

Rapport final du projet de mise au point et validation en verger d'une méthode de diagnostic de la résistance aux fongicides utilisés pour lutter contre la tavelure du pommier.

Préambule

Ce projet financé pour un an a été réalisé dans le cadre du programme de financement PSIH du MAPAQ en 2006. Il fait suite à un autre projet d'un an financé par le programme PRAH en 2005. L'objectif de l'année 2006 visait essentiellement à confirmer les résultats obtenus en 2005. Suite à une entente avec les gestionnaires du programme PSIH, les objectifs du volet #2 de la demande de financement présentée en octobre 2005 ont été retirés puisqu'ils seront couverts par un projet de 3 ans financé par le centre de la lutte antiparasitaire d'Agriculture Canada (PMC-PRR06-920) prévu entre 2006 et 2009. Des problèmes techniques et logistiques liés à l'infrastructure de recherche de l'IRDA à Saint-Hyacinthe ont retardé les travaux dans le cadre du PSIH et ne nous ont pas permis de compléter l'ensemble des objectifs visés en 2006. Nous avons essayé de combler cette lacune au cours de l'hiver 2006 et en 2007, ce qui a retardé la production de ce rapport. Il est important de souligner que les travaux non complétés en 2006 ont été réalisés en 2007 à même les ressources internes du laboratoire. Le projet du PSIH a donc été réalisé de façon concomitante avec le projet du PMC en 2007. Ce rapport fait aussi état des résultats qui restent exploitables à l'issue des 3 années d'essais (2005-2007). Par égard pour les organismes subventionnaires, le support financier du PRAH, du PSIH et du PMC sera souligné pour tous les travaux réalisés entre 2005 et 2007.

Introduction :

La résistance aux fongicides utilisés pour lutter contre la tavelure du pommier est devenue un problème incontournable à l'échelle mondiale. Cette résistance conduit à une augmentation graduelle des cas de tavelure et conséquemment à une perte de qualité et de rendement. Le problème est amplifié du fait que la résistance n'est pas réversible. Les populations de *Venturia inaequalis* résistantes aux fongicides sont stables et persistent même lorsque les produits ne sont plus utilisés depuis 20 ans ou plus.

Par ailleurs, les produits devenus inefficaces et qui sont utilisés en absence de données d'efficacité ont un impact environnemental qu'il est possible d'éviter. Or, pour la tavelure du pommier, les techniques classiques ne permettent pas d'évaluer la résistance à un coût raisonnable. De plus, il n'est pas possible de prédire la résistance dans un verger à partir de son historique de traitement. Finalement, comme la situation diffère grandement d'un verger à l'autre, les résultats d'études régionales sur la résistance ne sont pas applicables à l'échelle d'un verger. En conséquence, les producteurs subissent des pertes économiques considérables avant que l'on puisse relier les problèmes de tavelure à la résistance.

État des connaissances et revue de littérature:

La résistance aux fongicides a fait l'objet de nombreuses études régionales en Ontario, dans l'état de New York et plus récemment au Québec. Ces études *in vitro* indiquent que la résistance est présente face aux 5 grandes classes de fongicides systémiques actuellement disponibles, et qu'elle a conduit à des échecs de traitements dans plusieurs cas. Souvent, la tolérance aux fongicides augmente, mais n'est pas perceptible dans la mesure où les nombreux traitements avec des fongicides de contact (captane, mancozèbe,

etc) « masquent » l'inefficacité des produits à risque. Qui plus est la perte d'efficacité est présumée variable selon les conditions d'application. Pour étudier ce phénomène et permettre un suivi plus étroit de la dégradation des performances des fongicides, le laboratoire de phytopathologie de l'IRDA a développé une méthode à moindre coût qui permet de réaliser des tests à l'échelle de chaque verger. Par contre, les résultats de laboratoire n'ont jamais fait l'objet d'une validation en conditions naturelles.

Description du projet :

L'objectif de ce projet est de confirmer les résultats obtenus en laboratoire à partir de tests *in vitro* à ceux qui sont obtenus *in vivo*, sur des pommiers indicateurs et à établir un seuil pratique de résistance.

Méthodologie :

Inoculations naturelles

Comme en 2005, une méthode de suivi basée sur l'utilisation de pommiers indicateurs a été utilisée pour évaluer le niveau de résistance de certains vergers préalablement sélectionnés à partir de tests *in vitro*. Des pommiers en pots ont été traités avec les fongicides dont l'efficacité est incertaine et ensuite été transportés par camion sur des palettes aux sites d'essais (Figure 1). Pendant ces périodes d'exposition, les pommiers ont été inoculés naturellement à partir des ascospores libérées par la litière de feuille. À l'issue des périodes de pluie, les arbres ont été maintenus dans des conditions favorables à la tavelure du pommier jusqu'à la lecture des symptômes après un mois d'incubation.

Figure 1 : Manutention des pommiers indicateurs sur palettes de transport



Inoculations en chambres de croissance

Au cours des étés 2006 et 2007, des feuilles tavelées issues des vergers testés ont été ramassées et l'expérience a été répétée en conditions contrôlées en inoculant les arbres avec un cocktail de spores (conidies) issu de chacun des vergers. Pour chaque inoculation artificielle, une nouvelle suspension de 1×10^5 spores/ml était constituée à partir d'un minimum de 50 lésions de tavelure récoltées depuis moins d'une semaine.

Dispositif et traitements des pommiers

Pour chaque essai, des pommiers non traités ont été inclus pour déterminer le niveau maximal de tavelure attendue pour chacune des infections (témoin positif). De même, des pommiers ont également été traités avec un fongicide de contact (captan) dont l'efficacité n'est pas mise en doute en vue de déterminer le pourcentage de répression de tavelure maximal attendu lorsque la résistance est absente (témoin négatif). Selon le verger testé, les autres traitements comprenaient des arbres traités avant exposition (protection) avec la dodine (Equal), un IBS (Nustar), une strobilurine (Sovran) ou une anilinyrimidine (Vangard). Le Senator (thiophanate-méthyl) n'a pas été inclus dans les essais de 2006 et 2007 puisqu'il s'est avéré inefficace dans tous les vergers. Le pourcentage de la tavelure de chacun des fongicides par rapport au témoin a été utilisé pour déterminer l'efficacité de ce fongicide dans le verger testé. Les traitements avec les fongicides ont été réalisés au laboratoire à l'aide d'un pistolet à peinture réglé à une pression (70 kg/cm²) et un débit optimum (280mL/min) de façon à générer des micro-goutelettes uniformes. La bouillie fongicide était appliquée sur les faces supérieures et inférieures des feuilles, à raison d'environ 20ml de suspension sur chaque pommier, soit la quantité nécessaire pour couvrir toutes les surfaces foliaires.

Les concentrations de fongicides appliqués étaient déduites à partir des doses à l'hectare minimales homologuées afin de mieux séparer l'effet des traitements. En 2006 et 2007 les doses de Nustar et de Vangard ont été ajustées à la hausse à cause de la faible efficacité observée. La concentration a été calculée sur la base d'environ 2800 L/ha en dilué (300 gallons US par acre).

Nustar (20% flusilazole): 200g/ha = 72mg/L (essais de 2005 = 36mg/L)

Equal (65% dodine): 1.1kg/ha = 400mg/L

Sovran (50% kresoxim-méthyl) : 0,224kg/ha = 80mg/L

Vangard (75% cyprodinil) : 375g/ha = 125mg/L (essais de 2005 = 68mg/L)

Captan (80% captan) : 2kg/ha = 725mg/L.

Évaluation de la LD50 pour le flusilazole

Pour mieux comprendre l'évolution de la tolérance des populations de *Venturia inaequalis* face aux inhibiteurs d'ergostérols en conditions naturelles, un essai complémentaire a été mis en place pour comparer la dose permettant d'inhiber 50% de la sévérité de la maladie dans un verger où la tavelure est présumée résistante par rapport à un verger où elle est présumée sensible.

Pour établir la LD50 dans chacun des vergers, nous avons évalué la sévérité de la tavelure sur des pommiers inoculés comme dans les autres essais. Une régression logistique de type binomiale négative a été utilisée pour relier le nombre de taches selon la dose de fongicide utilisée. Pour chaque verger, 5 pommiers ont été traités pour chacune des 7 doses de produits testés, soit 0,9,18,36,72,144 et 288 mg/L de Nustar.

RÉSULTATS ET DISCUSSION

Dispositif expérimental:

Des contraintes logistiques et matérielles ont limité le nombre d'inoculations possibles tout au long du projet. De plus, malgré des essais répétés à plusieurs doses pour standardiser la technique, nous avons constaté une variabilité très grande d'un essai à l'autre. Nous attribuons ces variations à des problèmes récurrents liés à la chambre de croissance et à une contamination croisée dans les abris qui n'étaient pas assez étanches en 2006. Seuls les résultats issus des expériences concluantes ont été rapportés ici. Pour chaque période d'infection en verger et en chambre de croissance, les pommiers des différents traitements ont été disposés selon un dispositif complètement aléatoire (CRD) avec un minimum de 6 réplifications (arbres). Pour chacun des essais, les différences d'efficacité entre les traitements de plus de 10% étaient statistiquement significatives, basé sur un test Tukey de comparaisons multiples. Chaque test en chambre de croissance a été répété de 2 à 6 fois pour s'assurer de la reproductibilité des résultats. Les résultats des tests individuels ne sont pas rapportés ici. Seules les moyennes d'efficacité par rapport au témoin de l'ensemble des tests sont présentées. Pour les besoins du rapport, nous avons défini le seuil d'efficacité à 90%. Ainsi, les fongicides qui réprimaient plus de 90% des symptômes sur la moyenne des essais en chambres de croissance sont jugées efficaces.

Inoculations naturelles

Les pommiers ont été exposés à une seule infection en 2006 et n'a pas été répétée en 2007. Les pommiers ont été traités le 11 mai avant l'exposition en verger du 11 au 15 mai 2006. En 2005, nous avons observé assez de tavelure dans le témoin pour évaluer l'efficacité des traitements pour 4 vergers sur un total de 5 vergers testés. En 2006, la sévérité de la tavelure dans le témoin était plus faible mais nous avons pu obtenir des données pour les 4 vergers où des pommiers étaient exposés. Or, pour les sites B,C,D, le niveau de tavelure était très élevé dans les témoins de référence (traités avec Captan), soit environ 30% de la tavelure observée dans le témoin traité à l'eau. Dans ces conditions, il est difficile de conclure quant à l'efficacité des traitements pour les produits testés dans ces 3 vergers (Figure 1). L'inefficacité relative du Equal, Nustar et Vangard observée ici est donc certainement en partie liée aux conditions du test et non seulement à cause de la résistance. Par contre, l'efficacité relative du Sovran par rapport au aux autres produits démontre que malgré les les conditions du test, ces produits sont efficaces dans les 2 vergers où le produit a été testé. Pour le site A, on constate que le Captan et le Equal sont efficaces alors que la population de *Venturia inaequalis* qui est présente sur ce site est totalement résistante au flusilazole (Nustar).

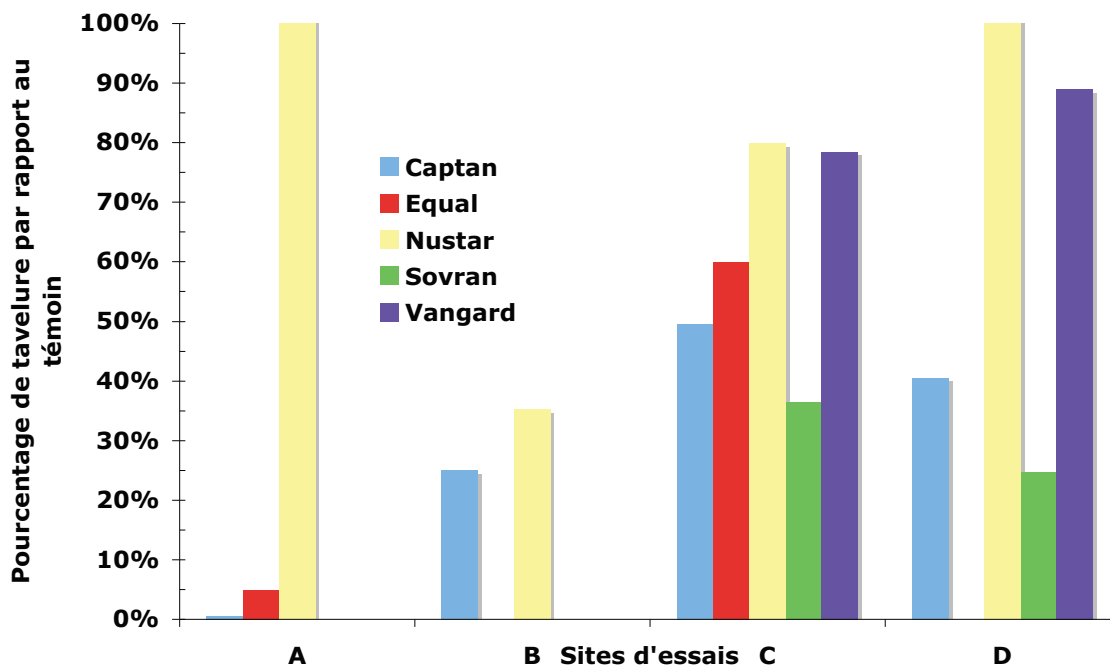


Figure 1. Efficacité des traitements fongicides sur pommiers indicateurs inoculés en conditions naturelles dans 4 vergers.

Inoculations en chambres de croissance

Les résultats issus des inoculations avec conidies en 2006 et 2007 sont sensiblement les mêmes que ceux obtenus en 2005 et semblables à ceux obtenus pour les ascospores (Figure 2). En général, l'efficacité des traitements en chambres de croissance était plus grande que celle obtenue avec les arbres exposés à l'extérieur. Le témoin de référence (Captan) a démontré une efficacité constante pour tous les sites, sauf pour le site « E » où l'efficacité était plus basse. Ce résultat devra être confirmé ultérieurement puisque les résultats plus faibles sont liés à un test sur les 2 réalisés pour ce traitement et ce site.

Pour le site « A », nous constatons une érosion partielle ou une perte totale d'efficacité pour 3 fongicides sujets à la résistance sur les 4 types de produits post-infection disponibles. Nous avons observé une efficacité de la dodine était excellente pour les ascospores en 2005 et en 2006 alors qu'elle était un peu plus faible lors des essais avec conidies. Seul le Sovran a démontré une efficacité acceptable quoique moindre que pour les sites B,C,D. Il est possible que ce soit un signe avant coureur d'une résistance plus grave envers ce fongicide.

Pour le site « B », nous observons une perte d'efficacité pour le Nustar et le Vanguard seulement. La situation est similaire pour le site « D », quoique l'efficacité de Vanguard y soit encore acceptable. Contrairement aux sites A,B et D, le Vanguard a démontré une grande efficacité sur le site « E » alors que l'efficacité pour tous les autres fongicides s'érode. L'efficacité du Nustar était plus élevée pour le site « C » qu'ailleurs, mais tout de même trop faible par rapport aux standards d'efficacité attendus pour ce genre d'essai. Pour ce nombre limité de sites, nous n'avons pas constaté résistance croisée pour les différentes familles de fongicides.

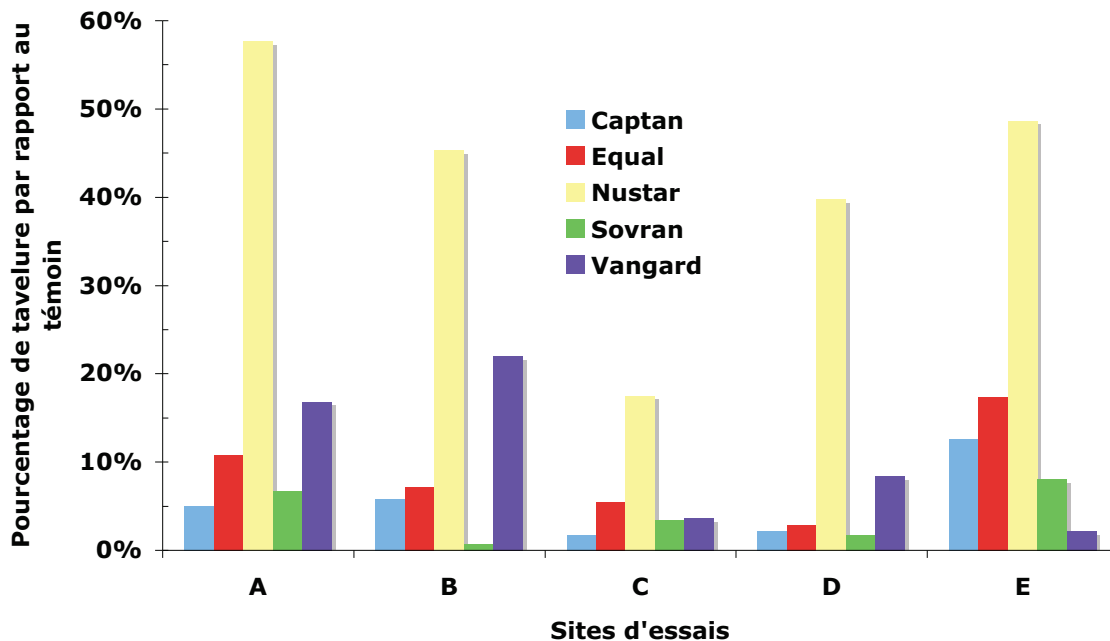


Figure 2. Efficacité de différents fongicides pour réprimer la tavelure du pommier pour 5 sites en 2006 et 2007 (moyenne des essais)

Évaluation de la LD50 pour le flusilazole

Pour le site présumé résistant « D », nous avons obtenu une LD50 de 100ppm (mg/l de Nustar) alors que pour le site « C » la LD50 était de 6ppm. Autrement dit, pour réduire la sévérité des symptômes de 50% sur pommier et obtenir un effet équivalent entre les sites, il faut près de 17 fois la dose de flusilazole dans un site où la résistance est présente par rapport au site de référence des essais.

Discussion

Dodine (Equal)

On constate que le Equal (dodine) était efficace pour au moins 3 vergers sur 5. Le site « A » a été initialement choisi parce que les tests *in vitro* laissaient présager un niveau de résistance élevé à dodine. Or, ce produit y a été relativement efficace quoique l'efficacité moyenne mesurée pendant 3 ans soit légèrement moindre que celle observée après une seule année d'essais. Pour obtenir un point avec une résistance connue à la dodine, nous avons inclus un site américain lors des tests en cabinets (Figure 2, site E). Nous constatons qu'effectivement l'efficacité moyenne pour ce site est inférieure à celle attendue pour un produit commercial. Ces résultats confirment que la dodine pourrait être utilisée dans une majorité de vergers au Québec et faciliter les rotations de produits. Par contre, vu le risque de résistance, il est nécessaire de faire tester le verger avant d'émettre une recommandation.

IBS (Nustar)

Le site « C » a été choisi initialement parce que qu'aucun fongicide de synthèse n'y est utilisé depuis au moins 10 ans. C'est le site de référence que nous utilisons pour les tests *in vitro*, même si nos résultats indiquent une tolérance au flusilazole supérieure aux sites sans pression de sélection. Il est possible que la proximité des vergers commerciaux influence la composition de la population de *Venturia inaequalis* dans ce verger. Les tests sur pommiers indicateurs permettent maintenant de constater pour ce site un niveau d'efficacité trop faible pour ce produit. Comme le flusilazole est très efficace envers les populations sensibles à ce fongicide, nous concluons qu'une perte d'efficacité importante peut être observée dans des conditions contrôlées dès les premiers signes de tolérance observés *in vitro*. Les résultats *in vitro* obtenus lors des travaux antérieurs suivent donc de près les résultats obtenus *in planta*. À l'issue des essais de 2005, nous avons conclu que la population de *Venturia inaequalis* du site « B » était au moins partiellement tolérante à ce fongicide. Après 3 années d'essais, nous pouvons conclure que la résistance pratique y est en fait aussi importante que dans les autres sites. Ces observations confirment que les IBS (Nova & Nustar) ne sont plus du tout efficaces dans au moins 1/3 des vergers du Québec et leur efficacité est réduite pour au moins un autre tiers des sites. Dans les sites où la résistance est bien installée, il n'est pas réaliste de compenser la perte d'efficacité en augmentant la dose de produit. Dans les sites où la tolérance est mesurable mais moins grave (ex : site « C ») selon nos calculs de LD50, il faudrait utiliser 800g/ha de Nustar pour obtenir 90% d'efficacité, soit 4x la dose actuellement homologuée. En conséquence, les IBS de la génération actuelle (Nova, Nustar) ne peuvent être recommandés que dans les sites où la population du champignon a maintenu toute sa sensibilité face à cette famille de fongicides.

Benzimidazoles (Senator)

Tel qu'indiqué dans le rapport de 2006, le Senator a été inefficace dans tous les tests et dans tous les vergers, ce qui confirme le seuil empirique établi *in vitro*. Nous n'avons pas jugé utile de continuer les tests en 2006 et 2007. Par ailleurs, comme ce produit a des effets importants sur la faune auxiliaire et qu'il détruit les populations de vers de terre, ce produit est de moins en moins recommandé en pomiculture.

Strobilurine (Sovran)

Ce produit s'est avéré efficace dans 5 sites testés, quoiqu'il soit légèrement moins efficace pour le site américain (E). En 2006, nous avons rapporté une tolérance partielle de la population de *V. inaequalis* issue du site D envers la strobilurine lors d'un test avec conidies. Sur la moyenne des tests, cet effet est disparu. La conclusion reste la même : pour l'instant le produit devrait être efficace dans la plupart des vergers commerciaux du Québec.

Anilinopyrimidine (Vangard)

Le rapport des essais de 2005 était basé sur un nombre limité de tests avec conidies et un seul test avec ascospore. Nous n'avons malheureusement pas pu obtenir de confirmation

solide des résultats avec ascospores. Cependant, à l'issu de 3 années d'essais avec conidies, nous pouvons conclure que ce produit a été efficace sur conidies dans 3 vergers sur les 5 testés. Il est possible que la population du champignon pour les 2 autres sites soit partiellement tolérante, mais les tests *in vitro* n'ont pas permis de détecter cette dérive de la population. Comme les anilinopyrimidines sont moins efficaces à plus haute température, il est possible que la perte d'efficacité soit devenue apparente lors des tests en cabinets qui ont été réalisés en été, à des températures nettement plus haute que celles rencontrées pendant les périodes d'infection primaires en vergers. Ces résultats indiquent que cette catégorie de produit demeure une alternative pour faciliter la rotation des produits, principalement en début de saison.

Conclusions

Les vergers étudiés ont été choisis en fonction du profil de résistance mesuré *in vitro* et ne sont donc pas représentatifs de l'ensemble des vergers québécois. Cependant, les tests dans ces 5 vergers viennent corroborer les résultats *in vitro* obtenus dans plus de 20 vergers et confirment la présence de résistance pratique. L'absence de lien entre la résistance mesurée au laboratoire et la confirmation pratique des échecs de contrôle constitue souvent une limite sérieuse quant à la portée des résultats issus des laboratoires. Cette étude a permis pour la première fois de confirmer en verger la présence de populations de *V. inaequalis* qui manifestent une résistance pratique face aux fongicides utilisés pour réprimer la tavelure du pommier. Cet essai a permis de mieux préciser le seuil à partir duquel les producteurs devraient abandonner un produit, notamment dans le cas du Senator qui n'est plus du tout efficace et dans le cas du Nova/Nustar qui souvent ne sont plus efficaces et qui devraient être abandonnés dans plusieurs cas. De même, le Equal est efficace dans une plus grande proportion des vergers que ne le laissent présager nos résultats *in vitro*.