

**PROGRAMME D'APPUI AU DÉVELOPPEMENT DE L'AGRICULTURE ET DE
L'AGROALIMENTAIRE EN RÉGION**

**DÉTERMINATION DE LA PERSISTANCE DES BIOFONGICIDES À BASE DE BACTÉRIES UNE
FOIS APPLIQUÉS EN FRAISIÈRES**

Projet No. 6339679
2019 et 2020

RAPPORT FINAL

Réalisé par
Gérard Gilbert, agr. Msc.
Consultant en pathologie végétale

2021-01-22

Ce projet a été financé par le ministère de l'Agriculture, des Pêcheries et de
l'Alimentation, dans le cadre du Programme d'appui au développement de
l'agriculture et de l'agroalimentaire en région.

Québec 

Les résultats, opinions et recommandations exprimés dans ce rapport
émanent de l'auteur ou des auteurs et n'engagent aucunement
le ministère de l'Agriculture, des Pêcheries et de l'Alimentation.

PERSONNES IMPLIQUÉES DANS LA RÉALISATION DU PROJET

Gérard Gilbert, consultant en phytopathologie

François Demers, Les Productions Écolo-Max, club de productions agricoles

Sandra Paradis / Delfino tellez Jimenez, l'Arc-en-ciel du Paradis, ferme horticole

Stéphanie Tellier, MAPAQ, Direction régionale Capitale-Nationale

Le rapport peut être cité comme suit:

Gilbert, G., Demers, F., Paradis, S., Tellier, S. 2020, Détermination de la persistance des biofongicides à base de bactéries une fois appliqués en fraisières. Rapport PADAAR, 22 pages.

TABLE DES MATIÈRES

RÉSUMÉ DU PROJET	4
OBJECTIFS	4
MÉTHODOLOGIE.....	5
RÉSULTATS.....	9
CONNAISSANCES ACQUISES ET APPLICATIONS POSSIBLES POUR LES PRODUCTEURS.....	19
RETOMBÉES RÉGIONALES DU PROJET	20
RÉFÉRENCES	20
CONTACT POUR INFORMATION	20
REMERCIEMENTS AU PARTENAIRE FINANCIER	21
REMERCIEMENTS AUX AUTRES PARTENAIRES et CONSULTANTS.....	21
ANNEXES.....	22

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1. Méthodologies comparatives appliquées aux échantillons en 2019 et 2020	7
Tableau 2. Dispositif et méthodologie comparatives en fraisière en 2019 et 2020.....	8
Tableau 3. Estimation semi quantitative des <i>Bacillus</i> isolés des parcelles traitées	15
Tableau 4. Relevé météorologique correspondant à la période de réalisation de l'essai en juin 2020.....	16
Tableau 5. Relevé météorologique correspondant à la période de réalisation de l'essai en juillet 2020	17

RÉSUMÉ DU PROJET

Avec la popularité croissante de l'agriculture biologique, les biopesticides intéressent de plus en plus les conseillers agricoles et les producteurs de fraises. Leurs usages soulèvent cependant des questionnements à savoir si les microorganismes qui composent les produits commerciaux sont toujours vivants lors de la réception des produits, le demeurent-ils une fois appliqués en champ et si oui, combien de temps ? Afin de répondre à ces questionnements, les travaux réalisés dans le cadre du projet ont été effectués de façon concomitante en laboratoire et en fraisière au cours des étés 2019 et 2020. Les taux de viabilité des bactéries inscrits à l'étiquette des biofongicides Serenade Opti, Double Nickel 55 et Actinovate SP ont d'abord été testés. Des suspensions (dissolutions) et des dilutions des produits ont été inoculées sur des géloses de croissance. Des parcelles de fraisières ont ensuite été pulvérisées avec ces biofongicides dès le début de la floraison puis les parties florales ont été échantillonnées à différents moments. Au moyen des isollements sur géloses, les bactéries composant les biofongicides ont été recherchées dans les échantillons des parties florales.

OBJECTIFS

Les essais de 2019 et 2020 visaient d'une part à déterminer si les bactéries antagonistes (*Bacillus spp.*, *Streptomyces spp.*) présentes dans les produits commerciaux homologués (Serenade Opti, Double Nickel 55 et Actinovate SP) pouvaient survivre et se multiplier sous les conditions de cultures des fraises d'été au Québec.

D'autre part, l'essai cherchait également à savoir si les bactéries contenues dans ces biofongicides pouvaient survivre sur les fraisiers et quel en était leur persistance en champ en fonction des diverses conditions météorologiques rencontrées suite à leur application.

MÉTHODOLOGIE

ESSAIS EN LABORATOIRE EN 2019 et 2020

1. Vérification de la viabilité des trois biofongicides bactériens

La viabilité des inoculums des trois biofongicides commerciaux (Serenade Opti, Double Nickel 55 et Actinovate SP) a été testée avant de les utiliser dans les essais selon la démarche suivante :

- Dissolution de 1g de chaque produit dans 1000 mL (10^3) d'eau bouillie, suivie d'une première dilution de la suspension à 1mL/1000ml (10^6), puis d'une seconde à 1mL/1000ml (10^9) ;
- Étalement de la suspension à 1mL/1000ml (10^9) sur les géloses SNA ou PDA ;
- Décompte des colonies (CFU) dès leur apparition (24 à 36 heures pour *Bacillus*; 5 jours pour *Streptomyces*) ;
- Calcul d'équivalence de CFU pour 1g de produit en multipliant par les facteurs de dilution pour fin de comparaison avec la garantie de concentration du produit inscrite aux étiquettes.

2. Vérification de la viabilité des *Bacillus* du Serenade Opti, Double Nickel 55 dissouts dans deux sources d'eau de la ferme

Pour s'assurer que la qualité de l'eau n'exerçait pas d'effets suppressifs sur les *Bacillus*, une vérification a été faite sur deux sources d'eau de la ferme, celle du kiosque et celle de l'étang d'irrigation selon une approche très simplifiée :

- Deux parcelles de 13 mètres
- Deux biofongicides (Serenade Opti et Double Nickel 55)
- Trois applications espacées d'une semaine
- Échantillonnage de feuillage 3 jours après le dernier traitement
- Extraction des bactéries par la mise en suspension de 2g de tissus/100mL d'eau saline
- Isolement sur géloses avec dilutions 100x comparé à sans dilution

3. Vérification de la sensibilité des *Bacillus* spp. à deux pesticides conventionnels utilisés par le producteur

Dix jours avant l'essai, le producteur avait traité par erreur les parcelles avec l'insecticide Ripcord (cyperméthrine) et le fongicide Maestro (captane). Si un effet toxique potentiel de ces produits pouvait affecter les *Bacillus*, cet effet s'était vraisemblablement beaucoup atténué après 10 jours, moment où les pulvérisations ont débuté. La sensibilité des *Bacillus* spp. à ces pesticides a cependant été brièvement vérifiée. Un test de croissance sur des géloses enrichies avec ces pesticides a été effectué.

4. Évaluation de la nécessité des dilutions sur les extraits d'échantillons avant de procéder aux isolements

Cette vérification des concentrations bactériennes a été utilisée en 2020 afin d'obtenir sur les géloses des colonies bactériennes isolées l'une de l'autre et de pouvoir reconnaître plus aisément les contours finement dentelées, caractéristiques des *Bacillus*. Un test préliminaire a été effectué sur les échantillons de 3 jours et 18 jours provenant des parcelles de Serenade Opti et Double Nickel 55. Les dilutions ont été effectuées de la manière suivante :

- Un g. d'échantillon mis en suspension dans 100 mL d'eau saline durant une heure;
- Un mL de la suspension est prélevé et complété pour obtenir 100 mL de suspension (dilution 100x);
- Un mL est prélevé de la dilution précédente et complété pour obtenir 10 mL (dilution 1000x).

5. Test de survie des *Bacillus* spp.

Des géloses de PDA ont été inoculées avec des cultures pures de *Bacillus* spp provenant du Serenade Opti et Double Nickel 55. Ces cultures ont été soumises au dessèchement sur une période de 10 semaines avant de servir d'inoculum pour de nouvelles géloses. Une démarche comparable a été réalisée avec des cultures bactériennes de *Bacillus* congelées puis décongelées avant de servir aussi d'inoculum pour de nouvelles géloses. Parmi les méthodes de conservation des échantillons, Dre Carolle Beaulieu ne recommandait pas la congélation ni le séchage des échantillons au risque d'affecter la survie les *Bacillus* spp., mais nous voulions valider ce qu'il en était réellement.

6. Extraction des bactéries contenues dans les échantillons des essais

Deux grammes d'échantillons ont été mis en suspension dans de l'eau légèrement saline (8,5g de sel/litre d'eau) afin d'en extraire les bactéries de tous genres. Le volume d'eau et la durée d'extraction ont été supérieurs en 2019 (année exploratoire de l'essai), qu'en 2020.

Les *Bacillus* sont des bactéries dont certaines produisent des spores résistantes aux hautes températures. Dans un objectif de sélectivité, les extractions ont été chauffées à 73°C durant 10 minutes afin d'éliminer les microorganismes contaminants sensibles à ces conditions tel que présenté au tableau 1. Le préchauffage a été appliqué aux échantillons de 2019.

Les quantités de liquide extrait étalés sur les géloses ont été plus importantes dans l'essai de 2020. Les étalements ont été faits sur des géloses de types PDA et SNA suivi de l'incubation (T° moy. J/N : 23/30C). Des suivis quotidiens ont été faits pour les colonies bactériennes puis comparaisons avec les cultures témoins (tableau 1).

Tableau 1. Méthodologies comparatives appliquées aux échantillons en 2019 et 2020		
	2019	2020
Conservation des échantillons avant l'extraction (jours) ¹	15 jours à 8°C	10 jours à 8°C -10°C
Pré traitement des extraits à la chaleur ²	73°C 10 minutes pour <i>Bacillus</i> 55°C 10 minutes pour <i>Streptomyces</i>	Aucun
Extraction des bactéries dans l'eau saline	2,5g/100mL durant 5 heures	2g/100mL durant 1 heure
Dilution	Aucune	100x, 1000x
Types de géloses	SNA, PDA, LPGA	PDA
Volume d'inoculant/gélose	200 uL	500 uL
Nombre de géloses allouées à chaque échantillon	5	6
Nombre d'échantillon labo	90	20
Durée minimale d'incubation (jours)	3	3
¹ Congélation et séchage non recommandés (Dre C. Beaulieu) ² L'effet sélectif du pré-chauffage à cette température éliminerait plusieurs types de microorganismes sauf les <i>Bacillus</i> (Dre C. Beaulieu)		

ESSAIS AU CHAMP EN 2019 et 2020

7. L'application des biofongicides et les moments d'échantillonnage

Le tableau 2 résume et compare le travail effectué dans les parcelles en 2019 et 2020. Les différences entre les méthodologies des deux années sont expliquées au chapitre suivant traitant des résultats.

Tableau 2. Dispositif et méthodologie comparatives en fraisière en 2019 et 2020		
	2019	2020
Traitements (biofongicides)	Serenade Opti, Double Nickel 55 et Actinovate SP (eau du kiosque)	Serenade Opti et Double Nickel 55 (eau du kiosque)
Dispositif	4 parcelles, 5 répétitions	2 parcelles sans répétitions
Longueur d'une parcelle	4 mètres	13 mètres
Rang de garde	2 mètres	2 mètres
Cultivar	St-Laurent 2 ans	St-Laurent 2 ans
Quantité totale de bouillie/parcelle	250mL	1L
Dose de Serenade Opti	8g/4L	8g/4L
Dose de Double Nickel 55	5g/4L	5g/4L
Dose d'Actinovate SP	1g/4L	(Retiré)
Nombre de pulvérisations	1	3
Dates des pulvérisations	17 juillet	13, 20 et 27 juin
Stade d'application	Début floraison	Début floraison
Moments d'échantillonnage (nombre de jours après le dernier traitement ; 0 = témoin avant traitement)	0, 2, 4, 6, 8, 10	0, 3, 6, 10, 18
Date des échantillonnages	14-07, 19-07, 21-07, 23-07, 25-07, 27-07	13-06, 30-06, 03-07, 07-07, 15-07
Nombre de prélèvements/sachet	30	30
g/sachet	5 g	5 g
Nb d'échantillons parcelle	120	20

8. Vérification de la dispersion des *Bacillus* spp hors des parcelles traitées

En 2020, la dernière prise d'échantillons au jour 18 a été accompagnée d'un échantillonnage additionnel effectué dans la parcelle de garde située entre les deux parcelles de l'essai. Cinq grammes de sépales ont été recueillis pour y rechercher des *Bacillus*.

RÉSULTATS

ESSAIS EN LABORATOIRE EN 2019

1. Vérification de la viabilité des trois biofongicides bactériens

Les colonies de *Bacillus subtilis* (Serenade Opti) et *Bacillus amyloliquifasciens* (Double Nickel 55) dénombrées sur les géloses correspondaient à l'ordre de grandeur inscrite sur l'étiquette soit $1,3 \times 10^{10}$ cfu pour Serenade Opti et 5×10^{10} cfu pour Double Nickel 55 (photos 1 et 2).



PHOTOS 1 et 2. À gauche, cultures pures de *Bacillus* spp obtenues du testage effectué des produits Serenade Opti et Double Nickel 55. À droite, *Streptomyces lydicus* composant l'Actinovate SP Source : Gérard Gilbert

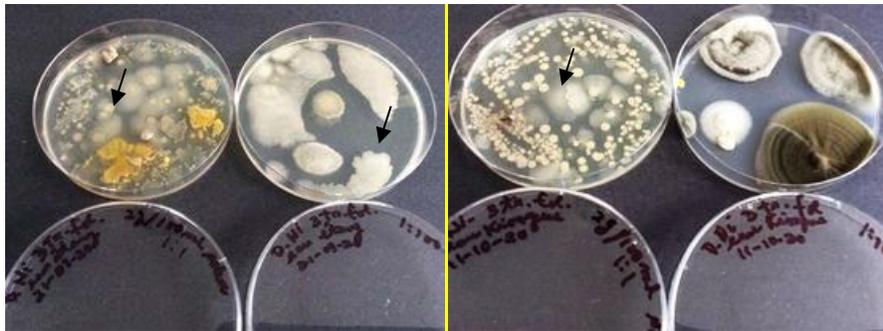
Concernant *Streptomyces lydicus*, l'usage de différents types de géloses de croissance et de durées d'incubation sous diverses températures ne permettaient pas d'obtenir chaque fois des colonies bactériennes. Ce test de viabilité effectué sur deux sachets différents d'Actinovate SP a donné les mêmes résultats inconsistants. Des échantillons d'Actinovate SP ont été remis au Dre Carole Beaulieu de l'université de Sherbrooke, spécialiste des *Streptomyces*, pour fin de

vérification. Dre Beaulieu n'est pas parvenu à faire croître les *Streptomyces* des échantillons d'Actinovate SP. L'Actinovate SP n'a pas été retenu dans l'essai de 2020 parce que ses tests de viabilité ne donnaient pas de résultats stables ni constants.

ESSAIS EN LABORATOIRE EN 2020

2. Vérification de la viabilité des *Bacillus* du Serenade Opti, Double Nickel 55 dissouts dans deux sources d'eau de la ferme

Des colonies de *Bacillus* ont été isolées avec des bouillies préparées à partir des deux sources d'eau de la ferme (photos 3 à 6). La qualité de l'eau de la ferme n'a pas eu d'effets néfastes sur la viabilité des *Bacillus*.



PHOTOS 3 et 4. Double Nickel 55 dissout dans l'eau de l'étang à gauche vs l'eau du kiosque à droite ; des colonies de *Bacillus* croissent parmi celles de d'autres bactéries et des champignons contaminants Source : Gérard Gilbert



PHOTOS 5 et 6. Serenade Opti dissout dans l'eau de l'étang à gauche vs l'eau du kiosque à droite ; des colonies de *Bacillus* croissant parmi celles de d'autres bactéries et de champignons contaminants Source : Gérard Gilbert

3. Vérification de la sensibilité des *Bacillus* spp. à deux pesticides conventionnels utilisés par le producteur

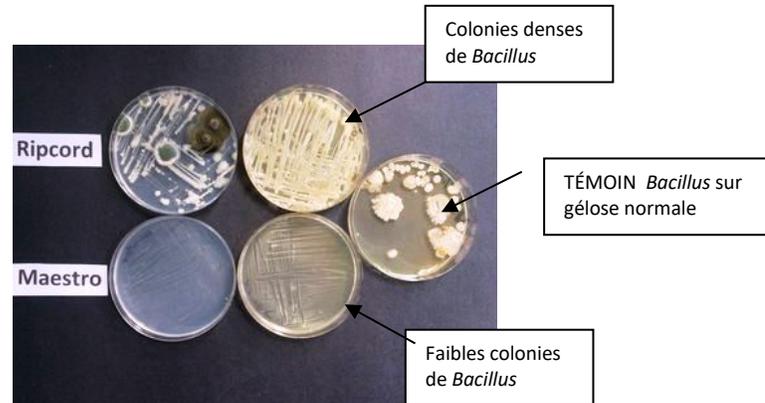


PHOTO 7. Test de sensibilité des *Bacillus* spp à deux pesticides appliqués sur les parcelles Source : Gérard Gilbert

Mis en contact avec le Ripcord, *Bacillus* a produit des colonies mais leurs apparences étaient modifiées (photo 7). Le Maestro avait cependant limité de manière importante le développement des colonies de *Bacillus*.

4. Évaluation de la nécessité des dilutions sur les extraits d'échantillons avant de procéder aux isolements

Les dilutions effectuées pour les moments d'échantillonnage de 3 jours et de 18 jours ont permis d'obtenir des colonies de *Bacillus* spp. isolées l'une de l'autre et de reconnaître le contour caractéristique comparable à celui de la culture témoin (photos 8 et 9). Mis à part l'assurance que les taux de dilution choisis étaient adéquats, cette vérification révélait déjà que des *Bacillus* se retrouvaient dans les échantillons, qu'ils étaient viables et qu'ils persistaient dans les parcelles jusqu'à 18 jours après les pulvérisations de Serenade Opti et Double Nickel 55.

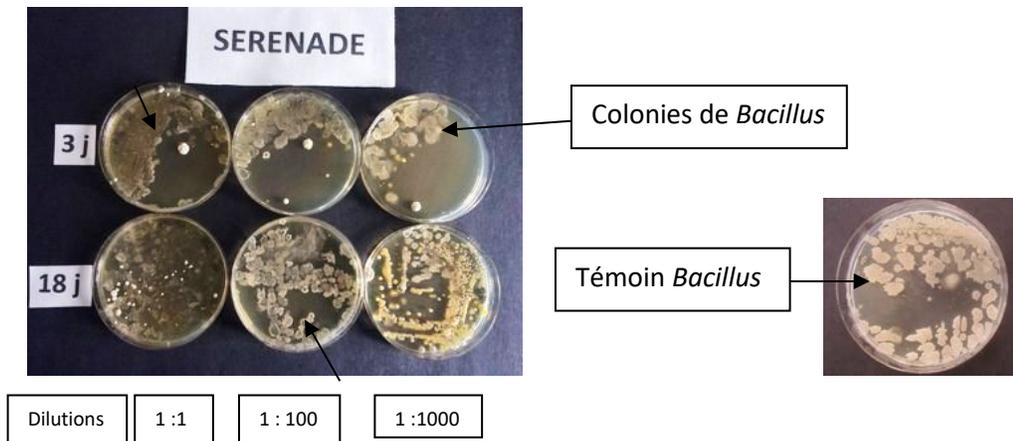


PHOTO 8. Colonies bactériennes de *Bacillus subtilis* (Serenade Opti) montrant les marges dentelées caractéristiques de leurs colonies bactériennes.
Source : Gérard Gilbert

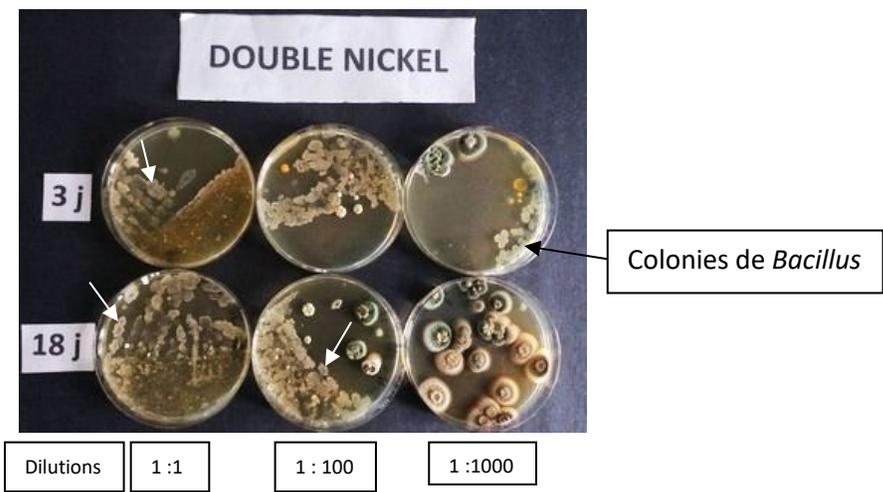


PHOTO 9. Colonies bactériennes de *Bacillus amyloliquifasciens* (Double Nickel 55) montrant les marges dentelées caractéristiques de leurs colonies bactériennes.
Source : Gérard Gilbert

5. Test de survie des *Bacillus* spp.

Des colonies de *Bacillus* ont été obtenues à partir de vieilles colonies bactériennes de 12 semaines complètement desséchées mais aussi de colonies qui avaient subies la congélation et la décongélation. Capables de survivre à ces conditions, nous croyons que tous les échantillons auraient pu être conservés selon l'une ou l'autre des méthodes (photo 10).

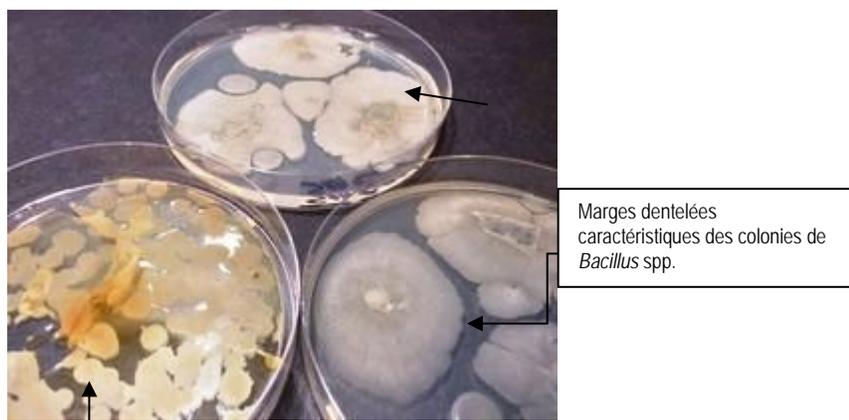


PHOTO 10. Colonies bactériennes de *Bacillus amyloliquifasciens* (Double Nickel 55) déshydratées de 12 semaines (à gauche) ayant servi à inoculer des géloses fraîches (à droite)
Source : Gérard Gilbert

ESSAIS AU CHAMP EN 2019 ET 2020

6. Application des biofongicides et moments d'échantillonnage

À la première année de l'essai en 2019, aucune colonie bactérienne des produits appliqués aux parcelles n'a été récupérée sur les géloses de croissance et ce, à tous les moments d'échantillonnage jusqu'à 10 jours. Un essai précédent réalisé par Gérard Gilbert en 2017 où Serenade Opti et Double Nickel 55 faisaient partie des traitements appliqués sur des parcelles de fraisières, avait montré des résultats comparables. Ce résultat était d'ailleurs un des éléments à l'origine du questionnement quant à la viabilité et à la survie au champ de ces bactéries. Cependant, un autre essai réalisé en cabinet de croissance en 2017 avait pourtant permis de récupérer dans le feuillage de grandes quantités de *Bacillus* pulvérisés aux fraisières : la quantité insuffisante d'inoculum appliquée avait été soupçonnée. Cependant, dans l'essai de 2019, le préchauffage des échantillons, effectué dans le but d'éliminer les contaminations et de faciliter le développement des colonies cibles, est considéré comme un facteur important ayant pu aussi nuire à la récupération des bactéries recherchées (photos 14 à 17 en annexe). S'il s'était avéré concluant, le préchauffage sélectif aurait permis d'éviter la dilution des extractions et de réduire le nombre d'isolements dans les essais des deux années, ce qui ne fut pas le cas.

Des modifications ont été apportées à la méthodologie de l'essai en 2020, tel que présenté au tableau 3. Les modifications ont été bénéfiques; elles ont permis de vérifier la viabilité et la présence des *Bacillus* pour tous les moments d'échantillonnage. Les géloses inoculées avec les échantillons dilués 100x suffisaient généralement à obtenir des colonies isolées de *Bacillus* sp. reconnaissables et comparables à celles des témoins. Les isollements effectués sur les échantillons de la parcelle Double Nickel 55 ont montré des résultats comparables à ceux obtenus avec Serenade Opti (photos 11 et 12). La lecture des croissances sur les géloses montrent que le Double Nickel 55 avait cependant développé moins de colonies bactériennes que Serenade Opti (tableau 3).



PHOTO 11. Colonies de *Bacillus* issues de l'application de Serenade Opti en 2020, provenant des isollements effectués sur les parties florales des fraises pour des moments d'échantillonnage variant de 3 jours à 18 jours selon trois dilutions.

Source : Gérard Gilbert



PHOTO 12. Colonies de *Bacillus* issues de l'application de Double Nickel 55 en 2020 provenant des isollements effectués sur les parties florales des fraises pour des moments d'échantillonnage variant de 3 jours à 18 jours selon trois dilutions.
Source : Gérard Gilbert

Tableau 3. Estimation ¹ semi quantitative des <i>Bacillus</i> isolés des parcelles traitées						
	SERENADE OPTI			DOUBLE NICKEL 55		
	TAUX DE DILUTION					
Nombre de jours après le 3 ^{ème} traitement	Sans dilution (2g/100 ml)	100x	1000x	Sans dilution (2g/100 ml)	100x	1000x
0	0	0	0	0	0	0
3	+++	++	++	+++	++	+
6	++	++	+	++	+	+
10	+++	++	+	+++	+	+
18	++++	+++	+++	+++	++	-

¹+ = colonies de *Bacillus* spp occupant un quadra soit ¼ de la surface de la gélose PDA

Le dénombrement des colonies de *Bacillus* sur les géloses n'a pas été effectué; cette donnée n'avait pas été jugée pertinente pour les objectifs du projet. De plus, elle n'aurait pas été utile sans la corrélérer à d'autres paramètres tels que l'occurrence d'une maladie par exemple.

Les résultats obtenus en 2020 ont permis d'atteindre les objectifs du projet et peuvent être expliqués par trois facteurs. D'abord, le pré chauffage des échantillons, même selon les températures qui devaient épargner les *Bacillus*, a semblé affecter ces bactéries. La quantité d'inoculum appliquée aux parcelles a été trois fois plus importante qu'en 2019, créant

vraisemblablement un effet de saturation du feuillage. Les trois pulvérisations espacées d'une semaine limitaient beaucoup les risques qu'aucune d'entre elles ne permette le succès du traitement. Finalement, les températures particulièrement chaudes dans la période du 13 juin au 18 juillet 2020 lorsque l'essai s'est réalisé, auraient été particulièrement favorables à la multiplication des *Bacillus* (T opt. 34°-37°C)(Tableau 3, 4 en annexe). Les très faibles précipitations enregistrées pour cette période n'ont pas semblé avoir eu d'effets négatifs sur le développement des bactéries. Les écarts importants de températures jour/nuit ont peut-être même favorisé la condensation de l'humidité dans le feuillage des fraisiers, conditions favorables au développement des bactéries. La station météorologique de Deschambault, qui est la plus proche du site de l'essai, a enregistré au total 8mm de pluie tombée au cours des semaines où les pulvérisations ont été faites sur les parcelles et 3mm pour les 13 jours suivants qui correspondaient à la période où les échantillons ont été prélevés. De plus, le fort orage du 11 juillet n'a pas semblé affecter les populations bactériennes toutes aussi abondantes dans les échantillons de 18 jours prélevés le 15 juillet.

Tableau 4. Relevé météorologique correspondant à la période de réalisation de l'essai en juin 2020				
Dates Juin 2020	Température maximum de jour (°C)	Température minimum de nuit (°C)	Pluie (mm)	Interventions effectuées
13	19	6	-	Échantillons 0 jours suivis du 1 ^{er} traitement
14	21	3	-	
15	25	5	-	
16	29	6	-	
17	32	8	-	
18	34	12	-	
19	34	12	-	
20	28	16	-	2 ^{ème} traitement
21	34	14	-	
22	34	15	-	
23	35	18	3	
24	25	20	-	
25	23	13	-	
26	27	11	2	
27	22	14	3	3 ^{ème} traitement
28	25	16	2	
29	22	16	1	
30	22	16	-	Échantillons jour 3

Source : Atlas climatique du Québec, observations quotidiennes, MDDELCC, station de Deschambault

Tableau 5. Relevé météorologique correspondant à la période de réalisation de l'essai en juillet 2020

Dates juillet 2020	Température maximum de jour (°C)	Température minimum de nuit (°C)	Pluie (mm)	Interventions effectuées
1	31	13	-	
2	29	16	-	
3	29	14	-	Échantillons jour 6
4	30	11	-	
5	23	12	-	
6	26	12	-	
7	29	13	-	Échantillons jour 10
8	31	21	-	
9	34	17	-	
10	34	21	-	
11	28	22	26	
12	28	21	-	
13	28	16	-	
14	22	17	-	
15	25	11	-	Échantillons jour 18
16	25	16	14	
17	23	17	4	
18	30	16	13	

Source : Atlas climatique du Québec, observations quotidiennes, MDDELCC, station de Deschambault

7. Vérification de la dispersion naturelle des *Bacillus* spp hors des parcelles traitées

Les isollements effectués sur les échantillons prélevés dans la parcelle de garde ont révélé une faible présence de *Bacillus* (photo 13). Les insectes pollinisateurs, le vent, la pluie, la circulation entre les rangs et peut être même les cueilleurs ont vraisemblablement disséminé ces bactéries en dehors des parcelles de l'essai.



PHOTO 13. Rares colonies de *Bacillus* provenant des échantillons prélevés dans la parcelle de garde (3m) entre les deux parcelles de l'essai.

Source : Gérard Gilbert

CONNAISSANCES ACQUISES ET APPLICATIONS POSSIBLES POUR LES PRODUCTEURS

Les bactéries antagonistes (*Bacillus* spp) des produits commerciaux homologués composant le Serenade Opti et le Double Nickel 55 survivent et se multiplient sous les conditions de cultures des fraises d'été au Québec.

Les *Bacillus* spp. demeurent présents sur les tissus floraux jusqu'à 18 jours après la troisième pulvérisation, ce qui est au-delà des 10 jours inscrits à l'étiquette des produits pour le délai moyen de rappel des traitements.

Trois pulvérisations de Serenade Opti et de Double Nickel 55 permettent à l'inoculum de bien coloniser le feuillage des fraisiers et de récupérer des bactéries au moyen des isollements. Une seule pulvérisation de Serenade Opti ou de Double Nickel 55 tel que réalisée en 2019 ne semblait pas suffisante pour bien installer l'inoculum dans le couvert végétal des fraisiers et pourrait expliquer en partie le problème rencontré dans l'essai de 2019.

Le traitement sélectif de préchauffage appliqué sur les extractions en 2019, réalisé dans le but d'éliminer les contaminations et de faciliter la croissance et la reconnaissance des *Bacillus* sur les géloses, a pu affecter de manière importante la viabilité des bactéries recherchées.

Les *Bacillus* détectés d'échantillons prélevés en dehors des parcelles traitées démontrent le potentiel de dissémination de ces bactéries.

Dans un contexte de lutte à la moisissure grise, la recommandation préventive d'appliquer Serenade Opti ou Double Nickel 55 trois jours avant des conditions propices à l'infection des fleurs de fraisiers par *Botrytis cinerea* permettrait d'établir l'inoculum de façon certaine (les infections ont lieu lorsque les conditions sont humides > 90 % humidité relative ; pluie, rosée ; des températures fraîches à tempérées (15 à 25 °C) et lorsqu'un contact est assuré avec de l'eau libre pendant 6 à 24 heures) (Tellier, S., 2020).

Serenade Opti et Double Nickel 55 ont montré une sensibilité lors d'un test sur gélose enrichie de captan. Cependant, une application de Ripcord et de Captan aux parcelles dix jours avant de débiter les pulvérisations n'a pas affectée les *Bacillus* spp.

Quand il ne présentait pas "zéro croissance", les *Streptomyces* composant l'Actinovate SP nécessitent plusieurs jours d'incubation et des températures chaudes lorsque cultivés artificiellement sur quelques types de géloses.

Un test de viabilité des biopesticides avant leur utilisation permet de vérifier la garantie la viabilité de l'inoculum inscrite à l'étiquette et contribue à sauver du temps et des ressources.

Dans la poursuite du travail entrepris, il serait intéressant de connaître le nombre de jours maximal où les *Bacillus* sont vivants et détectables sur les fraisiers et d'établir une "densité d'inoculum minimale active" suffisante à contrôler la moisissure grise, l'antracnose et l'oidium chez la fraise.

RETOMBÉES RÉGIONALES DU PROJET

Les conseillers agricoles et les producteurs qui doutent de la viabilité des biofongicides bactériens ou de leur persistance réelle, hésitent à recommander ou à appliquer ces produits, ce qui retarde la transition vers leur adoption. L'essai apporte des connaissances sur le comportement de quelques biofongicides dans une fraisière régionale, ce qui aidera à appuyer les recommandations faites auprès des producteurs biologiques et soutiendra leur transition vers ce type de production.

RÉFÉRENCES

Tellier, S., 2020, LA MOISSURE GRISE DANS LA FRAISE, fiche technique RAP fraise : https://www.agrireseau.net/documents/Document_100134.pdf

CONTACT POUR INFORMATION

Gérard Gilbert, agr., 418 286 4239
gilbert.phytoconsultant@gmail.com

REMERCIEMENTS AU PARTENAIRE FINANCIER

Ce projet a été possible grâce à une aide financière du Programme d'Appui au Développement de l'Agriculture et de l'Agroalimentaire en Région (PADAAR) de la Direction régionale de la Capitale-Nationale du MAPAQ.

REMERCIEMENTS AUX AUTRES PARTENAIRES et CONSULTANTS

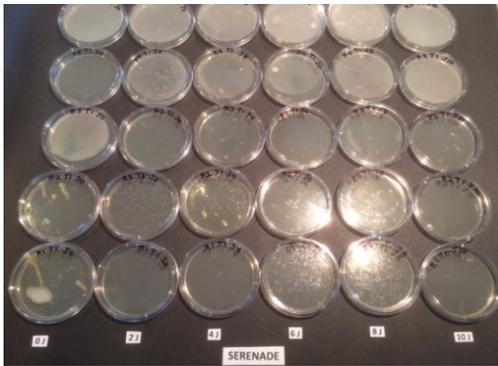
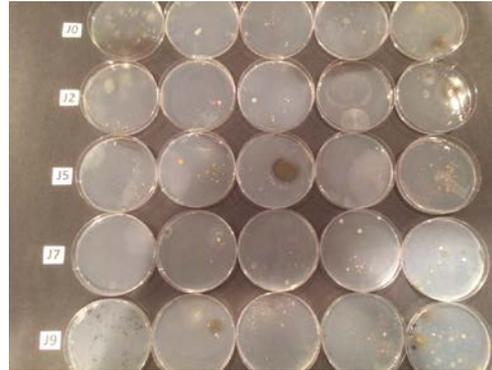
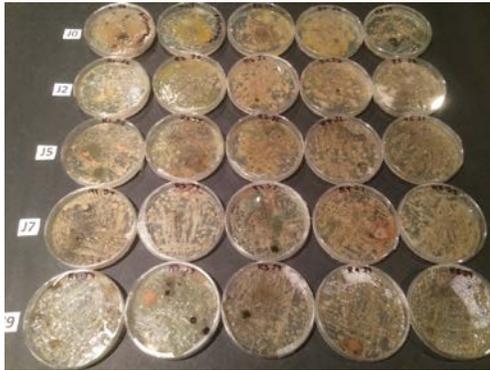
Ferme horticole "L'Arc-en-ciel du Paradis", Cap-Santé

François Demers, agr., Écolo-Max

Stéphanie Tellier, agr. Msc., MAPAQ, Direction régionale Québec Rive-nord

Dre Carolle Beaulieu, PhD, chercheure au Département de Biologie, Université de Sherbrooke

ANNEXES



PHOTOS 14 à 17. Contaminations bactériennes obtenues dans les isolements en 2019 pour tous les moments d'échantillonnage (En haut à gauche : échantillons Actinovate SP non chauffés ; à droite : prétraitement de chauffage). En bas, échantillons pré-chauffés des parcelles traitées avec Serenade Opti et Double Nickel 55 ; des colonies de *Pseudomonas fluorescens* contaminantes y croissent.

Source : Gérard Gilbert