



44 Rue d'Alésia
75 682 Paris Cedex 14
Tel 01 53 91 45 00

ASTREDHOR
PROGRAMME NATIONAL DE RECHERCHE
APPLIQUEE ET D'ETUDES 2010

*Recherche des causes de la mauvaise reprise au greffage
constatée en culture de rosiers de jardin*

Thématique : Techniques culturales et gestion des facteurs agronomiques.

L'Isle le 14 Mars 2011

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 de jardin.

Titre abrégé :

MOTS CLES : rosiers de jardin, 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 : Jean Marc DELACOUR

Domaine de Cornay

45 590 Saint Cyr en Val

Tel 02 38 64 10 33

Fax 02 38 64 10 77

Mél cdhrcentre@astredhor.fr

Eric VERDIN

INRA Virologie,

Centre de Recherches d'Avignon

BP 94

84 143 Montfavet Cedex

Tel

Mél : eric.verdin@avignon.inra.fr

Noëlle DORION

Agro-campus ouest

Rue le Nôtre

49 045 Angers Cedex

Tel 02 41 22 54 54

Fax 02 41 73 15 57

Mel noelle.dorion@agrocampus-ouest.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 quatrième année d'étude ayant essentiellement pour but de tester l'hypothèse physiologique de l'origine du phénomène de chute de greffe, le travail sera essentiellement réalisé sur le terrain dans les deux grands bassins de production que sont le Val de Loire et la région lyonnaise. Cependant, de nouveaux tests virologiques seront mis en œuvre en complément dans les laboratoires de l'INRA d'Avignon.

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 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.

Or, il s'avère aujourd'hui que les 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 dans le Val de Loire, 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 consiste 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. En parallèle une enquête a été conduite 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. 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 *in situ* 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 rosiers met systématiquement en œuvre un 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, influence sur la vigueur de la variété, etc) à l'intérêt des variétés, permettant ainsi de cultiver l'ensemble des variétés dans tous les types de sol.

Mais aujourd'hui cette méthode de multiplication pose problème pour la production de rosiers de jardin puisqu'elle s'accompagne du problème de mauvaise reprise au greffage qui fait l'objet de cette étude.

Or, dans le domaine des plants fruitiers notamment, des problèmes comparables ont été observés avec la combinaison de certains génotypes au travers du greffage. Il apparaît en effet que la réussite de la multiplication des plants fruitiers est souvent limitée par des problèmes de mauvaises reprises, appelés incompatibilité de greffe dans la littérature scientifique. Différentes explications ou hypothèses ont été avancées pour comprendre ces phénomènes.

Une première explication à ces problèmes 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 de figure 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 prunasine 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 par ailleurs 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).

Dans le cas des rosiers destinés à la production de fleurs coupées, la méthode de multiplication la plus utilisée est la greffe-bouture qui associe en une seule opération le bouturage du porte-greffe et le greffage de la variété et pour laquelle la période de multiplication semble pouvoir conduire à des taux de réussite différents (LEE JS et CHOI JK 1987, de VRIES DP 2003). La multiplication est alors faite sous serre, avec hormonage de la base du porte-greffe et sous brumisation.

Les rosiers de jardin par contre sont multipliés de façon plus traditionnelle avec un greffage effectué au champ sur des porte-greffe issus de semis et installés en pleine terre depuis quelques mois. Trois porte-greffe sont actuellement utilisés pour la production de rosiers de jardin, dans les différents bassins de production français (AKKERMAN AJ, 2003) :

- *Rosa canina* : qui a l'avantage d'être compatible avec la plupart des variétés, donne des plants vigoureux, mais présente par ailleurs bien des inconvénients : semis très hétérogènes, rameaux très épineux, très nombreux drageons. De ce fait, le type botanique a été abandonné mais a donné lieu à une sélection ayant débouché sur plusieurs cultivars dont *Rosa canina* 'Inermis' qui est aujourd'hui utilisé pour la production de rosiers fleurs coupées. Concernant les rosiers de jardin, seul *Rosa canina* 'Pfänder' est utilisé aussi bien dans le Val de Loire que dans le lyonnais pour la production de rosiers tiges car il permet de former un axe bien droit qui est greffée en tête, sans problèmes de compatibilité.

- *Rosa corymbifera* 'Laxa' : est un porte-greffe à port étalé, facile à écussonner, pouvant être greffé tôt en saison, conférant une vigueur moyenne à la variété greffée et une bonne résistance au froid. Il drageonne très peu. Une sélection à port plus dressé a été obtenue par Froebel, pépiniériste à Zurich, dénommé « *Rosa froebeli* » par certains pépiniéristes. Il présente une bonne compatibilité avec la plupart des variétés mais est mal adapté à la culture en conteneurs. C'est le porte-greffe utilisé en région lyonnaise.
- *Rosa multiflora* : porte-greffe très homogène, présentant un système racinaire dense bien adapté à la culture en conteneurs, conférant aux variétés une forte vigueur mais une moindre résistance au froid. Cependant, Akkerman AJ dit de lui : « A n'utiliser qu'à la demande de l'acheteur du fait de résultats au greffage variables ». Il drageonne peu et présente une période de végétation, et donc de greffage, plus courte que 'Laxa'. C'est le porte-greffe le plus utilisé dans le Val de Loire.

Différents travaux ont été conduits sur l'interaction entre porte-greffe et variétés. Ainsi Cabrera a montré que le porte-greffe utilisé modifie, pour une même variété, la répartition de la biomasse entre partie aérienne et système racinaire de la plante, l'intensité de la couleur des feuilles ainsi que leur teneur en éléments minéraux (CABRERA 2002). Agbaria et al ont montré quant à eux que l'activité enzymatique (nitrate réductase et glutamine synthétase) dans les feuilles variaient entre des hétérogreffes de 2 variétés implantées sur *Rosa indica* 'Major', des homogreffes de ces deux variétés entre elles et des autogreffes de chaque variété sur elle-même, tout en concluant que leurs résultats n'étaient pas très clairs et nécessitaient d'autres investigations (AGBARIA et al 1998). Mais ces articles ne mentionnent pas de problèmes particuliers de reprise au greffage en fonction des porte-greffe utilisés.

Par contre, une étude histologique conduite auparavant par Buck et Heppel et portant sur une comparaison de greffes de la variété 'Fire King' soit sur *Rosa multiflora* 'Brooks' soit sur *Rosa* x 'Manetti' avait montré que les points de greffes sur ce cultivar de *Rosa multiflora* présentaient de larges plages nécrotiques pénalisant la restauration de la continuité vasculaire. Ils n'avaient cependant pas émis d'hypothèse permettant d'expliquer cette constatation (BUCK GJ et HEPPEL BJ 1970).

En travaillant sur des semis de *Rosa multiflora* utilisés comme porte-greffe, et avec deux méthodes de greffage mettant en œuvre soit des greffons prélevés avec une mince couche de bois soit au contraire des greffons prélevés jusqu'à la moelle, Buck a distingué, suite à des observations histologiques fines, 3 types de comportement des greffes qu'il a appelé compatible, lentement défaillant et rapidement défaillant. Ses observations laissent à penser que ce gradient de compatibilité est lié non pas à la méthode de greffage mais à l'hétérogénéité génétique qui existe entre plants issus d'un semis (BUCK GJ 1971).

Ainsi le problème des mauvais résultats au greffage rencontrés par les producteurs de rosiers de jardin en France sur *Rosa multiflora* semble-t-il correspondre à un phénomène déjà mentionné dans la littérature scientifique, mais sans que l'explication du problème n'ait été clairement identifiée.

Sur rosier toujours, des travaux récents ont mis en évidence deux nouveaux virus qui viennent d'être caractérisés : le Rose spring dwarf associated virus (RSDaV) et le Rose cryptic virus (RCV) tous les deux associés à des proliférations foliaires (SALEM *et al.*, 2008 ; SABANADZOVIC *et al.*, 2008). Le RSDaV, appartenant au genre *Luteovirus*, n'est transmis que par 2 espèces de puceron. Le RCV est un cryptovirus dont les vecteurs naturels sont inconnus à ce jour. Ces 2 virus sont souvent associés mais des plantes infectées seulement par le RSDaV peuvent également exprimer des symptômes caractéristiques de proliférations foliaires.

Tous ces articles portant sur la compatibilité au greffage font référence à un problème mauvaise soudure entre les tissus du porte-greffe et ceux du greffon, voire à la mortalité des greffons, après un laps de temps de temps plus ou moins important, ce qui correspond aux différents cas d'incompatibilité décrits sur les rosacées fruitières. Mais, dans le cas du rosier, un autre phénomène existe qui conduit à la formation d'une pousse atypique appelée « rosette » et décrite dans la littérature sous le nom de RRD (pour « rose rosette disease »).

Si l'agent causal de cette affection n'a pas encore été définitivement identifié, plusieurs hypothèses ont été avancées (in CHASSAGNE et al 2005) :

- Slykhuis (1980) a suggéré que le RRD pourrait être provoquée par une réaction de la plante aux piqûres de nutrition d'acariens plutôt qu'être le résultat de l'infection par un pathogène.
- d'autres auteurs ont montré que la rosette résulte d'un agent pathogène et que sa transmission par la greffe se fait à partir des racines de *Rosa multiflora*. La transmission par greffe à des jeunes pousses en croissances s'est avérée plus efficace que sur des plantes enracinées à croissances lentes (Amrine et al., 1988 et 1990 ; Doudrick 1984 ; Epstein et al., 1994).
- Epstein (1993) et Di (1990) ont émis l'hypothèse que la rosette pourrait être due à un virus ou un phytoplasme. Cependant, Epstein et al.(1994) ont montré par ailleurs que la thérapie qu'ils ont appliquée aux plants atteints de RRD n'a pas permis la rémission des symptômes.

Quoi qu'il en soit, la piste de l'infection sanitaire de certains porte-greffe par un agent pathogène, même s'il est encore indéterminé, ne semble pas devoir être abandonnée. En effet, aux Etats-Unis, *Rosa multiflora* est une plante sauvage envahissante qui présente suffisamment souvent des symptômes de rosette pour que des essais aient été entrepris sur une possibilité de « débroussaillage biologique sélectif » grâce à cet agent pathogène (Amrine et al 1990, in CHASSAGNE et al 2005).

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-il conduire à une oxydation des tissus préjudiciable à la soudure. Ainsi, Le et Abdelhmid 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 (LE et ABDELHMID 2004).

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).

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

I. 2. Synthèse des observations 2007 – 2009 :

Une enquête a donc été réalisée en 2007 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.

Cette enquête, essentiellement destinée à recenser les différentes pratiques culturales utilisées par les producteurs, n'a pas permis de mettre en évidence un facteur susceptible d'expliquer le problème.

Il est apparu cependant, et les observations faites au champ en 2008 l'ont confirmé, que deux types de phénomènes cohabitent en fait en pépinière alors que les pépiniéristes parlent globalement de chute de greffe, de rosette ou de « maufinage » sans véritablement distinguer les deux types de symptômes :

- Dans le premier cas, le greffon donne naissance au printemps à une pousse qui se développe normalement jusqu'au moment où elle chute. Cette chute peut intervenir à la suite de la première taille qui est souvent faite de façon assez brutale à l'aide d'une barre de coupe, mais aussi à la suite d'un coup de vent, d'un binage mécanique ou encore sans raison apparente. Dans quelques cas elle n'apparaît qu'à l'arrachage voire même au tri. Nous appellerons donc ce phénomène

« chute de greffe ». Il s'agit du problème principal, qui peut affecter certaines années un nombre de plants considérable.

- Dans le second cas, le greffon donne naissance à une pousse nanifiée, excessivement ramifiée et dont les tiges restent grêles. Les pépiniéristes parlent parfois de « pousse en chou fleur » pour illustrer la silhouette de ces plants. Nous appellerons ce phénomène « rosette », conformément aux références bibliographiques présentées ci-dessus. Il donne des symptômes très comparables à ceux observés sur d'autres plantes et dont l'origine phytoplasmique a été démontrée. Il ne concerne que quelques pourcents des plants greffés.

Si les pépiniéristes ne sont pas à même de chiffrer précisément le poids relatif de ces deux phénomènes dans les pertes qu'ils subissent, ils les distinguent nettement par contre d'un strict échec au greffage qui se traduit par le fait que le greffon ne se soude pas au porte-greffe, qu'il se dessèche et qu'il est rapidement rejeté par celui-ci.

En 2008, un essai a été mis en place au CDHR C pour tester l'hypothèse « influence de la vigueur » que certains producteurs avait évoqué. Des plants greffés de façon traditionnelle en été 2007, avec une même variété sur les 2 porte-greffe *Rosa corymbifera* 'Laxa' et *Rosa multiflora*, ont été rempotés en conteneurs et soumis à deux modalités de culture comparant d'une part irrigation et fertilisation restreintes et d'autre part conditions de culture plus favorables à la vigueur. Malheureusement, aucune différence significative n'est apparue entre les modalités, tant sur la croissance des plants que sur l'intensité de la chute.

Par ailleurs, des prélèvements ont été réalisés en pépinière en 2008 et en 2009, dans les 3 régions ayant fait l'objet de l'enquête en 2007, plus un site de production dans le sud de la France, pour analyses virologiques. Une première série d'analyses destinées à mettre en évidence quelques uns des virus connus pour pouvoir être présents sur rosacées et provoquer des mauvaises reprises au greffage ont donc été réalisées, mais sans succès. En 2009, d'autres virus pouvant être incriminés dans un tel problème ont été testés, de même que certains phytoplasmes, mais là encore sans succès sauf dans quelques cas de porte-greffe présentant une croissance atypique dès leur plantation.

II. GAINS OU AVANTAGES ATTENDUS

II. 1. Intérêt scientifique et technique :

La mise en œuvre de cette étude permettant 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 5 ans, 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 :

L'action conduite en 2010 comporte trois volets.

Il est apparu lors des observations sur site en 2008, que certains plants présentaient, dès le stade du porte-greffe, une croissance atypique et un port étrangement compact et ramifié. Il s'agit donc d'une part de poursuivre des travaux engagés sur le terrain en 2009, pour vérifier le devenir de tels plants après greffage.

Il s'agit ensuite de mettre en comparaison, sur un même site pour lever les doutes sur un éventuel biais aux observations faites en pépinière et qui serait lié à une influence géographique, différentes combinaisons « porte-greffe x variété » pour pouvoir observer finement le comportement des plants et l'anatomie des points de greffe.

Il s'agit enfin, en laboratoire, de poursuivre les investigations sur la recherche de virus ou de phytoplasmes susceptibles d'être à l'origine des problèmes rencontrés au champ.

III 11 : Poursuite des observations de terrain 2009 (Tâche A) :

Les 2 années d'observation 2007 et 2008 nous ont donc amené à distinguer deux phénomènes distincts sous le terme générique de « problème de reprise au greffage ».

Dans le premier cas, le démarrage de la pousse issue de l'écusson se fait normalement, avec un écusson bien soudé et une tige principale de diamètre correct. Cependant, il apparaît rapidement que la croissance des plants atteints se ralentit, les feuilles prenant parfois un aspect bronzé et flétri. L'observation montre également que le point d'insertion de la tigelle sur l'écusson est très fragile, conduisant au symptôme de « **chute de greffe** » au moindre choc sous l'effet du vent, du passage de la bineuse, etc. Ces chutes de greffe interviennent la plupart du temps dès le mois de mai, mais il arrive que certains plants conservent un aspect à peu près normal durant toute la saison et que la chute n'intervienne que lors de l'arrachage voire du tri.



Dans le second cas, la hauteur du plant reste également très limitée, mais le symptôme le plus caractéristique provient du fait que 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 semblent nanifiées. Le volume global du plant s'inscrit alors dans une sphère, comme l'illustre la photographie ci-dessous, et nous utiliserons le terme de « **rosette** » pour désigner ce symptôme. 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 normalement soudé au porte-greffe.



Les comptages effectués en 2008 ont montré que le symptôme de « chute de greffe » peut affecter un nombre considérable de plants greffés sur *Rosa multiflora* (et très peu en comparaison sur *Rosa corymbifera* 'Laxa'), alors que la « rosette » n'affecte que quelques pourcents des plants.

Par ailleurs, l'observation des plantations de porte-greffe nous a montré que, dès ce stade, certains plants de *Rosa multiflora* présentent un aspect atypique avec des ramifications et des feuilles semblant plus ou moins nanifiées, à raison là encore de quelques pourcents des plants.

Or, sur d'autres plantes de la famille des rosacées telles que les fruitiers, des symptômes comparables à cette « rosette » sont connus pour être provoqués par la présence de phytoplasmes.

Dès lors, nous nous demandons si les porte-greffe d'aspect atypique ne seraient pas infestés par de tels phytoplasmes et ne donneraient pas naissance aux plants de rosier présentant le symptôme de « rosette ». L'objet de cette expérimentation est donc de tester cette hypothèse.

III 111 Porte-greffe :

Dans une parcelle de *Rosa multiflora* plantés au printemps 2009, nous avons repéré le 16 Juin 2009 des plants présentant cet aspect atypique plus ou moins marqué. Ces plants sont situés sur 6 rangs notés de R1 à R6 et chaque plant avait été repéré à l'aide d'une étiquette fichée en terre de façon à ce qu'ils puissent être retrouvés lors du greffage.

III 113 Procédure de greffage :

L'objectif de l'essai est donc de vérifier si les porte-greffe d'aspect atypique, greffés à partir de bois sain, donnent plus souvent que les autres (voire même systématiquement) naissance à un plant atteint de « rosette ».

Afin de ne pas prendre le risque de transmettre par le greffage un éventuel agent pathogène présent dans les porte-greffe d'aspect atypique, le greffage a commencé par ces plants, à partir de l'un des 3 plants sains de la variété correspondant à chaque rang. La lame du greffoir a été désinfectée à l'eau de Javel entre chaque plant, rincée à l'eau claire. Le greffage s'est ensuite poursuivi, variété par variété, sur les autres porte-greffe.

Nous avons ainsi l'assurance que tous les plants expérimentaux de chacun des 6 rangs ont bien été greffés à partir de bois sain.

III 114 Résultats :

Nous avons noté, en mai 2010, l'état des plants atypiques qui ont été marqués et greffés comme expliqué ci-dessus. Le tableau ci-dessous indique les observations qui ont été faites sur l'ensemble des plants expérimentaux.

Brocéliande		Grand Huit		Marvelle		Kimono		Emera		Caliza	
n°	état	n°	état	n°	état	n°	état	n°	état	n°	état
107	sain	107	petit	134	mort	119	sain	126	sain	133	mort
97	mort	101	mort	125	sain	100	sain	121	sain	87	rosette
69	mort	47	sain	116	sain	88	sain	31	sain	44	sain
4	rosette	1	rosette	60	sain	63	sain	16	mort	33	sain
				4	sain	17	sain	4	sain	9	sain

Sans chercher à faire une analyse statistique de ces comptages, le nombre de plants observé pour chaque variété étant très faible, il apparaît tout de même que, globalement, 18 plants sont notés sains sur les 28 observés, soit 64 % environ.

Il apparaît néanmoins aussi que 10 de ces 28 plants posent problème : 6 morts, 3 atteints de rosette et 1 ayant une croissance jugée anormalement faible.

III 115 Conclusions :

L'hypothèse que nous voulions tester, selon laquelle ces porte-greffe à croissance atypique seraient ceux donnant systématiquement naissance aux plants atteints de rosette, n'est donc pas vérifiée.

Il semble cependant qu'ils soient très fréquemment sujets à problème.

III 12 : Expérimentations sur site (Tâche B) :

III 121 Comparaison de différents type de *Rosa multiflora*

Les contacts établis avec les producteurs de rosier de la région de Bellegarde (Loiret) dans le cadre de ce programme ont permis d'affiner certains points abordés par l'enquête initiale. Il apparaît ainsi que ces producteurs distinguent nettement trois types de plants, tous commercialisés sans distinction sous le nom de *Rosa multiflora*, mais présentant des caractéristiques morphologiques différentes. Sont ainsi décrits :

- le type 'Authion' : très vigoureux, à port retombant, et posant semble-t-il le plus régulièrement problème,
- le type 'rouge' : vigoureux, épineux, et dont le bois est très rouge en hiver,

- le type 'allemand' : moins vigoureux, à port érigé, et semble-t-il moins sensible à la chute de greffe.

Les porte-greffe de *Rosa corymbifera* 'Laxa' quant à eux paraissent beaucoup plus homogènes et s'avèrent toujours beaucoup moins sensibles. Mais les deux porte-greffe sont actuellement cultivés dans des régions différentes et greffés à des dates différentes.

Les producteurs qui nous ont fait part de ces différences anatomiques semblent par ailleurs percevoir des différences de sensibilités au problème de mauvaise reprise au greffage de ces différents types de *Rosa multiflora*.

Pour tenter de vérifier cette hypothèse, nous avons donc mis en place un essai comparatif, réalisé en parallèle dans le Val de Loire et en région lyonnaise. Pour cela :

- * les 3 types de *Rosa multiflora* identifiés + *Rosa corymbifera* 'Laxa' ont été mis en comparaison. Pour permettre des comparaisons rigoureuses entre les deux sites, l'ensemble de ces porte-greffe a été commandé par le même pépiniériste puis chaque type de plant a été réparti entre les deux régions,

- * ils ont été greffés avec les 2 variétés qui nous servent de modèle : Queen Elisabeth et Pierre de Ronsard, qui semblent de sensibilité différente,

- * à deux dates de greffage aussi éloignées que possible mais restant bien entendu compatibles avec les conditions météorologiques des 2 régions et physiologiques des deux porte-greffe. Pour cela, nous avons adopté une date commune aux deux sites et une autre date plus précoce en région lyonnaise et plus tardive en région orléanaise,

- * en greffant 50 plants par modalité pour pouvoir comparer le pourcentage de plants chutant avec une fiabilité suffisante,

- * ce qui conduit donc à un total de 4 PG x 2 var x 2 dates de greffage x 50 plants = 800 plants pour chaque site de culture.

- * Dans chacune des régions, le greffage de la parcelle expérimentale a été réalisé par le même greffeur.

III 122 Observation de l'évolution des points de greffe

Par ailleurs, nous avons également mis en place un deuxième essai sur site en utilisant les deux combinaisons qui semblent *a priori* les plus distinctes d'après les pépiniéristes : le type 'Authion' de *Rosa multiflora* qui semble présenter le plus souvent des symptômes graves et *Rosa corymbifera* 'Laxa'. Ces plants ont été greffés avec Pierre de Ronsard qui semble plus sensible que Queen Elisabeth et là encore le même essai a été réalisé d'une part dans le Val de Loire et d'autre part en région lyonnaise, avec 50 plants également par modalité mais une seule date de greffage qui soit conforme à la pratique régionale de l'année. Cela conduit donc à 2 PG x 1 var x 50 plants = 100 plants par site de culture.

Ce deuxième essai, qui pourra donc être destructif, nous permettra quant à lui de réaliser des observations sur les points de greffe, en disséquant les unions sous une simple loupe binoculaire.

III 123 Essais mis en place dans le Val de Loire

En référence à l'appel d'offres d'octobre 2009, les essais du Val de Loire ont été mis en place sur un site de Bellegarde (Loiret).

L'essai principal porte donc sur une comparaison de quatre porte-greffe, trois étant commercialisés sous le nom de *Rosa multiflora*, avec toutefois des caractéristiques morphologiques différentes. Ils sont localement différenciés par les producteurs en trois types 'Authion', 'rouge', et 'allemand'. Le quatrième porte-greffe est *Rosa corymbifera* 'Laxa'.

Ci-après photos de chacun des types de porte greffe fin août 2010 :



Rosa multiflora Type Authion



Rosa multiflora Type rouge



Rosa multiflora Type Allemand



Rosa corymbifera 'Laxa'

a - Caractéristiques de la parcelle :

Le précédent cultural de l'année 2009 était une culture d'orge d'hiver

Analyse chimique du sol

Texture : sable

Teneur en éléments minéraux :

pH	M.O	P2O5	K2O	MgO	CaO
7.00	1.3 %	114 ppm	178 ppm	120 ppm	2070 ppm

b - Fertilisation de la parcelle :

Une fertilisation organique de fond a été réalisée en mars avec un enfouissement à la herse rotative. La fertilisation d'entretien a été apportée en une seule fois en juin avec un engrais Entec Stabil (avec retardateur de nitrification) 15.3.20 sur la base de 300 kg/ha. Cette opération a été suivie d'un binage pour assurer l'incorporation au sol.

c - Suivi des opérations culturales :

La préparation du sol a débutée à partir de l'automne 2009 par un passage de cover crop et de chisel puis en mars un passage de herse rotative.

La plantation des portes greffe a été réalisée le 5 mai 2010

Le 12 mai : Arrosage de 10 mm

Le 14 mai : Désherbage chimique au Cent 7 à 2 litres / ha

Le 15 mai : Arrosage de 10 mm

Le 4 juin : Débantage mécanique + désherbage manuel

Le 14 juin : Binage mécanique

Le 24 juin : Désherbage chimique au Fusilade

Le 7 juillet : Binage mécanique

Le 20 juillet : Arrosage de 15 mm

Le 26 juillet : Débantage mécanique suivi d'un arrosage de 20 mm

d - Dates de greffage des porte-greffe :

Période commune à la région lyonnaise pour la date du premier greffage soit le 30 juillet 2010.

Période de référence à la pratique en Région Centre : date du deuxième greffage le 14 août.

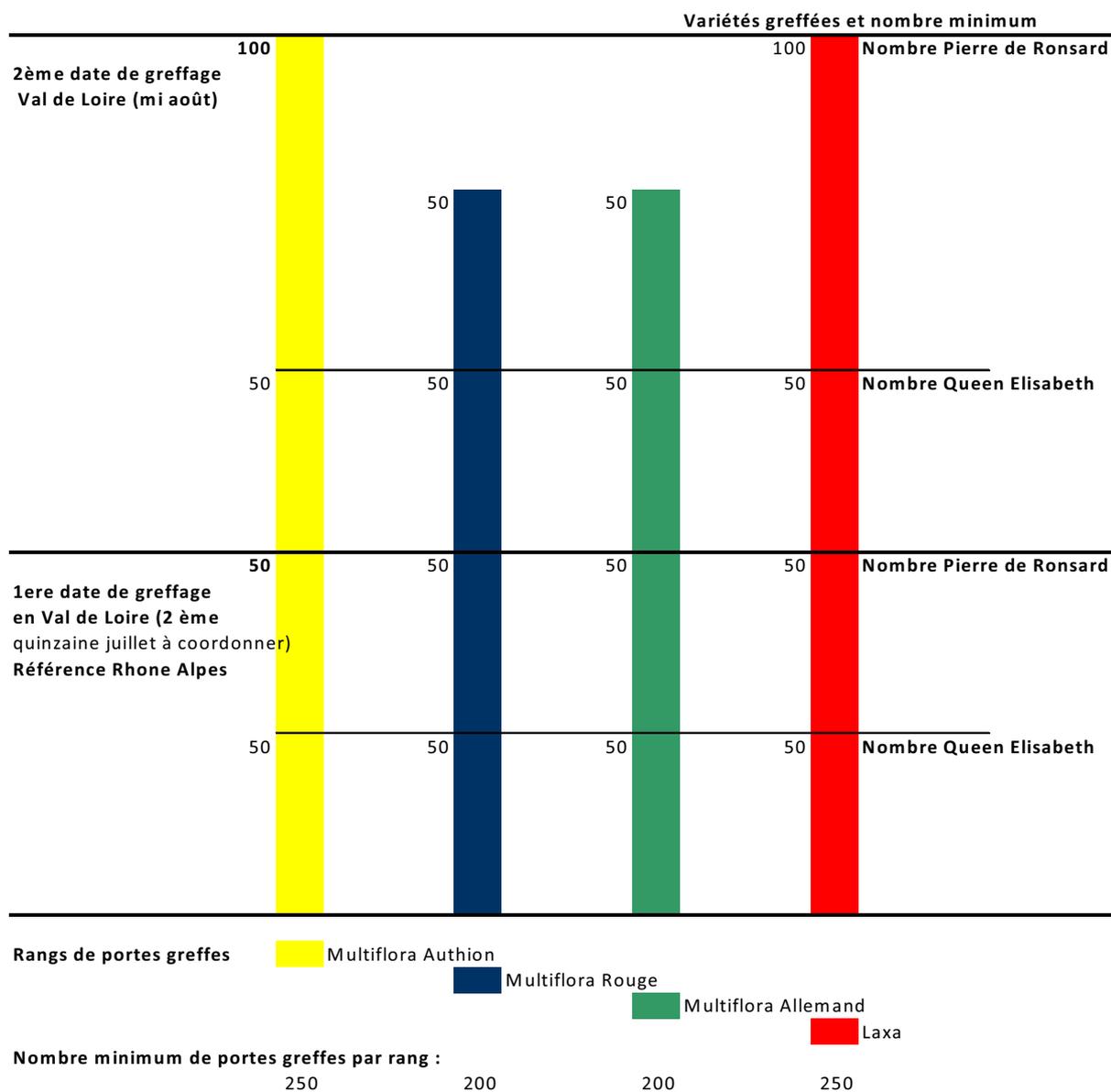
e - Implantation de l'essai :



Etat de la plantation fin août 2010

En fonction de l'organisation de la pépinière, le deuxième essai, qui ne porte que sur les 2 combinaisons porte-greffe x variété *a priori* les plus distinctes en terme de problème de reprise au greffage, est imbriqué dans le précédent.

f - Plan d'implantation combinée des deux essais :



Le 2 novembre : Broyage des parties aériennes des porte- greffe pour réaliser un rabattage sommaire à 30/40 centimètres de hauteur



Porte greffe après broyage



Etat des écussons repris novembre 2010

Le 5 novembre : Désherbage chimique Kerb 50 à 3 litres/ha et Cent 7 à 2 litres/ha

g - Contrôle phytosanitaire :

Les conditions climatiques ont été peu favorables au développement de pathogènes. Il n'y a pas eu de développement de rouille notamment sur *Rosa corymbifera* 'Laxa' qui est sensible.

Les interventions phytosanitaires sur la saison 2010 ont été les suivantes :

Le 22 juin : Dithane + Soufre

Le 1 juillet : Confidor

Le 17 juillet : Dithane + Soufre

Le 17 septembre : Cupravit

L'essai sera poursuivi en 2011 année par le rabattage du porte greffe (sevrage) et les observations suite à la reprise de végétation des greffes.

III 124 Essais mis en place en région lyonnaise

En région lyonnaise, les deux essais ont été plantés le 22 Mars 2010, selon les plans ci-dessous.

Pour le premier essai, et en fonction de l'organisation de la pépinière, chacune des deux variétés constitue un rang et les différents porte-greffe se succèdent donc sur le rang selon le schéma de plantation ci-dessous.

55 plants	L A X A	L A X A	↑
55 plants	A L L	A L L	
55 plants	R O U	R O U	440
55 plants	A U T	A U T	plants
55 plants	L A X A	L A X A	soit environ
55 plants	A L L	A L L	73m50
55 plants	R O U	R O U	
55 plants	A U T	A U T	↓
	Rang 1	Rang 2	

La plantation ci-dessus a ensuite été divisée en deux blocs au moment du greffage pour que les plants greffés à une date donnée soient groupés sur le terrain, selon le schéma de greffage ci-dessous.

	Rang 1	Rang 2	
55 plants	L A X A	L A X A	↑
55 plants	A L L	A L L	greffage de juin
55 plants	R O U	R O U	
55 plants	A U T	A U T	↓
55 plants	L A X A	L A X A	↑
55 plants	A L L	A L L	greffage
55 plants	R O U	R O U	de juillet
55 plants	A U T	A U T	↓
	Queen Elisabeth	Pierre de Ronsard	

Pour la période de greffage commune avec la région orléanaise, la date du 21 Juillet a été retenue. Le greffage conforme à la pratique de l'entreprise a été réalisé quant à lui le 24 Juin 2010.

Le deuxième essai porte donc sur :

- le type de *Rosa multiflora* présentant le plus souvent des symptômes graves d'après les pépiniéristes du Val de Loire, à savoir le type 'Authion', et *Rosa corymbifera* 'Laxa' pris comme référence.
- ces plants ont été greffés avec Pierre de Ronsard qui semble plus sensible que Queen Elisabeth,

Pour cet essai la seule date de greffage conforme à la pratique régionale de l'année a été retenue, soit le 24 Juin.

Il a été planté dans le prolongement de l'essai précédent, selon le schéma de plantation présenté ci-dessous.

	55 plants	L A X A	↑ 110 plants soit	
	55 plants	A U T	environ 18 m 50 ↓	
		Pierre de Ronsard		

III 13 : Recherche de virus et phytoplasmes dans les tissus végétaux (Tâche C) :

Sur arbres fruitiers notamment, certains virus et phytoplasmes sont connus pour avoir un effet négatif sur la reprise de greffe ou pour provoquer des symptômes assez comparables à la rosette que nous avons décrite sur les rosiers, et pour être responsables de phénomènes d'incompatibilité. Par ailleurs, quelques résultats encourageants ont été obtenus sur les porte-greffe présentant une croissance atypique en 2009. En effet le *Tobacco streak virus* (TSV) a été détecté sur des tabacs sensibles ayant été indexés avec du matériel provenant de plusieurs des porte-greffe suivis. Or, le TSV fait partie des 5 principaux virus décrits sur rosier et il est généralement responsable de mosaïque foliaire. Ces résultats sont en cours de confirmation par l'utilisation de réactifs moléculaires.

Nous avons donc poursuivi en 2010 l'exploration de cette hypothèse, sur les plants issus des porte-greffe dont les symptômes se sont traduits par une croissance atypique en 2009. Ainsi, les analyses ont été pratiquées sur la trentaine de porte-greffe qui ont été marqués individuellement en pépinière (voir ci-dessus) en comparaison avec une dizaine de plants ne présentant pas de symptômes (témoin sains).

Au printemps 2010, des échantillons ont été prélevés sur chacun de ces 30 plants à croissance atypique afin de les indexer sur différents hôtes sensibles pour permettre une éventuelle multiplication virale : greffage sur pêcher et rosier et inoculation mécanique sur tabac. Nous avons procédé par la suite à des analyses moléculaires et sérologiques pour rechercher virus et phytoplasmes :

- Les deux nouveaux virus récemment caractérisés sur rosier, le Rose spring dwarf associated virus (RSDaV) et le Rose cryptic virus (RCV) tous les deux associés à des proliférations foliaires. Ces 2 virus sont souvent associés mais des plantes infectées seulement par le RSDaV peuvent exprimer des symptômes caractéristiques de rosette. Quoiqu'il en soit et en raison des symptômes auxquels ils sont associés, ces 2 virus ont été recherchés sur ces plants en utilisant des réactifs moléculaires spécifiques.
- En complément de cette recherche nous avons procédé également à des analyses pour détecter la présence de phytoplasmes à l'aide d'outils moléculaires polyvalents. En effet, de nombreuses phytoplasmoses sont associées à une prolifération anarchique du feuillage (maladie des balais de sorcière du limettier ou de l'amandier, maladie de la prolifération du pommier...).

Enfin, les 5 principaux virus décrits sur le rosier ont également été recherchés par DAS-ELISA (sérologie) comme cela avait été le cas en 2008 et 2009 à partir des rosiers présentant les symptômes de chute de greffe. Il s'agit de trois Ilarvirus : le Prunus necrotic ringspot virus (PNRSV), du Tobacco streak virus (TSV) et de l'Apple mosaic virus (ApMV), et de deux Nepovirus : le Strawberry latent ringspotvirus (SLRSV) et l'Arabis mosaic virus (ArMV)..

Enfin, des analyses moléculaires ont été directement pratiquées, d'une part sur le matériel prélevé en pépinière et d'autre part sur des plants greffés sur hôtes sensibles : tests de détection vis-à-vis du Rose cryptic virus (RCV), du Rose spring dwarf associated virus (RSDaV) et de phytoplasmes.

Aucune présence de virus ou de phytoplasme n'a pu être mise en évidence sur les plants ayant fait l'objet d'analyses, malgré le large panel des méthodes mises en œuvre et l'éventail des virus et phytoplasmes recherchés.

Ce résultat confirmant ceux obtenus les années précédentes, il semble possible désormais de dire que le problème de mauvaise reprise au greffage auquel sont confrontés les producteurs de rosiers de jardin, qu'il s'agisse de la chute de greffe ou de la rosette, n'est pas du à une infestation des plants par un virus ou un phytoplasme connu à ce jour. La piste phytosanitaire peut donc être abandonnée pour la poursuite de ce programme pour privilégier les hypothèses physiologique ou génétique dans la suite des travaux.

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

Le Comité de pilotage du programme s'est réuni le 2 Octobre 2009 afin de faire le point sur les essais conduits en 2007, 2008 et 2009 et à préciser les protocoles des différents essais proposés pour 2010.

Il s'est réuni de nouveau le 11 Octobre 2010 pour préparer la synthèse des résultats 2010 et élaborer le protocole d'observation des points de greffe qui sera utilisé en 2011.

V. REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Agbaria H., Heuer B. et Zieslin N., 1998, Rootstock imposed alterations in nitrate reductase and glutamine synthétase activities in leaves of rose plants, *Biologia Plantarum* 41 (1), pp 85-91.

Akkerman AJ, 2003, Seedling stocks, *Encyclopedia of Rose science*, Vol 2, pp 656-661, Elsevier Academic Press Ed.

Buck GJ et Heppel BJ, 1970, A bud-graft incompatibility in *Rosa*, *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 95(4), pp 442-446

Buck GJ, 1971, Bud-graft incompatibility of *Rosa multiflora* seedling understock, *J. amer. Soc. Hort. Sci.* 96(5), pp 610-612

Cabrera RI., 2002, Rose yield, dry matter partitioning and nutriment status responses to rootstock selection. *Scientia Horticulturae*, vol 95 , pp 75-83.

Chassagne P., Clappier Emilie, Dvière JF., Javoy Marie-Laure, Jourdhier Loraine, Lales Anne-Claire, Lan Leung L., 2005, Mise en place d'un système de traçabilité pour les porte-greffe de rosiers de jardin, Projet tutoré INH.

Claverie Marion, 2008, Dépérissement de la Syrah : les facteurs impliqués dans quelques cas de maladies à étiologie complexe sur autres végétaux forestiers ou cultivés. Synthèse bibliographique. Document ENTAV, 45p.

de Vries DP, 2003, Usage of rootstocks, *Encyclopedia of Rose science*, Vol 2, pp 645-651, Elsevier Academic Press Ed.

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.

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

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.

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.
- Lee, J.S., Choi, J.K., 1987. Studies of rootstocks and time of grafting for improving grafting of *Rosa hybrida* cv. Queen Elisabeth and *Hibiscus syriacus* cv. Bonjoia in a closed humid chamber. *Journal of the Korean Society for Horticultural Science*, vol.28, p158-164.
- 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, Graftin compatibility 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, pp 112-123.
- Sabanadzovic S. et Ghanem-Sabanadzovic N.A., 2008, Molecular characterization and detection of a tripartite cryptic virus from rose. *Journal of Plant Pathology*, 90 (2), pp 287-293.
- Salem N., Golino D.A., Falk B.W. & Rowhani A., 2008, Identification and partial characterization of a new Luteovirus associated with Rose Spring Dwarf Disease, *Plant Disease* Vol. 92 (4), pp 208-212.
- Treutter D, Feucht W, 1988, Accumulation of the flavenoid prunin in *Prunus avium* / *Prunus cerasus* grafts and its possible involvement in the process on incompatibility, *Acta Horticulturae*, 227, 74-74.