Recherche et développement de biopesticides et pesticides naturels à faibl	e
toxicité pour les organismes non ciblés et respectueux de l'environnement	_

Rapport synthèse - Volet Phytopathologie

Projet PARDE # 3333.52.02.01

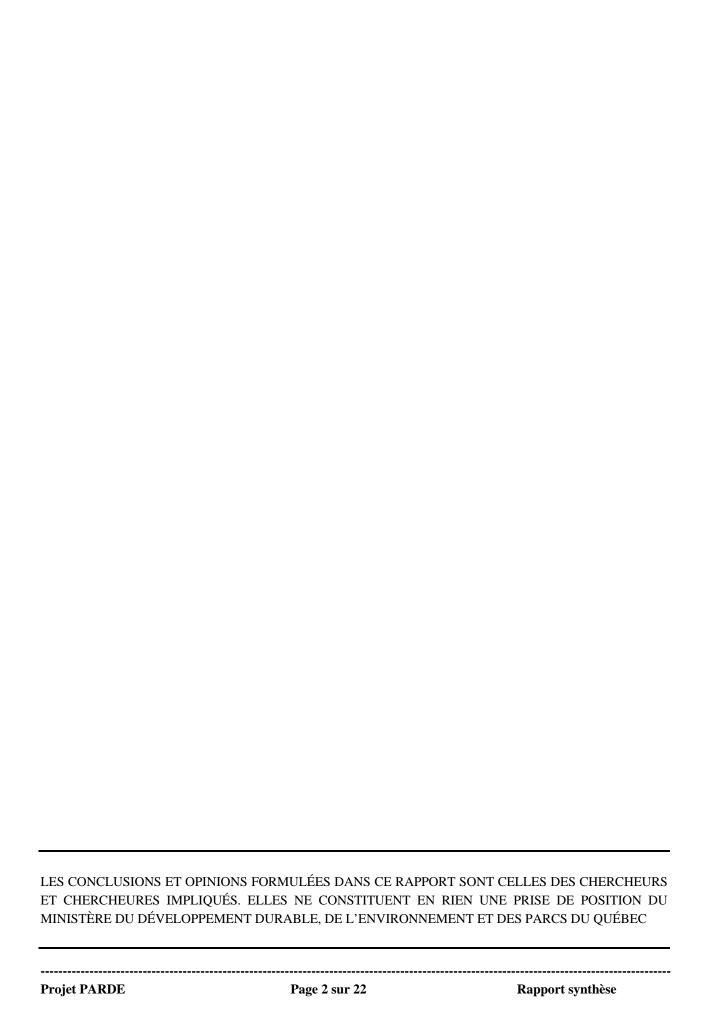
Présenté au

Ministère du Développement durable, de l'Environnement et des Parcs du Québec (MDDEP)

Présenté par

Horti-Protection inc. Johanne Caron, M.Sc. Lucie Laverdière, tech.

Université Laval Joëlle Venne, agr., M.Sc Richard Bélanger, Ph.D.,



LA PROBLÉMATIQUE ET OBJECTIFS DE RECHERCHE

La récente publication du Rapport Cousineau sur l'utilisation des pesticides en milieu urbain dresse un bilan fort éloquent de la problématique inhérente à l'utilisation des produits de synthèse à des fins phytosanitaires. Alors que les conclusions du rapport décrivent sans équivoque la perception négative de la population québécoise à l'égard des pesticides, ces mêmes conclusions relatent de façon tout aussi péremptoire le manque d'alternatives propres à diminuer la dépendance du secteur agricole envers les pesticides. Ces alternatives, que l'on peut définir ici sous le vocable générique de biopesticides, tardent à s'implanter sur le marché et demeurent en grande partie des solutions de rechange souhaitées plutôt que réelles.

Plusieurs facteurs expliquent la disparité qui persiste entre le désaveu des pesticides chimiques et l'accessibilité à des produits plus respectueux de l'environnement au Canada. De façon plus particulière mais non-exhaustive, les raisons suivantes sont les plus souvent évoquées :

La production commerciale des biopesticides

La formulation des biopesticides

L'efficacité des biopesticides

Le financement de la recherche sur les biopesticides

L'homologation des biopesticides auprès de l'agence de réglementation de la lutte antiparasitaire (ARLA)

De fait, la problématique actuelle ne réside plus tant dans la découverte de nouveaux agents de lutte biologique, mais plutôt dans le développement et la mise en marché de produits ou organismes pour lesquels la recherche scientifique a déjà fait état du potentiel prometteur au Canada. À titre d'exemple, l'Environmental Protection Agency (EPA), l'homologue américain de l'ARLA, recense plus de 50 biopesticides naturels et à base de micro-organismes disponibles commercialement (http://www.epa.gov/pesticides/biopesticides/ai/all_ais.htm). Cette situation indique clairement que le Québec pourrait se doter assez rapidement d'outils de lutte biologique efficaces dans la mesure où quelques-uns des produits homologués aux États-Unis devenaient disponibles au Canada sur la base d'une autorisation par l'ARLA.

On peut ainsi se questionner à juste titre sur les raisons de l'inéquation du développement du marché des biopesticides aux États-Unis par rapport à la stagnation apparente du même marché au Canada. Une compréhension de la réglementation offre les premiers éléments de réponse. Contrairement à l'ARLA, l'EPA (sauf pour la Californie qui a son propre système d'évaluation) n'exige pas de tests d'efficacité dans son processus de révision. On peut ainsi homologuer un biopesticide sur la base unique de son innocuité pour la santé humaine et l'environnement sans faire la preuve de son efficacité sous les différentes conditions pour lesquelles le produit pourrait être appelé à être utilisé. Au contraire, l'ARLA requiert que l'on fasse la démonstration du potentiel pesticide du produit et ce, sur plusieurs saisons et pour toutes les régions géographiques particulières du Canada. Cette exigence entraîne des coûts additionnels énormes pour les compagnies, coûts qui bien souvent ne justifient pas l'espérance du marché. Par contre, ces mêmes compagnies expriment spontanément leur intérêt à créer des alliances stratégiques avec des chercheurs canadiens dans le but d'obtenir les données d'efficacité nécessaires à l'homologation de leurs produits. De même, plusieurs chercheurs et compagnies au Québec ont découvert et développé des micro-organismes et des produits naturels pouvant servir de biopesticides, mais se trouvent confrontés aux exigences longues et onéreuses imposées par l'ARLA. Dans ce contexte, leurs efforts pourraient être facilités par une participation à regroupement des forces actives dans la recherche et le développement des biopesticides au Québec, objectif spécifique que ce projet cherche à réaliser.

Le marché des biopesticides

Considérant toutes les raisons invoquées précédemment, il est clair que le marché des biopesticides est à l'état embryonnaire; la proportion des biopesticides vendus versus les pesticides chimiques n'atteint que 0.25%. Conséquemment, le marché est encore fragile et non-éprouvé. Il devient donc important de le stimuler et de l'alimenter à l'aide de données scientifiques rigoureuses propres à favoriser la confiance des utilisateurs éventuels et de l'ARLA. Incidemment, plusieurs projets de recherche ou produits en développement ont été abandonnés au fil des ans parce que les promoteurs avaient mal établi l'ampleur du marché dans leur plan d'affaires. L'erreur la plus commune réside dans une surévaluation du marché et du potentiel d'utilisation. Il est important de se rappeler que la plupart des biopesticides sont composés d'organismes vivants qui ont un spectre relativement restreint de ravageurs cibles ainsi que de température et d'humidité relative à l'intérieur duquel ils agissent de façon optimale. Pour cette raison, il est utopique d'envisager qu'un biopesticide donné sera efficace dans toutes les conditions, contre tous les rayageurs, sur toutes les cultures et pour tous les systèmes agricoles. Dans un récent article de synthèse publié dans la prestigieuse revue Annual Review of Phytopathology, Paulitz et Bélanger (2001) décrivent la démarche inhérente à accroître les chances de succès de la mise en marché d'un biopesticide. Se référant au succès de la lutte biologique contre les insectes en serre, les auteurs concluent que dans une première approche, les produits devraient être utilisés dans les conditions où les chances de succès sont optimales i.e. dans un environnement propice tel les productions serricoles. Cette recommandation est particulièrement judicieuse dans la mesure où il est important de rapporter des cas de succès et d'efficacité si on veut que les biopesticides soient acceptés par les producteurs. À titre d'exemple, certains produits comme AQ-10® (Ecogen Inc.) ayant démontré un excellent niveau de succès en serre ont échoué dans le cadre d'applications au champ ce qui a eu pour résultat de miner la crédibilité du produit à tous les niveaux. C'est pourquoi dans le cadre de ce projet, les demandeurs veulent 1) identifier les meilleurs candidats et 2) les meilleures conditions d'application afin de favoriser une approche qui optimisera l'efficacité des biopesticides testés et d'assurer leur transition rapide sur le marché.

OBJECTIFS DE RECHERCHE

L'objectif général du présent projet est de réaliser les étapes requises de recherche et développement devant mener à la mise en marché des biopesticides les plus prometteurs pour les systèmes agricoles du Québec. Les objectifs spécifiques suivants seront abordés:

- 1) Sélectionner huit biopesticides (microorganismes ou produits naturels) les plus susceptibles d'être commercialisés au Québec dans un échéancier de trois ans. Par susceptible on entend les produits qui sont soit déjà homologués aux États-Unis et au Canada ou en voie de le devenir, ainsi que les produits développés au Québec qui ont déjà des acquis de succès potentiel.
- 2) Sélectionner les systèmes agricoles les plus adaptés pour l'utilisation des biopesticides retenus en 1). Par système agricole, on entend soit une culture particulière ou un système cultural particulier avec un ou des agents pathogènes ou ravageurs spécifiques.
- 3) Faire les études de laboratoire nécessaires pour compléter certaines exigences d'homologation des produits sélectionnés en 1). Ces études porteront le cas échéant sur : 1) la mise à l'échelle de la production massive du produit; 2) la formulation du produit; 3) la compréhension du mode d'action du produit; 4) la compatibilité du produit envers les produits conventionnels phytosanitaires utilisés dans les systèmes agricoles retenus pour les essais.
- **4**) Obtenir les permis de recherche nécessaires auprès de l'ARLA pour la réalisation des études sur le terrain avec les biopesticides choisis.

- 5) Réaliser des tests d'efficacité des biopesticides sur au moins deux saisons selon les normes établies par l'ARLA dans les systèmes agricoles retenus en 2).
- 6) Comparer l'efficacité des biopesticides avec les systèmes conventionnels (pesticides) ainsi qu'entre les biopesticides sélectionnés s'attaquant au même problème phytosanitaire.
- 7) Déterminer les rendements des cultures sélectionnés en 2) sous traitement biopesticides versus pesticide chimiques.

DESCRIPTION DES TRAVAUX

Phase 1 : R & D en laboratoire et mise à l'échelle

Étape 1 : Sélection des biopesticides

Activité 1: Revue de littérature sur les biofongicides MAUL-20 (*Trichoderma harzianum*), Serenade® (*Bacillus subtilis*), Sporodex® (*Pseudozyma flocculosa*), RootShield® (*Trichoderma harzianum*) et Prestop® (*Gliocaldium catenulatum* J1446)

Activité 2 : Mise à l'échelle de Sporodex

Activité 3 : Formulation de Sporodex et MAUL-20

Activité 4 : Compatibilité de MAUL-20 avec les pesticides chimiques et auxiliaires de lutte

Activité 5 : Efficacité *in vitro* (évaluation de l'activité antagoniste de MAUL-20 vis-à-vis les agents pathogènes et Détermination des antibiotiques produits par MAUL-20)

Phase 2 et 3: Essais sur le terrain

Étape 2 : Les biofongicide

- **Activité 1.** Expérience #1 avec *Trichoderma* MAUL-20, RootShield et Prestop contre *Botrytis cinerea* sur la tomate de serre
- **Activité 2.** Expérience #2 avec *Trichoderma* MAUL-20, RootShield et Prestop contre *Botrytis cinerea* sur la tomate de serre
- **Activité 3.** Expérience #1 avec *Trichoderma* MAUL-20, RootShield et Prestop contre *Pythium* sur la tomate de serre et la célosie plumeuse
- **Activité 4.** Expérience #2 avec *Trichoderma* MAUL-20, RootShield et Prestop contre *Pythium* sur la tomate de serre et la célosie plumeuse
- **Activité 5.** Expérience #1 avec *Trichoderma* MAUL-20, RootShield et Prestop contre *Rhizoctonia solani* sur trois légumes en semis (le haricot nain, le céleri et la tomate de serre) et trois plantes ornementales (la célosie plumeuse, la giroflée et le zinnia)
- **Activité 6.** Expérience #2 avec *Trichoderma* MAUL-20, RootShield et Prestop contre *Rhizoctonia solani* sur trois légumes en semis (le haricot nain, le céleri et la tomate de serre) et trois plantes ornementales (la célosie plumeuse, la giroflée et le zinnia)
- **Activité 7.** Expérience avec Prestop et *Trichoderma* MAUL-20 contre *Botrytis cinerea* sur la tomate de serre à l'échelle commerciale

RÉSULTATS ET DISCUSSION

Phase 1 : R & D en laboratoire et mise à l'échelle

Étape 1 : Sélection des biopesticides

Activité 1 : Revue de littérature sur les biofongicides

Bien que l'on recense plus de 10 000 problèmes phytopathologiques, certains agents pathogènes (ou maladies) demeurent invariablement plus difficiles à réprimer et sont responsables d'une forte proportion des applications de fongicides en agriculture. Parmi ces maladies, la moisissure grise (et chancre de tige) causée par *Botrytis cinerea*, le blanc (ou Oïdium) causée par les Erysiphales, ainsi que les pourritures racinaires (et fontes de semis) causées entre autres par *Pythium* spp. causent des pertes annuelles importantes sur une vaste gamme de produits agricoles tant au niveau horticole que grande culture. C'est pourquoi plusieurs efforts de recherche ont récemment été investis dans le développement de biopesticides spécifiquement adaptés à la lutte contre ces maladies. Sur la base des plus récentes données scientifiques, les produits suivants apparaissaient comme étant les plus susceptibles à un transfert technologique rapide vers les producteurs :

MAUL-20: Ce produit à base de *Trichoderma harzianum* a l'avantage d'être adapté aux conditions de culture du Québec puisque la souche active a été isolée suite à un criblage de plus de 140 isolats provenant de sols agricoles québécois. Ce produit a été développé par la compagnie Horti-Protection en collaboration avec le MAPAQ et l'Université Laval.

SERENADE: Ce produit à base de *Bacillus subtilis* a été développé par la compagnie Agra-Quest en Californie et a récemment été homologué aux Etats-Unis. Selon la compagnie cette bactérie a un pouvoir répressif contre plusieurs agents pathogènes dont *Botrytis* et le blanc.

SPORODEX: Sporodex est le premier biofongicide développé au Canada à être homologué. Le travail inhérent à sa commercialisation a été effectué dans le laboratoire de R. Bélanger en collaboration avec la compagnie Plant Products. Ce produit réprime spécifiquement le blanc des cultures et bien que le champignon responsable de l'activité de Sporodex, *Pseudozyma flocculosa*, s'attaque pratiquement à toutes les espèces de blanc, son homologation est restreinte présentement aux productions serricoles où les chances de succès sont plus grandes.

ROOTSHIELD: Ce produit développé à partir d'une souche de *Trichoderma harzianum* obtenue suite à la fusion de protoplastes a été commercialisé par la compagnie Bio-Works Inc. à Geneva, NY. Il est déjà utilisé aux États-Unis où les producteurs rapportent une bonne efficacité contre les pourritures racinaires. Il a été homologué au Canada en 2004.

PRESTOP: Prestop est un biofongicide à base de *Gliocladium catenulatum* et commercialisé par la compagnie Kemira Agro Oy. Ce biofongicide contrôle diverses maladies telles que la fonte des semis, la pourriture des semis, la pourriture racinaire et le flétrissement. Il peut être utilisé en vaporisation sur le sol, les racines et le feuillage ou en incorporation dans le substrat. Le traitement peut être effectué au semis, à l'empotage ou à la transplantation.

Activité 2 : Mise à l'échelle de Sporodex

Les objectifs visés par ces productions étaient variés. Tout d'abord, elles visaient à optimiser la production et la formulation du biofongicide Sporodex. Parallèlement, dans certains cas, elles avaient également pour objectif de produire de la biomasse pour des essais en serre (France, Hollande, etc.) alors que dans d'autres cas, elles s'orientaient vers une production commerciale. Les productions au CWBI et chez Lallemand font parties de cette dernière catégorie.

Les productions au CRDA et celles au CREFSIP avaient pour objectif également de produire de la biomasse pour des essais expérimentaux. Le fermenteur de 150 litres du CRDA avait déjà été utilisé en 2001 pour la production de Sporodex™ alors que celui de 30 litres du CREFSIP n'avait encore jamais été employé à cette fin. Dans les deux cas, la formulation produite a été conservée à l'Université Laval et envoyée aux chercheurs qui en ont fait la demande.

Dans le cas du CWBI en Belgique, un des mandats était de transmettre les connaissances relatives à la production de SporodexTM aux employés d'Agrostar. Cette compagnie, située à Namur en Belgique, est le fournisseur du SporodexTM à Plant Product. Il était donc important de produire du Sporodex afin de combler des commandes.

Pour ce qui est de Lallemand, qui possède un laboratoire de recherche sur la production de levures à IRB (Montréal), le but principal consistait à vérifier la possibilité de produire commercialement du Sporodex™ dans des fermenteurs de très gros volume. À cet effet, il était important d'adapter le procédé de production à leurs équipements et de vérifier la compatibilité entre la production de *Pseudozyma flocculosa* et celle de la levure.

Activité 3 : Formulation de Sporodex et MAUL-20

Sporodex

L'évaluation de la compatibilité de *Pseudozyma flocculosa* avec différents surfactants a démontré que les surfactants affectent à différents niveaux l'agent de lutte *P. flocculosa*. Après 1 heure à 30°C, la viabilité de ce dernier n'est que légèrement affectée par l'Aqua-aid, le motto, le Super-Spred et le tween 80 alors que l'Agral à 0.05% réduit cette dernière de plus de 80%. Toutefois, la situation est très différente après 24h à 4°C. En effet, dans ce cas-ci, seuls l'Aqua-aid et le Tween 80 semblent ne pas affecter l'agent de lutte alors que les autres affectent sa viabilité à plus de 80%. En règle générale, les producteurs vont mélanger dans l'eau le biofongicide Sporodex et le surfactant immédiatement avant de pulvériser les plants. Les deux produits vont alors être en contact qu'un très court laps de temps. Toutefois, il peut arriver dans certains cas que le mélange reste en contact une nuit entière. Cette situation va devoir être évitée étant donné le risque important de perte de viabilité de *P. flocculosa*.

Les productions de courbes de croissance de *Pseudozyma flocculosa* dans différents milieux de culture ont permis de conclure que le milieu TM1,5PD était supérieur au YM0.5P0.5D, Czapek et YM1.5P1.5D. De plus, l'utilisation de fioles embossées de 500 ml permet d'assurer une bonne croissance de *P. flocculosa* en augmentant la production de matière sèche et le nombre UFC comparativement aux fioles standards. Le type de croissance de *P. flocculosa* semble intimement relié à la quantité de carbone, d'azote et d'oxygène.

Il semble que peu importe le type de mélasse (betterave ou de cane) et d'acide (phosphorique ou sulfurique), la culture de *P. flocculosa* serait équivalente. De plus, le niveau de pH et d'inoculation n'influenceraient pas la quantité de matière sèche dans le milieu mais affecteraient le type de sporulation.

Par contre, le taux d'inoculation a influencé le type de sporulation. En effet, lorsque le taux se situe à 1%, il y a plus de conidies de libérées dans le milieu alors que lorsque le taux est à 5%, les conidies se sont préférentiellement développées dans les hyphes. *P. flocculosa*, peut sporuler de différentes façons soit en formant des conidiophores et des conidies à l'extérieur des hyphes ou soit en développant ses conidies directement des les hyphes. De plus, en règle générale, lorsque le taux d'inoculation est augmenté, la vitesse de croissance est accélérée.

MAUL-20

Le sucrose est une meilleure source de carbone que le glucose et le milieu PDA+cellulose offre un bon support de croissance à MAUL-20, tout comme le milieu à base de V8. La congélation à -72°C limite les pertes en spores lorsque comparé à une congélation à -14°C. L'ajout de fer et de thiamine au milieu ne semble pas affecter, ni améliorer le développement et la croissance de *Trichoderma* MAUL-20. Finalement, le temps de sporulation de *Trichoderma* est 2 fois plus long lorsque cultivé dans de gros volumes comparativement à une culture en Pétri.

Activité 4 : Compatibilité de MAUL-20 avec les pesticides chimiques et auxiliaires de lutte

Trichoderma est reconnu pour avoir un large spectre de tolérance vis-à-vis les pesticides comparativement à beaucoup de micro-organismes du sol. De plus, Trichoderma possède la capacité de coloniser les sols traités chimiquement. Il peut être appliqué avec les mêmes appareils que ceux employés pour pulvériser les pesticides chimiques. MAUL-20 est compatible avec tous les insecticides vérifiés et résistant ou tolérant à la majorité des fongicides. Par contre, MAUL-20 est sensible à la famille des captanes, produit largement utilisé dans les serres. De plus, les biofongicides à base de T. harzianum et G. catenulatum sont inoffensifs pour les insectes bénéfiques utilisés en serre.

Activité 5 : Efficacité *in vitro* (évaluation de l'activité antagoniste de MAUL-20 vis-à-vis les agents pathogènes et détermination des antibiotiques produits par MAUL-20)

Trichoderma a une forte activité antagoniste contre tous les agents pathogènes testés (Acremonium, Alternaria, Botryosporium, Botrytis cinerea, Cladosporium, Epicoccum, Fusarium, Gloeosporium roseum, Penicillium, Pythium, Rhizoctonia solani, Sclerotinia sclerotiorum, Verticillium dahliae). Malgré le fait que les Pythium avaient le même taux de croissance que Trichoderma, la lutte a été effectuée en faveur de Trichoderma, peu importe le milieu de culture utilisé. Que Trichoderma soit efficace contre ceux qui ont un faible taux de croissance est tout à fait logique mais qu'il soit un bon compétiteur contre S. sclerotiorum, B. cinerea et R. solani est tout à son honneur. Les Fusarium ont lutté fortement contre MAUL-20 et dans ces dernières confrontations, Fusarium envahissait parfois Trichoderma.

La vitesse de croissance de *Trichoderma* est importante. Elle se traduit généralement par un envahissement de *Trichoderma* sur l'agent pathogène et une sporulation très abondante de l'agent de lutte biologique sur ces derniers. L'envahissement de *Trichoderma* est généralement direct et intense. Des cas d'enroulement et de pénétration de *Trichoderma* contre *Rhizoctonia*, les *Alternaria*, *Botryosporium*, *Sclerotinia* et *Cladosporium* ont été observés au microscope optique. L'affaissement des hyphes a même été noté dans certains de ces systèmes.

Il apparaît que certains composés produits par MAUL-20 ont un effet sur la croissance bactérienne au même titre que RootShield. Par ailleurs, aucun effet n'a été observé sur la croissance mycélienne avec MAUL-20 à l'instar de RootShield. Par contre, les solvants tels que l'acétate d'éthyle et le n-butanol

peuvent accumuler plusieurs composés autres que des peptaiboles et / ou métabolites qui peuvent s'avérer toxiques pour certains organismes lorsque présents en grande concentration. Il serait donc important d'identifier ces composés avant de prétendre qu'il s'agit d'antibiotiques.

Phase 2 et 3 : Essais sur le terrain

Étape 2 : Les biofongicide

Activité 1. Expérience #1 avec *Trichoderma* MAUL-20, RootShield et Prestop contre *Botrytis cinerea* sur la tomate de serre

L'expérience s'est déroulée à l'hiver. Avant les traitements, des blessures d'effeuillage ont été prélevées à l'aide d'un exacto afin de vérifier la présence et le développement des agents biologiques introduits. Tout au long des observations, RootShield et MAUL-20 ont été abondamment observés tandis que *Gliocladium* se faisait plus timide. D'ailleurs, Prestop croît moins rapidement que les deux souches de *Trichoderma*, ce qui constitue en soit un inconvénient par rapport aux deux autres agents biologiques. *Botrytis* a été fréquemment remarqué dans le traitement Prestop dès le début des observations.

Le suivi des chancres, tant en badigeonnages qu'en pulvérisation, a été décevant car malgré le haut niveau de maladie dans la serre, *Botrytis* s'est peu exprimé sur les tiges de tomate. Les traitements biologiques semblant moins bien protéger les plants que les traitements fongiques mais l'analyse statistique n'a révélée aucune différence significative entre les traitements mais une différence significative a été enregistrée par rapport au témoin.

Les observations réalisées sur les plants suite au retrait du chancre et au badigeonnage de ces blessures. Dans ce type d'observations, il est important de comprendre que le traitement est efficace que lorsque le chancre enlevé ne reprend pas vie. Si une reprise est observée, il peut s'agir 1) le produit appliqué a été mal mis ou ne couvrait pas totalement la plaie à protéger, 2) l'agent pathogène n'a pas été complètement enlevé ou 3) le produit est inefficace à contrôler adéquatement l'agent pathogène visé. Malgré le fait que peu de chancres aient été enlevés, il semble que le vinaigre et Prestop soient moins efficaces à contrôler *Botrytis* que les deux produits à base de *Trichoderma*. Aucune analyse statistique n'a pu être faite à cause du faible nombre de chancres enregistrés.

Les rendements ont été pris sur une période de 15 semaines à raison de 2 fois / semaine. La majorité des fruits obtenus étaient de catégorie #1 et les traitements effectués en pulvérisation ont tous donné des rendements légèrement supérieurs (sauf MAUL-20) à ceux réalisés en badigeonnages ou lorsque comparé au témoin. Les plus forts rendements ont été enregistrés dans le traitement fongique. Malgré ce fait, aucune différence statistique n'a été décelée entre les traitements faits en pulvérisation et en badigeonnages (par ex. entre Prestop badigeonnage vs Prestop pulvérisation), ni par rapport au témoin. Statistiquement, aucune différence n'a été notée entre les poids moyen/fruit de catégorie

Activité 2. Expérience #2 avec Trichoderma MAUL-20, RootShield et Prestop contre Botrytis cinerea sur la tomate de serre

L'expérience s'est déroulée à l'automne. Afin de vérifier la présence des agents de lutte biologique dans les parcelles ayant reçu les traitements en pulvérisation, des blessures d'effeuillage ont été prélevées au hasard dans chacune des répétitions. Avant chaque nouvelle pulvérisation, des blessures d'effeuillage cicatrisées ont été prélevées dans la partie de la tige traitée lors de la pulvérisation précédente afin d'avoir une certaine homogénéité quant au stade des tissus prélevés. Les mises en culture de blessures

Projet PARDE Page 10 sur 22 Rapport synthèse

d'effeuillage cicatrisées ont permis de vérifier la présence des trois agents de lutte biologique sur les tiges de tomate avant chaque nouvelle pulvérisation. Ces mêmes agents de lutte n'ont pas été décelés dans les mises en culture de tissus prélevés dans les parcelles témoins ou sous traitement fongicide.

L'efficacité des traitements préventifs a été mesurée par le nombre de chancres s'étant développés suite à l'application de traitements en pulvérisation. L'efficacité des traitements curatifs a été mesurée par le taux de reprise des chancres éliminés et badigeonnés. Le décompte des chancres présents sur les tiges a été effectué une fois par semaine. Les chancres observés dans les parcelles témoins ont été notés et laissés sur les plants. Les chancres observés sur les plants destinés aux traitements en pulvérisation ont été dénombrés puis, éliminés. Les blessures ainsi créées ont été badigeonnées au Ferbam (ratio 1 : 1 de Ferbam et d'eau). Quant aux chancres observés sur les plants destinés aux traitements en badigeonnage, ils ont été notés, éliminés et badigeonnés selon le traitement concerné (vinaigre, Prestop, MAUL-20 ou RootShield). À la fin de l'expérience, les chancres éliminés et badigeonnés ont été prélevés à l'aide d'un couteau de type exacto afin de s'assurer qu'il n'y avait pas eu reprise par l'agent pathogène. Au cours de la deuxième expérience en serre expérimentale, 20 chancres ont été observés dans les parcelles témoins, soit une moyenne de 6,7 chancres par répétition. De même, huit chancres ont été dénombrés dans les parcelles traitées avec les fongicides en pulvérisation (2,7 chancres par répétition). Dans les parcelles traitées avec le Prestop en pulvérisation, trois chancres ont été observés (un chancre par répétition). Quant aux parcelles traitées avec MAUL-20 en pulvérisation, on a recensé 11 chancres (3,67 chancres par répétition). Dans les parcelles destinées à la pulvérisation avec RootShield, sept chancres ont été dénombrés (2,3 chancres par répétition). L'analyse statistique a démontré qu'il y avait une différence significative entre certains traitements et que tous les traitements avaient permis une répression significative de la maladie en comparaison avec le témoin. De plus, les biofongicides ont permis une répression équivalente à celle démontrée par les fongicides. Selon cette même analyse statistique, tous les biofongicides ont permis une répression similaire du chancre de la tige.

Dans le but de vérifier que *B. cinerea* était bien l'agent causal des chancres observés, ces derniers ont été prélevés sur les tiges infectées. Dans cette deuxième expérience en serre expérimentale, le badigeonnage à base de Prestop a démontré une efficacité maximale, aucun des neuf chancres badigeonnés n'ayant démontré de reprise par l'agent pathogène. Dans les parcelles destinées au badigeonnage avec le MAUL-20, 13 chancres ont été badigeonnés et un seul a repris suite au traitement. Quant au badigeonnage avec RootShield, huit chancres ont été badigeonnés alors qu'un seul a repris suite au traitement. Dans les parcelles destinées au badigeonnage avec le vinaigre, neuf chancres badigeonnés sur 10 ont repris suite au traitement. L'analyse statistique a révélé que tous les biofongicides avaient donné une efficacité similaire alors que le vinaigre a permis une efficacité inférieure à celle des biofongicides. Il en résulte une efficacité maximale pour le Prestop en badigeonnage, une efficacité de 92 % avec le MAUL-20 et de 87 % avec le RootShield en badigeonnage. Quant au vinaigre en badigeonnage, une efficacité de 10 % a été notée. L'aspect des chancres badigeonnés avec les biofongicides était le même que lors du premier essai.

Afin de vérifier l'impact des traitements sur les plants de tomate, les rendements ont été évalués. Deux récoltes par semaine ont permis de mesurer le rendement total et de classifier les fruits selon 3 catégories. Les catégories #1 et 2 constituaient la part de fruits vendables. Les rendements moyens en fruits vendables et en fruits de catégorie #1, de même que le nombre de fruits se sont avérés similaires pour chacun des traitements. En ce qui concerne le poids moyen des fruits de catégorie #1, seuls les traitements Prestop en pulvérisation et RootShield en pulvérisation se sont démarqués du témoin au niveau du poids moyen par fruit. Les poids moyens par fruit des traitements fongicides en pulvérisation, MAUL-20 en pulvérisation de même que tous les traitements en badigeonnage étaient similaires au témoin. Le rendement en fruits non - vendables et le pourcentage moyen du rendement non - vendable se sont avérés équivalents pour les différents traitements.

Projet PARDE Page 11 sur 22 Rapport synthèse

Tous les biofongicides utilisés comme traitements préventifs en pulvérisation ont permis une répression significative du chancre de la tige causé par *B. cinerea* chez la tomate de serre en comparaison avec le témoin. De même, la répression offerte par les biofongicides en pulvérisation s'est avérée équivalente à celle offerte par les fongicides en pulvérisation. L'efficacité des biofongicides Prestop, RootShield et MAUL-20 comme traitements curatifs en badigeonnage s'est avérée similaire. L'efficacité des biofongicides était d'ailleurs supérieure à celle du vinaigre en badigeonnage.

D'abord, la présence des agents de lutte biologique *T. harzianum* MAUL-20, *T. harzianum* KRL-AG2 et *G. catenulatum* J1446 sur les tiges de tomate démontre le développement et la persistance de ces organismes lorsque soumis aux conditions climatiques prévalant dans les serres. La colonisation des tiges de tomate par ces organismes antagonistes permet ainsi la mise en œuvre de l'un des principaux modes d'action des *Trichoderma* et des *Gliocladium* soit, la compétiton pour l'espace bien que d'autres modes d'action puissent être utilisés.

La présence des agents de lutte biologique pulvérisés sur les tiges de tomate a permis une répression du chancre de la tige causé par *B. cinerea*. Une répression significative de la maladie a été observée pour tous les traitements en pulvérisation en comparaison avec le témoin. De même, l'efficacité des biofongicides en pulvérisation Prestop, MAUL-20 et RootShield s'est avérée similaire à celle des fongicides couramment employés par les producteurs.

D'un point de vue biologique, certains biofongicides ont mieux performé que d'autres. Au cours des deux essais en serre expérimentale, le biofongicide RootShield en pulvérisation a permis une répression de la maladie similaire à celle offerte par les fongicides en pulvérisation.

En ce qui concerne le biofongicide Prestop en pulvérisation, il a permis une bonne répression de la maladie au cours du premier essai et s'est avéré particulièrement efficace lors du deuxième essai. D'un point de vue biologique, le biofongicide Prestop en pulvérisation a mieux performé que les fongicides en pulvérisation au cours du deuxième essai. C'est d'ailleurs au cours du deuxième essai que la pression de maladie a été la plus forte. Il devient alors intéressant d'utiliser le biofongicide Prestop comme traitement préventif en production commerciale. L'utilisation de Prestop permettrait en effet une réduction des matières actives appliquées.

L'efficacité du biofongicide MAUL-20 en pulvérisation a été constante pour les deux essais en serre expérimentale. Le nombre de chancres observés dans les parcelles traitées avec MAUL-20 en pulvérisation s'est avéré inférieur au nombre de chancres observés dans les parcelles témoins, mais supérieur au nombre de chancres notés dans les parcelles traitées avec les fongicides. Lors du premier essai en serre expérimentale, la répression offerte par MAUL-20 en pulvérisation était semblable à celle offerte par Prestop en pulvérisation. Par contre, lors du deuxième essai en serre, la répression démontrée par MAUL-20 en pulvérisation s'est avérée moindre que celle offerte par Prestop et RootShield en pulvérisation. Si le biofongicide MAUL-20 en pulvérisation a permis une certaine répression de la maladie, les biofongicides RootShield et Prestop en pulvérisation se sont particulièrement démarqués, le premier pour sa constance et le deuxième pour son efficacité sous forte pression de maladie.

L'efficacité des biofongicides utilisés comme traitements curatifs en badigeonnage permet d'envisager leur utilisation en serre commerciale. Selon nos résultats, le vinaigre est toutefois un traitement curatif à effet mitigé. Par ailleurs, si l'efficacité des biofongicides comme traitements en badigeonnage importe, l'apparence du chancre badigeonné est aussi déterminante, car en production commerciale, les travailleurs n'hésitent pas à éliminer et badigeonner de nouveau un chancre s'il est d'apparence douteuse et laisse croire à la reprise du développement de l'agent pathogène. Dans le cas des biofongicides RootShield et MAUL-20, les chancres badigeonnés avaient un aspect normal, l'argile ayant recouvert les plaies cicatrisées. Dans le cas du biofongicide Prestop, l'aspect des chancres badigeonnés était douteux. Les

plaies traitées prenaient une couleur brun- beige et les tissus s'affaissaient légèrement. Parfois, des cloques beiges apparaissaient sur le pourtour de la plaie. Malgré l'aspect de ces chancres badigeonnés, il n'y avait pas de reprise de l'agent pathogène. Cependant, en production commerciale, de tels chancres badigeonnés seraient sans aucun doute éliminés à nouveau par les travailleurs, faisant ainsi perdre temps et argent. Il serait donc dans l'intérêt de la compagnie Verdera de travailler à l'aspect du produit pour faciliter la reconnaissance des chancres badigeonnés par les travailleurs.

Les rendements obtenus avec les différents traitements étaient similaires et ce, tant au niveau du rendement en fruits de catégorie #1, #2 ou #3, en fruits vendables ou au niveau du rendement total et ce, pour les deux essais. L'absence de différence significative s'explique par la grande variabilité intra-traitement, ce qui empêche de faire ressortir la variabilité inter - traitements et ainsi, les différences entre les divers traitements. Un plan en bloc complet ainsi qu'une quatrième répétition auraient probablement permis d'éviter cette situation. Cependant, le nombre de traitements à l'étude et l'espace disponible dans la serre expérimentale ne le permettaient pas. Bien qu'il n'y ait pas eu de différence statistique significative, des tendances intéressantes se sont dégagées pour les deux essais en serre expérimentale. La catégorie #1 constitue en majeure partie le rendement en fruits vendables alors que la catégorie #2 est plutôt négligeable. Les tendances observées au niveau du rendement en fruits vendables reflètent donc les tendances observées au niveau du rendement en fruits vendables reflètent donc les tendances observées au niveau du rendement en fruits de catégorie #1.

Une différence de rendement en fruits vendables de 20 % lors du premier essai et 26 % lors du deuxième essai entre les différents traitements sont considérables pour un producteur. Ainsi, si tous les biofongicides en pulvérisation ont permis des rendements en fruits vendables supérieurs à celui obtenu avec le témoin, les rendements vendables obtenus avec Prestop en pulvérisation se sont avérés être les plus élevés. Si la différence entre le rendement obtenu avec le témoin et le rendement obtenu avec chacun des traitements en pulvérisation est traduite en pourcentage, Prestop a permis un gain de 16,5 et 14,4 % alors que le traitement MAUL-20 a permis un gain de 9,7 et 8,3 % et RootShield un gain de 1,3 et 5,2 % lors du premier et du deuxième essai. La tendance à la hausse du rendement en fruits vendables obtenu avec le biofongicide Prestop en pulvérisation est d'ailleurs confirmée par une différence significative au niveau du nombre de fruits de catégorie #1 par rapport au témoin lors du premier essai et par une différence significative au niveau du poids moyen par fruit de catégorie #1 par rapport au témoin lors du deuxième essai en serre expérimentale. Par ailleurs, le rendement en fruits vendables obtenu avec Prestop en pulvérisation s'est avéré supérieur au rendement en fruits vendables obtenu avec les fongicides en pulvérisation. En effet, les fongicides en pulvérisation ont permis une hausse de 15,4 % par rapport au témoin lors du premier essai, mais ont entraîné une perte de 3,4 % en comparaison avec le témoin lors du deuxième essai. Il s'agit toutefois d'une différence de 0,52 kg ou environ quatre fruits. Il apparaît donc que le biofongicide Prestop a permis une hausse du rendement vendable en comparaison avec les fongicides peu importe le niveau de maladie en plus de permettre une répression du chancre de la tige supérieure à celle des fongicides sous forte pression de maladie.

Quant aux traitements en badigeonnage, les rendements se sont avérés moins constants d'un essai à l'autre. Le vinaigre en badigeonnage a permis des rendements en fruits vendables supérieurs au témoin de 15,3 et 5,4%. Les rendements obtenus avec MAUL-20 en badigeonnage lors du premier essai correspondaient à un gain de 9,7 % en comparaison avec le témoin. Toutefois, lors du deuxième essai, les pertes de rendement associées à MAUL-20 en badigeonnage étaient de l'ordre de 2,4 %. Il s'agit cependant d'une différence de 0,37 kg ou environ trois fruits. Lors du premier essai, les rendements obtenus avec le traitement Prestop en badigeonnage correspondaient à des pertes de rendement de l'ordre de 6,3 % en comparaison avec le témoin. Le rendement obtenu avec Prestop en badigeonnage pourrait peut-être s'expliquer par le nombre élevé de chancres badigeonnés en comparaison avec les autres traitements en badigeonnage. Bien que les chancres éliminés soient traités avec un agent de lutte biologique, il n'en demeure pas moins que la blessure ainsi créée a un impact sur le transport de la sève et donc, sur la vigueur du plant. Si dans certains cas les tissus prélevés sont superficiels, il arrive que les

chancres soient profonds et que les vaisseaux soient endommagés par le retrait du chancre. Lors du deuxième essai, les gains avec Prestop en badigeonnage étaient de l'ordre de 7,1 % en comparaison avec le témoin. Quant aux rendements obtenus avec RootShield en badigeonnage, ils se sont avérés inférieurs au témoin, correspondant à des pertes de l'ordre de 5,5 et 15,8 %. L'explication fournie pour Prestop en badigeonnage lors du premier essai n'est pas valide puisqu'un seul chancre a été éliminé et badigeonné et ce, pour les trois répétitions destinées à ce traitement. Ce traitement était donc comparable au témoin quant aux manipulations effectuées. La différence de 5,5 % est peut-être attribuable à la position des parcelles dans la serre. Dans le cas du deuxième essai, il s'agit d'une perte nettement plus importante de 2,4 kg. À la lumière de ces informations, il apparaît que si l'efficacité du biofongicide MAUL-20 en badigeonnage se veut similaire à celle de Prestop et RootShield en badigeonnage, il se distingue de Prestop par l'aspect visuel des chancres badigeonnés et de RootShield par l'absence d'impact sur les rendements.

Lors du premier essai en serre, le déclassement des fruits a été moins important avec les fongicides en pulvérisation, mais le déclassement avec les biofongicides en pulvérisation et en badigeonnage a été moindre que pour le témoin. Lors du deuxième essai en serre, le déclassement avec les biofongicides MAUL-20 et RootShield en pulvérisation a été moindre qu'avec les fongicides en pulvérisation et le témoin. Par contre, le déclassement avec Prestop en pulvérisation s'est avéré légèrement plus important. De même, le déclassement avec le vinaigre et MAUL-20 en badigeonnage a été moindre qu'avec le témoin alors que le déclassement avec Prestop en badigeonnage s'est avéré légèrement supérieur et que le déclassement avec RootShield en badigeonnage s'est avéré nettement plus important. Le déclassement irrégulier des fruits en serre expérimentale peut être attribuable à plusieurs facteurs. D'abord, la pollinisation est effectuée mécaniquement plutôt que par les bourdons pollinisateurs, ce qui augmente les risques de malformation des fruits. Par ailleurs, les conditions climatiques telles que la température et l'humidité ainsi que les conditions culturales telles que la fertigation peuvent avoir un impact sur la pourriture apicale et la face de chat. Il devient donc intéressant d'effectuer ces observations en serre commerciale où la pollinisation et les conditions climatiques et culturales sont optimales.

En conclusion, il apparaît que les biofongicides ont permis une répression du chancre de la tige causé par *B. cinerea* similaire à celle offerte par les fongicides en pulvérisation. En comparant les biofongicides entre eux, il apparaît que le biofongicide RootShield a permis un niveau de répression constant d'un essai à l'autre en comparaison avec les fongicides en pulvérisation. Quant au biofongicide Prestop en pulvérisation, il a permis une répression de la maladie supérieure à celle offerte par les fongicides en pulvérisation sous forte pression de maladie. Le rendement des plants traités avec Prestop en pulvérisation s'est avéré supérieur au rendement des plants traités avec les fongicides en pulvérisation lors des deux essais en serre expérimentale. Il serait donc intéressant pour les producteurs d'inclure Prestop comme traitement en pulvérisation. De même, le rendement des plants traités avec RootShield et MAUL-20 en pulvérisation s'est avéré supérieur au témoin lors des deux essais et supérieur au rendement des plants traités avec les fongicides en pulvérisation lors du deuxième essai. En ce qui concerne le biofongicide MAUL-20 en badigeonnage, il s'est démarqué par son efficacité, l'apparence des chancres badigeonnés et l'absence d'impact sur les rendements.

Activité 3. Expérience #1 avec *Trichoderma* MAUL-20, RootShield et Prestop contre *Pythium* sur la tomate de serre et la célosie plumeuse

Activité 4. Expérience #2 avec *Trichoderma* MAUL-20, RootShield et Prestop contre *Pythium* sur la tomate de serre et la célosie plumeuse

Pour ces deux activités, les résultats ont été similaires. Tous les agents biologiques introduits ont été observés sur les racines des plantes concernées et *Pythium* a également été noté dans tous les traitements

Projet PARDE Page 14 sur 22 Rapport synthèse

comprenant *Pythium*. Les résultats sont identiques pour la célosie et la tomate. En général, les agents biologiques ont bien protégé les systèmes racinaires lorsque *Pythium* était présent.

Célosie plumeuse

Pour la germination des graines, les traitements biologiques alimentés de *Pythium* sont les plus affectés et seulement devancés par le traitement Prestop seul. Ce dernier traitement et MAUL-20 sont les deux seuls traitements qui sont significativement différent du témoin *Pythium*. Le premier étant le pire et le dernier le meilleur. Tous les traitements biologiques sont significativement différents de leur homologue alimenté de *Pythium*. Aucune différence significative n'a été enregistrée pour la hauteur. La longueur du système racinaire ne semble pas trop affectée par les différents traitements. Les plantes traitées avec les agents biologiques sont seulement différentes du traitement Prestop + *Pythium* mais pas différentes des plantes non traitées. Pour le poids frais de la masse aérienne et racinaire, les traitements avec présence de *Pythium* sont moins performants que ceux qui contiennent un agent biologique ou sans traitement. Tous les traitements biologiques sont significativement différents de leur homologue alimenté de *Pythium* sauf pour le traitement RootShield pour le poids frais de la masse racinaire. En général, aucun des traitements biologiques ne s'est démarqué des autres mais ils sont tous plus efficaces que lorsque *Pythium* est présent dans le sol.

Tomate de serre

Pour la germination des graines de tomate, les traitements biologiques alimentés de *Pythium* et le témoin *Pythium* ont été les plus affectés. Aucune différence significative n'a été notée entre les traitements biologiques et le témoin. Les traitements biologiques MAUL-20 et RootShield sont les seuls significativement différents du même traitement mais alimenté de *Pythium*. Peu de différence significative ont été enregistrées pour la hauteur des plantes. Seul le traitement RootShield est significativement différent de son homologue avec *Pythium*. Aucune différence significative n'a été notée pour la longueur du système racinaire. Pour le poids frais de la masse aérienne, les traitements *Pythium* et RootShield + *Pythium* sont significativement différents des traitements biologiques mais pas différents des autres traitements avec *Pythium*. Pour la masse fraîche racinaire, les traitements *Pythium* et RootShield + *Pythium* sont significativement différents des traitements biologiques mais pas différents des autres traitements avec *Pythium*. Les traitements biologiques sont significativement différents de leur homologue alimenté de *Pythium*. En général, les traitements RootShield + *Pythium* et *Pythium* sont les moins efficaces. Aucun des traitements biologiques ne s'est réellement démarqué des autres mais ils sont tous plus efficaces que lorsque *Pythium* est présent dans le sol.

Activité 5. Expérience #1 avec *Trichoderma* MAUL-20, RootShield et Prestop contre *Rhizoctonia solani* sur trois légumes en semis (le haricot nain, le céleri et la tomate de serre) et trois plantes ornementales (la célosie plumeuse, la giroflée et le zinnia)

Haricot

Aucun symptôme de fonte de semis n'a été observé au collet des plants, ni en pré - émergence. La présence de *Rhizoctonia* dans le substrat n'affecte pas la germination des graines de haricot nain, ni le développement de la plante. La qualité du système racinaire est identique pour tous les traitements mais quelques différences ont été notées pour l'aspect quantitatif. Ainsi le traitement MAUL-20 + R. solani est significativement différent de tous les traitements sauf du traitement Rootshield. Le traitement Rootshield est significativement de tous les traitements sauf de MAUL-20 + R. solani et de Rootshield + R. solani

Projet PARDE Page 15 sur 22 Rapport synthèse

tandis que ce dernier traitement est seulement différent du traitement MAUL-20 + R. solani. Pour ces traitements, le système racinaire présent parfois quelques nécroses qui peuvent couvrir jusqu'à 25% du système racinaire. Les traitements MAUL-20 et Rootshield en présence de l'agent pathogène semblent légèrement plus sensibles que les autres traitements.

Tomate

Des symptômes de fontes de semis ont été observés au collet de certains plants. Des symptômes sévères ont été observés sur certaines plantules, causant le desséchement de la plante. Les traitements *Trichoderma* MAUL-20 + *Rhizoctonia solani* et Rootshield + *Rhizoctonia solani* ont eu les symptômes de la maladie soit 13 (40%) et 12 (38%) des plants respectivement. Le pourcentage de germination de la tomate est de 88%. Seul le traitement Prestop a eu une meilleure germination. Malgré ce fait, la seule différence significative enregistrée est celle entre le Prestop et le MAUL-20 + *Rhizoctonia solani*. Ce dernier obtenant le plus faible taux de germination. Des différences significatives ont été obtenues pour la hauteur, les masses fraîches et sèches de la partie aérienne. Pour ces paramètres, les meilleurs traitements sont ceux qui contenaient les agents biologiques (sauf Rootshield) et celui qui combinait Prestop + *Rhizoctonia solani*. Par contre, pour les aspects quantitatifs et qualitatifs du système racinaire, aucune différence significative n'a été trouvée.

Céleri

Des symptômes de fontes de semis ont été observés au collet de deux plants seulement. Le pourcentage de germination du céleri est de 97%. Seul le traitement 2 (MAUL-20) a eu une germination similaire à celui mentionné sur l'étiquette. Malgré ce fait, aucune différence significative n'a été enregistrée. Aucune différence significative n'a été obtenue pour la hauteur, la masse fraîche de la partie aérienne et les cotes quantitatives et qualitatives. Une différence a été trouvée pour la masse sèche et les traitements *Rhizoctonia solani* et RootShield. Le traitement *Trichoderma* étant supérieur à Rootshield + *R. solani*.

Célosie plumeuse

Aucun symptôme de fontes de semis n'a été observé. Le pourcentage de germination de la célosie varie entre 85-95%. Tous les traitements ont permis un taux de germination compris dans l'écart proposé par l'étiquette. Des différences significatives ont été enregistrées entre les traitements. Les traitements Rootshield sans R. solani et témoin inoculé étant différents entre eux. Pour la hauteur, le traitement témoin non inoculé est significativement différent du témoin inoculé. La masse fraîche du témoin est significativement différente des traitements Maul-20, Prestop et témoin inoculé, ces derniers ayant des masses fraîches inférieures au témoin. Pour la masse sèche, le témoin et MAUL-20+R. solani sont significativement différents des autres traitements. Pour la qualité des racines, le traitement témoin est significativement différent des traitements Maul-20 et Rootshield +R. solani. Aucune différence n'a été observée pour l'aspect quantitatif des systèmes racinaires.

Giroflée

Aucun symptôme de fontes de semis n'a été observé. Le pourcentage de germination de la giroflée varie entre 85-90%. Tous les traitements ont permis un taux de germination compris dans l'écart proposé par l'étiquette sauf pour les traitements Rootshield, Rootshield + R. solani et Prestop + R. solani. D'ailleurs une différence statistique a été notée entre tous les traitements et ces trois derniers. Pour la hauteur, le traitement témoin non inoculé est significativement différent du Prestop inoculé. Pour la masse fraîche, le témoin est significativement différent de tous les autres traitements. Pour la masse sèche, le témoin est

Projet PARDE Page 16 sur 22 Rapport synthèse

significativement différent de tous les traitements sauf du Prestop et témoin inoculé. Pour la qualité et quantité des racines, aucune différence n'a été observée.

Zinnia

Aucun symptôme de fontes de semis n'a été observé. Le pourcentage de germination du zinnia est de 85-90%. Hormis les traitements témoin inoculé et Rootshield inoculé, le pourcentage de germination a été respecté. Des différences significatives ont d'ailleurs été enregistrées entre ces deux traitements et tous les autres. Des différences significatives ont été obtenues pour la hauteur. Il n'y a pas de différence entre le témoin et Maul-20, Prestop et Prestop inoculé mais le témoin est significativement différent des autres traitements. Il n'y a pas de différence significative entre les traitements pour la masse fraîche et la cote quantitative des racines. Pour la masse sèche, le témoin est significativement différent de tous les traitements sauf du Prestop inoculé.

En général,

Rhizoctonia n'affecte pas le haricot ni le céleri. Chez la tomate, le pourcentage de germination, la hauteur et les masses fraîches et sèches sont favorisés lorsque des agents biologiques seuls sont présents dans le substrat. Chez les plantes ornementales, les conclusions sont moins évidentes. Peu de différences ont été observées et lorsqu'elles sont présentes, elles se retrouvent essentiellement au niveau des témoins inoculé et non inoculé. Chez la giroflée, Prestop ne semble pas très performant. Pour toutes les plantes. il n'y a pas de différence significative tant qu'à la qualité et quantité du système racinaire.

Activité 6. Expérience #2 avec *Trichoderma* MAUL-20, RootShield et Prestop contre *Rhizoctonia solani* sur trois légumes en semis (le haricot nain, le céleri et la tomate de serre) et trois plantes ornementales (la célosie plumeuse, la giroflée et le zinnia)

Haricot

Aucun symptôme de fonte de semis n'a été observé au collet des plants, ni en pré - émergence. Le pourcentage de germination du haricot nain est de 90%. Le pourcentage de germination de tous les traitements est supérieur à 90%, sauf dans le cas du Rootshield inoculé avec *R. solani*. L'analyse statistique ne révèle aucune différence entre les traitements. La présence de *Rhizoctonia* dans le substrat n'affecte pas la germination des graines de haricot nain. L'analyse statistique de la hauteur ne montre pas de différence entre les deux témoins et MAUL-20 + *R. solani*. Ces trois traitements sont significativement différents des autres qui sont également tous différents entre eux. Les traitements biologiques étant dans la majorité des cas, supérieurs à leur homologue inoculé (sauf pour Prestop). L'analyse des poids frais et sec indique que les deux témoins sont similaires et différents des autres traitements sauf pour Maul-20 (poids frais) et Rootshield (poids sec) où les résultats sont similaires aux témoins. Tous les autres traitements ne sont pas significativement différent l'un de l'autre.

Tomate

Aucun symptôme de fonte de semis n'a été observé au collet des plants, ni en pré - émergence. Le pourcentage de germination de la tomate est de 88%. Tous les traitements ont eu une bonne germination et aucune différence significative n'a été enregistrée. Des différences significatives ont été obtenues pour la hauteur, les masses fraîches et sèches de la partie aérienne. Pour la hauteur, tous les traitements sont significativement différents entre eux. Les traitements biologiques sont légèrement supérieurs aux traitements biologiques inoculés. Lorsque seul dans le substrat, Rootshield semble légèrement supérieur

aux deux autres. Dans les traitements inoculés avec la maladie, Prestop et MAUL-20 protègent mieux la plante. Pour les masses fraîches et sèches, il n'y a pas de différences significatives entre les traitements biologiques et les traitements bios en présence de *Rhizoctonia* sauf pour Rootshield. Dans le cas de l'évaluation des masses, Rootshield seul est significativement supérieur aux deux autres ou égal à MAUL-20 et significativement inférieur à MAUL-20 lorsque *Rhizoctonia* est présent.

Céleri

Aucun symptôme de fonte de semis n'a été observé au collet des plants, ni en pré - émergence. Le pourcentage de germination du céleri est de 97%. Seul le témoin non inoculé a eu une germination similaire à celui mentionné sur l'étiquette. Les plus faibles pourcentages de germination ont été obtenu avec Rootshield seul et inoculé avec la maladie. Ces deux traitements sont significativement différents des autres. Pour la hauteur, le témoin non inoculé et MAUL-20 ont des hauteurs similaires et sont significativement différents des autres traitements. Ces derniers sont tous significativement différents entre eux. Le pire traitement étant Rootshield. Pour les masses fraîches et sèches, les deux témoins sont significativement différents entre eux et des autres traitements, sauf dans le cas de MAUL-20 pour la masse sèche. Il n'y a pas de différences significatives entre les traitements biologiques et les traitements bios en présence de *Rhizoctonia*. Entre les traitements biologiques, MAUL-20 est significativement différent de Rootshield mais pas de Prestop. En présence de la maladie, aucun des agents de lutte ne se démarque.

Célosie plumeuse

Aucun symptôme de fontes de semis n'a été observé. Le pourcentage de germination de la célosie varie entre 85-95%. Tous les traitements ont permis un taux de germination compris dans l'écart proposé par l'étiquette. Aucune différence significative n'a été enregistrée entre les traitements. Pour la hauteur, le traitement Prestop, inoculé ou non, Rootshield + R. solani sont significativement différents et inférieurs aux autres traitements. Les agents de lutte ont permis une meilleure croissance des plants lorsque comparé à leur homologue inoculé sauf dans le cas de MAUL-20. Pour les masses fraîches et sèches, les traitements non inoculés ne sont pas significativement différents des traitements équivalents inoculés sauf dans le cas de Rootshield. De plus, les agents biologiques seuls ou inoculés, ne sont pas significativement différents entre eux.

Giroflée

Aucun symptôme de fontes de semis n'a été observé. Le pourcentage de germination de la giroflée varie entre 85-90%. Hormis les traitements Rootshield et le témoin inoculé, tous les autres traitements ont eu un pourcentage de germination inférieur à celui de l'étiquette. Malgré cet aspect, aucune différence statistique n'a été notée entre les traitements. Pour la hauteur, seul le traitement MAUL-20 + *Rhizoctonia* a eu une faible croissance et est significativement différent de tous les autres traitements.

Pour les masses fraîches, les traitements non inoculés ne sont pas significativement différents des traitements équivalents inoculés. Pour la masse sèche, les deux témoins et les traitements touchants MAUL-20 sont significativement différents entre eux. Pour Rootshield et Prestop, il n'y a pas de différence que *Rhizoctonia* soit présent ou non. Pour les deux types de masses, les agents biologiques seuls ou inoculés, ne sont pas significativement différents entre eux sauf dans le cas de Prestop seul qui est significativement inférieur aux deux autres traitements.

Projet PARDE Page 18 sur 22 Rapport synthèse

En général,

Rhizoctonia n'affecte pas la germination du haricot, de la tomate, de la célosie plumeuse et de la giroflée. Chez toutes les plantes, la hauteur des plants a été favorisée par la présence d'un agent de lutte biologique dans le substrat, confirmant du même coup l'effet stimulateur de tels agents de lutte. Par contre, nous pouvons dire que *Trichoderma* MAUL-20 favorise le développement de la tomate et du céleri mais affecte celui de la giroflée. Rootshield tant qu'à lui, affecte le développement du céleri mais stimule la tomate et la célosie tandis que Prestop stimule la tomate mais entrave le développement de la célosie. Il n'y a pas de différences significatives entre les agents biologiques seuls et lorsqu'ils sont couplés avec *Rhizoctonia*. La cause probable vient des conditions très chaudes observées dans les serres au cours de cet essai.

Activité 7. Expérience avec Prestop et *Trichoderma* MAUL-20 contre *Botrytis cinerea* sur la tomate de serre à l'échelle commerciale

L'essai en serre commerciale mené aux Serres du St-Laurent div. Danville a permis de vérifier que l'alternance Prestop / fongicides en pulvérisation comme traitement préventif permettait une répression du chancre de la tige équivalente à celle offerte par les fongicides conventionnels utilisés par les producteurs. Le rendement issu des plants traités avec l'alternance Prestop / fongicides s'est avéré similaire au rendement issu des plants traités avec les fongicides. Par ailleurs, l'efficacité du biofongicide MAUL-20 en badigeonnage à empêcher la reprise du développement de l'agent pathogène *B. cinerea* s'est avérée similaire à l'efficacité du Thiram en badigeonnage.

Dans un premier temps, la présence de *G. catenulatum* sur les tiges de tomate traitées avec Prestop démontre que les conditions climatiques qui prévalent dans les serres favorisent le développement et la persistance de l'agent de lutte biologique. L'utilisation de *G. catenulatum* dans un contexte d'alternance Prestop / fongicides a permis de constater que le développement et la persistance de l'agent de lutte était possible et ce, malgré l'application de nombreuses matières actives. Ces résultats confirment les informations fournies par la compagnie Verdera quant à la compatibilité du biofongicide Prestop avec l'iprodione et le soufre. Bien qu'aucune information n'ait été fournie par la compagnie quant à la compatibilité du biofongicide Prestop avec le dichloran et le captane, la présence de *G. catenulatum* a été constatée suite à l'application de ces deux matières actives.

Selon les observations effectuées lors de l'essai en serre commerciale mené aux Serres du St-Laurent, l'alternance Prestop / fongicides en pulvérisation comme traitement préventif a permis une répression du chancre de la tige similaire à celle offerte par les fongicides en pulvérisation tels qu'utilisés par les producteurs. Ces observations confirment les résultats obtenus lors des deux essais en serre expérimentale menés à l'Université Laval. En effet, le biofongicide Prestop en pulvérisation a permis une répression équivalente à celle offerte par les fongicides en pulvérisation lors du premier essai en serre expérimentale alors qu'il a permis une répression similaire voire supérieure à celle offerte par les fongicides en pulvérisation au cours du deuxième essai sous forte pression de maladie. Il devient alors intéressant d'inclure le biofongicide Prestop dans la rotation de produits phytosanitaires utilisés en production commerciale de tomate de serre. Ainsi, la quantité de matières actives appliquée dans les serres serait réduite, diminuant les risques environnementaux, l'impact sur la santé des travailleurs et les risques de résistance aux différentes matières actives par *B. cinerea*.

Lors de cet essai en serre commerciale, la pression de maladie était plutôt faible en comparaison avec certaines années précédentes. Il serait donc intéressant de répéter l'expérience sous plus forte pression de maladie. En effet, aux Serres du St-Laurent, le pourcentage de plants morts à cause de *B. cinerea* peut atteindre jusqu'à 20 % lorsque la luminosité est faible (automne et hiver) et que la pression de maladie est

forte. Lors de l'essai mené en serre commerciale au cours de l'hiver 2004-2005, le nombre moyen de chancres par rang s'élevait à 54 en comparaison avec 123 chancres par rang au cours de l'hiver précédent (2003-2004). Puisque l'alternance Prestop / fongicides en pulvérisation a permis une répression du chancre de la tige similaire à celle offerte par les fongicides lors de l'essai en serre commerciale et que Prestop en pulvérisation a permis une répression similaire voire supérieure à celle offerte par les fongicides lors des essais en serre expérimentale, il serait intéressant de vérifier l'efficacité du biofongicide Prestop seul en pulvérisation en serre commerciale afin de réduire de façon plus importante la quantité de matières actives appliquée dans la production de tomate de serre.

En ce qui concerne les traitements curatifs en badigeonnage, l'efficacité du biofongicide MAUL-20 s'est avérée similaire à celle du Thiram ce qui confirme les résultats obtenus lors des essais en serre expérimentale menés à l'Université Laval. De plus, comme pour les essais en serre expérimentale, les chancres badigeonnés avec MAUL-20 en serre commerciale étaient de belle apparence, l'argile recouvrant les plaies. L'utilisation de ce biofongicide comme traitement curatif permettrait de réduire la quantité de thiram appliquée dans les serres commerciales et ce, sans modifier la manière de faire des producteurs puisqu'il s'agit aussi d'une pâte à badigeonner. L'efficacité du biofongicide Prestop en badigeonnage s'est avérée moindre que l'efficacité du Thiram. L'efficacité du Prestop en badigeonnage en serre commerciale s'est avérée plus faible qu'en serre expérimentale. Comme pour les essais en serre expérimentale, l'aspect des chancres badigeonnés avec Prestop en serre commerciale était douteux. Les plaies traitées prenaient une couleur brun-beige, les tissus s'affaissaient légèrement et des cloques beiges apparaissaient sur le pourtour des plaies. Si ces chancres badigeonnés s'étaient trouvés sur des plants de tomate extérieurs aux chapelles d'essais, les travailleurs les auraient rapidement éliminés. Un travail de la part de la compagnie Verdera s'impose donc afin d'améliorer l'apparence des chancres badigeonnés avec Prestop.

Le rendement total et vendable issus des plants traités avec l'alternance Prestop / fongicides en pulvérisation se sont avérés similaires aux rendements issus des plants traités avec les fongicides conventionnels en pulvérisation lors de l'essai en serre commerciale. Lors des essais en serre expérimentale, une tendance à la hausse avait été observée pour le rendement vendable issu des plants traités avec Prestop en pulvérisation en comparaison avec le rendement vendable issu des plants traités avec les fongicides en pulvérisation. Cette tendance n'a sans doute pu être observée lors de l'essai en serre commerciale puisque le Prestop était utilisé en alternance avec les fongicides. Il serait donc intéressant d'évaluer les rendements lors d'un essai subséquent avec Prestop comme seul traitement en pulvérisation. En ce qui concerne le rendement en fruits non-vendables, il s'est avéré moindre pour les plants traités avec l'alternance Prestop / fongicides que pour les plants traités avec les fongicides conventionnels en pulvérisation. Lors des essais en serre expérimentale, la proportion du rendement total associée au rendement non-vendable s'était avérée légèrement supérieure avec Prestop en comparaison avec les fongicides en pulvérisation. En serre commerciale, la pollinisation est faite par des bourdons pollinisateurs alors qu'en serre expérimentale, la pollinisation était faite mécaniquement avec un pollinisateur. Ceci explique peut-être qu'il y ait plus de fruits déformés en serre expérimentale. De même, la régie de culture est optimale en serre commerciale (température, irrigation, fertilisation). Les fruits sont donc moins à risque en ce qui concerne la pourriture apicale et la face de chat qu'en serre expérimentale.

En bref, l'alternance Prestop / fongicides en pulvérisation a permis une répression du chancre de la tige causé par *B. cinerea* similaire à celle offerte par les fongicides couramment utilisés par les producteurs avec des rendements vendables équivalents. De même, l'efficacité du biofongicide MAUL-20 comme traitement curatif en badigeonnage s'est avérée similaire à celle du Thiram, fongicide normalement utilisé par les producteurs en badigeonnage.

Projet PARDE Page 20 sur 22 Rapport synthèse

BIENS LIVRABLES ET PERSPECTIVE

La réalisation de ce projet a permis d'enrichir nos connaissances en regard des biofongicides *Trichoderma harzianum* MAUL-20, Sporodex, Rootshield et Prestop. En conséquence, les biens livrables suivants ont été obtenus :

- -Revue de littérature sur chacun des biofongicides
- -Acquisition de connaissances fondamentales sur les quatre biofongicides à potentiel commercial
- Optimisation des conditions de mise à l'échelle de Sporodex
- Tableau de compatibilité du biofongicide MAUL-20 avec les produits conventionnels couramment utilisés à des fins phytosanitaires
- ♣ -Données scientifiques portant sur deux saisons sur l'efficacité des biopesticides étudiés
- -Évaluation comparative non biaisée de l'efficacité de différents biofongicides et produits conventionnels revendiquant une cible commune
- Spectre d'activité et d'efficacité des biofongicides étudiés
- Données scientifiques des avantages et limites de l'utilisation des biofongicides versus les pesticides sur les rendements des productions testées
- -Définition de certains paramètres optimaux d'utilisation des biofongicides
- Transfert des données scientifiques aux partenaires à des fins d'homologation des produits auprès de l'ARLA

L'emploi des biofongicides *Trichoderma harzianum* MAUL-20, Sporodex, Rootshield et Prestop, tel qu'ils sont disponibles actuellement, permettrait de :

- 1) Restreindre l'utilisation de fongicides en agriculture : protection du consommateur et de l'environnement;
- 2) Favoriser le développement des plantes en l'absence d'agents pathogènes dans les substrats (effet stimulant);
- 3) Survivre et se multiplier dans les substrats et le phylloplan pour toute la période de germination et de production des semis;
- 4) Offrir un contrôle efficace, in vitro et in vivo, contre Botrytis cinerea, Pythium ultimum, P. aphanidermatum et Rhizoctonia solani;
- 5) Se comporter de façon égale ou supérieure à un biofongicide actuellement homologué au Canada (Rootsheild™);
- 6) Offrir un produit facile à manipuler, disponible sous forme de poudre mouillable ou liquide, pour les arrosages ou les incorporations directes au substrat;
- 7) Être d'utilisation sécuritaire en production commerciale (aucune nocivité pour les utilisateurs, l'environnement, le consommateur et les cultures).

RENSEIGNEMENTS

M. Richard Bélanger, Ph.D., phytopathologiste

Département de phytologie - FSAA Université Laval, Québec G1K 7P4

Téléphone : 418-656-2758 Télécopieur: 418-656-7856

Courriel: richard.bélanger@plg.ulaval.ca

Mme Johanne Caron, M.Sc., phytopathologiste Mme Lucie Laverdière, technicienne Horti-Protection inc.

11, rue des Peupliers Sainte-Hélène de Breakeyville, Québec GOS 1E1

Téléphone : 418-832-0546 Télécopieur: 418-832-0546

Courriel: hortipro@mediom.qc.ca