



**HAL**  
open science

# Mise au point d'une méthode de contamination artificielle de tavelure en verger de pommiers

Marie Touche

► **To cite this version:**

Marie Touche. Mise au point d'une méthode de contamination artificielle de tavelure en verger de pommiers. Sciences du Vivant [q-bio]. 2018. dumas-01887808

**HAL Id: dumas-01887808**

**<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-01887808>**

Submitted on 4 Oct 2018

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

Année universitaire : 2017- 2018

Spécialité :

Horticulture

Spécialisation (et option éventuelle) :

Protection des Plantes et Environnement  
en Horticulture

### Mémoire de Fin d'Études

- d'Ingénieur de l'Institut Supérieur des Sciences agronomiques, agroalimentaires, horticoles et du paysage  
 de Master de l'Institut Supérieur des Sciences agronomiques, agroalimentaires, horticoles et du paysage  
 d'un autre établissement (étudiant arrivé en M2)

# Mise au point d'une méthode de contamination artificielle de tavelure en verger de pommiers

Par : Marie TOUCHE



© Raison'Alpes

**Soutenu à Angers le 05/09/18**

#### **Devant le jury composé de :**

Président : Nicolas Chen

Maître de stage : Laure Pesteil

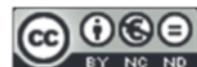
Enseignant référent : Alexandre Degrave

Autres membres du jury (Nom, Qualité)

Arnaud Lemarquand, directeur de l'Unité  
Expérimentale Horticole, INRA Pays-de-la-Loire

*Les analyses et les conclusions de ce travail d'étudiant n'engagent que la responsabilité de son auteur et non celle d'AGROCAMPUS OUEST*

Ce document est soumis aux conditions d'utilisation  
«Paternité-Pas d'Utilisation Commerciale-Pas de Modification 4.0 France»  
disponible en ligne <http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/deed.fr>





# Fiche de confidentialité et de diffusion du mémoire

## Confidentialité

Non  Oui si oui :  1 an  5 ans  10 ans

Pendant toute la durée de confidentialité, aucune diffusion du mémoire n'est possible <sup>(1)</sup>.

Date et signature du maître de stage <sup>(2)</sup> :  
(ou de l'étudiant-entrepreneur)

**A la fin de la période de confidentialité**, sa diffusion est soumise aux règles ci-dessous (droits d'auteur et autorisation de diffusion par l'enseignant à renseigner).

## Droits d'auteur

L'auteur<sup>(3)</sup> **Touche Marie**  
autorise la diffusion de son travail (immédiatement ou à la fin de la période de confidentialité)

Oui  Non

Si oui, il autorise

la diffusion papier du mémoire uniquement<sup>(4)</sup>

la diffusion papier du mémoire et la diffusion électronique du résumé

la diffusion papier et électronique du mémoire (joindre dans ce cas la fiche de conformité du mémoire numérique et le contrat de diffusion)

(Facultatif)  accepte de placer son mémoire sous licence Creative commons CC-By-Nc-Nd (voir Guide du mémoire Chap 1.4 page 6)

Date et signature de l'auteur :

## Autorisation de diffusion par le responsable de spécialisation ou son représentant

L'enseignant juge le mémoire de qualité suffisante pour être diffusé (immédiatement ou à la fin de la période de confidentialité)

Oui  Non

Si non, seul le titre du mémoire apparaîtra dans les bases de données.

Si oui, il autorise

la diffusion papier du mémoire uniquement<sup>(4)</sup>

la diffusion papier du mémoire et la diffusion électronique du résumé

la diffusion papier et électronique du mémoire

Date et signature de l'enseignant :

(1) L'administration, les enseignants et les différents services de documentation d'AGROCAMPUS OUEST s'engagent à respecter cette confidentialité.

(2) Signature et cachet de l'organisme

(3).Auteur = étudiant qui réalise son mémoire de fin d'études

(4) La référence bibliographique (= Nom de l'auteur, titre du mémoire, année de soutenance, diplôme, spécialité et spécialisation/Option)) sera signalée dans les bases de données documentaires sans le résumé



## Remerciements

Je tiens tout d'abord à remercier **Laure Pesteil**, responsable d'expérimentation et maître de stage, pour m'avoir intégrée au sein de l'équipe de Raison'Alpes. Merci d'avoir partagé tes connaissances et ton expérience, en matière de technique mais aussi de management, qui ont rendu ce stage très instructif. Merci également pour ta patience et ta disponibilité tout au long de ce stage et de la rédaction de ce mémoire, et bien sûr pour la confiance que tu m'as accordée.

Un grand merci à toute **l'équipe de Raison'Alpes**, pour votre accueil chaleureux, votre bonne humeur, et d'avoir contribué à rendre ce stage enrichissant à travers la diversité des activités auxquelles j'ai pu participer. Je remercie spécialement **Céline Charles**, responsable d'activités, de me permettre de rester encore un peu dans l'équipe après ce stage.

Je remercie **Alexandre Degrave**, enseignant chercheur à Agrocampus Ouest, pour ses encouragements, et ses conseils.

Merci à **Coralie Petitjean**, et à toute la promo **PPEH** pour le soutien technique et psychologique qu'a nécessité la rédaction de ce mémoire.



# Table des matières

Glossaire	I
Liste des annexes	II
Liste des illustrations	III
Avant-propos	IV
Introduction	1
I. Etude bibliographique des mécanismes de contamination impliqués dans le pathosystème <i>Malus – Venturia inaequalis</i>	2
A. Caractérisation globale du pathosystème <i>Malus-Venturia inaequalis</i>	2
a. <i>Venturia inaequalis</i> Cooke (Wint.), un pathogène majeur du pommier	2
i. <i>V. inaequalis</i> , un pathogène quasi-spécifique du pommier	2
ii. Le pathosystème <i>Malus-V. inaequalis</i> , une interaction ancienne devenue problématique	2
b. Une symptomatologie préjudiciable pour la production de pommes	3
c. Le cycle de développement de <i>Venturia inaequalis</i> sur une saison de production	4
d. Une gestion complexe reposant majoritairement sur l'utilisation de fongicides	5
B. L'infection du pommier par <i>V. inaequalis</i> à l'échelle tissulaire	5
a. La cuticule, barrière d'entrée du pathogène dans l'hôte	5
b. L'adhésion des spores à la cuticule, un pré-requis nécessaire à l'infection	6
c. Germination des spores et pénétration du pathogène dans l'hôte	6
i. Germination des spores	6
ii. Pénétration	6
d. Croissance du pathogène dans l'hôte	8
C. Les facteurs conditionnant la réussite et l'incidence de la contamination	9
a. L'influence des paramètres climatiques sur la contamination et leur intégration dans des systèmes de prédiction	9
i. L'influence relative des paramètres climatiques sur l'infection	9
ii. Le modèle tavelure de RIMpro, un outil de prédiction plus fiable et plus pratique d'utilisation	10
b. La résistance ontogénique des feuilles et des fruits	11
c. L'influence de la quantité d'inoculum sur l'incidence de la tavelure	12
II. Méthodologie d'inoculation de tavelure en verger de pommiers	13
A. Site expérimental	13
B. Facteurs étudiés et plan d'expérimentation	13
a. Découpage de la parcelle expérimentale	13
b. Facteurs expérimentaux étudiés	14
c. Définition du plan d'expérimentation	14

C.	Suivis préalables à l'inoculation-----	14
a	Suivis de pousse et de stade-----	14
b	Couverture fongicide des contaminations naturelles -----	14
c	Autres traitements-----	15
D.	Méthode de contamination artificielle d'une parcelle de pommiers -----	15
a	Préparation de l'inoculum -----	15
i.	Utilisation d'une souche unique de <i>Venturia inaequalis</i> -----	15
ii.	Préparation des suspensions de spores-----	15
b	Inoculation de la parcelle expérimentale-----	16
i.	Humidification de la parcelle et choix du moment de l'inoculation-----	16
ii.	Application des suspensions de spores-----	17
iii.	Désensachage des pousses inoculées -----	17
iv.	Etude du taux de germination de l'inoculum -----	17
c	Dispersion de l'infection -----	17
E.	Méthodologie de l'évaluation de la contamination-----	17
a	Suivis et notations de la tavelure sur feuilles -----	17
b	Suivis et notation de la tavelure sur fruits -----	18
c	Analyses statistiques des variables et interprétation des résultats-----	18
III.	Résultats -----	19
A.	Risques de contamination naturelle -----	19
a	Contexte contaminant-----	19
b	Couverture phytosanitaire des périodes à risque-----	20
B.	Mise en œuvre des inoculations-----	20
a	Préparation des suspensions de spores-----	20
i.	Inoculation sur rosette-----	20
ii.	Inoculation sur pousse de bourse -----	20
-----	-----	21
b	Cadence et conditions des inoculations -----	21
c	Désensachage des pousses -----	21
i.	Inoculation sur rosette-----	21
ii.	Inoculation sur pousses de bourse-----	21
d	Taux de germination des conidies -----	21
i.	Inoculation sur rosette-----	21
ii.	Inoculation sur pousses de bourse-----	21
C.	Résultats des observations -----	22
a	Développement des pousses de bourse -----	22
i.	Suivi de pousses la modalité non inoculée-----	22
ii.	Notation du développement des pousses à inoculer -----	22
b	Tavelure sur feuilles -----	22

i.	Infection des pousses inoculées-----	22
ii.	Infection globale de la parcelle expérimentale -----	23
D.	Temps de travail-----	23
IV.	Discussion -----	24
A.	Développement de tavelure -----	24
a	Une quasi-absence de symptômes sur les rosettes inoculées-----	24
i.	Conditions d'inoculation -----	24
ii.	Sensibilité des feuilles de rosette au moment de l'inoculation-----	24
iii.	Couverture fongicide des épisodes de contamination naturelle-----	24
b	Quelques symptômes sur pousses de bourse probablement pas causés par l'inoculation -----	25
i.	Un épisode de contamination naturelle suivant l'inoculation-----	25
ii.	Taux de germination de l'inoculum-----	25
B.	Caractérisation de la mise en œuvre de la méthode -----	25
a	Reproductibilité de la méthode-----	25
b	Précision des données d'humectation -----	26
c	Conciliation des contaminations artificielle avec les épisodes contaminations primaires -----	26
C.	Choix des facteurs expérimentaux -----	26
a	Stade de développement du pommier au moment de l'inoculation -----	26
b	Un facteur 10 de dilution entre les deux types de suspensions-----	27
c	Un petit nombre de pousses inoculées -----	27
	Conclusion-----	28
	Bibliographie -----	29
	Sitographie -----	33
	Annexes -----	34



## Glossaire

**Ascospore** : spore résultant d'un processus de reproduction sexuée, formée dans un asque.

**BBCH** : échelle internationale décrivant le développement phénologique de végétaux.

**Conidie** : spore de multiplication asexuée, produite généralement par bourgeonnement de filaments mycéliens spécialisés appelés conidiophores.

**Forma specialis** (pluriel : formae speciales) : groupe taxonomique qui s'applique à un parasite adapté à un hôte spécifique.

**Hémibiotrophe** : caractérise un pathogène réalisant une partie de son cycle en tant que parasite obligatoire d'un hôte et le reste en colonisant des tissus morts.

**Hétérothallique** : caractérise un organisme fongique nécessitant deux mycéliums de types sexuels opposés pour sa reproduction sexuée.

**Hyphe** : filament végétatif fongique.

**Mycelium** : réunion d'hyphes.

**Ontogénique** : fait référence au développement d'un organisme.

**Pathosystème** : sous-système écologique régi par une relation de parasitisme.

**Pousse de bourse** : pousse qui se développe depuis la base de l'inflorescence.

**Rosette** : cercle de feuilles préformées à la base de l'inflorescence.



## Liste des annexes

<b>ANNEXE 1.</b> ECHELLE BBCH (TIRÉE DE BLOESCH ET VIRE 2013) .....	34
<b>ANNEXE 2.</b> VUE AÉRIENNE DE LA PARCELLE EXPÉRIMENTALE .....	37
<b>ANNEXE 3.</b> PLAN D'EXPÉRIMENTATION .....	38
<b>ANNEXE 4.</b> EXPÉRIMENTATION DE LA MÉTHODE D'INOCULATION – PROTOCOLE DÉTAILLÉ DES PRÉPARATIONS DE SUSPENSIONS DE SPORES.....	39
<b>ANNEXE 5.</b> EXPÉRIMENTATION DE LA MÉTHODE – PROTOCOLE DÉTAILLÉ DE L'INOCULATION DES ARBRES.....	40
<b>ANNEXE 6.</b> DONNÉES MÉTÉOROLOGIQUES JOURNALIÈRES SUR L'ENSEMBLE DE L'ESSAI (STATION INSTALLÉE LE 10/04, DONNÉES ANTERIEURES ISSUES DE LA STATION DE RIBIERS).....	41
<b>ANNEXE 7.</b> PROGRAMME DES TRAITEMENTS CONTRE LES PUCERONS .....	43
<b>ANNEXE 8.</b> DONNÉES MÉTÉOROLOGIQUES HORAIRES DE L'INOCULATION SUR ROSETTES..	44
<b>ANNEXE 9.</b> DONNÉES MÉTÉOROLOGIQUES HORAIRES DE L'INOCULATION SUR POUSSÉS DE BOURSES .....	47
<b>ANNEXE 10.</b> DÉVELOPPEMENT DES POUSSÉS DE BOURSE DE LA PARCELLE EXPÉRIMENTALE .....	50
<b>ANNEXE 11.</b> SORTIE DE TACHES SUR POUSSÉS INOCULÉS AU 22 JUIN (CASE VIDE = PAS DE FEUILLE) .....	51
<b>ANNEXE 12.</b> NOTATION TAVELURE SUR POUSSÉS NON INOCULÉS - DÉTAIL PAR PARCELLE ÉLÉMENTAIRE DU POURCENTAGE DE FEUILLES INFECTÉES ET DU NOMBRE MOYEN DE TACHES SUR 100 FEUILLES.....	51
<b>ANNEXE 13 :</b> ANALYSES STATISTIQUES SUR LE POURCENTAGE DE FEUILLES TAVELÉES ET LE NOMBRE DE TACHES SUR 100 FEUILLES POUR L'OBSERVATION DU 22 JUIN.....	53
<b>ANNEXE 14.</b> DÉVELOPPEMENT DES POUSSÉS DE BOURSE D'UNE PARCELLE DE PRODUCTION (TAILLÉE) .....	57



## Liste des illustrations

### Figures

<b>FIGURE 1.</b> SYMPTOMES DE TAVELURE SUR FEUILLES DE POMMIER (SOURCE : RAISON'ALPES) .....	4
<b>FIGURE 2.</b> SYMPTOMES DE TAVELURE SUR FRUITS DEVELOPPES ('GOLDEN DELICIOUS', SOURCE : RAISON'ALPES).....	4
<b>FIGURE 3.</b> SYMPTOMES DE TAVELURE SUR JEUNES FRUITS ('GOLDEN DELICIOUS', SOURCE : RAISON'ALPES).....	4
<b>FIGURE 4.</b> CYCLE DE DEVELOPPEMENT DE <i>V.INAEQUALIS</i> SUR POMMIER (SOURCE : BOWEN ET AL. 2011).....	4
<b>FIGURE 5.</b> COURBES DE MILLS (SOURCE : MAC HARDY ET GADOURY, 1989).....	9
<b>FIGURE 6.</b> SORTIE RIMPRO (ZONES BLEU FONCE : LONGUEUR DE LA PLUIE, ZONE BLEU CLAIR : LONGUEUR DE LA PERIODE D'HUMECTATION ; SOURCE : RIMPRO.EU) .....	10
<b>FIGURE 7.</b> PULVERISATION DE LA SUSPENSION DE SPORES .....	17
<b>FIGURE 8.</b> POUSSE ENSACHEE APRES INOCULATION.....	17
<b>FIGURE 9.</b> GRAPHIQUE DES CONDITIONS CLIMATIQUES (DONNEES CIRAME RIBIERS JUSQU'AU 10 AVRIL, PUIS DONNEES STATION DE LA PARCELLE EXPERIMENTALE, SOURCE PERSONNELLE) .....	19
<b>FIGURE 10.</b> GRAPHIQUE RIMPRO DE L'EVOLUTION DU RISQUE D'INFECTION CORRESPONDANT AUX DONNEES METEOROLOGIQUES DE LA STATION DE RIBIERS (SOURCE: WWW.RIMPRO.EU)19	
<b>FIGURE 11.</b> CONDITIONS DE TEMPERATURES ET D'HUMECTATION FOLIAIRE DE L'ASPERSION PRE- INOCULATION AU DESENSACHAGE - 19-20 AVRIL (SOURCE : PERSONNELLE) .....	21
<b>FIGURE 12.</b> CONDITIONS DE TEMPERATURES ET D'HUMECTATION FOLIAIRE DE L'ASPERSION PRE- INOCULATION AU DESENSACHAGE - 17-18 MAI (SOURCE : PERSONNELLE).....	21

### Tableaux

<b>TABLEAU 1.</b> SYNTHESE DES MODALITES DE L'ESSAI.....	11
<b>TABLEAU 2.</b> PROGRAMME DES TRAITEMENTS ANTI-TAVELURE (SOURCE PERSONNELLE)...	20
<b>TABLEAU 3.</b> EVALUATION DE L'INFECTION SUR LA PARCELLE EXPERIMENTALE (SOURCE PERSONNELLE) .....	22



## Avant-propos

**Raison'Alpes** est une société de prestations de services en agriculture située à Sisteron, dans la région Provence-Alpes-Côte-d'Azur. A la frontière entre les départements des Hautes-Alpes et des Alpes de Haute Provence, elle est implantée au cœur du bassin de production de pommes du Sud-Est de la France. Spécialisée sur les filières arboricoles, mais aussi céréalières et plantes à parfum, Raison'Alpes propose plusieurs types de services comme l'expertise technique, la formation, l'expérimentation ainsi qu'un service d'agriculture de précision. Elle est également engagée dans le programme DEPHY du plan Ecophyto.

L'expérimentation de produits phytopharmaceutiques constitue l'une des activités principales de Raison'Alpes. La société met en place des essais d'homologation ou de développement de produits commandités par divers acteurs de l'industrie phytopharmaceutique. Ne disposant pas de site expérimental, tous les essais sont réalisés sur des parcelles de producteurs alentours. Une grande part de ces essais concerne la gestion des bio-agresseurs du pommier, et sont menés quasi exclusivement sur 'Golden Delicious', variété prédominante dans le secteur sisteronais.



## Introduction

Début 2018, plusieurs controverses ont secoué les médias et mis à mal l'image déjà écornée de l'agriculture. Des résidus de pesticides dans les fruits et légumes aux incertitudes sur la dangerosité du glyphosate, en passant par l'effet des néonicotinoïdes sur les abeilles, toutes ces controverses ont un point commun : la complexité de la gestion des bio-agresseurs en agriculture. Afin d'assurer une production en quantité et répondre aux exigences de qualité de la commercialisation, l'agriculture dépend encore souvent des produits phytosanitaires de synthèse. L'exemple bien connu de la production de pommes, qui nécessite près de 35 traitements par an en France, est représentatif de cette situation (Sauphanor et al. 2009). Comme beaucoup d'espèces fruitières, ce sont les pathogènes fongiques qui sont les plus contraignants à gérer. L'utilisation de fongicides représentait en 2011 près de 64% des traitements appliqués sur un cycle de production et la majorité ciblait *Venturia inaequalis* (Cooke) G. Wint., le pathogène responsable de la tavelure du pommier (Pujol 2015). Néanmoins, poussée par la hausse des exigences du consommateur, par la baisse de l'efficacité des produits les plus utilisés et encouragée par des plans gouvernementaux, l'agriculture s'est de plus en plus engagée dans le raisonnement de l'utilisation des produits phytosanitaires et dans l'intégration d'alternatives biologiques. Cette transition écologique et sanitaire est rendue possible grâce à la collaboration entre différents acteurs en relation plus ou moins directe avec l'agriculture. Parmi eux, les acteurs de l'expérimentation phytosanitaire, partie intégrante de la recherche appliquée, jouent un rôle central dans l'évolution des stratégies de gestion des bio-agresseurs. En testant de nouveaux produits ou de nouvelles stratégies en conditions de production, ils constituent le dernier échelon d'évaluation pratique de ces méthodes avant la production à proprement parler. A la différence d'expériences en laboratoire, l'expérimentation en conditions de production est soumise à de nombreux aléas qu'il n'est pas toujours facile, ou possible, de maîtriser. Ainsi, la réussite d'essais portant sur l'étude d'une méthode de gestion d'un bio-agresseur sera conditionnée, entre autres, par le niveau de pression de ce bio-agresseur. Or, celui-ci peut varier selon les années, les conditions climatiques, l'environnement de la parcelle, etc. A travers son activité d'expérimentation, la société Raison'Alpes est souvent confrontée à cette difficulté. Implantée au cœur du bassin de production de pommes du Sud-Est, une grande part de ses essais sont menés sur pommiers, et parmi eux les demandes d'expérimentation de méthodes de gestion de la tavelure sont récurrentes. Or, en 2017, sur les parcelles utilisées pour ce type d'essais, la pression en tavelure s'est avérée relativement faible ce qui a impacté leur réussite. Afin de prévenir ce genre de situation et d'assurer une contamination homogène sur la parcelle expérimentale, il a été envisagé de proposer aux commanditaires de tels essais une inoculation de tavelure en supplément de l'inoculum naturel. Pour pouvoir proposer un tel service, il est nécessaire d'établir une méthodologie de contamination artificielle qui soit reproductible, homogène et efficace en termes de main d'œuvre.

Ce mémoire présente le cheminement de la réflexion qui a conduit à la construction d'une méthodologie de contamination artificielle de pommiers avec de la tavelure ainsi que son expérimentation en verger. Il est initié par un état des connaissances relatives au pathosystème *Malus-V. inaequalis* ciblant les mécanismes et facteurs impliqués dans la contamination. Ensuite, la méthodologie de la contamination artificielle est développée à travers le protocole de son expérimentation sur un verger de pommiers. Le mémoire se poursuit par la présentation des résultats de l'essai et s'achève sur leur analyse et sur une analyse de la méthode en elle-même.



# I. Etude bibliographique des mécanismes de contamination impliqués dans le pathosystème *Malus – Venturia inaequalis*

*Venturia inaequalis* Cooke (Wint.) est une espèce fongique phytopathogène bien connue en tant que responsable de la tavelure sur pommier. Cette pathologie est particulièrement redoutée dans les vergers dont la production est destinée à la commercialisation. Considérée depuis longtemps comme une maladie d'importance économique majeure, elle a ainsi fait l'objet de nombreuses recherches visant la compréhension du pathosystème et l'établissement de stratégies de gestion efficaces. La recherche menée depuis une centaine d'année a permis d'enrichir un vaste champ de connaissances sur le pathosystème couvrant des aspects de biologie, de génétique, d'épidémiologie et de contrôle de la maladie (Bowen et al. 2011).

## A. Caractérisation globale du pathosystème *Malus-Venturia inaequalis*

### a *Venturia inaequalis* Cooke (Wint.), un pathogène majeur du pommier

#### i. *V. inaequalis*, un pathogène quasi-spécifique du pommier

Le genre *Venturia* appartient à la famille des *Venturiaceae*, elle-même incluse dans le phylum des Ascomycètes [1]. Il comprend près de 58 espèces pathogènes de divers genres de végétaux. Ces espèces sont très distinctes génétiquement si bien qu'aucun croisement interspécifique n'a encore pu être réalisé en laboratoire (Bowen et al. 2011). L'espèce *Venturia inaequalis* (Cooke) Wint, est bien connue en tant que pathogène du pommier domestique (*Malus x domestica* Borkh.). Deux formes le caractérisent : la forme sexuée, qui donne son nom à l'espèce, et son anamorphe, asexué, connu sous le nom de *Spilocaea pomi* Fr. et catégorisé dans la subdivision des Deutéromycètes. Il s'agit de l'espèce la plus étudiée du genre *Venturia* en raison de l'importance économique du pommier. En 2014, la pomme était en effet le troisième fruit le plus produit dans le monde avec plus de 76 millions de tonnes annuelles [2]. En France, il est le premier fruit produit, avec un peu moins de 2 millions de tonnes annuelles, et le premier fruit exporté (Trillon, 2018). *V. inaequalis* est souvent considéré comme spécifique du genre *Malus*, c'est-à-dire non-pathogène des autres genres végétaux (Gessler et al. 2006). Il a cependant été démontré que certains isolats étaient capables d'infecter les genres *Craetegus*, *Sorbus*, *Pyracantha*, *Eriobotrya*, *Kageneckia* et *Heteromeles* (Bus et al. 2011). Les isolats pathogènes des quatre derniers genres cités ne peuvent toutefois pas infecter le genre *Malus* et ont été proposés comme une autre espèce ou comme des formae speciales de l'espèce *V. inaequalis* (Le Cam et al. 2002).

#### ii. Le pathosystème *Malus-V. inaequalis*, une interaction ancienne devenue problématique

Il est couramment admis que le pommier domestique (*Malus x domestica* Borkh.), espèce aujourd'hui présente sur une grande partie du globe, est originaire d'Asie Centrale (Harris, 2002). Par le biais d'analyses de marqueurs microsatellites, Gladieux et al. (2008) ont démontré que la plus grande diversité de souches de *V. inaequalis* se trouvait en Asie, puis en Europe. L'analyse de modèles de migration et l'estimation des distances génétiques entre populations suggèrent que ce pathogène serait également originaire d'Asie Centrale, et qu'il aurait suivi la dispersion du pommier domestique avec les migrations des populations humaines, vers l'Europe d'abord puis dans le reste du monde. La répartition géographique actuelle de *V. inaequalis* est ainsi aussi large que celle du pommier. Dans certains pays, les introductions de *V. inaequalis* sont beaucoup plus tardives que l'introduction du pommier. C'est le cas au Japon ou aux Etats Unis par exemple (Gladieux et al. 2008). L'Australie de l'Ouest, a même été épargnée jusqu'au début des années 2000 (McKirdy et al. 2001). *V. inaequalis* y était alors considéré comme organisme de quarantaine, mais est aujourd'hui bien installé (Gouvernement australien, 2011). Si l'interaction entre le pommier et *V. inaequalis* dure depuis plusieurs milliers d'années, elle est devenue un problème il y a seulement deux siècles.



**Figure 1.** Symptômes de tavelure sur feuilles de pommier (Source : Raison'Alpes)



**Figure 2.** Symptômes de tavelure sur jeunes fruits ('Golden Delicious', Source : Raison'Alpes)



**Figure 3.** Symptômes de tavelure sur fruits développés ('Golden Delicious', Source : Raison'Alpes)

Le premier rapport sur cette maladie date de 1819, et est attribué à Fries, un botaniste suédois. Jusque dans les années 1800, les pommes consommées étaient issues de prés-vergers, combinant prairie et diverses espèces d'arbres fruitiers. La diversité génétique des pommiers, leur faible concentration spatiale et les pratiques culturales concouraient à maintenir une faible pression de tavelure. Le développement des techniques de multiplication végétative dans les années 1800 a contribué à la sélection de qualités plus intéressantes, induisant une hausse de la demande de la population en matière de pommes. Pour répondre à cette demande, le « verger moderne » est apparu, parallèlement à l'essor de la commercialisation, concentrant les cultivars d'intérêt avec une organisation en rangs. Ce nouveau mode de production, créant un contexte favorable au développement du pathogène, et la hausse des exigences liée à la commercialisation des fruits ont fait de ce parasite du pommier une véritable bête noire pour les pomiculteurs (Mac Hardy et al. 2001).

#### **b Une symptomatologie préjudiciable pour la production de pommes**

La tavelure est une maladie particulièrement sévère en milieu tempéré, avec un climat frais et humide au printemps (Mac Hardy et al. 2001). Les symptômes qui lui sont attribués sont le plus souvent observés sur feuilles et sur fruits, et ont la particularité d'être superficiels. Sur feuilles, la tavelure se manifeste sous forme de lésions circulaires aux bords irréguliers, de couleur verdâtre et huileuse d'abord, qui évoluent vers un aspect velouté (Figure 1). Ces taches peuvent devenir brunes en périphérie et une nécrose des tissus dans la zone de la lésion peut être observée [4]. Les lésions apparaissent souvent sur la face supérieure du limbe, mais des lésions peuvent également devenir visibles sur la face inférieure. C'est souvent le cas des lésions causées par des infections tardives (Frey et Keitt 1925). La surface de la feuille peut être affectée d'une unique lésion qui s'étend progressivement ou de plusieurs lésions dispersées. Sur fruits, les lésions sont de couleur noire, d'aspect subéreux, avec une bordure nette (figures 2 et 3). Sur jeunes fruits, les taches sont assez étendues (Figure 2), tandis que sur fruits plus développés, les taches sont plus petites et dispersées (Figure 3 ; Frey et Keitt 1925). La surface du fruit peut se craqueler par la suite dans la zone infectée, et si l'attaque est précoce, elle peut même conduire à une déformation et une chute du fruit [4]. Des taches olivâtres peuvent être observées sur pétioles, sépales et pédicelles. Les symptômes sur fleurs engendrent leur coulure et leur chute. Il arrive également que des symptômes se manifestent sur jeunes rameaux sous la forme de cloques brun-clair entourées d'un anneau blanchâtre (Jha et al. 2009). En cas d'attaques sévères, une chute des feuilles peut avoir lieu. Cela peut impacter la viabilité de l'arbre sur plusieurs cycles de production. Du fait d'une baisse de la photosynthèse, moins de bourgeons et de feuilles seront formés, et la production de bois peut également être affaiblie (Belete et Boyraz 2017).

Dans les systèmes de production, la sévérité de la tavelure est limitée par des méthodes de gestion, donc la viabilité de l'arbre n'est pas souvent impactée. L'infection des fruits constitue la principale cause de perte directe pour le producteur. Bien que les symptômes restent superficiels et n'affectent pas les qualités organoleptiques du fruit, les exigences liées à la commercialisation entraînent une forte dévalorisation des fruits tavelés (Mac Hardy et al. 2001). En l'absence de gestion, la perte de rendement commercialisable peut atteindre 100% (Sauphanor et al. 2009).

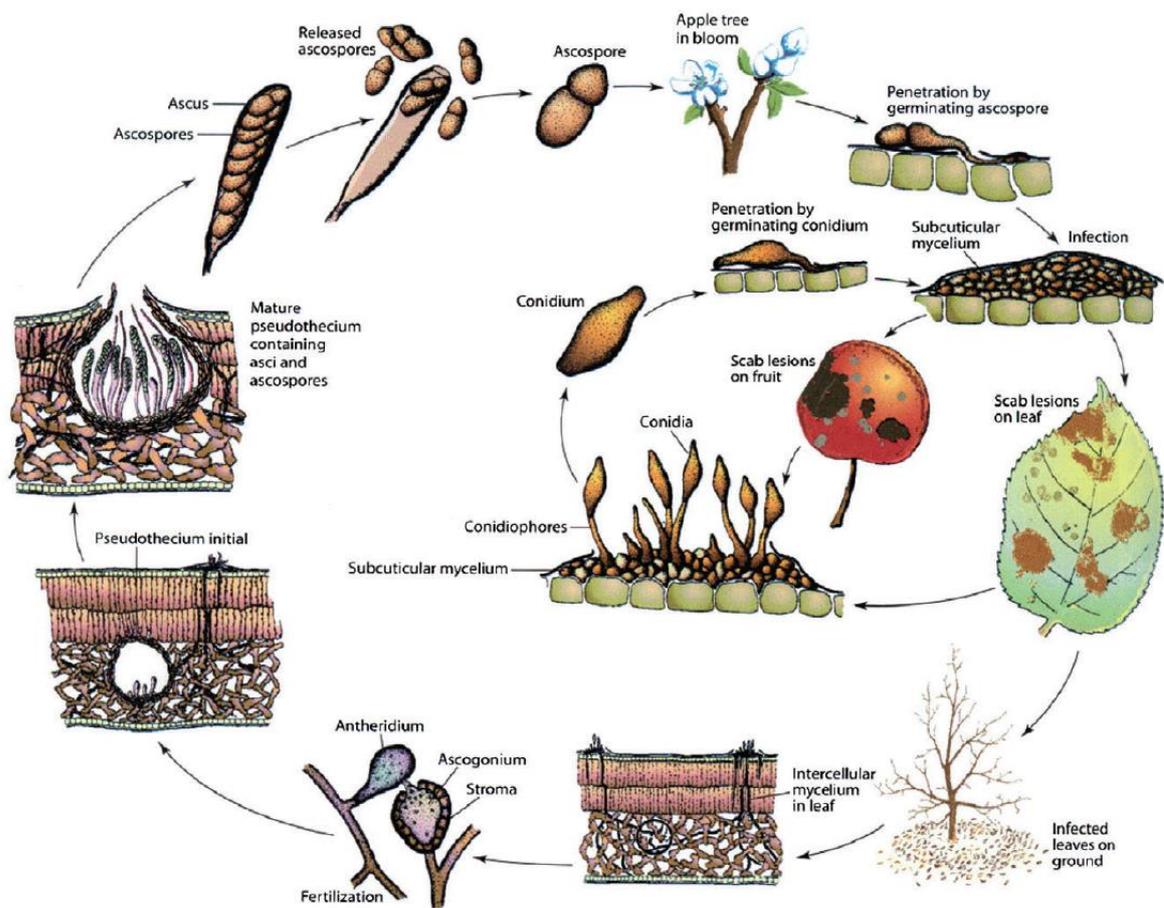


Figure 4. Cycle de développement de *V. inaequalis* sur pommier (Source : Bowen et al. 2011)

### c Le cycle de développement de *Venturia inaequalis* sur une saison de production

*V. inaequalis* est un organisme hémibiotrophe, c'est-à-dire qu'il parasite le pommier pendant une partie de son cycle et est saprophyte le reste du temps (Mac Hardy et al. 2001). Cette phase saprophyte est initiée à l'automne, dans les feuilles mortes tombées au sol qui ont été infectées par le pathogène au cours de sa phase biotrophe. Elle se manifeste par une brève phase de croissance d'un mycelium végétatif, qui entre ensuite dans une phase reproductive. La phase de développement saprophyte de *V. inaequalis* correspond à sa phase de reproduction sexuée. *V. inaequalis* est un organisme hétérothallique. Si ce mycélium d'un type sexuel donné entre en contact avec un mycelium de type sexuel opposé, il y a croisement et cela aboutit à la formation de fructifications sphériques, les périthèces (Stensvand et al. 2009). Ces périthèces passent l'hiver à ce stade de développement et leur développement redémarre à la fin de l'hiver. Cette reprise se manifeste par une différenciation du contenu des périthèces en hyphes ascogènes, les asques, et en un accroissement du diamètre global des périthèces allant jusqu'à percer la cuticule de la feuille (Gadoury 1985). Des ascospores, résultant de cette phase de reproduction sexuée, se forment au sein de ces asques, et sont au nombre de huit par asque. Elles constituent la majorité de l'inoculum primaire d'un verger (Mac Hardy 2001). Ces ascospores doivent subir une phase de maturation avant d'être capables d'infecter le pommier. La maturation des premières spores a lieu approximativement au moment du débourrement du pommier (Stensvand et al 2009). Dès qu'elles arrivent à maturité, elles sont libérées des périthèces et disséminées par la pluie et le vent avant de se déposer sur les organes de pommiers à proximité (Gadoury 1985). Les premières feuilles sensibles sont les feuilles de rosettes émergeant des bourgeons floraux. Il est considéré que ces feuilles sont sensibles à partir du moment où elles commencent à se séparer les unes des autres, ce qui correspond au stade BBCH 54 aussi appelé « Oreille de souris » (Annexe 1). La décharge des ascospores se fait principalement pendant la journée (Stensvand et al 2009, Mac Hardy et Gadoury 1986). La capacité de dispersion des ascospores est limitée à une centaine de mètres. Si les conditions sont favorables, ces ascospores infectent l'organe sur lequel elles se sont déposées. Au bout d'un certain temps, qui correspond à la période de latence du pathogène, *V. inaequalis* produit des conidiophores sur lesquels se développent les conidies. Cette étape de sporulation correspond à la formation des symptômes visibles. Ce deuxième type de spores, issu d'un cycle de reproduction asexué, constitue l'inoculum secondaire. Les conidies sont dispersées par le vent sur quelques mètres au maximum (Jah et al. 2009). Jusqu'à la chute des feuilles, des cycles de reproduction asexuée se succèdent à chaque fois que les conditions sont favorables à la germination des conidies. Après l'abscission des feuilles, une nouvelle phase saprophyte s'initie dans les feuilles infectées avec une courte phase de croissance mycélienne qui pénètre entre les cellules des couches plus profondes de la feuille. La figure 4 illustre le cycle de développement de *V. inaequalis*.

Le cycle de développement de *V. inaequalis* peut se subdiviser en 3 périodes. Une phase saprophyte pendant laquelle un brassage génétique se produit à travers la reproduction sexuée. Une phase parasite de contamination primaire, qui s'étend de l'éclatement des bourgeons, premier stade sensible du pommier, à la fin des projections des ascospores liées à l'épuisement des périthèces. La période de contaminations secondaires, qui débute à l'apparition des premières lésions issues de la contamination primaire, et s'achève à la chute des feuilles.

#### d Une gestion complexe reposant majoritairement sur l'utilisation de fongicides

La principale stratégie de gestion de la tavelure en verger de production consiste à empêcher les contaminations primaires. Pour cela, deux types d'actions sont couramment menés : la gestion des risques tout au long de la période de contaminations primaires ou la réduction de l'inoculum primaire en amont de cette période.

La gestion du risque de contamination s'appuie principalement sur l'application de produits fongicides. La fréquence de ces traitements varie entre les bassins de productions, en raison de la sensibilité variétale, des conditions climatiques, de la taille des vergers et de la densité de plantation. C'est dans le Centre/Ouest et le Sud-Ouest que les conditions sont les plus propices au développement de tavelure, et où la fréquence des traitements contre la tavelure sont de fait les plus fréquents (respectivement 47 et 66 % des traitements appliqués en 2011), et dans le Sud-Est où ils sont le moins importants (Pujol 2015). Le risque de contamination étant lié aux chutes de pluies et aux conditions météorologiques qui leur sont associées, une gestion efficace de la tavelure suppose un minimum de raisonnement des traitements (Sauphanor 2009). En production conventionnelle, la gestion chimique repose sur deux types de stratégies : la gestion préventive, ou la gestion curative. La gestion préventive consiste à intervenir avant un événement de contamination, dont la sévérité est prédite en fonction de la pluviométrie et du stock d'ascospore. Des produits de contact ou pénétrants dans la cuticule peuvent être utilisés. Les produits de contact et certains pénétrants sont lessivables (Filleron et al. 2016). Le lessivage peut permettre de redistribuer en partie le produit sur des feuilles non protégées (Céline Charles, *communication personnelle*). La lutte curative consiste à intervenir une fois que le processus infectieux est enclenché. Dans les premiers stades de l'infection, un produit de contact ou pénétrant peut être utilisé. Plus tard, lorsque le pathogène commence son développement à l'intérieur de l'hôte, ce sont surtout des inhibiteurs de la biosynthèse des stérols qui sont utilisés, mais les risques de résistance étant élevés, ce type de stratégie est surtout utilisé en dernier recours (Filleron et al. 2016). L'alternance des modes d'action ou des familles chimiques est préconisée pour pallier ou prévenir ces phénomènes de résistance aux produits. Si après épuisement du stock d'ascospores projetables le verger est indemne de tavelure, la poursuite de la protection du verger n'est plus nécessaire. Dans le cas contraire, elle doit être poursuivie jusqu'à la récolte. La durée de la période de contaminations primaires est variable selon les années et la localisation, puisqu'elle est régie par la température et la fréquence des pluies (Mac Hardy et Gadoury, 1986). Outre la gestion des périodes de contamination, des mesures prophylactiques visant à réduire l'inoculum primaire sont fortement conseillées, et ont prouvé leur efficacité. Le broyage des feuilles et les applications de cuivre, substance fongicide à large spectre, sont les techniques les plus employées par les arboriculteurs (Pujol 2015).

#### B. L'infection du pommier par *V.inaequalis* à l'échelle tissulaire

Le processus d'infection d'un végétal se définit comme une succession d'étapes aboutissant à l'établissement du pathogène dans son hôte et à la dissémination de la maladie. Le pathogène doit d'abord pénétrer à l'intérieur de l'hôte, puis s'y développer, c'est-à-dire se nourrir et coloniser les tissus végétaux, avant de pouvoir se reproduire et se disséminer.

##### a La cuticule, barrière d'entrée du pathogène dans l'hôte

La cuticule est une membrane imperméable recouvrant les organes aériens comme les feuilles, les fleurs, les fruits et les jeunes rameaux. Elle constitue la seule barrière à franchir pour que *V.inaequalis* puisse parasiter le pommier. La cuticule est constituée de cutine, polymère insoluble d'acides gras, incorporé dans un mélange de molécules lipidiques (les cires cuticulaires). Cette composition est responsable de son caractère hydrophobe. L'épaisseur de la cuticule dépend de l'espèce, de l'organe, du stade de développement et des conditions environnementales. Cette couche externe imperméable constitue une barrière protectrice contre la dessiccation, mais aussi contre les pathogènes (Kolattukudy 1985).

### b L'adhésion des spores à la cuticule, un pré-requis nécessaire à l'infection

L'interaction entre *V.inaequalis* et le pommier débute lors du dépôt d'une spore sur un organe de l'hôte comme une feuille ou un fruit. Si les conditions sont favorables, un mécanisme d'adhésion entre en jeu et constitue une phase clé pour l'établissement de l'infection. Ce mécanisme commun aux conidies et aux ascospores consiste en la production d'une substance mucilagineuse autour de la zone en contact avec la surface de l'organe (Smereka et al. 1987). Ce phénomène a été largement décrit pour les conidies par Schumacher et al. (2008). Les conidies produites lors de la phase parasitique de *V.inaequalis* contiennent très peu d'eau, ce qui leur permet de mieux résister aux facteurs de stress environnementaux. Dans cet état, une structure globulaire est observable à l'extrémité apicale de la spore. Cette structure est en fait une gouttelette de mucilage située à l'extérieur de la paroi conidienne et constituée de glycoprotéines. Sa composition précise n'est pas clairement élucidée. Immédiatement après contact avec une surface hydrophobe humide, la conidie s'hydrate et augmente de volume. Simultanément, elle libère la matière adhésive de son extrémité ce qui lui permet d'adhérer à l'organe du pommier sur lequel elle s'est déposée. La présence d'eau libre est indispensable à la réalisation de ce mécanisme. Le mucilage est préformé, c'est-à-dire que sa production ne dépend pas du contact avec l'hôte. Stable dans l'eau, il n'est libéré qu'au contact d'une surface solide. De plus, le succès de l'adhésion dépend des propriétés de la surface sur laquelle se dépose la spore, et non de la reconnaissance de l'hôte. Plus la surface est hydrophobe, plus la force adhésive du mucilage est importante (Schumacher et al. 2008).

Le mécanisme d'adhésion est un prérequis qui conditionne la réussite du processus infectieux. Néanmoins, il n'est pas indispensable à la germination, phase initiatrice de l'infection (Steiner et Oeke 2007).

### c Germination des spores et pénétration du pathogène dans l'hôte

*V.inaequalis* pénètre dans l'hôte à travers la cuticule (Nusbaum et Keitt 1938). Les stomates, orifices de l'épiderme des organes aériens, ne sont pas des points d'entrée pour ce pathogène.

#### i. Germination des spores

Plusieurs heures après l'adhésion, si l'humectation foliaire s'est maintenue suffisamment longtemps, le processus de germination s'initie. A ce moment-là, la force d'adhésion est affaiblie de manière transitoire. Ce phénomène peut s'expliquer par le fait que les mécanismes d'adhésion et de germination se déroulent au même endroit, au niveau de la zone de contact entre la spore et l'hôte (Schumacher 2008). La germination débute par la formation d'un tube germinatif. Une activité estérase a été mise en évidence par Nicholson et al. (1972) dans la zone de la spore où va se développer le tube germinatif. Cette activité est supposée rompre les liaisons ester des composants de la paroi de la conidie, la rendant plus souple et facilitant ainsi la croissance du tube germinatif. Celui-ci est également attaché par du mucilage à la surface de l'organe, mucilage probablement sécrété par le tube germinatif lui-même (Nusbaum et Keitt, 1938 ; Schumacher et al. 2008). Les conidies ont la capacité de germer sur d'autres hôtes que le pommier, et sur des surfaces artificielles.

#### ii. Pénétration

Il existe deux modes d'entrée de *V.inaequalis* dans l'hôte. L'un consiste en la pénétration directe du tube germinatif à travers la cuticule, tandis que l'autre implique une différenciation préalable du tube germinatif en appressorium (Nusbaum et Keitt 1938 ; Gessler et Stumm 1984). Smereka et al. 1987 ont observé que les deux types de pénétration étaient représentés de manière équivalente sur des ascospores.

##### ➤ Formation de l'appressorium

L'appressorium est une structure délimitée par une double paroi (Corlett et Chong 1977) spécialisée dans la pénétration des tissus végétaux. Cette structure est retrouvée chez de

nombreux phytopathogènes fongiques. Elle est décrite par Nusbaum et Keitt (1938) comme un tube germinatif modifié, enflé, étroitement attaché à la cuticule. La formation de l'appressorium peut être conditionnée par la rigidité de la surface à pénétrer. Steiner et Oecke (2007) ont en effet mis en évidence l'absence de différenciation du tube germinatif pour une conidie déposée sur une surface souple d'un milieu gélosé. Une production intense de mucilage est observée au niveau de l'appressorium, allant jusqu'à recouvrir la structure.

A l'extrémité de l'appressorium issu d'une ascospore ou d'une conidie, se trouve un petit anneau de cellules pariétales mélanisées. Cet anneau, d'environ 3 microns de diamètre extérieur, se forme au niveau de la zone de contact entre l'appressorium et la cuticule (Steiner et Oecke, 2007) et délimite une zone circulaire à paroi plus fine, le pore de pénétration. Ce pore de pénétration s'est formé par dégradation de la paroi de la spore. Un épaissement pariétal est tout de même observé autour (Nusbaum et Keitt 1938). Il a été démontré chez plusieurs pathogènes fongiques que la mélanisation de l'appressorium permet d'exercer une pression mécanique indispensable à la pénétration de la paroi cellulaire de l'hôte (Jacobson 2000). Chez *V.inaequalis*, l'entrée dans l'hôte est seulement limitée par la cuticule, qui nécessiterait une force beaucoup plus faible que pour pénétrer une paroi cellulaire plus rigide (Steiner et Oecke, 2007). La contribution d'une pression hydrostatique dans l'infection de *V.inaequalis* n'est pas clairement démontrée en raison de la finesse de la zone de pénétration, et semble peu probable (Smereka et al. 1987). Les fonctions de cet anneau mélanisé ne sont donc pas tout à fait déterminées. Fitzgerald et al. (2004) ont montré la capacité d'une souche mutante pour laquelle le gène codant un précurseur de la mélanine a été inhibé, à contaminer et développer des hyphes. Cela semblerait indiquer que l'anneau mélanisé n'est pas indispensable à l'infection. Néanmoins, plusieurs hypothèses ont été émises par Steiner et Oecke (2007) quant à la fonction de l'anneau mélanisé. La fixation de l'anneau à la cuticule jouerait un rôle d'adhésion complémentaire au mucilage. Il permettrait d'accroître la rigidité de la paroi de l'appressorium au point de pénétration, contre la pression de turgescence exercée par le pathogène. Il pourrait également constituer une protection du pathogène contre une activité d'hydrolyse (Steiner et Oecke, 2007).

➤ *La pénétration de la cuticule, un mécanisme enzymatique*

L'absence de pression mécanique de l'appressorium suggère que la pénétration de la cuticule serait plutôt un phénomène enzymatique (Valsangiacomo et Gessler, 1988).

Une structure délimitée par une membrane simple a été décrite dans l'appressorium en croissance issu d'une conidie (Corlett et Chong, 1977). Cette structure, appelée sac d'infection, a une forme de dôme duquel partent deux bras pouvant s'étendre jusqu'à la spore d'origine. Il s'agit d'une invagination de la membrane fongique, donc d'un espace extracellulaire (Smereka et al. 1987). Dans les dernières étapes de la pénétration, la membrane du sac d'infection devient la membrane de l'hyphe qui se développe au niveau du pore d'infection. Cet hyphe d'infection est la structure qui traverse la cuticule. Le sac d'infection fonctionnerait comme un réservoir d'enzymes impliquées dans la pénétration (Corlett et Chong 1977). D'autres hypothèses ont été proposées par Smereka et al. 1987. Selon eux, outre une compartimentalisation d'enzymes, le sac d'infection pourrait constituer une réserve de membrane pour l'hyphe primaire ou un site de production de matériel pariétal destiné à protéger l'hyphe primaire.

L'activité de plusieurs enzymes a été mise en évidence au cours du processus d'infection. L'activité de cutinases a notamment été observée par Köller (1991) dans des conidies en germination de *V.inaequalis*. Ces enzymes sont impliquées dans la dégradation de la cutine, désorganisant les composés de la cuticule ce qui faciliterait l'entrée du pathogène (Kolattukudy 1985). Des petites quantités de cutinases sont d'abord libérées de la conidie en germination, libérant des monomères de cutine de la cuticule. Ces monomères deviendraient des inducteurs de la synthèse de cutinases chez *V.inaequalis*, responsables de la dissolution des

polymères de cutine. En outre, une activité esterase est relevée dans l'appressorium, mais pas dans le tube germinatif en croissance (Nicholson et al. 1972). Cette activité esterase permettrait d'assouplir la cuticule de l'organe de l'hôte et ferait partie des enzymes hydrolytiques responsable de la pénétration du pathogène dans l'hôte.

#### d Croissance du pathogène dans l'hôte

Après avoir pénétré la cuticule de l'hôte, l'hyphe d'infection croit en direction de l'épiderme de l'organe où il s'aplatit en un hyphe primaire irrégulier (Nusbaum et Keitt 1938). Cet hyphe primaire poursuit son développement et colonise l'espace sous-cuticulaire, avant de subir un changement morphologique. A intervalles réguliers, les cellules qui le constituent se divisent latéralement formant des structures appelées stromas. Au sein de ces stromas, les cellules se différencient, deviennent larges et irrégulières, et continuent de se diviser latéralement. Les stromas sont à l'origine de la formation des conidiophores et des conidies. En parallèle, *V.inaequalis* continue de produire des hyphes sous-cuticulaires. Deux phénomènes particuliers ont été observés par Kucheryava et al. (2008) dans la zone d'infection. D'une part, la cuticule de l'organe végétal est épaissie par rapport aux zones non infectées. D'autre part, une formation de callose, réponse de défense des plantes, est souvent observée sous les hyphes. Cela suggère une certaine reconnaissance de l'intrusion de *V.inaequalis* par le pommier.

Ce développement sous-cuticulaire de *V.inaequalis* peut être induit in vitro, ce qui est peu courant chez les pathogènes fongiques ayant un comportement parasite (Kucheryava et al. 2008). Cependant, la différenciation d'hyphes en stroma n'est pas observée sur toutes les surfaces. Cela suggère un mécanisme de reconnaissance de texture et/ ou de pression du milieu environnant (Kucheryava et al. 2008).

Selon Nusbaum et Keitt (1938), le mycelium sous-cuticulaire interagit avec les cellules épidermiques sous-jacentes de manière à prélever les nutriments nécessaires à son développement. Aucune structure spécifiquement dédiée à la nutrition, tel qu'un haustorium, n'est observée chez *V.inaequalis*. Les mécanismes liés au prélèvement de nutriments par ce pathogène ne sont pas très bien connus. L'absence de symptômes visibles avant sporulation rejette l'hypothèse d'enzymes intervenant dans la dégradation de la paroi pour dériver les nutriments de l'hôte pendant toute la phase de formation du mycelium primaire et des stromas (Jha et al. 2009) (ou alors elles ont un rôle mineur). L'activité d'un ensemble d'enzymes de dégradation de parois a été observée au cours de la croissance in vitro du pathogène (Jha et al. 2009). Ces enzymes seraient étroitement attachées à la paroi des cellules du pathogène, et libérées de manière contrôlée facilitant l'absorption des nutriments par *V.inaequalis*. Cette libération contrôlée pourrait être empêcher que ces enzymes ne deviennent des facteurs d'induction des réactions de défense du pommier, comme elles peuvent l'être dans d'autres pathosystèmes. Les mélanoprotéines produites par *V.inaequalis* pourrait également faciliter l'absorption des nutriments en altérant la perméabilité membranaire et le transport de solutés du pommier (Jha et al. 2009). Des phytohormones telle que la cytokinine pourraient également être impliquées dans la nutrition de *V.inaequalis* en créant un puit de nutriments sur le site d'infection. Cela faciliterait ainsi la translocation des nutriments (Walters et McRoberts 2006, Cooper et Ashby 1998).

La stratégie d'infection de *V.inaequalis* Cooke (Wint.) est similaire à celle de nombreux parasites obligatoires, mais présente tout de même des particularités. La croissance sub-cuticulaire n'implique à aucun moment la pénétration dans les cellules de l'hôte et ne cause ainsi aucun dommage aux tissus de l'hôte jusqu'à l'apparition des symptômes visibles, une à trois semaines plus tard (Mac Hardy et al. 2001).

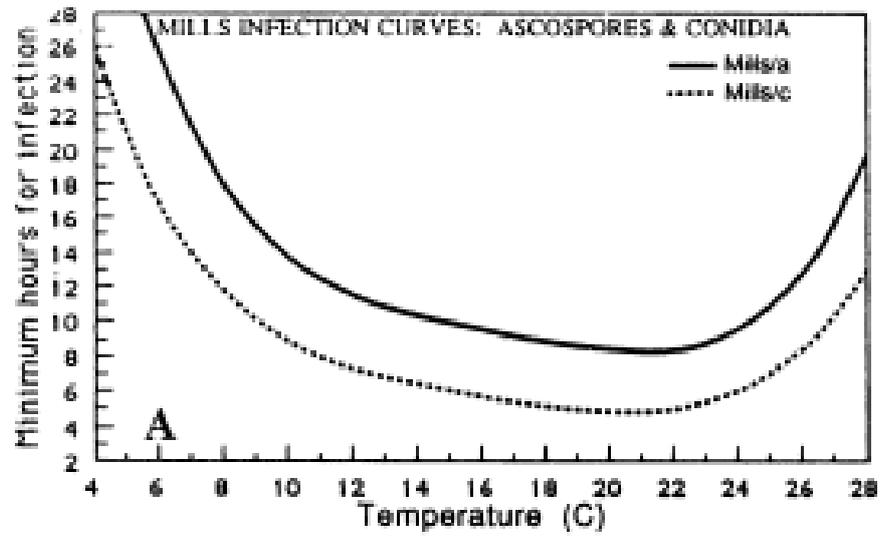


Figure 5. Courbes de Mills (Source : Mac Hardy et Gadoury, 1989)

## C. Les facteurs conditionnant la réussite et l'incidence de la contamination

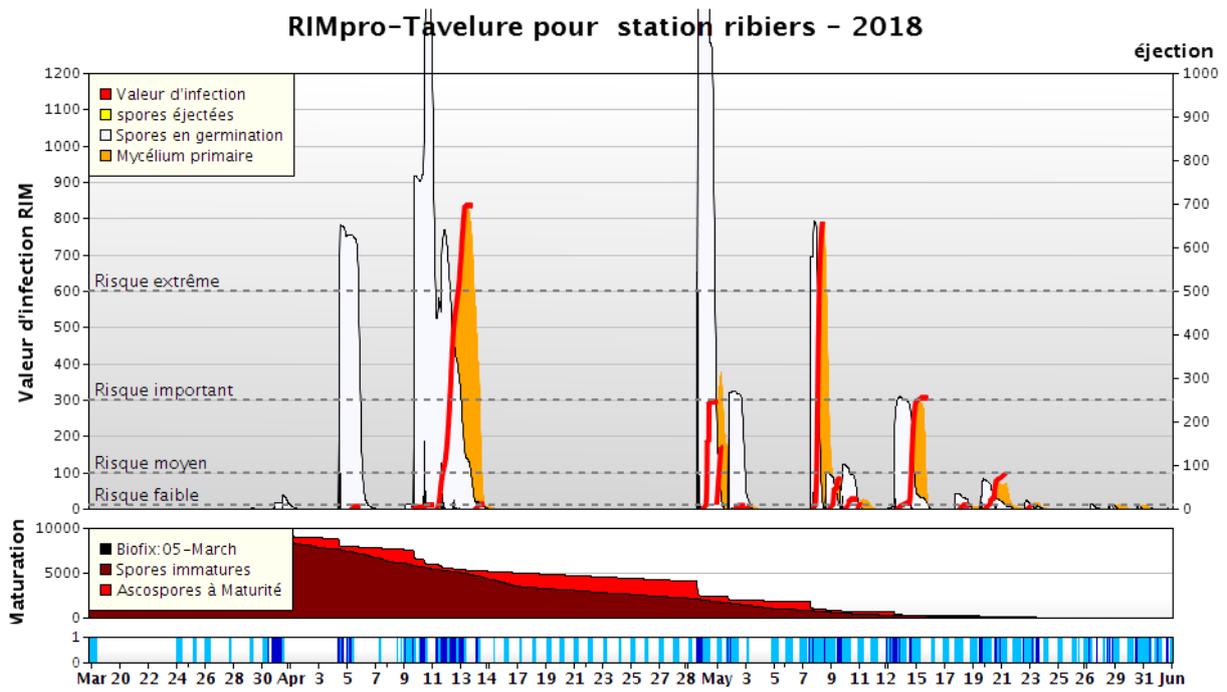
L'apparition de symptômes sur feuilles et sur fruits résulte de la réussite d'un cycle infectieux, et l'intensité de la contamination dépend du nombre de cycles infectieux ayant abouti à la formation de symptômes. Plusieurs paramètres conditionnent la réussite et l'incidence de l'infection de *V.inaequalis* sur pommiers.

### a L'influence des paramètres climatiques sur la contamination et leur intégration dans des systèmes de prédiction

#### i. L'influence relative des paramètres climatiques sur l'infection

Le déclenchement du processus infectieux est conditionné par la présence d'eau sur la cuticule (Schumacher et al. 2008). L'humectation foliaire est donc un pré-requis indispensable à l'initiation du processus d'infection mais conditionne également le reste de son déroulement. La durée de la période d'humectation à partir de cette phase initiatrice est en effet un critère majeur dans la réussite de l'infection et dépend notamment de la température. Mills a été le premier à établir une relation, de type polynomial du quatrième degré, entre ces deux paramètres microclimatiques et l'infection du pommier par *V.inaequalis*. Cette relation a d'abord été établie pour l'infection des feuilles par les ascospores, puis a été étendue aux conidies. Globalement, jusqu'à 22°C plus la température augmente plus la durée nécessaire à l'établissement de l'infection diminue. Au-delà de 22°C, cette durée réaugmente avec la température, traduisant que des températures trop élevées sont moins favorables au développement du pathogène (Figure 5). Mills a estimé que les conidies avaient besoin des deux tiers du temps aux ascospores pour contaminer une feuille. A partir de cette relation, un système de prédiction permettant de déterminer le niveau d'infection (faible, moyen ou sévère) en fonction de la température et de la durée d'humectation a été établi. Néanmoins, ce système ne prenant pas en compte la périodicité diurne de projection des ascospores, la durée réelle d'humectation nécessaire à l'infection par des ascospores serait surestimée d'environ trois heures par le système de Mills, quelle que soit la température (Mac Hardy et Gadoury 1989). Le système de Mills présente les durées d'humectation pour des températures allant de 6 à 28°C. A des températures inférieures à 6°C, *V.inaequalis* est toujours capable d'infecter le pommier, mais beaucoup plus lentement (Stensvand et al. 1997). Outre la réussite de l'infection, la durée d'humectation influence également la sévérité du développement de tavelure (Hartman et al. 1999). La continuité de la période d'humectation peut également influencer l'infection. Sur fruits, plus le développement est avancé, plus une interruption de la période d'humectation, même d'une heure, réduit l'infection (Schwabe 1984). La longueur de la période de latence de *V.inaequalis*, qui sépare l'initiation du processus d'infection à l'apparition des symptômes visibles, est également fonction de paramètres climatiques, notamment température et humidité relative (Tomerlin et Jones 1983).

Outre le processus d'infection en lui-même, la dispersion des spores est également conditionnée par des facteurs climatiques. Au printemps, l'éjection des ascospores matures responsables des infections primaires est corrélée à l'humectation des périthèces et est conditionnée par la lumière (Mac Hardy et Gadoury 1986, 1989). La dissémination des conidies, aboutissement du processus d'infection, est également dépendante des conditions climatiques. Lorsque le temps est sec, les conidies seraient fortement attachées aux conidiophores, et ce lien s'affaiblirait en présence d'eau (Frey et Keitt, 1925) ce qui favoriserait leur libération. Sutton et al. (1976), par le biais de pièges à spores, ont mis en évidence que la concentration de conidies dans l'air, indicateur de la dissémination, n'est pas liée à un paramètre climatique dominant mais à une interaction de plusieurs paramètres.



**Figure 6.** Sortie RIMpro (zones bleu foncé : longueur de la pluie, zone bleu clair : longueur de la période d'humectation ; source : rimpro.eu)

Elle serait notamment corrélée positivement à la température, à la vitesse du vent et aux radiations solaires, et négativement à l'humectation foliaire et à l'humidité relative. Comme pour les ascospores, il semblerait y avoir une périodicité diurne de la dissémination des conidies. Ainsi, la présence d'eau initierait la libération des conidies, mais la dissémination serait favorisée par un temps sec et chaud. L'influence des différents paramètres climatiques sur la dissémination reste assez obscure. En effet, des expériences en conditions contrôlées ont montré qu'un vent avec une force très importante est nécessaire pour déplacer une conidie depuis une feuille, et l'influence des radiations solaires peut être confondue avec la hausse de la température et la baisse de l'humidité relative qui sont liées (Sutton et al. 1976).

## ***ii. Le modèle tavelure de RIMpro, un outil de prédiction plus fiable et plus pratique d'utilisation***

Le système de Mills, encore très utilisé dans l'estimation du risque de contamination primaire, est un modèle d'infection simple, prenant en compte deux facteurs, et statique. Sa précision et sa fiabilité sont donc limitées. Un autre modèle a fait son apparition dans les années 1990, constituant une autre approche épidémiologique que celle donnée par le système de Mills. Il s'agit du modèle RIMpro, développé par Marc Trapman, consultant pour un réseau d'arboriculteurs en Hollande, et membre du groupe de travail européen Apple Scab. Il est aujourd'hui le modèle le plus utilisé en Europe. Ce modèle évolue au gré de l'avancée des connaissances scientifiques et des observations des utilisateurs, ce qui fait qu'il est considéré comme un modèle fiable.

Outre la durée d'humectation et la température moyenne pendant l'humectation, le modèle RIMpro intègre plusieurs autres paramètres :

- L'humidité relative pendant les interruptions d'humectation
- Les précipitations
- L'effet de la lumière sur les projections d'ascospores
- La dégradation de la litière
- Des paramètres de survie des ascospores et conidies pendant leur germination.

Il intègre également les modélisations de l'infection des feuilles et des fruits établies par plusieurs auteurs. La plupart des paramètres sont entrés par défaut. Seuls les paramètres suivants doivent être rentrés par l'utilisateur : les coordonnées géographiques du lieu, la date des premières éjections d'ascospores, du débourrement, de la floraison, et la date de dégradation des feuilles (Giraud et Trapman 2006). Le logiciel fonctionne avec une station météorologique indiquant, par tranches de 30 minutes, la température, l'humidité, la pluviométrie et l'humectation. En fonction de ces données, le logiciel calcule une valeur d'infection appelée RIM (Relative Infection Measure) qui correspond à la quantité d'ascospores ayant germé et infecté les feuilles de pommiers (sur un stock théorique de 10000). L'interface du modèle tavelure de RIMpro présente la situation en cours concernant les projections d'ascospores et la valeur du risque d'infection (RIM) l'état de maturation des ascospores, le positionnement des pluies et la durée des périodes d'humectation (Phillion et Trapman 2005, figure 6). A partir des données de température et d'humidité des dernières 24 heures, le modèle extrapole le risque d'infection sur les jours à venir.

RIMpro possède également un module sur les risques de contaminations secondaires sur feuilles et sur fruits et un module fongicide permet de modéliser la couverture fongicide à travers la couverture résiduaire de chaque traitement, et leur durée de curativité. La dégradation des substances actives est basée sur des informations physico-chimiques fournies par les firmes (demi-vie de la molécule, pluviométrie nécessaire pour avoir 50% de lessivage, effet curatif ou non, etc...), sur les conditions météorologiques et sur la pousse des feuilles pour laquelle un paramétrage est nécessaire. (Giraud et Trapman 2006).

## b La résistance ontogénique des feuilles et des fruits

L'âge des organes au moment de l'infection est un facteur qui conditionne l'incidence de la maladie. Un phénomène de diminution de la sensibilité des feuilles à la tavelure au cours du temps est observé par de nombreux auteurs (Nusbaum et Keitt 1938 ; Schwabe 1979 ; Li et Xu 2002). Ce phénomène est connu sous le nom de résistance ontogénique. L'origine de cette résistance n'est pas clairement identifiée, mais elle concerne toutes les variétés. Elle se manifeste par une diminution de la densité des lésions visibles (Valsangiacomo et Gessler 1988 ; Schwabe 1979) et par une augmentation de la durée d'incubation entre l'infection et la sporulation (Li et Xu 2002).

La résistance ontogénique est un phénomène progressif (Schwabe, 1979). Dès leur émergence, les feuilles sont sensibles à l'infection. Schwabe (1979) a noté qu'à 20°C, la sensibilité des feuilles à une infection par des conidies est maximale avant la fin de leur déroulement, et deux jours après la fin de leur déroulement pour une infection par des ascospores. La fin de l'expansion foliaire est souvent associée au moment où la résistance devient totale et où aucun symptôme visible ne résulte d'une phase d'inoculation (Valsangiacomo et Gessler, 1988, Kollar 1996). Schwabe (1979) a montré que sur des arbres correctement fertilisés, aucune lésion n'était observée sur des feuilles ayant atteint leur taille finale au moment de l'inoculation, ce qui correspondait à 12 jours après leur déroulement sous une température constante de 20°C. Néanmoins, sur des arbres non fertilisés, la résistance semblait devenir totale cinq jours plus tôt. La nutrition minérale de l'arbre conditionnerait donc également la sensibilité du pommier à la tavelure. Ainsi, l'apparition de symptômes de tavelure suppose que l'inoculation ait eu lieu pendant la phase de croissance active de la feuille.

Quel que soit l'âge de la feuille au moment de l'inoculation, la spore est capable de germer, de former appressorium et hyphes d'infection et de pénétrer la cuticule (Gessler et Stumm 1983). L'expression de la résistance ontogénique n'intervient donc qu'après l'entrée du pathogène dans l'hôte. D'après Valsangiacomo et Gessler (1988), des stromas atrophiés peuvent se former dans des feuilles ayant terminé leur croissance lors de l'inoculation, mais le développement du pathogène ne se poursuit pas. Cela expliquerait l'absence de symptômes visibles sur des feuilles inoculées après la fin de leur développement. Cependant, Li et Xu (2002) ont observé la présence de lésions non visibles mais produisant des conidies sur la face inférieure de feuilles ayant juste terminé leur développement, et des lésions ne sporulant pas sur la face inférieure de feuilles de tous les âges. Ces lésions sans sporulation sont constituées uniquement de mycelium, et la longueur et l'élongation de celui-ci semblent dépendre de l'âge des feuilles au moment de l'inoculation. Dès lors, il semble y avoir une différenciation de la résistance ontogénique entre les deux faces de la feuille. Cette résistance n'empêche pas les conidies d'infecter la face inférieure des feuilles, même sur des feuilles âgées de plusieurs mois. Néanmoins, si le développement de mycelium est observé quel que soit l'âge de la feuille, il est beaucoup plus lent à se développer et est significativement réduit sur feuilles âgées.

La résistance ontogénique n'a jamais été contournée par *V. inaequalis*, mais n'est pas un phénomène irréversible pour autant. A l'approche de la sénescence, les feuilles redeviennent sensibles à la tavelure et de nouvelles lésions peuvent apparaître (Kollar, 1996). Les changements physiologiques induits par l'entrée dans la phase de sénescence pourraient expliquer ce phénomène (Li et Xu 2002).

Le fait que les lésions tardives sur fruits soient plus petites que les lésions précoces suggère que le fruit développe aussi une forme de résistance ontogénique qui limiterait le développement des lésions (Frey et Keitt 1925). Le degré de cette résistance serait cependant plus faible que la résistance ontogénique des feuilles puisque contrairement aux feuilles, des lésions visibles peuvent se former ou au long du développement du fruit. Schwabe et al. (1984) a défini des indices d'infection correspondant au produit de la température moyenne et du nombre d'heures d'humectation nécessaire à l'infection. Une relation exponentielle décrit l'évolution de cet indice en fonction de l'âge du fruit lors de l'inoculation. L'impact d'une

interruption de l'humectation pendant l'infection réduit davantage l'infection sur fruit mature que sur jeune fruit, ce qui témoigne de cette résistance ontogénique des fruits. Son origine reste pour le moment inexpliquée.

### c L'influence de la quantité d'inoculum sur l'incidence de la tavelure

La quantité d'inoculum, qui se définit comme la quantité de spores qui entre en contact avec un organe du pommier, est un autre facteur pouvant conditionner l'incidence de la tavelure et qui serait indépendant de la température (Schwabe 1984 ; Hartman et al. 1999). Il y aurait cependant un seuil maximal d'inoculum, au-dessus duquel il n'est plus possible de distinguer de différence sur l'intensité de l'infection (Hartman et al. 1999, Lateur et al. 2000). Hartman et al.(1999) ont inoculé des jeunes arbres de deux mois avec des suspensions de conidies dont les concentrations allaient de  $1,5 \cdot 10^3$  à  $250 \cdot 10^4$  conidies /ml. Ils ont observé un seuil maximal à  $80 \cdot 10^3$  conidies/ml et estiment qu'un inoculum réaliste se situe autour de  $10 \cdot 10^3$  conidies/ml. Une expérimentation similaire de Palm sur 'Golden Delicious' placerait le seuil à  $50 \cdot 10^3$  conidies /ml (Hartman et al. 1999). Si la sévérité de la tavelure peut varier selon la quantité d'inoculum, la durée de la période de latence du pathogène ne semble pas être impactée (Lateur et al. 2000)

Ainsi, l'établissement d'une méthode d'inoculation visant à maîtriser le niveau de sévérité de la tavelure sur un verger nécessite de prendre en considération un ensemble de paramètres. Le stade de développement de l'hôte est indispensable à prendre en compte pour le positionnement des inoculations en raison du phénomène de résistance ontogénique des organes. Les paramètres microclimatiques de la parcelle, notamment température et humectation des organes, conditionnent et influencent la totalité du processus d'infection. Ils doivent donc être intégrés dans l'établissement de la méthode d'inoculation. La quantité d'inoculum apportée peut être un facteur intéressant à étudier dans le cadre de la maîtrise de la contamination, du fait de son influence sur la sévérité du développement de la maladie.

## II. Méthodologie d'inoculation de tavelure en verger de pommiers

La connaissance du pathosystème *Malus – Venturia inaequalis* et des facteurs qui l'influencent associée à l'expérience pratique de partenaires de Raison'Alpes a permis de concevoir une méthode d'inoculation de tavelure en verger de pommiers. Cette méthode repose sur la pulvérisation d'une suspension de conidies d'une souche unique de *V. inaequalis* sur des pousses en croissance, tout en assurant un contexte contaminant. Afin de l'évaluer en pratique et de l'optimiser, elle a été expérimentée sur une parcelle de pommiers en intégrant l'étude de l'influence de différents facteurs sur l'incidence de la maladie.

### A. Site expérimental

L'essai a été mis en place sur une parcelle de pommiers 'Golden Delicious' en franc de pied située sur le plateau du Soleilhet, à 5km au nord-est de la ville de Sisteron (France, 04). Cette parcelle a été plantée en 1998 et représente une surface d'environ 1500 m<sup>2</sup>. Elle compte huit rangées de dix à douze arbres orientées Nord-Est - Sud-Ouest, avec un écartement de 5,9 m entre les rangs et de 3,05 m sur le rang. Quatre rangées vides (environ 24 m) la séparent de la parcelle de pommiers voisine et un canal la délimite au Sud-Ouest. Elle est également bordée par une haie de chênes pédonculés (*Quercus robur* L., 1753) au Nord-Est et au Nord-Ouest (Annexe 2). Cette parcelle n'a subi aucune intervention culturale depuis la récolte de 2017. Outre son relatif isolement, cette parcelle a été choisie pour son historique de faible pression en tavelure.

### B. Facteurs étudiés et plan d'expérimentation

#### a Découpage de la parcelle expérimentale

La taille de la parcelle permet un découpage en vingt unités expérimentales (ou parcelles élémentaires) de quatre arbres, constituées de deux arbres de garde encadrant deux arbres centraux. La taille des parcelles élémentaires est déterminée de manière à avoir suffisamment de matériel végétal pour les notations. Les arbres de garde permettent la séparation physique des unités expérimentales, et donc des différents traitements correspondant aux modalités testées. Etant à l'interface entre deux unités expérimentales, ils peuvent subir les effets des traitements des deux unités adjacentes de manière plus ou moins importante, et ne font donc pas l'objet de notations. Dans cet essai, seuls les arbres centraux seront inoculés. Du fait de la longueur des rangs, et de la faible dérive de la pulvérisation, certains arbres de garde sont communs à deux parcelles élémentaires.

Ce type de dispositif micro-parcellaire repose sur l'hypothèse que la dissémination des conidies est limitée, au moins dans les premiers temps, et que les arbres centraux des parcelles élémentaires sont ainsi suffisamment isolés des autres unités inoculées.



**Tableau 1.** Synthèse des modalités de l'essai

Modalité	Nombre de pousses inoculées	Stade	Inoculum
1 (témoin non inoculé)	/	/	/
2	2	Rosette	Moyen
3	4	Rosette	Moyen
4	2	Rosette	Elevé
5	2	Pousse de bourse	Moyen

### **b Facteurs expérimentaux étudiés**

Pour répondre à l'objectif de maîtrise de la contamination de tavelure d'une parcelle de pommiers, et en prenant en compte la taille de la parcelle expérimentale, trois facteurs expérimentaux, chacun subdivisé en deux niveaux, sont étudiés.

En premier lieu, l'influence du stade phénologique sur la contamination de la parcelle sera considérée. Les feuilles de rosettes sont les premières feuilles à se développer après le débourrement. Une contamination artificielle sur rosette, dès le début du stade sensible, favoriserait une pression homogène d'un niveau suffisant assez rapidement dans la saison, et donc un contexte optimal pour le déroulement d'essais de méthodes de gestion de la tavelure. L'inoculation sur rosettes en développement constitue donc le premier niveau testé de ce premier facteur. Le deuxième niveau choisi correspond à l'inoculation sur pousses de bourse en croissance. Les pousses de bourse se développent plus tard, et sont supposées être en croissance sur une période plus longue que la rosette. Ce niveau représente donc un intérêt dans la souplesse du positionnement de l'inoculation.

Le deuxième facteur étudié est la quantité d'inoculum. Ce facteur se matérialise par la quantité de conidies apportée sur les feuilles. Deux quantités seront testées sous la forme de deux suspensions de spores de concentrations différentes : une correspondant approximativement à un inoculum réaliste en verger selon Hartman et al. (1999) et une matérialisant une quantité dix fois plus importante. Enfin, l'impact du nombre de foyers inoculés sur la contamination globale de la parcelle sera étudié. Dès lors, cinq modalités peuvent être définies et sont présentées dans le tableau 1. La modalité 1, ou témoin non inoculé, permet d'évaluer la pression de tavelure sur la parcelle expérimentale tout au long de l'essai.

### **c Définition du plan d'expérimentation**

La parcelle étant subdivisible en vingt unités expérimentales de quatre arbres, les cinq modalités de l'essai sont répétées quatre fois. Etant donné sa petite surface, la parcelle expérimentale est supposée homogène dans ses caractéristiques et son microclimat. Le dispositif expérimental est ainsi choisi en randomisation totale. L'attribution aléatoire des modalités aux parcelles élémentaires est effectuée à l'aide du logiciel StatBox. Le plan de l'essai est donné en annexe 3.

## **C. Suivis préalables à l'inoculation**

### **a Suivis de pousse et de stade**

Un suivi du stade de développement des pommiers de la parcelle expérimentale est réalisé de manière à connaître le début de la période de sensibilité du pommier à la tavelure (stade BBCH 53) et ainsi positionner l'inoculation sur rosette. A partir du stade BBCH 59, correspondant au début du développement de la pousse de bourse, un suivi de pousse est réalisé chaque semaine jusqu'à la fin de leur développement. Le suivi du développement des pousses permet d'une part de positionner l'inoculation sur pousse de bourse, et d'autre part d'estimer la date de contamination correspondant à l'apparition d'une tache sur une feuille. Vingt pousses à fruits ont été marquées sur la modalité témoin non inoculée. Seules les feuilles de la pousse de bourse sont dénombrées.

### **b Couverture fongicide des contaminations naturelles**

Malgré la faible pression en tavelure observée les années précédentes sur la parcelle, aucune mesure prophylactique n'a été réalisée à l'automne. La présence d'un inoculum dans les feuilles sèches sur le sol de la parcelle est donc possible et le risque d'une contamination issue de cet inoculum n'est pas nul. Afin de faciliter l'interprétation des observations de tavelure, il est choisi de limiter au maximum les contaminations naturelles en positionnant des traitements de couverture lorsque le risque de contamination est important. La durée d'efficacité des produits doit être prise en compte pour positionner les inoculations afin de ne pas risquer d'affecter la contamination. Le logiciel RIMpro est utilisé pour prédire les périodes à risque

pour la contamination naturelle, à partir des données météorologiques d'une station météorologique positionnée à Ribiers (05). Si le risque de contamination sur la parcelle expérimentale est jugé élevé, un traitement fongicide est positionné.

### c Autres traitements

Les attaques de pucerons sur pommiers, notamment de pucerons lanigères (*Eriosoma lanigerum*) et cendrés (*Dysaphis plantaginea*), engendrent une déformation des feuilles, voire une défoliation, pouvant nuire à l'observation des symptômes de tavelure. Deux traitements anti-pucerons sont positionnés préventivement avant et après floraison.

## D. Méthode de contamination artificielle d'une parcelle de pommiers

La méthodologie d'inoculation expérimentée consiste à pulvériser une suspension de conidies d'une souche unique sur des pousses en croissance, en assurant un contexte contaminant.

### a Préparation de l'inoculum

#### i. **Utilisation d'une souche unique de *Venturia inaequalis***

L'inoculum utilisé correspond à des conidies de la souche 104 de *V. inaequalis*, fourni par l'INRA d'Angers sous la forme de feuilles tavelées séchées. Cette souche a été récoltée le 1<sup>er</sup> juin 1978 à Saint Lézin (49) sur des pommiers de variété 'Golden Delicious'. Elle est virulente vis-à-vis du gène de résistance majeur Rvi1 (Vg) présent dans la variété 'Golden Delicious' (Caffier 2015), et aucune résistance aux fongicides n'est connue (Caffier, *communication personnelle*). L'utilisation d'une souche connue et non d'un inoculum issu d'une parcelle locale vise à ne pas accroître les risques de résistance aux fongicides. En effet, la préparation d'un inoculum issu de feuilles tavelées locales nécessiterait de collecter les feuilles l'année précédant la mise en place des essais. Or les parcelles expérimentales étant des parcelles de producteurs, elles varient selon les années. Dès lors, l'utilisation de feuilles tavelées issues d'autres parcelles risquerait d'introduire un inoculum potentiellement différent, pouvant ainsi favoriser l'apparition ou induire l'introduction de souches résistantes à certains fongicides.

#### ii. **Préparation des suspensions de spores**

La préparation des suspensions de spores est effectuée au maximum trois heures avant l'inoculation. Dans le cadre de l'expérimentation de la méthode, trois suspensions de spores sont à prévoir :

- deux suspensions de deux concentrations différentes pour l'inoculation sur rosette,
- une suspension pour l'inoculation sur pousse de bourse, dont la concentration doit être semblable à celle de la suspension la moins concentrée de l'inoculation sur rosettes.

De l'eau de Volvic est utilisée dans la préparation des suspensions pour sa teneur en cuivre quasi-nulle (< 0,0023 mg/100g) [5]. Les quantités d'eau et de feuilles à utiliser pour ces préparations sont basées sur celles choisies par un partenaire prestataire en expérimentation dans le cadre d'une inoculation similaire sur un verger âgé. Les feuilles tavelées ont été reçues une semaine avant la première date d'inoculation. Elles ont été conservées dans un placard à température ambiante, dans un sachet congélation fermé hermétiquement jusqu'à la première inoculation, puis au congélateur jusqu'à la deuxième inoculation. Dans ce dernier cas, les feuilles sont sorties à température ambiante 15 minutes avant le début de la préparation de la suspension.

Le protocole détaillé est présenté en annexe 4. Il se résume en cinq étapes :

- Broyage des feuilles tavelées et mélange du broyat avec de l'eau
- Infusion de la préparation pendant une à deux heures au réfrigérateur afin de favoriser le décrochage de l'ensemble des conidies des feuilles
- Filtration de la préparation
- Mesure de la concentration en spores de la suspension obtenue à l'aide de la cellule de Malassez

- Réalisation d'une dilution pour obtenir la suspension moins concentrée dans le cas de la première inoculation, ou pour obtenir la concentration désirée dans le cas de la deuxième inoculation

Dans les deux cas, les suspensions sont conservées au réfrigérateur afin de ralentir le processus d'infection au maximum avant la pulvérisation.

#### **b Inoculation de la parcelle expérimentale**

L'inoculation consiste à pulvériser la suspension sur les feuilles sensibles.

##### ***i. Humidification de la parcelle et choix du moment de l'inoculation***

Les inoculations doivent être positionnées dans la mesure du possible en dehors des périodes à risque pour les contaminations issues de l'inoculum de la parcelle. La planification des inoculations s'appuiera sur les prévisions météorologiques données par le site météociel.fr. En cas de journées ventées et /ou avec des températures dépassant les 20 °C, il est préférable de positionner l'inoculation en fin de journée. Afin de créer un contexte humide propice à l'infection, 16 mm d'eau sont apportés à la parcelle avant l'inoculation, ce qui correspond à 4h d'irrigation par aspersion sur frondaison.



**Figure 7.** Pulvérisation de la suspension de spores



**Figure 8.** Pousse ensachée après inoculation

## **ii. Application des suspensions de spores**

Une station munie de capteurs de température, d'hygrométrie et d'humectation est installée sur la parcelle expérimentale. L'humectation foliaire est donnée en pourcentages : 0% signifie que le capteur est sec, en dessous de 5 % qu'il y a quelques gouttes d'eau, et au-delà de 5% qu'il y a beaucoup de gouttes sur le capteur. Plus le pourcentage est élevé, plus le capteur est recouvert d'eau (échelle d'interprétation donnée par le fournisseur de la station). N'étant pas une station connectée, il est nécessaire de récupérer la carte mémoire du système pour accéder aux données.

Le protocole détaillé est présenté en annexe 5. Il se résume en quatre étapes principales :

- La première étape consiste à identifier les pousses à inoculer. Pour l'inoculation sur rosettes, les pousses choisies ne doivent pas avoir commencé à développer une pousse de bourse. Pour l'inoculation sur pousses de bourses, les pousses choisies doivent avoir un niveau de développement similaire et être en croissance active. Le nombre de feuilles de chacune des pousses de bourse à inoculer est noté avant l'inoculation.
- La deuxième étape consiste en l'inoculation des pousses (Figure 7). Chaque pousse est pulvérisée pendant cinq secondes, de façon que la suspension ruisselle sur les feuilles. L'ensemble des feuilles de rosettes ou la totalité de la pousse de bourse doit être recouvert(e) de la suspension. Le capteur d'humectation de la station météorologique doit être inoculé de la même manière que les pousses.
- Immédiatement après pulvérisation, chaque pousse doit être ensachée le plus hermétiquement possible, de même que le capteur d'humectation, à l'aide de sacs de congélation et de liens (Figure 8).

## **iii. Désensachage des pousses inoculées**

Les sachets sont enlevés au bout d'une durée établies à partir des prévisions de température données par le modèle WRF sur la commune de Ribiers et selon les courbes de Mills pour la contamination secondaire. Les critères de Mills tendent à surestimer la durée réelle indispensable à l'infection (Mac Hardy et Gadoury, 1989). En théorie, en s'appuyant sur ce système, la durée d'ensachage est plus que suffisante.

## **iv. Etude du taux de germination de l'inoculum**

Après application des suspensions, le reliquat est conservé dans une bouteille et laissé sur la parcelle. Après le désensachage des pousses, la proportion de spores qui ont germé dans la suspension la plus concentrée est établie à l'aide de la cellule de Malassez.

### **c Dispersion de l'infection**

Lorsque les taches issues de l'inoculation sont sorties et bien développées, une fois la période de contaminations primaires terminée, trois irrigations contaminantes sont positionnées avec une cadence de sept jours. Elles ont pour objectif de favoriser le repiquage et la dispersion de la contamination. La durée d'irrigation est choisie selon les critères de Mills et les conditions météorologiques (température, pluviométrie) prévisionnelles données par le site de métociel.fr pour Ribiers.

## **E. Méthodologie de l'évaluation de la contamination**

Les observations sont faites sur les deux arbres centraux des parcelles élémentaires.

### **a Suivis et notations de la tavelure sur feuilles**

Deux semaines après chaque inoculation, une première observation rapide de l'ensemble des pousses inoculées est effectuée. Tant que les symptômes ne sont pas visibles et bien développés, un suivi est fait chaque semaine. Une première notation sur pousses inoculées est réalisée lorsque les taches sont bien visibles. La proportion de surface tavelée par feuille ou le nombre de taches par feuille seront considérés selon le niveau d'infection.

Sur l'ensemble des parcelles élémentaires ayant été inoculées, un suivi de sorties de taches est fait chaque semaine après l'apparition de symptômes sur les pousses inoculées. Ce suivi consiste à regarder globalement les arbres, en insistant autour des pousses inoculées. Dès que des symptômes sont observés à un niveau jugé significatif, une première notation est effectuée. La méthode de notation est la suivante :

- Dix pousses à bois et dix pousses à fruits sont observées sur l'une des modalités ayant été inoculées de façon à noter les principaux étages infectés. La notation globale portera uniquement sur le type de pousse le plus infecté. Seuls les étages retenus seront observés dans la notation globale.
- Sur chacune des parcelles élémentaires ayant été inoculées, 200 feuilles seront observées, uniquement sur les étages et le type de pousse. Le nombre de taches ou la surface foliaire infectée est notée selon la sévérité de l'infection.

La notation de M1 (témoin non inoculé) permet d'évaluer le niveau d'infection de la parcelle issu de contaminations naturelles. La notation des autres modalités permet d'évaluer l'infection globale des parcelles élémentaires, résultant de l'inoculation et de contaminations naturelles éventuelles. L'évaluation de la contamination porte sur la fréquence des feuilles infectées, et l'intensité de l'infection.

#### **b Suivis et notation de la tavelure sur fruits**

Une observation sur fruits développés est positionnée après le stade BBCH 77, lorsque les fruits ont atteint leur taille définitive. Elle est réalisée sur 200 fruits par parcelle élémentaire répartis selon la grille suivante :

- 0 : fruits indemnes de tavelure
- 1 : 1 à 3 taches
- 2 : supérieur à 3 taches.

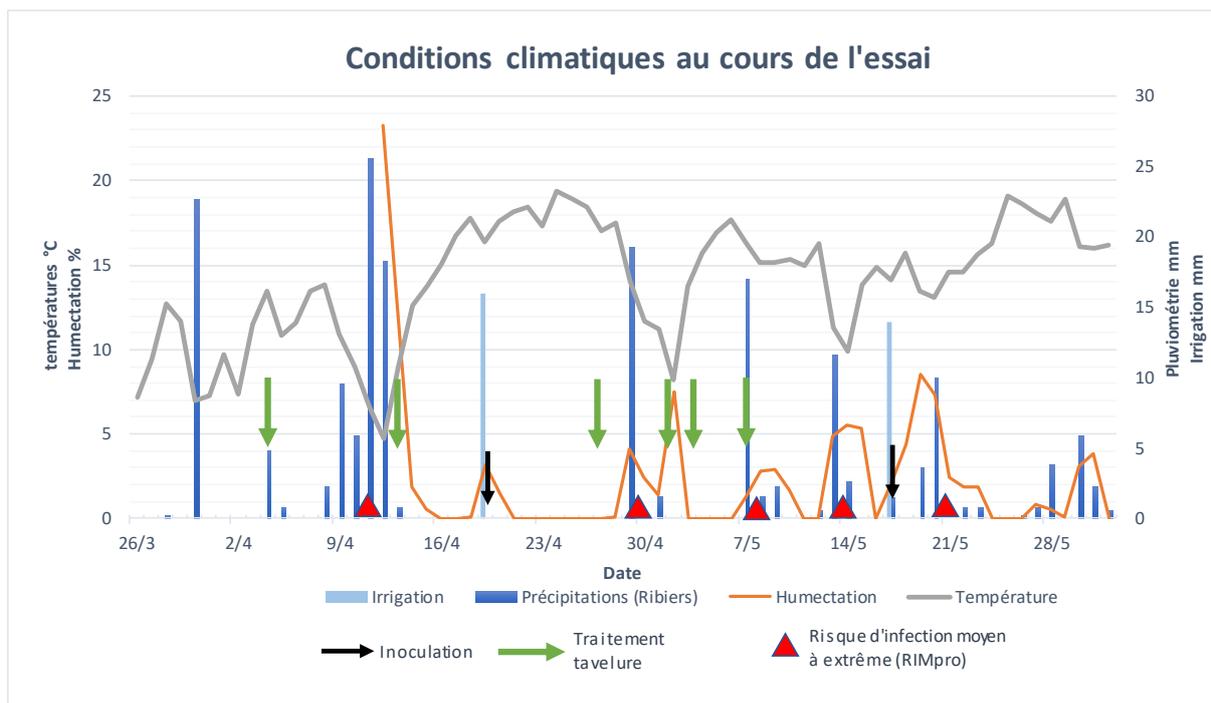
#### **c Analyses statistiques des variables et interprétation des résultats**

Quatre variables sont mesurées à partir des observations :

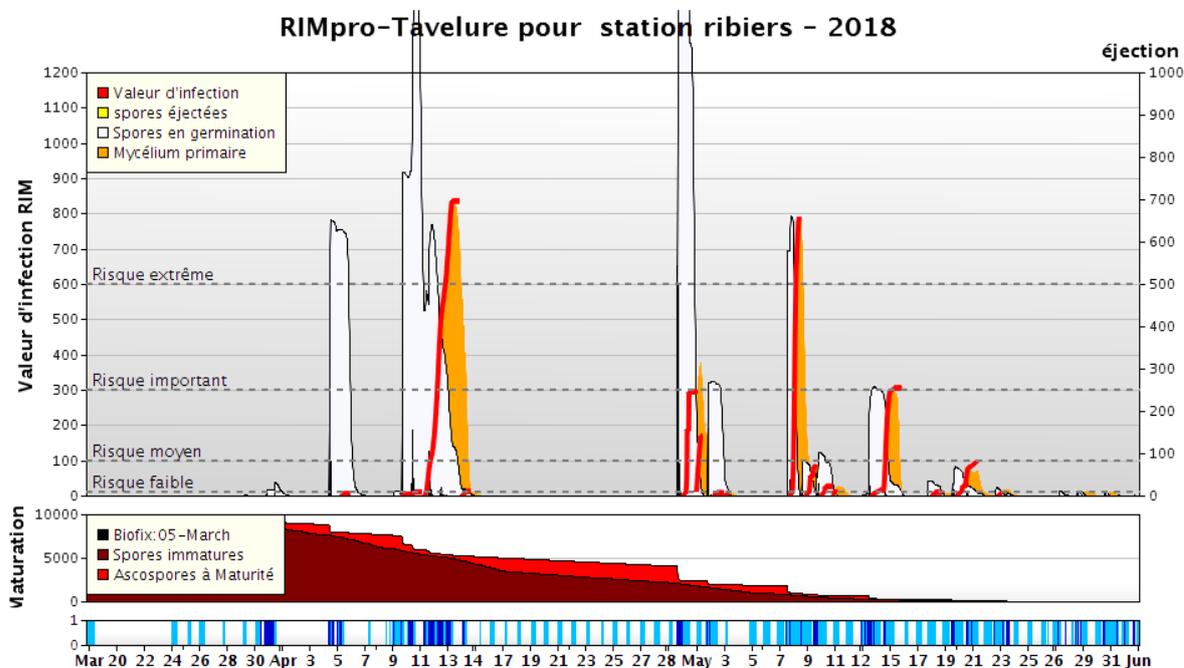
- Pourcentage de feuilles tavelées
- Pourcentage de fruits tavelés
- Nombre de taches sur 100 feuilles, ou la proportion moyenne de surface tavelée par feuille
- Classe moyenne d'infection des fruits

Après une transformation éventuelle, les variables sont soumises à une analyse de variances pouvant être suivie d'un test de Newman et Keuls pour comparer les modalités entre elles.





**Figure 9.** Graphique des conditions climatiques (données CIRAME Ribiers jusqu'au 10 avril, puis données station de la parcelle expérimentale)



**Figure 10.** Graphique RIMpro de l'évolution du risque d'infection correspondant aux données météorologiques de la station de Ribiers (source: [www.RIMpro.eu](http://www.RIMpro.eu))

### III. Résultats

#### A. Risques de contamination naturelle

##### a Contexte contaminant

La Figure 9 présente les conditions météorologiques de la parcelle expérimentale sur la durée de l'essai. L'humectation foliaire et la température ont été mesurées à partir du 12 avril par la station mise en place sur la parcelle. La température et l'humidité relative moyennes données à partir du 12 avril par la station de Ribiers sont semblables à celles mesurées par la station de la parcelle expérimentale (données non présentées). Les données de température antérieures au 12 avril sont donc prélevées sur la station CIRAME de Ribiers, tout comme la pluviométrie sur toute la durée de l'essai et il n'y a pas de données d'humectation avant le 12 avril. L'évaluation du risque de contamination primaire de la parcelle expérimentale par le logiciel RIMpro est donnée en Figure 10. Le détail des données climatiques sur toute la durée de l'essai est donné en annexe 6.

Près de vingt-sept épisodes pluvieux ont été recensés à Ribiers entre le 31 mars et le 1<sup>er</sup> juillet. Cinq d'entre eux ont dépassé les 10 mm, dont un a atteint les 23 mm le 12 avril.

La période de contaminations primaires s'étend de la fin du mois de mars, à partir du moment où les ascospores sont arrivées à maturité, jusqu'au 22 mai, dernière phase avec une valeur d'infection (VI) significative (VI = 100, seuil de risque moyen atteint) et fin du stock d'ascospores. Sur cette période :

- Deux périodes pluvieuses présentent un risque extrême avec une valeur d'infection autour de 800 (11 – 13 avril et 8 mai)
- Deux périodes pluvieuses atteignent le seuil de risque important (VI = 300) (30 mai, immédiatement suivi un risque moyen à une valeur d'infection de 170, et 15 juin)
- Deux périodes pluvieuses atteignent le seuil de risque moyen (VI = 100)
- Quatre épisodes présentent un risque faible : les deux premiers du fait de la période de risque extrême qui les a précédés épuisant le stock d'ascospores matures, les deux derniers du fait de l'épuisement du stock d'ascospores immatures.

**Tableau 2.** Programme des traitements anti-tavelure

Traitement	T1	T2		T3		T4	T5
Date	04/04	13/04		27/04		02/05	07/05
Stade BBCH	54	57		65		69	71
Cadence		T1 + 9 jours		T2 + 14 jours		T3 + 5 jours	T4 + 5 jours
Produits	Syllit	Chorus	Trimanoc DG	Ordoval	Sercadis	Sigma DG	Delan Pro
Composition	Dodine 400g/l	Cyprodinil 50%	Mancozèbe 750 g/kg	Thirame 800g/kg	Fluxapyroxad 26,5 % Alkylnaphthalène sulfonate de Na < 5%	Captane 80%	Dithianon <15% Phosphonic acide <40%
Doses appliquées	1,69 l/ha	0,045 kg/hl	2,15 kg/ha	2,5 kg/ha	0,3 l/ha	1,8 kg/ha	2,5 l/ha

### b Couverture phytosanitaire des périodes à risque

Cinq traitements de couverture anti-tavelure ont été effectués entre le 4 avril et le 7 mai (**Tableau 2**). Deux ont été faits avant la première inoculation : un 15 jours avant et l'autre 6 jours avant. Un troisième traitement a été fait 8 jours après l'inoculation sur rosettes, et deux autres avant l'inoculation sur pousse de bourses (15 et 10 jours avant).

Deux traitements préventifs contre les pucerons ont été effectués : le premier au stade ballonnet, et le second en fin de floraison (Annexe 7).

## B. Mise en œuvre des inoculations

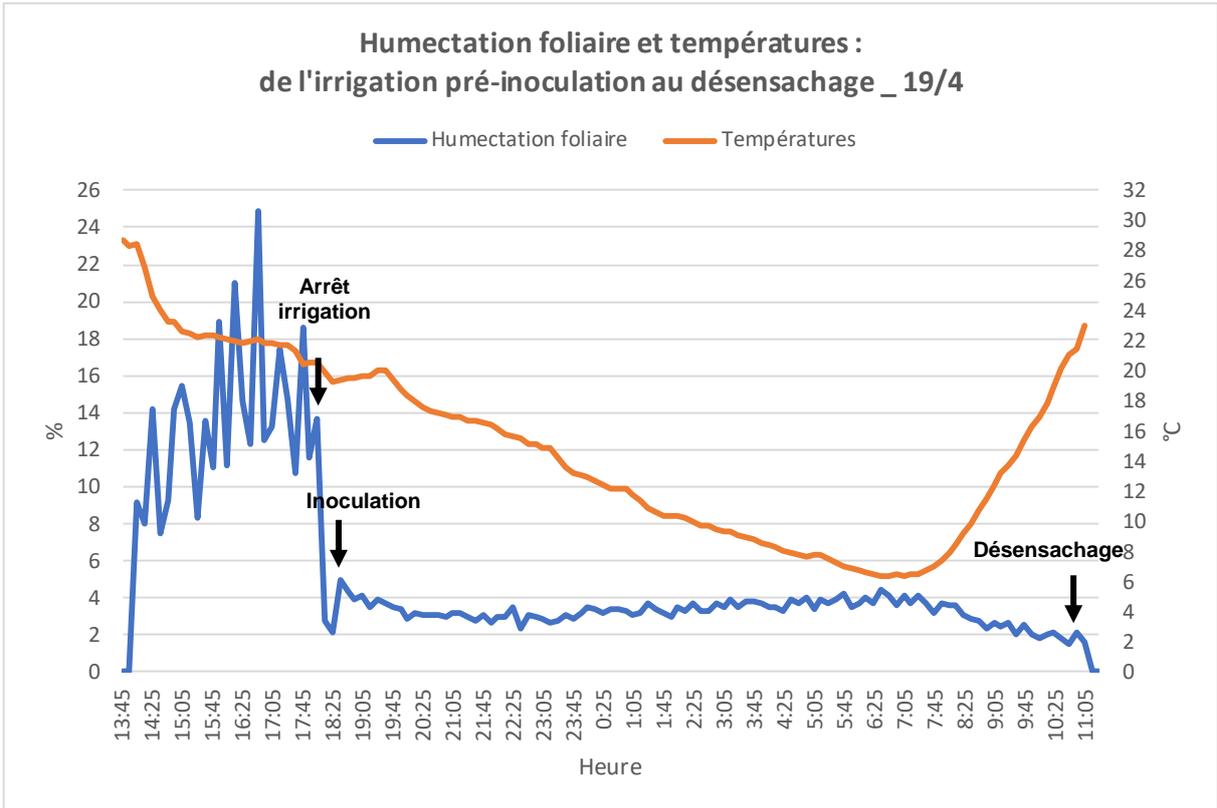
### a Préparation des suspensions de spores

#### *i. Inoculation sur rosette*

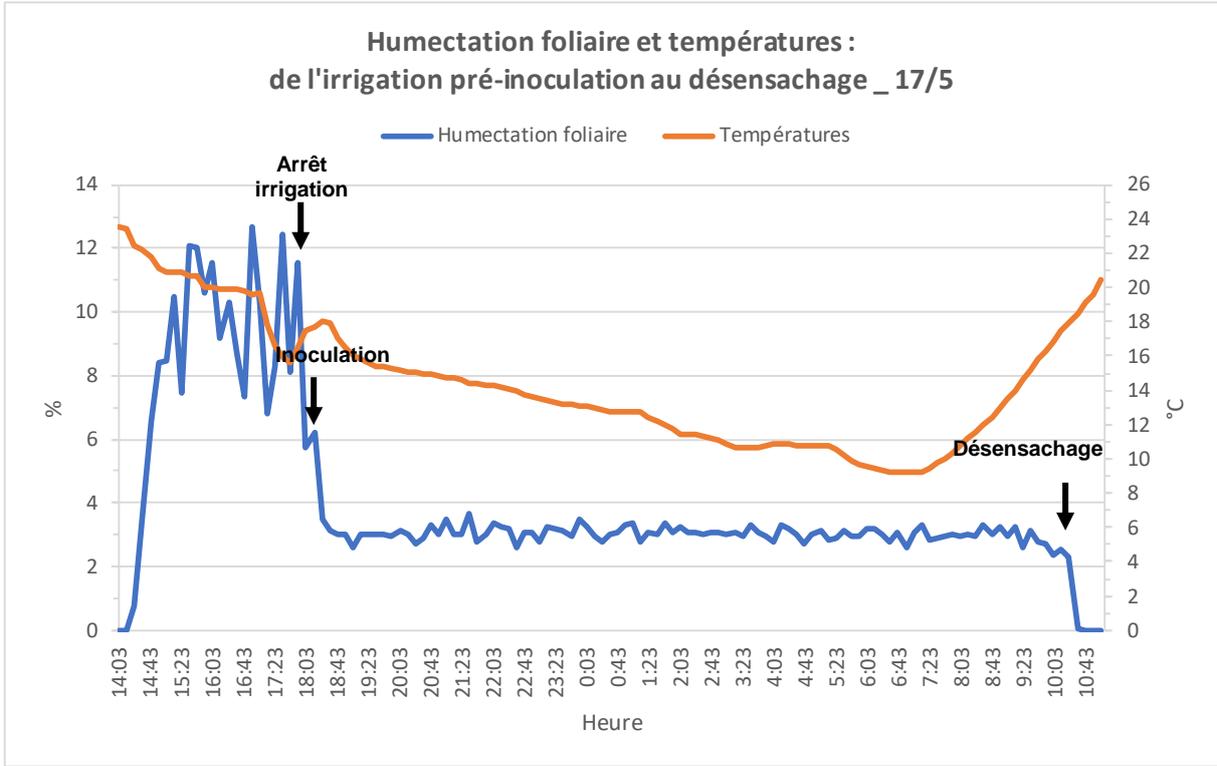
Les feuilles tavelées étaient à température ambiante lors de leur utilisation. La préparation des suspensions a débuté deux heures avant le début des applications. La suspension mère présentait une concentration de  $1,77.10^5$  conidies/ml.

#### *ii. Inoculation sur pousse de bourse*

Les feuilles tavelées ont été sorties du congélateur 15 minutes avant la préparation des suspensions. La préparation de la suspension a débuté deux heures avant le début des applications. La suspension mère présentait une concentration de  $1,78.10^5$  conidies/ml.



**Figure 11.** Conditions de températures et d'humectation foliaire de l'aspersion pré-inoculation au désensachage - 19-20 avril



**Figure 12.** Conditions de températures et d'humectation foliaire de l'aspersion pré-inoculation au désensachage - 17-18 mai

## b Cadence et conditions des inoculations

L'inoculation sur rosette a été faite le 19 avril 2018, au stade BBCH 59 (ballonnet), entre 18h et 18h45. Cette manipulation a été effectuée sous une température moyenne de 19,7°C avec une très légère brise (vitesse non mesurée). Un apport de 16 mm d'eau a été fait avant l'inoculation : l'irrigation a été déclenchée à 14h et arrêtée à 18h. L'humectation foliaire a été divisée par six au cours des dix minutes suivant l'arrêt de l'irrigation : de 13,70 % à 18h05 elle est tombée à 2,70 % à 18h15. Le capteur d'humectation a reçu la suspension et été ensaché de la même manière que les pousses étudiées à 18h35, remontant ainsi l'humectation foliaire à 4,94% (Figure 11).

L'inoculation sur pousse de bourse a eu lieu le 17 mai au stade BBCH 71 (nouaison) entre 18h00 et 18h15, avec une température moyenne de 17,7°C et sous une très légère brise (vitesse non mesurée). Pour cette deuxième inoculation, seuls 14 mm d'eau ont été apportés avant l'inoculation, à cause d'un dysfonctionnement du système d'irrigation. Le capteur d'humectation a été ensaché de la même manière que les pousses étudiées à 18h13 (Figure 12).

## c Désensachage des pousses

### i. Inoculation sur rosette

Entre 19h le 19/4 et 10h le 20/4, la température moyenne était estimée à 10,4°C par le modèle AROME du site météo.ciel.fr, puis mesurée à 12,4°C par la station. Le désensachage a été fait à 11h le 20/4, soit plus de 15h après inoculation. D'après la table de Mills, une durée d'humectation d'environ 7,5h était nécessaire à la contamination. L'humectation n'a pas été interrompue entre l'inoculation et le désensachage, et l'humectation foliaire moyenne sur toute cette période était de 3,20 % (écart-type 0,6%) (Figure 11).

### ii. Inoculation sur pousses de bourse

Entre 19h le 17/5 et 10h le 18/5, la température moyenne était estimée à 11°C par le modèle AROME, et mesurée à 12,5°C par la station. Le désensachage a été fait à 10h25 le 18/5, soit plus de 15h après inoculation. D'après la table de Mills, une durée d'humectation d'environ 7,5h était nécessaire à la contamination. L'humectation n'a pas été interrompue entre l'inoculation et le désensachage, et était stable autour d'une moyenne de 3,02% (écart-type 0,48%) (Figure 12).

Le détail des données climatiques entre l'irrigation pré-inoculation et le désensachage pour chaque inoculation est donné en annexes 8 et 9.

## d Taux de germination des conidies

### i. Inoculation sur rosette

Après inoculation, le reste de la suspension la plus concentrée est resté sur la parcelle expérimentale jusqu'au désensachage et a été analysé 30 minutes après la fin du désensachage. 87 % des spores de la suspension avaient germé.

### ii. Inoculation sur pousses de bourse

Après inoculation, un échantillon de la suspension mère est resté sur la parcelle expérimentale jusqu'au désensachage. Seules 3% des spores avaient germé.

## C. Résultats des observations

### a Développement des pousses de bourse

#### ***i. Suivi de pousses la modalité non inoculée***

Lors de la première observation, le lendemain de l'inoculation sur rosette, 70% des pousses à fruits avaient la première feuille de leur pousse de bourse déroulée ou en train de se dérouler. Cela correspond à un étage moyen de 0,8 sur l'ensemble des pousses (écart-type 0,5). Lors de la dernière observation, le lendemain de la deuxième inoculation, les pousses de bourses atteignaient en moyenne l'étage 7,7 (écart-type 2,1), ce qui signifie qu'en moyenne la huitième feuille était en train de se dérouler. Un faible nombre en était à leur douzième feuille, trois des pousses observées n'avaient plus d'apex et se sont arrêtés à 4 ou 5 feuilles. Le développement des pousses marquées touchait à sa fin. Le détail du suivi de pousses est présenté en annexe 10.

#### ***ii. Notation du développement des pousses à inoculer***

Les pousses à inoculer au stade rosette n'avaient pour la plupart pas initié le développement de la première feuille de la pousse de bourse, excepté pour trois d'entre elles. Les pousses à inoculer sur pousse de bourse étaient en train de dérouler ou avaient déroulé la huitième feuille.

### b Tavelure sur feuilles

#### ***i. Infection des pousses inoculées***

Trois semaines après la première inoculation, une pousse de la modalité 2 (quatre pousses inoculées sur rosettes à concentration moyenne) présentait une tache de tavelure sur une feuille de rosette. Aucune autre éclosion n'a eu lieu par la suite. Sur la modalité 4, correspondant à l'inoculation de deux pousses de bourse par parcelle élémentaire, deux répétitions sur les quatre de la modalité ont développé des symptômes sur les pousses inoculées. Ces symptômes sont apparus au cours de la troisième semaine suivant l'inoculation. Sur l'une de ces parcelles élémentaires, les deux pousses inoculées ont été infectées, l'une sur les étages 8 et 9, l'autre sur les étages 7 et 9. Sur l'autre parcelle élémentaire, seule l'une des deux pousses a été infectée, et ce sont les étages 8 à 10 qui ont été atteints. En termes d'intensité, entre une et trois taches par feuille ont été observées. Aucune autre éclosion n'a eu lieu par la suite. Le détail du développement de tavelure sur pousses inoculées est présenté en annexe 11, et les analyses statistiques en annexe 13.



**Tableau 3.** Evaluation de l'infection sur la parcelle expérimentale (Source personnelle)

Modalité	% feuilles infectées	Nb de taches / 100 feuilles
M1	19	113
M2	16	83
M3	24	143
M4	12	60
M5	18	106
Moyenne	17	99
p-value (%)	67,5	76,4

### **ii. Infection globale de la parcelle expérimentale**

Sur les parcelles élémentaires qui n'ont pas été inoculées (modalité 1), les premières taches de tavelure sur feuilles ont commencé à se développer à la fin du mois de mai. Une notation globale a été effectuée le 22 juin. Sur dix pousses à fruits non inoculées observées sur l'ensemble modalité 3 (inoculation sur rosettes, inoculum élevé), quatre présentaient des symptômes de tavelure sur feuilles et l'infection concernait les étages foliaires 3 à 6, 8 et 10. Une notation globale de l'infection de tavelure sur la parcelle expérimentale a été faite le 22 juin. Les taches se distinguaient sur les feuilles les plus infectées, c'est donc le nombre de taches par feuille qui a été mesuré pour l'intensité.

La fréquence et l'intensité d'infection sur la parcelle expérimentale au 22 juin sont présentées dans le tableau 3. Sur la modalité non inoculée, 19 % des feuilles observées étaient infectées, avec une intensité moyenne de 113 taches pour 100 feuilles. L'analyse de variance sur les deux variables étudiées montre avec un risque de 5% qu'il n'y a pas d'effet significatif des différentes modalités sur le développement de tavelure : pour la fréquence, la p-valeur est à 67%, pour l'intensité elle s'élève 76%. La contamination de la parcelle peut être considérée comme homogène. En moyenne 17 % des feuilles sont infectées, avec une tache par feuille. Le détail des observations par parcelle élémentaire est présenté en annexe 12.

### **D. Temps de travail**

La préparation d'une suspension de spores comprenant une dilution et deux répétitions de détermination de la concentration a nécessité environ une heure de travail cumulé, répartie sur deux périodes (avant – après repos de la suspension). La première, consistant à mélanger les feuilles tavelées avec l'eau, a pris environ 15 minutes, et la deuxième (filtration, dilution et détermination des concentrations) 45 minutes. La gestion de l'irrigation, à savoir l'ouverture et la fermeture des vannes de la parcelle expérimentale et de celles de la parcelle voisine, a nécessité environ 40 minutes. L'inoculation de 32 pousses a été effectuée par deux personnes pour une heure et demie de travail effectif. Le désensachage a été fait en une dizaine de minutes. Au total, la première inoculation a nécessité près de 3h30 de travail. Pour la deuxième inoculation, le nombre de pousses était quatre fois moins important et la technique davantage maîtrisée. Elle a nécessité 2h45 de travail.

## IV. Discussion

La méthode de contamination artificielle de tavelure établie repose sur l'application d'une suspension de conidies sur des pousses en croissance. Elle a été expérimentée sur une parcelle de pommiers âgés d'une vingtaine d'année, dans l'objectif de l'optimiser. Trois facteurs supposés avoir une incidence sur le développement de la maladie ont été considérés dans cet essai : la concentration de la suspension appliquée, le stade de développement des pousses, et le nombre de pousses inoculées.

### A. Développement de tavelure

#### a Une quasi-absence de symptômes sur les rosettes inoculées

##### *i. Conditions d'inoculation*

Presqu'aucun développement de tavelure n'a été observé sur les pousses inoculées sur rosettes. Seule une pousse montrait une tache unique. L'inoculation sur rosette a donc été un échec. La viabilité des spores n'est pas en cause puisque près de 87% des conidies ont germé dans l'échantillon de suspension. Au moment de l'inoculation, les conditions climatiques de la parcelle étaient humides et douces, donc semblaient plutôt favorables à la contamination. L'humectation foliaire n'a pas été interrompue entre l'ensachage et le désensachage du capteur et son niveau inférieur à 5% indique que la surface foliaire des pousses inoculées est restée couverte de quelques gouttes de suspension tout au long de cette période d'infection. La durée de cette période d'humectation continue est deux fois plus longue que celle donnée par le système de Mills, lui-même considéré comme surestimant la durée réelle nécessaire à l'infection (Mac Hardy et Gadoury, 1989). Sur chaque pousse inoculée, une grande quantité de conidies a été pulvérisée. Cependant, une part de la suspension apportée n'a pas atteint ou n'est pas restée sur la surface foliaire. Au vu des concentrations des suspensions et du volume pulvérisé, et en considérant que le processus d'adhésion des spores est immédiat après contact sur la surface humide de la feuille (Schumacher et al. 2008), il est très probable qu'une certaine quantité de conidies ait tout de même été interceptée par la feuille.

##### *ii. Sensibilité des feuilles de rosette au moment de l'inoculation*

Une autre hypothèse susceptible d'expliquer la quasi-absence de symptômes sur les rosettes inoculées concerne le stade de développement des pousses au moment de l'inoculation. Elles ont en effet été inoculées au stade BBCH 59 (ballonnet), peu de temps avant le début du développement de la pousse de bourse. Les feuilles de rosettes commencent à se développer à partir du stade BBCH 53 (éclatement des bourgeons), et il est couramment admis qu'elles deviennent sensibles à la tavelure à partir du stade BBCH 54 (ou oreilles de souris), lorsque que les premières feuilles se séparent. Sur la parcelle expérimentale, ce stade d'éclatement des bourgeons a été atteint la première semaine du mois d'avril, soit environ deux semaines avant l'inoculation. La durée de la phase de croissance et de la période de sensibilité des feuilles est assez floue. Il peut donc être supposé que les feuilles de rosettes, déjà bien développées au moment de l'inoculation, étaient devenues résistantes.

##### *iii. Couverture fongicide des épisodes de contamination naturelle*

L'hypothèse la plus probable expliquant l'échec de l'infection concerne le traitement de couverture du risque de contamination naturelle réalisé six jours avant l'inoculation. Un produit pénétrant à base de Cyprodinil (Chorus) associé à un produit de contact à base de Mancozèbe (Trimanoc DG) a été appliqué. Le premier, non lessivable a une préventivité de cinq jours, et le deuxième, résistant à un lessivage de 15 mm, a une préventivité de sept jours (Filleron 2016). Aucune pluie n'a eu lieu entre le traitement et l'inoculation, et seule l'irrigation de 16 mm précédant l'inoculation a pu lessiver le produit de contact. Concernant le produit pénétrant, sa durée de préventivité est uniquement liée à l'apparition de nouvelles feuilles. De ce fait, le jour de l'inoculation, les rosettes des pousses inoculées étaient probablement encore protégées contre l'infection de tavelure. Cependant, sur certaines pousses inoculées, la première feuille de la pousse de bourse était en train d'émerger le jour de l'inoculation. Elle n'était pas formée lors du traitement, donc n'était *a priori* pas protégée le jour de l'inoculation,

mais déjà sensible à l'infection (Schwabe 1979). Cependant, aucun symptôme ne s'est formé sur cette première feuille non plus (Annexe 11). Soit le lessivage lié à l'irrigation a redistribué le produit de contact protégeant ces quelques feuilles, soit l'absence de symptômes est due à une autre cause liée aux conditions climatiques ou à la suspension en elle-même. Une semaine après l'inoculation, un nouvel épisode contaminant a eu lieu. Il a été couvert par un fongicide pénétrant (Sercadis) associé à un fongicide de contact (Ordoval). Ces deux produits ont 24 h de curativité (Filleron 2016). Ainsi, si l'inoculation a fonctionné, le pathogène est à un stade avancé dans la colonisation de l'espace sous-cuticulaire et les produits ne sont plus en mesure de l'atteindre.

#### **b Quelques symptômes sur pousses de bourse probablement pas causés par l'inoculation**

Des symptômes de tavelure ont été observés sur trois des huit pousses inoculées au stade huit feuilles. Les étages foliaires atteints sont compris entre 7 et 10. Sur l'ensemble des pousses de bourses inoculées, trois feuilles montrant des symptômes de tavelure étaient déjà formées au moment de l'inoculation. Soit ces symptômes résultent bien de l'inoculation, mais une contamination naturelle a immédiatement succédé l'inoculation, soit la totalité des symptômes est due à une contamination naturelle.

##### ***i. Un épisode de contamination naturelle suivant l'inoculation***

En raison des pluies fréquentes au mois de mai et de contraintes organisationnelles, il a été compliqué de positionner l'inoculation sur pousse de bourse dans une période sans risque de contamination naturelle. Le dernier traitement de couverture anti-tavelure a été fait le 7 mai, soit 10 jours avant l'inoculation, avec un produit de contact et systémique à base de Dithianon (Delan Pro) ayant une préventivité de 10 jours et jusqu'à 40 mm de pluie (Filleron 2016). Les pousses inoculées étaient toutes actives au moment de l'inoculation, et les dernières feuilles formées n'étaient pas couvertes par le traitement. Près de 36 mm de pluie sont tombés entre ce traitement et l'inoculation. Dans les trois jours qui ont suivi l'inoculation, un épisode contaminant jugé à risque moyen par le modèle RIMpro a eu lieu. C'est probablement celui-là, qui est aussi le dernier de la période primaire, qui a contaminé la parcelle expérimentale, et qui est à l'origine de la contamination des pousses inoculées. Le niveau de risque moyen s'explique par la fin du stock d'ascospores éjectable, et justifierait le niveau d'infection global de la parcelle relativement peu important.

##### ***ii. Taux de germination de l'inoculum***

Contrairement à la première inoculation, la viabilité de l'inoculum est apparue très faible avec seulement 3% des spores de la suspension qui ont germé. Entre les deux inoculations, les feuilles tavelées utilisées dans la préparation des suspensions ont été conservées à - 18 °C dans un sachet hermétiquement fermé. L'inoculation sur pousses de bourse s'est déroulée dans des conditions similaires à celle sur rosettes, depuis l'application de la suspension jusqu'au désensachage. La seule différence entre l'inoculation sur rosette et l'inoculation sur pousse de bourse réside dans le mode de conservation des feuilles avant la préparation de la suspension. Une mesure du taux de germination supplémentaire a été réalisée à partir d'une suspension préparée avec un nouvel échantillon de feuilles tavelées sorties du congélateur quinze minutes avant. Le taux de germination observé était cette fois inférieur à 1%. La congélation des feuilles serait donc responsable de la faiblesse du taux de germination, et donc de l'échec de l'inoculation sur pousse de bourse. Cependant, il s'agit d'une technique utilisée dans la littérature (Lateur et al. 2000) et conseillée par l'INRA (Valérie Caffier, communication personnelle). Les causes exactes de cette chute du taux de germination ne sont donc pas déterminées.

## **B. Caractérisation de la mise en œuvre de la méthode**

### **a Reproductibilité de la méthode**

L'avantage majeur de cette méthode est qu'elle nécessite peu de matériel tout en exigeant peu de technicité dans sa mise en œuvre. Le temps de travail nécessaire n'est pas excessif, mais peut tout de même apporter une plus-value intéressante dans le prix d'un essai. La

contrainte majeure dans la mise en œuvre de cette méthode tient dans le morcellement de la préparation de la suspension, qui peut être contraignante en termes d'organisation du travail. Le choix de laisser « infuser » les feuilles pendant un certain temps avant le filtrage s'appuyait sur l'hypothèse arbitraire que le détachement des conidies des conidiophores pouvait ne pas être immédiat. Or, selon Frey et Keitt (1925) le contact avec l'eau induit le détachement des conidies. Dès lors, la préparation de la suspension pourrait être faite en une seule étape.

#### b Précision des données d'humectation

Les données de l'humectation fournies par la station météorologique sont précises au centième. L'échelle d'interprétation de ces données est cependant assez large. L'humectation observée pendant la phase d'ensachage était inférieure à 5%, ce qui doit être interprété comme la présence de quelques gouttes sur la surface de la feuille. La présence d'eau libre sur la feuille étant indispensable à l'infection (Schumacher et al. 2008), il serait intéressant de tester la correspondance entre le pourcentage donné et l'humectation visible sur la feuille.

#### c Conciliation des contaminations artificielle avec les épisodes contaminations primaires

Afin de faciliter les analyses des observations, il a été choisi de s'affranchir des contaminations primaires causées par l'inoculum de la parcelle en effectuant des traitements de couverture. Néanmoins, la conciliation des inoculations et des traitements de couverture s'est avérée assez complexe, notamment au mois de mai. Il pourrait être envisagé pour une nouvelle expérimentation de la méthode, de ne pas chercher à gérer l'inoculum primaire de la parcelle. L'intérêt serait de se placer dans des conditions similaires à celles de l'application de la méthodologie dans le cadre d'un essai sur la gestion de la tavelure, c'est-à-dire dans un contexte contaminant cumulant les deux types d'inoculum. Cependant, si les épisodes de contamination naturelle sont fréquents et la sévérité élevée, il y aurait un risque de ne pas déterminer si l'inoculation a réellement fonctionné et que la dissémination du pathogène a bien eu lieu. L'idéal serait de pouvoir appliquer des mesures prophylactiques avant le début des premières éjections d'ascospores pour réduire au maximum l'inoculum de la parcelle, et de gérer uniquement les épisodes contaminants à plus haut risque par des couvertures fongicides pour limiter autant que faire se peut l'inoculum inhérent à la parcelle.

### C. Choix des facteurs expérimentaux

Les facteurs testés à travers l'expérimentation de la méthode ont été choisis de manière à étudier la marge de manœuvre possible dans la maîtrise du développement de tavelure.

#### a Stade de développement du pommier au moment de l'inoculation

Le niveau de développement des pousses au moment de l'inoculation est un facteur essentiel à considérer par rapport à la résistance ontogénique des feuilles. Deux niveaux de ce facteur ont été testés : l'inoculation de la pousse à fruits lorsque la rosette est en développement et l'inoculation au cours du développement de la pousse de bourse. L'inoculation sur rosette a été faite au stade ballonnet (stade BBCH 59), environ deux semaines après l'éclatement du bourgeon et celle sur pousse de bourse au moment de la nouaison (stade BBCH 71), lorsque la huitième feuille se développait. Les feuilles de rosettes sont les premières feuilles à émerger, et donc à être sensibles à la tavelure. Cependant, la phase de croissance des feuilles de rosette est relativement courte et le moment où la résistance ontogénique est telle qu'une inoculation n'induit plus la formation de symptômes visibles n'est pas clairement défini.

Les pousses de bourse ont été en croissance active pendant environ un mois. Le fait que les arbres n'aient pas été taillés ne semble pas avoir influencé la période d'activité des pousses de bourses, ni la longueur (Annexe 14). Une inoculation sur pousse de bourse présente l'avantage d'être plus souple dans le positionnement, et peut être utilisée pour ajuster la pression en fonction du contexte contaminant au début de la période primaire.

L'expérimentation de la méthodologie a ciblé l'inoculation de pousses à fruits, mais l'inoculation de pousses à bois est toute aussi envisageable. Les pousses à bois commencent

à se développer au même moment que les pousses de bourse, mais poursuivent leur développement jusqu'au mois de juillet (Marion Curti, *communication personnelle*). Certaines pousses, dites « longues » peuvent cependant poursuivre leur croissance tout au long de l'été. Ainsi, en termes de marge de manœuvre sur le positionnement des inoculations, les pousses à bois ont un potentiel plus intéressant que les pousses de bourse ou les rosettes.

#### b Un facteur 10 de dilution entre les deux types de suspensions

La dose d'inoculum apporté peut influencer l'infection et le développement de symptômes (Hartman et al. 1999) et conditionne la quantité de feuilles tavelées à utiliser. Dans l'expérimentation qui a été menée, la dose d'inoculum s'est matérialisée par la concentration de la suspension de conidies utilisée, avec une même quantité de suspension apportée à chaque pousse. Deux niveaux de concentration ont été appliqués : un niveau élevé à  $1,77 \cdot 10^5$  conidies / ml, et un niveau de concentration dix fois moins important. Ainsi, près de  $4,5 \cdot 10^5$  conidies ont été apportées en théorie sur chacune des pousses inoculées avec la suspension la moins concentrée. En termes de concentrations, Hartman (1999) considère qu'un inoculum naturel en verger est de l'ordre de  $1 \cdot 10^4$  conidies / ml, ce qui est du même ordre de grandeur que la suspension la moins concentrée.

#### c Un petit nombre de pousses inoculées

Le nombre de pousses à inoculer est un critère à prendre en compte dans la méthodologie en raison du temps de travail que nécessite l'ensachage et le désensachage des pousses, mais aussi en raison de la quantité d'inoculum à prévoir. L'étude de ce facteur doit permettre de déterminer s'il s'agit d'un facteur d'influence sur la dispersion de *V. inaequalis*. Les niveaux de la modalité ont été choisis de manière à optimiser l'application, en termes de temps de travail, de quantité de suspension à prévoir, mais aussi de consommation de sachets. Ce dernier critère n'est pas négligeable : dans un souci d'économie et d'écologie, la réutilisation des sachets est possible, mais nécessite qu'ils soient séchés individuellement, ce qui prend du temps. L'inoculation d'une pousse par face d'arbre paraîtrait plus adaptée pour assurer une contamination homogène. Dans le cadre d'une nouvelle expérimentation, il pourrait même être envisagé de passer à huit pousses par parcelle élémentaire, afin d'augmenter les chances de réussite de l'infection et d'avoir davantage de données sur cette première infection en elle-même (homogénéité, intensité).

## Conclusion

L'établissement d'une méthodologie d'inoculation de tavelure sur un verger de production doit permettre à l'expérimentateur de maîtriser le développement du pathogène responsable sur la parcelle d'essai. Il s'agit d'être en mesure d'infecter l'arbre, et d'assurer la dispersion de *V.inaequalis* sur l'ensemble de la parcelle de manière à obtenir un niveau d'infection homogène. L'objectif premier est de pouvoir contrer ou prévenir une pression naturelle insuffisante pour l'obtention de résultats significatifs sur des essais de méthodes de gestion de la tavelure. Il s'agit également d'être capable de réguler cette pression supplémentaire afin de ne pas impacter trop sévèrement les arbres et la production. La méthode choisie s'appuie sur l'application d'une suspension de conidies d'une souche unique de *V.inaequalis* sur des pousses en croissance, dans un contexte contaminant. En l'état, la méthode testée est facilement réalisable et reproductible. Néanmoins, l'échec de l'infection des pousses inoculées sur les deux inoculations ne permet pas de conclure sur sa fiabilité ni sur la capacité de maîtriser l'infection. Plusieurs facteurs ont pu contribuer à l'absence de développement de symptômes consécutive à chacune des deux inoculations. Pour l'inoculation sur rosettes, le positionnement du traitement de couverture avant l'inoculation est très probablement la raison principale de l'échec de l'infection. Dans le cas de l'inoculation sur pousses de bourse le faible taux de germination des conidies est la cause la plus probable de l'échec de l'infection. La raison de la baisse entre les deux inoculations n'est pas identifiée, mais serait liée à la conservation des conidies au froid. Si à ce stade la méthodologie ne peut pas être proposée comme option sur un devis d'essai, il est envisagé de poursuivre l'étude à travers une nouvelle expérimentation de la méthode, sous réserve de la disponibilité d'une parcelle non destinée à la production. La technique générale de l'inoculation serait globalement conservée, à condition de déterminer si le froid est vraiment responsable de la perte de viabilité des spores. Une expérience pourrait être menée à partir de feuilles tavelées récupérées sur des parcelles locales afin de déterminer quelles pourraient être les conditions optimales de conservation d'un inoculum conidien. Une nouvelle expérimentation de la méthode d'inoculation reprendrait les mêmes facteurs expérimentaux, avec davantage de pousses inoculées par parcelle élémentaire, voire un niveau de concentration supplémentaire. Une attention particulière serait portée à la réussite de l'infection par l'inoculum apporté, notamment *via* une étude plus précise de la signification des données d'humectation de la station météorologique.

## Bibliographie

- BIOSECURITY AUSTRALIA, 2011. *Final report for the non-regulated analysis of existing policy for apples from New Zealand*. [en ligne]. Canberra. Department of Agriculture, Fisheries and Forestry. Disponible à l'adresse : [http://www.agriculture.gov.au/SiteCollectionDocuments/ba/plant/2011/mangoesfrompakistan/NZ\\_Apples\\_Final\\_report\\_Aug\\_2011.doc](http://www.agriculture.gov.au/SiteCollectionDocuments/ba/plant/2011/mangoesfrompakistan/NZ_Apples_Final_report_Aug_2011.doc). [Consulté le 26 juillet 2018]
- BELETE, T. et BOYRAZ, N., 2017. Critical Review on Apple Scab (*Venturia inaequalis*): Biology, Epidemiology, Economic Importance, Management and Defense Mechanisms to the causal agent. In : *J Plant Physiol Pathol*. 2017. Vol. 5, n° 2, p. 11.
- BLOESCH, B. et VIRET, O., 2013. Stades phénologiques repères des fruits à pépins (pommier et poirier). In : *Revue suisse Viticulture, Arboriculture, Horticulture*. 2013. Vol. 45, n° 2, p. 128-131.
- BOWEN, J.K., MESARICH, C. H., BUS, V.G. M., BERESFORD, R. M., PLUMMER, K. M. et TEMPLETON, M.D., 2011. *Venturia inaequalis*: the causal agent of apple scab: *Venturia inaequalis*. In : *Molecular Plant Pathology*. février 2011. Vol. 12, n° 2, p. 105-122. DOI 10.1111/j.1364-3703.2010.00656.x.
- BUS, V.G.M., RIKKERINK, E.H.A., CAFFIER, V., DUREL, C.-E. et PLUMMER, K. M., 2011. Revision of the Nomenclature of the Differential Host-Pathogen Interactions of *Venturia inaequalis* and *Malus*. In : *Annual Review of Phytopathology*. 8 septembre 2011. Vol. 49, n° 1, p. 391-413. DOI 10.1146/annurev-phyto-072910-095339.
- CAFFIER, V., PATOCCHI, A., EXPERT, P., BELLANGER, M.-N., DUREL, C.-E., HILBER-BODMER, M., BROGGINI, G.A.L., GROENWOLD, R. et BUS, V.G.M., 2015. Virulence Characterization of *Venturia inaequalis* Reference Isolates on the Differential Set of *Malus* Hosts. In : *Plant Disease*. mars 2015. Vol. 99, n° 3, p. 370-375. DOI 10.1094/PDIS-07-14-0708-RE.
- COOPER, S.J et ASHBY, A.M, 1998. Comparison of cytokinin and cytokinin-O-glucoside cleaving  $\beta$ -glucosidase production in vitro by *Venturia inaequalis* and other phytopathogenic fungi with differing modes of nutrition in planta. In : *Physiological and Molecular Plant Pathology*. juillet 1998. Vol. 53, n° 1, p. 61-72. DOI 10.1006/pmpp.1998.0171.
- CORLETT, M. et CHONG, J., 1977. Ultrastructure of the appressorium of *Spilocoaea pomi*. In : *Canadian Journal of Botany*. janvier 1977. Vol. 55, n° 1, p. 5-7. DOI 10.1139/b77-002.
- FILLERON, E., 2016. La Tavelure des fruits à pépins. In : *Guide 2016 de protection fruitière intégrée*. 2016. p.19-21
- FITZGERALD, A., VAN KAN, J.A.L. et PLUMMER, K.M., 2004. Simultaneous silencing of multiple genes in the apple scab fungus, *Venturia inaequalis*, by expression of RNA with chimeric inverted repeats. In : *Fungal Genetics and Biology*. octobre 2004. Vol. 41, n° 10, p. 963-971. DOI 10.1016/j.fgb.2004.06.006.
- FREY, C.N. et KEITT, G.W., 1925. Studies of spore dissemination of *V. inaequalis* (CKE.) Wint. in relation to seasonal development of apple scab. In : *Journal of Agricultural Research*. 1925. Vol. 30, n° 5, p. 529-540.
- GADOURY, D.M., 1985. Negative Geotropism in *Venturia inaequalis*. In : *Phytopathology*. 1985. Vol. 75, n° 7, p. 856. DOI 10.1094/Phyto-75-856.
- GADOURY, D.M., 1986. Forecasting Ascospore Dose of *Venturia inaequalis* in Commercial Apple Orchards. In : *Phytopathology*. 1986. Vol. 76, n° 1, p. 112. DOI 10.1094/Phyto-76-112.
- GESSLER, C., PATOCCHI, A., SANSVINI, S., TARTARINI, S. et GIANFRANCESCHI, L., 2006. *Venturia inaequalis* Resistance in Apple. In : *Critical Reviews in Plant Sciences*. décembre 2006. Vol. 25, n° 6, p. 473-503. DOI 10.1080/07352680601015975.

- GESSLER, C. et STUMM, D., 1984. Infection and Stroma Formation by *Venturia inaequalis* on Apple Leaves with Different Degrees of Susceptibility to Scab. In : *Journal of Phytopathology*. juin 1984. Vol. 110, n° 2, p. 119-126. DOI 10.1111/j.1439-0434.1984.tb03399.x.
- GIRAUD, M. et TRAPMAN, M., 2006. Le modèle RIMpro : intérêt dans la gestion de la Tavelure du Pommier. In : *Arboriculture Fruitière*. avril 2006. n° 603.
- GLADIEUX, P., ZHANG, X.-G., AFOUFA-BASTIEN, D., VALDEBENITO SANHUEZA, R.-M., SBAGHI, M. et LE CAM, B., 2008. On the Origin and Spread of the Scab Disease of Apple: Out of Central Asia. In : D'ENFERT, Christophe (éd.), *PLoS ONE*. 16 janvier 2008. Vol. 3, n° 1, p. e1455. DOI 10.1371/journal.pone.0001455.
- HARRIS, S.A., ROBINSON, J.P. et JUNIPER, B.E., 2002. Genetic clues to the origin of the apple. In : *Trends in Genetics*. août 2002. Vol. 18, n° 8, p. 426-430. DOI 10.1016/S0168-9525(02)02689-6.
- HARTMAN, J. R., PARISI, L. et BAUTRAIS, P., 1999. Effect of Leaf Wetness Duration, Temperature, and Conidial Inoculum Dose on Apple Scab Infections. In : *Plant Disease*. juin 1999. Vol. 83, n° 6, p. 531-534. DOI 10.1094/PDIS.1999.83.6.531.
- JACOBSON, E. S., 2000. Pathogenic Roles for Fungal Melanins. In : *Clinical Microbiology Reviews*. octobre 2000. Vol. 13, n° 4, p. 708-717. DOI 10.1128/CMR.13.4.708-717.2000.
- JHA, G., THAKUR, K. et THAKUR, P., 2009. The *Venturia* Apple Pathosystem: Pathogenicity Mechanisms and Plant Defense Responses. In : *Journal of Biomedicine and Biotechnology*. 2009. Vol. 2009, p. 1-10. DOI 10.1155/2009/680160.
- KOLATTUKUDY, P.E., 1985. Enzymatic Penetration of the Plant Cuticle by Fungal Pathogens. In : *Annual Review of Phytopathology*. septembre 1985. Vol. 23, n° 1, p. 223-250. DOI 10.1146/annurev.py.23.090185.001255.
- KOLLAR, A., 1996. Evidence for loss of ontogenetic resistance of apple leaves against *Venturia inaequalis*. In : *European Journal of Plant Pathology*. octobre 1996. Vol. 102, n° 8, p. 773-778. DOI 10.1007/BF01877152.
- KÖLLER, W., 1991. Role of Cutinase in the Penetration of Apple Leaves by *Venturia inaequalis*. In : *Phytopathology*. 1991. Vol. 81, n° 11, p. 1375. DOI 10.1094/Phyto-81-1375.
- KUCHERYAVA, N., BOWEN, J.K., SUTHERLAND, P.W., CONOLLY, J. J., MESARICH, C.H., RIKKERINK, E.H.A., KEMEN, E., PLUMMER, K.M., HAHN, M. et TEMPLETON, M.D., 2008. Two novel *Venturia inaequalis* genes induced upon morphogenetic differentiation during infection and in vitro growth on cellophane. In : *Fungal Genetics and Biology*. octobre 2008. Vol. 45, n° 10, p. 1329-1339. DOI 10.1016/j.fgb.2008.07.010.
- LATEUR, M., LEFRANCQ, B. et WAGEMANS, C., 2000. Influence of scab inoculum concentration in an apple breeding program focused on quantitative resistance. In : *Acta Horticulturae*. octobre 2000. n° 538, p. 249-255. DOI 10.17660/ActaHortic.2000.538.43.
- LE CAM, B., PARISI, L. et ARENE, L., 2002. Evidence of Two Formae Speciales in *Venturia inaequalis* , Responsible for Apple and Pyracantha Scab. In : *Phytopathology*. mars 2002. Vol. 92, n° 3, p. 314-320. DOI 10.1094/PHYTO.2002.92.3.314.
- LI, B. et XU, X., 2002. Infection and Development of Apple Scab (*Venturia inaequalis*) on Old Leaves. In : *Journal of Phytopathology*. décembre 2002. Vol. 150, n° 11-12, p. 687-691. DOI 10.1046/j.1439-0434.2002.00824.x.
- MACHARDY, W.E., 1989. A Revision of Mills' Criteria for Predicting Apple Scab Infection Periods. In : *Phytopathology*. 1989. Vol. 79, n° 3, p. 304. DOI 10.1094/Phyto-79-304.

- MACHARDY, W.E., GADOURY, D.M. et GESSLER, C., 2001. Parasitic and Biological Fitness of *Venturia inaequalis*: Relationship to Disease Management Strategies. In : *Plant Disease*. octobre 2001. Vol. 85, n° 10, p. 1036-1051. DOI 10.1094/PDIS.2001.85.10.1036.
- MCKIRDY, S. J., MACKIE, A. E. et KUMAR, S., 2001. DISEASE NOTES OR NEW RECORDS: Apple scab successfully eradicated in Western Australia. In : *Australasian Plant Pathology*. 2001. Vol. 30, n° 4, p. 371. DOI 10.1071/AP01057.
- NICHOLSON, R.L., KUC, J. et WILLIAMS, E.B, 1972. Histochemical demonstration of transitory esterase activity in *Venturia inaequalis*. In : *Phytopathology*. 1972. Vol. 62, p. 1242-1247.
- NUSBAUM, C. et KEITT, G.W., 1938. A cytological study of host-parasite relations of *Venturia inaequalis* on apple leaves. In : *Journal of Agricultural Research*. 1938. Vol. 56, n° 8, p. 595-617.
- PHILION, V. et TRAPMAN, M., 2005. Validation du logiciel RIMpro pour faciliter la gestion des infections primaires de la tavelure du pommier [en ligne]. 2005. Disponible à l'adresse : [https://www.irda.qc.ca/assets/documents/Publications/documents/philion-trapman-2005\\_fiche\\_validation\\_rimpro.pdf](https://www.irda.qc.ca/assets/documents/Publications/documents/philion-trapman-2005_fiche_validation_rimpro.pdf).
- PUJOL, J., 2015. Pratiques phytosanitaires en arboriculture : des traitements phytosanitaires dans les vergers de pommiers variables selon les bassins de production [en ligne]. 2015. [Consulté le 16 août 2018]. Disponible à l'adresse : <http://agreste.agriculture.gouv.fr/IMG/pdf/primeur323.pdf>.
- SCHWABE, W. F. S., 1979. Changes in scab susceptibility of apple leaves as influenced by age. In : *Phytophylactica*. 1979. Vol. 11, p. 53-56.
- SCHWABE, W. F., 1984. Changes in the Susceptibility of Developing Apple Fruit to *Venturia inaequalis*. In : *Phytopathology*. 1984. Vol. 74, n° 1, p. 118-121. DOI 10.1094/Phyto-74-118.
- SAUPHANOR, B. et DIRWIMMER, C., 2009. *TOME IV*: Analyse comparative de différents systèmes en arboriculture fruitière. INRA.
- SCHUMACHER, C.F.A., STEINER, U., DEHNE, H.-W. et OERKE, E.-C., 2008. Localized Adhesion of Nongerminated *Venturia inaequalis* Conidia to Leaves and Artificial Surfaces. In : *Phytopathology*. juillet 2008. Vol. 98, n° 7, p. 760-768. DOI 10.1094/PHYTO-98-7-0760.
- SMEREKA, K.J., MACHARDY, W. E. et KAUSCH, A.P., 1987. Cellular differentiation in *Venturia inaequalis* ascospores during germination and penetration of apple leaves. In : *Canadian Journal of Botany*. décembre 1987. Vol. 65, n° 12, p. 2549-2561. DOI 10.1139/b87-346.
- STEINER, U. et OERKE, E.-C., 2007. Localized Melanization of Appressoria Is Required for Pathogenicity of *Venturia inaequalis*. In : *Phytopathology*. octobre 2007. Vol. 97, n° 10, p. 1222-1230. DOI 10.1094/PHYTO-97-10-1222.
- STENSVAND, A., GADOURY, D. M., AMUNDSEN, T., SEMB, L. et SEEM, R.C., 1997. Ascospore Release and Infection of Apple Leaves by Conidia and Ascospores of *Venturia inaequalis* at Low Temperatures. In : *Phytopathology*. octobre 1997. Vol. 87, n° 10, p. 1046-1053. DOI 10.1094/PHYTO.1997.87.10.1046.
- STENSVAND, Arne, EIKEMO, Håvard, SEEM, Robert C. et GADOURY, David M., 2009. Ascospore release by *Venturia inaequalis* during periods of extended daylight and low temperature at Nordic latitudes. In : *European Journal of Plant Pathology*. septembre 2009. Vol. 125, n° 1, p. 173-178. DOI 10.1007/s10658-009-9459-6.
- SUTTON, T.B., 1976. Factors Affecting Dispersal of Conidia of the Apple Scab Fungus. In : *Phytopathology*. 1976. Vol. 66, n° 11, p. 1313. DOI 10.1094/Phyto-66-1313.

TOMERLIN, J. R. et JONES, A. L., 1983. Effect of Temperature and Relative Humidity on the Latent Period of *Venturia inaequalis* in Apple Leaves. In : *Phytopathology*. 1983. Vol. 73, n° 1, p. 51. DOI 10.1094/Phyto-73-51.

TRILLON, P., 2018. *Les fiches de FranceAgriMer: Fruits et légumes* [en ligne]. 2018. S.I. : FranceAgriMer. [Consulté le 18 mai 2018]. Disponible à l'adresse : <http://www.franceagrimer.fr/content/download/55649/538023/file/fiche%20fruits.pdf>.

VALSANGIACOMO, C. et GESSLER, C. 1988. Role of the Cuticular Membrane in Ontogenic and Vf-Resistance of Apple Leaves against *Venturia inaequalis*. In : *Phytopathology*. 1988. Vol. 78, n° 8, p. 1066. DOI 10.1094/Phyto-78-1066.

WALTERS, D.R. et MCROBERTS, N., 2006. Plants and biotrophs: a pivotal role for cytokinins? In : *Trends in Plant Science*. décembre 2006. Vol. 11, n° 12, p. 581-586. DOI 10.1016/j.tplants.2006.10.003.

## Sitographie

- [1] OEPP, Organisation Européenne de Protection des Plantes, 2002. *Venturia inaequalis* (VENTIN) [en ligne]. Disponible sur : <https://gd.eppo.int/taxon/VENTIN> (consulté le 7 août 2018)
- [2] FAO, Organisation des Nations Unies pour l'Alimentation et l'Agriculture, 2017. FAOSTAT [en ligne]. Disponible sur : <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC> (consulté le 10 août 2018)
- [3] GIRAUD, M., 2016. Ephytia. *Venturia inaequalis* (Cooke) G. Winter : Tavelure du pommier [en ligne]. Disponible sur : <http://ephytia.inra.fr/fr/C/20846/Di-gno-Pom-Venturia-inaequalis-tavelure-du-pommier> (consulté le 4 juillet 2018)
- [4] GIRAUD, M., 2016. Ephytia. *Venturia inaequalis* (Cooke) G. Winter : Tavelure du pommier. In Principaux symptômes. [en ligne]. Disponible sur : <http://ephytia.inra.fr/fr/C/20847/Di-gno-Pom-Principaux-symptomes> (consulté le 4 juillet 2018)
- [5] ANSES, Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail, 2017 [en ligne]. Eau minérale Volvic, embouteillée, non gazeuse, faiblement minéralisée (Volvic, 63). Disponible sur : [https://cigual.anses.fr/#/aliments/76057/eau-minerale-volvic-embouteillee-non-gazeuse-faiblement-mineralisee-\(volvic-63\)](https://cigual.anses.fr/#/aliments/76057/eau-minerale-volvic-embouteillee-non-gazeuse-faiblement-mineralisee-(volvic-63)) (consulté le 20 juillet 2018)



## Annexes

### Annexe 1. Echelle BBCH (tirée de Bloesch et Vire 2013)

Code BBCH	Code Baggio lini	Pommier Stade repère (Gala)	Description
<b>0 = Repos hivernal</b>			
00	A		<b>BOURGEON D'HIVER (dormance)</b> Les bourgeons sont fermés et recouverts de leurs écailles protectrices.
<b>5 = Apparition de l'inflorescence</b>			
51	B		<b>GONFLEMENT DES BOURGEONS</b> Premier gonflement visible du bourgeon floral; les écailles ont des taches claires et s'allongent.
53	C		<b>ÉCLATEMENT DES BOURGEONS</b> Les extrémités des feuilles entourant les fleurs sont visibles.
54	C3		<b>OREILLE DE SOURIS</b> Les extrémités des feuilles dépassent les écailles de 10mm, les premières feuilles se séparent.
56	D		<b>BOUTON VERT</b> Les fleurs encore fermées commencent à se séparer.

5 = Apparition de l'inflorescence			
57	E		<b>BOUTON ROSE</b> Les sépales s'ouvrent légèrement, les pétales s'allongent et deviennent visibles.
59	E2		<b>BALLONNETS</b> La plupart des fleurs forment avec leurs pétales un ballon creux.
6 = Floraison			
61	F		<b>DÉBUT FLORAISON</b> Environ 10 % des fleurs sont ouvertes.
65	F2		<b>PLEINE FLORAISON</b> Plus de 50 % des fleurs sont ouvertes, les premiers pétales tombent.
67	G		<b>FLORAISON DÉCLINANTE</b> La plupart des pétales sont tombés.
69	H		<b>FIN FLORAISON</b> Tous les pétales sont tombés.

## 7 = Développement des fruits

71	I		<b>NOUAISSON</b> Diamètre des fruits jusqu'à 10 mm, chute physiologique des jeunes fruits.
72	J		<b>TAILLE NOISETTE</b> Diamètre des fruits jusqu'à 20 mm.
74			<b>STADE T</b> Fruits dressés, la base du fruit et sa tige forment un T, diamètre des fruits jusqu'à 40 mm.
77			<b>CROISSANCE DES FRUITS</b> Les fruits ont atteint 70 % de leur taille finale.

## 8 = Maturation des fruits

81			<b>DÉBUT MATURATION</b> Les fruits ont atteint leur taille finale, la couleur spécifique de la variété apparaît.
85			<b>MATURITÉ AVANCÉE</b> Intensification de la coloration spécifique de la variété.
87-89			<b>RÉCOLTE, PLEINE MATURITÉ GUSTATIVE</b> Goût et consistance des fruits typiques de la variété.

**Annexe 2.** Vue aérienne de la parcelle expérimentale





## **Annexe 4.** Expérimentation de la méthode d'inoculation – Protocole détaillé des préparations de suspensions de spores

### Préparation des solutions de spores

#### Matériel :

0,88 g de feuilles tavelées avec la souche 104 de *Venturia inaequalis*  
3 L d'eau Volvic  
Bouteilles vides  
Bécher  
Entonnoir  
Entonnoir à l'embout coupé  
Cellule de Malassez, pipette, bleu de méthylène, lamelles  
Microscope

### Préparation pour l'inoculation sur feuilles de rosettes

1. Peser 0.6 g de feuilles dans un bécher sur la balance de précision et les broyer à l'aide d'une cuillère.
2. Peser 0.513 L de Volvic fraîche dans une éprouvette et en verser la moitié dans une bouteille vide.
3. Ajouter le broyat dans la bouteille à l'aide de l'entonnoir coupé et rincer le bécher avec l'eau réservée dans l'éprouvette. Mélanger en secouant la bouteille
4. Laisser reposer au réfrigérateur pendant 1 à 2 heures
5. Filtrer le mélange dans une autre bouteille à l'aide de la passoire et homogénéiser en secouant la bouteille
6. A l'aide d'une pipette, prélever environ 1mL de la suspension dans un bécher et y ajouter une goutte de bleu, homogénéiser
7. Pipeter une goutte de cette suspension par capillarité sur la cellule de Malassez recouverte d'une lamelle, et déterminer la concentration C1 en spores de la suspension mère (Moyenne du nombre de spores par rectangle de volume 0.01  $\mu$ L).
8. Prélever 10mL de suspension mère et mélanger à 0.990 L de Volvic dans une bouteille vide (suspension de concentration C2 pour les modalités 2 et 3).
9. Le reste de la suspension mère correspond à la modalité 4.

### Préparation pour l'inoculation sur pousses de bourses

Reprendre les étapes 1 à 6 avec 0,28 g de feuilles dans 0.26 L d'eau. Réaliser la dilution nécessaire pour obtenir une suspension de concentration C2.

## **Annexe 5. Expérimentation de la méthode – Protocole détaillé de l'inoculation des arbres**

### Pulvérisation des solutions de spores

#### Matériel :

Pulvérisateur à pression de 2 L  
Chronomètre  
Sacs congélation + liens  
Station météorologique avec capteur d'humectation  
Eprouvette de 500 ml  
Bouteilles de suspensions de spores  
Eau Volvic  
Rubalise

Un test à l'eau permettra de régler le jet du pulvérisateur puis de déterminer le débit moyen. Pour cela, remplir le pulvérisateur de 500 ml d'eau Volvic, et, à l'aide du chronomètre, pulvériser pendant trois fois 10 secondes en pompant entre chaque série de 10 secondes. Mesurer le volume restant à l'aide de l'éprouvette et déterminer un débit moyen. La durée de pulvérisation est ensuite établie à partir de ce débit moyen et sur la quantité de spores à apporter.

Il s'agit ensuite de pulvériser la suspension sur les pousses à fleurs préalablement identifiées à l'aide de morceaux de rubalise suivant le plan d'expérimentation. Les pousses à inoculer sont réparties sur les deux faces des arbres de la parcelle élémentaire : s'il y en a deux, l'une est choisie sur l'une des faces du premier arbre central et l'autre à l'opposé sur le deuxième arbre, s'il y en a quatre, il s'agit d'en positionner une par face d'arbre. La durée de pulvérisation est contrôlée à l'aide d'un chronomètre et le pulvérisateur est remis sous pression toutes les deux pousses inoculées. Chaque pousse inoculée est immédiatement ensachée le plus hermétiquement possible à l'aide de sacs de congélation et de liens. Cette manipulation doit permettre de conserver l'humectation foliaire. Pour estimer la durée d'humectation des feuilles, le capteur d'humectation de la station météorologique, accroché sur une branche, est pulvérisé et ensaché suivant le même mode que les pousses.

**Annexe 6.** Données météorologiques journalières sur l'ensemble de l'essai (station installée le 10/04, données antérieures issues de la station de Ribiers)

Jour	Précipitations (Ribiers) mm	Humectation %	Température °C	HR %
26/3	0		7,15	67,5
27/3	0		9,4	63
28/3	0,2		12,75	68
29/3	0		11,7	73
30/3	22,6		7	81
31/3	0		7,25	69
1/4	0		9,7	56,5
2/4	0		7,4	65,5
3/4	0		11,5	67,5
4/4	4,8		13,5	84,5
5/4	0,8		10,8	72,5
6/4	0		11,55	66
7/4	0		13,45	67
8/4	2,2		13,8	67,5
9/4	9,6		10,95	91
10/4	5,8		8,95	85,0
11/4	25,6		6,65	88,0
12/4	18,2	23,3	4,7	94,2
13/4	0,8	12,5	9,0	80,3
14/4	0	1,9	12,6	68,8
15/4	0	0,6	13,7	65,8
16/4	0	0,0	15,1	62,6
17/4	0	0,0	16,8	59,1
18/4	0	0,0	17,8	57,9
19/4	0	3,2	16,4	61,2
20/4	0	1,5	17,6	57,5
21/4	0	0,0	18,1	55,9
22/4	0	0,0	18,5	54,9
23/4	0	0,0	17,3	60,4
24/4	0	0,0	19,4	56,2
25/4	0	0,0	18,9	58,0
26/4	0	0,0	18,5	54,9
27/4	0	0,0	17,1	59,3
28/4	0	0,1	17,5	63,0
29/4	19,2	4,1	14,0	71,8
30/4	0	2,5	11,6	71,8
1/5	1,6	1,4	11,2	75,5
2/5	0	7,5	8,2	91,9
3/5	0	0,00	13,74	66,26
4/5	0	0,00	15,69	68,63

5/5	0	0,00	16,97	71,08
6/5	0	0,00	17,67	75,43
7/5	17	1,33	16,38	83,43
8/5	1,6	2,76	15,13	86,50
9/5	2,2	2,87	15,19	82,97
10/5	0	1,65	15,33	76,88
11/5	0	0,00	14,92	75,48
12/5	0,6	0,00	16,28	72,44
13/5	11,6	4,89	11,33	85,04
14/5	2,6	5,49	9,91	82,33
15/5	0	5,32	13,84	74,11
16/5	0	0,00	14,87	70,70
17/5	1,4	2,18	14,08	79,77
18/5	0	4,38	15,76	79,40
19/5	3,6	8,54	13,48	88,54
20/5	10	7,29	13,10	87,55
21/5	0	2,43	14,58	82,60
22/5	0,8	1,84	14,57	88,20
23/5	0,8	1,88	15,66	83,23
24/5	0	0,00	16,29	78,36
25/5	0	0,00	19,13	73,72
26/5	0,2	0,00	18,60	78,99
27/5	0,8	0,87	18,04	82,64
28/5	3,8	0,57	17,64	79,18
29/5	0	0,08	18,96	76,63
30/5	5,8	3,11	16,05	89,58
31/5	2,2	3,87	15,96	88,94
1/6	0,6	0,00	16,20	81,86

## Annexe 7. Programme des traitements contre les pucerons

Traitement	T1	T2
Date	17/04	03/05
Stade BBCH	59	69
Produits	Teppeki	Movento
Composition	Flonicamid 500g/kg	Spriotetramat 100g/l
Doses appliquées	0,14 kg/ha	1,2 L/ha

## Annexe 8. Données météorologiques horaires de l'inoculation sur rosettes

Date	Heure	Humectation foliaire %	Température °C	Humidité relative %
19/04/2018	13:55:01	0,00	28,30	30,67
19/04/2018	14:05:01	9,13	28,41	34,47
19/04/2018	14:15:01	8,01	26,84	39,88
19/04/2018	14:25:01	14,21	24,90	43,19
19/04/2018	14:35:01	7,47	24,00	48,57
19/04/2018	14:45:01	9,27	23,32	48,47
19/04/2018	14:55:01	14,21	23,22	45,60
19/04/2018	15:05:01	15,45	22,63	47,84
19/04/2018	15:15:01	13,44	22,49	49,40
19/04/2018	15:25:01	8,35	22,27	48,50
19/04/2018	15:35:01	13,53	22,36	51,93
19/04/2018	15:45:01	11,08	22,34	48,90
19/04/2018	15:55:01	18,94	22,25	51,14
19/04/2018	16:05:01	11,16	22,12	49,56
19/04/2018	16:15:01	20,96	21,95	50,92
19/04/2018	16:25:01	14,65	21,89	53,07
19/04/2018	16:35:01	12,28	22,02	51,95
19/04/2018	16:45:01	24,94	22,17	50,92
19/04/2018	16:55:01	12,52	21,82	51,48
19/04/2018	17:05:01	13,19	21,87	54,35
19/04/2018	17:15:01	17,49	21,78	50,81
19/04/2018	17:25:01	14,74	21,69	51,48
19/04/2018	17:35:01	10,69	21,30	50,47
19/04/2018	17:45:01	18,55	20,45	52,75
19/04/2018	17:55:01	11,55	20,57	57,55
19/04/2018	18:05:01	13,70	20,50	55,37
19/04/2018	18:15:01	2,70	19,86	51,66
19/04/2018	18:25:01	2,11	19,30	50,21
19/04/2018	18:35:01	4,94	19,43	50,44
19/04/2018	18:45:01	4,27	19,53	49,28
19/04/2018	18:55:01	3,85	19,59	46,83
19/04/2018	19:05:01	4,11	19,66	45,15
19/04/2018	19:15:01	3,44	19,69	45,28
19/04/2018	19:25:01	3,90	20,10	45,28
19/04/2018	19:35:01	3,69	20,01	47,48
19/04/2018	19:45:01	3,49	19,45	48,40
19/04/2018	19:55:01	3,39	18,76	49,52
19/04/2018	20:05:01	2,80	18,35	49,78
19/04/2018	20:15:01	3,14	17,96	50,51
19/04/2018	20:25:01	3,09	17,60	51,62
19/04/2018	20:35:01	3,04	17,34	51,66
19/04/2018	20:45:01	3,04	17,18	51,43

19/04/2018	20:55:01	2,94	17,11	52,43
19/04/2018	21:05:01	3,14	17,00	53,58
19/04/2018	21:15:01	3,14	16,89	54,12
19/04/2018	21:25:01	2,99	16,70	54,35
19/04/2018	21:35:01	2,75	16,72	53,81
19/04/2018	21:45:01	3,09	16,55	53,94
19/04/2018	21:55:01	2,66	16,43	53,26
19/04/2018	22:05:01	2,94	16,19	52,91
19/04/2018	22:15:01	2,99	15,82	52,49
19/04/2018	22:25:01	3,44	15,63	53,74
19/04/2018	22:35:01	2,34	15,46	53,17
19/04/2018	22:45:01	3,04	15,18	53,76
19/04/2018	22:55:01	2,99	15,12	54,30
19/04/2018	23:05:01	2,85	14,94	54,65
19/04/2018	23:15:01	2,61	14,83	57,66
19/04/2018	23:25:01	2,70	14,24	59,80
19/04/2018	23:35:01	3,09	13,64	61,72
19/04/2018	23:45:01	2,89	13,16	63,39
19/04/2018	23:55:01	3,19	13,09	63,73
20/04/2018	00:05:01	3,44	12,88	64,76
20/04/2018	00:15:01	3,39	12,67	65,18
20/04/2018	00:25:01	3,14	12,47	65,70
20/04/2018	00:35:01	3,34	12,19	66,10
20/04/2018	00:45:01	3,34	12,15	66,84
20/04/2018	00:55:01	3,29	12,15	66,53
20/04/2018	01:05:01	3,09	11,76	68,07
20/04/2018	01:15:01	3,14	11,36	69,52
20/04/2018	01:25:01	3,69	10,92	71,16
20/04/2018	01:35:01	3,39	10,57	73,13
20/04/2018	01:45:01	3,19	10,33	74,12
20/04/2018	01:55:01	2,99	10,35	74,02
20/04/2018	02:05:01	3,44	10,39	73,21
20/04/2018	02:15:01	3,29	10,24	73,52
20/04/2018	02:25:01	3,64	10,01	74,76
20/04/2018	02:35:01	3,24	9,76	76,48
20/04/2018	02:45:01	3,24	9,69	77,42
20/04/2018	02:55:01	3,64	9,48	76,99
20/04/2018	03:05:01	3,49	9,32	76,70
20/04/2018	03:15:01	3,90	9,30	76,89
20/04/2018	03:25:01	3,44	9,09	78,74
20/04/2018	03:35:01	3,79	8,94	79,91
20/04/2018	03:45:01	3,79	8,75	80,42
20/04/2018	03:55:01	3,69	8,56	81,38
20/04/2018	04:05:01	3,49	8,43	81,78
20/04/2018	04:15:01	3,44	8,30	82,36

20/04/2018	04:25:01	3,29	8,08	83,11
20/04/2018	04:35:01	3,85	7,93	83,83
20/04/2018	04:45:01	3,69	7,76	84,47
20/04/2018	04:55:01	4,00	7,64	85,13
20/04/2018	05:05:01	3,34	7,76	85,72
20/04/2018	05:15:01	3,85	7,81	85,72
20/04/2018	05:25:01	3,69	7,52	85,77
20/04/2018	05:35:01	3,85	7,23	86,19
20/04/2018	05:45:01	4,22	7,03	87,16
20/04/2018	05:55:01	3,49	6,87	87,80
20/04/2018	06:05:01	3,74	6,79	88,30
20/04/2018	06:15:01	4,00	6,64	88,73
20/04/2018	06:25:01	3,74	6,53	89,15
20/04/2018	06:35:01	4,38	6,40	89,47
20/04/2018	06:45:01	4,16	6,40	90,25
20/04/2018	06:55:01	3,59	6,44	90,25
20/04/2018	07:05:01	4,11	6,40	90,25
20/04/2018	07:15:01	3,64	6,42	90,37
20/04/2018	07:25:01	4,11	6,44	90,25
20/04/2018	07:35:01	3,74	6,68	90,25
20/04/2018	07:45:01	3,19	7,03	89,66
20/04/2018	07:55:01	3,69	7,37	88,69
20/04/2018	08:05:01	3,59	7,93	87,50
20/04/2018	08:15:01	3,54	8,43	86,31
20/04/2018	08:25:01	3,09	9,14	84,42
20/04/2018	08:35:01	2,80	9,89	82,62
20/04/2018	08:45:01	2,70	10,70	79,61
20/04/2018	08:55:01	2,34	11,56	76,27
20/04/2018	09:05:01	2,61	12,43	73,29
20/04/2018	09:15:01	2,38	13,22	71,86
20/04/2018	09:25:01	2,66	13,70	69,89
20/04/2018	09:35:01	2,03	14,37	66,98
20/04/2018	09:45:01	2,57	15,36	64,79
20/04/2018	09:55:01	2,03	16,26	61,91
20/04/2018	10:05:01	1,81	16,91	59,21
20/04/2018	10:15:01	2,03	17,88	57,04
20/04/2018	10:25:01	2,16	18,87	56,20
20/04/2018	10:35:01	1,85	20,22	54,25
20/04/2018	10:45:01	1,48	21,08	51,60
20/04/2018	10:55:01	2,07	21,49	47,12
20/04/2018	11:05:01	1,60	22,95	45,86
20/04/2018	11:15:01	0,00	23,52	43,01
20/04/2018	11:25:01	0,00	23,87	42,31

**Annexe 9.** Données météorologiques horaires de l'inoculation sur pousses de bourses

Date	Heure	Humectation foliaire %	Température °C	Humidité relative %
17/05/2018	14:03:01	0,00	23,54	54,46
17/05/2018	14:13:01	0,00	23,41	49,77
17/05/2018	14:23:01	0,75	22,47	57,31
17/05/2018	14:33:01	3,34	22,23	60,39
17/05/2018	14:43:01	6,56	21,74	64,85
17/05/2018	14:53:01	8,42	21,13	69,12
17/05/2018	15:03:01	8,49	20,85	72,77
17/05/2018	15:13:01	10,46	20,91	73,31
17/05/2018	15:23:01	7,47	20,87	71,92
17/05/2018	15:33:01	12,11	20,63	73,06
17/05/2018	15:43:01	12,03	20,68	71,56
17/05/2018	15:53:01	10,62	20,07	73,03
17/05/2018	16:03:01	11,55	20,05	76,02
17/05/2018	16:13:01	9,20	19,95	73,03
17/05/2018	16:23:01	10,31	19,88	74,64
17/05/2018	16:33:01	8,70	19,88	74,20
17/05/2018	16:43:01	7,34	19,82	75,79
17/05/2018	16:53:01	12,69	19,57	74,53
17/05/2018	17:03:01	10,31	19,69	73,99
17/05/2018	17:13:01	6,82	17,79	76,37
17/05/2018	17:23:01	8,28	16,57	78,95
17/05/2018	17:33:01	12,44	15,90	79,36
17/05/2018	17:43:01	8,14	15,63	81,92
17/05/2018	17:53:01	11,55	16,51	83,39
17/05/2018	18:03:01	5,76	17,49	80,01
17/05/2018	18:13:01	6,19	17,68	80,23
17/05/2018	18:23:01	3,49	18,03	75,50
17/05/2018	18:33:01	3,14	17,96	74,99
17/05/2018	18:43:01	2,99	17,09	75,58
17/05/2018	18:53:01	2,99	16,47	77,14
17/05/2018	19:03:01	2,57	16,06	78,30
17/05/2018	19:13:01	3,04	15,84	78,81
17/05/2018	19:23:01	2,99	15,59	79,46
17/05/2018	19:33:01	3,04	15,38	79,24
17/05/2018	19:43:01	2,99	15,36	80,09
17/05/2018	19:53:01	2,94	15,27	78,78
17/05/2018	20:03:01	3,14	15,12	81,04
17/05/2018	20:13:01	3,04	15,06	82,42
17/05/2018	20:23:01	2,70	15,06	80,93
17/05/2018	20:33:01	2,89	14,99	80,49
17/05/2018	20:43:01	3,29	14,92	80,49

17/05/2018	20:53:01	2,99	14,85	81,36
17/05/2018	21:03:01	3,49	14,78	81,78
17/05/2018	21:13:01	2,99	14,69	82,42
17/05/2018	21:23:01	3,04	14,58	82,27
17/05/2018	21:33:01	3,64	14,45	82,60
17/05/2018	21:43:01	2,80	14,35	82,71
17/05/2018	21:53:01	3,04	14,30	82,82
17/05/2018	22:03:01	3,34	14,24	83,23
17/05/2018	22:13:01	3,24	14,20	83,77
17/05/2018	22:23:01	3,19	14,11	85,05
17/05/2018	22:33:01	2,57	13,92	84,89
17/05/2018	22:43:01	3,09	13,77	86,08
17/05/2018	22:53:01	3,09	13,62	86,92
17/05/2018	23:03:01	2,80	13,47	87,57
17/05/2018	23:13:01	3,24	13,38	87,89
17/05/2018	23:23:01	3,19	13,27	88,09
17/05/2018	23:33:01	3,14	13,22	88,14
17/05/2018	23:43:01	2,94	13,16	88,25
17/05/2018	23:53:01	3,49	13,11	88,57
18/05/2018	00:03:01	3,24	13,05	89,00
18/05/2018	00:13:01	2,94	12,96	89,21
18/05/2018	00:23:01	2,75	12,86	89,51
18/05/2018	00:33:01	2,99	12,75	90,05
18/05/2018	00:43:01	3,09	12,74	90,49
18/05/2018	00:53:01	3,29	12,75	90,92
18/05/2018	01:03:01	3,39	12,79	91,03
18/05/2018	01:13:01	2,75	12,72	90,05
18/05/2018	01:23:01	3,09	12,45	90,31
18/05/2018	01:33:01	2,99	12,23	89,66
18/05/2018	01:43:01	3,34	12,02	89,77
18/05/2018	01:53:01	3,09	11,76	90,15
18/05/2018	02:03:01	3,24	11,48	90,79
18/05/2018	02:13:01	3,09	11,38	91,60
18/05/2018	02:23:01	3,09	11,38	91,95
18/05/2018	02:33:01	2,99	11,31	92,55
18/05/2018	02:43:01	3,09	11,23	92,55
18/05/2018	02:53:01	3,09	11,05	92,14
18/05/2018	03:03:01	2,99	10,85	92,37
18/05/2018	03:13:01	3,09	10,70	92,58
18/05/2018	03:23:01	2,94	10,62	92,82
18/05/2018	03:33:01	3,29	10,62	93,17
18/05/2018	03:43:01	3,09	10,66	93,65
18/05/2018	03:53:01	2,94	10,77	93,77
18/05/2018	04:03:01	2,80	10,87	94,01
18/05/2018	04:13:01	3,29	10,89	93,89

18/05/2018	04:23:01	3,19	10,85	93,53
18/05/2018	04:33:01	2,99	10,79	93,30
18/05/2018	04:43:01	2,70	10,77	93,30
18/05/2018	04:53:01	2,99	10,74	93,65
18/05/2018	05:03:01	3,14	10,74	93,89
18/05/2018	05:13:01	2,85	10,72	93,89
18/05/2018	05:23:01	2,89	10,51	93,06
18/05/2018	05:33:01	3,14	10,22	93,11
18/05/2018	05:43:01	2,94	9,93	92,75
18/05/2018	05:53:01	2,94	9,71	92,82
18/05/2018	06:03:01	3,19	9,56	93,05
18/05/2018	06:13:01	3,19	9,47	93,53
18/05/2018	06:23:01	2,99	9,36	93,64
18/05/2018	06:33:01	2,75	9,25	93,64
18/05/2018	06:43:01	3,09	9,20	93,76
18/05/2018	06:53:01	2,57	9,22	93,76
18/05/2018	07:03:01	3,09	9,20	93,64
18/05/2018	07:13:01	3,29	9,20	94,00
18/05/2018	07:23:01	2,85	9,45	94,43
18/05/2018	07:33:01	2,89	9,74	94,56
18/05/2018	07:43:01	2,94	10,01	94,74
18/05/2018	07:53:01	3,04	10,37	94,74
18/05/2018	08:03:01	2,94	10,79	94,36
18/05/2018	08:13:01	2,99	11,18	92,88
18/05/2018	08:23:01	2,94	11,58	91,95
18/05/2018	08:33:01	3,29	12,00	90,31
18/05/2018	08:43:01	2,99	12,47	88,83
18/05/2018	08:53:01	3,24	12,99	87,73
18/05/2018	09:03:01	2,94	13,49	85,64
18/05/2018	09:13:01	3,24	13,94	84,53
18/05/2018	09:23:01	2,57	14,63	82,39
18/05/2018	09:33:01	3,14	15,16	80,06
18/05/2018	09:43:01	2,80	15,86	77,53
18/05/2018	09:53:01	2,70	16,24	75,88
18/05/2018	10:03:01	2,34	16,85	75,79
18/05/2018	10:13:01	2,52	17,47	73,29
18/05/2018	10:23:01	2,29	17,94	70,52
18/05/2018	10:33:01	0,02	18,52	70,13
18/05/2018	10:43:01	0,00	19,17	69,07

**Annexe 10.** Développement des pousses de bourse de la parcelle expérimentale

N° pousse à fruits	Nombre de feuilles de la pousse de bourse				
	20-avr	24-avr	02-mai	09-mai	18-mai
1	1	3	4	6	8
2	0,5	2,5	4,5	6	8
3	0	1	3	4	5
4	1	2,5	5	6,5	8
5	0,5	2,5	4	6	8
6	0	0,5	4	5	7
7	1,5	2	4	5	5
8	1,5	2	4	6	6
9	0,5	2	5	6,5	9
10	0,5	3	5	7	11,5
11	2	3	5	6	12
12	0,5	2,5	5	7	8
13	0,5	1,5	4	5	8
14	0,5	3	4	6	7,5
15	0,5	2	4	5,5	7,5
16	1	3	5	6	9
17	1	1,5	4	4	4
Etage moyen	0,8	2,2	4,3	5,7	7,7
Ecart-type	0,5	0,8	0,6	0,9	2,1

**Annexe 11.** Sortie de taches sur pousses inoculées au 22 juin (case vide = pas de feuille)

PE	N°pousse	Nombre de taches / étage								
		Rosette	5	6	7	8	9	10	11	12
404	1	0	0	2	6	0	0	10		
	2	0	0	0	0	0	0			
303	1	0								
	2	0	0	0	0	0	0	0	0	
201	1	0	0	0	0	0	0			
	2	0	0	0	0	0	0	0		
105	1	0	0	1	10	2				
	2	0								
402	1	0	0	8	8	1	0			
	2	0	0	0	0	0	0			
	3	0	0	0	0	0	0			
	4	0	0	0	0	0	0	0		
301	1	0	0	0	0	3	2			
	2	0	0	9	9	4				
	3	0	0	0	0	0	0	0	9	12
	4	0	0	0	0	0	0	0	0	
202	1	1	0	0	3	6	1	0		
	2	0	0	0	0	2	12	3	1	
	3	0	0	0	0	0	0			
	4	0								
101	1	0								
	2	0	0	0	0	0	0	0	0	
	3	0								
	4	0	0	0	0	0	0	0	0	
401	1	0	0	0	27	7	0	1		
	2	0	0	0	0	0	0	0		
304	1	0	0	0	0	2	1	0		
	2	0	0	0	0	0				
203	1	0	0	0	0	0				
	2	0	0	0	0	0	0	0	0	
102	1	0	0	0	0	0	0			
	2	0	0	0	0	0				
403	1	0	0	0	0	3	2			
	2	0	0	0	2	0	3			
302	1	0	0	0	0	6	1	3		
	2	0	0	0	0	0	0	0		
205	1	0	0	0	0	0	0	0		
	2	0	0	0	0	0	0	0	0	
103	1	0	0	0	0	0				
	2	0	0	0	0	0				

**Code couleur**

	M2
	M3
	M4
	M5

**Annexe 12.** Notation tavelure sur pousses non inoculées - Détail par parcelle élémentaire du pourcentage de feuilles infectées et du nombre moyen de taches sur 100 feuilles

**Code couleur**

	M1
	M2
	M3
	M4
	M5

Parcelle élémentaire	Moyenne de % de feuilles infectées	Moyenne de Nb de taches / 100 feuilles
104	17,5	60,5
204	26,5	190
305	18	122,5
405	18,5	108,5
105	18	66,5
201	12	50,5
303	14,5	94
404	18	122,5
101	12,5	24,5
202	15,5	85,5
301	23	145
402	35	260,5
102	7,9	9
203	15,5	85,5
304	16,5	114,5
401	6,5	31
103	17	45,5
205	21	145,5
302	17,5	126
403	16,5	106,5

## Annexe 13 : Analyses statistiques sur le pourcentage de feuilles tavelées et le nombre de taches sur 100 feuilles pour l'observation du 22 juin

Statbox 7.6 - Analyse de variance - 03/08/2018 à 14:26:53

Variable : % feuilles infectées

### Histogramme des résidus :

8		203			
7	104	404			
6	305	304			
5	403	103			
4	401	405			
3	201	303	105		
2	102	302	301	402	
1	101	202	205	204	
Effectifs					
	7	8	3	2	
Bornes					
	- 9, 25	- 3, 63	2, 0	7, 63	
	à	à	à	à	
	- 3, 63	2, 0	7, 63	13, 25	

Minimum : - 9,250 Maximum : 13,250 Intervalle : 5,625

### Indices de normalité (coefficients de K.PEARSON) :

Symétrie (valeur idéale théorique = 0) : Beta 1 = 0,423 Prob. : 0,204

Aplatissement (valeur idéale théorique = 3) : Beta 2 = 3,138 Prob. : 0,889

### Résidus suspects (méthode de GRUBBS) :

Aucun résidu suspect

### Cartographie des résidus :

	1	2	3	4	5
1					
2					
3					
4					

Légende :

	Donnée manquante
	< - 3,888
	< 0,000
	< 3,888
	< 999999,000

**Ecart type des résidus :**

Ecarts-types facteur 1 = F1

	E.T.
1 (M1)	3,568
2 (M2)	1,652
3 (M3)	6,309
4 (M4)	8,568
5 (M5)	8,855

$khi^2 = 7,223$  Prob. = 0,12313

**Analyse de variance :**

	S.C.E	DDL	C.M.	TEST F	PROBA
Var.TOTALE	719,483	19	37,868		
Var.FACTEUR 1	98,216	4	24,554	0,593	0,675
VAR.RESIDUELLE 1	621,267	15	41,418		

Statbox 7.6 - Analyse de variance - 03/08/2018 à 14:26:54

Variable : Nb de taches / 100 feuilles

**Histogramme des résidus :**

7	104			
6	403	305		
5	401	105	301	
4	201	203	404	
3	102	405	304	
2	103	303	205	402
1	101	202	302	204
Effectifs				
	7	6	5	2
Bornes				
	- 81, 51	- 30, 38	20, 75	71, 87
	à	à	à	à
	- 30, 38	20, 75	71, 87	123, 0

Minimum : - 81,508 Maximum : 123,000 Intervalle : 51,127

**Indices de normalité (coefficients de K.PEARSON) :**

Symétrie (valeur idéale théorique = 0) : Beta 1 = 0,277 Prob. : 0,304

Aplatissement (valeur idéale théorique = 3) : Beta 2 = 2,730 Prob. : 0,785

**Résidus suspects (méthode de GRUBBS) :**

Aucun résidu suspect

**Cartographie des résidus :**

	1	2	3	4	5
1					
2					
3					
4					

Légende :

	Donnée manquante
	< - 38,177
	< 0,000
	< 38,177
	< 999999,000

**Ecart type des résidus :**

Ecarts-types facteur 1 = F1

	E.T.
1 (M1)	53,451
2 (M2)	31,290
3 (M3)	59,619
4 (M4)	71,816
5 (M5)	86,108

$khi^2 = 2,598$  Prob. = 0,63036

**Analyse de variance :**

	S.C.E	DDL	C.M.	TEST F	PROBA
VarTOTALE	67270,738	19	3540,565		
Var.FACTEUR 1	7382,532	4	1845,633	0,462	0,764
VAR.RESIDUELLE 1	59888,207	15	3992,547		

**Annexe 14.** Développement des pousses de bourse d'une parcelle de production (taillée)

N° pousse à fruits	24-avr	02-mai	07-mai	15-mai	25-mai	29-mai
BBCH	65	69	69	71	73	74
1	0	0	0			
2	2	3	4,5	5	8	9
3	1	2,5	4	6	8	9
4	0,5	2,5	3,5	5	8	9
5	2	3,5	6	8	10	11
6	4,5	5,5	6	7	7	8
7	2	3	5	6	6	6
8	2	3	4,5	6	6	6
9	2,5	4	5,5	8	9	9
10	0,5	2	4	6,5	10	11
11	0	0,5	2,5	4	4	4
12	0	0	0			
13	1,5	3	4,5	6,5	7	7
14	2	2,5	4	6	8	8
15	0,5	1,5	3	4	6	6
16	2,5	4	5,5	8	9	9
17	2	3	5,5	7	10	12
18	1,5	3	5	6	8	8
19	1,5	2,5	3,5	5	6	7
20	0,5	2,5	5	6	8	10
Etage moyen	1,45	2,58	4,08	6,11	7,67	8,28
Ecart-type	1,11	1,33	1,69	1,22	1,64	2,05



	Diplôme : Ingénieur Spécialité : Horticulture Spécialisation / option : Protection des plantes et environnement en Horticulture (PPEH) Enseignant référent : Alexandre DEGRAVE
Auteur(s) : Marie TOUCHE  Date de naissance* : 04/12/1995	Organisme d'accueil : Raison'Alpes Adresse : 190 route de Gap, 04200 Sisteron
Nb pages :                      Annexe(s) :	Maître de stage : Laure PESTEIL, responsable d'expérimentation
Année de soutenance : 2018	
Titre français : Mise au point d'une méthode d'inoculation de tavelure en verger de pommier	
Titre anglais : Development of a methodology for scab inoculation in apple orchard	
Résumé (1600 caractères maximum) :	
<p>L'établissement d'une méthode d'inoculation de tavelure dans un verger de pommiers doit permettre à l'expérimentateur de maîtriser la pression du pathogène en vue d'optimiser les conditions d'expérimentation de méthodes de gestion. La méthode présentée ici repose sur l'application d'une suspension de conidies d'une souche unique de <i>V.inaequalis</i> sur des pousses de pommiers en croissance. La création d'un contexte favorable à l'infection fait aussi partie de la méthode, et repose sur le positionnement de l'inoculation et l'irrigation par aspersion sur frondaison de la parcelle. Cette méthodologie a fait l'objet d'un essai en verger. Afin de l'optimiser, trois facteurs pouvant influencer le développement et la dispersion de la maladie ont été étudiés : la quantité d'inoculum, le stade de développement des pousses et le nombre de pousses inoculées. Les inoculations n'ont pas conduit à un développement significatif de symptômes de tavelure. La technique adoptée est simple et reproductible, et n'est globalement pas remise en question, mais sa mise en œuvre doit être retravaillée afin d'espérer aboutir à un service fiable à proposer.</p>	
Abstract (1600 caractères maximum):	
<p>Inoculating scab in an apple orchard would facilitate the control of <i>V.inaequalis</i> pressure on experimental plots to enhance experiments of management methods. The technique presented here consists of the application of a conidial suspension made with conidia from a unique strain of <i>V.inaequalis</i> on growing shoots of apple trees. The creation of an optimal infection context consists of a good positioning of the inoculation and a use of the irrigation system to spray the foliage of apple trees. This methodology has been tested in a try in an orchard of twenty-year-old trees. Three factors known to influence the development and the dispersal of the disease were studied: the quantity of inoculum, the stage of development of the shoots and the number of shoots to inoculate. The inoculations did not produce any significant scab development. The technical is simple and easily reproducible but its implementation needs to be reconsidered to lead to a reliable service.</p>	
Mots-clés : Tavelure ; <i>V.inaequalis</i> ; infection ; contamination ; inoculation ; inoculum ; symptômes ; conidies ; pommiers ; leaves ; humectation ; température ; suspension ; pulvérisation	
Key Words: Scab ; <i>V.inaequalis</i> ; infection ; contamination ; inoculation inoculum ; symptoms ; conidia ; apple tree ; leaves ; leaf wetness ; temperature ; suspension ; pulverisation	