

**AFPP – SEPTIEME CONFERENCE INTERNATIONALE  
SUR LES MALADIES DES PLANTES  
TOURS, FRANCE, 3-4-5 DECEMBRE 2003**

**LA TAVELURE DES POMMES (*Venturia inaequalis*) :  
COMPORTEMENT AUX INHIBITEURS DE LA BIOSYNTHESE DES  
STEROLS (I.B.S.)**

**F. REMUSON, D. BRENIAUX, A. MICOUD**

Service Régional de la Protection des Végétaux (S.R.P.V.) Rhône-Alpes  
165, rue Garibaldi – F 69003 Lyon

**RESUME**

La sensibilité de la tavelure du pommier aux inhibiteurs de la biosynthèse des stérols (I.B.S.) a déjà fait l'objet de nombreuses études. En France, dès 1991, les travaux réalisés à l'INRA d'Angers montraient le danger de l'utilisation abusive des substances de ce groupe qui pouvait entraîner la sélection de souches hautement résistantes. Suite aux échecs ou aux efficacités limitées enregistrés avec certains programmes incluant des IBS ces dernières années, il a paru intéressant de refaire le point en matière de résistance vis à vis de ces produits. Le comportement d'une soixantaine de souches (issues de 9 vergers ayant présenté des problèmes) a été étudié vis à vis de quatre substances actives (difénoconazole, fénarimol, hexaconazole, tébuconazole). Les résultats obtenus montrent que, malgré une utilisation limitée, les IBS présentent une érosion significative de leur efficacité.

Mots clés : Tavelure du pommier, *Venturia inaequalis*, Résistance aux fongicides, Inhibiteurs de la Biosynthèse des Stérols, Inhibiteurs de la 14  $\alpha$  Déméthylase.

**SUMMARY**

**APPLE SCAB (*Venturia inaequalis*) : SENSITIVITY TO STEROLS  
BIOSYNTHESIS INHIBITORS (S.B.I.)**

A lot of studies have exhibited the apple scab sensitivity to S.B.I.. In France, since 1991, the studies carried out by INRA Angers have shown the risks of an excessive use of these products because of highly resistant strain selection. After observation of failures or low efficiency with some schedules including S.B.I. in past years, it is interesting to study again the apple scab sensitivity to these products.

The sensitivity of about sixty strains (from 9 orchards with problems) was studied against four different fungicides (difenoconazole, fenarimol, hexaconazole, tebuconazole). The results demonstrate that, in spite of a limited use, S.B.I. show a significantly low efficiency on the populations studied.

Key-words : Apple scab, *Venturia inaequalis*, Fungicide resistance, Sterols Biosynthesis Inhibitors, DeMethylation Inhibitors.

## INTRODUCTION

La tavelure du pommier, *Venturia inaequalis*, a toujours été et reste une préoccupation majeure pour les arboriculteurs. L'arrivée des premiers inhibiteurs de la biosynthèse des stérols (I.B.S.) et, plus précisément, des Inhibiteurs de la 14  $\alpha$  Déméthylase (I.D.M.) pour lutter contre cette maladie laissait entrevoir un progrès sensible par rapport aux produits de contact : tenue au lessivage, effet curatif. Cet enthousiasme s'est parfois traduit par des applications très nombreuses au cours d'une même saison. Les premiers échecs n'ont pas tardé à sanctionner ces pratiques excessives. Les résultats publiés par Mme L. PARISI dès 1991 (PARISI et al, 1991) ont démontré qu'en multipliant les interventions, on sélectionne facilement des souches hautement résistantes ; ils montrent également que ces souches résistantes peuvent régresser au verger si l'on suspend ou si l'on réduit fortement l'utilisation de ces produits. Ces travaux ont souligné l'intérêt d'une utilisation plus raisonnable de cette famille chimique en limitant le nombre d'interventions à 3 ou 4 par an pour préserver son efficacité. Ces recommandations, très largement relayées par la prescription, sont à peu près respectées. Depuis plusieurs années, des conditions printanières extrêmement favorables à la maladie ont fait apparaître des échecs ou des efficacités très limitées de programmes incluant des I.B.S. L'étude mise en place avait pour but, dans un premier temps, de refaire le point en matière de résistance vis à vis de ce groupe. Les autres familles chimiques sont en cours d'évaluation.

## MATERIEL ET METHODES

### 1 – ECHANTILLONNAGE

Des échantillons de 30 à 50 feuilles avec de jeunes taches sporulantes de tavelure ont été prélevés durant le printemps 2002 dans 9 vergers commerciaux, distribués dans différents bassins de production (Sud Ouest, Centre, Sud-Est). Dans tous ces vergers, malgré des programmes de traitements anti-tavelure adaptés, le parasite n'a pu être correctement contenu, d'où une suspicion de résistance vis à vis des substances actives utilisées dans les périodes les plus difficiles, à savoir les I.B.S..

### 2 – SOUCHES REFERENCES

Le comportement des différents échantillons provenant de vergers commerciaux a été comparé à celui de deux souches références provenant de la collection de l'INRA d'Angers :

- l'une (dénommée *INRA 498*), résistante à divers I.D.M. (fénarimol, flusilazole, penconazole et myclobutanil), isolée en 1990 dans un verger de la région de Montauban,
- l'autre (*INRA 736*), sensible à toutes les substances actives sus nommées, isolée en 1991 dans les vergers expérimentaux de l'INRA d'Angers.

### 3 – FONGICIDES

Quatre substances actives de la famille des I.D.M. ont été testées en parallèle :

- une Pyrimidine : le fénarimol (Rubigan) sous forme de produit technique,

- trois triazoles : le difénoconazole (Score), l'hexaconazole (Anvil) et le tébuconazole (Horizon) sous forme de produits formulés.

#### 4 – METHODE D'ANALYSE

Cette étude a été conduite in vitro, par des tests en croissance mycélienne à partir de cultures monospores. Dans un premier temps, pour chaque échantillon provenant des vergers commerciaux, une suspension de spores a été réalisée (à une concentration moyenne d'environ 100 000 spores/mL) puis placée sur un milieu malt-agar-chloramphénicol sans fongicide. La germination des conidies a été observée 24 h plus tard et un certain nombre de spores ayant germé ont alors été mises en culture individuellement sur un milieu PDA. Pour chaque échantillon, 40 à 50 monospores ont ainsi été réalisées, ce qui a permis d'obtenir entre 5 à 10 monospores utilisables pour les tests de croissance mycélienne.

Des implants mycéliens (diamètre calibré de 7 mm) de chacune de ces cultures ont été prélevés à la marge du mycélium en croissance active et déposés au centre de boîtes de Petri sur milieu PDA amendé (fongicide inclus dans le milieu). Chaque monospore a été confrontée à une gamme de concentrations de chacune des 4 substances actives étudiées. Les souches références INRA (sensibles et résistantes) ont été incluses dans le dispositif. La gamme retenue, commune aux 4 substances actives étudiées, a été définie à partir des travaux réalisés à l'INRA d'Angers (PARISI et al., 1994 ; SCHNABEL et PARISI, 1997) :

0 - 0,003 - 0,01 - 0,03 - 0,1 - 0,3 - 1 - 3 - 10 - 30 mg substance active / L milieu.

Les boîtes ont été mises en incubation à 22 - 23°C et à 16 h /8 h de photopériode. Les croissances mycéliennes ont été contrôlées régulièrement ; la notation finale a été réalisée 40 à 42 jours après le début du test, par mesure du diamètre moyen de la culture mycélienne. Les valeurs de cette notation ont, ensuite, été exprimées en **pourcentage de croissance par rapport au témoin**.

L'estimation des Concentrations d'Inhibition 50% (CI 50) de chaque culture monospore a été réalisée, pour chacune des substances actives, par méthode graphique à partir des courbes représentant le pourcentage de croissance par rapport au témoin, en fonction du logarithme ( $\log_{10}$ ) des concentrations testées.

#### RESULTATS ET DISCUSSION

Les monospores sélectionnées pour chaque verger ont été soumises à l'action des quatre substances actives étudiées, de même que les souches de référence INRA sensibles et résistantes. En parallèle, quatre souches de tavelure ont été rajoutées aux échantillons issus de vergers commerciaux. Il s'agit de souches (issues chacune d'une monospore) provenant de quatre jardins particuliers (2 dans la Loire et 2 en Haute Savoie, non traités et éloignés de toutes zones de vergers commerciaux). Seule la souche "Loire 1" a pu être testée sur l'ensemble des substances actives étudiées ; pour les 3 autres, les tests ont été réalisés en fonction de la disponibilité en matériel mycélien.

Il apparaît que, pour chacune des matières actives, les résultats obtenus avec ces souches sont assez comparables à ceux de la souche de référence sensible (Tableau I). Elles peuvent donc être considérées comme des souches sensibles de terrain qualifiées ultérieurement de "souches sensibles PV Rhône-Alpes".

Tableau I – CI 50 (en mg/L) des souches sensibles et souche référence résistante  
EC 50 (mg a.i./L) values found in sensitive strains and resistant reference strain

Substances actives		difénoco- nazole	fénarimol	hexacona- zole	tebucona- zole
<b>CI 50 Réf. SENSIBLE (INRA)</b>		<b>0,0071</b>	<b>0,037</b>	<b>0,01</b>	<b>0,025</b>
CI 50 Souches sensibles de terrain	Loire 1	0,0051	0,065	0,013	0,055
	Loire 2	-	-	-	0,013
	Haute Savoie 1	-	-	0,014	-
	Haute Savoie 2	0,01	0,016	-	0,04
	<i>Moyenne</i>	<i>0,0076</i>	<i>0,04</i>	<i>0,0135</i>	<i>0,036</i>
<i>CI 50 MOYENNE Générale Sensibles</i>		<i>0,007</i>	<i>0,039</i>	<i>0,012</i>	<i>0,033</i>
<b>CI 50 Réf. RESISTANTE (INRA)</b>		<b>0,45</b>	<b>4,35</b>	<b>1,7</b>	<b>3,6</b>
<b>FACTEUR DE RESISTANCE *</b>		<b>64</b>	<b>112</b>	<b>142</b>	<b>109</b>

\* Facteur de résistance = *CI 50 MOYENNE Générale Sensibles* / *CI 50 Réf. RESISTANTE (INRA)*

Si l'on compare entre elles les CI 50 moyennes des souches sensibles, pour les quatre substances actives, on constate que celles-ci sont du même ordre pour fénarimol (0,039) et tebuconazole (0,033). Par contre, elles sont plus faibles pour hexaconazole (0,012) et surtout pour difénoconazole (0,007).

En parallèle, le difénoconazole se distingue aussi des autres substances actives par le facteur de résistance (FR) moindre qui existe entre la CI 50 de la souche de référence résistante et la CI 50 moyenne des souches sensibles (Tableau I).

La synthèse des résultats obtenus avec les souches des différents vergers commerciaux est présentée dans le Tableau II. Ces résultats permettent de relever les points suivants :

- **tébuconazole** : dans tous les vergers, on observe, d'une part, une très grande variabilité des CI 50 entre les souches et, d'autre part, des valeurs de CI 50 toutes supérieures à celles des souches sensibles. Seuls trois vergers (n°2, 8 et 9) possèdent encore, chacun, une souche dont la CI 50 est de l'ordre de celles des sensibles (de 0,02 à 0,05 mg/L). La majorité des autres souches testées présentent des CI 50 nettement plus élevées (de 0,23 à 4,8 mg/L), d'où des facteurs de résistance (FR) allant de 7 à 145 (alors que le FR de la souche de référence INRA résistante est de l'ordre de 109).

Même si le nombre de souches testées par verger (entre 4 et 12) est faible pour être totalement représentatif de la population de chacun de ces vergers, la très grande dispersion des CI 50 donne une idée de l'amplitude atteinte par les phénomènes de

résistance dans chacun de ces vergers au moment du prélèvement et des conséquences qui en découleraient rapidement si la pression de sélection était maintenue.

▪ **fénarimol** : alors que les souches sensibles présentent des valeurs comparables au tébuconazole, les souches de verger présentent une moins grande dispersion des CI 50 à l'intérieur d'un même site, à l'exception de 4 vergers (n° 3, 5, 7 ou 8). Par ailleurs, 4 sites possèdent une à plusieurs souches dont les CI 50 sont proches de celles des sensibles (vergers n° 5, 6, 8, 9). Il n'en reste pas moins que, comme avec le tébuconazole, pour la majorité des monospores testées, les CI 50 sont élevées et les FR s'étagent entre 5 (pour les souches les plus "sensibles" des vergers 2 et 3) et 130 (pour la souche la plus résistante du verger 7).

▪ **difénoconazole** : avec des CI 50 nettement plus faibles en valeurs absolues, les mêmes observations peuvent être faites :

- trois vergers (n° 2, 8 et 9) possèdent encore quelques souches dont la CI 50 reste proche de celles des souches sensibles,
- la dispersion des CI 50 apparaît moins grande au sein de chaque verger.

Comme pour les substances actives précédentes, on constate que tous les vergers possèdent une majorité de souches dont les CI 50 sont élevées, avec des facteurs de résistance allant de 10 à 329 (souche la plus résistante du verger n°6) alors que le FR de la souche référence résistante est de l'ordre de 64.

▪ **hexaconazole** : la situation s'avère assez semblable à celle du difénoconazole, autant vis à vis du nombre de vergers présentant encore des souches proches des sensibles, que de la dispersion des CI 50 dans et entre vergers. Par contre, cette substance active se démarque des trois autres par des CI 50 moins élevées dont les FR s'échelonnent entre 6 (pour la souche la plus "sensible" du verger 1) à 50 (pour les souches les plus résistantes des vergers 4 et 9). Seule une souche se démarque par rapport à cette "fourchette" et présente un FR proche de celui de la souche référence résistante ; il s'agit d'une souche du verger 5 dont le FR atteint 125.

Au delà de ces observations réalisées sur l'ensemble des vergers, il apparaît que les souches de chaque verger peuvent réagir très différemment en fonction de la substance active. Ainsi, si l'on prend l'exemple du verger n° 7, ses souches montrent une très grande hétérogénéité de réponses au tébuconazole et au fénarimol avec des CI 50 très dispersées dont certaines parmi les plus élevées (FR > 100), alors que vis à vis de l'hexaconazole et du difénoconazole, les CI 50 de ces mêmes souches sont beaucoup plus groupées, avec des FR < 40. Inversement, le verger 5 présente des souches résistantes, voire très résistantes, à l'hexaconazole et au fénarimol, alors qu'elles ont le meilleur comportement vis à vis du tébuconazole et qu'elles apparaissent encore peu résistantes au difénoconazole. Ces situations laisseraient penser qu'il existe, en plus de la résistance croisée au sein de cette famille chimique, un "effet produit" lié à la répétition d'applications d'une même matière active au cours des années. Sur les 9 vergers étudiés, nous n'avons malheureusement pas suffisamment de recul par rapport à l'enregistrement des traitements pour vérifier cette hypothèse.

Tableau II : Répartition des CI 50 des 9 vergers pour les 4 substances actives  
 EC 50 variation in 9 orchards for 4 active ingredients

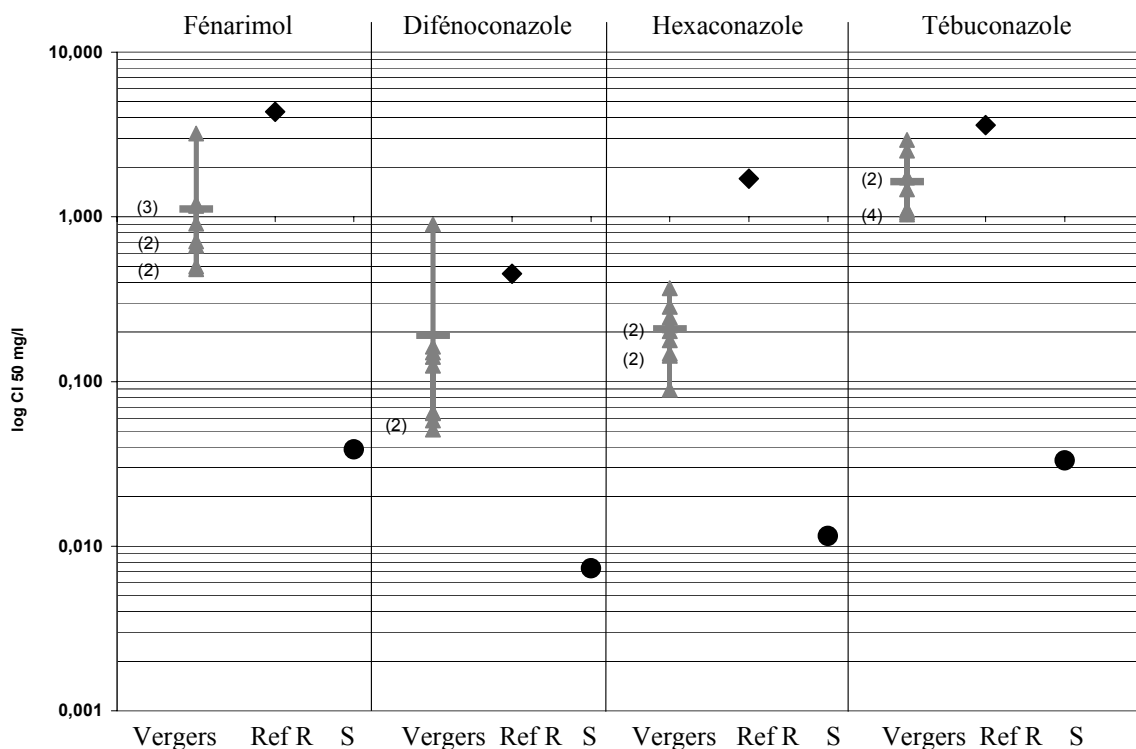
VERGER n°	Région	Nb monospores	CI 50 (mg/L) MOYENNE	Valeurs Extrêmes des CI 50
TEBUCONAZOLE (Moyenne CI 50 Sensibles : 0,033 mg/L)				
1	Centre	4	1,74	0,32 – 3,50
2	Aquitaine	7	1,03	0,02 – 3,20
3	Aquitaine	5	2,50	0,65 – 4,50
4	Aquitaine	11	1,06	0,23 – 2,70
5	Aquitaine	10	1,10	0,30 – 1,60
6	Aquitaine	5	1,73	0,52 – 4,20
7	Midi-Pyrénées	7	2,97	0,75 – 4,80
8	Rhône-Alpes	8	1,09	0,05 – 2,80
9	PACA	12	1,47	0,03 – 3,60
FENARIMOL (Moyenne CI 50 Sensibles : 0,039 mg/L)				
1	Centre	4	0,67	0,39 – 1,10
2	Aquitaine	7	0,48	0,18 – 0,75
3	Aquitaine	5	1,22	0,22 – 2,30
4	Aquitaine	11	0,71	0,12 – 1,80
5	Aquitaine	10	1,17	0,07 – 4,20
6	Aquitaine	8	0,91	0,03 – 2,00
7	Midi-Pyrénées	9	3,25	0,36 – 5,20
8	Rhône-Alpes	8	1,17	0,05 – 3,90
9	PACA	13	0,50	0,06 – 1,50
DIFENOCONAZOLE (Moyenne CI 50 Sensibles : 0,007 mg/L)				
1	Centre	4	0,06	0,04 – 0,12
2	Aquitaine	7	0,05	0,01 – 0,17
3	Aquitaine	5	0,16	0,05 – 0,40
4	Aquitaine	10	0,13	0,04 – 0,42
5	Aquitaine	10	0,07	0,04 – 0,10
6	Aquitaine	6	0,90	0,06 – 2,30
7	Midi-Pyrénées	5	0,06	0,02 – 0,17
8	Rhône-Alpes	8	0,15	0,004 – 0,26
9	PACA	12	0,14	0,008 – 0,75
HEXACONAZOLE (Moyenne CI 50 Sensibles : 0,012 mg/L)				
1	Centre	3	0,20	0,08 – 0,41
2	Aquitaine	7	0,09	0,03 – 0,18
3	Aquitaine	5	0,22	0,08 – 0,45
4	Aquitaine	10	0,14	0,05 – 0,62
5	Aquitaine	10	0,37	0,04 – 1,50
6	Aquitaine	4	0,15	0,14 – 0,16
7	Midi-Pyrénées	5	0,28	0,09 – 0,50
8	Rhône-Alpes	8	0,24	0,03 – 0,50
9	PACA	13	0,18	0,03 – 0,60

La figure 1 présente une synthèse des résultats au travers de laquelle il est possible d'avoir une idée de la situation globale des vergers étudiés vis à vis des 4 substances actives. A chacune de ces matières actives (présentées en abscisses) correspondent en ordonnées (sous échelle logarithmique) :

- un axe portant les moyennes des CI 50 de chacun des vergers ainsi que la moyenne générale des 9 vergers,
- la valeur de la CI 50 de la souche référence résistante,
- la moyenne des CI 50 des souches sensibles.

On constate que, pour les 4 substances actives, la majorité des vergers présente des CI 50 moyennes relativement groupées avec, pour fénarimol et difénoconazole, un seul verger qui se démarque et possède une CI 50 moyenne nettement plus élevée. A noter que, pour tébuconazole, ces CI 50 moyennes sont homogènes mais toutes relativement proches du niveau de la souche référence résistante.

Figure 1 : Répartition des CI 50 moyennes des 9 vergers par substance active  
Variation of means EC 50 of 9 orchards / active ingredient



**Légende :**

- ▲ CI 50 moyenne / verger
- (2) Nbre vergers avec cette valeur de CI 50 moyenne
- CI 50 moyenne générale des 9 vergers
- ◆ CI 50 souche Référence résistante
- moyenne CI 50 souches sensibles

Si l'on considère plus spécifiquement le fénarimol pour lequel les travaux de Mme L. PARISI permettent d'avoir une vision de la situation antérieure, on constate que l'étalement des CI 50 moyennes des vergers reste assez comparable (de 0,18 à 2,63 en 1994 (PARISI et al, 1994) contre 0,48 à 3,25 en 2002), chiffres confortés par la comparaison des amplitudes des CI 50 entre les souches elles mêmes, comme le montre le tableau III.

TABLEAU III – Comparaison des CI 50 monospores entre 1994 et 2003 (fénarimol)  
Comparison of monoconidial EC 50 between 1994 and 2002 (fenarimol)

Année	Nombre de vergers	Amplitude des valeurs des CI 50 (mg/L fénarimol)	Nombre total souches testées
1994*	4	0,05 à 8,05	113
2001**	8	0,036 à 5	29
2002	9	0,031 à 5,2	75

\* PARISI et al, 1994

\*\* Résultats PV ponctuels sur vergers à problèmes

Or le fénarimol est un produit qui n'est pratiquement plus utilisé. Il faut donc admettre que la résistance croisée, connue comme étant plus ou moins accentuée entre les substances actives du groupe, est suffisante pour permettre le maintien de résistances acquises, y compris après l'arrêt d'utilisation du produit considéré.

Plus globalement, la comparaison par substance active entre la moyenne générale des CI 50 des vergers et la moyenne des CI 50 des souches sensibles (Tableau IV), fait apparaître des facteurs de résistance respectifs de 28 et 27 pour le fénarimol et le difénoconazole, de 17 pour l'hexaconazole et de 48 pour le tébuconazole. Pour ce dernier, une telle valeur, conjuguée à la très grande hétérogénéité de comportement des monospores dans toutes les populations étudiées (Cf. Tableau II), fait apparaître la situation du tébuconazole comme étant la plus dégradée sur l'ensemble des vergers étudiés.

TABLEAU IV – Comparaison CI50 moyenne des 9 vergers/CI50 moyenne souches S  
Comparison of mean EC 50 between 9 orchards and sensitive strains

	Fénarimol	Difénoconazole	Hexaconazole	Tébuconazole
CI 50 moyenne des 9 vergers	1,11	0,191	0,21	1,6
CI 50 moyenne Sensibles	0,039	0,007	0,012	0,033
Facteur de résistance	28	27	17,5	48

Néanmoins, compte tenu qu'il s'agit ici de valeurs globales traduisant des situations assez diversifiées, avec, par verger, des populations très hétérogènes vis à vis de la résistance, ces valeurs ne correspondent probablement pas à une perte totale d'efficacité ; mais, face à de fortes pressions de tavelure, il est vraisemblable que l'on puisse obtenir des décrochements significatifs. Or, ces produits sont préférentiellement utilisés dans ces circonstances.



## **CONCLUSION**

Malgré une utilisation raisonnée des I.B.S. (3 à 4 applications par an), les niveaux de résistance atteints sont préoccupants. Le nombre de monospores testées par verger n'est certes pas suffisant pour donner une idée précise de la structure des populations au sein des parcelles mais les résultats obtenus montrent que la situation est déjà bien dégradée. Les I.B.S. présentent une érosion suffisamment significative de leur efficacité pour expliquer, au moins pour partie, des échecs. En l'absence de résistance, une réduction plus drastique de leur utilisation, avec alternance des substances actives appartenant à cette famille au cours de la saison doit prévaloir. Par contre, en situation de résistance, l'alternance au sein d'une saison ne suffit plus ; il faudrait également envisager d'en suspendre l'utilisation au moins une année sur deux (et peut-être davantage) si l'on veut retrouver un intérêt pratique à ces produits.

## **REMERCIEMENTS**

Nous tenons à remercier tout particulièrement Mme L. PARISI (INRA Angers) et M. P. LEROUX (INRA Versailles) pour leur soutien scientifique ainsi que pour les conseils qu'ils nous ont prodigués au cours de cette étude.

## **REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES**

PARISI L., GUILLAUMES J., WUSTER G., 1991 – Résistance de *Venturia inaequalis* aux fongicides inhibiteurs des stéroïdes : détection et caractérisation des souches en 1989 et 1990. *ANPP – Troisième conférence internationale sur les maladies des plantes*. Bordeaux – 3, 4, 5 décembre 1991, 853-862.

PARISI L., GUILLAUMES J., WUSTER G., 1994 – Variabilité de la sensibilité au fénarimol de souches de *Venturia inaequalis* provenant de vergers. *Agronomie*, 14, 387-394.

SCHNABEL G., PARISI L., 1997 – Sensibility of *Venturia inaequalis* to five DMI fungicides, including the new triazole fluquinconazole, and to pyrimethanil. *Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz Journal of Plant Diseases and Protection*, 104 (1), 36-46.