

**RESISTANCE DE *VENTURIA INAEQUALIS* AUX FONGICIDES
INHIBITEURS DE LA BIOSYNTHESE DES STEROLS :
DETECTION ET CARACTERISATION DES SOUCHES EN 1989 ET 1990.**

L. PARISI*, J. GUILLAUMES* et G. WUSTER**

*I.N.R.A.- Station de Pathologie Végétale, Rue Georges Morel, 49070
BEAUCOUZE

** S.R.P.V. "Pays de Loire", 10, rue le Nôtre, 49044 ANGERS

RESUME

La détection dans les vergers français des souches de *V. inaequalis* résistantes aux fongicides Inhibiteurs de la Biosynthèse des Stérols et leur caractérisation ont été poursuivies en 1989 et 1990 . Les résultats de cette étude mettent en évidence :

* la présence de souches résistantes dans quelques vergers français (4 départements sont concernés)

* une grande variabilité des niveaux de résistance des ces souches, avec cependant une nette augmentation de leurs facteurs de résistance entre 1989 et 1990

* la perte pratique d'efficacité des traitements est constatée pour la première fois en France.

Mots-clés : *Venturia inaequalis*, pommier, résistance aux fongicides.

**RESISTANCE OF *VENTURIA INAEQUALIS* TO STEROL BIOSYNTHESIS
INHIBITORS FUNGICIDES : DETECTION AND CHARACTERIZATION
OF RESISTANT STRAINS IN 1989 AND 1990.**

SUMMARY

The detection of *V. inaequalis* strains resistant to Sterol Biosynthesis Inhibitors fungicides was carried on in french orchards in 1989 and 1990. The results of this study showed that :

* resistant strains were detected (4 departements were concerned)

* there was a great variability on the resistance level of these strains, with a notable increase of resistance factors between 1989 and 1990

* practical resistance was observed in France for the first time.

Key-words : *Venturia inaequalis*, apple, resistance to fungicides.

INTRODUCTION

La lutte contre la tavelure du pommier, *Venturia inaequalis* (Cke) Wint. demeure une préoccupation constante pour les arboriculteurs; elle nécessite un nombre important d'interventions fongicides (6 à 20 suivant les années et les régions). Ces interventions répétées posent deux types de problèmes: la possible rémanence de résidus dans les fruits et les effets secondaires de certains fongicides, notamment vis-à-vis des typhlodromes, auxiliaires précieux pour la régulation des populations d'acariens phytophages.

De ce fait, il apparaît de plus en plus nécessaire de raisonner les traitements pour aboutir à une efficacité maximale tout en limitant l'émergence de ces problèmes. Cette nécessité permet d'amorcer une évolution de la lutte contre *V. inaequalis* prenant davantage en compte la spécificité de chaque verger (au niveau de la sensibilité variétale et de l'inoculum présent) et les périodes de risque de contamination grâce aux réseaux d'avertissement.

Dans ce contexte, les fongicides Inhibiteurs de la Biosynthèse des Stéroïdes (IBS) permettent d'intervenir curativement jusqu'à 120 heures après la pluie contaminatrice. Leur rôle est important dans la lutte contre cette maladie, que ce soit pour l'intervention dans des périodes critiques où un risque n'est pas couvert ou pour l'application de stratégies de lutte raisonnée en fonction d'un seuil d'intervention. Douze matières actives sont actuellement homologuées et employées seules ou en mélange avec un fongicide multisite de contact, qui permet d'allonger la durée d'action préventive des IBS.

C'est en 1985 que STANIS et JONES mettent en évidence pour la première fois l'existence de souches résistantes provenant d'un verger allemand. Leur Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) est 4 à 8 fois supérieure à celle des souches sensibles. Depuis, des souches résistantes aux IBS ont été isolées en France (THIND *et al.*, 1986), en Italie (FIACCADORI *et al.*, 1987), en Belgique (CREEMERS *et al.*, 1988) et en Autriche (HERMANN *et al.*, 1989). Les facteurs de résistance (FR) de ces souches ont une valeur comprise entre 4 et 20 (par exemple 4 à 5 en Italie et 8 à 11 en Autriche).

En 1988, alors qu'aucune perte pratique d'efficacité de ces fongicides n'est signalée en Europe, HILDEBRAND *et al.*, travaillant dans un verger expérimental canadien, l'observent au bout de 10 ans d'utilisation intensive des IBS (7 à 9 traitements par an). Cette perte pratique d'efficacité est progressive : ils constatent une baisse du contrôle de la maladie au bout de six ans; trois ans plus tard les traitements sont totalement inefficaces. Dans ce verger, des souches de *V. inaequalis* résistantes sont détectées; leur CMI augmente graduellement au cours de l'expérience. Les facteurs de résistance de 3 souches provenant de ce verger vis-à-vis du bitertanol (fongicide le plus employé) sont compris entre 16 et 22.

Depuis la perte pratique d'efficacité des traitements aux IBS a été constatée dans les vergers européens, notamment en Hongrie (ENISZ, 1988), en Italie (FIACCADORI *et al.*, 1989) et en Autriche (HERMANN *et al.*, 1989).

En France, PARISI *et al.* (1990) testent l'efficacité curative de 9 IBS, seuls ou en association avec des fongicides multisites, vis-à-vis de 3 souches de *V. inaequalis* (1 sensible et 2 résistantes). Ils montrent que l'efficacité curative est bonne pour la souche sensible de référence, mais non pour les 2 souches résistantes. L'une d'entre elles est mal contrôlée par tous les IBS testés; pour la deuxième, l'efficacité des traitements est remise en cause lorsque le délai d'intervention est proche du délai maximum autorisé, et dans le cas d'associations à dosage en IBS réduit.

Tous ces résultats montrent qu'il est indispensable de poursuivre l'évaluation de la sensibilité aux IBS des populations de *V. inaequalis* dans les vergers français.

La présente communication se propose de synthétiser les résultats obtenus en 1989 et 1990 concernant la détection de souches résistantes dans différents vergers (analyses réalisées par le SRPV d'Angers) et la caractérisation du niveau de résistance de ces souches (réalisée par l'INRA d'Angers). Autant que possible, les résultats obtenus seront discutés en liaison avec la situation des vergers d'origine (nombre d'IBS reçus, incidence de la maladie) pour faire le point de l'évolution de ce problème en France.

MATERIEL ET METHODES

Détection des souches de *V. inaequalis* résistantes aux IBS.

Le protocole est décrit par MORZIERES *et al.* (1988). Il est basé sur l'aspect et la croissance du tube germinatif des conidies sur un milieu contenant 1 mg/l de fénarimol. Ce protocole distingue les souches sensibles des souches "r" (moyennement résistantes) et "R" (fortement résistantes).

Croissance mycélienne sur milieu avec fongicide.

Le protocole est celui décrit par PARISI *et al.* (1990) avec une modification : 10 concentrations de fénarimol sont testées : 0; 0,05; 0,1; 0,25; 0,5; 1; 2,5; 5; 7,5 et 10 mg/l. Le facteur de résistance est donné par le rapport entre la CI 50 de chaque souche testée et la moyenne des valeurs des CI 50 de quatre souches sensibles de référence.

Origine des échantillons reçus.

En 1989, les 39 échantillons analysés par le SRPV provenaient principalement de 2 régions : Midi-Pyrénées et Val de Loire.

En 1990, nous avons choisi de travailler à partir d'un plus faible nombre de vergers, où malgré des traitements intensifs aux IBS la maladie a posé problème.

Par contre, un nombre plus important de souches par verger a été isolé pour tenter de caractériser leur niveau de sensibilité sur un échantillon plus représentatif.

Nous exposerons les résultats concernant les 3 vergers suivants :

Tableau I. Caractéristiques des vergers étudiés en 1990.

Localisation du verger	Nombre de souches testées	Nombre d'IBS reçus	Pourcentage de fruits tavelés
Verger 1 :Corrèze	18	10 en 1990 a	80 à 90
Verger 2 :Drôme	40	17 en 1990	80 à 90
Verger 3 : Tarn-et-Garonne	23	29 de 1987 à 1990 b	30

a Traitements avec les IBS depuis 1986 dans le verger.

b Traitements avec les IBS depuis 5 ans, le nombre exact d'interventions en 1986 n'est pas connu.

RESULTATS

ANNEE 1989

Détection des souches de *V. inaequalis* résistantes aux IBS.

Les résultats des analyses effectuées ont mis en évidence :

- 21 échantillons où aucune souche résistante n'a été détectée
- 18 échantillons où des souches résistantes ont été détectées

La répartition des souches "r" et "R" détectées dans les différents échantillons est la suivante :

Tableau II. Pourcentage de souches de *V.inaequalis* résistantes dans 18 échantillons analysés en 1989.

Nombre d'échantillons	11	7
% r	2 à 10	5 à 38
% R	0	1 à 9

Les souches R ont été détectées uniquement dans des vergers du Tarn et Garonne, ceux-ci représentant 1/3 des analyses demandées.

Croissance mycélienne sur milieu avec fongicide.

A partir de 10 échantillons dont l'analyse a permis la détection de souches résistantes, 31 souches monoconidiennes ont été isolées. Cependant, la distinction entre "r" et "R" n'a pas pu être prise en compte lors du prélèvement.

Les résultats obtenus montrent que parmi les 31 souches isolées 8 sont sensibles et 23 montrent une sensibilité réduite au fénarimol.

La variabilité rencontrée dans les valeurs des CI 50 et 90 des souches testées, comparativement aux souches sensibles de référence, est la suivante :

Tableau III. Variabilité des valeurs des CI 50 et CI 90 des souches provenant des échantillons analysés en 1989, comparativement à 4 souches sensibles de référence.

	CI 50 (mg/l de fénarimol)	CI 90 (mg/l de fénarimol)
Souches sensibles de référence	0,1 à 0,4	0,8 à 1,9
Souches sensibles provenant des échantillons analysés	0,08 à 0,4	0,4 à 2,2
Souches à sensibilité réduite provenant des échantillons analysés	0,65 à 3	2,1 à 6,5

Le tableau IV indique pour chaque souche isolée la provenance, le nombre de traitements avec un IBS appliqués dans le verger les trois années précédant l'analyse, les pourcentages de souches "r" et "R" détectées et le facteur de résistance (FR).

ANNEE 1990

La variabilité des valeurs des CI 50 et CI 90 des souches isolées des 3 vergers étudiés est donnée par le tableau V (comparativement aux valeurs obtenues pour 4 souches sensibles de référence).

Tableau IV. Relation entre le nombre de traitements avec les IBS, les pourcentages de souches résistantes détectées et les facteurs de résistance (FR) des souches isolées à partir des échantillons analysés en 1989.

SOUCHE	PROVENANCE	NB IBS RECUS	% r et % R	FR
448	(85)	inconnu	3-0	-
447	(85)	inconnu	3-0	-
442	Corné(49)	0	10-0	-
446	Corné(49)	0	2-0	-
445	Corné(49)	4	2-0	-
443	Corné(49)	4	2-0	2.1
444	Corné(49)	4	2-0	3.3
429	Soings en S(41)	12	3-0	3.8
430	Soings en S(41)	12	3-0	6.6
427	Soings en S(41)	12	3-0	8.5
426	Soings en S(41)	12	3-0	9.2
428	Soings en S(41)	12	3-0	10.2
431	Montauban(82)	12	10-1	-
433	Montauban(82)	13	10-1	-
432	Montauban(82)	13	10-1	3.7
435	Montauban(82)	13	10-1	4.3
434	Montauban(82)	13	10-1	7.7
424	Moissac(82)	16	8-1	-
423	Moissac(82)	16	8-1	2.7
421	Moissac(82)	16	8-1	3.9
422	Moissac(82)	16	8-1	4.2
425	Moissac(82)	16	8-1	6
451	Montauban(82)	16	8-1	5.4
449	Montauban(82)	16	8-1	7.6
450	Montauban(82)	16	8-1	7.6
439	Finham(82)	18	7-2	4
441	Finham(82)	18	7-2	5
440	Finham(82)	18	7-2	6.9
438	Montauban(82)	21	5-1	10
437	Montauban(82)	21	5-1	8.3
436	Montauban(82)	21	5-1	13

Tableau V. Variabilité des valeurs des CI 50 et CI 90 des souches provenant des 3 vergers étudiés en 1990, comparativement à 4 souches sensibles de référence.

	CI 50 (mg/l de fénarimol)	CI 90 (mg/l de fénarimol)
Souches sensibles de référence	0,075 à 0,34	0,45 à 1,65
Souches sensibles provenant des échantillons analysés	0,08 à 0,43	0,45 à 2,17
Souches à sensibilité réduite provenant des échantillons analysés	0,57 à 8,05	2,1 à >10

La figure 1 illustre la répartition en 10 classes des valeurs des CI 50 des souches de *V.inaequalis* issues des 3 vergers étudiés.

DISCUSSION

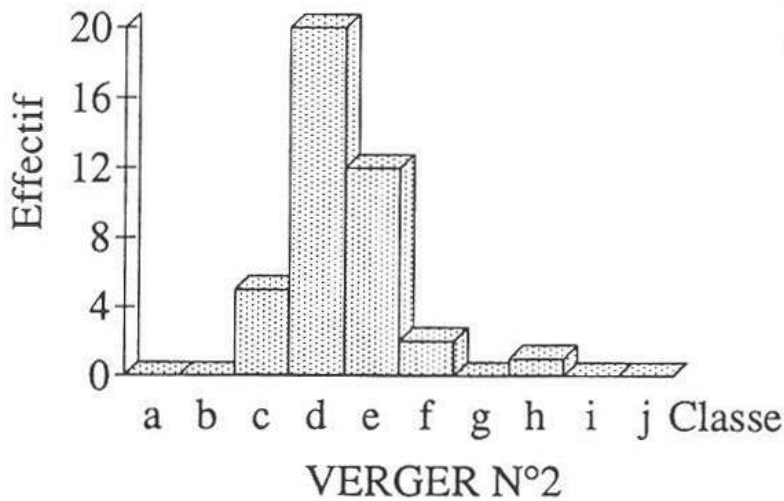
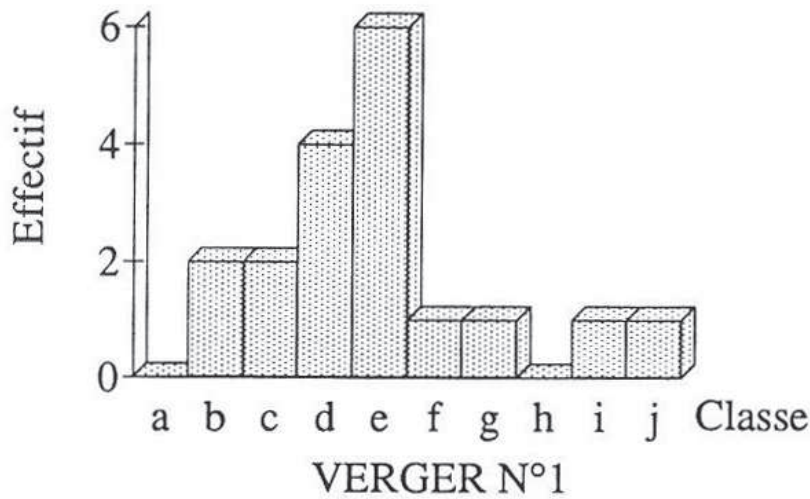
Les résultats obtenus en 1989, bien que concernant un nombre d'analyses et de souches relativement faible, nous apportent un certain nombre d'informations concernant le problème de la résistance de *V.inaequalis* aux IBS.

Le faible nombre d'analyses demandées peut résulter à la fois d'une année climatiquement peu favorable à la maladie et d'une pratique de traitements raisonnée dans la plupart des vergers. La majorité des échantillons reçus proviennent d'un seul département, le Tarn-et-Garonne; cela semble effectivement lié à une pratique intensive des traitements (tableau IV) et les analyses révèlent la présence de souches résistantes.

D'après le tableau II, les souches "R" ne seraient détectées qu'à partir d'un pourcentage minimum de souches "r" d'environ 5%. Ces résultats rejoignent ceux de MORZIERES *et al.* (1988), qui ont montré une relation entre la fréquence de souches "r" et la présence de souches "R". Par ailleurs, le tableau IV montre que les souches "R" sont détectées uniquement dans les vergers ayant reçu un nombre d'IBS sur 3 ans supérieur à 12. Cependant, la variabilité des valeurs de CI 50 et CI 90 des souches issues de ces échantillons (tableau III), et la présence de souches avec des FR parmi les plus élevés provenant d'un verger où des "R" n'ont pas été détectés soulève des interrogations sur cette distinction en deux niveaux de résistance.

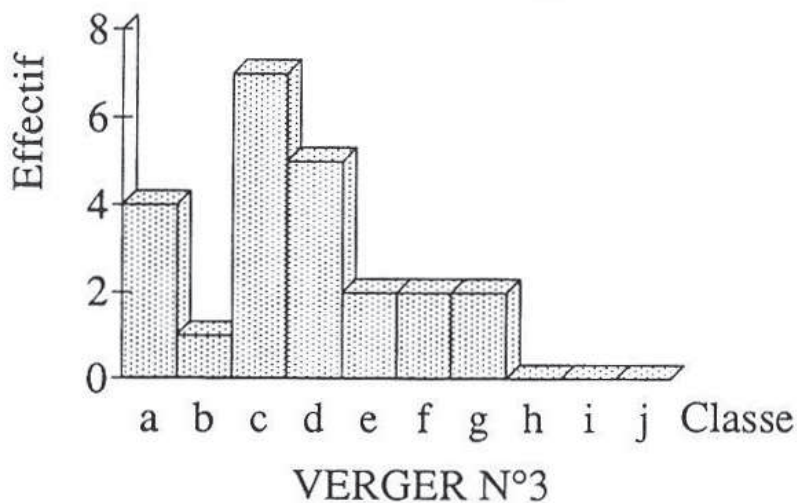
Le tableau IV met pour la première fois en relation le programme de traitements du verger et le niveau de résistance des souches qui en sont issues. Néanmoins, le nombre de souches qui a pu être isolé de chaque verger est trop

Figure 1 : répartition en classes des valeurs des CI50 des souches de *V. inaequalis* issues de 3 vergers. Les souches sensibles de référence ont des CI50 inférieures à 0,5 mg/l de fénarimol (classe a ou b).



Classes (CI 50 exprimées en mg/l de fénarimol) :

- a : $0 < CI50 \leq 0,25$
- b : $0,25 < CI50 \leq 0,5$
- c : $0,5 < CI50 \leq 1$
- d : $1 < CI50 \leq 2$
- e : $2 < CI50 \leq 3$
- f : $3 < CI50 \leq 4$
- g : $4 < CI50 \leq 5$
- h : $5 < CI50 \leq 6$
- i : $6 < CI50 \leq 7$
- j : $7 < CI50 \leq 8$



faible pour être représentatif de la population de *V. inaequalis*; c'est pour cette raison qu'une étude plus complète a été entreprise en 1990. Ce tableau met en évidence la présence de souches résistantes dans quelques vergers français; le problème paraît limité à deux départements. Les FR sont au maximum égaux à 13. La relation avec le nombre d'IBS appliqués n'est pas évidente : on trouve en effet des souches avec des FR élevés dans un verger ayant reçu 21 IBS en trois ans, mais aussi dans un verger en ayant reçu 12. Cependant notre enquête n'a pas pu remonter au nombre global d'IBS reçus par chaque verger et d'autres facteurs influent sur le développement plus ou moins rapide des souches résistantes dans un verger.

Les résultats obtenus en 1990 concernant la variabilité des CI50 et CI 90 des souches sensibles (tableau V) concordent avec ceux obtenus en 1989; en ce qui concerne les souches résistantes, nous détectons des souches avec des niveaux de résistance plus élevés qu'en 1989. On trouve en effet des CI 50 de 8,05 mg/l de fénarimol (3 mg/l au maximum en 1989); le FR le plus élevé est de 44. La figure 1 met en évidence de façon claire que la majorité (la totalité pour le verger n°2) des souches issues de ces 3 vergers sont résistantes aux IBS.

Les vergers dont sont issues ces souches ont subi en 1990 des lourdes pertes malgré de nombreux traitements avec les IBS. Nous pensons qu'il s'agit là des premiers cas de perte pratique d'efficacité des IBS en France. La situation du verger n°2 paraît exemplaire : il subit 80 à 90 % de pertes malgré 17 traitements en 1990; les 40 souches de *V. inaequalis* qui en sont issues sont toutes résistantes aux IBS. Le cas du verger n°3 est aussi intéressant : l'incidence de la maladie y est plus faible et les souches moins résistantes et présentes à un plus faible taux que dans les vergers n°1 et 2. Il représente probablement une étape du processus évolutif de la population de *V. inaequalis* vers une plus grande résistance, observée dans le cas des vergers n°1 et 2.

En conclusion, nous pouvons dire que pour les 2 années 1989 et 1990 le problème de la résistance de *V. inaequalis* aux IBS est resté limité à quelques vergers où des traitements intensifs ont été poursuivis; le faible nombre d'analyses demandé en témoigne. Il ne faut pas oublier cependant que ces deux années ont été peu favorables à la maladie dans beaucoup de régions. Malgré cela, la perte pratique d'efficacité de ces fongicides en France est mise en évidence pour la première fois, confirmant les travaux d'HILDEBRAND *et al.* et les observations faites dans d'autres pays européens. Cette donnée doit être prise en compte dans toute stratégie de lutte contre la maladie, et souligne l'importance de raisonner au mieux ses modalités.

Remerciements. Les auteurs remercient J. Gaudin et I. Renaudin pour leur collaboration technique.

BIBLIOGRAPHIE

CREEMERS P., VANDERGETEN J. and VANMECHELEN A., 1986 Variability in sensitivity of field isolates of *Venturia sp.* to demethylation inhibitors. Meded. Fac. Landbouwwet. Rijksuniv. Gent 53/2b, 577-587

FIACCADORI R., GIENLINK A.J. and DEKKER J., 1987. Sensitivity to inhibitors of sterol biosynthesis in isolates of *Venturia inaequalis* from Italian and Deutch orchards. Neth. J. Plant Path., 93, 285-287

FIACCADORI R., CESARI A., 1989. Modificazioni della sensibilità di *Venturia inaequalis* in Italia nei confronti dei fungicidi IBE. Inf. fitopatol., 12, 56-58

ENISZ J., 1988. A method for measurement *in vivo* of the sensitivity to SBI-fungicides of *Venturia inaequalis*. ISPP Chemical Control Newsletter, 11, 36-37

HERMANN M., SZITH R. and ZINKERNAGEL V., 1989. Reduced sensitivity of some scab isolates (*Venturia inaequalis*) from Steiermark (Austria) to EBI-fungicides. Gartenbauwissenschaft, 54, 160-165

HILDEBRAND P.D., LOCKHART C.L., NEWBERY R.J. and ROSS R.G., 1988. Resistance of *Venturia inaequalis* to bitertanol and other demethylation-inhibiting fungicides. Can. j. plant pathol., 10, 311-316

MORZIERES J.P., CLERJEAU M. et THIND T.S., 1988. Mise au point sur la résistance des souches de *Venturia inaequalis* aux fongicides inhibiteurs de la biosynthèse de l'ergostérol en France. Maladies des plantes : Journées d'études ANPP, 2, 1321-1326.

PARISI L., GUILLAUMES J. et OLIVIER J.M., 1990. Variabilité de l'efficacité curative d'inhibiteurs de la biosynthèse des stérols vis à vis de *Venturia inaequalis*. Agronomie, 10, 573-579

STANIS V.F., JONES A.L., 1985. Reduced sensitivity to sterol inhibiting fungicides in field isolates of *Venturia inaequalis*. Phytopathology 75, 1098-1101

THIND T., CLERJEAU M. and OLIVIER J.M., 1986. First observations on resistance in *Venturia inaequalis* and *Guinardia bidwellii* to ergosterol biosynthesis inhibitors in France. Proc. British Protec. Conf. Pests and Dis.,2, 491-498