



ASTREDHOR
44 rue d'Alésia
75 682 Paris cedex 14

***Programme National 2011
Etude épidémiologique de la rouille blanche (*Puccinia horiana*) du chrysanthème****




STEP
BRETAGNE
Station de l'Institut technique de l'horticulture

**52, rue de St Ilan
22 360 LANGUEUX**


Vegenov
BBV

**Penn-ar-Prat
29 250 St Pol de Léon**


G.I.E
Fleurs & Plantes
du Sud-Ouest
Station de l'Institut technique de l'horticulture

**71, avenue Edouard Bourlaux
33 883 Villenave d'Ornon cedex**

*** L'application des méthodes, résultats et conclusions aux conditions de chaque exploitation horticole se fait sous l'entière responsabilité des entreprises**

SOMMAIRE

Page

SITUATION ACTUELLE DU SUJET DE RECHERCHE

I - ACTIONS COMMUNES GIEFPSO ET STEPP DANS LE CADRE DU PROGRAMME	4
1 Enquête chez les multiplicateurs : réalisation du questionnaire.....	4
2-Echantillons prélevés pour la détection de la rouille blanche.....	10
II - MISE AU POINT ET VALIDATION DE LA TECHNIQUE DE DETECTION MOLECULAIRE DE LA ROUILLE BLANCHE PAR LE LABORATOIRE VEGENOV	
1 Objectif.....	10
2 Phase du projet.....	10
3 Matériel utilisé dans le cadre de ce projet.....	11
4 Résultats.....	11
5 Conclusions.....	18
III - PERSPECTIVES DU PROGRAMME EN 2011	18

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

ANNEXES

La rouille blanche du chrysanthème, dont l'agent causal est *Puccinia horiana*, est une maladie d'incidence économique considérable pour les producteurs de jeunes plants et de plantes adultes. Ce pathogène fait actuellement l'objet de mesures de lutte officielle en Europe (directive 2000/29/CE).

A l'heure actuelle, les moyens de lutte se limitent à des mesures prophylactiques et à l'utilisation de produits phytosanitaires conventionnels.

Dans un contexte de réduction de l'usage de ces produits, d'autres stratégies de lutte, plus respectueuses de l'environnement, doivent être développées. Des produits alternatifs ont été évalués en conditions contrôlées et de production. De plus, un outil de détection moléculaire a été mis au point.

Ce projet résulte d'une collaboration entre le GIE Fleurs et Plantes du Sud Ouest, la STEPP Bretagne et le laboratoire Vegenov. Il a pour objectif d'identifier les sources d'infection et de développer des itinéraires techniques limitant l'installation de la maladie chez les producteurs de jeunes plants et de plantes finies.

SITUATION ACTUELLE DU SUJET DE RECHERCHE

Les stations STEPP Bretagne et GIE Fleurs et Plantes du Sud Ouest réalisent des travaux dans le cadre de ce programme national depuis 2007 pour identifier les sources de contamination. Les boutures s'avèrent être le vecteur principal pour un développement de la maladie dans les cultures. Un test biologique de détection a été développé avec notre partenaire Vegenov permettant d'identifier si les boutures sont porteuses de la maladie.

En 2010, un test de détection précoce par analyse PCR quantitative a été développé, en collaboration avec Dr Kurt Heungens du laboratoire "Eenheid Plant" du centre de recherche ILVO en Belgique.

Ces travaux doivent aboutir à la mise au point d'un test rapide de détection qui permettra aux producteurs de boutures comme aux producteurs de plantes d'élevage d'assainir les cultures et ainsi diminuer l'application de produits phytopharmaceutiques et améliorer la qualité sanitaire des plantes.

L'adaptation de ce test et son utilisation ensuite à grande échelle nécessite que soit vérifié sa sensibilité, sa fiabilité et sa pertinence vis-à-vis des différents pathotypes de rouille.

La lutte contre la rouille blanche est coûteuse et la perte des plantes peut être importante. Les retombées du projet aideront à :

- mieux positionner les traitements phytosanitaires dans les cultures de jeunes plants et de plantes finies pour avoir une meilleure efficacité de lutte contre la rouille blanche.
- identifier et diminuer les facteurs favorables à l'installation de la rouille blanche dans les cultures.
- Aboutir à éradiquer le pathogène en effectuant un diagnostic précoce de la maladie dans les serres de pieds mères (S0) des obtenteurs/multiplicateurs.

I- ACTIONS COMMUNES GIEFPSO ET STEPP DANS LE CADRE DU PROGRAMME

1-Enquête chez les multiplicateurs : réalisation du questionnaire (Annexe)

Après les enquêtes effectuées en 2007 et 2008 dans les entreprises de production (70 entreprises questionnées : voir **CR 2009**), Une nouvelle enquête est réalisée cette année chez les obtenteurs/multiplicateurs en France.

Le questionnaire présenté en **annexe 1** se focalisera principalement sur :

- La plante: son origine
 - Régénération in vitro/multiplication végétative
 - Les contrôles effectués/diagnostics (pathologie)
 - Sensibilité vis-à-vis de pathogènes
- La structure de production: Nuclear stock, S0, S1, S2.
- La culture: techniques culturales appropriées (l'arrosage, la fertilisation, la poterie, le substrat....)
- Les traitements phytosanitaires: Préventif/curatif
- La gestion du climat.
- L'environnement autour des systèmes de production.

Quatre entreprises ont répondu à notre enquête. Elles sont situées dans le sud et nord ouest de la France. Pour des raisons de confidentialité les noms des entreprises ne seront pas signalés dans ce Compte rendu et seront donc codés par **Ent .1 - Ent. 2 – Ent .3 et Ent .4**

Caractéristiques des entreprises et structures de production.

Les entreprises que nous avons questionnées sont implantées sur des zones, soit semi urbaines, soit rurales. Elles sont entourées par des prairies (élevages, bovins, lait, viande, chevaux) ou par des bosquets et des forêts. Elles se situent à plus de 100 m d'un cours d'eau ou d'un bassin. Par entreprise 5-8 million de cuttings et 6-9 million de boutures racinées sont produites par an. La superficie totale par entreprise varie entre 10 000 et 45000 m². Le nombre de sites de production est de 1 à 4 par structure de production. On compte entre 3-8 compartiments pour la multiplication des chrysanthèmes. Les pieds mères sont cultivés sous abris plastiques à double paroi (**Ent 1, 2, 3 ,4**) ou en serre verre sous chenaux (**Ent.1**) qui facilite aussi le prélèvement des boutures. Des plateformes en extérieur servent aux activités d'expérimentation et de démonstration (**Ent.1, 3, 4**).

La production de boutures

Une petite partie de la production de boutures est destinée aux producteurs de la fleur coupée (**Ent.1**). Ces boutures sont enracinées à l'étouffée pendant environ 9 jours et une période d'acclimatation se poursuit pendant 4-5 jours. Les boutures destinées à la production de plantes en pot sont racinées pendant environ 10-14 jours sans couverture avec un système micro aspersion (**Ent 1,2**) ou sous un film tissé P30 (**Ent.3, 4**). Les boutures non racinées (cuttings) sont prélevés et envoyés de préférence directement ou avec un faible délai aux clients/horticulteurs. 90% de la vente des boutures se réalise de début mai à début juillet.

Les pieds-mères pour la production de boutures sont repiqués en février/mars (**Ent 1, 2**), en juin (**Ent 3, 4**) dans des conteneurs de 3-4 L, avec 5-6 plants par pot, dans un substrat bien adaptée à la culture de chrysanthème provenant principalement des Tourbières de France (**Ent**

1, 2, 3, 4). Un pincement au début de la culture est effectué pour former la plante et dans certains cas l'entreprise utilise un taille-haie adapté (Ent 3, 4). La culture peut aller jusqu'à mi-août pour les derniers prélèvements. Pendant la période de production le nombre de boutures prélevées par pot varie entre 50 pour les variétés à grosses fleurs et 150 pour les variétés à multi fleurs (Ent. 1). En fin de production les pieds mères sont détruits et compostés sur l'entreprise (Ent 1, 3, 4) ou chez les agriculteurs voisins à plus de 5 km de l'entreprise (Ent .2).

La multiplication

Le choix du matériel initial se fait parmi les plants de chrysanthèmes dits 'candidats' sains et présentant les meilleures qualités agronomiques.

L'état sanitaire de toutes les plantes candidates doit être rigoureusement contrôlé. Ces contrôles nécessaires pour la bonne réussite du programme de sélection sanitaire sont effectués sur chaque plante et cultivées dans une zone protégée. Les plants de chrysanthèmes ayant satisfait aux contrôles peuvent entrer en tant que matériel initial (S00 ou S0)

Après régénération par culture *in vitro* (Ent.1) ou multiplication végétative (Ent 2, 3, 4) au laboratoire ou dans une zone contrôlée et désinfectée, la multiplication des variétés (PM) débute en année N-1 à partir de la S16-S18 (Ent.1), du mois de juin (Ent 3, 4) ou du mois d'août (Ent.2) dans une serre isolée (Nucléar stock). Un pincement de taille est effectué et ensuite des prélèvements successifs de boutures pour multiplier le nombre de pieds mères (serres S1, S2...). Avant et après sortie du laboratoire, des tests Elisa (Ent 1, 2, 3, 4) et PCR qualitatif (Ent 1) sont effectués pour la détection des virus et des bactéries. Sur une série de pieds-mères (après sortie du laboratoire) des évaluations de floraison naturelle sont effectuées fin octobre ainsi que d'autres caractéristiques esthétiques de la génétique. Avant la période d'hiver une 2^{ème} vérification phytosanitaire sert à s'assurer que les pieds-mères sont indemnes des maladies (Ent 1). La dernière série de pieds mère repiqués fin février année N sert à la production des boutures destinées aux horticulteurs pour les productions de la Toussaint.

Pour résumer, afin de disposer en fin de production d'un volume suffisant de matériel pour produire de la bouture, les plants de chrysanthèmes du S0 ou S00 sont multipliés végétativement un certain nombre de fois pour constituer la base de production pour les horticulteurs éleveurs (S1, S2 ...)

Les quatre établissements multiplicateurs utilisent ce procédé de sélection sanitaire.

Arrosage

L'eau qui permet l'arrosage des plants de chrysanthèmes provient d'un forage pour les 4 établissements enquêtés. Cette eau est stockée dans un bassin artificiel protégé (Ent 1, 2, 3, 4). Les pieds mères sont arrosés par un système de goutte à goutte et les boutures mises à raciner dans des plaques alvéolées sont arrosées par l'intermédiaire de système de micro-aspiration.

Les boutures nécessitent des arrosages très fréquents et rapprochés donc avec un déclenchement automatique selon une programmation fixe. Ex. Ent.1 : 3h00, 8h00, 9h00 ensuite tous les ¾ heures jusqu'à 10h45, à partir de midi toutes les 12 minutes jusqu'à 18h00, après ralenti fréquence. Dans certains cas, il y a des arrosages manuels qui sont effectués afin de rectifier des manques d'arrosage sur certaines zones de bouturage.

Pour les pieds-mères l'arrosage est en fonction de la turgescence des feuilles mais souvent, cet arrosage est de 1-2 fois par jour (matin et fin d'après midi) (Ent.1, 2).

En général, les fréquences d'arrosage sont préétablies par jour, mais peuvent différer en fonction des conditions climatiques du moment.

En début de culture des pieds mères, on procède à 1 arrosage par jour, en milieu de culture on passe à 2 arrosages par jour puis en fin de culture, la fréquence d'arrosage passe à 5 , mais il s'agit d'arrosage court, d'environ 1 minute. (Ent 3, 4)

Fertilisation

La fertilisation est effectuée pour les 4 entreprises avec de l'engrais soluble pendant tous les arrosages : équilibres utilisés 1-0,4-1,5 avec une EC de 2,7 ms/cm en hiver et de 3,2 ms/cm en été (Ent 1) ou toute l'année 14-14-25 à 1,5 g/l solution fille (Ent 2). Dans le substrat Tdf est mélangé 1,5 kg/m³ Osmocote Exact ¾ mois pour un bon démarrage des pieds-mères (Ent 1). Deux entreprises (Ent 3 et 4) mélangent deux engrais solubles en quantité égale (7/12/40 et 18/12/18). En début de culture on apporte 0.5 à 1 g/l puis en milieu de culture on passe à 1.5 g/l pour arriver en fin de culture à 2g/l (EC de 2.5 à 3ms/cm).

Gestion du Climat

La conduite de température se situe entre 18°C-20°C air/ 21-22°C ventilation, avec en générale un maintien d'humidité d'environ 70-75% HR maximum (Ent 1,2, 3 et 4). Les écran d'ombrage sont utilisées pour garder la turgescence dans les pieds-mères rendant le prélèvement des boutures plus efficace et aussi pour le confort des salariés (Ent 1,2).

Le blanchiment est effectué tous les ans avec des produits de type Eclipse

Traitements phytosanitaires

Les traitements phytosanitaires préventifs concernent principalement la lutte contre la rouille blanche. Le nombre de produits utilisés dans les itinéraires de traitements est assez différent.

Traitements préventifs :

Ent. 1

- Rouille : alternance toutes les semaines Systane, Alliage 3N (plus efficace selon études en Hollande), Ortiva, Mancozebe/Dithane.
- Thrips et pucerons avec PBI.

Ent.2

- Rouille : toute l'année en alternance Alliage et Ortiva. Occasionnellement : Systane, Baycor.

Ent 3

- Rouille : Dithane tous les 15 jours et Alliage et Ortiva tous les 2 mois Systane 1 fois par mois.
- Utilisation de biostimulants (Prevb2 et autres) durant toute la culture.
- Pythium : Prévicur sur boutures 2 jours après bouturage

Ent 4

- Rouille : Alliage et Ortiva tous les 2 mois et Dithane tous les 15 jours
- Pythium : Botryl 1 à 2 jours après le bouturage

Traitements curatifs

Ent 1

- Rouille : traitements tous les 2 jours même itinéraire de produits + enlèvement et destruction des plantes touchées et celles dans un périmètre de 1 mètre autour. Problème de rouille très rare. Contrôles Fredon tous les 2 semaines en période de production (mars – fin juillet) Problèmes de rouille jamais constaté par ce service
- Acariens : Floramid, Pucerons : Pirimor/Confidor/Flagship, Thrips : Lusty/Fuoro, Mineuses : Triad (2 traitements), Chenilles : Xantari (Bt)
- Régulièrement difficultés d'incompatibilité entre intrants chimiques et PBI, apports d'auxiliaires plus fréquemment à cause des traitements phytosanitaires (1).

Ent 2

- Rouille : traitement et destruction plantes touchées et celles dans un périmètre de 1 mètre autour. Puis traitements fréquents et alternés. Problème de rouille très rare. Contrôles Services Protection des Végétaux en cas d'exportation en période de production (février – fin juillet). Problèmes de rouille jamais constatés par le service.
- Thrips, acariens, pucerons : Vertimec, Conserve, Tepeki et Kiroso à doses homologuées.

Ent 3 et 4

- Thrips : Conserve
- Acariens : Floramite et *Milbeknock*
- Pas de problème de chenilles

Herbicides

Ces produits sont ponctuellement utilisés dans les allées et sous les tablettes. Produits principaux : Reglone, Round-up contre Liseron (Ent1).

Les autres entreprises n'utilisent pas d'herbicides sous la serre

Régulateurs de croissance

L'utilisation des régulateurs de croissance est assez rare. Ils sont principalement utilisés sur les chrysanthèmes de démonstration (Dazide, 3-5gr/l) et sur les boutures après racinement en plein été (Dazide, 2-3 gr/l) (Ent 2).

Ent 3 et 4 : Alar sur boutures au bout de 15 jours

Pratiques de désinfection

Un vide sanitaire de 1 à 6 mois (Ent 1, 2, 3 et 4) est pratiqué suivant le besoin du compartiment. La désinfection des serres et des outils est aussi pratiquée (Ent 1,2, 3 et 4). Les pots désinfectés sont réutilisés (Ent 2, 3, 4). Les produits de désinfection utilisés : ammonium quaternaire et eau de javel (Ent 2). Le Bactipal /H₂O² (Ent 3 et 4)

Un vêtement de protection pour éviter la propagation des maladies n'est pas toujours utilisé lors du prélèvement des boutures.

Environnement de l'entreprise

Les entreprises se trouvent dans une région rurale entourées d'élevages de bovins ou situées à l'extrémité d'un village ou près d'un bois ou d'une forêt de pins. Un cours d'eau est à

minimum 500 à 800 m des entreprises et un tas de « compost » des pieds-mères + substrat est à minimum 30m du site de production (Ent 1) ou 150 m (Ent 3 et 4)

Impressions du multiplicateur vis-à-vis d'une contamination par la rouille blanche

- Les multiplicateurs estiment que les conditions favorables à la propagation de la rouille blanche sont : arrosage le soir, aire saturé (brouillard)/manque de ventilation (Ent.1,2,3) et dans certains cas pensent qu'il y a des fournisseurs de boutures peu sérieux (Ent.1). La rigueur du travail est importante.
- Le rachat d'une gamme d'un autre obtenteur peut être une source d'infestation généralisée dans l'entreprise (2 exemples sont mentionnées : une chez lui, l'autre chez le concurrent).
- Les multiplicateurs enquêtés estiment également qu'ils appliquent aujourd'hui beaucoup de précautions efficaces (isolement des cultures, tests, traitements...) ce qui explique que les services du SRAL (PV/ santé végétale) n'ont jamais trouvé cette maladie dans les pieds mères et les boutures expédiées.
- La problématique autour de la rouille blanche est variable d'une année sur l'autre suivant l'état phytosanitaire des boutures et les conditions météo.
- Les multiplicateurs avouent qu'il y a une possibilité que les producteurs de plantes finies peuvent recevoir de l'inoculum dans les boutures expédiées et les symptômes s'expriment ensuite quand la météo est favorable (Confère année 2007 gros problème de contamination)
- Les multiplicateurs indiquent qu'il est possible encore, avec les produits homologués sur le marché et appliqués en alternance, de lutter assez efficacement contre la rouille blanche.
- Les entreprises pratiquent une sorte de service conseil pour accompagner les producteurs de plantes finies à cultiver et aussi de lutter contre la rouille blanche du chrysanthème.

Concernant l'importance économique de la rouille blanche pour les multiplicateurs, les opinions sont assez différentes. Pour 3 entreprises, la rouille blanche est un problème économique très important (Ent 2, 3, 4) tandis que pour une seule (Ent 1) l'importance économique est à relativiser : les produits et le complément PBI suite aux traitements chimiques se chiffrent à environ 20K€ par an mais la notion de la main d'œuvre et le dérangement de l'organisation n'est probablement pas prise en compte (note enquêteur).

Pour les multiplicateurs enquêtés la fréquence de l'apparition de la rouille blanche est moins de 1 fois par 4 ans et même encore moins fréquente.

Un système de certification fonctionnera uniquement à l'échelle de l'Europe (Ent 1). Un pays seul qui instaure un tel système alourdira les charges des entreprises concernées et la concurrence sera inégale. Un exemple est donné : la certification du Pelargonium contre la bactériose (*Xanthomonas campestris* pv *pelargonii*). Ce système coûtant cher et appliqué uniquement en France a provoqué une concurrence déloyale en Europe.

Pour une autre entreprise questionnée, le fait de faire des contrôles vis-à-vis de la rouille blanche est très important pour eux mais il n'y aura pas de communication ou de publicité supplémentaires, ni d'augmentation du prix de la bouture.

Bilan enquête

Points forts des entreprises

- Les entreprises sont tenues très correctement (propreté et hygiène des serre et structures irréprochables) et en interne très organisées.
- Les enquêtes ont identifié les mesures mises en place pour limiter les risques de contamination de la rouille blanche (périodes arrosages, traitements phytosanitaires fréquents et en alternance, climat adapté, contrôles phytosanitaires régulières).
- La désinfection et la pratique de vide sanitaire sont appliquées dans les entreprises.
- Les liens sont forts entre les entreprises et les clients. Ces contacts permettent d'alerter les clients en cas de problèmes phytosanitaires et d'agir en s'appuyant sur les représentants technico-commerciaux de l'entreprise.
- Les entreprises sont intéressées par un partenariat avec un laboratoire agréé pour tester les nouvelles génétiques vis-à-vis de leur sensibilité à la rouille blanche.
- Le prix et la confidentialité sont 2 facteurs principaux. Analyser les pieds-mères par PCR quantitative pour la détection précoce de la rouille blanche est reçu avec plus de précaution. Le fait que le laboratoire agréé soit obligé de dénoncer en cas de résultat positif pose une obstacle importante pour développer cette piste.

Points faibles

- Les multiplicateurs connaissent les variétés sensibles à la rouille blanche grâce aux liens forts avec les clients. Cependant, le succès de ces variétés 'sensibles' compte tenu de leurs comportements et de leur esthétisme, fait qu'elles restent très importantes pour le marché. Un multiplicateur enquêté estime qu'environ 10% de ses variétés sont sensibles selon les échos de ses clients. Un travail sur l'amélioration génétique contre la rouille blanche est impossible dans les entreprises. Cependant, les multiplicateurs sont intéressés par un partenariat avec un laboratoire reconnu et agréé mais pas trop cher et ou la confidentialité doit absolument être assurée.
- Il est nécessaire de se poser la question afin de savoir si les méthodes de destruction des pieds mères employées sur l'entreprise en fin de saison sont des réels risques concernant la survie du pathogène de la rouille (une partie de sa biologie reste encore inconnue). Une discussion avec un des multiplicateurs, nous laisse supposé que le fait de laisser les déchets de chrysanthèmes près des serres puisse conduire à maintenir des sources d'inoculation. En effet, ce chef d'entreprise avait noté que la zone où était entreposé son compost se trouvait dans le couloir du vent qui balayait une partie de sa serre et que certains pieds de chrysanthèmes dans cette zone là, étaient plus touchés par la rouille. Le fait de déplacer le tas de compost et de le positionner à plus de 150 m de la serre dans une zone non ventée a permis de limiter les contaminations et suite à ce changement, il n'a plus observé de contamination de rouille blanche.
- Un multiplicateur enquêté soulève le danger de contamination lié aux achats des nouvelles génétiques des autres obtenteurs. Plus de précautions (isolation après réception, traitements, outils/matériel uniquement dédiés à la nouvelle gamme...) peuvent éviter des risques trop élevés.

- Tous les multiplicateurs ne pratiquent pas la régénération *in vitro* pour limiter les contaminations et casser le cycle de propagation de la maladie. La multiplication végétative intensive est un facteur de conservation du pathogène.

Aujourd'hui les multiplicateurs ne sont pas encore capables de détecter très tôt et rapidement la rouille blanche dans leurs cultures pour ensuite pouvoir anticiper et réagir plus rapidement vis-à-vis de ce pathogène. Un multiplicateur enquêté possède déjà d'un outil d'analyse par PCR qualitatif qui peut servir à détecter la rouille utilisant le protocole développé dans ce Programme National ASTREDHOR.

2-Echantillons prélevé pour la détection de la rouille blanche

Des prélèvements de feuilles ont été effectués sur les sites pilotes d'observation de la rouille blanche. 2 600 échantillons foliaires de chrysanthème ont été fournis au laboratoire Vegenov par la STEPP Bretagne et par le GIE FPSO pour l'analyse moléculaire de la campagne épidémiologique 2011.

II- MISE AU POINT ET VALIDATION DE LA TECHNIQUE DE DETECTION MOLECULAIRE DE LA ROUILLE BLANCHE PAR LE LABORATOIRE VEGENOV.

1. Objectif

L'objectif du présent projet a consisté à **poursuivre la validation du test de détection moléculaire** de *Puccinia horiana* dans des échantillons foliaires de chrysanthème (mis au point par Vegenov).

Dans le cadre de ce projet, une **analyse épidémiologique d'échantillons foliaires de chrysanthème** provenant du GIE FPSO et de la STEPP Bretagne a également été réalisée à Vegenov en utilisant le test de détection moléculaire de la rouille blanche préalablement validé.

2. Phases du projet

Dans le cadre de ce projet, les **quatre phases** suivantes ont été réalisées à Vegenov :

- **Phase 1** : validation de la **spécificité du test de détection moléculaire** de la rouille blanche. Analyse d'un échantillon foliaire de chrysanthème inoculé par la **rouille brune** (souche disponible à Vegenov) et utilisation du test de détection de la rouille blanche sur cet échantillon.
- **Phase 2** : validation de la **sensibilité du test de détection moléculaire** de la rouille blanche. Analyses en **bulks** (tests de différent bulks : 1 feuille contaminée par la rouille blanche parmi 24, 49 ou 99 feuilles saines de chrysanthème).
- **Phase 3** : constitution d'une **collection de souches** de rouille blanche. Vegenov conservera les échantillons de feuilles de chrysanthème contaminés par la rouille blanche détectés chez les producteurs de chrysanthème en France et constituera une

base de données de la collection créée. La survie des souches suite à une congélation directe des échantillons reçus dépendra de la qualité de ces derniers.

- **Phase 4** : analyse moléculaire de la **campagne d'échantillonnage 2011** (feuilles de chrysanthème fournies par le GIE FPSO et la STEPP Bretagne en 2011)

3. Matériel utilisé dans le cadre de ce projet

Dans le cadre de ce projet, nous avons utilisé le matériel végétal suivant :

- **des échantillons foliaires de chrysanthème contaminés** par un isolat de **rouille brune** disponible à Vegenov ;
- **des échantillons foliaires de chrysanthème contaminés** par un isolat de **rouille blanche** disponible à Vegenov (témoins positifs) ;
- **1 échantillon foliaire de chrysanthème sain**, non contaminé par la rouille blanche, disponible à Vegenov (témoin négatif) ;
- **2 600 échantillons foliaires de chrysanthème** fournis par la STEPP Bretagne et par le GIE FPSO pour l'analyse moléculaire de la campagne épidémiologique 2011.

Les extractions d'ADN des échantillons foliaires de chrysanthème (témoins positifs, témoins négatifs et échantillons de la campagne épidémiologique 2011) ont été réalisées à Vegenov, suivant un protocole mis au point lors du précédent projet..

Un marqueur moléculaire spécifique de la rouille blanche *Puccinia horiana*, mis au point par l'équipe du Dr Kurt Huengens en Belgique (Alaei *et al.*, 2009) et validé à Vegenov dans le cadre du précédent projet 10.0610, a été utilisé pour réaliser les différentes analyses de détection de ce présent projet.

Un témoin négatif (eau) a également été inclus dans les analyses moléculaires, afin de détecter la présence éventuelle d'une contamination des échantillons au cours de l'analyse.

4. Résultats

Phase 1 : validation de la spécificité du test de détection moléculaire de la rouille blanche

Au cours de cette 1^{ère} phase, nous avons inoculé des plants de chrysanthème avec une souche de **rouille brune** disponible à Vegenov.

Nous avons prélevé 8 échantillons foliaires de chrysanthème inoculés par la rouille brune.

Nous avons ensuite extrait à Vegenov l'ADN des 8 échantillons contaminés par la rouille brune, ainsi que d'échantillons contaminés par la rouille blanche (témoins positifs) puis nous avons analysé ces échantillons à l'aide d'un marqueur moléculaire spécifique de la rouille blanche (*Puccinia horiana*).

Les résultats obtenus lors de cette phase sont présentés dans la **figure 1**. Lorsque la rouille blanche est présente dans un échantillon analysé, une courbe d'amplification caractéristique apparaît en PCR quantitative.

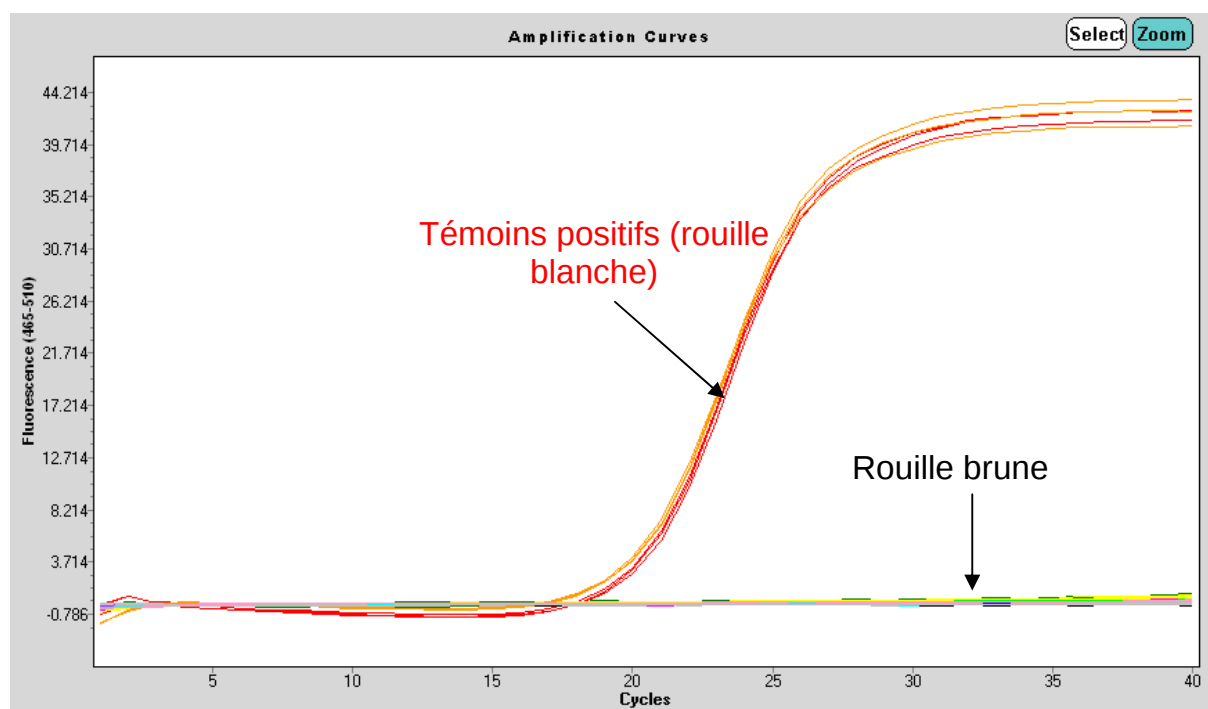


Figure 1 : Validation de la spécificité du test de détection moléculaire par PCR quantitative de la rouille blanche dans des échantillons foliaires de chrysanthème contaminés par la rouille brune (8 échantillons) et contaminés par *Puccinia horiana* (échantillons en rouge).

Nous n'avons obtenu aucune amplification sur les 8 échantillons foliaires de chrysanthème inoculés par la rouille brune ce qui confirme que **le marqueur moléculaire que nous utilisons pour le test de détection est bien spécifique de la rouille blanche.**

Phase 2 : validation de la sensibilité du test de détection moléculaire de la rouille blanche

Au cours de cette 2^{ème} phase, nous avons voulu évaluer la sensibilité du test de détection moléculaire de la rouille blanche.

Nous avons inoculé des plants de chrysanthème avec un isolat de *Puccinia horiana* disponible à Vegenov et nous avons prélevé des échantillons de feuilles des plants de chrysanthème inoculés à 2 dates après inoculation (témoins positifs) : à 1 jour après inoculation (J+1, stade précoce) et à 14 jours après inoculation (J+14, stade tardif). Le schéma de prélèvement est présenté dans la **figure 2**. Nous avons également prélevé des échantillons foliaires de chrysanthème sains (témoins négatifs).

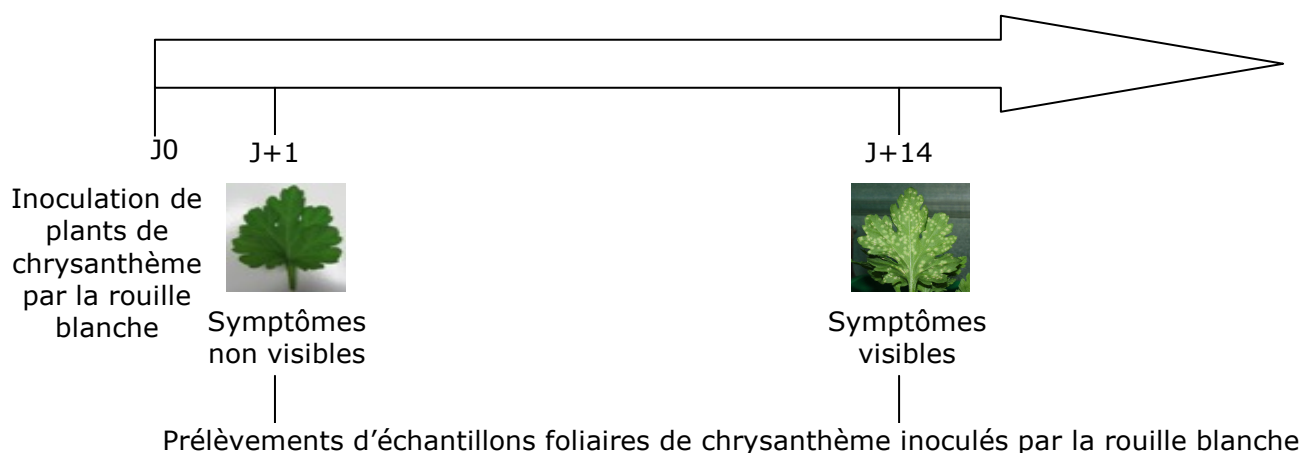


Figure 2 : Schéma de prélèvement des échantillons de feuilles de chrysanthème inoculés par la rouille blanche, à deux dates après inoculation.

Nous avons ensuite mélangé une feuille de chrysanthème inoculée par la rouille blanche et prélevée précocement (1 jour après inoculation) ou tardivement (14 jours après inoculation), avec 24, 49 ou 99 feuilles de chrysanthème saines afin de déterminer plus précisément le seuil de sensibilité de détection de la rouille blanche.

Le tableau suivant résume l'ensemble des bulks réalisés pour les analyses de sensibilité du test :

Code	Stade de prélèvement de la feuille contaminée par la rouille blanche	Nombre de feuilles contaminées par bulk	Nombre de feuilles saines par bulk	Nombre total de feuilles du bulk
Bulk25 (J+14)	J+14 (tardif)	1	24	25
Bulk50 (J+14)	J+14 (tardif)	1	49	50
Bulk100 (J+14)	J+14 (tardif)	1	99	100
Bulk25 (J+1)	J+1 (précoce)	1	24	25
Bulk50 (J+1)	J+1 (précoce)	1	49	50
Bulk100 (J+1)	J+1 (précoce)	1	99	100

Nous avons analysé **3 bulks indépendants** pour chacune des modalités testées.

Nous avons extrait l'ADN total des bulks de feuilles saines et contaminées réalisés et nous avons analysé ces bulks en PCR quantitative. Nous avons comparé les profils de détection moléculaire obtenus pour ces bulks à celui d'un témoin négatif (échantillons foliaires sains) et à ceux de témoins positifs (témoin fortement inoculé J+14 et témoin faiblement inoculé J+1).

Les résultats obtenus sont présentés dans la **figure 3**.

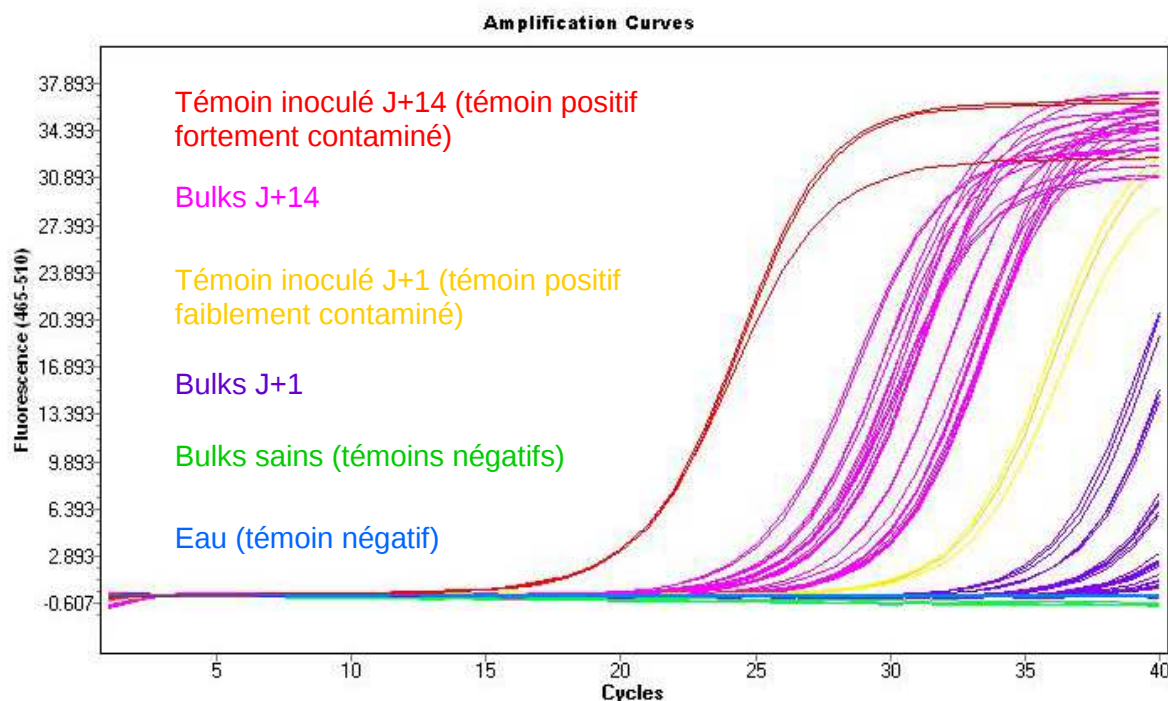


Figure 3 : *Evaluation de la sensibilité du test de détection moléculaire par PCR quantitative de la rouille blanche dans des bulks d'échantillons foliaires de chrysanthème contaminés par la rouille blanche.*

Nous avons obtenu un signal de détection :

- fort pour les bulks contenant un échantillon foliaire contaminé, prélevé 14 jours après inoculation (stade tardif, symptômes visibles sur feuilles, en rose sur la figure 3);
- plus faible pour les bulks contenant un échantillon foliaire contaminé, prélevé 1 jour après inoculation (stade précoce, symptômes non visibles sur feuilles, en violet sur la figure 3).

Nous avons également constaté que **plus la taille du bulk augmente, plus la détection de la rouille blanche dans le bulk devient difficile**.

En effet, nous avons pu détecter la rouille blanche **dans tous les bulks (25, 50 et 100 feuilles) contenant une feuille fortement contaminée (J+14)**. Pour les bulks contenant une feuille faiblement contaminée (J+1), la **détection de la rouille blanche est possible dans les bulks de 25 et 50 feuilles** mais n'est plus possible pour les bulks de 100 feuilles (trop forte dilution du signal).

Cette 2^{ème} phase du projet a permis d'évaluer la sensibilité du test de détection moléculaire de la rouille blanche et de montrer que l'on pouvait détecter l'agent pathogène dans un **bulk de 50 feuilles maximum** lorsque celles-ci sont faiblement contaminées.

Phase 3 : constitution d'une collection de souches de rouille blanche

En juin 2011, un mail a été envoyé par Oscar Stapel (STEPP Bretagne) aux conseillers impliqués dans la surveillance de la rouille blanche chez les producteurs de chrysanthèmes afin de solliciter leur aide pour la constitution d'une collection de souches de *Puccinia horiana*.

Dans ce mail, il a été demandé aux conseillers de faire parvenir à Vegenov tout échantillon de feuille de chrysanthème présentant des symptômes caractéristiques de la rouille blanche qu'ils pourraient observer lors de leurs tournées chez les producteurs de chrysanthèmes.

Ces échantillons prélevés chez les producteurs de chrysanthèmes devaient servir à :

- constituer une collection de souches de *Puccinia horiana* ;
- connaître la distribution de cette maladie sur le territoire français ;
- identifier les fournisseurs de jeunes plants spécifiquement touchés par la rouille blanche en 2011.

A ce jour, **aucun échantillon de feuille de chrysanthème présentant des symptômes de rouille blanche n'a été envoyé** à Vegenov pour alimenter la collection de souches de ce pathogène.

Phase 4 : analyse moléculaire de la campagne épidémiologique 2011

Les résultats de détection moléculaire de la rouille blanche dans les bulks des 2 600 échantillons foliaires de chrysanthème fournis par le GIE FPSO et la STEPP Bretagne (étude épidémiologique 2011) sont synthétisés dans les deux tableaux suivants. Des **bulks de 50 feuilles maximum** ont été réalisés à partir des 2 600 échantillons reçus, suite aux résultats obtenus à l'issue de la phase 2.

Tableau de résultats des analyses du GIE FPSO

Date de prélèvement	Variété	Nombre de feuilles prélevées par le GIE FPSO	Nombre de feuilles analysées par bulk	Détection de <i>Pucciana horiana</i>
22/06/2011	soda vanille	50	50	Négatif
	vito blanc	50	50	Négatif
	corto rose	50	50	Négatif
	teva rose	50	50	Négatif
	yahou abricot	50	50	Négatif
	yahou fraise	50	50	Négatif
	mitik rose	50	50	Négatif
	frigo blanc	50	50	Négatif
	paso grenadine	50	50	Négatif
	tribal rouge	50	50	Négatif
	senso violet	50	50	Négatif
	ultra rouge brique	26	26	Négatif
	burma rose	26	26	Négatif
	borea blanc	26	26	Négatif
	borea cuivre	26	26	Négatif
	borea rose	26	26	Négatif
	cocktail caramba	50	50	Négatif
	cocktail cherry	50	50	Négatif
	cocktail sonic	50	50	Négatif
	cocktail bacardi	50	50	Négatif
	cocktail colombo	50	50	Négatif
	cocktail shaker	50	50	Négatif
	cocktail cubano	50	50	Négatif
	cocktail curacao	50	50	Négatif
	cocktail americano	50	50	Négatif
	cocktail alamo	50	50	Négatif

Tableau de résultats des analyses de la STEPP Bretagne

Date de prélèvement	Variété	Nombre de feuilles prélevées par la STEPP	Nombre de feuilles analysées par bulk	Détection de <i>Puccinia horiana</i>
08/07/2011	Xena	100	Bulk 1 = 50	Négatif
			Bulk 2 = 50	Négatif
22/07/2011	Hiphop blanc	50	50	Négatif
	Spiro rose	100	50	Négatif
	Alegro mauve	100	50	Négatif
	Anastasia blanc	100	Bulk 1 = 50	Négatif
			Bulk 2 = 50	Négatif
	Eleonora	100	Bulk 1 = 50	Traces de rouille (< témoin J+1)
			Bulk 2 = 50	Négatif
	Ska jaune	60	60	Négatif
	Burma rose	100	50	Négatif
	Funk Bicolore	60	60	Négatif
	One Step	50	50	Négatif
	Macumba rouge	60	60	Négatif
	Sepia orange	50	50	Négatif
	Burma blanc	60	60	Négatif
	Xena rouge (cutting)	50	50	Négatif
	Maya jaune	50	50	Négatif
02/08/2011	Eleonora Yellow	100	Bulk 1 = 50	Négatif
			Bulk 2 = 50	Négatif
	Spiro	100	Bulk 1 = 50	Négatif
			Bulk 2 = 50	Négatif
	Xena cuivre	100	Bulk 1 = 50	Négatif
			Bulk 2 = 50	Négatif
05/09/2011	Louissette jaune	100	Bulk 1 = 50	Négatif
			Bulk 2 = 50	Négatif

L'analyse moléculaire en bulks des 2 600 échantillons de feuilles de chrysanthème fournis par le GIE FPSO et la STEPP Bretagne nous a permis d'obtenir les résultats suivants :

- aucune trace de rouille blanche n'a pu être détectée dans les bulks formés à partir des échantillons fournis par le GIE FPSO ;
- une trace de rouille blanche (en quantités beaucoup plus faibles que le témoin positif J+1) a pu être détectée dans le bulk 1 de 50 feuilles de la variété Eleonora fournies par la STEPP Bretagne.

5 - Conclusion

Dans le cadre de ce projet réalisé à Vegenov, nous avons pu :

- **Valider la spécificité** du marqueur moléculaire utilisé dans le test de détection de la rouille blanche (non détection de la rouille brune avec ce marqueur) ;
- **Valider la sensibilité** du test de détection moléculaire en déterminant le nombre de feuilles qu'il est possible de mélanger au maximum pour pouvoir détecter le pathogène ;
- **Analyser 2600 échantillons** de feuilles de chrysanthème en utilisant ce test pour y détecter la présence éventuelle de la rouille blanche. Seul un bulk d'échantillons analysés s'est révélé être positif pour la présence de la rouille blanche, en très faible quantité (moindre que celle détectée dans le témoin positif J+1).

Nous n'avons pas pu constituer de collection de souches de *Puccinia horiana* car nous n'avons pas reçu à Vegenov d'échantillons contaminés de feuilles de chrysanthème provenant de chez les producteurs de jeunes plants en 2011. Il serait intéressant de relancer cette opération en 2012.

PERSPECTIVES DU PROGRAMME

Les perspectives du programme sont les suivantes :

- Développer une collection des souches du pathogène.
A partir de juin/juillet nécessité d'envoyer des feuilles infestées à Vegenov. Demander aux conseillers du réseau ASTREDHOR de récupérer des végétaux atteints et de les envoyer aux laboratoires. L'idéal est d'avoir 1/3 des souches de France et 2/3 des souches de l'étranger. Demander à Kurt Heungens s'il peut envoyer sa banque de souches à Vegenov ou au moins nous donner ses contacts pour obtenir des souches.
- Obtenir une collection d'autres pathogènes du chrysanthème pour continuer à évaluer la sélectivité du test moléculaire.

Le GIE FPSO et la STEPP Bretagne centralisent les échantillons, les enregistrent (date, provenance, fournisseur, variété) les codifient pour éviter des problèmes des laboratoires et les renvoient ensuite codés à Vegenov. La base d'information sur la provenance des échantillons est strictement confidentielle entre les 2 stations.

- travailler sur la maîtrise de l'infestation. Le temps d'exposition d'une plante à une feuille infestée n'est pas assez précis. La sensibilité du test moléculaire est aujourd'hui 1 feuille infestée sans symptômes sur 50. Peut-on augmenter la sensibilité en améliorant la technique de broyage et d'extraction de l'ADN ? Les laboratoires compareront 4 techniques de broyage pour homogénéiser au maximal le broyat.

L'objectif final est de :

-Proposer de mettre en place en France pour les obtenteurs intéressés un système de détection précoce de la rouille blanche en cultures de pieds mères par analyse PCR quantitative. Dans cette proposition on pourra imaginer effectuer des prélèvements de feuilles sur pieds mères réalisés par les obtenteurs selon un protocole établi. Les analyses seront effectuées par un laboratoire capable de maîtriser la technique de détection moléculaire. Les résultats des analyses seront confidentiels et directement communiqués aux obtenteurs concernés. En fonction des résultats des analyses les obtenteurs pourront ensuite prendre des mesures appropriées. Un schéma de certification phytosanitaire concernant la rouille blanche pourrait aussi être envisagé avec les obtenteurs.

- Proposer aux obtenteurs la possibilité de sélectionner et de générer des variétés résistantes à la rouille blanche. Des tests en série peuvent être envisagés pour déterminer le niveau de résistance de chaque nouvelle création génétique vis-à-vis de différents pathovars de *P. horiana*. Un laboratoire compétent pourra de ce fait réaliser ces tests dans pour lesquels, les variétés seront inoculées avec différents pathovars. Une nouvelle création résistante à la rouille blanche aurait un potentiel commercial important pour l'obteneur.

Une telle initiative commune pourrait conduire à une solution durable pour lutter contre la rouille blanche du chrysanthème.

Une question reste cependant en suspend et qui préoccupe les obtenteurs et les collaborateurs du projet :

Puccinia horiana étant un pathogène de quarantaine, que se passerait il si ce champignon est détecté précocement chez un multiplicateur quant à la destruction des plantes et à la fermeture du site de production. C'est un frein important à la poursuite du projet. Une réponse claire est nécessaire des instances publiques compétentes sur cet aspect.

La STEPP et le GIEFPSO rencontreront cette année le responsable 'Horticulture Ornementale' de la DGAL afin de clarifier ce point

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Bonde, M.R., Peterson, G.L., Rizvi, S.A., and Smilanick, J.L. 1995. Myclobutanil as a curative agent for chrysanthemum white rust. *Plant Disease* 79 : 500-505.
- Catley, A. (1987) Outbreak of chrysanthemum white rust in Australia. *FAO Plant Protection Bulletin* 35 : 99.
- Cook, R.T.A. 2001. First report in England of changes in the susceptibility of *Puccinia horiana*, the cause of chrysanthemum white rust, to triazole and strobilurin fungicides. *Plant Pathology* ? 50 : 792.
- Dickens, J.S.W. 1970. Infection of chrysanthemum flowers by white rust (*Puccinia horiana*). *Plant Pathology* 19, 122-124.

- Dickens, J.S.W. 1990. Studies on the chemical control of chrysanthemum white rust caused by *Puccinia horiana*. *Plant Pathology* 39, 434-442.
- Firmaman, I.D., Martin, P.H. 1968. White rust of chrysanthemum. *Ann. Appl. Biol.* 62:429-442.
- Grouet, D. 1984. Mise au point sur les possibilités actuelles de lutte contre la rouille blanche du chrysanthème. *Revue Horticole* 251, 33-36.
- Grouet, D.; Allaire, L. 1973. La rouille blanche du chrysanthème. Evolution et méthodes de lutte. *Horticulture Française* 30, 1-8.
- Guerrand, J. 2004. Les rouilles fongiques. Rapport bibliographique PN Rouille, BBV. 22p.
- Guerrand J., Drevon A., Colombel A.-S., Pajot E., Stapel O. 2006. « La résistance induite : une alternative prometteuse vis-à-vis des rouilles du chrysanthème ». *CIMA*. 8 : 157-165.
- Guerrand J., Drevon A., Colombel A-S, Stapel O., Pajot E., 2007 - Des avancées prometteuses dans la protection intégrée vis-à-vis des rouilles du chrysanthème. 4èmes Rencontres du Végétal, Institut National d'Horticulture, Angers, France, 16-17 janvier ; p 85-86.
- Guerrand J., Aljabal, M., Lebihan, A., Stapel, O., Hallier, S. 2009 - Lutte contre la rouille blanche du chrysanthème. 9^e conférence internationale sur les maladies des plantes. AFPP, Tours, 8-9 décembre ; p 536-545.
- Guerrand, J, M. Aljabal, O. Stapel, S. Hallier. 2011. Lutte contre la rouille blanche du chrysanthème. AFPP- Méthodes alternatives en protection des cultures Lille – 8, 9 et 10 mars, p. 451-45.
- Harada Y., Iwama T. et Fukuda T. 1996. Life cycle of *Puccinia chrysanthemii* Roze, the rust fungus on *Chrysanthemum morifolium* Ramat. *Ann. Phytopath. Soc. Japan*. 62:199-201.
- Hossein A. S, Baeyen, M. Maes, M. Höfte et K. Heungens, 2008. Molecular detection of *Puccinia horiana* in *Chrysanthemum x morifolium* through conventional and real-time PCR. *Journal of Biological Methods*.
- MacDonald, L. 2001. Floriculture Factsheet on Chrysanthemum White Rust. British Columbia Ministry of Agriculture, Food and Fisheries, Abbotsford, B.C., Canada. pp.3.
- Ohishi K., Okumura Y. et Moroika K. 2000. Incubation of *Puccinia horiana* P. H. using chrysanthemum plants cultured in vitro. *J. Japan Soc. Hort. Sci.* 69 (6): 767-769.
- OEPP/EPPO. 2006. Data sheets on quarantine organisms, 1982, 80p.
- ONIFLHOR. 2001. Le marché du chrysanthème de Toussaint. Publication CE-8/10/2001.
- Punithalingam, E. 1968. C.M.I. Description of Pathogenic Fungi and Bacteria No. 176 (*Puccinia horiana*). CAB International, Wallingford, UK.
- Rademaker, W.; Jong, J. de. 1987. Types of resistance to *Puccinia horiana* in chrysanthemum. *Acta Horticulturae* 197, 85-88.
- Rattink, H.; Zamorski, C.; Dil, M.C.. 1985. Spread and control of white rust (*Puccinia horiana*) on chrysanthemums on artificial substrate. *Mededelingen van de Faculteit Landbouwwetenschappen Rijksuniversiteit Gent* 50, 1243-1249.
- Takatsu Y., Ohishi K., Tomita Y., Hayashi M., Nakajima M., Akutsu K.. 2000. Use of chrysanthemum plantlets grown in vitro to test cultivar susceptibility to white rust, *Puccinia horiana* P. Hennings. *Plant Breeding* 119, 528-530.
- Srivastava, A.K.; Defago, G.; Kern, H. 1985. Hyperparasitism of *Puccinia horiana* and other microcyclic rusts. *Phytopathologische Zeitschrift*. 114, 73-78.
- Stapel, O. 2005. « Effets des biostimulants sur les défenses naturelles des plantes en culture de cyclamen et de chrysanthème ». *PHM Revue Horticole* 2005. N°468 : 15-20.

- Stapel, O. et J. Guerrand. 2011. High efficacy of a possible plant elicitor and other phytostimulants against white rust (*Puccinia horiana* Henn.) in potted chrysanthemum productions. International Horticultural Congress Lisbon 2010. ISHS. Acta Hort. Under review.
- Water, J.K.. 1981. Chrysanthemum white rust. Bulletin OEPP/EPPO Bulletin 11, 239-242.
- Wojdyla, A.T. 2002. Azoles in the control of *Puccinia horiana* on chrysanthemum. J. Plant Protection Res. 42 (3) : 263-270.
- Wojdyla, A.T. 2004. Development of *Puccinia horiana* on chrysanthemum leaves in relation to chemical compounds and time of their application. J. Plant Protection Res. 44 (2) : 91-102.
- Yamada S. 1956. Experiments on the epidemiology and control of chrysanthemum white rust, caused by *Puccinia horiana*. Annals of the Phytopathological Society of Japan 20, 148-154.
- Yoder Bros. 1998. Chrysanthemum white rust - a Bulletin. Yoder Brothers, Inc., Florida, USA.
- Zamorski, C. 1982. Efficacité des fongicides pour la lutte contre la rouille blanche *Puccinia horiana*. Acta Agrobotanica 35, 251-256.

ANNEXES

ANNEXE 1 : QUESTIONNAIRE MULTIPLICATEURS

Chrysanthème Rouille Blanche

Etude Epidémiologique MultiPLICATEurs

Programme National ASTREDHOR

Date d'enquête :	
Plage d'horaire :	
Nom enquêteur :	
Téléphone enquêteur :	
Entreprise enquêtée :	
Commune et département :	
Nom de la personne entretenue :	
Fonction :	



G.I.E
Fleurs & Plantes
du Sud-Ouest



Stations de l'Institut technique de l'horticulture



Caractéristiques liées à la culture

- Type de chrysanthèmes : ☐ pomponette ☐ grosse fleur ☐ américain

- Type de jeune plant produit ☐ cutting ☐ bouture racinée

si cutting : conditions de bouturage pendant enracinement

☐ couverture ☐ air libre ☐ système fog

- Nombre de sites de production :

- Superficie totale de chrysanthèmes par site entreprise : m²

- Nombre de structures de production :

- Nombre de compartiments par structure de production :

- Type de structure de production par Nucléar stock

S00

Serre verre ☐ multi-chapelle ☐ autre ☐ spécifications :

Superficie m² m² m²

S0

Serre verre ☐ multi-chapelle ☐ autre ☐ spécifications :

Superficie : m² m² m²

S1

Serre verre ☐ multi-chapelle ☐ autre ☐ spécifications :

Superficie : m² m² m²

S2 (boutures chez les éleveurs et multiplicateurs). Même site, serres séparées?

Serre verre ☐ multi-chapelle ☐ autre ☐ spécifications :

Superficie : m² m² m²

Pratiques de prélèvement de boutures (à cocher) :

☐ gants ☐ outils ☐ désinfection (produit ?) des outils ☐ blouse ☐ autre

La plante: son origine :

- Combien de temps gardez vous vos pieds mères ?

- Renouvellement S0, S1 + commentaire ?

- A cocher : régénération in vitro ☐ / multiplication végétative ☐

- A quelle période constituez vous vos parcs de pieds mères ?

- Les contrôles effectués/diagnostics (pathologie) : virus ?

maladies fongique?

- Densité des pieds mères ?/m2

- Taille pot :

- Caractéristiques substrat :

Dans votre gamme variétale, connaissez-vous les sensibilités face à la rouille et pourquoi conservez vous les?

.....

.....

.....

Caractéristiques liées à la structure de production

Pratiques de désinfection

Vide sanitaire ? Combien de jours ?

Désinfection structures, tablettes, système d'arrosage, poterie ? ☐ oui ☐ non

Réutilisation de la poterie ? ☐ oui ☐ non

Quel produit, quelle dose, quelle fréquence ?

Caractéristiques liées à l'arrosage

- Source d'irrigation :

- | | |
|---|---|
| ☐ forage avec bassin de stockage | ☐ forage sans bassin de stockage |
| ☐ rivière/ruisseau avec bassin de stockage | ☐ rivière/ruisseau sans bassin de stockage |
| ☐ eau de pluie avec bassin de stockage | ☐ eau du réseau |

- Stockage d'eau : ☐ bassin à l'air libre ☐ bassin protégé

- Bassin : ☐ naturel ☐ artificiel

- Type d'arrosage : ☐ goutte à goutte ☐ aspersion ☐ ruissellement
☐ subirrigation ☐ nappe d'irrigation

- Déclenchement arrosage : ☐ manuel ☐ automatique

- Stratégie d'apport :

Fréquence d'arrosage est préétabli par jour ? ☐ Oui ☐ Non

Préférence période d'arrosage ?

☐ matin ☐ midi ☐ après midi ☐ soir

Arrosage au point de flétrissement ☐ Oui ☐ Non

Arrosage en fonction de l'état hydrique du substrat ☐ Oui ☐ Non

Si Oui, avec tensiomètre ☐ Oui ☐ Non

Déclenchement automatique ? ☐ Oui ☐ Non

Arrosage en fonction d'un autre paramètre ? ☐ Oui ☐ Non

Si Oui, lequel ?

Déclenchement automatique ? ☐ Oui ☐ Non

- Plage de fréquence d'arrosages : Début de culture à arrosages/jour
Milieu de culture à arrosages/jour
Fin de culture à arrosages/jour

Caractéristiques liées à la fertilisation

-Type d'engrais : ☐ engrais soluble ☐ engrais enrobés ☐ les deux

- Engrais foliaire ? Oui ☐ Non ☐

- Equilibres NPK et doses d'engrais soluble :

début de culture : équilibre ... : ... : ... Dose g/l solution fille

milieu de culture : équilibre ... : ... : ... Dose g/l solution fille

fin de culture : équilibre ... : ... : ... Dose g/l solution fille

- Equilibre NPK et dose d'engrais enrobé : équilibre ... : ... : ... Dose kg/m³

- Fréquence de fertilisation :

☐ Tous les arrosages ☐ 1 fois par 2 arrosages ☐ 1 fois par 3 arrosages

☐ Autre, à préciser :

Caractéristiques liées aux traitements phytosanitaires (pbi, insecticides, fongicides, herbicides, régulateurs)

- Traitements phytosanitaires préventifs (insecticides, fongicides)

Culture 1 (Précision/description) :

Produit	Dose	Cible	Date(s) d'application effectuée(s) ou prévue(s)	Stade de la culture

Culture 2 (Précision/description) :

Produit	Dose	Cible	Date(s) d'application effectuée(s) ou prévue(s)	Stade de la culture

Culture 3 (Précision/description) :

Produit	Dose	Cible	Date(s) d'application effectuée(s) ou prévue(s)	Stade de la culture

- Date passage traitement préventif à traitement curatif :

- Date d'observation premières symptômes de la rouille dans les cultures :

- Traitements phytosanitaires curatifs (insecticides, fongicides)

Culture 1 (Précision/description) :

Produit	Dose	Cible	Date(s) d'application effectuée(s) ou prévue(s)	Stade de la culture

Culture 2 (Précision/description) :

Produit	Dose	Cible	Date(s) d'application effectuée(s) ou prévue(s)	Stade de la culture

Culture 3 (Précision/description) :

Produit	Dose	Cible	Date(s) d'application effectuée(s) ou prévue(s)	Stade de la culture

- Traitements des régulateurs de croissance

Culture 1 (Précision/description) :

Produit	Dose		Date(s) d'application effectuée(s) ou prévue(s)	Stade de la culture

Culture 2 (Précision/description) :

Produit	Dose	Cible	Date(s) d'application effectuée(s) ou prévue(s)	Stade de la culture

Culture 3 (Précision/description) :

Produit	Dose	Cible	Date(s) d'application effectuée(s) ou prévue(s)	Stade de la culture

- Autres interventions :

Intervention	Date(s) effectuée(s) ou prévue(s)	Objectif
Pincement		
Ebourgeonnage		
Autre (à préciser)		

Caractéristiques liées à la gestion du climat / de la lumière

- Température de consigne/ Température de ventilation : °C / °C
- Hygrométrie de consigne / ventilation : %HR / %HR
- Période d'occultation (gestion photopériode) ? : ☐ Oui ☐ Non
 Si oui, à partir de quelle date ou semaine :
 Pendant combien de jours :
 Horaires :
- Utilisation ombrage (produit blanchiment ou écrans) ☐ Oui ☐ Non
 Si oui, produit :
 % d'ombrage : % ou dilution
- Utilisation des couvertures spéciales (ex. Solatrol etc.) ? ☐ Oui ☐ Non
 Si oui, produit :

Caractéristiques liées à l'environnement autour des systèmes de production

- Entreprise située dans une région
☐ urbaine ☐ semi urbaine ☐ rurale
- Description des cultures aux alentours de l'entreprise :

- Distance de la production d'un cours d'eau ou d'un bassin : m
- Gestion des déchets des végétaux :
☐ Compostage. Distance entre lieu de compostage et cultures : m
☐ Brûlage. Distance entre lieu de brûlage et cultures : m
☐ Autre(à préciser) :

Mesures prises en cas de la contamination

Que faire face à un problème de contamination? Quelle est la procédure mise en place?

Jeter ☐ Bruler ☐ Traiter ☐ Éliminer variétés ☐

Quoi faire avec les sujets sans symptômes ?

Avertissements des clients ?

Retour clientèle en cas de problèmes.

- Quelle est l'action mise en place chez le multiplicateur
chez le client

Contrôles réglementaires

Vous êtes contrôlé ? ☐ Oui ☐ Non

Si oui, par qui ?

Combien de fois par an ?

Quelle période ?

Types de contrôles : ☐ visuels ☐ prélèvements

☐ analyses, quelles :

Connaissance réglementation

Pathogène de quarantaine ? ☐ Oui ☐ Non

Mesure à prendre / Procédures à respecter

.....
.....
.....

Avez-vous déjà été soumis à des mesures de quarantaines et de destructions ? Qu'avez-vous fait ?

.....
.....
.....

Application des connaissances/techniques acquises dans le PN

Intéressé par la mise en place d'un schéma de sélection sanitaire (sur les bases des contrôles moléculaires)

.....
.....
.....

Aboutir à la certification ? Coûts, à quel prix ?

.....
.....
.....

Commercialisation : Communication intéressante sur boutures certifiées ou label?

.....
.....

Augmentation du prix de la bouture ?

.....
.....

Intéressé par sélection variétale sur la résistance contre la rouille blanche ?

.....
.....

Prêt à intégrer dans votre sélection variétale la résistance vis-à-vis de la rouille blanche et utiliser les techniques développées à Vegenov face à différents isolats ?

.....
.....

Prêt à cofinancer des projets de recherche sur la problématique de la rouille blanche ? Porteurs sains autres espèces et sources de contamination, identification des isolats et conservation. A quel prix ?

.....
.....
.....

Impressions du producteur vis-à-vis de la rouille blanche

- Quels facteurs favorisent, selon vous, la rouille blanche du chrysanthème ?

.....
.....
.....

- Vous avez l'impression que la pression parasitaire de cette maladie est variable suivant les années ou est ce que la pression reste assez stable depuis des années?

.....
.....
.....

- Est-ce que la rouille blanche est maîtrisable avec les produits d'aujourd'hui ?

.....
.....
.....

- L'importance économique de la maladie pour l'entreprise

☐ très important ☐ important ☐ moins important ☐ pas important

- Fréquence de l'apparition de la rouille du chrysanthème dans l'entreprise

☐ 2 fois par an ☐ 1 fois par an ☐ 1 fois par 2 ans ☐ 1 fois par 4 ans ☐ jamais

- Autres remarques du producteur :

.....
.....
.....
.....
.....
.....

Observations et remarques de l'enquêteur

- Présentation globale de la culture (carences, maladies, ravageurs) :

☐ bien entretenue ☐ assez bien ☐ moyennement entretenue ☐ mal entretenue

Remarques :
.....

- Propreté dans et autour des cultures de chrysanthèmes

☐ très propre ☐ propre ☐ assez propre ☐ moyen ☐ sale

Remarques :
.....

- Impression de l'enquêteur par rapport au climat lors de la visite

hygrométrie dans la culture : ☐ élevée ☐ assez élevée ☐ assez basse ☐ basse
température : ☐ élevée ☐ assez élevée ☐ assez basse ☐ basse
ventilation : ☐ aérée ☐ confinée

Remarques :
.....

- Humidité des cultures lors de la visite

humidité substrat : ☐ élevée ☐ assez élevée ☐ assez basse ☐ basse
humidité du feuillage: ☐ élevée ☐ assez élevée ☐ assez basse ☐ basse

Remarques :
.....

- Etat physiologie des cultures / les cultures sont à quelles stades ?

.....
.....

- Autres remarques et observations

.....
.....
.....
.....
.....
.....