plant franc. Le porte-greffe Maxifort est peut-être tolérant pour la population de *M. incognita* Morelos et apporte une petite vigueur au plant. Pour pouvoir le vérifier, il faudra évaluer au deuxième cycle le nombre et le poids moyen des fruits (indicateur de rendement) en fonction des modalités avec et sans Maxifort. En effet, ce n'est qu'après 9 à 10 semaines après inoculation que l'on commence à voir un impact des nématodes sur la physiologie des tomates (Jauzion 2021) et qu'on espère voir un effet « porte-greffe » sur le rendement des tomates.

Au deuxième cycle, les résultats (bien qu'il n'y est pas de significativité) ont également montré que les modalités avec le port-greffe Maxifort (RC, RV, RT et RVT) ont tendance à avoir un indice de galles plus important. L'effet vigueur du port-greffe n'a donc pas été visible même après douze semaines d'expérimentation, ce qui confirme les observations réalisées au premier cycle. Le nombre de fruit pour toutes les modalités avec Maxifort est également moins important que pour les autres modalités (SC, SV, ST, SVT). En revanche, il a été observé sur presque toutes les modalités avec maxifort (RVT, RT, et RC) un nombre de feuille plus important que les autres modalités. À l'issue des résultats du second cycle, le porte greffe Maxifort semble apporter une tolérance à la plante face à notre population de *M. incognita* Morelos et non une résistance.

5.2 Le levier de PdS (*Tagetes erecta*)

Au premier cycle, l'incorporation de morceaux de *Tagetes erecta* avant la culture de la tomate n'a pas montré d'effet significatif sur le contrôle des nématodes, alors que les *Tagetes* sont d'une part, connues pour leurs propriétés nématicides (Suatmadji, 1969) et ont déjà été révélées efficaces en association avec la tomate (Sokunle, 2022) et, d'autre part les extraits aqueux sont toxiques pour les juvéniles (Lahoreau, 2022 ; Aryal, 2023).

Plusieurs hypothèses peuvent être formulées :

- Il est possible que le terreau (matière organique entourant les racines des plantes préparées par Earl Les Valleyguette) ait empêché les composés actifs des tagètes d'atteindre les racines de la tomate, surtout si leur mode d'action consiste également à activer les défenses de la tomate en plus de leur effet direct comme ovicide ou larvicide. Des tests sans terreau sont à réaliser pour vérifier cette hypothèse. Néanmoins ce terreau ne pourra pas être enlevé lors du repiquage des plants sur le terrain.
- L'âge des tagètes pourrait également être un facteur, car les plantes plus âgées peuvent contenir moins de composés actifs (les tagètes ont poussé plus vite que prévu sur le tapis chauffant). De plus, les exsudats de tagètes ne sont pas conservés dans le sol pendant une longue durée (Krueger et al., 2019). D'autres expériences pourraient être réalisées avec des tagètes conduites sans tapis chauffant et ensuite enfouies avant la formation de fleurs pour vérifier l'effet de l'âge des tagètes sur la protection des tomates (Lahoreau, 2022).
- Les tagètes ont également été coupées grossièrement et enfouies trois jours seulement avant le repiquage des tomates pour se rapprocher des conditions de terrain où les producteurs enfouissent leur couvert végétal 2-3 jours avant la pose du goutte à goutte et le repiquage des tomates. Il est possible que les molécules actives n'aient pas été relarguées : il faudrait apporter un extrait de plantes ou laisser les plantes enfouies au moins une dizaine de jours (à conditions que les molécules de dégradation soient les mêmes que celles d'extraits frais). En application au champ, il faudrait donc semer les tagètes en février et les enfouir à environ un mois pour commencer l'implantation des tomates fin mars. Il est peu probable que les tagètes puissent pousser en février même sous tunnel. Les agriculteurs pourraient envisager de planter de jeunes tagètes (préparées en pépinière) à côté des plants de tomates (1 tagète pour 1 tomate pour limiter les effets de compétitions observées lors de précédentes expérimentations, Sokunle, 2022) et de couper régulièrement les fleurs pour maintenir la production de composés actifs. De plus, des expériences en cours à l'ISA montrent que les exsudats auraient aussi un effet sur l'activation des défenses des tomates, ce qui encouragerait à utiliser cette méthode. Cette technique sera proposée pour l'expérimentation sur le terrain.

Au second cycle, le pourcentage de galles pour la modalité RT (Maxifort+tagète) est supérieur au contrôle RC (Maxifort seul) et le taux de galle pour la modalité ST (Dossimo+tagète) est semblable au contrôle SC (Dossimo seul). Les résultats du second cycle ont donc confirmés ceux du premier, la tagète incorporée au sol n'apporte aucun intérêt dans la défense des plantes contre notre population de nématodes.

5.3 Le levier Vacciplant en irrigation

Pour le premier cycle, concernant le levier Vacciplant en irrigation, les résultats en serre ne confirment pas forcément ceux des essais en chambre climatique, peut-être à nouveau à cause du terreau entourant les racines mais aussi des tomates qui étaient différentes (Saint -Pierre en conditions contrôlées et Dossimo greffé ou non sur Maxifort). En revanche, les modalités avec Vacciplant présentent une masse aérienne et racinaire légèrement supérieures aux autres modalités, ce qui indiquerait que le Vacciplant permettrait une meilleure vigueur des plantes. Il pourrait être pertinent de tester Vacciplant par pulvérisation foliaire ou de tester un autre biostimulant affectant la résistance systémique des plantes. Un nouveau produit, le Nema-gold, est actuellement commercialisé en Espagne par la société Atlantica Agricultura Natural ; c'est un bio-nématicide qui contient 80% d'extrait de *Tagetes erecta* et 10% d'extrait d'algue noueuse *Ascophyllum nodosum* (Goémon noir). Ce produit pourrait être testé sur tomate contre *M. incognita* dans nos conditions contrôlées et une autorisation d'essai sur le terrain en France pourrait être demandée.

Pour le second cycle, (bien qu'aucun résultat ne soit significatif), la modalités SV (Dossimo+Vacciplant) a montré un nombre de fruits et un poids/fruit plus important que pour les autres modalités. La modalité RV (Maxifort+ Vacciplant) a aussi montré un poids/fruit plus important. En revanche, le nombre de galles est plus important que pour les modalités. Le produit Vacciplant permettrait donc de stimuler la vigueur et donc le rendement. Il serait donc bien un produit stimulateur de croissance des plantes dans notre cas d'étude ce qui confirme l'hypothèse du premier cycle.

5.4 Combinaison des leviers

Pour le premier cycle, la variété Dossimo en plant franc, la combinaison des deux leviers (Vacciplant et tagètes) a montré moins de galles que pour la modalité sans traitement (contrôle) et que la modalité avec Vacciplant. mais autant de galles que la modalité avec tagète. Cependant, le nombre de pontes pour cette combinaison est supérieur aux autres modalités. et la hauteur des plants plus importante également. En revanche, la masse des parties aériennes et racinaires est inférieure aux trois autres modalités (SV, ST, SC). On suppose donc que la combinaison de ces deux leviers a un effet antagoniste (car plus de pontes et moins de masse aérienne et racinaire). D'autant plus que le taux de multiplication des nématodes (Pf/Pi) est de 1,6 en moyenne sur les deux compartiments, ce qui est supérieur aux autres modalités (<1) (Annexe 6). Cette combinaison de leviers a donc tendance à augmenter la prolifération des nématodes dans le sol. Cependant, afin d'en tirer des conclusions pertinentes, le rendement en nombre et masse des fruits devra être évalué au bout d'un second cycle.

Pour la modalité Dossimo sur Maxifort, la combinaison des deux leviers (Vacciplant et tagètes) montre un nombre de galles et de pontes supérieur au contrôle. La masse des parties racinaires est supérieure au contrôle mais la masse des parties aériennes est inférieure. Comme précédemment, la combinaison tagètes et Vacciplant sur Maxifort, ne permet pas de réduire la prolifération des nématodes et pourrait avoir un effet antagoniste.

Comparé à la modalité SVT (Dossimo, tagètes, Vacciplant), la modalité RVT (Dossimo sur Maxifort, tagètes, Vacciplant) présente le plus de galles et de pontes. Seule la masse des parties aériennes est plus importante chez RVT. Bien que le taux de multiplication des nématodes ($Pf/Pi = 1,3$, cf Annexe 4) soit moins important que pour la modalité SVT, la combinaison du Vacciplant et des tagètes semble être plus intéressante avec la variété Dossimo en plant franc.

Au second cycle, pour la modalité avec Dossimo+tagète+Vacciplant a présentait des résultats du taux de galles similaires à ceux de la modalité contrôle SC (Dossimo seul). La modalité avec Maxifort, vacciplant et tagète (RVT) présentait plus de galles que les autres modalités. Bien qu'aucun résultat ne soit significatif, il est possible d'en conclure que ces trois leviers ont tendance à avoir un effet antagoniste dans la lutte contre *M. incognita*, ce qui confirme l'hypothèse au premier cycle. Le rendement (poids des fruits/plante) était également moins important pour la modalité Maxifort+tagète+Vacciplant (RVT) que pour la modalité contrôle (RC). En revanche, le nombre de fruit/plant pour la modalité RVT été légèrement plus important. Aussi, le nombre de feuilles pour la modalités RVT (Maxifort+tagète+Vacciplant) été plus important que les autres modalités tout comme la modalité SVT (Dossimo+tagète+Vacciplant) qui présentait des résultats similaires à la modalité SV (Dossimo+Vacciplant). On a pu émettre l'hypothèse que seul l'action du produit Vacciplant aie eu une action dans les modalités SVT et RVT.

Au vu de ces résultats, comme au premier cycle, il a été conclu que la combinaison de ces deux et trois leviers (porte-greffe, plante de service, biostimulant) aie antagoniste dans la lutte contre *M. incognita*.

6. Discussion Générale

6.1 Analyses statistiques complémentaires

Avec plus de temps, d'autres tests et analyses statistiques auraient été intéressants à réaliser. En premier, il aurait été intéressant de comparer les résultats des différentes modalités entre les deux compartiments de la serre pour voir si l'effet milieu impactait de manière significative les résultats.

On peut également supposer que si une racine est plus grosse, alors plus de galles sont attendues car la prospection racinaire sera plus importante et donc il y aura plus de zones de contact avec les nématodes. Mais on peut également supposer l'inverse, c'est-à-dire que moins il y a de racines, plus il y aura une concentration de nématodes car moins de ressources alimentaires seront disponibles pour eux. Pour tenter de répondre à ces questions, un test de corrélation entre la masse racinaire et le nombre de galles pourrait être réalisé.

Les résultats ne se sont pas révélés significatifs pour la quasi-totalité des tests effectués. On suppose que c'est dû au nombre de répliquats biologiques insuffisant (12 par modalité). Un test statistique déterminant la taille de l'échantillon aurait pu être réalisé avant la mise en place de l'essai. Cependant, des limites liées au matériel et au coût financier ne sont pas négligeables, ce qui explique la difficulté d'envisager plus de répliquats biologiques par modalité.

6.2 Critiques des protocoles expérimentaux

Quelques critiques constructives peuvent être apportées au sujet des expériences. Tout d'abord, les mesures hebdomadaires (hauteur, nombre de feuilles, de fleurs ouvertes, fermées et fruits) réalisées sur les plantes de l'expérience « choix du biostimulant » ont été réalisées sans enlever les gourmands, ce qui a eu pour conséquence des plantes très ramifiées. En plus de complexifier les mesures, la hauteur des mesures aurait dû être cumulée avec les hauteurs des ramifications afin d'obtenir des résultats les plus proches de la réalité. Néanmoins il était difficile d'éliminer ces gourmands de manière homogène pour tous les plants pour éviter de fausser les mesures sur les parties aériennes. Un tuteurage tardif avec des tuteurs plus grands a également induit des pertes foliaires (tiges cassées sous leur poids).

De même, aucun fertilisant n'a été apporté durant le 1er cycle des nématodes pour éviter des interactions entre fertilisant et biostimulant, limitant peut-être le développement des racines. Cet apport est réalisé sur le 2ème cycle.

Aussi, comme évoqué précédemment, les plantes ont été reçues dans des mottes de terreau. Il est fortement possible que cette motte ait, d'une part, limité la pénétration des racines par les larves J2 et d'autre part, limité l'action du biostimulant et des tagètes. Néanmoins cette contrainte se retrouvera sur le terrain où le producteur repiquera la motte avec tomate.

Certains plants (SC 13 par exemple) sont morts, aucun résultat n'a donc été comptabilisé. Pour les données présentées, les valeurs « out-layers » ont été gardées afin de potentiellement tirer des conclusions de ces valeurs extrêmes.

Certains plants ont parfois souffert d'un manque d'arrosage lorsque les températures de la serre étaient trop importantes. Des arrosages manuels supplémentaires ont été apportés augmentant la variabilité des résultats.

Lors de la réalisation de l'extraction des racines dans le cadre des mesures destructives en serre, plusieurs racines comportant des galles et des pontes ont pu être perdues dans la masse de terreau. En effet, la différence de densité entre le terreau et le mélange terre-sable ne favorisait pas le nettoyage des racines.

Les plantes en serre ont été victimes d'attaques de ravageurs tels que *Tuta absoluta* (mineuse de la tomate) et d'acariens rouges malgré leur confinement en serre S2. Des auxiliaires de culture et des traitements ont été appliqués en serre, mais les ravageurs n'ont pas été totalement éradiqués. Cet aspect a pu influencer les résultats des masses des parties aériennes ainsi que les résultats des courbes de croissance en hauteur des plants.

Un point important à rappeler est le choix variétal utilisé pour l'expérimentation en serre. En effet, Dossimo en plant franc et Dossimo sur Maxifort sont les variétés de tomates les plus utilisées en PACA et celles qui devraient être utilisées pour l'essai terrain. L'essai devait donc se faire sur ces variétés et non sur les variétés « idéales » utilisées classiquement au laboratoire IPN comme Saint-Pierre et Piersol. En se fiant aux inscriptions du catalogue National du CTPS, Dossimo était donnée sensible et Maxifort résistante partielle à *M. incognita*. On a pu montrer que ces données étaient erronées.

Au second cycle, il a été observé des formes de pourriture qui se développaient sur les fruits parfois même avant leur maturité. Cela a pu jouer sur la taille et la masse des fruits, et donc sur l'analyse du rendement.

Enfin, malgré les résultats obtenus qui tendent à montrer que la combinaison des trois leviers (porte-greffe Maxifort, tagètes et Vacciplant) n'a ni un effet additif ni synergique contre les nématodes à galles, il y a peu de résultats significatifs, il est compliqué d'émettre des conclusions sur les résultats obtenus. D'autres expériences devront être réalisées par la suite notamment avec d'autres populations de *M. Incognita*.

Conclusion d'étude

1. Conclusion d'étude

En conclusion, la pré-expérience a permis dans un premier temps de déterminer lequel des trois biostimulants à action SDP pré-sélectionnés choisir pour l'expérience principale. Malgré des résultats non significatifs comparés au contrôle, le Vacciplant ayant néanmoins un léger effet protecteur pour la tomate contre les nématodes, meilleur que les 2 autres produits (Cedroz et Rhapsody), il a été choisi pour la seconde expérience. Cette seconde expérience avait pour but de déterminer l'efficacité de trois leviers seuls ou combinés pour lutter contre les nématodes à galles du genre *Meloidogyne incognita* sur tomate pour préparer une expérimentation terrain en 2025. Ces trois leviers étaient : résistance génétique partielle, utilisation de plantes de service et de biostimulants à effet SDP. Grâce aux résultats d'expériences précédentes, la plante de service choisie était la rose d'Inde, *Tagetes erecta*. Pour analyser le levier « résistance », deux accessions ont été choisies : Dossimo en plant franc (considéré comme sensible) et Dossimo sur porte-greffe Maxifort (considéré comme résistant partiel), qui sont les plants de tomates les plus utilisés en maraîchage dans le sud de la France. Les résultats obtenus ont montré que :

1. Maxifort n'était en réalité pas résistant partiel à notre population de nématodes *Meloidogyne incognita* Morelos et bien tolèrent.
2. Le mode d'utilisation des tagètes sous forme de couvert incorporé au sol présente une efficacité très limitée voire inexistante.
3. Les résultats du SDP Vacciplant sont moins bons que ceux observés lors de la pré-expérience, Vacciplant n'est donc pas considéré comme efficace contre *Meloidogyne incognita* Morelos.

Ces résultats permettent de revoir le choix des modalités qui seront testées l'année prochaine dans l'expérimentation au champ chez un producteur maraîcher en région PACA : Dossimo sur Maxifort sera la modalité sensible témoin et Dossimo sur Emperador (porte-greffe avec le gène *Mi-1.2* que nous avons validé lors de tests complémentaires, cf annexe) sera la modalité résistante ; les tagètes seront utilisées en co-culture et non pas enfouies, avec une seule tagète par tomate pour limiter la compétition (elles seront préparées en pépinières pour pouvoir être repiquées avec les tomates en Mars ; l'utilisation d'autres biostimulants ou produits nématocides biologiques tels que le NemaGold (extrait de tagète et d'algue nouvellement commercialisé en Espagne) ou des mycorhizes seront testés sur tomate à l'automne en conditions contrôlées.

Enfin, il est légitime de se demander si ces techniques agroécologiques « douces » de lutte contre les nématodes à galles seront suffisamment efficaces, même combinées, comparées à des techniques plus impactantes comme la solarisation. Mais si certaines techniques « douces » s'avèrent efficaces lors de l'expérimentation terrain, il sera important de prendre en compte leur faisabilité technique et économique pour les producteurs (coût économique, main d'œuvre nécessaire, matériel requis, intégration dans l'itinéraire technique, etc...).

2. Conclusion personnelle

Dans le cadre de ce stage, j'ai pu, d'une part, acquérir des connaissances supplémentaires dans le domaine de la biologie, et d'autre part, des compétences techniques et pratiques au laboratoire et en serre expérimentale. Bien que ce stage ait été axé sur les nématodes à galles du genre *Meloidogyne*, j'ai pu en apprendre davantage sur les différents emplois et modes d'utilisation des Substances de Défense des Plantes, des Plantes de Services (en particulier les tagètes) et sur les mécanismes de résistance génétique des plantes. Au fil du stage, j'ai pu prendre de plus en plus confiance et consolider mes compétences dans la réalisation de la démarche scientifique, en analyse statistique des résultats et dans la rédaction d'un rapport de recherche. Sur le plan professionnel, ce stage (axé sur une thématique de protection des cultures et réalisé dans un institut de recherche national) complète en tout point mon expérience de l'année dernière lors de mon stage dans une entreprise privée portant sur l'amélioration du bien-être animal.

Sur le plan personnel, j'ai apprécié travailler en équipe et interagir aussi bien avec des chercheurs, des techniciens, des doctorants et d'autres stagiaires. Les diverses réunions au sein de l'institut m'ont également permis de prendre connaissance du travail des autres chercheurs et étudiants et de pouvoir discuter et débattre sur différents aspects scientifiques.

Bibliographie et Sitographie

- Ammar, Esraa E., Ahmed A. A. Aioub, Ahmed E. Elesawy, Ali M. Karkour, Moustafa S. Mouhamed, Aliaa A.
- Amer, et Nouran A. EL-Shershaby. « Algae as Bio-fertilizers: Between current situation and future prospective ». *Saudi Journal of Biological Sciences* 29, no 5 (1 mai 2022): 3083-96. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2022.03.020>.
- Ask IFAS - Powered by EDIS. « ENY-056/NG045: Marigolds (Tagetes Spp.) for Nematode Management ». Consulté le 23 juin 2024. <https://edis.ifas.ufl.edu/publication/NG045>.
- Barto, E. Kathryn, Monika Hilker, Frank Müller, Brian K. Mohney, Jeffrey D. Weidenhamer, et Matthias C.
- Rillig. « The Fungal Fast Lane: Common Mycorrhizal Networks Extend Bioactive Zones of Allelochemicals in Soils ». *PLOS ONE* 6, no 11 (14 novembre 2011): e27195. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0027195>.
- Bhattacharai, Kishor K., Qi-Guang Xie, Sophie Mantelin, Usha Bishnoi, Thomas Girke, Duoy A. Navarre, et Is-gouhi Kaloshian. « Tomato Susceptibility to Root-Knot Nematodes Requires an Intact Jasmonic Acid Signaling Pathway ». *Molecular Plant-Microbe Interactions* 21, no 9 (septembre 2008): 1205-14. <https://doi.org/10.1094/MPMI-21-9-1205>.
- Cayrol, J.C., Caroline Djian-Caporalino, et Elisabeth Panchaud-Mattei. « La lutte biologique contre les Nématodes phytoparasites ». *COURRIER DE LA CELLULE ENVIRONNEMENT INRA* 17, no 17 (août 1992): 31-44.
- Castagnone-Sereno, Philippe. « Genetic Variability of Nematodes: A Threat to the Durability of Plant Resistance Genes? ». *Euphytica* 124, no 2 (1 mars 2002): 193-99. <https://doi.org/10.1023/A:1015682500495>.
- Ciancio, A., et K. G. Mukerji, éd. *Integrated Management and Biocontrol of Vegetable and Grain Crops Nematodes*. Dordrecht: Springer Netherlands, 2008. <https://doi.org/10.1007/978-1-4020-6063-2>.
- Collange, Béatrice, Mireille Navarrete, Gaëlle Peyre, Thierry Mateille, et Marc Tchamitchian. « Root-knot nematode (Meloidogyne) management in vegetable crop production: The challenge of an agronomic system analysis ». *Crop Protection* 30, no 10 (1 octobre 2011): 1251-62. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2011.04.016>.
- Deep Green Permaculture. « Why Are My Tomatoes Flowering But Not Setting Fruit? », 8 mai 2022. <https://deepgreenpermaculture.com/2022/05/08/why-are-my-tomatoes-flowering-but-not-setting-fruit/>.
- Djian-Caporalino, Caroline, Sergio Molinari, Alain Palloix, Aurelio Ciancio, Ariane Fazari, Nathalie Marteu,
- Nicolas Ris, et Philippe Castagnone-Sereno. « The Reproductive Potential of the Root-Knot Nematode Meloidogyne Incognita Is Affected by Selection for Virulence against Major Resistance Genes from Tomato and Pepper ». *European Journal of Plant Pathology* 131, no 3 (1 novembre 2011): 431-40. <https://doi.org/>

[10.1007/s10658-011-9820-4](https://doi.org/10.1007/s10658-011-9820-4).

Djian-Caporalino, Caroline, Claire Caravel, Béatrice Rhino, Anne-Violette Lavoit, François Ville-neuve, Sylvain

Fournet, Hélène Gautier, et al. « Agrosystèmes légumiers: les plantes de service contre les bio-agresseurs », 2020.

Djian-Caporalino, Caroline, Mireille Navarrete, Ariane Fazari, Marc Baily-Bechet, Nathalie Marteu, Arnaud

Dufils, Marc Tchamitchian, et al. « Conception et évaluation de systèmes de culture maraîchers méditerranéens innovants pour gérer les nématodes à galles ». BASE, 30 mars 2019. <https://doi.org/10.25518/1780-4507.17725>.

Djian-Caporalino, C. « Root-Knot Nematodes (Meloidogyne Spp.), a Growing Problem in French Vegetable

Crops ». EPPO Bulletin 42, no 1 (2012): 127-37. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2338.2012.02530.x>.

Echeverrigaray, Sergio, Jucimar Zacaria, et Ricardo Beltrão. « Nematicidal Activity of Monoterpenoids

Against the Root-Knot Nematode Meloidogyne incognita ». Phytopathology® 100, no 2 (février 2010):

199-203. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-100-2-0199>.

El-Sappah, Ahmed H., Islam M. M., Hamada H. El-awady, Shi Yan, Shiming Qi, Jingyi Liu, Guo-ting Cheng, et

Yan Liang. « Tomato Natural Resistance Genes in Controlling the Root-Knot Nematode ». Genes 10, no 11

(novembre 2019): 925. <https://doi.org/10.3390/genes10110925>.

E. Kathryn Barto¹, Monika Hilker², Frank Müller², Brian K. Mohney³, Jeffrey D. Weidenhamer³, Matthias C.

Rillig¹ The Fungal Fast Lane: Common Mycorrhizal Networks Extend Bioactive Zones of Allelochemicals in

Soils.

Fateh, Mimeche, Drouai Hakim, et Zedam Abdelghani. Comparaison de deux parasitoïdes: Bracon hebetor

Say. et Phanerotoma flavitestacea Fisch. dans la lutte contre l'Ectomyeloides cereatoniae Zell. dans les Oasis

des Zibans (Algérie), 2021.

Gabriel, Márcia, Marcilene F. A. Santos, Vanessa S. Mattos, Sheila F. Almeida, Leonardo S. Boiteux, et Regina

M. D. G. Carneiro. « Assessment of Allelic Mi-1.2 Dosage Effects on Levels of Resistance to Virulent and Avi-

rent Meloidogyne Spp. Populations in Some Tomato Rootstocks ». Nematology 26, no 3 (8 février 2024):

289-98. <https://doi.org/10.1163/15685411-bja10308>.

Gard B et al. Concevoir et expérimenter en réseau des combinaisons de pratiques pour une gestion durable

des bioagresseurs du sol. Innovations Agronomiques 70 (2018), 165-180

Ghahremani, Zahra, Nuria Escudero, Daniel Beltrán-Anadón, Ester Saus, Marina Cunquero, Jordi Andilla,

Pablo Loza-Alvarez, Toni Gabaldón, et F. Javier Sorribas. « Bacillus Firmus Strain I-1582, a Nematode Antago-

nist by Itself and Through the Plant ». Frontiers in Plant Science 11 (10 juillet 2020). <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.00796>.

Heimpel, George E., et Nicholas J. Mills. Biological Control. Cambridge University Press, 2017.

Jones, John T., Annelies Haegeman, Etienne G. J. Danchin, Hari S. Gaur, Johannes Helder, Michael G. K.

Jones, Taisei Kikuchi, et al. « Top 10 Plant-Parasitic Nematodes in Molecular Plant Pathology ». Molecular

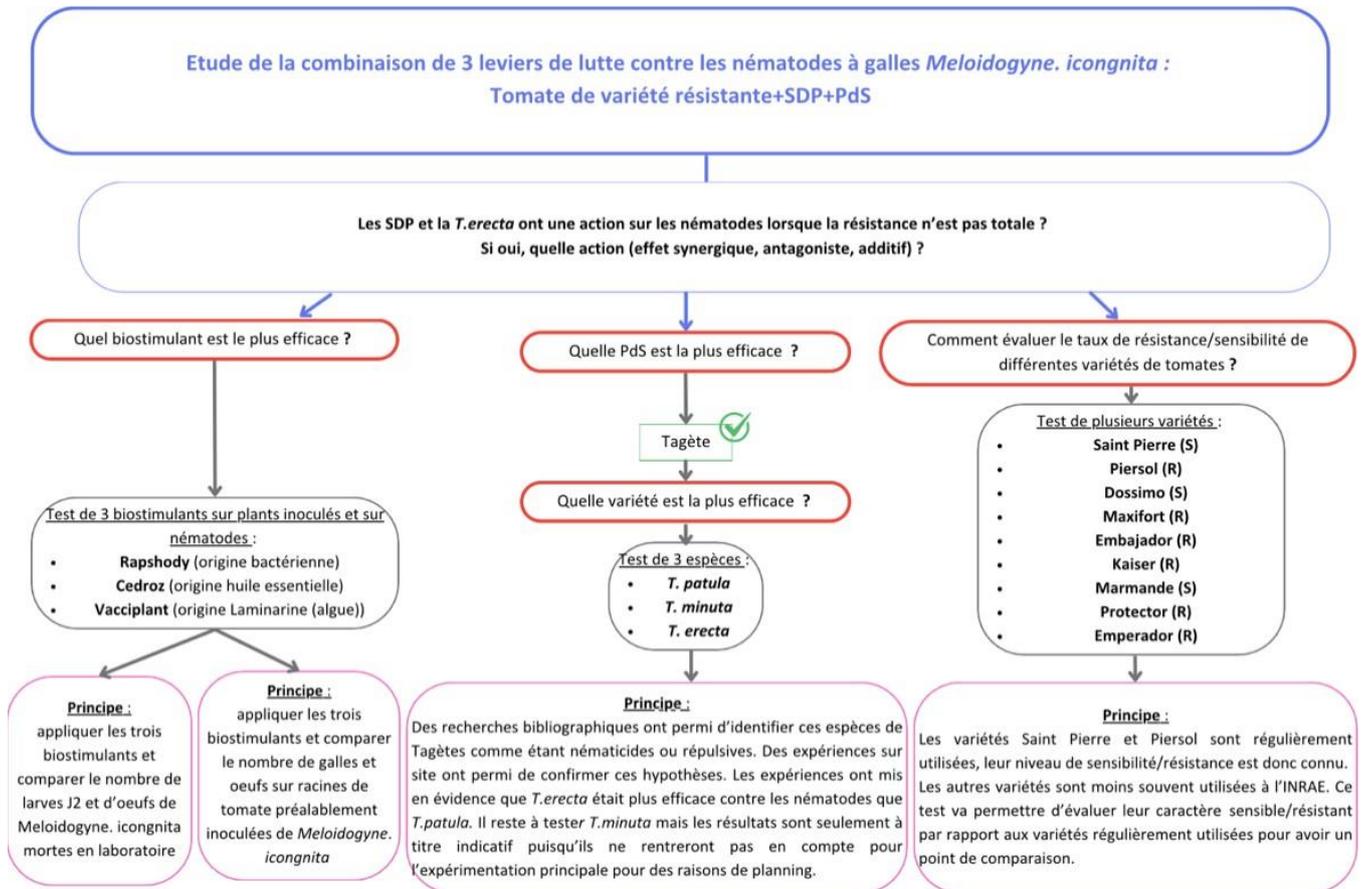
Plant Pathology 14, no 9 (2013): 946-61. <https://doi.org/10.1111/mpp.12057>.
Katan, J. « THREE DECADES OF SOIL SOLARIZATION: ACHIEVEMENTS AND LIMITATIONS ». *Acta Horticulturae*,
no 1015 (janvier 2014): 69-78. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.201>

Table des Annexes

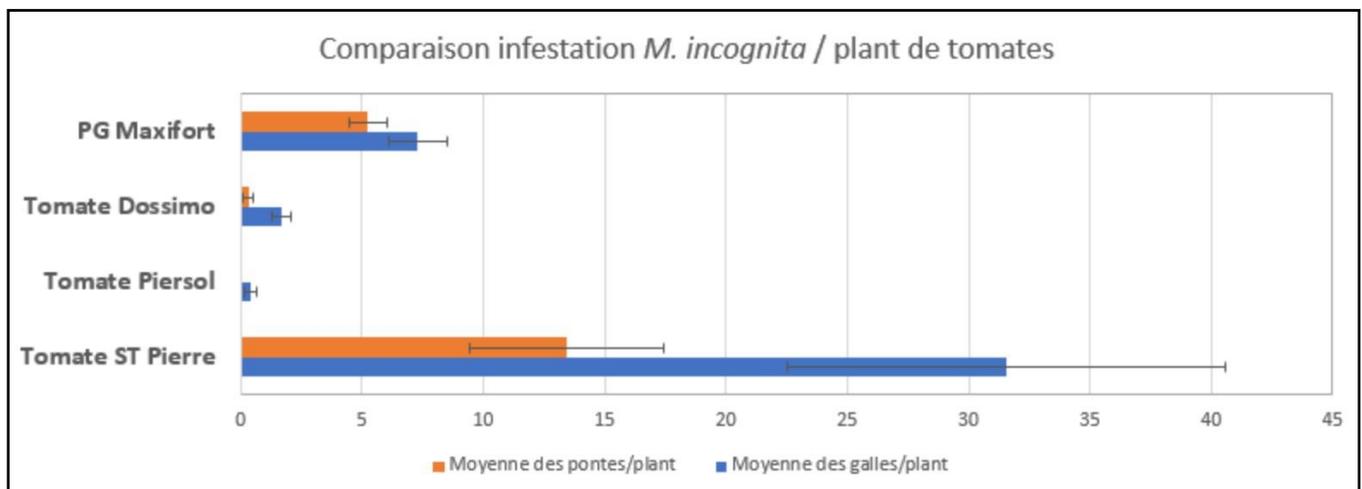
Annexe 1 : Schémas de la réflexion globale en amont	46
Annexe 2 : Résultats du test rapide visant à identifier les différences de résistance entre les cultivars et différents porte-greffes	46
Annexe 3 : Résultats du test rapide visant à identifier les différences de résistance entre les cultivars et différents porte-greffes	47
Annexe 4 : Résultats du potentiel infectieux du sol des expérimentations après un cycle de nématodes en serre	58
Annexe 5 : Autres graphiques réalisé sur le nombre de feuilles et le nombre de fleurs fermée après un cycle de nématodes en serre	59
Annexe 6 : Exemple de tableau de résultats des mesures destructives de l'expérience visant à choisir un des trois SDP	60
Annexe 7 : Schémas explicatifs du nombre de plantes/modalités (cedroz non présenté dans le rapport)	61

Annexe

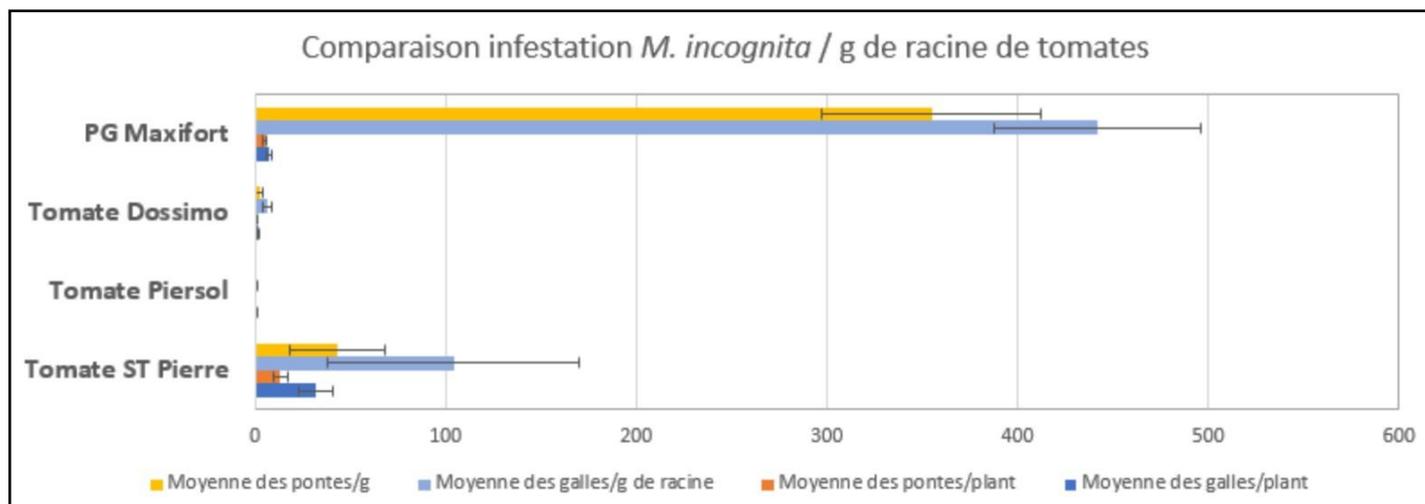
Annexe 1 : Schémas de la réflexion globale en amont



Annexe 2 : Résultats du test rapide visant à identifier les différences de résistance entre les cultivars et différents porte-greffes



Annexe 3 : Résultats du test rapide visant à identifier les différences de résistance entre les cultivars et différents porte-greffes



2224 Protocole Essai pour CAP ZERO PHYTO= Effet SDP de 3-produits sur tomates en pièce climatique (sur 1 cycle de *Meioidogyne incognita* Morelos)

La première manip de 2023 n'ayant pas fonctionné, nouvelle manip lancée en 2024. Le but de cette expérimentation est d'observer si les SDP choisis (Rhapsodie, Cedroz et Vacciplant) ont un effet protecteur contre les RKN chez les tomates sensibles de la variété Saint Pierre. Essai sur tomate St Pierre en sol stérile équilibré (55-60% sable, 12-20% argile, 18-20% limon, 2% matière organique) dans des pots de 1 litre en pièce climatique (pièce D013, température moyenne de 25°C ± 2°C, éclairage 15h jour/9h nuit, 65% d'humidité, luminosité maximum de xlux, pas de fertilisation). Modalités: 10 plants/produit x 3 produits & 1 témoin [(-) non traité] inoculés par *M. incognita*. -Tomate seule (contrôle) x 7 -Tomate + Rhapsodie x 10 -Tomate + Cedroz x 10 -Tomate + Vacciplant x 10. Production de J2: 40 plants * 600 J2 = 24 000 J2 nécessaires.

1/ 23/01/2024: Semis sur agar des graines de tomate. 2/ 25/01/2024: Repiquage des semis de tomate directement en pot de 1L mélange terre sable 50:50 (remplir les 3/4 des pots) et placer des coupelles sous les pots. Pots placés en D013, et arrosés à l'eau claire trois fois par semaine. 3/ 14/02/2024: Arrosage des plantes de tomate avec PH4eco (4.8ml dans 6L), 50ml par plante. PUIS ARROSAGE CHAQUE MERCREDI AU PH4eco (21/02, 28/02, 06/03, 13/03, 20/03, 27/03, 03/04). 4/ Ve 16/02/2024: Application des SDP selon recommandations (cf calculs page suivante, 3ème colonne): 20ml de produit/pot. Les plantes contrôles sont arrosées à l'eau claire. 5/ Ma 20/02/2024: 2ème application des SDP (cf calculs page suivante, 3ème colonne). 6/ Ve 23/02/2024: Inoculation des plantes de tomates avec 600 J2/plantes. 7/ Répartir les

plantes au hasard sur le tablard pour éviter les effets bordures. Par la suite, arrosage délicat et régulier (environ un falcon de 50ml par pot, 2 à 3 fois par semaine). 8/ Mesures de la hauteur des plantes du sol jusqu'à la feuille la plus haute, du nombre de feuilles par plante. Ces mesures non destructives seront réalisées au début et à la fin de l'expérimentation. 9/ Ve 01/03/2024: 3ème application des SDP selon recommandations (cf calculs page suivante, 3ème colonne): 20ml de produit/pot. APPLICATION DES SDP TOUTES LES SEMAINES (08/03, 15/03, 22/03, 29/03) 10/ Ve 05/04/2024: A la fin de l'essai (6-8 semaines après repiquage des plantules), les masses fraîches et sèches des parties racinaires et végétatives des plants seront analysées (mesures destructives). Le nombre de pontes sur racines (colorées à l'éosine) sera compté. Les résultats seront exprimés en nombre de pontes/plant et en nombre de pontes/g de racine (fraîche et sèche). Le nombre d'œufs/ponte/plant sera également estimé.

Calcul des doses de produits: En pot de 1L, produit à apporter dans 20 mL pour une bonne répartition dans le sol (selon essais Elephant Vert et Bayer précédents). Calcul en fonction de la surface du pot Dose de produit à injecter = (surface modalité) x (dose/ha) / 10000 Surface pot = 3,14 x 0,07 x 0,07 = 0.0154 m² Choisi pour essai n°1 Calcul en fonction de la densité de plantation des tomates Densité préconisée par l'industrie en EU = 25000 plantes/ha. Dose de produit à injecter = dose/ha / 25000 = pour 1 plant de tomate (soit environ 26 fois plus!) A J0 lors repiquage et inoculation et J+7 Choisi pour essai n°2 A J-7 et J-3 et J+7 sur tomates en pot après discussion avec spécialistes SDP RHAPSODIE Traitement du sol: 10L/Ha en 1 APPLI/AN sur champignon du sol (Autorisé aussi en trait. des parties aériennes: 6 appli/an à 8l/ha). Dose = 0.0154 x 10/10000 = 0.0154 mL/pot de 1L (à apporter dans 20 mL d'eau pour une bonne répartition dans le sol) ~15 µl/pot/plant Préparer 220 mL avec 169 µL de Rhapsodie Dose = 10/25000 = 400 µL/plant dans pot de 1L (à apporter dans 20 mL d'eau pour une bonne répartition dans le sol) Préparer 220 mL avec 4.4 mL de Rhapsodie 27 fois + Dose = 10/25000 = 400 µL/plant dans pot de 1L (à apporter dans 20 mL d'eau pour une bonne répartition dans le sol) Préparer 220 mL avec 4.4 mL de Rhapsodie VACCIPLANT pulvérisation foliaire : 1L (fiche) ou 2L/Ha (site e-phy) tous les 8 jours sur fraisier et laitue ou 1 application à 0,5 L/ha pour céréales sur champignons en traitement des parties aériennes Dose = 0.0154 x 2 / 10000 = 0.0031 mL/ pot de 1L (à apporter dans 20 mL d'eau pour une bonne répartition dans le sol) ~3.1 µl/pot/plant Préparer 220 mL avec 34 µL de Vacciplant Ou selon UPL: Dose = 0.2 mL/100 mL => 440 µL/220 mL => 40 µl/pot/plant Dose = 1/25000 = 40 µL/plant dans pot de 1L (à apporter dans 20 mL d'eau pour une bonne répartition dans le sol) Préparer 220 mL avec 440 µL de Vacciplant (idem Vincent Chauvet) 13 fois + ou identique Dose = 1/25000 = 40 µL/plant dans pot de 1L (à apporter dans 20 mL d'eau pour

pontes/plant et en nombre de pontes/g de racine (fraîche et sèche). Le nombre d'œufs/ponte/plant sera également estimé.

Calcul des doses de produits :

<p><i>En pot de 1L, produit à apporter dans 20 mL pour une bonne répartition dans le sol (selon essais Elephant Vert et Bayer précédents).</i></p>	<p><i>Calcul en fonction de la surface du pot</i> <i>Dose de produit à injecter = (surface modalité) x (dose/ha) / 10 000</i> <i>Surface pot = 3,14 x 0,07 x 0,07 = 0.0154 m²</i></p>	<p>Choisi pour essai n°1 <i>Calcul en fonction de la densité de plantation des tomates</i> <i>Densité préconisée par l'industrie en EU = 25000 plantes/ha.</i> <i>Dose de produit à injecter = dose/ha / 25000 = pour 1 plant de tomate (soit environ 26 fois plus !)</i> A J0 lors repiquage et inoculation et J+7</p>	<p>Choisi pour essai n°2 A J-7 et J-3 et J+7 sur tomates en pot après discussion avec spécialistes SDP</p>
<p>RHAPSODIE Traitement du sol : 10L/Ha en 1 APPLI/AN sur champignon du sol (Autorisé aussi en trait. des parties aériennes : 6 appli/an à 8l/ha).</p>	<p>Dose = 0.0154 x 10/10000 = 0.0154 mL/pot de 1L (à apporter dans 20 mL d'eau pour une bonne répartition dans le sol) ~15 µl/pot/plant</p> <p>Préparer 220 mL avec 169 µL de Rhapsodie</p>	<p>Dose = 10/25000 = 400 µL/plant dans pot de 1L (à apporter dans 20 mL d'eau pour une bonne répartition dans le sol)</p> <p>Préparer 220 mL avec 4.4 mL de Rhapsodie ⇒ 27 fois +</p>	<p>Dose = 10/25000 = 400 µL/plant dans pot de 1L (à apporter dans 20 mL d'eau pour une bonne répartition dans le sol)</p> <p>Préparer 220 mL avec 4.4 mL de Rhapsodie</p>
<p>VACCIPLANT pulvérisation foliaire : 1L (fiche) ou 2L/Ha (site e-phy) tous les 8 jours sur fraisier et laitue ou 1 application à 0,5 L/ha pour céréales sur champignons en traitement des parties aériennes</p>	<p>Dose = 0.0154 x 2 / 10000 = 0.0031 mL/pot de 1L (à apporter dans 20 mL d'eau pour une bonne répartition dans le sol) ~3.1 µl/pot/plant</p> <p>Préparer 220 mL avec 34 µL de Vacciplant Ou selon UPL : Dose = 0.2 mL/100 mL => 440 µL/220 mL => 40 µl/pot/plant</p>	<p>Dose = 1/25000 = 40 µL/plant dans pot de 1L (à apporter dans 20 mL d'eau pour une bonne répartition dans le sol)</p> <p>Préparer 220 mL avec 440 µL de Vacciplant (idem Vincent Chauvet) ⇒ 13 fois + ou ⇒ identique</p>	<p>Dose = 1/25000 = 40 µL/plant dans pot de 1L (à apporter dans 20 mL d'eau pour une bonne répartition dans le sol)</p> <p>Préparer 220 mL avec 440 µL de Vacciplant (idem Vincent Chauvet)</p>
<p>CEDROZ Traitement du sol : 9L/Ha au goutte à goutte contre nématodes en culture de tomate sous abris tous les 8 jours</p>	<p>Dose = 0.0154 x 9 / 10000 = 0.0139 mL/pot de 1L (à apporter dans 20 mL d'eau pour une bonne répartition dans le sol) soit ~14 µl/pot/plant</p> <p>Préparer 220 mL avec 152 µL de Cedroz Ou selon UPL Dose = 2-4 ml/100 L => 2-4 µl/100 mL => 4.4-8.8 µl/220 mL => 0,4-0,8 µl/pot/plant</p>	<p>Dose = 9/25000 = 360 µL/plant dans pot de 1L (à apporter dans 20 mL d'eau pour une bonne répartition dans le sol)</p> <p>Préparer 220 mL avec 3.96 mL de Cedroz ⇒ 27 fois + Ou ⇒ 450 fois +</p>	<p>Dose = 0.0154 x 9 / 10000 = 0.0139 mL/pot de 1L (à apporter dans 20 mL d'eau pour une bonne répartition dans le sol) soit ~14 µl/pot/plant</p> <p>Préparer 220 mL avec 152 µL de Cedroz</p>
<p>Témoin : apporter 20 mL d'eau par pot</p>			

Tester les produits à ces doses *in vitro* sur larves Melo (6 répét en boîtes multipuits x 50 J2/puit).

*Production d'œufs à prévoir : 192 pots * 20 000 œufs = 3 840 000 œufs nécessaires*

Planning :

Ma 20/02/2024 : Semis tagètes en serre directement dans les pots de 3L mélange terre sable 50:50, 7 tagètes/pot (96 pots au total).

NE PAS LAISSER LES TAGETES FLEURIR, couper les fleurs

Semaine du 8/04 : Réception des semis de tomates sensibles + porte greffe résistant

Jeu 11/04/2024 : Application du biostimulant selon recommandations (J-7)

Lun 15/04/2024 : 2^{ème} Application du biostimulant selon recommandations (J-3)

Jeu 18/Ven 19-04-2024 : Repiquage et inoculation des plantes de tomates dans les pots de 3L. Humidifier toute la terre avec ?? ml d'eau. Séparation de la terre en deux. Remettre la première moitié dans le pot et repiquer les plantules âgées d'un mois et demi. Puis inoculer le reste de la terre avec 20 000 œufs/pots et remplir le reste du pot avec OU inoculation de toute la terre avec les œufs.

A partir de cette date, mesures hebdomadaires : taille de la plante, nombre de feuilles, fleurs, fruits.

Je 25-Ve 26/04/2024 : 3^{ème} application du biostimulant selon recommandations.

APPLICATION DES BIOSTIMULANTS TOUTES LES SEMAINES (03/05, 10/05, 17/05, 24/05)

Je 30-Ve 31/05/2024 : Analyse 1^{er} cycle, ½ modalités donc 96 pots. Hauteur système aérien et système racinaire, masse fraîche et sèche système aérien et système racinaire, nombre de galles, nombre de pontes et nombre d'œufs par pontes. Analyse de sol ? Pooler la terre et faire 3 répétitions ?

Je 11-Ve 12/07/2024 : Analyse 2^{ème} cycle, ½ modalités donc 96 pots. Hauteur système aérien et système racinaire, masse fraîche et sèche système aérien et système racinaire, nombre de galles, nombre de pontes et nombre d'œufs par pontes. Analyse de sol ? Pooler la terre et faire 3 répétitions ?

une bonne répartition dans le sol) Préparer 220 mL avec 440 µL de Vacciplant (idem Vincent Chauvet) CEDROZ Traitement du sol: 9L/ha goutte à goutte contre nématodes en culture de tomate sous abris tous les 8 jours Dose = $0.0154 \times 9 / 10000 = 0.0139$ mL/pot de 1L (à apporter dans 20 mL d'eau pour une bonne répartition dans le sol) soit ~14 µl/pot/plant Préparer 220 mL avec 152 µL de Cedroz Ouselon UPL- Dose = 2-4 ml/100 L => 2-4 µl/100 mL => 4.4-8.8 µl/220 mL => 0,4-0,8µl/pot/plant- Dose = $9/25000 = 360$ µL/plant dans pot de 1L (à apporter dans 20 mL d'eau pour une bonne répartition dans le sol) Préparer 220 mL avec 3.96 mL de Cedroz 27 fois +Ou 450 fois +Dose = $0.0154 \times 9 / 10000 = 0.0139$ mL/pot de 1L (à apporter dans 20 mL d'eau pour une bonne répartition dans le sol) soit ~14 µl/pot/plant Préparer 220 mL avec 152 µL de Cedroz Témoin: apporter 20 mL d'eau par pot Tester les produits à ces doses in vitro sur larves Melo (6 répétitions en boîtes multipuits x 50 J2/puit).

Sced3	10	45	48	52	48.3	4833.3	483.3	371	179316.7						
Sced4	10	31	38	40	36.3	3633.3	363.3	499	181303.3						
Sced5	10	26	22	29	25.7	2566.7	256.7	190	48766.7						
Rced1										255.0	54.5	52517.5	24722.8	2.6	1.2
Rced2	10	29	30	30	29.7	2966.7	296.7	75	22250.0						
Rced3	10	39	37	40	38.7	3866.7	386.7	320	123733.3						
Rced4	10	13	15	14	14.0	1400.0	140.0	115	16100.0						
Rced5	10	21	19	19	19.7	1966.7	196.7	244.0	47986.7						
S2	10	27	25	30	27.3	2733.3	273.3	812	221946.7	318.3	45.0	129503.3	92443.3	6.5	4.6
S5	10	28	40	41	36.3	3633.3	363.3	102	37060.0						

Bloc 2 Nbre de pontes/plant

Nom échantillon	Nbre de pontes récoltées	oeufs/10 µl comptage 1	oeufs/10 µl comptage 2	oeufs/10 µl comptage 3	Nbre d'oeufs/10 µl	Nbre d'oeufs/mL	Nbre d'oeufs/ponte	Nbre d'oeufs/plant	Moyenne oeufs/ponte/modalité	ES	Moyenne oeufs/plant/modalité	ES	Pi/PiES		
SC13								12.0		271.1	98.7	16135.3	8646.9	0.8	0.4
SC14								26.0							
SC15	6	12	10	10	10.7	1066.7	177.8	46.0	8177.8						
SC16	10	14	18	15	15.7	1566.7	156.7	82.0	12846.7						
SC17	10	57	54	59	56.7	5666.7	566.7	4.0	2266.7						
SC18	2	4	3	4	3.7	366.7	183.3	225.0	41250.0						
RC13	10	20	21	17	19.3	1933.3	193.3	19.0	3673.3	271.9	53.6	8962.8	3382.7	0.4	0.2
RC14	6	14	18	15	15.7	1566.7	261.1	46.0	12011.1						
RC15	10	43	40	45	42.7	4266.7	426.7	40.0	17066.7						
RC16	5	8	12	11	10.3	1033.3	206.7	15.0	3100.0						
RC17								10.0							
RC18								36.0							
SV13	10	33	42	32	35.7	3566.7	356.7	3.0	1070.0	407.5	66.6	13850.8	10388.7	0.7	0.5
SV14								194.0							
SV15	10	56	53	62	57.0	5700.0	570.0	3.0	1710.0						
SV16								185.0							
SV17	10	47	44	43	44.7	4466.7	446.7	100.0	44666.7						
SV18	10	23	31	23	25.7	2566.7	256.7	31.0	7956.7						
RV13	10	29	25	24	26.0	2600.0	260.0	36.0	9360.0	298.3	31.1	26988.9	10225.9	1.3	0.5
RV14	5	18	23	22	21.0	2100.0	420.0	171.0	71820.0						
RV15	10	31	31	33	31.7	3166.7	316.7	68.0	21533.3						
RV16	10	26	30	26	27.3	2733.3	273.3	146.0	39906.7						
RV17	10	33	31	34	32.7	3266.7	326.7	39.0	12740.0						
RV18	10	20	19	19	19.3	1933.3	193.3	34.0	6573.3						
ST13	4	12	13	13	12.7	1266.7	316.7	36.0	11400.0	257.5	33.0	11362.8	1937.1	0.6	0.1
ST14	10	19	17	25	20.3	2033.3	203.3	39.0	7930.0						
ST15	5	12	9	10	10.3	1033.3	206.7	46.0	9506.7						
ST16	10	41	37	41	39.7	3966.7	396.7	26.0	10313.3						
ST17	5	11	11	10	10.7	1066.7	213.3	97.0	20693.3						
ST18	4	8	8	9	8.3	833.3	208.3	40.0	8333.3						
RT13	6	12	8	11	10.3	1033.3	172.2	125.0	21527.8	283.1	45.9	14941.3	2880.6	0.7	0.1
RT14	10	41	49	46	45.3	4533.3	453.3	16.0	7253.3						
RT15	5	10	8	11	9.7	966.7	193.3	93.0	17980.0						
RT16	10	28	30	27	28.3	2833.3	283.3	76.0	21533.3						
RT17	10	21	23	21	21.7	2166.7	216.7	74.0	16033.3						
RT18	10	41	36	37	38.0	3800.0	380.0	14.0	5320.0						
SVT13								32.0		1065.3	709.7	53275.0	21275.0	2.7	1.1
SVT14	3	11	11	10	10.7	1066.7	355.6	90.0	32000.0						
SVT15								16.0							
SVT16								56.0							
SVT17	4	15	13	185	71.0	7100.0	1775.0	42.0	74550.0						
SVT18								61.0							
RVT13	4	20	17	18	18.3	1833.3	458.3	47.0	21541.7	450.7	43.6	33043.1	6208.7	1.7	0.3
RVT14	7	31	28	29	29.3	2933.3	419.0	63.0	26400.0						
RVT15	10	33	34	32	33.0	3300.0	330.0	144.0	47520.0						
RVT16	10	42	47	41	43.3	4333.3	433.3	43.0	18633.3						
RVT17	5	23	18	21	20.7	2066.7	413.3	136.0	56213.3						
RVT18	4	28	24	26	26.0	2600.0	650.0	43.0	27950.0						
Sced11	10	37	42	39	39.3	3933.3	393.3	86.0	33826.7	298.1	43.8	56858.6	17304.9	2.8	0.9
Sced12	10	37	33	40	36.7	3666.7	366.7	326.0	119533.3						
Sced13	10	28	29	26	27.7	2766.7	276.7	103.0	28496.7						
Sced14	6	7	10	11	9.3	933.3	155.6	293.0	45577.8						
Rced11 (plus de 10 pontes?)	10	50	51	49	50.0	5000.0	500.0	293.0	146500.0	425.3	41.6	143590.0	23633.3	7.2	1.2
Rced12	10	43	46	50	46.3	4633.3	463.3	334.0	154753.3						
Rced13	10	41	27	35	34.3	3433.3	343.3	245.0	84116.7						
Rced14	10	28	35	25	29.3	2933.3	293.3	342.0	100320.0						
Rced15 (plus de 10 pontes?)	10	50	55	53	52.7	5266.7	526.7	441.0	232260.0						

Vincent Chauvet <Vincent.Chauvet@upl-ltd.com>

Répondre à tous

Hier, 21:00

Caroline Caporalino

Boîte de réception

Classification: **Public (P)**

Bonjour,

Voici ce que je peux vous proposer :

Pour le Cedroz, il est important d'humidifier le milieu avant l'application.

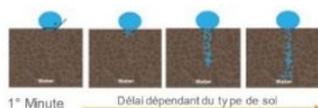
Il faut mouiller jusqu'à la capacité au champ, comme indiqué ci-dessous. Difficile de donner une quantité de matière active par plant.

Le renouvellement doit se faire tous les 8 jours.

Comment appliquer le CEDROZ

3 étapes à suivre pour assurer la bonne performance du produit :

1. Humidifier le sol avant d'appliquer Cedroz :



Un sol humide facilitera l'atteinte des nematodes par la solution de Cedroz

2. Ne pas trop diluer le produit : la dilution idéale est (2-4 ml/100 L d'eau)



3. Rincer le système d'irrigation avec de l'eau claire après l'application

2-4 ml/100 L => 2-4 µl/100 mL => 4.4-8.8 µl/220 mL

Pour le Vacciplant, moins de contrainte d'application.

Bien humecter le sol pour un contact optimale entre la solution et les racines.

Dose 0,2%

Renouvellement tous les 8-10 jours

0.2 mL/100 mL => 440 µL/220 mL

Difficile d'être plus précis et de vous donner une quantité de matière active par plant.

A votre disposition

Cordialement/Best regards

Vincent Chauvet
Responsable Développement Cultures spécialisées
Service Marketing

Protocole Essai pour CAP ZERO PHYTO= Effet de la Pds Tagète minuta sur la protection des tomates sensible au RKN en pièce climatique (sur 1 cycle de *Meloidogyne incognita* Morelos) La première manip de 2023 n'ayant pas fonctionné, nouvelle manip lancée en 2024 Le but ici est d'observer si les Tagetes minuta ont un effet nématocide protecteur sur les tomates sensibles Saint Pierre. Pour cela, 5 Tagètes par pot ont été semées et laissées se développer pendant 1 mois et demi. Les Tagètes ont ensuite été enfouies dans le sol, puis une plante de tomate Saint Pierre et une Tagetes minuta ont été repiquées dans ce sol et inoculées avec *M. incognita*. Essai sur tomates St Pierre en sol stérile équilibré (55-60% sable, 12-20% argile, 18-20% limon, 2% matière organique) dans des pots de 1 litre en pièce climatique (pièce D013, température moyenne de 25°C ± 2°C, éclairage 15h jour/9h nuit, 65% d'humidité, luminosité maximum de xlux, pas de fertilisation). Modalités: 10 plants/modalités inoculés par *M. incognita*. -Tomate seule (contrôle) x7 -Tomate + Tagète minuta x10

Production d'œufs : 17 plants * 600 J2 = 10 200 J2 nécessaires

1/ 23/01/2024: Semis sur agar des graines de tomate et semis des Tagètes (5 Tagètes/pot) directement en pot de 1L, mélange terre sable 50:50 (remplir les 3/4 des pots).

2/ 25/01/2024: Repiquage des semis de tomate en godets, mélange terre sable 50:50. Semis placés en D013, et arrosés à l'eau claire trois fois par semaine.

3/ 14/02/2023: Arrosage des plantes de tomate avec PH4eco (4.8ml dans 6L). PUIS ARROSAGE CHAQUE MERCREDI AU PH4eco (21/02, 28/02, 06/03, 13/03, 20/03, 27/03, 03/04)

4/ 23/02/2023: Repiquage et inoculation des plantes de tomates dans les pots de 1L. Dépotage des pots contenant les 5 plantes de Tagetes minuta, découpage des parties aériennes et racinaires et les incorporer dans la terre. Remettre la première moitié dans le pot et repiquer une plantule de tomate âgées d'un mois et demi. Puis remplir le reste du pot avec le mélange terre/Tagete. Inoculer les plantes avec 600 J2/pots. Des plantes de tomates contrôles ont également été repiquées et inoculées en pots de 1L en suivant même procédé (sol sans Tagète enfouie).

5/ Répartir les plantes au hasard sur le tablar pour éviter les effets bordures, et placer des coupelles sous les pots. Par la suite, arrosage délicat et régulier (environ un falcon de 50ml par pot, 2 à 3 fois par semaine).

6/ Mesures de la hauteur des plantes du sol jusqu'à la feuille la plus haute, du nombre de feuilles par plante. Ces mesures non destructives seront réalisées au début et à la fin de l'expérimentation.

7/ 06/04/2024: A la fin de l'essai (6-8 semaines après repiquage des plantules, les masses fraîches et sèches des parties racinaires et végétatives des plants seront analysées (mesures destructives). Le nombre de pontes sur racines (colorées à l'éosine) sera compté. Les résultats seront exprimés en nombre de pontes/plant et en nombre de pontes/g de racine (fraîche et sèche). Le nombre d'œufs/ponte/plant sera également estimé

pontes/plant et en nombre de pontes/g de racine (fraiche et sèche). Le nombre d'œufs/ponte/plant sera également estimé.

Protocole Essai pour CAP ZERO PHYTO = Combinaisons de 3 leviers pour la protection des cultures contre *M. incognita* en serre

L'objectif de ce stage est de tester l'effet de la combinaison de 3 leviers bioprotecteurs (résistance des plantes, Plantes de Services et Substance de Défense des Plantes) pour analyser leurs effets additifs, synergiques, ou antagonistes sur la croissance et l'infestation de la tomate par le nématode à galles *Meloidogyne incognita*. En particulier, il s'agira de voir si les PdS et les SDP peuvent protéger les tomates résistantes durant les périodes de fortes chaleurs lorsque le gène Mi-1 est inactivé. Les 3 leviers utilisés :

-Tomates porte greffes résistants : Porte greffe Maxifort et greffon Dossimo (tomate sensible utilisée : variété Dossimo)-Plante de service : Tagète *Tagetes erecta*-Substance de Défense des Plantes (SDP): Cedroz, Vacciplant ou Rhapsodie ? Tomates sensibles = Saint-Pierre Nombre moyen de pontes par plant (6 semaines après inoculation par 2000 œufs de *Meloidogyne incognita* ou *M. arenaria*/ 300 g sol en pots x 6 répétitions) Faire test rapide sur sol d'élevage contaminé (terrine ou pot): semis 10 St Pierre, 10 Piersol, 10 porte greffe Maxifort, 10 Dossimo sur tapis chauffant, observer si galles le 1er Mars (après 15-18 jours) Modalités: Sur deux cycles de nématodes, 12 répétitions/cycles donc 24 plantes au total/modalités-Tomate sensible x24 (12 détruites à la fin du premier cycle et 12 autres détruites à la fin du deuxième cycle)

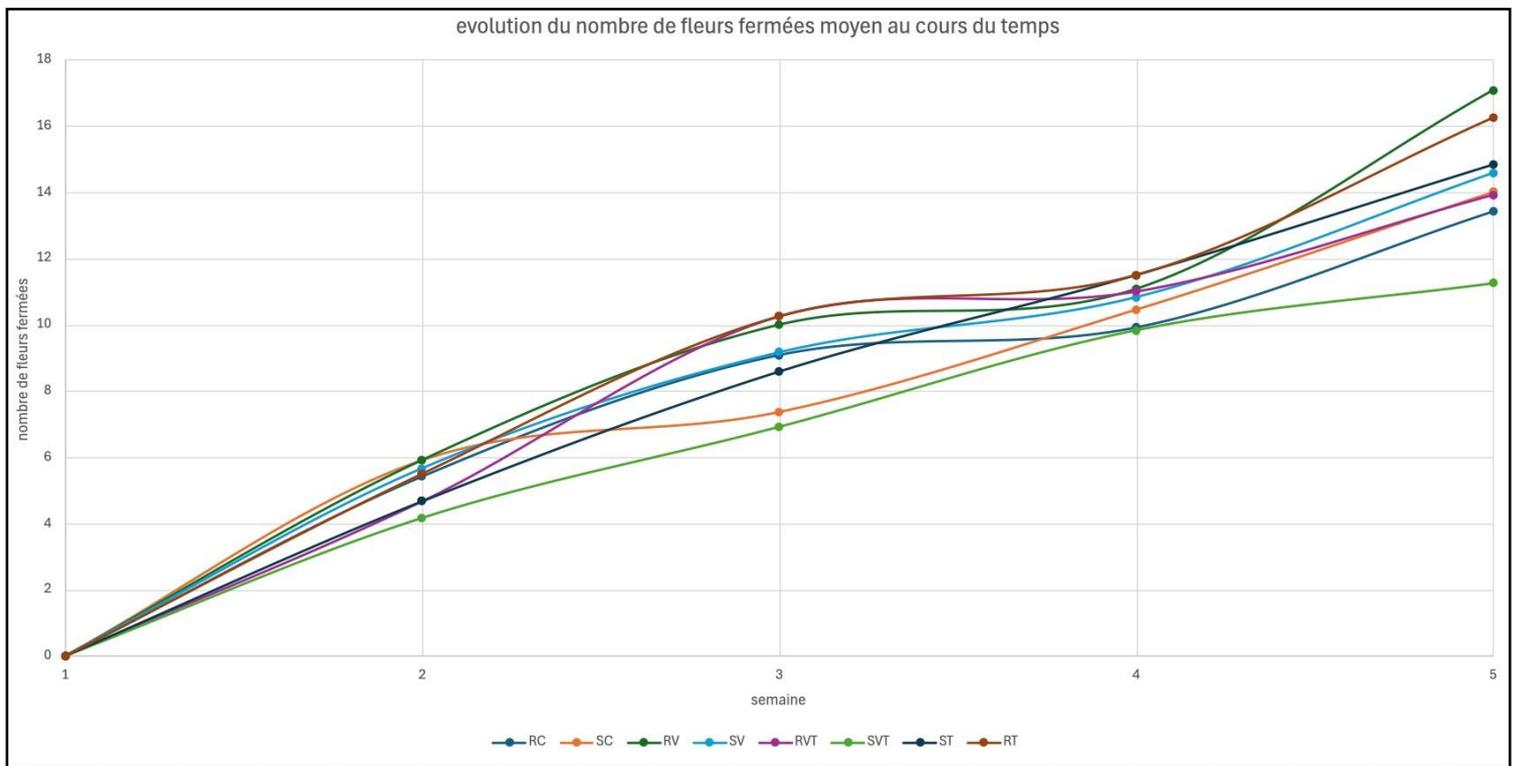
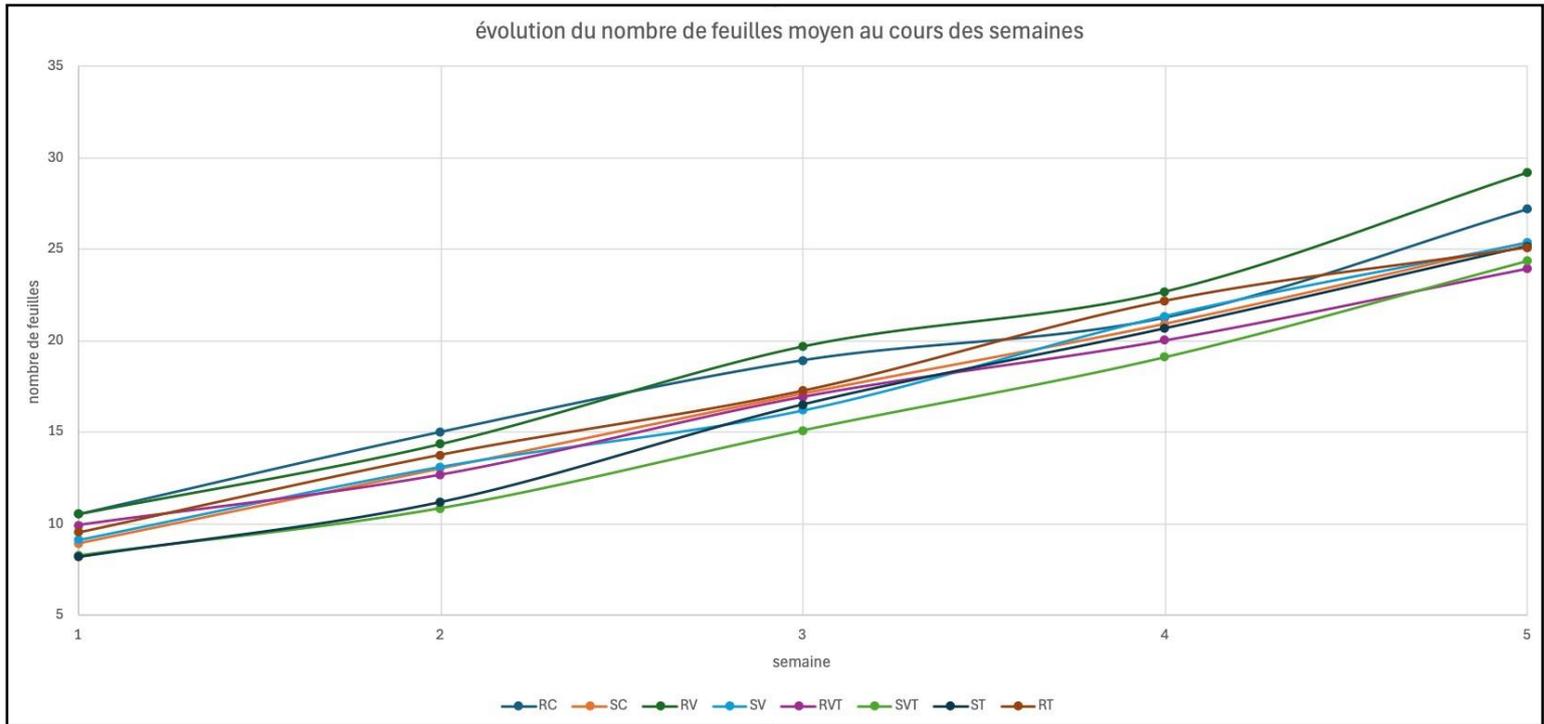
-Tomates sensible + Tagète x24-Tomates sensible + SDP x24-Tomates sensible + Tagète + SDP x24-Tomates résistant x24-Tomates résistante + Tagète x24-Tomates résistante + SDP x24-Tomates résistante + Tagète + SDP x24 Utilisation de 192 pots de 3L remplis avec 2L de sol et inoculation avec 10 000 œufs/kg de sol donc 20 000 œufs/pot/tomate

Annexe 4 : Résultats du potentiel infectieux du sol des expérimentations après un cycle de nématodes en serre

Bloc 1/1er cycle

Nom échantillon	Nbre de pontes récoltées	œufs/10 µl comptage 1	œufs/10 µl comptage 2	œufs/10 µl comptage 3	Nbre d'œufs/10 µl	Nbre d'œufs/mL	Nbre d'œufs/pontes	Nbre de pontes/plant	Nbre d'œufs/plant	Moyenne œufs/pontes/modalité	ES	Moyenne œufs/plant/modalité	ES	Pf/Pi	ES
SC1(10 pontes prélevées?)	10	1	1	1	1.0	100.0	10.0	51	510.0	264.2	97.6	17834.2	8075.5	0.9	0.4
SC2								12							
SC3								14							
SC4	10	42	36	34	37.3	3733.3	373.3	106	39573.3						
SC5	10	22	20	24	22.0	2200.0	220.0	72	15840.0						
SC6	5	26	19	23	22.7	2266.7	453.3	34	15413.3						
RC1	8	16	19	17	17.3	1733.3	216.7	50	10833.3	212.4	24.3	12976.3	4668.7	0.6	0.2
RC2	6	12	13	16	13.7	1366.7	227.8	55	12527.8						
RC3	3	7	8	6	7.0	700.0	233.3	19	4433.3						
RC4	10	30	32	29	30.3	3033.3	303.3	115	34883.3						
RC5	10	16	12	14	14.0	1400.0	140.0	23	3220.0						
RC6	5	7	9	7	7.7	766.7	153.3	78	11960.0						
SV1	3	5	5	8	6.0	600.0	200.0	16	3200.0	274.2	34.3	19548.5	8544.8	1.0	0.4
SV2	10	35	33	34	34.0	3400.0	340.0	141	47940.0						
SV3	5	13	15	16	14.7	1466.7	293.3	39	11440.0						
SV4	8	13	16	16	15.0	1500.0	187.5	27	5062.5						
SV5	10	31	35	39	35.0	3500.0	350.0	86	30100.0						
SV6								72							
RV1	10	34	39	39	37.3	3733.3	373.3	84	31360.0	250.3	38.2	26582.0	10538.7	1.3	0.5
RV2	2	3	3	3	3.0	300.0	150.0	15	2250.0						
RV3	4	10	11	8	9.7	966.7	241.7	72	17400.0						
RV4								0							
RV5	10	32	28	26	28.7	2866.7	286.7	225	64500.0						
RV6	10	18	22	20	20.0	2000.0	200.0	87	17400.0						
ST1	6	12	14	15	13.7	1366.7	227.8	53	12072.2	183.6	28.7	9015.1	2817.6	0.5	0.1
ST2	10	10	12	12	11.3	1133.3	113.3	24	2720.0						
ST3	2	2	3	2	2.3	233.3	116.7	47	5483.3						
ST4	10	22	20	21	21.0	2100.0	210.0	30	6300.0						
ST5								1							
ST6	8	21	21	18	20.0	2000.0	250.0	74	18500.0						
RT1	10	18	19	23	20.0	2000.0	200.0	107	21400.0	189.1	31.6	16235.1	4887.7	0.8	0.2
RT2	7	14	11	8	11.0	1100.0	157.1	26	4085.7						
RT3	10	30	32	39	33.7	3366.7	336.7	104	35013.3						
RT4	7	12	8	11	10.3	1033.3	147.6	40	5904.8						
RT5	10	13	11	11	11.7	1166.7	116.7	78	9100.0						
RT6	10	18	16	19	17.7	1766.7	176.7	124	21906.7						
SVT1	10	26	27	27	26.7	2666.7	266.7	105	28000.0	172.0	45.2	11660.0	4958.8	0.6	0.2
SVT2								53							
SVT3	10	9	9	8	8.7	866.7	86.7	51	4420.0						
SVT4	3	2	2	2	2.0	200.0	66.7	23	1533.3						
SVT5	5	14	14	15	14.3	1433.3	286.7	63	18060.0						
SVT6	5	8	5	10	7.7	766.7	153.3	41	6286.7						
RVT1	10	19	21	19	19.7	1966.7	196.7	49	9636.7	227.8	34.8	13678.3	5151.9	0.7	0.3
RVT2	10	20	20	23	21.0	2100.0	210.0	44	9240.0						
RVT3	10	18	17	23	19.3	1933.3	193.3	27	5220.0						
RVT4	10	21	19	18	19.3	1933.3	193.3	46	8893.3						
RVT5	10	40	42	38	40.0	4000.0	400.0	98	39200.0						
RVT6	10	16	17	19	17.3	1733.3	173.3	57	9880.0						
Sced1	10	25	23	26	24.7	2466.7	246.7	52	12826.7	290.0	64.0	85282.7	39509.5	4.3	2.0
Sced2	7	7	6	8	7.0	700.0	100.0	42	4200.0						

Annexe 5 : Autres graphiques réalisé sur le nombre de feuilles et le nombre de fleurs fermée après un cycle de nématodes en serre



Annexe 6 : Exemple de tableau de résultats des mesures destructives de l'expérience visant à choisir un des trois SDP

											tomate + Rhapsody	TOTAL
individus	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10		
hauteur des plantes	59	49,5	57	55	49	56,5	65	60	59	60,2	57,02	
Masse végétative fraîche	67,8	55,1	65,7	58	58,1	50,1	32,5	52,3	52,1	58,1	54,98	
Masse végétative sèche	13	8,3	12,4	11,6	9,3	8,6	7,5	7,1	11,4	14,9	10,41	
Masse racinaire fraîche	18,6	20,7	20,3	21,5	9,8	16,6	15	16,2	8,4	22,7	16,98	
Masse racinaire sèche	1,23	2,9	1,76	1,71	0,88	1,56	1,29	1,1	0,8	2,21		
Nombre de ponte	427	289	402	347	300	293	305	331	369	308	337,1	
Nombre de galles	446	277	469	346	271	291	321	494	330	284	352,9	
Nombre de feuilles	16	16	15	15	13	12	10	13	14	14	13,8	
Nombre de fleurs ouverte	3	3	2	2	3	2	1	3	0	2	2,1	
Nombre de fleurs fermées	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0		
nombre de fruits	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0		

											tomate+ Cedroz	TOTAL
individus	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10		
hauteur des plantes	69	54	59,5	58	55	57	54	53	56	58	57,35	
Masse végétative fraîche	60	41,4	54,7	53,2	49,7	43,1	50,9	44,3	60,4	56,1	51,38	
Masse végétative sèche	18,2	12,5	14	14,6	12,2	11,8	11	8,4	13,9	13,5	13,01	
Masse racinaire fraîche	21,5	10,2	12,9	15	10,6	11,6	14,3	8,9	14	14,2	13,32	
Masse racinaire sèche	1,64	0,94	1,08	1,65	0,82	1,36	1,23	0,81	0,63	1,44	1,16	
Nombre de ponte	299	301	296	291	284	326	330	273	268	454	312,2	
Nombre de galles	352	301	388	340	261	331	321	254	280	373	320,1	
Nombre de feuilles	13	11	12	12	12	10	11	18	14	14	12,7	
Nombre de fleurs ouverte	2	2	0	1	1	1	2	0	3	3	1,5	
Nombre de fleurs fermées	0	0	0	0	0	0	1	0	0	2		
nombre de fruits	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0		

											tomate + Vacciplant	TOTAL
individus	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10		
hauteur des plantes	48	56	60	54	47	51	46	56,5	52	62	53,25	
Masse végétative fraîche	48,3	61,2	43,2	54	38,9	54,3	34	37,8	47,8	42,8	46,23	
Masse végétative sèche	15,1	11,9	10,4	12,4	7,8	9,1	7,7	11,9	12	11,7	11	
Masse racinaire fraîche	6,2	15,3	14,8	14,9	7	14	9	8	10,9	12,8	11,29	
Masse racinaire sèche	0,57	1,78	2,19	1,29	1,83	1,15	0,72	0,7	0,94	0,75	1,192	
Nombre de ponte	171	288	224	273	150	262	40	212	338	265	222,3	
Nombre de galles	174	363	236	282	184	338	38	272	379	234	250	
Nombre de feuilles	11	15	14	14	11	12	10	10	11	13	12,1	
Nombre de fleurs ouverte	0	3	2	1	0	3	1	0	0	3	1,3	
Nombre de fleurs fermées	1	0	0	2	0	0	0	1	0	0		
nombre de fruits	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		

Annexe 7 : Schémas explicatifs du nombre de plantes/modalités (cedroz non présenté dans le rapport)

