

ASTREDHOR
44 Rue d'Alésia
75 682 Paris Cedex 14



dDAPeV Environnement
16 Hameau des Cats
84 800 L'Isle sur la Sorgue

CDHR Centre Val de Loire
Domaine de Cornay
45 590 Saint Cyr en Val

ASTREDHOR
PROGRAMME NATIONAL DE RECHERCHE
APPLIQUEE ET D'ETUDES 2008

Recherche des causes de la mauvaise reprise au greffage
constatée en culture de rosiers et plants fruitiers

Thématique : Techniques culturales et gestion des facteurs agronomiques.

L'Isle le 21 Mars 2009

PROJET D'ACTION : SITUATION

Début de l'action : 2007

Durée prévue : 3 ans

TITRE : Recherche des causes de la mauvaise reprise au greffage constatée en culture de rosiers et plants fruitiers.

Titre abrégé :

MOTS CLES : rosiers, plants fruitiers, greffage, échec.

Chef de projet : **Pierre MICHELOT**

dDAPeV Environnement Sarl

16 Hameau des Cats

84 800 L'Isle sur la Sorgue

Tel 04 90 38 40 82

Port 06 72 73 68 78

Mél : michelot.pierre@wanadoo.fr

PARTENAIRES qui travaillent directement avec le chef de projet :

CDHR Centre Val de Loire : Anne Sophie CASTETS, Katia COUETTE et JM DELATOUR

Domaine de Cornay

45 590 Saint Cyr en Val

Tel 02 38 64 10 33

Fax 02 38 64 10 77

Mél cdhrcentre@astredhor.asso.fr

Eric VERDIN

INRA Virologie,

Centre de Recherches d'Avignon

BP 94

84 143 Montfavet Cedex

Tel 04 32 72 28 54

Mél : eric.verdin@avignon.inra.fr

Jean Paul ONESTO

INRA URIH

Centre de Recherches de Sophia Antipolis

BP 167

06 903 Sophia Antipolis Cedex

Tel 04 92 38 65 15

Mel Jean-Paul.Onesto@sophia.inra.fr

Noëlle DORION
INH
Rue le Nôtre
49 045 Angers Cedex
Tel 02 41 22 54 54
Fax 02 41 73 15 57
Mel noelle.dorion@inh.fr

Jean Luc POESSEL
INRA UGAFL
Domaine Saint Maurice
84 140 Montfavet
Tel 04 32 72 20 00
Mél poessel@avignon.inra.fr

LIEUX DE REALISATION :

Cette deuxième année de l'étude ayant essentiellement pour but de compléter les observations faites en pépinière pour mieux appréhender les symptômes rencontrés, le travail sera réalisé pour partie sur le terrain. Les travaux spécifiques sur l'isolement et la détermination des virus auront lieu quant à eux dans les locaux de chacun des 2 partenaires scientifiques.

EXPERTS CONNUS SUR LE SUJET :

Françoise DOSBA
UMR BEPC
ENSAM – INRA
2 Place Viala
34 060 Montpellier Cedex 1
Tel 04 99 61 27 81
Fax 04 99 61 26 16
Mél dosba@ensam.inra.fr

Anne Sophie SPILMONT
ENTAV
Domaine de l'Espiguette
30 240 Le Grau du Roi
Tel 04 66 51 40 45
Fax 04 66 53 29 16
Mél entav@entav.fr

DESCRIPTION DE L'ACTION

I. OBJECTIFS

I. 1. Enjeux :

La production de plants de rosiers de jardin, tout comme celle de plants fruitiers, passe systématiquement par un greffage, qui permet d'allier les caractéristiques des différents porte-greffe, qui ont été sélectionnés pour leurs aptitudes agronomiques, et celles des variétés, qu'elles soient d'ordre esthétique, agronomiques ou gustatives.

Or, il s'avère aujourd'hui que les pépiniéristes producteurs de rosiers de jardin sont régulièrement confrontés à de graves échecs au greffage, qui accroissent considérablement leurs coûts de production, sans que l'origine du problème n'ait été clairement établie.

En pépinière de rosiers, ces pertes atteignent en moyenne 10 à 15 % des plants greffés, tous porte-greffe et toutes variétés confondus, mais elles ont atteint, en 2005, 50 à 60% des plants sur les variétés les plus sensibles. Les rosiers, greffés au cours de l'été, semblent démarrer en végétation de façon satisfaisante au printemps suivant mais au cours des mois de mai et juin, certaines pousses issues des écussons se dessèchent et tombent. Certaines autres montrent un développement anormal qui conduit à la formation d'une rosette de feuilles petites et effilées. Les pépiniéristes attribuent ces chutes de greffons à une mauvaise soudure de l'écusson. Ils ont constaté par ailleurs que le phénomène semble plus ou moins important selon le porte-greffe. Cependant, le problème est difficile à interpréter car ce ne sont pas les mêmes variétés qui sont les plus affectées chaque année.

La recherche de l'origine de ces échecs et la mise en œuvre de solutions permettant d'y remédier sont donc indispensables au maintien d'une production de plants de rosiers dans des conditions de rentabilité satisfaisantes.

I. 2. Résultats attendus :

L'étude consistera dans un premier temps à faire une recherche bibliographique approfondie de façon à lister tous les facteurs connus pour avoir un effet sur la reprise au greffage. Elle consistera en parallèle à conduire une enquête chez un échantillon de pépiniéristes confrontés à ces problèmes, de façon à analyser l'ensemble des facteurs de production des plants, qu'ils soient d'ordre biologique ou matériel, mis en œuvre dans ces entreprises. La confrontation de ces deux volets de la première étape de l'étude devrait alors permettre d'échafauder des hypothèses explicatives aux problèmes rencontrés en culture.

Dans un second temps, l'étude consistera à tester ces hypothèses au travers d'expérimentations de façon à pouvoir proposer aux pépiniéristes des solutions leur permettant d'obtenir de meilleurs taux de réussite, et par là d'améliorer la rentabilité de leurs cultures.

I. SITUATION ACTUELLE DU SUJET DE RECHERCHE

I. 1. Synthèse bibliographique permettant de situer le projet :

La production de plants fruitiers ou de plants de rosiers met systématiquement en œuvre une méthode de greffage. Ce procédé de multiplication permet en effet d'associer les caractéristiques agronomiques d'un porte-greffe (résistance au calcaire, à l'humidité, à certaines maladies telluriques, etc) à l'intérêt des variétés, permettant ainsi de cultiver l'ensemble des variétés dans tous les types de sol. Cependant, cette méthode de multiplication par combinaison de deux génotypes différents est souvent limitée par des problèmes de mauvaises reprises, appelés incompatibilité de greffe dans la littérature scientifique. Différentes explications ou hypothèses ont ainsi été avancées pour expliquer ces phénomènes.

Une première explication à ces phénomènes d'incompatibilité est l'état sanitaire du matériel végétal, et en particulier la présence de virus. Ainsi, Dosba et al ont montré que la maladie de la ligne noire qui affecte certaines greffes de *Juglans regia* sur *Juglans nigra* est due à la présence du Cherry Leaf Roll virus (Dosba et al, 1990, in POESSEL et al, 2000). De la même façon, Lemoine et Michelesi ont montré que de nombreux échecs au greffage sur poirier et abricotier sont dus à une infection virale latente du porte-greffe ou du greffon (Lemoine et Michelesi, 1989, in POESSEL et al, 2000).

Mais des phénomènes d'incompatibilité de greffe peuvent également apparaître hors de la présence de virus lorsqu'une espèce est greffée sur une autre ou sur un hybride inter-spécifique. De nombreux travaux, conduits notamment par Herrero et Mosse ont permis de distinguer deux cas différents (Herrero, 1951, et Mosse, 1962, in POESSEL, 2000).

Dans le premier cas, l'incompatibilité se traduit par une fragilité mécanique de l'union provoquée par la nécrose progressive des tissus de jonction entre le porte-greffe et le greffon, qui peut aboutir à une cassure de la greffe, parfois quelques années après plantation. Cette incompatibilité est dite localisée. Dans le cas de l'incompatibilité poirier/cognassier, Gur et al attribuent la nécrose de l'union à l'action toxique du cyanure issu de la dégradation de la prunagine contenue dans l'écorce du porte-greffe (Gur et al, 1968, in POESSEL, 2000).

Dans le second cas, l'incompatibilité se traduit par un dépérissement progressif de l'arbre, malgré une union présentant une structure anatomique normale. Une telle incompatibilité est alors dite transloquée. Treutter et Feucht ont par exemple observé l'accumulation de prunine juste au dessus du point de greffe dans le cas d'unions cerisier doux/cerisier acide connus pour présenter un tel type d'incompatibilité. La prunine, connue pour avoir un effet inhibiteur sur l'auxine, pourrait ainsi être à l'origine de la nécrose du phloème observée dans ce type de greffe, qui perturbe la circulation de la sève élaborée et conduit au dépérissement progressif de l'arbre. (Treutter et Feucht, 1988, in POESSEL, 2000).

Il ne faut cependant pas négliger les autres facteurs susceptibles d'intervenir sur la réussite d'un chantier de greffage, même si le praticien estime souvent qu'il maîtrise ces facteurs de production. Ainsi, un greffoir mal adapté, ou mal entretenu, ou mal utilisé peut provoquer des nécroses ralentissant la soudure porte-greffe – greffon, et conduisant à des échecs. De même, un délai trop long entre le prélèvement du greffon sur la baguette et son implantation sur le porte-greffe peut conduire à une oxydation des tissus préjudiciable à la soudure. Ainsi, LE et ABDELHMID (2004) trempent les greffons de châtaigniers qu'ils utilisent dans leurs travaux sur le micro-greffage *in vitro* dans une solution de diethyldithiocarbamate pour éviter l'oxydation des composés phénoliques qui rendent toxiques les tissus blessés lors du greffage.

D'autres facteurs, tels qu'une irrigation par aspersion intervenant peu de temps après le greffage ou un stress hydrique dans le verger donneur de greffons, peuvent également avoir une influence négative sur la reprise des greffes (LEMOINE M.C, 2004).

Dans un autre domaine, l'ENTAV coordonne actuellement tout un travail sur la recherche de l'origine du dépérissement de la Syrah au vignoble, qui semble être lié à un problème de greffage. Ce dépérissement se manifeste en effet après l'apparition d'un fort bourrelet au niveau du point de greffe, sur lequel apparaissent des crevasses verticales ou obliques. Pour rechercher la cause de ce dépérissement, un groupe de travail a été mis en place avec un fort partenariat entre l'ENTAV et la plateforme d'histologie et cytologie du CIRAD et l'UMR BEPC de l'INRA à Montpellier. (ENTAV 2005). La démarche initiée par ce groupe de travail pourrait servir de modèle au travail à conduire au sein du Réseau ASTREDHOR.

Il apparaît ainsi que l'opération de greffage est particulièrement délicate, et que l'ensemble des paramètres de la culture doit être analysé pour pouvoir expliquer les échecs constatés en pépinière, et proposer des solutions.

I. 2. Synthèse des observations 2007 :

Comme convenu, une enquête a été réalisée auprès d'une vingtaine de producteurs de rosiers de jardin, répartis dans les trois grands bassins de production : orléanais, environs de Doué la Fontaine et région lyonnaise. Les différents facteurs de production abordés dans ce questionnaire d'enquête, ainsi que la synthèse des réponses apportées, sont présentés ci-dessous :

- Evolution du pourcentage de réussite global : le graphique regroupant les réponses ne montre pas une évolution globale évidente sur les 10 dernières années.
- Pourcentage de réussite entre variétés traditionnelles et récentes : les réponses ne mettent pas en évidence un accroissement du phénomène avec les variétés les plus récentes.
- Localisation des symptômes sur la parcelle : les différentes localisations sur la parcelle proposées par le questionnaire ne correspondent pas aux observations des pépiniéristes. Par contre la nature du sol (plus de problèmes en sol sableux) et les conditions météorologiques au moment du débourrement (plus de problèmes les années au printemps pluvieux avec des températures changeantes) sont systématiquement citées. Il semble donc probable que ces 2 facteurs aient un effet indirect sur la physiologie du plant au moment du débourrement qui apparaît être la période critique.
- Techniques culturales :
 - Le rythme de retour de la culture de rosiers sur la parcelle n'est pas à l'origine du problème : les problèmes existent même sur terres neuves,
 - L'origine du porte-greffe ne semble pas avoir d'influence. Par contre il apparaît que les problèmes sont plus sévères sur Multiflora que sur Laxa, c'est à dire plus sévères sur porte-greffe vigoureux. On retrouve ici l'observation sur les « excès de sève » régulièrement évoqués par les pépiniéristes.
 - Dates de greffage et mode de conservation des greffons ne semblent pas avoir d'influence.
 - Les pépiniéristes qui ne s'interdisent pas l'arrosage après greffage ne semblent pas avoir systématiquement plus de problèmes que les autres. S'il y a un effet négatif, c'est sur la reprise au greffage, mais pas sur l'intensité de la chute.
 - Désherbage : tous utilisent sensiblement les mêmes produits.

- Traitements phytosanitaires après greffage : très peu sont pratiqués.
- Les mesures prophylactiques visant à la désinfection des outils utilisés lors du greffage ne sont que très rarement pratiquées.

L'observation des plants prélevés en pépinière a montré par ailleurs des symptômes caractéristiques de décollement, très comparables à ceux rencontrés sur les fruitiers, avec des nécroses dans l'écorce qui font penser à un problème viral.

Cependant, les observations concordantes qui mettent en relation une vigueur excessive au moment du débourrement (« excès de sève ») avec une sensibilité particulière au vent ou aux chocs (binages) et l'intensité du phénomène peuvent faire penser à un problème de compatibilité génétique.

Les deux hypothèses restent donc à tester, bien que les problèmes d'origine virale qui sont bien connus sur les rosacées fruitières et le prélèvement systématique des greffons sur la pépinière orientent plutôt vers la première.

II. GAINS OU AVANTAGES ATTENDUS

II. 1. Intérêt scientifique et technique :

Si la mise en œuvre de cette étude permet de constituer un Comité de pilotage interdisciplinaire, réunissant agronomes, éco-physiologistes, pathologistes et expérimentateurs, il devrait être possible d'améliorer les connaissances scientifiques sur les problèmes d'incompatibilité de greffe et les connaissances pratiques sur les conditions de la réussite d'un chantier de greffage.

II. 2. Intérêt socio-économique :

Le marché des plants de rosier représente environ 7,7 millions de plants achetés, pour une valeur de 68 millions d'euros, dont 85 % sont plantés dans un jardin, 10 % sur un balcon ou une terrasse et 5 % servent à orner les cimetières. Dans un contexte économique plutôt difficile, où le marché du rosier stagne depuis plusieurs années, il va sans dire que des pertes de 50 à 60 % des plants greffés sont totalement insupportables par les entreprises.

III. PROGRAMME DE TRAVAIL

III. 1. Plan de recherche :

1 Poursuite des observations de terrain :

L'année 2007 s'étant avérée peu propice à l'expression des symptômes, nous n'avons pu que recueillir les témoignages des producteurs, sans pouvoir réaliser sur le terrain toutes les observations que nous souhaitons faire.

La première phase du travail réalisé cette année a donc consisté à retourner sur différents sites de pépinière de façon à préciser la nature des symptômes rencontrés et à réaliser un comptage précis de chacun d'entre eux.

11 Nature des symptômes observés

Les observations faites sur les plants au mois de mai 2008 ont clairement permis d'identifier deux symptômes différents.

Pour certains plants, la pousse issue de l'écusson, qui est parfaitement soudé au porte-greffe, présente une moindre croissance que celle des plants sains, un feuillage souvent rougissant, un aspect parfois un peu flétri, comme l'illustre la photographie ci-dessous. En général, il suffit d'exercer une légère pression sur ces pousses pour qu'elles basculent au niveau du point d'insertion de la pousse sur l'écusson. Ce sont les plants présentant ce genre de symptômes qui sont de très loin les plus nombreux.



Pour certains de ces plants, la croissance est totalement bloquée peu après le débourrement, ce qui fait qu'ils restent hauts de quelques dizaines de centimètres seulement, ce qui ne les empêche pas de fleurir.



Sans que le mode de comptabilisation que nous avons adopté n'ait permis d'être affirmatif sur ce point lors de l'analyse des résultats, l'impression conservée de ces observations sur le terrain est que bien souvent plusieurs plants contigus présentaient ce même symptôme.

Ces symptômes correspondent typiquement à ce qui est appelé « chute de greffe », bien que l'écusson en lui-même soit donc parfaitement soudé au porte-greffe.

Le deuxième type de symptômes rencontré, beaucoup moins fréquemment que le précédent, donne au plant un aspect très différent.

Dans ce cas en effet, la hauteur du plant reste également très limitée, mais la pousse issue de l'écusson donne très rapidement naissance à une multitude de ramifications, dont le diamètre reste très faible et qui portent des feuilles normalement vertes mais semblant nanifiées. Le volume global du plant s'inscrit alors dans une sphère, comme l'illustre la photographie ci-dessous, ce qui fait utiliser par certains pépiniéristes le terme de « pousse en chou fleur ».

Dans ce cas également, une légère pression exercée sur cette pousse conduit à son basculement au niveau du point d'insertion de la tige sur l'écusson qui, là encore, paraît tout à fait normalement soudé au porte-greffe.

Les plants atteints par ce type de symptôme étant très peu nombreux, ils nous semblent qu'ils soient effectivement dispersés sur les rangs comme le mentionnaient l'an dernier les pépiniéristes interrogés lors de l'enquête.



Ce deuxième symptôme correspond à ce qui peut être appelé la « rosette » au sens strict du terme.

12 Importance relative des deux types de symptômes :

Dans les paragraphes ci-dessous nous appellerons donc « chute de greffe », notés CH, les symptômes correspondant au premier type de symptômes, et « rosette », notés Ro, ceux correspondant au second.

Les comptages présentés ci-dessous distinguent de ces symptômes les plants dont la greffe n'a pas repris (notés NR) sur lesquels l'écusson a été rejeté et dont l'écorce s'est cicatrisée au niveau du point de greffe.

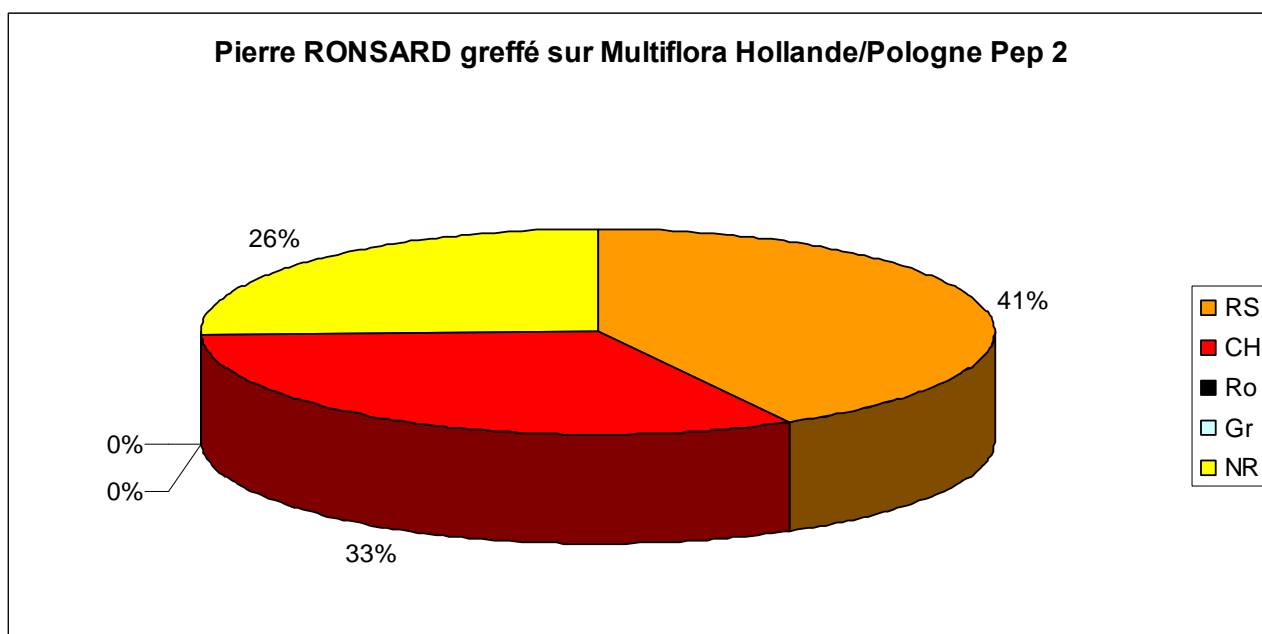
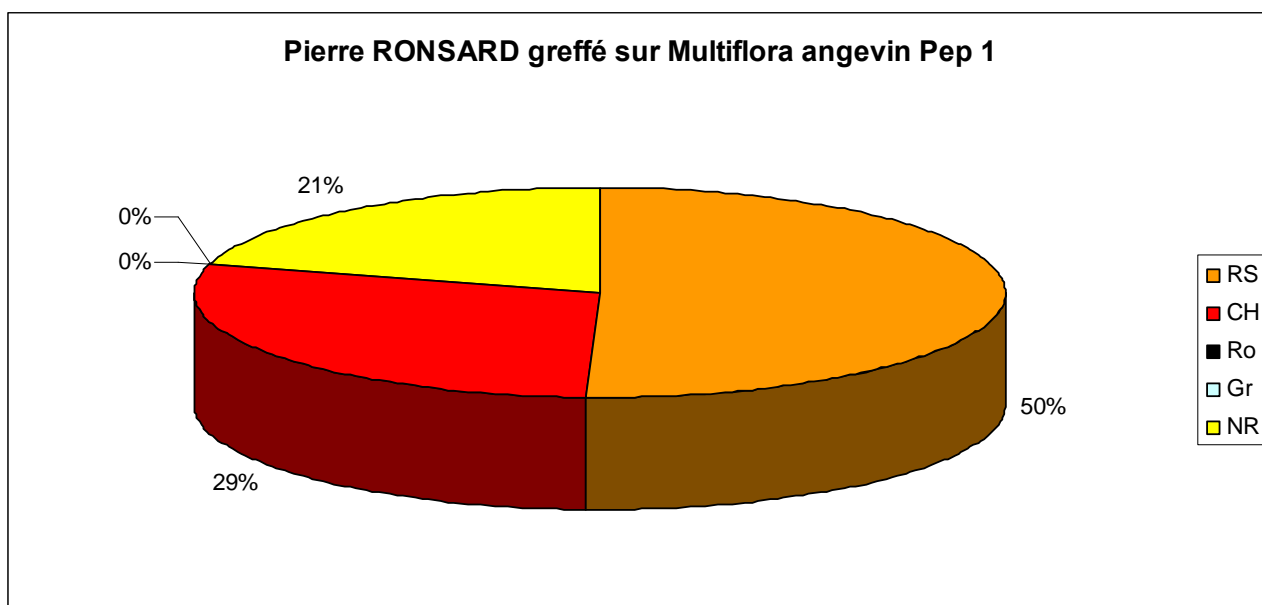
Sur Doué la Fontaine, un orage de grêle a fortement endommagé les parcelles peu avant le comptage. De ce fait, de nombreux plants ont été comptabilisés comme grêlés (notés Gr), sans qu'il soit possible de distinguer si, sans cet accident, ils auraient été sains (notés RS) ou atteints de chute ou de rosette.

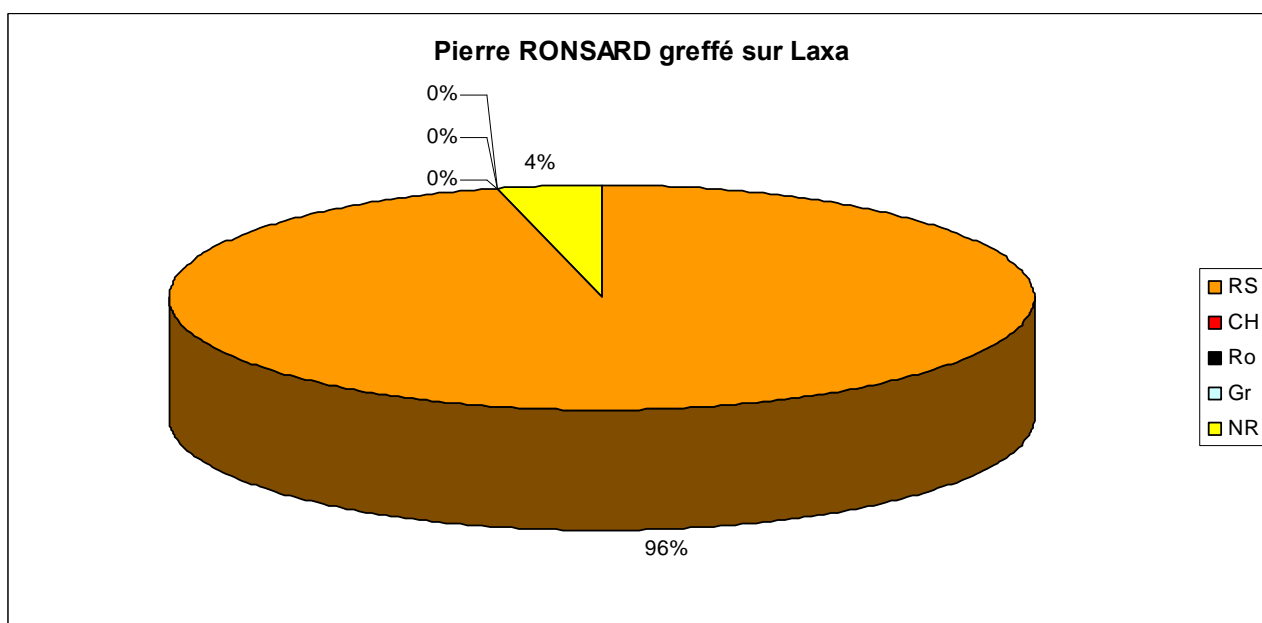
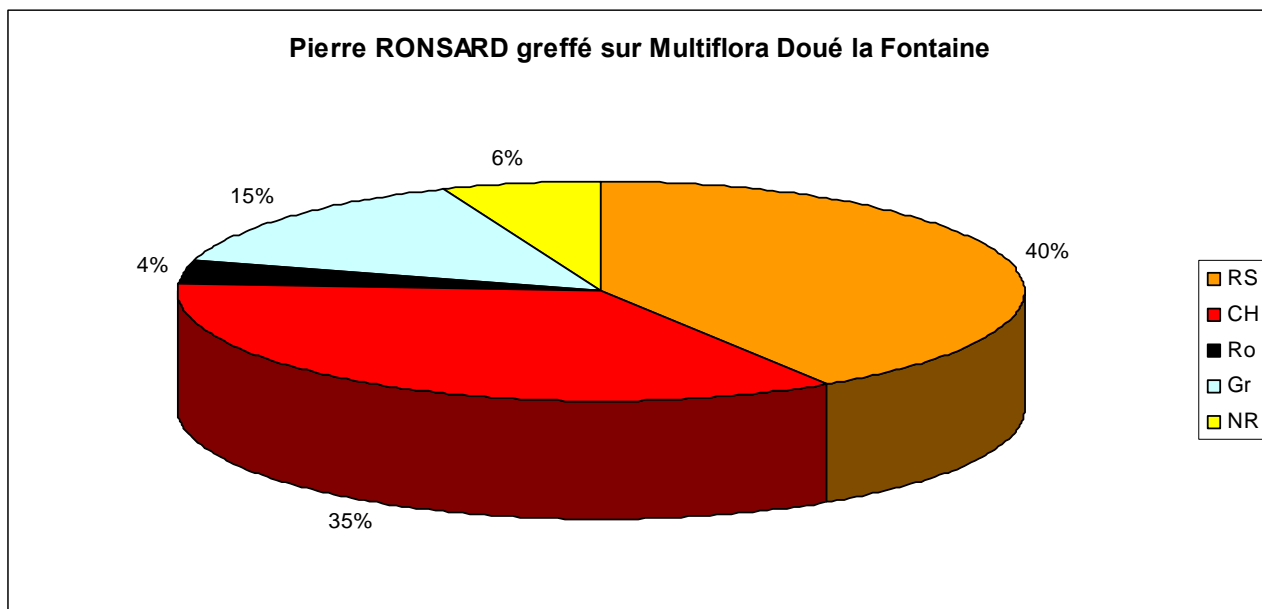
Afin de vérifier les résultats de l'enquête conduite en 2007, ces comptages ont porté :

- Sur quelques variétés traditionnelles cultivées dans l'ensemble des bassins de production : Pierre RONSARD et Queen Elisabeth,
- Sur quelques variétés plus locales ou plus spécifiques à un producteur : Prestige de Bellegarde, Ingrid Bergman et Black Baccara,
- Sur les deux principaux porte-greffe : *Rosa multiflora* et *Rosa corymbifera* 'Laxa',
- Sur trois zones de production : Bellegarde (45), Doué la Fontaine (49) et région lyonnaise (38).

121 Variété Pierre RONSARD

Les quatre graphiques ci-dessous illustrent les comptages réalisés sur cette variété dans les 3 zones de production.





Les 3 premiers graphiques illustrent le cas de la variété Pierre RONSARD greffée sur *Rosa multiflora* de différentes origines. Même si les chiffres ne sont pas rigoureusement identiques d'une pépinière à l'autre, ils sont assez voisins avec 40 à 50 % de plants sains, 30 à 35 % de chute et 0 à 5 % de rosette.

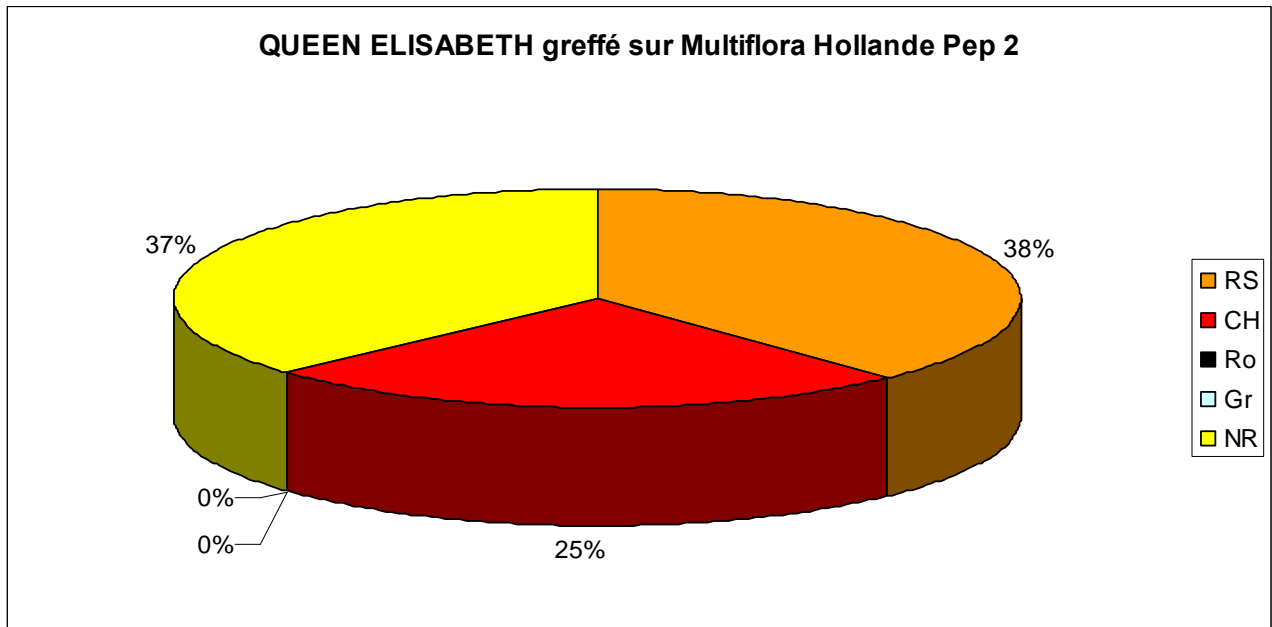
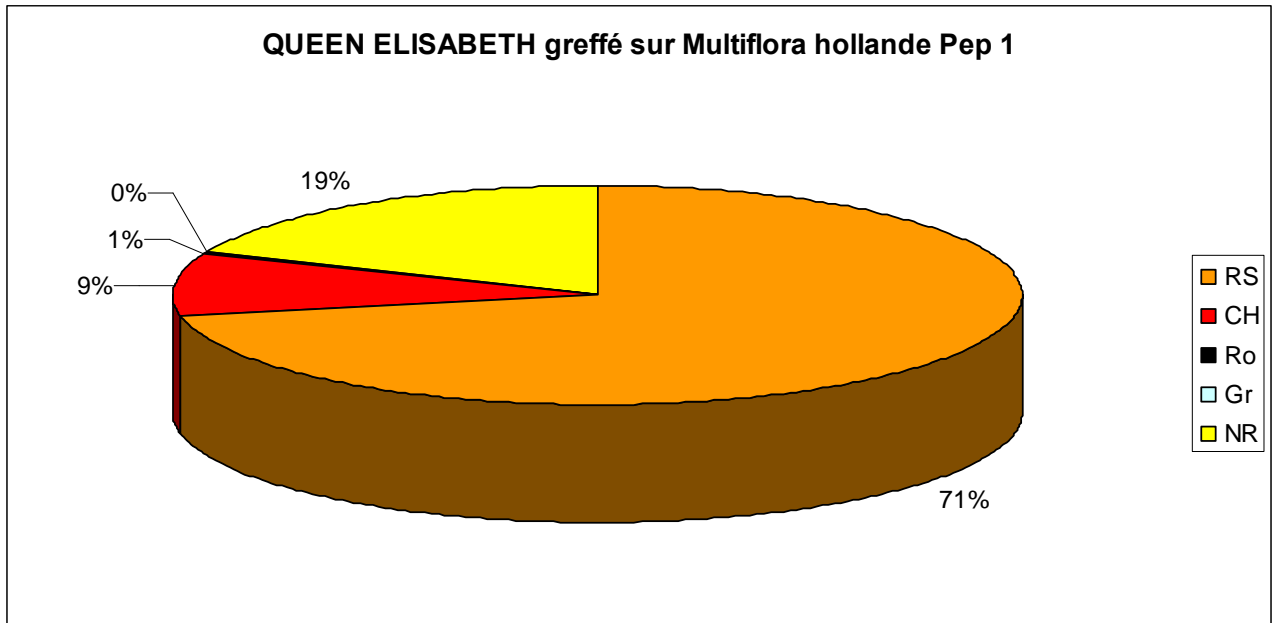
Greffée sur *Rosa corymbosa* 'Laxa', la variété se comporte tout autrement avec plus de 95 % de plants sains, et aucune chute ni rosette.

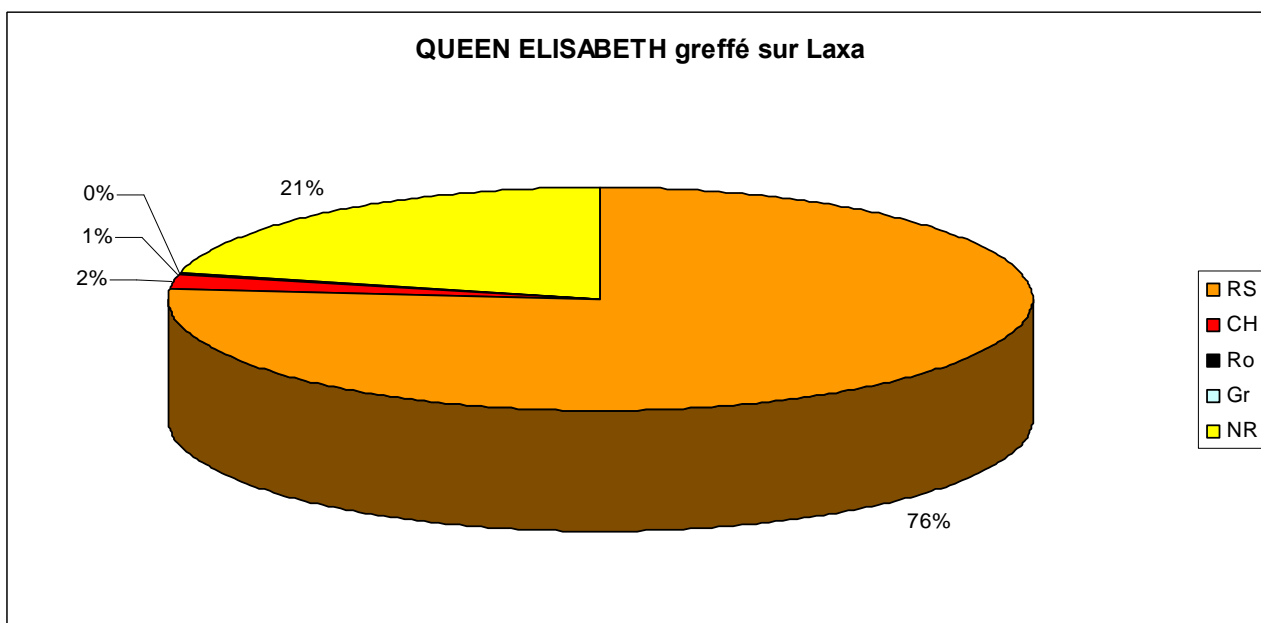
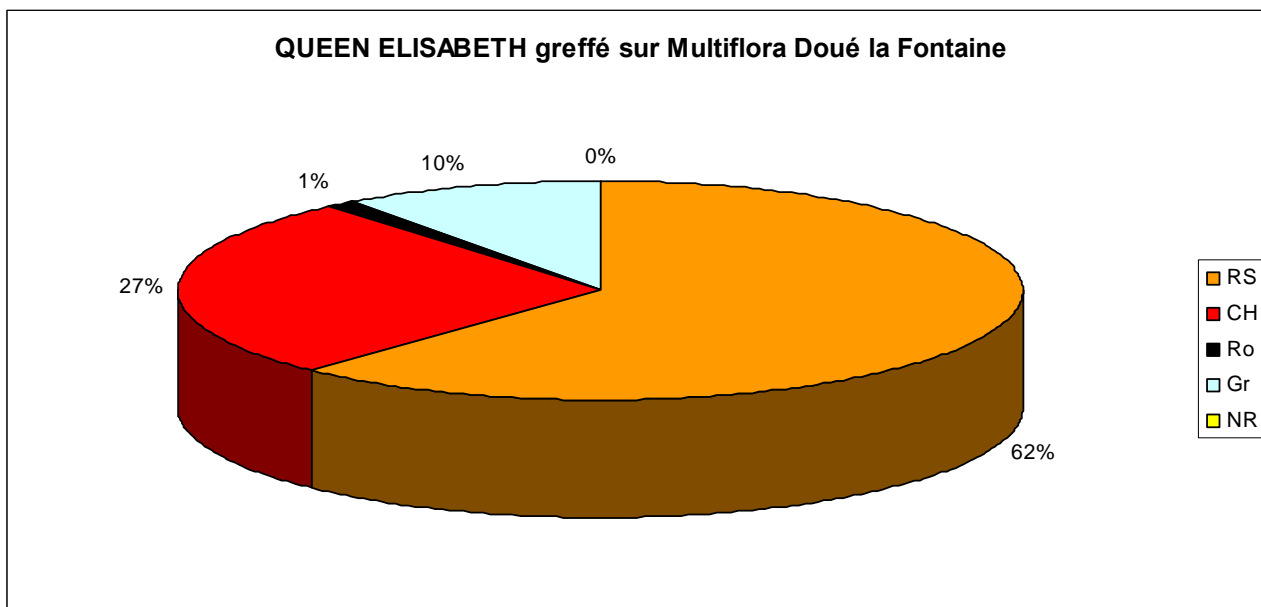
Il ressort donc des observations faites sur cette première variété :

- la confirmation que le problème semble bien plus important sur *Rosa multiflora* que sur 'Laxa', avec tout de même le biais que les deux porte-greffe ne sont pas utilisés dans la même région : *multiflora* dans le Val de Loire et 'Laxa' en région lyonnaise.
- et la mise en évidence que le problème de la chute est bien plus important que celui de la rosette.

122 Variété QUEEN ELISABETH :

De la même façon, les quatre graphiques ci-dessous illustrent les comptages réalisés sur cette variété dans les 3 zones de production.





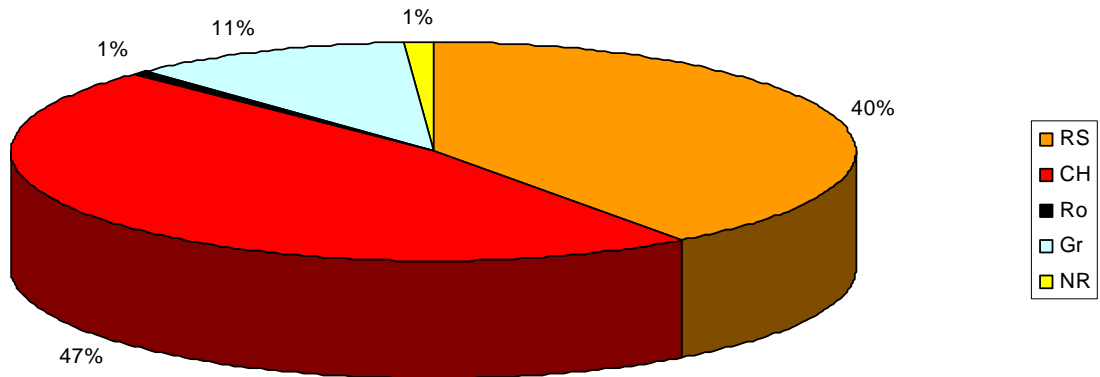
L'observation de ces graphiques montre :

- une situation plus hétérogène d'une parcelle à l'autre, mais globalement meilleure qu'avec la variété précédente, avec les greffages effectués sur *Rosa multiflora* pour lequel le pourcentage de plants sains varie de 38 à 71 %,
- l'existence possible du problème de chute, et même de celui de la rosette, sur *Rosa corymbosa* 'Laxa', même si c'est à un degré bien moindre que sur *Rosa multiflora*.

123 Variété Ingrid BERGMAN

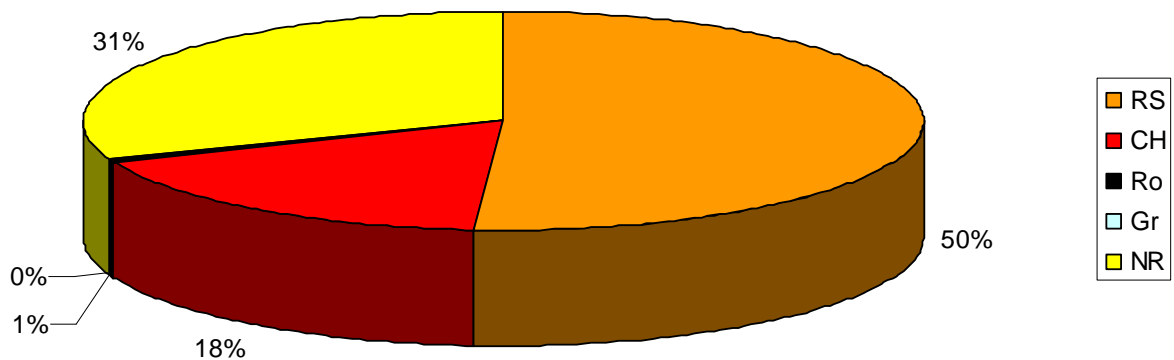
L'unique comptage réalisé sur cette variété, dans la région de Doué la Fontaine, confirme la très grande sensibilité au problème de chute de certaines variétés greffées sur *Rosa multiflora*, puisque ce sont ici près de la moitié des plants qui sont atteints.

Ingrid BERGMAN greffé sur Multiflora Doué la Fontaine



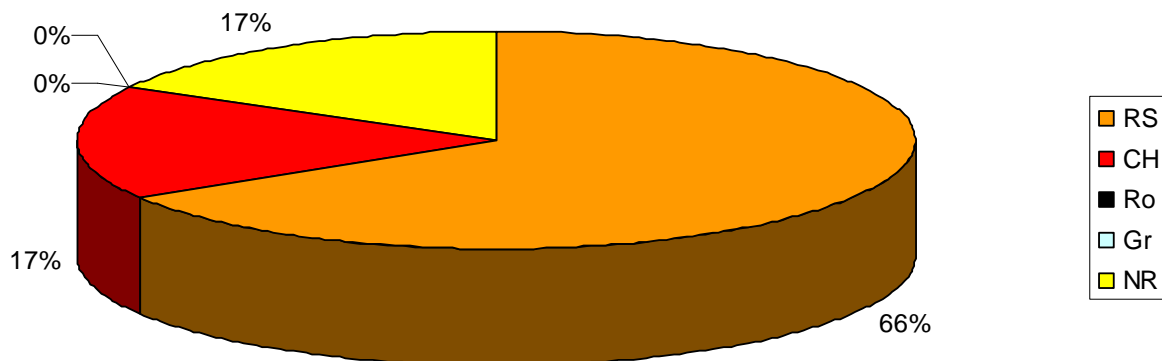
124 Variété PRESTIGE de BELLEGARDE

PRESTIGE de BELLEGARDE sur Multiflora Hollande Pep 1



Les observations faites sur la variété Prestige de Bellegarde confirment quant à elles que toutes les variétés ne sont pas aussi sensibles mais que le problème de la chute de greffe est bien le problème majeur.

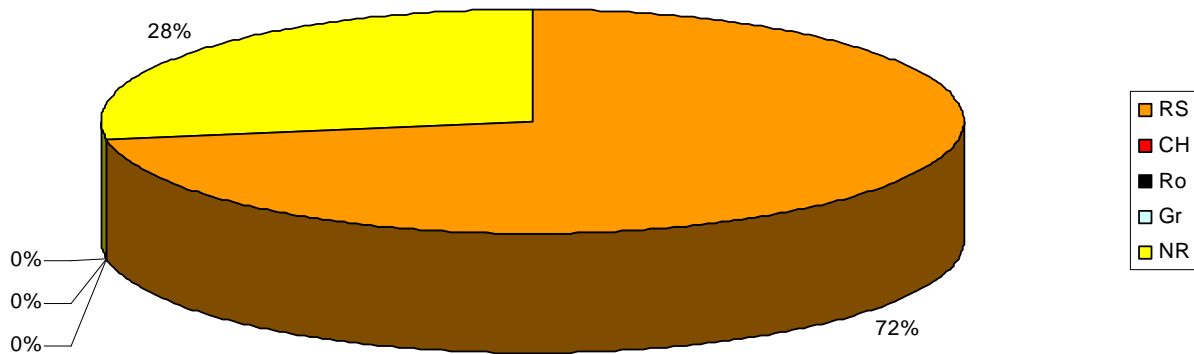
PRESTIGE de BELLEGARDE sur Multiflora Hollande Pep 2



125 Variété BLACK BACCARA :

L'unique observation faite sur cette variété semble confirmer que le problème de chute est bien moindre sur *Rosa corymbosa* 'Laxa' que sur *Rosa multiflora*, mais avec cependant toujours le même biais d'un porte-greffe utilisé en région lyonnaise sous des conditions pédo-climatiques probablement bien différentes de celles du Val de Loire.

BLACK BACCARA greffé sur Laxa



126 Conclusions partielles :

Il ressort donc de l'ensemble de ces comptages que c'est le problème défini comme « chute de greffe » qui est de plus loin le plus grave, l'apparition de « rosettes » étant toujours très limitée. Le problème est par ailleurs effectivement beaucoup plus présent en Val de Loire qu'en région lyonnaise.

2 Expérimentation in situ : Essai de reproduction des symptômes en conteneurs

La difficulté de juger de l'effet du porte-greffe, ou indirectement de sa vigueur, sur l'ampleur du phénomène, vient du fait que les deux principaux porte-greffe utilisés ne le sont pas dans les mêmes régions : *Rosa multiflora* dans le Val de Loire et *Rosa corymbifera* 'Laxa' en région lyonnaise.

Il est également difficile de juger de l'effet d'un excès de vigueur au champ, dans la mesure où cette vigueur est liée en partie à bien des paramètres agronomiques (nature du sol et fertilité, conditions climatiques, gestion de l'arrosage), qui ne peuvent être comparées entre deux parcelles différentes, *a fortiori* entre deux régions différentes.

C'est pourquoi avons voulu mettre en place, pour tester l'hypothèse d'une différence de sensibilité entre les deux porte-greffe et d'un aggravement du phénomène sur les plants très vigoureux, un essai en pots portant sur :

- ◆ le rempotage de plants greffés au champ durant l'été 2007 avec les deux porte-greffe et 2 variétés, une variété classique du domaine public et une variété protégée récente,
- ◆ la mise en place deux modalités de culture devant favoriser l'expression de 2 niveaux de vigueur différents des plants.

21 Matériel végétal :

Plants de rosiers issus de culture de pleine-terre, greffés dans le courant de l'été 2007 et arrachés pour l'occasion œil dormant en janvier 2008.

Deux variétés ont été utilisées, greffées chacune sur les 2 porte-greffe :

- 01 - 'Grand Huit' greffé sur *Rosa corymbifera* 'Laxa'
- 02 - 'Grand Huit' greffé sur *Rosa multiflora* 'Inermis'
- 03 - 'Broceliande' greffé sur *Rosa corymbifera* 'Laxa'
- 04 - 'Broceliande' greffé sur *Rosa multiflora* 'Inermis'

22 Conduite de l'essai

221 Empotage :

Le rempotage a eu lieu semaine 10 dès réception des plants, en conteneurs de 3 litres hauts « spécial rosiers », dans le substrat Klasmann 'SP fibreux Conteneur moyen'. Au rempotage est incorporé de l'engrais enrobé selon les deux modalités présentées ci-dessous.

Les conteneurs ont été mis en place sous multichapelle à touche/touche mais avec les blocs et les répétitions déjà constitués.

222 Distançage :

Le distançage des pots est intervenu après apparition des premières feuilles, soit en semaine 16 sous la multichapelle.

223 Fertilisation :

L'objectif de l'essai étant de comparer l'effet de deux niveaux de vigueur sur l'apparition du phénomène, deux niveaux de fertilisation ont été comparés :

- Modalité 01 : incorporation lors du repotage de l'Osmocote 5-6 mois 10-11-18 à raison de 3,5 kg/m³. Cette dose classique en production de conteneurs est considérée comme devant conférer aux plants une vigueur supérieure à celles qu'ils ont habituellement en plein champ.
- Modalité 02 : incorporation au repotage de l'Osmocote 5-6 mois 10-11-18 à la dose réduite de 1,5 kg/m³ destinée à réduire la vigueur des plants et à se rapprocher des conditions de culture de plein champ.

224 Arrosage :

Comme pour la fertilisation, l'objectif de l'essai étant de comparer l'effet de deux niveaux de vigueur sur l'apparition du phénomène, deux niveaux d'irrigation ont été comparés en combinaison avec la fertilisation.

Ainsi, les plants ayant reçu 3,5 Kg d'Osmocote et devant être cultivés en conditions confortables, ont reçu une irrigation régulière (16 arrosages au total).

Les plants n'ayant reçu qu'1,5 Kg d'Osmocote au contraire, et devant être cultivés en conditions stressantes, n'ont reçu qu'une irrigation limitée, soit 10 arrosages au total.

225 Pincements

Un pincement a été pratiqué en semaine 21.

226 Protection phytosanitaire :

S15 – Dithane à 200g/hl

S17 – Dithane à 200g/hl

S19 – Confidor à 50g/hl

23 Résultats

231 Chute de greffe :

Deux tests de chute ont été pratiqués sur les plantes en semaine 16 et 19. Les tests consistaient à faire bouger les greffes débouffées très légèrement avec la main, afin de voir si le greffon restait bien collé.

Le phénomène de chute de greffe n'a été observé que chez la variété 'Broceliande' greffée sur *Rosa corymbifera* 'Laxa'. Sur l'ensemble des plantes des trois répétitions, nous n'avons toutefois dénombré que deux greffons chutés dans le témoin 01 (sans stress) et qu'un seul greffon chuté dans la modalité 02 (stress hydrique et azoté).

232 Vérification de l'influence de l'irrigation et de la fertilisation sur la vigueur appréciée par le poids frais des plants

En fin d'essai nous avons mesuré le poids frais des plantes au dessus du point de greffe. Le tableau ci-dessous présente les résultats de ces pesées.

Variétés	Modalité	Moyenne	Ecart-type
Grand Huit sur Laxa	Témoin sans stress	11,9	1,6
Grand Huit sur Laxa	Stress hydrique et azoté	9,1	1,7
Grand Huit sur Multiflora	Témoin sans stress	5,6	2,1
Grand Huit sur Multiflora	Stress hydrique et azoté	8,9	3,2
Brocéliande sur Laxa	Témoin sans stress	10,2	1,5
Brocéliande sur Laxa	Stress hydrique et azoté	9,8	2,1
Brocéliande sur Multiflora	Témoin sans stress	4,6	1,8
Brocéliande sur Multiflora	Stress hydrique et azoté	4,7	2,3

Seule la différence entre les modalités observée pour la variété ‘Grand Huit’ greffé sur *Rosacorymbifera* ‘Laxa’ est statistiquement significative.

Les deux combinaisons fertilisation x irrigation adoptées dans cet essai n’ont donc pas permis, dans la majorité des cas, d’obtenir la différence de vigueur dont nous avons besoin pour tester notre hypothèse.

24 Conclusions :

Dans les conditions de l’essai réalisé sur la station du CDHR Centre, les conditions de stress appliqués à la culture en situation hors sol par une réduction de la dose d’engrais à libération progressive et une limitation du nombre d’arrosages n’ont pas engendré de différence de vigueur significative entre les plants, et n’a donc pas permis de tester l’hypothèse d’une corrélation entre vigueur et intensité du phénomène de chute de greffe.

3 : Recherche de virus dans les tissus végétaux :

31 Objectifs

L’objectif des études qui ont été entreprises en 2008 dans ce programme a consisté à évaluer l’état sanitaire de matériel végétal issu de porte-greffe et de variétés de rosier de jardin vis-à-vis de la présence de virus.

De nombreuses études ayant précédemment souligné la difficulté de détecter des virus directement à partir de matériel prélevé sur des rosiers, ou des arbres fruitiers en général (tissu souvent âgé et lignifié), il apparaissait plus judicieux de travailler sur du matériel végétal jeune et en pleine croissance. Pour cela des bourgeons prélevés soit sur des porte-greffe soit sur des variétés ont été introduits *in vitro* afin de provoquer un démarrage végétatif rapide. Le matériel végétal en croissance ainsi obtenu a ensuite été multiplié puis a été testé par les méthodes enzymatiques et/ou moléculaires pour rechercher la présence de virus.

32 Matériel végétal

Des bourgeons ont été prélevés sur des porte-greffe et des variétés au printemps 2008 dans plusieurs entreprises des régions Centre, Languedoc-Roussillon et Rhône-Alpes. Concernant les

variétés, les prélèvements ont été effectués à la fois sur des rosiers dont la partie aérienne présentait les symptômes de chute décrits ci-dessus, appelés « chute » par la suite, et sur des rosiers d'apparence saine (appelés « sain »). Ce matériel végétal prélevé en pépinière a été transféré à l'URIH par Chronopost, après emballage soigneux dans du papier essuie-tout humide et un sachet plastique.

L'équipe ITH de l'URIH (INRA Antibes) s'est chargé de réaliser dans son laboratoire l'introduction *in vitro* de ce matériel : environ 300 à 350 vitro-plants ont été obtenus à partir de bourgeons préalablement désinfectés, et leur culture a été suivie en salle climatique pendant 4 semaines. Deux cent quarante six vitro-plants issus de culture de porte-greffes et de variétés de rosier ont été transférés dans l'Unité de Pathologie végétale d'Avignon pour analyse (cf. tableaux ci-dessous). Les autres plants ont été maintenus à Antibes pour être conservés. Ils pourront être utilisés par la suite comme contrôle.

Matériel végétal mis en culture

Porte greffe	Localisation	Nombre de bourgeon mis en culture	Nombre de vitro-plants transférés à Avignon
Multiflora	Orléans	10	24
Laxa	Orléans	10	23
Pfander	Nîmes	10	24
		30 (total)	71 (total)

Variété	Localisation	Nombre de bourgeon mis en culture	Nombre de vitro-plants transférés à Avignon
Pierre Ronsard	Orléans Bellegarde	24	66
Pierre Ronsard	Doué la Fontaine	10	48
Pierre Ronsard	Lyon	10	23
Pierre Ronsard	Nîmes	20	23
Queen Elizabeth	Orléans	20	15
		84 (total)	175 (total)

33 Analyses pratiquées :

La présence des 5 principaux virus rencontrés chez le rosier a été recherchée chez tous les vitro-plants par des analyses sérologiques en DAS-ELISA. Cette recherche a concerné trois virus appartenant au genre *Ilarvirus* dont le mode de transmission naturel fait intervenir le pollen : le *Prunus necrotic ringspot virus* (PNRSV) qui est le virus le plus fréquemment retrouvé sur le rosier, le *Tobacco streak virus* (TSV) et l'*Apple mosaic virus* (ApMV). Deux virus appartenant au genre *Nepovirus*, dont la transmission est assurée par des nématodes, ont également été recherchés : le *Strawberry latent ringspotvirus* (SLRSV) et l'*Arabidopsis mosaic virus* (ArMV).

Au préalable, nous avons analysé des vitro-plants de pêcher sensible (GF-305) positifs vis-à-vis du PNRSV, maintenus en chambre climatique à l'URIH de l'INRA d'Antibes depuis plusieurs années, afin de contrôler notre protocole expérimental. Ainsi, nous avons pu adapter les quantités de matériel végétal à analyser, le choix des solutions de broyage, les dilutions d'emploi de sérums...

Une vingtaine de vitro-plants régénérés à partir de bourgeons prélevés sur des rosiers « chute » ont également fait l'objet d'analyses moléculaires. La présence du SLRV et de l'ArMV a été recherchée en utilisant des réactifs polyvalents vis-à-vis des népovirus. Le TSV a également été spécifiquement recherché à partir des mêmes vitro-plants.

34 Résultats

Aucun des 5 virus n'a été détecté sur la totalité des vitro-plants analysés.

Les analyses moléculaires n'ont pas permis de mettre en évidence les virus ciblés : le SLRSV, l'ArMV et le TSV.

Des analyses moléculaires complémentaires sont en cours à partir de ces mêmes échantillons pour rechercher la présence du PNRSV. Les phytoplasmes, bactéries intra-phloémiques pouvant être responsables de prolifération foliaire de type « rosette », sont également recherchés.

35 Perspectives

Compte tenu des résultats de tests obtenus en première année et des décisions prises lors du comité de pilotage du projet en septembre 2008, l'objectif de travail pour 2009 sera d'orienter les recherches sur la détection d'une contamination par de nouveaux virus caractérisés très récemment (2008) ou par des phytoplasmes.

Par rapport à 2008, le travail se focalisera sur des plants présentant des symptômes dont l'expression s'approche d'une pathologie virale ou « virus-like ». La présence de symptômes de « rosette » a été signalée sur des plants greffés chez deux pépiniéristes. Chez un pépiniériste du Sud de la France, des symptômes atypiques ont également été observés sur porte-greffes et variétés greffées. Des prélèvements seront effectués chez ces pépiniéristes pour évaluer l'état sanitaire du matériel. L'analyse de ce matériel sera entreprise de 3 façons :

- Indexage biologiques par greffage sur 2 plantes hôtes sensibles : pêcher GF-305 et rosier '*Rosa indica*.'
- Analyses sérologiques des plants greffés : les 5 virus rencontrés fréquemment chez le rosier et déjà testés en année 2008 seront de nouveau recherchés,
- Analyses moléculaires directement à partir du matériel prélevé et à partir des plants greffés sur les 2 hôtes sensibles : tests de détection vis-à-vis du *Rose cryptic virus* (RCV), du *Rose spring dwarf associated virus* (RSDaV) et de phytoplasmes.

4 Présentation du système de certification mis en place en pépinière fruitière :

Si l'origine virale du phénomène se confirme, ce qui est très probable, il est évident que l'influence de la vigueur ne sera que secondaire (plus le plant est vigoureux, plus le bras de levier que constitue la nouvelle pousse est long, et donc plus les risques de casse sous l'effet du moindre choc sont élevés). Réduire la vigueur des plants ne servira donc qu'à limiter les risques d'apparition des symptômes, mais ne résoudra en rien le problème.

Il semble donc intéressant de présenter dès à présent aux professionnels le dispositif de certification mis en place pour les variétés fruitières, qui porte notamment sur le contrôle de l'état sanitaire des plants sur

lesquels sont prélevés les greffons, et qui pourrait leur servir de modèle s'ils souhaitaient s'engager dans ce type de démarche à la suite de cette étude.

En effet, depuis plus de 50 ans, les pépiniéristes fruitiers se sont engagés dans une démarche qualité leur permettant de garantir à leurs clients arboriculteurs la mise à disposition de matériel fruitier (semences, porte-greffe, greffons et plants greffés) dont l'authenticité variétale et l'état sanitaire vis-à-vis des maladies de type viral liés à des organismes de quarantaine (Sharka, Feu bactérien , ...), mais aussi des organismes de qualité, soit rigoureusement vérifiés. Cette démarche volontaire de la part des pépiniéristes est connue sous le nom de Certification fruitière française.

Ainsi, pour un arboriculteur, utiliser des plants certifiés « Virus free », c'est avoir la garantie de :

- l'authenticité variétale et la conformité des plants à la description de la variété figurant au catalogue officiel des variétés fruitières,
- l'absence des maladies de dégénérescence prises en compte par la Certification, qu'elles soient dues à des virus, des viroïdes ou des phytoplasmes,
- la conformité aux réglementations européennes relatives aux contrôles phytosanitaires.

Pour cela, un système d'encadrement de la production des plants certifiés a été mis en place, dont les acteurs sont :

- les pépiniéristes eux-mêmes qui, au travers d'une démarche volontaire, adhèrent au dispositif et financent les contrôles,
- le Ministère de l'Agriculture qui est responsable au niveau national de l'application des directives phytosanitaires européennes,
- le CTIFL qui, sous l'autorité du Ministère de l'Agriculture, assure la conservation des variétés certifiées après vérification, voire restauration, de l'état sanitaire du plant initial, et réalise les contrôles en pépinière tant sur le plan pomologique que sur le plan sanitaire (par délégation du Service de la Protection des Végétaux),
- l'INRA qui réalise les examens nécessaires à l'inscription des nouvelles variétés au catalogue officiel,
- le CTPS qui, via la CPC, met en œuvre le dispositif de la certification. Il réunit deux fois par an les différents acteurs ci-dessus, auxquels sont associés des représentants des arboriculteurs fruitiers, pour suivre le bon fonctionnement du dispositif.

La production de plants certifiés suit donc un cheminement rigoureusement jalonné basé sur le suivi permanent de la filiation des plants produits :

- Lorsqu'un éditeur souhaite certifier une variété, il identifie dans ses cultures un « plant candidat » dont l'identité variétale est conforme à la description qui en a été faite dans le Catalogue officiel. L'état sanitaire de ce plant est alors vérifié au travers d'un bilan sanitaire complet qui permet de repérer la présence de tous les agents pathogènes pris en compte par le dispositif de la certification. En cas d'infection de type viral, le matériel végétal subit alors une thérapie pour donner naissance à un plant sain.
- Ce plant candidat reconnu sain est alors repéré officiellement par le CTIFL et devient le « plant initial » de la variété. Il est soumis à des contrôles pomologiques et sanitaires réguliers. Le plant initial est le véritable point de départ du processus de certification et sa conservation est assurée par le CTIFL.
- A partir de ce plant initial, sont produits des « plants de propagation » qui sont cultivés en conteneurs sous abri anti-insectes pour les maintenir hors de portée des contaminations virales assurées par des insectes. Parallèlement, des vergers de référence sont mis en place qui permettent le contrôle de l'authenticité variétale : sous abri anti-insectes en effet, la morphologie des plants peut être légèrement modifiée par rapport à ce qu'elle est en extérieur. Les plants de propagation produisent par ailleurs les « greffons initiaux » à partir desquels sont produits les plants nécessaires à l'installation des « parcelles de propagation ».
- Les parcelles de propagation sont donc les vergers donneurs de semences, de boutures ou de greffons, ainsi que les marcottières, sur lesquels les pépiniéristes prélèvent le matériel végétal

dont ils ont besoin pour produire les porte-greffe certifiés d'une part et les scions certifiés d'autre part. Ces parcelles sont contrôlées chaque année sur les plans sanitaire et pomologique.

- Les « plants certifiés » enfin sont issus de la combinaison d'un porte-greffe certifié et d'un greffon prélevé sur un verger donneur de greffon « parcelle de propagation ». Ainsi, la production de plants greffés certifiés fait l'objet de contrôles visuels réguliers à tous les stades de développement du matériel végétal utilisé : contrôles des parcelles de porte-greffe avant leur arrachage, contrôles des vergers donneurs de greffons, contrôles des parcelles de pépinière portant sur la morphologie, l'authenticité variétale, l'homogénéité et l'état sanitaires des plants. En cas de doute lors des contrôles visuels, des prélèvements peuvent être faits pour analyse. Les plants agréés à l'issue de ces contrôles sont enfin étiquetés individuellement à l'ide d'une étiquette indiquant le nom de la variété et du porte-greffe, mais portant aussi le logo du CTIFL et du Service de la Protection des Végétaux puisqu'elle sert également de passeport phytosanitaire européen.
- Il est à noter enfin que l'implantation des parcelles de propagation, comme des parcelles de pépinière, doivent faire l'objet d'une déclaration préalable auprès du Service Régional de la Protection des Végétaux dont relève le pépiniériste, en vue de leur agrément. Ces parcelles doivent notamment respecter des règles d'isolement vis-à-vis des foyers connus d'organismes de quarantaine.

5 Conclusions :

Il ressort de l'ensemble des observations faites sur le terrain que les pépiniéristes semblent en fait confrontés à deux problèmes différents. L'un d'eux, de loin le plus fréquent, se traduit par une croissance ralentie, une couleur des feuilles souvent anormale, orangée, et la chute de la pousse issue du greffon. Nous l'appelons chute de greffe. Le second problème, beaucoup plus rare, donne au plant un aspect très particulier du fait de la ramification anormale de la pousse et de la nanification du feuillage, qui peut également s'accompagner de la chute de la pousse. Nous l'appelons rosette.

Les comptages réalisés confirment par ailleurs des différences de sensibilité entre les variétés, mais montrent surtout une grande différence de comportement entre les plants cultivés en Val de Loire sur *Rosa multiflora* et ceux cultivés en région lyonnaise sur *Rosa corymbifera* 'Laxa'. En l'état actuel de nos observations, il n'est donc pas possible de savoir si cette différence est liée à la nature du porte-greffe ou aux conditions climatiques différentes sous lesquelles sont cultivés les plants.

L'essai conduit au CDHR Centre Val de Loire sur la vigueur des plants, qui aurait pu nous renseigner également sur ce point, n'a pas permis de mettre en évidence de différence entre modalités.

De la même façon, les analyses réalisées sur le matériel végétal prélevé en pépinière n'ont pas permis d'isoler les virus recherchés cette année.

Nous proposons donc pour 2009 de poursuivre le travail sur le terrain en essayant de trouver un producteur chez qui *Rosa multiflora* et *Rosa corymbifera* 'Laxa' seraient cultivés côte à côte, pour affiner nos observations entre les 2 porte-greffe cultivés sous le même climat, et de reprendre les analyses avec d'autres méthodes qui soient moins ciblées que celles utilisées en 2008 et permettent également de détecter la présence de phytoplasmes.

IV. EVALUATION (Comité de pilotage, bilan à chaque étape ...)

Le Comité de Pilotage s'est réuni en septembre 2007 de façon à analyser les réponses au questionnaire de l'enquête menée chez les producteurs et à définir les actions à mettre en place en 2008.

Il s'est réuni une nouvelle fois en septembre 2008 façon à interpréter les résultats présentés ci-dessus et à proposer les possibilités d'action pour 2009.

V. REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Dosba F, Lansac M, Germain E, Mazy K, Rovira M, 1990, Le virus du Cherry Leaf Roll (CLRV) : relation avec le dépérissement du noyer et comportement de différentes espèces ou hybrides interspécifiques de *Juglans*, Fruits, 45, 171-175.

Gur A, Samish R.M, Lifshitz E, 1968, The role of the cyanogenic glycoside of the Quince in the incompatibility between pear cultivars and quince rootstocks, Horticultural Research, 8, 113-134.

ENTAV, 2005, Dépérissement de la Syrah : impact du porte-greffe et du clone, Site ENTAV, 5p.

Herrero J, 1951, Studies of compatible and incompatible graft combinations with special reference to hardy fruit trees, Journal of Horticultural Science, 26, 186-237.

Le C.L, Abdelhamid S, 2004, Microgreffage *in vitro* du châtaignier, premiers résultats, Revue suisse Vitic. Arboric. Hortic. Vol 36(2), 87-92.

Lemoine J, Michelesi J.C, 1989, Incidence de quelques maladies de dégénérescence sur l'incompatibilité d'hétéogreffes poirier/cognassier, L'Arboriculture fruitière, 324, 41-42,

Lemoine M.C, 2004 : pratique du mini-greffage sur plants fruitiers, Communication personnelle.

Mosse B, 1962, Graftincompatibility in fruit trees, Technical communication n° 28, Commonwealth Agricultural Bureaux, England, 36p.

Poessel J.L, Faurobert M, Ermel-Fontaine F, 2000, Les incompatibilités de greffe chez les arbres fruitiers, Multiplication végétative des ligneux forestiers, fruitiers et ornementaux, Troisième rencontre du groupe de la Sainte Catherine, 112-123.

Treutter D, Feucht W, 1988, Accumulation of the flavonoid prunin in *Prunus avium* / *Prunus cerasus* grafts and its possible involvement in the process on incompatibility, Acta Horticulturae, 227, 74-74.