



(12) FASCICULE DE BREVET

- (11) N° de publication : **MA 33513 B1** (51) Cl. internationale : **A01N 63/02; A01N 65/20; A01N 65/00; A01P 3/00**
- (43) Date de publication : **01.08.2012**

-
- (21) N° Dépôt : **34611**
- (22) Date de Dépôt : **07.02.2012**
- (30) Données de Priorité : **10.08.2009 IT VR2009A000123**
- (86) Données relatives à l'entrée en phase nationale selon le PCT : **PCT/IB2010/053552 05.08.2010**
- (71) Demandeur(s) :
- **STATE OF ISRAEL, MINISTRY OF AGRICULTURE & RURAL DEVELOPMENT, AGRICULTURAL RESEARCH ORGANIZATION (A.R.O.) - THE VOLCANI CENTER, P.O.B. 6 50250 Bet-Dagan (IL)**
 - **FONDAZIONE EDMUND MACH - ISTITUTO AGRARIO SAN MICHELE ALL'ADIGE, Via Edmondo Mach 1 38010 San Michele all'Adige TN (IT)**
 - **TRENTINO SVILUPPO S.P.A., Via Fortunato Zeni 8 I-36068 Rovereto (TN) (IT)**
- (72) Inventeur(s) : **PERTOT, Ilaria ; ELAD, Yigal**
- (74) Mandataire : **M. MEHDI SALMOUNI-ZERHOUNI**

(54) Titre : **UTILISATION D'UNE COMPOSITION POUR LE TRAITEMENT ET/OU LA PROPHYLAXIE DES PLANTES ET DITE COMPOSITION**

- (57) Abrégé : La présente invention concerne l'utilisation d'un extrait de bSuf ou d'un hydrolysat de protéine ou d'un mélange d'extrait de bSuf et d'hydrolysat de protéine, en tant que substance active, pour le traitement et/ou la prophylaxie de plantes contre l'action d'agents pathogènes. La présente invention concerne en outre une composition comprenant un extrait de bSuf ou un hydrolysat de protéine ou un mélange d'extrait de bSuf et d'hydrolysat de protéine, en tant que substance active, pour le traitement et/ou la prophylaxie de plantes contre l'action d'agents pathogènes.

**UTILISATION D'UNE COMPOSITION DESTINEE AU TRAITEMENT ET/OU A LA
PROPHYLAXIE DE PLANTES ET COMPOSITION ASSOCIEE**

ABREGE

La présente invention concerne l'utilisation d'un extrait de bœuf ou d'un hydrolysat
5 de protéine ou d'un mélange d'un extrait de bœuf et d'un hydrolysat de protéine, en
tant que substance active, pour le traitement et/ou la prophylaxie de plantes contre
l'action de pathogènes. La présente invention concerne également une composition
comprenant un extrait de bœuf ou un hydrolysat de protéine ou un mélange d'un
10 extrait de bœuf et d'un hydrolysat de protéine, en tant que substance active, pour le
traitement et/ou la prophylaxie de plantes contre l'action de pathogènes.

01 AOUT 2012
33513

SIB-BW55E

**UTILISATION D'UNE COMPOSITION DESTINEE AU TRAITEMENT ET/OU A LA
PROPHYLAXIE DE PLANTES ET COMPOSITION ASSOCIEE**

DESCRIPTION

5 La présente invention concerne généralement le domaine des soins ou de la protection des plantes en agriculture. Elle concerne plus spécifiquement le traitement et/ou la prophylaxie de plantes contre l'action de pathogènes des plantes, comme, par exemple, des bactéries, des champignons et équivalents.

10 La présente invention concerne notamment l'utilisation d'une composition, et la composition associée, pour le traitement et/ou la prophylaxie de plantes contre l'action de pathogènes des plantes, à laquelle on fait conventionnellement référence comme à un biostimulant.

15 Chaque année, les cultures reçoivent des niveaux élevés de produits destinés à les protéger (notamment des fongicides) pour garantir un niveau de production suffisant (quantitativement et qualitativement). Les maladies foliaires, en particulier, peuvent terriblement affecter les plantes si elles ne sont pas traitées de manière adaptée avec des fongicides, ou autres compositions ciblant le traitement desdits pathogènes.

20 Actuellement, l'un des produits destinés à protéger les cultures le plus largement utilisé est le soufre. Un exemple de produit disponible dans le commerce à base de soufre est Thiovit, produit par Syngenta et généralement utilisé à une concentration de 3 g/L.

25 Un désavantage à l'utilisation de ce produit de protection des cultures est qu'il n'est pas compatible avec les exigences d'une production responsable, étant donné qu'il peut entraîner une phytotoxicité sur les plantes, favoriser la pullulation d'acariens phytophages et laisser des résidus toxiques sur des produits destinés à la consommation. Finalement, le monde agricole souhaiterait qu'une composition destinée au traitement et/ou à la prophylaxie de plantes, qui puisse par conséquent être utilisée en tant que produit de protection des cultures sûr et efficace, et qui en même temps satisfasse aux exigences d'une production agricole responsable, soit
30 disponible.

L'article de Crisp P. *et al.* dans "An evaluation of biological and abiotic controls for grapevine powdery mildew. Vineyard Trials" AUSTRALIAN JOURNAL OF GRAPE AND WINE RESEARCH, vol. 12, n° 3, 1 octobre 2006 est également connu, et décrit les résultats obtenus d'un traitement avec de la poudre de lait et de lactosérum sur les feuilles de vigne. Il a été découvert que le traitement avec la
35 poudre de lait ou de lactosérum permettait d'obtenir une réduction remarquable des champignons sur les feuilles de vigne. Bien qu'ils comprennent également des

protéines, le lait et le lactosérum ne sont pas considérés comme un hydrolysate de protéines produit par digestion enzymatique et agissent comme un fongicide de contact, en d'autres termes ils exercent une action qui détruit directement les champignons.

5 Cependant, le lait et/ou le lactosérum, bien qu'ils soient avantageux de plusieurs points de vue, entraînent certains désavantages tels que, par exemple, la réduction de la vigueur des plantes après leur application.

La demande WO 00/19821 décrit des procédés et des compositions de mitigation du stress des plantes qui comprennent le traitement de la plante avec une quantité
10 efficace d'acide gamma amino butyrique (GABA) seul ou en combinaison avec de l'acide glutamique et/ou une source d'acides aminés protéiques. Un problème technique à la base de la présente description repose dans la fourniture d'une composition destinée au traitement et/ou à la prophylaxie de plantes et permettant de surmonter lesdits désavantages apparents de l'art antérieur, et/ou d'obtenir des
15 avantages supplémentaires.

La présente invention concerne notamment l'utilisation d'un extrait de bœuf ou d'un hydrolysate de protéine ou d'un mélange d'un extrait de bœuf et d'un hydrolysate de protéine, en tant que substance active, pour le traitement et/ou la prophylaxie de plantes contre l'action de pathogènes.

20 La présente description concerne également une composition comprenant un extrait de bœuf ou un hydrolysate de protéine ou un mélange d'un extrait de bœuf et d'un hydrolysate de protéine, en tant que substance active, pour le traitement et/ou la prophylaxie de plantes contre l'action de pathogènes.

Des caractéristiques secondaires du sujet de la présente invention sont définies
25 dans les revendications dépendantes respectives.

Notamment, dans la présente invention, le terme « substance active » signifie que l'extrait de bœuf ou l'hydrolysate de protéine ou le mélange d'extrait de bœuf et d'hydrolysate de protéine peut également être utilisé seul tel qu'illustré dans les
30 exemples 1 à 5 suivants, chacun comme un principe actif ou un principe thérapeutiquement actif ou efficace, en d'autres termes comme une substance efficace en soi lorsqu'elle est appliquée sur la plante pour défendre ou protéger la plante contre les pathogènes.

En fait, tel qu'illustré dans les exemples suivants, l'extrait de bœuf ou l'hydrolysate de protéine ou le mélange d'extrait de bœuf et d'hydrolysate de protéine, sont appliqués
35 sur les plantes pour les propriétés intrinsèques de protection et de défense des plantes.

Dans la pratique, l'extrait de bœuf ou l'hydrolysate de protéine ou le mélange d'extrait de bœuf et d'hydrolysate de protéine peut être utilisé seul, tel qu'illustré dans les exemples 1 à 5 suivants, et est efficace pour la protection et la défense des plantes contre les pathogènes avec des résultats identiques à ceux obtenus en utilisant une substance fongicide seule (comme le soufre), tel que ceci est par exemple expliqué dans les exemples 10 à 14.

L'expression « extrait de bœuf », également dénommé extrait de protéine, signifie un extrait dérivé d'une infusion (ébullition) de viande et de bœuf sans intervention d'enzymes hydrolytiques.

De plus, dans la présente invention, l'expression « hydrolysate de protéine », ou peptone, signifie un produit de digestion enzymatique formé par une composition comprenant des chaînes d'acides aminés complètement liées, ou partiellement liées, ou mélangées avec des lipides et obtenues après digestion enzymatique de protéines d'origine animale (par exemple, caséine ou albumine) ou végétale (par exemple, soja, pois).

Le sujet de la présente invention permet d'obtenir plusieurs avantages pertinents.

Un avantage à l'utilisation dudit extrait de bœuf ou dudit hydrolysate de protéine ou d'un mélange dudit extrait de bœuf et dudit hydrolysate de protéine est que ces produits, qui sont normalement utilisés comme un milieu de culture en microbiologie, sont généralement disponibles pour un microbiologiste.

Dans un mode de réalisation, la composition comprend un mélange d'extrait de bœuf et d'hydrolysate de protéine. Ce mode de réalisation entraîne l'avantage de combiner l'efficacité contre les pathogènes de l'extrait de bœuf et de l'hydrolysate de protéine (ou peptone) comparé à leur utilisation individuelle.

En fait, il s'est avéré que la combinaison d'extrait de bœuf et de peptide faisait augmenter l'efficacité par rapport aux deux produits utilisés individuellement.

Un autre avantage de la composition selon la présente invention est qu'un extrait de bœuf ou un hydrolysate protéique sont des composés naturels, qui peuvent être jugés compatibles avec les exigences prévues pour la défense et la protection des plantes en agriculture biologique et/ou responsable.

Dans un mode de réalisation, la composition est obtenue à partir d'extrait de bœuf, de peptone ou d'un mélange de ceux-ci, qui sont dissous dans l'eau.

Dans un mode de réalisation, la composition est une préparation (en d'autres termes, une préparation prête à l'emploi) comprenant un mélange de peptone et d'extrait de bœuf ; ladite préparation étant conventionnellement connue sous le nom de « bouillon nutritif » et utilisée en tant que substrat microbiologique. La préparation est dissoute dans l'eau.

Dans une variante de mode de réalisation, le mélange (ou préparation de bouillon nutritif) comprend également, outre ledit hydrolysate de protéine ou peptone et l'extrait de bœuf, du chlorure de sodium.

5 Le bouillon nutritif est disponible dans le commerce, par exemple, un bouillon nutritif en poudre, commercialisé par Difco, et comprenant de l'extrait de bœuf/peptone en un rapport en poids de 3/5, respectivement.

Un autre bouillon nutritif disponible dans le commerce est le bouillon nutritif commercialisé par Oxoid (sous le nom « Nutrient Broth n° 2 », code CM0067), et comprenant de l'extrait de bœuf/peptone/chlorure de sodium en un rapport en poids
10 de 10/10/5, respectivement.

Une composition basée sur ledit bouillon nutritif comprend au moins 13 % d'azote et 2,2 % d'azote aminé.

Dans un mode de réalisation, la composition comprend une solution aqueuse d'extrait de bœuf en une concentration comprise entre 0,01 et 100 g/L et/ou
15 d'hydrolysate de protéine en une concentration comprise entre 0,01 et 100 g/L.

Une efficacité satisfaisante a été observée en utilisant une solution aqueuse de 1 g/L d'extrait de bœuf et de 1 g/L d'hydrolysate de protéine.

Dans le cas où l'on utilise le bouillon nutritif susmentionné ayant un rapport extrait de bœuf/hydrolysate de protéine de 1/1 à 3/5 respectivement, une composition s'est
20 avérée active par dissolution dans l'eau d'environ 0,08 et 25 g/L de préparation ; la plus grande efficacité a été obtenue avec une préparation ayant une concentration de 8 g/L.

Une telle composition est efficace pour protéger les plantes des pathogènes des végétaux et par conséquent réduire les maladies des plantes. Le composé est
25 appliqué sur des plantes de la même manière qu'un traitement fongicide.

Par exemple, des résultats satisfaisants ont été obtenus lors de l'application sur le genre *Podosphaera*, et en particulier contre *Podosphaera aphanis* et *Podosphaera xanthii*, contre la famille *Erysiphaceae*, plus particulièrement sur le genre *Erysiphe*, et en particulier contre *Erysiphe necator*, sur la classe des *Oomycetes*, et en
30 particulier contre *Plasmopara viticola*.

Notamment, la composition selon l'un quelconque des modes de réalisation indiqués ci-dessus induit dans la plante un mécanisme de résistance contre les pathogènes et, par conséquent, peut présenter une activité non spécifique contre un ou plusieurs pathogènes.

35 Par conséquent, la présente invention concerne une composition de lutte contre les pathogènes des plantes, ladite composition pouvant être appliquée comme un traitement fongicide ou pesticide normal du composé mentionné, seul ou

conjointement à des engrais ou autres produits de protection des cultures.

Dans un mode de réalisation, la composition peut être utilisée pour combattre les pathogènes des plantes s'attaquant aux plantes des familles *Rosaceae*, *Vitaceae* et/ou *Cucurbitaceae* ; en particulier, une composition selon la présente invention
5 dissoute dans une solution aqueuse est particulièrement active contre *Podosphaera aphanis* sur les fraises, contre *Erysiphe necator* sur le raisin, contre *Podosphaera xanthii* sur les cucurbitacées comme le concombre et la courgette.

De plus, il s'est avéré que la composition a également une action directe contre les spores/conidies des pathogènes et qu'elle inhibe partiellement leur germination. En
10 particulier contre le genre *Podosphaera*, et en particulier contre *Podosphaera aphanis* et *Podosphaera xanthii*, contre la famille *Erysiphaceae*, plus particulièrement contre le genre *Erysiphe*, et en particulier contre *Erysiphe necator*.

Le terme « plante » est utilisé pour indiquer un organisme végétal et il comprend également les termes semences, bouture, buisson, arbre, vigne racinée.
15 L'utilisation de la composition selon la présente invention pour la défense de la santé des plantes contre des pathogènes des plantes peut être du type préventif (prophylaxie) avant qu'une maladie ne se manifeste, et du type curatif (traitement) après la manifestation d'une maladie.

La composition selon l'un quelconque des modes de réalisation indiqués ci-dessus
20 peut être utilisée en agriculture, dans la production de fruits, en horticulture, pour les traitements post-récolte de produits agricoles et alimentaires, sur le gazon et dans les écosystèmes naturels.

La composition selon l'un quelconque des modes de réalisation indiqués ci-dessus peut être appliquée avec une formulation (co-formulants) comprenant l'ajout d'un
25 diluant adapté (tel qu'anticipé ci-dessus, de l'eau) et des coadjuvants facultatifs, comme par exemple, des substances qui sont capables de modifier les propriétés d'une interface (par exemple, des interfaces liquide/solide, liquide/air ou liquide/liquide) en réduisant la tension interfaciale ou en conduisant à des modifications d'autres propriétés comme par exemple, la dispersion, l'émulsification
30 et le mouillage (agents de dispersion, émulsifiants, agents de mouillage, épaississants).

La composition selon l'un quelconque des modes de réalisation indiqués ci-dessus peut être appliquée par ajout aux produits chimiques ou biologiques de protection
des cultures (comme, par exemple, des fongicides, des insecticides, des acaricides)
35 pour faire augmenter son efficacité et son spectre d'activité.

De plus, la composition selon l'un quelconque des modes de réalisation indiqués ci-dessus peut être ajoutée à des engrais, donnant des éléments nutritifs pour la

plante, tels que l'azote, le phosphore, le potassium et les microéléments.

Des exemples de fongicides qui peuvent être ajoutés à la composition selon la présente invention sont, par exemple, le soufre, l'azoxystrobine, le penconazole.

D'autres avantages, caractéristiques et étapes du sujet de la présente invention
5 seront évidents dans la description détaillée suivante de ses modes de réalisation, proposée à titre d'exemple et non à titre restrictif.

Cependant, la manière dont chaque exemple de mode de réalisation peut entraîner un ou plusieurs des avantages cités ci-dessus est évidente ; l'objectif n'étant toutefois pas que chaque exemple de mode de réalisation entraîne en même temps
10 la totalité des avantages cités ci-dessus.

Notamment, par référence aux figures annexées :

- la figure 1 présente un effet du traitement avec certaines compositions selon la présente invention sur la germination des conidies de *Podosphaera xanthii* sur une lamelle de verre ;
- 15 – la figure 2 présente un effet du traitement avec certaines compositions selon la présente invention sur la germination des conidies de *Podosphaera xanthii* sur des feuilles de concombre ;
- la figure 3 présente un effet du traitement avec la composition selon la présente invention sur la gravité d'une infection par *Podosphaera aphanis* chez le concombre ;
- 20 – la figure 4 présente un effet du traitement avec la composition selon la présente invention sur l'incidence et la gravité d'une infection par *Podosphaera aphanis* sur des feuilles de fraise ;
- la figure 5 présente un effet du traitement avec la composition selon la présente invention sur l'incidence et la gravité d'une infection par *Erysiphe necator* sur des feuilles de vigne ;
- 25 – la figure 6 présente un effet du traitement avec une composition selon la présente invention sur la gravité d'une infection par *Podosphaera xanthii* sur les feuilles de concombre ;
- 30 – la figure 7 présente un effet du traitement avec une composition selon la présente invention sur la gravité d'une infection par *Podosphaera xanthii* sur les feuilles de courgette ;
- la figure 8 présente un effet du traitement avec une composition selon la présente invention sur la gravité d'une infection par *Podosphaera xanthii* sur les
35 feuilles de concombre, où en particulier, les feuilles plus vieilles (V), les feuilles intermédiaires (M) et les feuilles plus jeunes (G) ont fait l'objet d'une évaluation séparée ;

- la figure 9 présente un effet du traitement avec une composition selon la présente invention sur la gravité d'une infection par *Podosphaera xanthii* sur les feuilles de courgette, où en particulier, les feuilles plus vieilles (V), les feuilles intermédiaires (M) et les feuilles plus jeunes (G) ont fait l'objet d'une évaluation séparée ;
 - la figure 10 présente un effet du traitement avec une composition selon la présente invention sur la gravité d'une infection par *Podosphaera xanthii* sur les feuilles de courgette.
- 10 Si l'on se réfère aux exemples 1 à 6 suivants, un procédé de préparation d'une composition selon la présente invention est décrit.

EXEMPLE 1

15 On a dilué 3 g d'extrait de bœuf en poudre dans 1 litre d'eau à température ambiante.

La solution aqueuse obtenue est une composition adaptée pour le traitement de plantes selon la présente invention.

EXEMPLE 2

20 On a dilué 5 g de peptone ou hydrolysate de protéine en poudre dans 1 litre d'eau à température ambiante.

La solution aqueuse obtenue est une composition adaptée pour le traitement de plantes selon la présente invention.

25 EXEMPLE 3

On a dilué 1 g de peptone en poudre dans 1 litre d'eau à température ambiante.

La solution aqueuse obtenue est une composition adaptée pour le traitement de plantes selon la présente invention.

30 EXEMPLE 4

On a dilué 1 g d'extrait de bœuf et 1 g de peptone dans 1 litre d'eau à température ambiante.

La solution aqueuse obtenue est une composition adaptée pour le traitement de plantes selon la présente invention.

35

EXEMPLE 5

On a fait se dissoudre 8 g d'une préparation en poudre contenant un extrait de

bœuf et de la peptone en un rapport de 3/5 et auquel on fait communément référence sur le marché comme à un "bouillon nutritif" dans 1 litre d'eau à température ambiante.

5 EXEMPLE 6

On a mélangé une composition préparée selon l'un quelconque des exemples 1 à 5 ci-dessus avec :

- 10 - des co-formulants, comme par exemple, des surfactants, en d'autres termes des substances qui, pour améliorer l'application sur les plantes, sont capables de modifier les propriétés d'une interface des composants de la composition (par exemple, une interface liquide/solide, liquide/air ou liquide/liquide) en réduisant la tension interfaciale ou en conduisant à des modifications d'autres propriétés comme par exemple, la dispersion, l'émulsification et le mouillage (agents de dispersion, émulsifiants, agents de mouillage, épaississants) ;
 - 15 - des produits chimiques ou biologiques de protection des cultures (comme, par exemple, des fongicides, des insecticides, des acaricides pour faire augmenter leur efficacité et leur spectre d'activité) ;
 - des engrais, donnant des éléments nutritifs à la plante, tels que l'azote, le phosphore, le potassium et les microéléments.
- 20 Des exemples de fongicides qui peuvent être ajoutés à la composition selon la présente invention sont, par exemple, le soufre, l'azoxystrobine, le penconazole. Le mélange peut être réalisé à la fois dans des conditions anhydres, avant la dilution dans l'eau et sous la forme d'un ajout à la solution aqueuse.

25 EXEMPLE 7

Dans le présent exemple, une application d'une composition réalisée selon l'un quelconque des exemples 1 à 6 est décrite.

Notamment, une application selon la présente invention entraîne la pulvérisation de la solution sur des plantes ou des parties de plantes ou leur immersion dans la solution.

30 Le traitement peut être appliqué de manière préventive, une seule fois ou plusieurs fois à des intervalles de temps, par exemple, tous les 3 jours, à la fois à titre préventif (prophylaxie avant la manifestation d'une maladie) et à titre curatif (traitement après la manifestation d'une maladie provoquée par le pathogène).

35

EXEMPLE 8

Dans le présent exemple, les propriétés d'une composition selon la présente

invention contre les spores/les conidies des pathogènes des plantes sont décrites. Notamment, une inhibition de la germination des conidies de *Podosphaera aphanis* ou des conidies de *Podosphaera xanthii*, à la fois *in vitro* (sur une lamelle de verre) et sur une feuille (fraise ou concombre) est décrite.

5 Les lamelles de verre pour microscopie optique ou les feuilles de concombre ont été soumises à une pulvérisation uniforme d'une solution selon l'un quelconque des exemples 1 à 6, en particulier des exemples 1, 2 et 5.

On a préparé cinq échantillons (réplications) pour chaque unité expérimentale (feuilles et lamelles de verre, traitées et non traitées). On a laissé sécher la solution
10 (environ 1 heure). Ensuite, on a appliqué les conidies, en les laissant tomber par gravité. On a notamment secoué les feuilles de concombre infectées avec des sporulations importantes au-dessus des lamelles de verre ou des feuilles traitées. On a fait incuber les lamelles de verre et les feuilles pendant 24 à 48 heures à 20 à 25°C et sous une humidité relative élevée (99 %). On a compté les conidies
15 germées avec un microscope optique après avoir coloré les échantillons au bleu coton.

Les résultats obtenus relativement à *Podosphaera xanthii* sur une lamelle de verre et sur une feuille de concombre avec les deux composants (extrait de bœuf et peptone) individuellement et mélangés (bouillon nutritif) sont présentés sur la figure
20 1 et sur la figure 2.

La figure 1 présente notamment un effet du traitement avec une composition selon la présente invention ; spécifiquement, tel que ceci a été mentionné, un effet de la solution décrite dans l'exemple 5 susmentionné, en d'autres termes un bouillon nutritif (indiqué « NB » sur les figures), et les composants (extrait de bœuf et
25 peptone) de celui-ci sur la germination de conidies de *Podosphaera xanthii* sur une lamelle de verre, les valeurs représentant une moyenne de trois réplications par unité expérimentale. On a remarqué que le bouillon nutritif, l'extrait de bœuf et la peptone entraînaient une réduction de la germination des conidies comparé à un échantillon non traité.

30 La figure 2 présente un effet du traitement avec une composition selon la présente invention ; en particulier, tel que ceci a été mentionné, la solution décrite dans l'exemple 5 susmentionné, en d'autres termes un bouillon nutritif (indiqué "NB" sur les figures), et ses composants (extrait de bœuf et peptone) sur la germination de conidies de *Podosphaera xanthii* sur une feuille de concombre, les valeurs
35 représentant une moyenne de trois réplications par unité expérimentale. On a remarqué que le bouillon nutritif, l'extrait de bœuf et la peptone entraînaient une réduction de la germination comparé à un échantillon non traité.

Les résultats obtenus avec le composé (bouillon nutritif) relativement à *Podosphaera aphanis* sur une lamelle de verre et une feuille de fraise sont proposés dans le tableau 1 ci-dessous.

5

	Conidies germées (%)	
	Feuilles	Lamelles de verre
Bouillon nutritif	0	0
Non traitées	10	13

Tableau 1

Dans le tableau 1, en particulier, un pourcentage de conidies de *Podosphaera aphanis* germées sur une lamelle de verre ou une feuille de fraise traitée avec la composition selon l'exemple 5 rapporté ci-dessus (bouillon nutritif, 8 g/L) est
10 indiqué, comparé à des conidies non traitées sur une lamelle de verre et une feuille. Les valeurs rapportées présentent une moyenne de 5 reproductions par unité expérimentales.

15 EXEMPLES 9 à 15

Dans les exemples suivants sont décrites les propriétés prophylactiques et curatives de certaines compositions selon la présente invention, en particulier selon certains des exemples 1, 2 et 5, contre certaines maladies des plantes. Spécifiquement, les exemples 9 à 15 décrivent un traitement contre *Erysiphe*
20 *necator* sur la vigne, contre *Podosphaera aphanis* sur les fraisiers et contre *Podosphaera xanthii* sur deux cucurbitacées (concombre et courgette).

De manière encore plus spécifique, dans les exemples 9 à 15, les plantes ont subi une inoculation en utilisant une technique dans laquelle les feuilles infectées, respectivement des feuilles de vigne, de fraisier, de courgette et de concombre,
25 collectées dans des conditions naturelles et infectées avec les différents pathogènes, sont secouées, de manière à ce que les conidies (spores) pathogènes tombent uniformément sur les plantes saines.

Dans le cas du système vigne/*E. necator*, on a utilisé des plantes de cultivars très susceptibles (Pinot gris) ayant deux pousses et au moins 4 feuilles développées
30 (plus de 10 cm²).

Dans le cas du système fraise/*P. aphanis*, on a utilisé des plantes du cultivar Elsanta, ayant 4 à 5 feuilles développées.

Dans le cas de la courgette et du concombre avec *P. xanthii*, on a respectivement

utilisé les plantes du cv Xara et 807 avec au moins 4 feuilles développées.

On a appliqué les traitements juste avant l'inoculation (pas plus de 3 heures) et avant l'inoculation sur les fraises et la vigne, et 5 jours avant et juste avant l'inoculation pour le concombre et la courgette.

5 On a respectivement utilisé du soufre (Thiovit, Syngenta, 3 g/L) et de l'eau en tant que référence et témoin non traité.

On a pulvérisé les compositions selon la présente invention par les moyens d'un système de compresseur d'air fonctionnant à une pression de 4 bars.

Après l'application du traitement et l'inoculation, on a fait incuber les plantes dans des conditions d'humidité élevée (95-98 %) pendant 24 heures à 20 à 25°C. On les
10 a ensuite maintenues dans une serre dans un environnement contrôlé en température (20 à 25°C) jusqu'à l'apparition des symptômes.

Selon le système envisagé, la durée entre l'inoculation et l'évaluation des symptômes a varié de 15 à 30 jours. Dans chaque système plante/pathogène,
15 l'évaluation des symptômes a été réalisée après la même période pour les plantes traitées avec la composition selon la présente invention, l'étalon de référence et les plantes non traitées.

On a évalué la maladie comme l'incidence (pourcentage de feuilles infectées) et/ou la gravité (pourcentage de l'aire de feuilles infectée). Dans le cas de la courgette et
20 du concombre, voir les exemples 13 et 14, une distinction a également été faite entre les feuilles plus vieilles (1 couche), les feuilles intermédiaires (2 couches) et les feuilles plus jeunes (3 couches).

La conception expérimentale a été réalisée dans des blocs totalement randomisés avec au moins 3 à 5 reproductions (3 à 6 plantes) par unité expérimentale. Le terme
25 « bloc randomisé » signifie que 5 groupes de plantes sont disposés de manière aléatoire dans une serre, pour minimiser l'influence des conditions environnementales sur chaque groupe individuel soumis au traitement.

Les valeurs ont été calculées comme des valeurs moyennes par reproduction. On a appliqué l'analyse de la variance (ANOVA) aux données transformées (arcsin). Les
30 valeurs ont été séparées en utilisant le test de Fisher. Le logiciel statistique utilisé était Statistica, version 8, Statsoft INC. Les expériences ont été répétées et les résultats des deux expériences ont été rassemblés.

EXEMPLE 9

35 On a utilisé une composition préparée selon l'exemple 1 et une composition préparée selon l'exemple 2 sur le système concombre/*P. xanthii*.

Les résultats concernant la composition préparée selon l'exemple 1 et la

composition préparée selon l'exemple 2 sur le système concombre/*P. xanthii* sont rapportés sur la figure 3. La figure 3 propose en particulier une valeur de gravité pour *P. aphanis* sur les feuilles de concombre. On a appliqué les traitements avec l'extrait de bœuf (exemple 1) et la peptone (exemple 2) 3 heures avant l'inoculation.

5 On a évalué la maladie 14 jours après l'inoculation. Les résultats sont la moyenne de 4 reproductions de 6 plantes chacune. Les barres d'erreur représentent l'écart type.

La composition préparée selon l'exemple 1 et la composition préparée selon l'exemple 2, comprenant respectivement l'extrait de bœuf et la peptone, sont

10 actives contre la maladie. L'extrait de bœuf est plus actif que la peptone.

EXEMPLE 10

On a utilisé une composition préparée selon l'exemple 5 (bouillon nutritif) à une concentration de 8 g/L, et on l'a appliquée sur un système fraise/*P. aphanis*. Les

15 résultats de cette application sont présentés sur la figure 4.

La figure 4 propose en particulier une valeur de gravité et l'incidence de *P. aphanis* sur les feuilles de fraise. On a appliqué les traitements 3 heures avant l'inoculation. On a évalué la maladie 14 jours après l'inoculation. Les résultats sont la moyenne de 4 reproductions de 6 plantes chacune. Les différentes lettres indiquent des

20 différences significatives selon le test de Fisher à $P \leq 0,05$.

La composition préparée selon l'exemple 5 (bouillon nutritif) est aussi efficace contre la maladie que le traitement fongicide (soufre).

EXEMPLE 11

25 On a utilisé une composition préparée selon l'exemple 5 (bouillon nutritif) à une concentration de 8 g/L, et on l'a appliquée sur le système vigne/*E. necator*. Les résultats de cette application sont présentés sur la figure 5.

La figure 5 propose en particulier une valeur de gravité et l'incidence d'*E. necator* sur les feuilles de vigne. On a appliqué les traitements 3 heures avant l'inoculation.

30 On a évalué la maladie 14 jours après l'inoculation. Les résultats sont la moyenne de 5 reproductions de 3 plantes chacune. Les différentes lettres indiquent des différences significatives selon le test de Fisher à $P \leq 0,05$.

La composition préparée selon l'exemple 5 (bouillon nutritif) est aussi efficace contre la maladie que le traitement fongicide (soufre).

35

EXEMPLE 12

On a utilisé une composition préparée selon l'exemple 5 (bouillon nutritif) à une

concentration de 8 g/L, et on l'a appliquée sur le système concombre/*P.xanthii*. Les résultats d'applications uniques et répétées de cette composition sont rapportés sur la figure 6.

La figure 6 propose en particulier une valeur d'incidence de *P. xanthii* sur les
5 feuilles de concombre. On a appliqué les traitements avec le bouillon nutritif (NB) soit une fois (3 heures avant l'inoculation) soit deux fois (5 jours et 3 heures avant l'inoculation). On a évalué la maladie 14 jours après l'inoculation. Les résultats sont la moyenne de 5 reproductions de 5 plantes chacune. Les différentes lettres indiquent des différences significatives selon le test de Fisher à $P \leq 0,05$.

10 La composition préparée selon l'exemple 5 (bouillon nutritif) est aussi efficace contre la maladie que le traitement fongicide (soufre).

EXEMPLE 13

On a utilisé une composition préparée selon l'exemple 5 (bouillon nutritif) à une
15 concentration de 8 g/L, et on l'a appliquée sur le système courgette/*P.xanthii*. Les résultats d'applications uniques et répétées de cette composition sont rapportés sur la figure 7.

La figure 7 propose en particulier une valeur de gravité et l'incidence de *P. xanthii* sur les feuilles de courgette. On a appliqué les traitements avec le bouillon nutritif
20 (NB) soit une fois (3 heures avant l'inoculation) soit deux fois (5 jours et 3 heures avant l'inoculation). On a évalué la maladie 14 jours après l'inoculation. Les résultats sont la moyenne de 5 reproductions de 5 plantes chacune. Les différentes lettres indiquent des différences significatives selon le test de Fisher à $P \leq 0,05$.

La composition préparée selon l'exemple 5 (bouillon nutritif) est aussi efficace
25 contre la maladie que le traitement fongicide (soufre).

EXEMPLE 14

On a utilisé une composition préparée selon l'exemple 5 (bouillon nutritif) à une
30 concentration de 8 g/L, et on l'a appliquée sur le système concombre/*P.xanthii*, en particulier sur des feuilles de différents âges.

Les résultats d'applications uniques et répétées de cette composition sur des feuilles de différents âges sont rapportés sur la figure 8.

La figure 8 propose en particulier une valeur de gravité et l'incidence de *P. xanthii* sur les feuilles de concombre. On a appliqué les traitements avec le bouillon nutritif
35 (NB) soit une fois (3 heures avant l'inoculation, indiqué par « 3h » sur la figure 8) soit deux fois (5 jours et 3 heures avant l'inoculation, indiqué par « 3h + 5j » sur la figure 8). On a évalué la maladie 14 jours après l'inoculation. On a évalué

séparément les feuilles plus vieilles (V), les feuilles intermédiaires (M) et les feuilles plus jeunes (G). L'évaluation de toutes les feuilles est également rapportée. Les résultats sont la moyenne de 5 reproductions de 5 plantes chacune. Les différentes lettres indiquent des différences significatives selon le test de Fisher à $P \leq 0,05$.

- 5 La composition préparée selon l'exemple 5 (bouillon nutritif) est aussi efficace contre la maladie que le traitement fongicide (soufre) sur les feuilles de tous les âges.

EXEMPLE 15

- 10 On a utilisé une composition préparée selon l'exemple 5 (bouillon nutritif) à une concentration de 8 g/L, et on l'a appliquée sur le système courgette/*P.xanthii*, en particulier sur des feuilles de différents âges. Les résultats d'applications uniques et répétées de cette composition sur des feuilles de différents âges sont rapportés sur la figure 9.

- 15 La figure 9 propose en particulier une valeur de gravité et l'incidence de *P. xanthii* sur les feuilles de courgette. On a appliqué les traitements avec le bouillon nutritif (NB) soit une fois (3 heures avant l'inoculation, indiqué par « 3h » sur la figure 9) soit deux fois (5 jours et 3 heures avant l'inoculation, indiqué par « 3h + 5j » sur la figure 9). On a évalué la maladie 14 jours après l'inoculation. On a évalué
- 20 séparément les feuilles plus vieilles (V), les feuilles intermédiaires (M) et les feuilles plus jeunes (G). L'évaluation de toutes les feuilles est également rapportée. Les résultats sont la moyenne de 5 reproductions de 5 plantes chacun. Les différentes lettres indiquent des différences significatives selon le test de Fisher à $P \leq 0,05$.

- 25 La composition préparée selon l'exemple 5 (bouillon nutritif) est aussi efficace contre la maladie que le traitement fongicide (soufre) sur les feuilles de tous les âges.

EXEMPLE 16

- 30 Le présent exemple décrit un mécanisme d'action pour une composition selon la présente invention, en d'autres termes l'activation, généré par la composition, d'un mécanisme de résistance aux pathogènes induit dans les plantes.

A titre d'exemple, on a choisi les courgettes pour les plantes et *P. xanthii* pour les pathogènes.

- 35 Les plantes ont subi une inoculation en utilisant une technique dans laquelle les feuilles infectées, respectivement de courgette, collectées dans des conditions naturelles et infectées avec les différents pathogènes, sont secouées, de manière à ce que les conidies (spores) pathogènes tombent uniformément sur les plantes

saines.

On a utilisé une composition préparée selon l'exemple 5 (bouillon nutritif) à une concentration de 8 g/L, et on l'a appliquée sur les courgettes. On a respectivement utilisé du soufre (Thiovit, Syngenta, 3 g/L) et de l'eau en tant que référence et

5 témoin non traité.

On a pulvérisé la composition préparée selon l'exemple 5 (bouillon nutritif), la référence et le témoin non traité au moyen d'un système de compresseur d'air fonctionnant à une pression de 4 bars. On a respectivement utilisé les plantes du cv Xara avec au moins 8 feuilles développées.

10 On a appliqué les traitements juste avant l'inoculation (pas plus de 3 heures) uniquement sur les feuilles basales ou sur la surface basale de chaque feuille.

Après l'application du traitement et l'inoculation, on a fait incuber les plantes dans des conditions d'humidité élevée (95-98 %) pendant 24 heures à 20 à 25°C. On les a ensuite maintenues dans une serre dans un environnement contrôlé en

15 température (20 à 25°C) jusqu'à l'apparition des symptômes.

Selon le système envisagé, la durée entre l'inoculation et l'évaluation des symptômes a varié de 15 à 30 jours. L'évaluation des symptômes a été réalisée après la même période de temps pour les plantes traitées avec le composé, l'étalon de référence et les plantes non traitées.

20 La maladie a été évaluée comme la gravité (pourcentage de l'aire des feuilles infectée).

L'expérience impliquait des blocs complètement randomisés tel que ceci est indiqué ci-dessus, avec au moins 5 reproductions (3 à 5 plantes) par unité expérimentale.

Les valeurs ont été calculées comme des valeurs moyennes par reproduction. On a appliqué l'analyse de la variance (ANOVA) aux données transformées (arcsin). Les

25 moyennes ont été séparées en utilisant le test de Tukey ou le test de Fisher. Le logiciel statistique utilisé était Statistica, version 8, Statsoft INC. Les expériences ont été répétées et les résultats des deux tests ont été rassemblés.

30 Les résultats relatifs au bouillon nutritif sur les courgettes/*P. xanthii* avec des applications sur les feuilles basales et sur la plante totale sont rapportés sur la figure 10.

Lorsqu'il est appliqué uniquement sur les feuilles basales de la plante, le bouillon nutritif est aussi efficace sur les feuilles traitées (basales), et sur les feuilles non

35 traitées (apicales), que le traitement réalisé sur toutes les feuilles.

La gravité et l'incidence de *P. xanthii* sur les feuilles de courgettes sont proposées sur la figure 10. Les traitements avec le bouillon nutritif (NB) ont été appliqués sur la

plante totale (3 heures avant l'inoculation) ou uniquement sur les feuilles basales. On a évalué la maladie 14 jours après l'inoculation. Les résultats sont la moyenne de 5 reproductions de 5 plantes chacune. Les différentes lettres indiquent des différences significatives selon le test de Fisher à $P \leq 0,05$.

- 5 De manière encore plus spécifique, la colonne blanche correspond à la maladie sur des plantes non traitées, la colonne hachurée correspond à la maladie sur des plantes dont toutes les feuilles ont été traitées, la colonne en pointillés correspond à la maladie sur les feuilles (basales) de plante traitées où seules les feuilles basales ont été traitées, la colonne à carreaux correspond à la maladie sur les feuilles non
- 10 traitées (apicales) de plante où seules les feuilles basales ont été traitées.

Etant donné que l'effet de réduction de la maladie touche également les feuilles non traitées d'une plante, il est possible de conclure qu'outre un effet direct sur la germination des spores, un phénomène de résistance à la maladie induit par la plante se déclenche également.

- 15 Le sujet de la présente description a été décrit, par référence à ses modes de réalisation. Il faut comprendre que d'autres modes de réalisation peuvent exister, tombant tous dans le concept de la présente invention, et étant tous compris dans la portée de protection des revendications proposées ci-après.

REVENDEICATIONS

1. Utilisation d'un extrait de bœuf ou d'un hydrolysat de protéine, ou d'un mélange d'extrait de bœuf et d'hydrolysat de protéine, en tant que substance active, pour le traitement et/ou la prophylaxie de plantes contre l'action de pathogènes, la substance active étant une substance efficace en soi pour induire dans la plante une résistance contre des pathogènes.
2. Utilisation selon la revendication 1, dans laquelle ledit hydrolysat de protéine est une composition obtenue par digestion enzymatique de protéines.
3. Utilisation selon la revendication 1 ou 2, dans laquelle ledit hydrolysat de protéine est une composition obtenue par digestion enzymatique de protéines d'origine végétale.
4. Utilisation selon l'une quelconque des revendications 1 à 3, dans laquelle ledit mélange d'extrait de bœuf et d'hydrolysat de protéine est une préparation en poudre.
5. Utilisation selon l'une quelconque des revendications 1 à 4, dans laquelle, dans ledit mélange d'extrait de bœuf et d'hydrolysat de protéine, l'extrait de bœuf et l'hydrolysat de protéine sont présents en un rapport en poids de 3/5 respectivement.
6. Utilisation selon l'une quelconque des revendications 1 à 5, dans laquelle, dans ledit mélange d'extrait de bœuf et d'hydrolysat de protéine, l'extrait de bœuf et l'hydrolysat de protéine sont présents en un rapport en poids de 1/1 respectivement.
7. Utilisation selon l'une quelconque des revendications 1 à 6, dans laquelle ledit extrait de bœuf ou ledit hydrolysat de protéine ou ledit mélange d'extrait de bœuf et d'hydrolysat de protéine sont dissous dans l'eau.
8. Utilisation selon la revendication 7, comprenant de 0,01 à 100 g/L d'extrait de bœuf et/ou de 0,01 à 100 g/L d'hydrolysat de protéine dans l'eau.
9. Utilisation selon la revendication 8, comprenant 1 g/L d'extrait de bœuf et/ou 1 g/L d'hydrolysat de protéine dans l'eau.
10. Utilisation selon la revendication 7, 8 ou 9, comprenant de 0,08 à 25 g/L d'un mélange d'extrait de bœuf et d'hydrolysat de protéine dans l'eau.
11. Utilisation selon la revendication 10, comprenant 8 g/L d'un mélange d'extrait de bœuf et d'hydrolysat de protéine dans l'eau.
12. Utilisation selon l'une quelconque des revendications 1 à 11, dans laquelle lesdits pathogènes comprennent des pathogènes du genre *Podosphaera*, du genre *Erysiphe*, de la classe *Oomycetes*, de la famille *Erysiphaceae*.
13. Utilisation selon la revendication 12, dans laquelle lesdits pathogènes

comprennent *Podosphaera aphanis*, *Podosphaera xanthii*, *Plasmopara viticola*,
Erysiphe necator.

14. Utilisation selon l'une quelconque des revendications 1 à 13, dans laquelle
lesdites plantes comprennent des plantes des familles Rosaceae, Vitaceae,
5 Cucurbitaceae.
15. Utilisation selon l'une quelconque des revendications 1 à 14, dans laquelle, à
l'extrait de bœuf ou à l'hydrolysate de protéine ou au mélange d'extrait de bœuf et
d'hydrolysate de protéine, est en outre ajouté un composé choisi dans le groupe
comprenant : des surfactants, des agents de dispersion, des émulsifiants, des
10 agents de mouillage, des épaississants ou un mélange de ceux-ci.
16. Utilisation selon l'une quelconque des revendications 1 à 15, dans laquelle ledit
extrait de bœuf, ledit hydrolysate de protéine ou ledit mélange d'extrait de bœuf et
d'hydrolysate de protéine sont appliqués avant la manifestation d'une maladie.
17. Utilisation selon l'une quelconque des revendications 1 à 15, dans laquelle ledit
15 extrait de bœuf, ledit hydrolysate de protéine ou ledit mélange d'extrait de bœuf et
d'hydrolysate de protéine sont appliqués après la manifestation d'une maladie.
18. Composition destinée au traitement et/ou à la prophylaxie de plantes contre
l'action de pathogènes, ladite composition comprenant, en tant que substance
active, un extrait de bœuf ou un hydrolysate de protéine, ou un mélange d'extrait
20 de bœuf et d'hydrolysate de protéine.
19. Composition selon la revendication 18, dans laquelle ladite composition est un
extrait de bœuf.
20. Composition selon la revendication 18, dans laquelle ladite composition est un
hydrolysate de protéine.
- 25 21. Composition selon la revendication 18, dans laquelle ladite composition
comprend un mélange d'extrait de bœuf et d'hydrolysate de protéine.
22. Composition selon la revendication 18 ou 21, dans laquelle ledit mélange
d'extrait de bœuf et d'hydrolysate de protéine est une préparation en poudre.
23. Composition selon la revendication 18 ou 21, dans laquelle, dans ledit mélange
30 d'extrait de bœuf et d'hydrolysate de protéine, ledit extrait de bœuf et ledit
hydrolysate de protéine sont présents en un rapport en poids de 3/5
respectivement.
24. Composition selon la revendication 18 ou 21, dans laquelle, dans ledit mélange
d'extrait de bœuf et d'hydrolysate de protéine, ledit extrait de bœuf et ledit
35 hydrolysate de protéine sont présents en un rapport en poids de 1/1
respectivement.
25. Composition selon l'une quelconque des revendications 18 à 24, dans laquelle

- ledit extrait de bœuf ou ledit hydrolysat de protéine ou ledit mélange d'extrait de bœuf et d'hydrolysat de protéine sont dissous dans l'eau.
26. Composition selon la revendication 25, comprenant de 0,01 à 100 g/L d'extrait de bœuf et/ou de 0,01 à 100 g/L d'hydrolysat de protéine dans l'eau.
- 5 27. Composition selon la revendication 26, comprenant 1 g/L d'extrait de bœuf et/ou 1 g/L d'hydrolysat de protéine dans l'eau.
28. Composition selon la revendication 27, comprenant de 0,08 à 25 g/L d'un mélange d'extrait de bœuf et d'hydrolysat de protéine dans l'eau.
29. Composition selon l'une quelconque des revendications 18 à 28, dans laquelle,
10 au dit extrait de bœuf ou au dit hydrolysat de protéine ou au dit mélange d'extrait de bœuf et d'hydrolysat de protéine, est en outre ajouté un composé choisi dans le groupe comprenant : des surfactants, des agents de dispersion, des émulsifiants, des agents de mouillage, des épaississants, ou un mélange de ceux-ci.
- 15 30. Inducteur de résistance, dans une plante, aux pathogènes des plantes, comprenant une composition quelconque selon l'une quelconque des revendications 18 à 29.

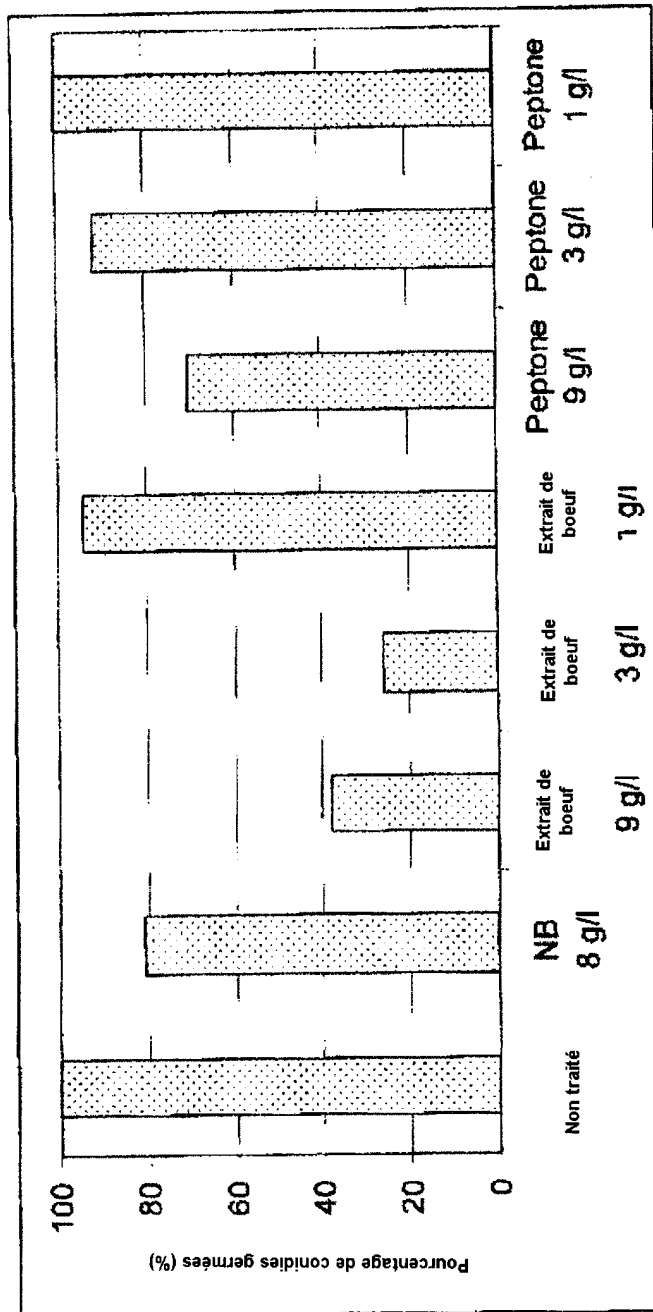


Figure 1

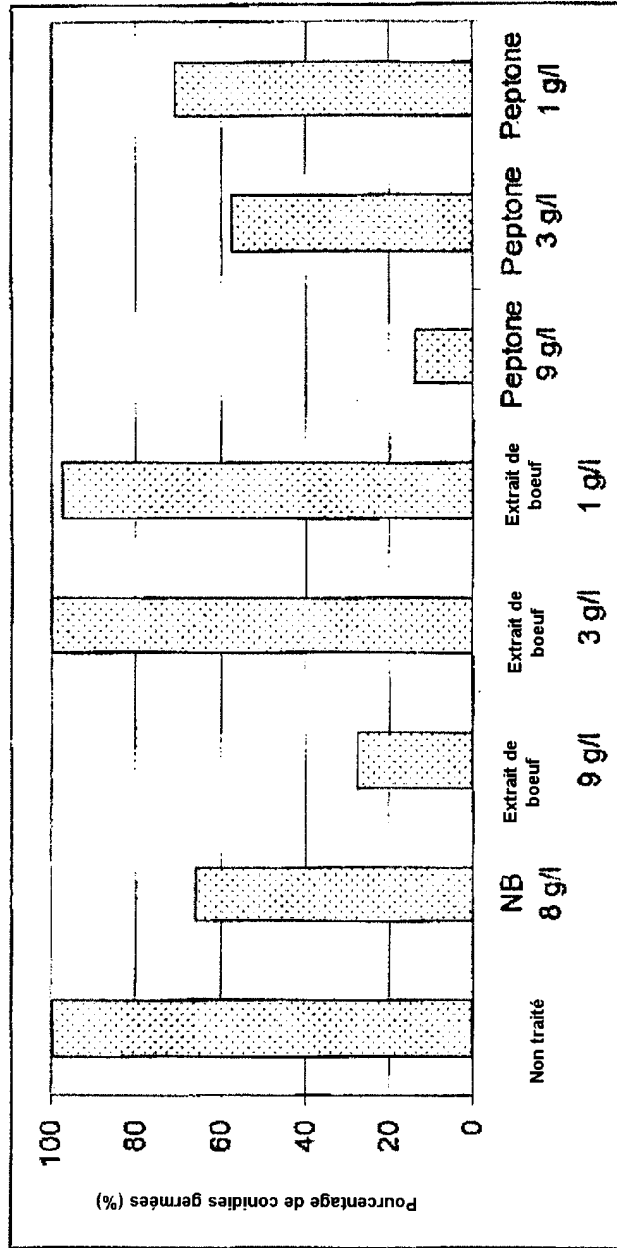


Figure 2

3/10

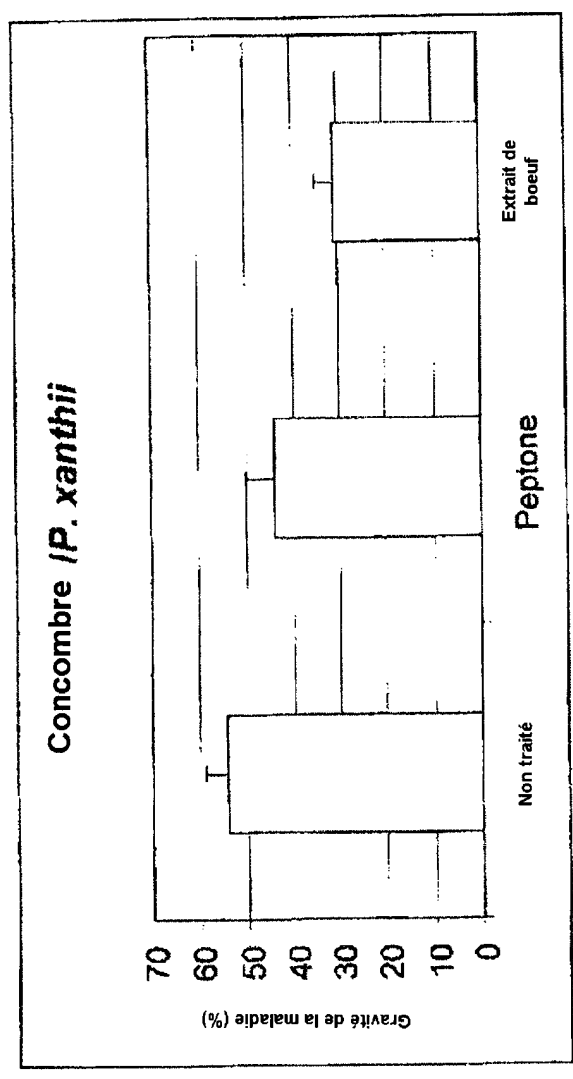


Figure 3

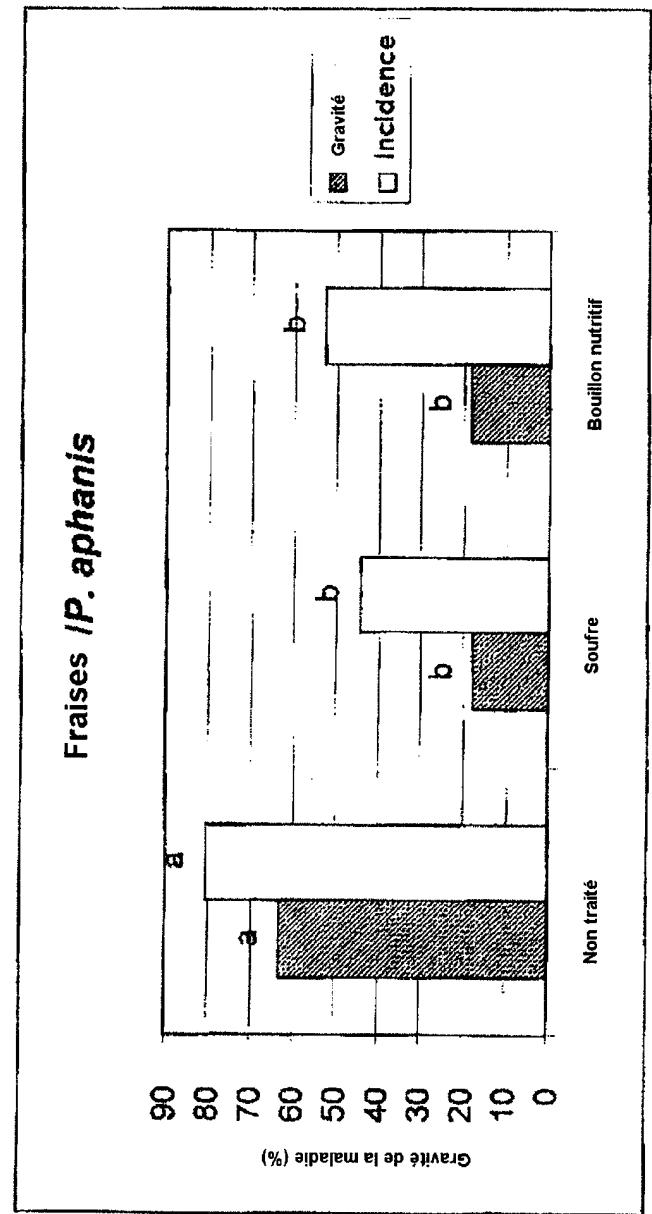


Figure 4

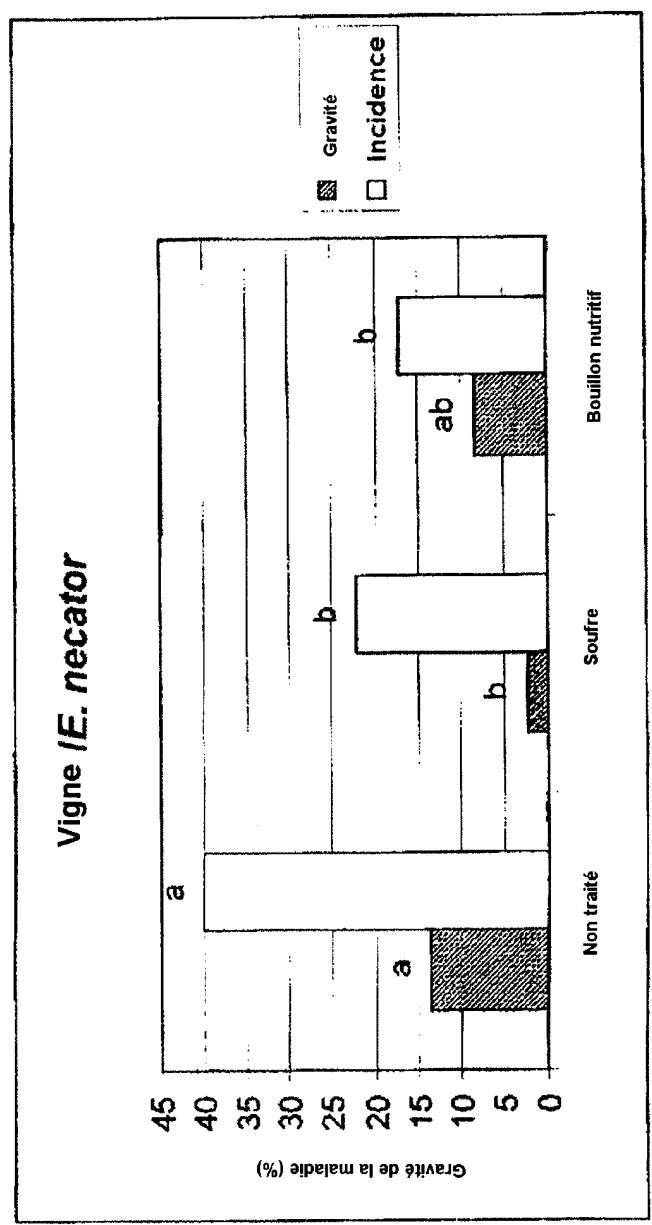


Figure 5

12

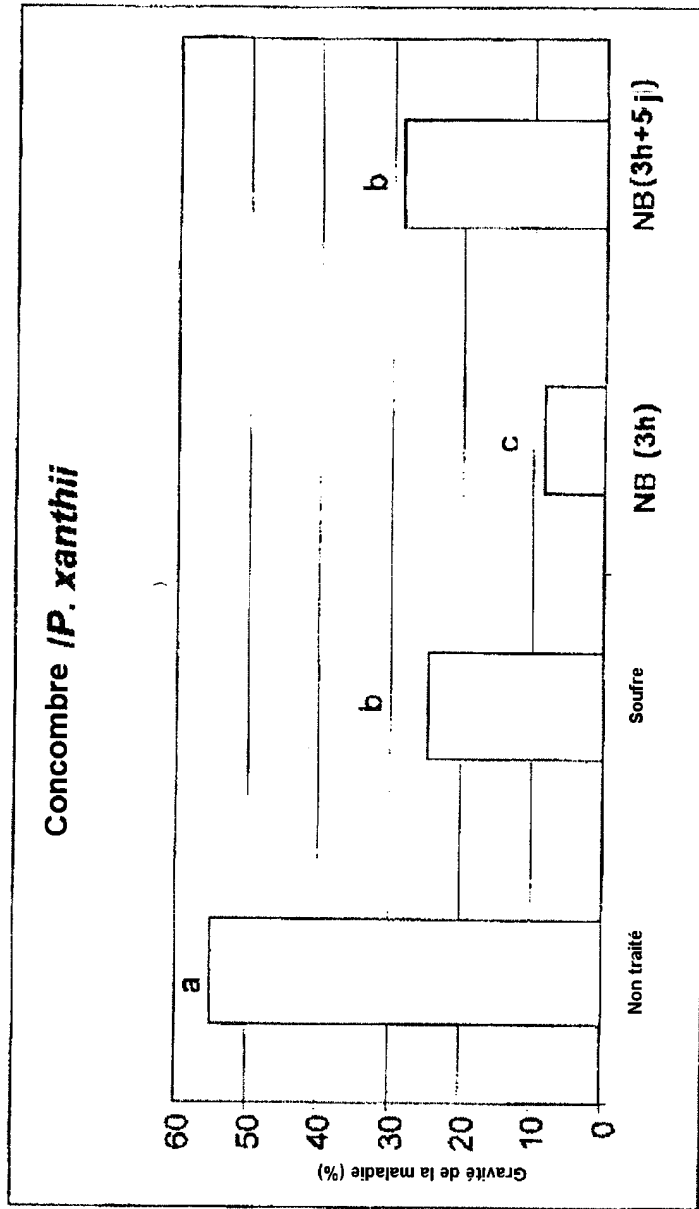


Figure 6

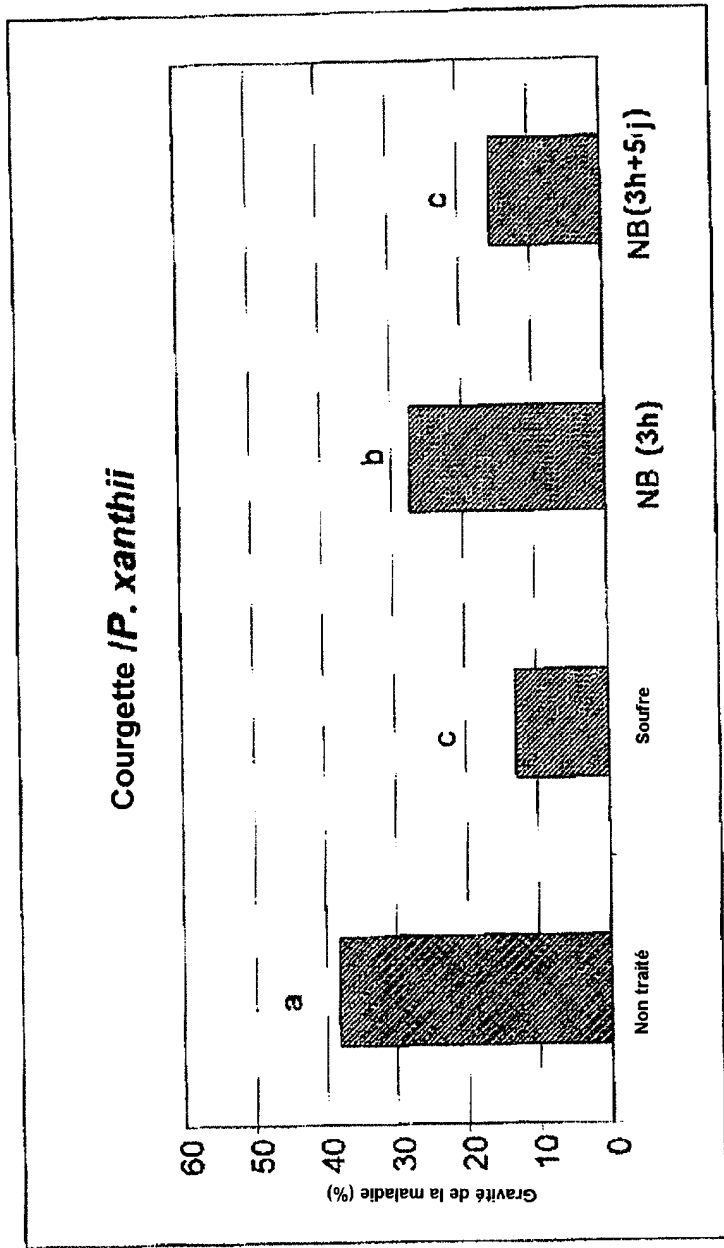


Figure 7

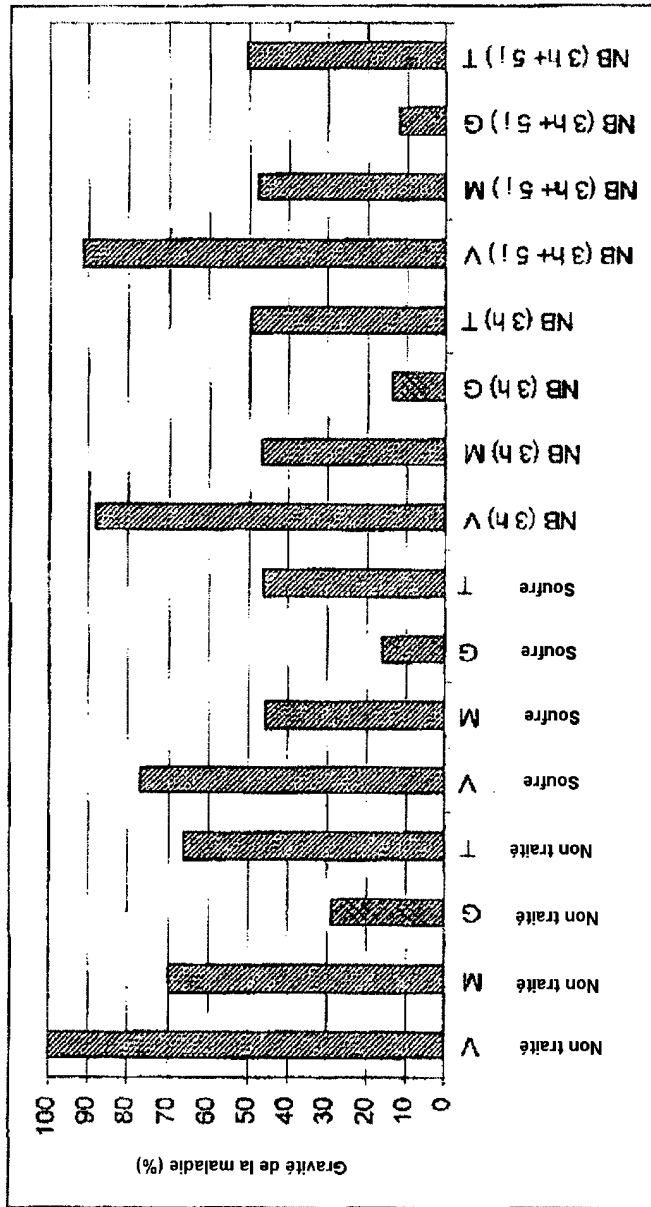


Figure 8

9/10

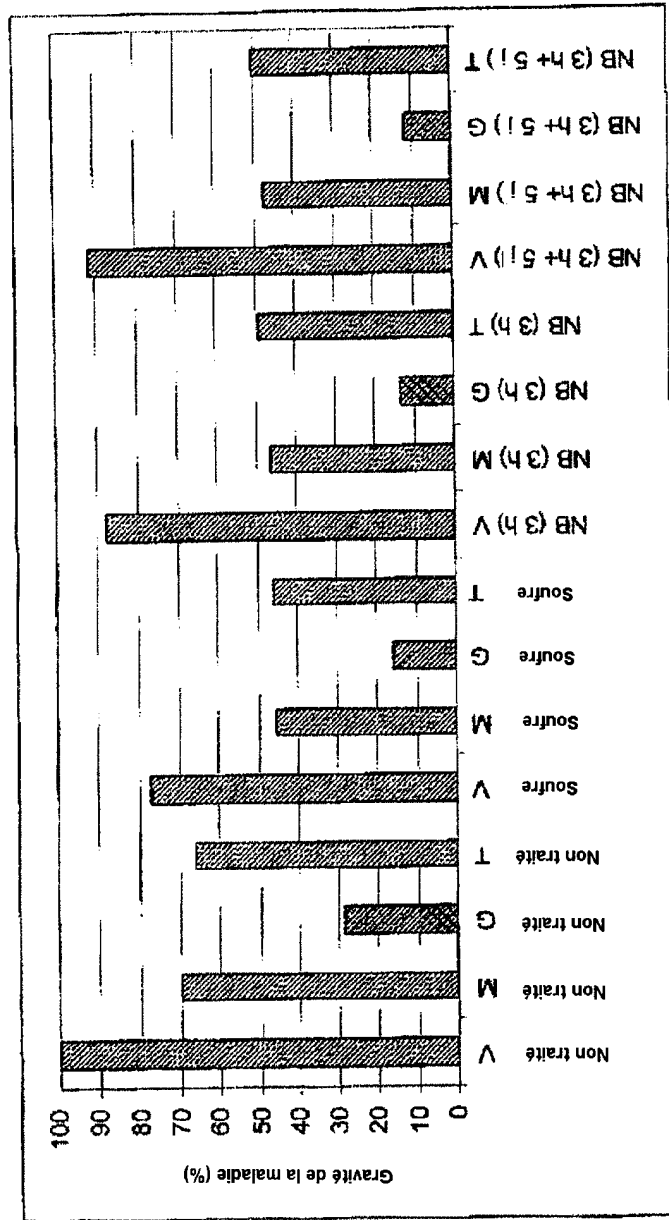


Figure 9

10/10

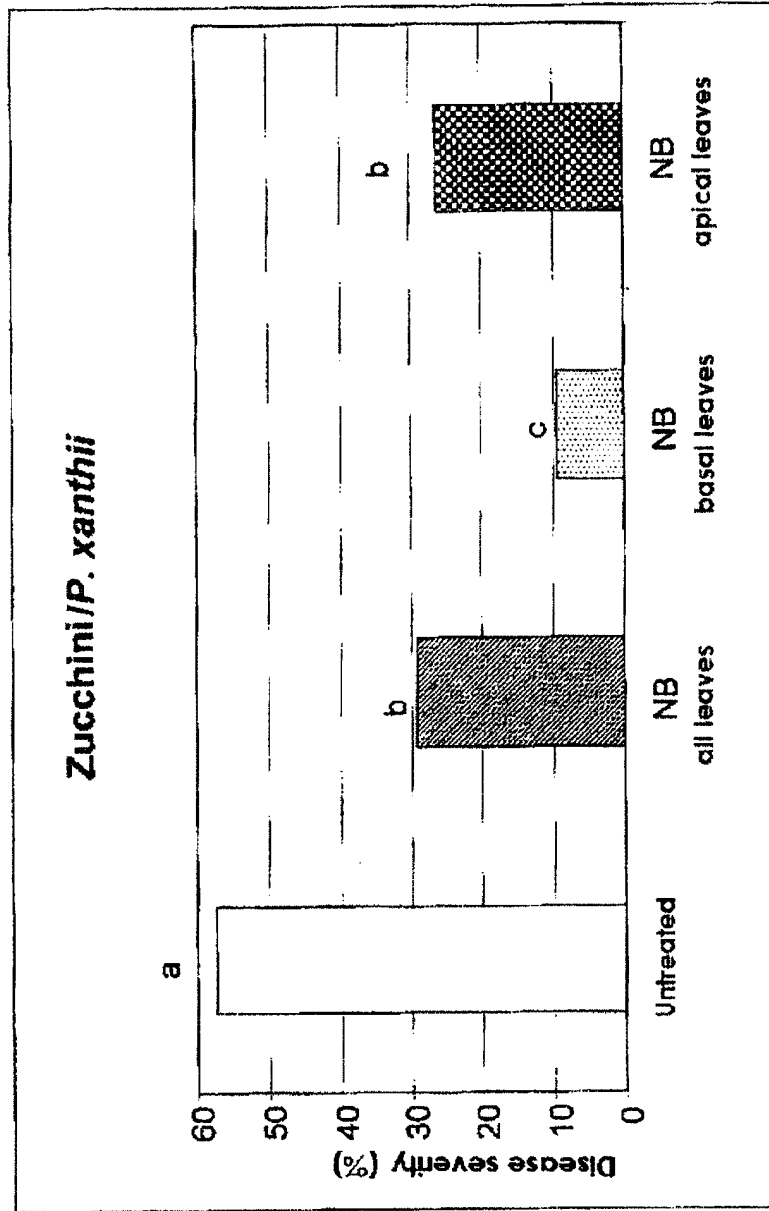


Figure 10

6