

**INVENTAIRE ET ÉTUDE DU CHAMPIGNON ENTOMOPATHOGÈNE DU TARSONÈME DU FRAISIER
HIRSUTELLA SP. AFIN DE DÉVELOPPER UNE STRATÉGIE DE LUTTE BIOLOGIQUE DE
CONSERVATION EN PRODUCTION DE FRAISES**

NUMÉRO DU PROJET : 6944819

DURÉE DU PROJET : 1 ANS. DÉBUT : MAI 2021 / FIN : FÉVRIER 2022

RAPPORT FINAL

Réalisé par :

Frédéric McCune¹, Steven L'Heureux Lepage¹, Joseph Moisan-De Serres²,
Stéphanie Tellier², François Demers³, Patrice Thibault⁴, Silvia Todorova⁵ et Valérie
Fournier¹

¹ Université Laval, ² MAPAQ, ³ Club Écolo-Max Inc., ⁴ Réseau Lutte Intégrée Orléans
(RLIO), ⁵ Anatis Bioprotection

2 février 2022

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.

TITRE DU PROJET : INVENTAIRE ET ÉTUDE DU CHAMPIGNON ENTOMOPATHOGENÈ DU TARSONÈME DU FRAISIER *HIRSUTELLA* SP. AFIN DE DÉVELOPPER UNE STRATÉGIE DE LUTTE BIOLOGIQUE DE CONSERVATION EN PRODUCTION DE FRAISES

NUMÉRO DU PROJET : 6944819

RÉSUMÉ DU PROJET

L'objectif de ce projet était d'accroître nos connaissances sur le champignon entomopathogène *Hirsutella* sp. dans l'optique de développer une stratégie de lutte biologique de conservation contre le tarsonème du fraisier. Par ce projet, nous démontrons que le champignon est répandu dans plusieurs fraisières des régions de la Capitale-Nationale et de Chaudière-Appalaches et qu'il peut être retrouvé durant toute la saison de croissance, jusqu'à tard à l'automne (début novembre). Nous n'avons toutefois pas réussi à investiguer statistiquement les paramètres influençant sa répartition et son abondance, mais nous avons identifié des pistes potentielles et acquis d'importantes connaissances pour initier une autre étude afin de poursuivre cette recherche.

CONTEXTE

Le tarsonème du fraisier est un ravageur important dans la culture de la fraise, car il occasionne des pertes de rendement élevées alors que les méthodes de lutte disponible contre cet acararien sont très peu nombreuses. Depuis le retrait de l'endosulfan par l'ARLA (Agence de réglementation de la lutte antiparasitaire), les producteurs n'ont qu'un seul acaricide qui présente une certaine efficacité. Il est donc utilisé à répétition et les chances que des tarsonèmes résistants soient sélectionnés sont en augmentation. Cependant, certains producteurs s'en tirent admirablement bien, alors qu'ils subissent de très faibles infestations de tarsonèmes tout en n'appliquant pas ou peu d'acaricides. Lors d'essais exploratoires réalisés en 2020 afin d'investiguer ce phénomène, nous avons découvert, chez un producteur de l'Île d'Orléans, une dizaine de tarsonèmes naturellement mycosés par un champignon entomopathogène indigène. Le séquençage du champignon a révélé qu'il s'agissait d'un champignon entomopathogène du genre *Hirsutella* sp. Nous croyons que la présence de champignons entomopathogènes dans certains champs facilite le contrôle du tarsonème et que certaines pratiques à la ferme (régie de culture, intrants agricoles...) influencent la présence de ces champignons.

OBJECTIFS ET APERÇU DE LA MÉTHODOLOGIE

L'objectif de ce projet était de contribuer au développement de stratégies de lutte biologique de conservation (Pell et al., 2010) avec *Hirsutella* sp. contre le tarsonème du fraisier (voir Patenaude et al. (2020); Stenseth and Nordby (1976)) dans les fraises. Les sous-objectifs étaient 1) de déterminer la répartition d'*Hirsutella* sp. dans les fraisières de la région et d'identifier les variations spatiales et saisonnières de cette répartition, 2) d'identifier les facteurs expliquant cette variabilité (conditions météo, régie de culture, intrants agricoles...) et 3) de valider la pathogénicité d'*Hirsutella* sp. contre les tarsonèmes. À moyen terme, l'objectif de ce projet serait de développer une stratégie en champ afin de favoriser la présence d'*Hirsutella* sp.

La méthodologie utilisée pour répondre à ces objectifs impliquait essentiellement la récolte de feuilles de fraisiers dans différents champs des régions de Chaudière-Appalaches et de la Capitale-Nationale. Nous avons tout d'abord identifié neuf fraisières (cinq dans la Capitale-Nationale et quatre dans Chaudière-Appalaches) afin d'y prélever des échantillons. Ce nombre a cependant été réduit à six (quatre dans la Capitale-Nationale et deux dans Chaudière-Appalaches) pour des raisons logistiques et afin de cibler les fraisières ayant le plus grand potentiel pour le projet. Chaque région a été visitée aux deux semaines, en alternance, à l'exception de la fraisière de l'Île d'Orléans où le champignon a été initialement découvert, qui a été visitée pratiquement hebdomadairement. De plus, nous avons profité de notre présence dans d'autres fraisières en Montérégie et en Mauricie pour y prélever des échantillons à quelques reprises. Les échantillonnages de feuilles de fraisiers se sont échelonnés du 10 juin 2021 jusqu'aux premières neiges, soit jusqu'au 23 novembre 2021. Au final, des échantillonnages ont été fait dans 29 champs sur 12 fraisières réparties dans quatre régions (Chaudière-Appalaches et Capitale-Nationale, mais aussi Mauricie et Montérégie). Parmi celles-ci, six fraisières ont été exhaustivement échantillonnées tout l'été, mais une seule l'a été pour les mois d'octobre et novembre (la fraisière initiale de l'Île d'Orléans). En moyenne, 30 feuilles étaient récoltées lors de chaque échantillonnage.

Le niveau d'infestation de tarsonèmes était évalué sur chaque feuille et la présence de tarsonèmes mycosés, soit potentiellement infectés par le champignon entomopathogène, était notée. Le niveau d'infestation a été évalué selon une échelle de 1 (aucun tarsonème sur la feuille) à 5 (infestation sévère). Les informations à propos de la région, des pratiques à la ferme, des cultivars et des applications de pesticides nous ont été fournies par les producteurs. Certains des tarsonèmes mycosés échantillonnés ont été déposés sur des milieux de culture où le champignon a été isolé et identifié avec des outils moléculaires (séquençage par code à barres) via l'assistance du LEDP.

Afin de réaliser les tests des postulats de Koch en laboratoire, nous avons tenté de faire sporuler nos souches d'*Hirsutella* sp. Cependant, la croissance du champignon a été très lente sous les conditions auxquelles il a été exposé (lumière vs noirceur, température pièce vs choc thermique au réfrigérateur) et il n'a jamais sporulé. Nous avons donc opté pour tester les postulats avec une suspension de propagules (mycélium), plutôt qu'avec une suspension de spores. Nous avons donc fait croître le champignon dans un milieu liquide PDB. Sa croissance fut encore très lente, mais nous avons obtenu, après plusieurs semaines, une suspension contenant une bonne quantité de mycélium. Cette masse a été broyée afin d'obtenir la suspension de propagules. Nous avons également maintenu un élevage de tarsonèmes en chambre de croissance. Lorsque les populations ont été suffisamment fortes, nous avons sélectionné 20 feuilles, portant chacune entre six et 57 tarsonèmes. Nous avons placé ces feuilles dans des pétris et nous les avons pulvérisés avec la suspension de propagules. Les tarsonèmes ont ensuite été observés trois fois par semaine afin de déceler les individus infectés.

RÉSULTATS SIGNIFICATIFS OBTENUS

Des tarsonèmes mycosés ont été observés dans sept des fraisières participantes au projet (14 champs), dans les deux régions principales (Le Bec Rouge, Ferme Bédard Blouin, Ferme François Gosselin, Ferme Jean-Pierre Plante, Ferme Onésime Pouliot). Il a été possible de détecter des tarsonèmes mycosés dans chacune des six fraisières suivies exhaustivement (Figure 1). Un total de 104 feuilles contenait au moins un tarsonème mycosé, soit 3,68 % des feuilles observées pendant toute la durée du projet (2 827 feuilles

au total). Cependant, la vaste majorité de ces feuilles (87/104) ont été récoltées sur la même fraisière (Ferme Jean-Pierre Plante), soit celle où le champignon a été initialement découvert à l'île d'Orléans (identifiée par la lettre F sur les figures). Outre des tarsonèmes, aucun autre organisme mycosé n'a été observé. Aucun échantillonnage n'a été fait dans la végétation autour des champs.

Des tarsonèmes mycosés ont été observés de la première (cinq feuilles présentant des tarsonèmes mycosés le 10 juin 2021) à la dernière semaine (deux feuilles présentant des tarsonèmes mycosés le 23 novembre 2021) du suivi. Des pics d'abondance ont été observés de la mi-juin à la mi-juillet et en septembre et octobre (Figure 2). Une hypothèse permettant d'expliquer ces pics d'abondance saisonniers serait les précipitations. En effet, les mois de juin et juillet ont connu quelques épisodes de pluie, alors que les trois premières semaines du mois d'août ont été très sèches. En utilisant uniquement les données de la Ferme Jean-Pierre Plante, celle où les populations sont suffisamment abondantes pour qu'elles soient interprétées, on peut observer une certaine relation entre les données d'échantillonnage de champignons et les données de pluviométrie (précipitations dans les 14 jours précédant les échantillonnages selon les données climatologiques du Ministère de l'Environnement et de la Lutte contre les changements climatiques à la station de Saint-François-de-l'Île-d'Orléans) (Figure 3). Toutefois, même si des précipitations importantes dans les jours précédents l'échantillonnage ne garantissent pas des abondances élevées de champignons, nous n'avons jamais trouvé plus de 20 % de feuilles portant des tarsonèmes mycosés lorsque les 14 jours avant un échantillonnage étaient plutôt secs. Néanmoins, ce pourcentage a pu atteindre 53 % lorsque la pluviométrie était plus abondante (ex., vers la mi-juillet, Figure 3).

Les niveaux d'infestations par le tarsonème ont été relativement semblables d'une fraisière à l'autre (Figure 4) et au courant de la saison (Figure 5). Une diminution dans les populations de tarsonèmes a uniquement été observée à partir du mois d'octobre.

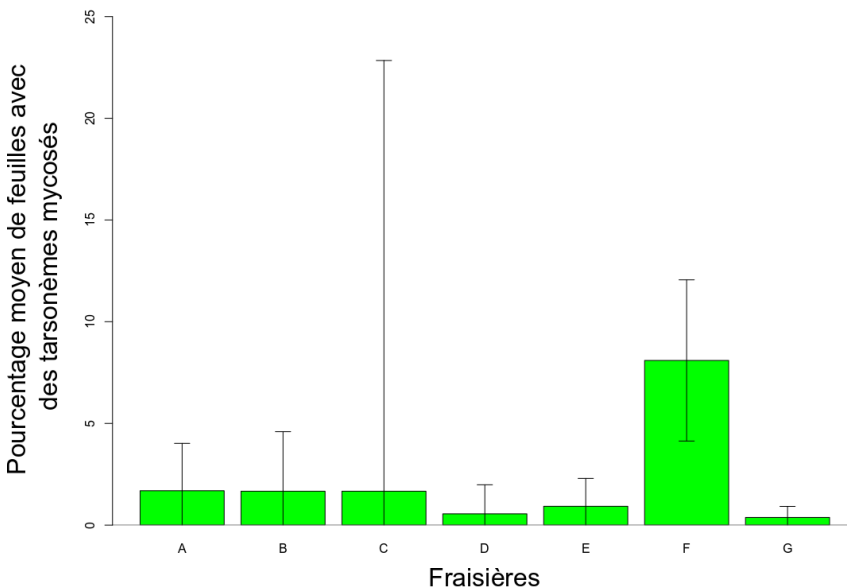


Figure 1. Pourcentage moyen de feuilles présentant des tarsonèmes mycosés en fonction des fraisières (A = Le Bec Rouge, B = Ferme Bédard Blouin, E = Ferme François Gosselin, F = Ferme Jean-Pierre Plante, G = Ferme Onésime Pouliot. Les fermes C et D ont demandé à ne pas être identifiées.). Les pourcentages ont été calculés pour un

donné lors d'une date donnée. Les données ne concernent que la Ferme Jean-Pierre Plante.

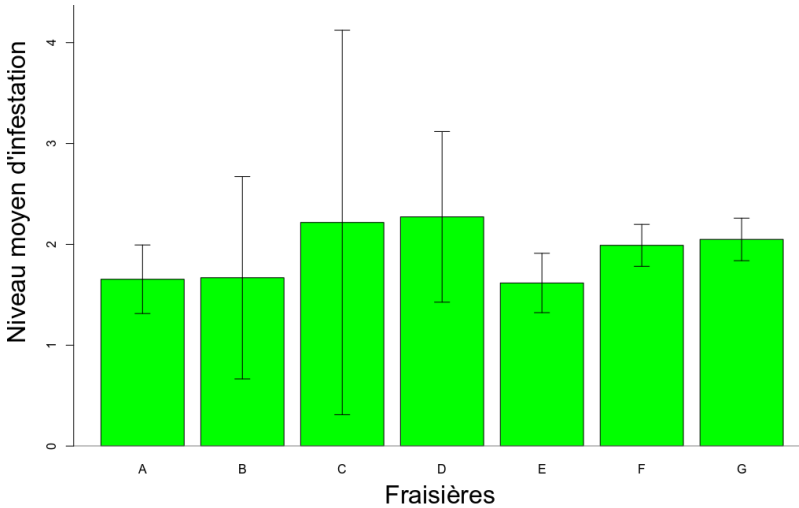


Figure 4. Niveau moyen d'infestation par le tarsonème sur les feuilles échantillonnées en fonction des fraisnières (A = Le Bec Rouge, B = Ferme Bédard Blouin, E = Ferme François Gosselin, F = Ferme Jean-Pierre Plante, G = Ferme Onésime Pouliot. Les fermes C et D ont demandé à ne pas être identifiées.). Ce résultat concerne tous les tarsonèmes, sans égard au champignon. Les niveaux d'infestation ont été évalués selon une échelle de 1 (aucun tarsonème sur la feuille) à 5 (infestation sévère). Les moyennes ont été calculées avec toutes les données de la saison pour chacune des fraisnières. Les barres d'erreur représentent des intervalles de confiance à 95 %. Les données ne concernent que les sept fraisnières où des tarsonèmes mycosés ont été découverts. La fraisière C n'a été échantillonnée qu'à deux reprises, d'où le très grand intervalle de confiance.

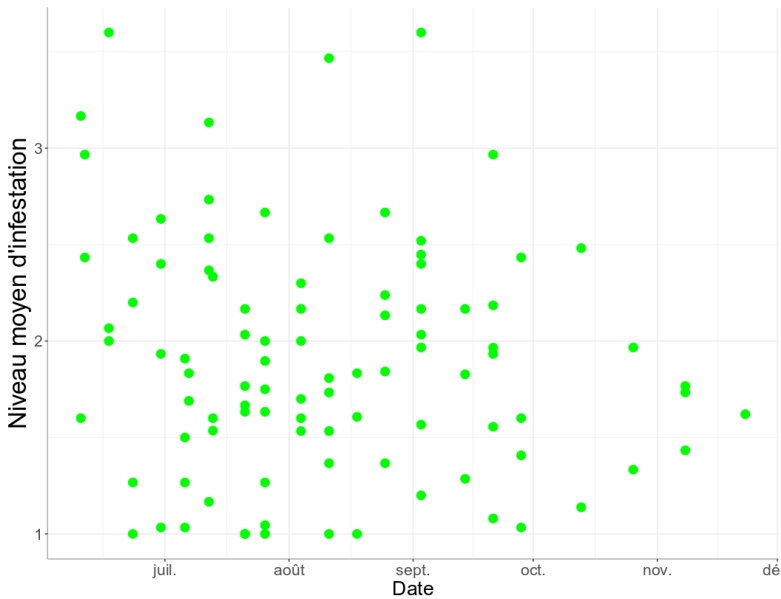


Figure 5. Niveau moyen d'infestation par le tarsonème sur les feuilles échantillonnées en fonction de la date (début le 10 juin 2021, fin le 23 novembre 2021). Ce résultat concerne tous les tarsonèmes, sans égard au champignon. Les niveaux d'infestation ont été évalués selon une échelle de 1 (aucun tarsonème sur la feuille) à 5 (infestation

sévère). Les données ne concernent que les sept fraisières où des tarsonèmes mycosés ont été découverts.

À plusieurs moments au courant de l'été, des tarsonèmes mycosés ont été placés sur des milieux de culture. Malgré des épisodes de contamination fréquents (ce qui est normal puisque nous plaçons sur des milieux de culture du matériel biologique prélevé dans les champs et loin d'être stérile) et la croissance très lente d'*Hirsutella* sp., le champignon entomopathogène a pu y être isolé avec succès à quelques occasions. Après une première tentative infructueuse, nous avons réussi, en septembre 2021, à identifier le champignon avec des outils moléculaires (séquençage par code à barres). Nous n'avons pas pu mettre un nom précis sur l'espèce présente dans les fraisières de la région, mais avons plutôt obtenu un score semblable pour deux espèces, soit *H. liboensis* et *H. satumaensis*. Il s'agit des mêmes deux espèces que nous avons obtenues lors des analyses réalisées en 2020. Cela suggère que les populations de champignons entomopathogènes sont bien établies sur une des fraisières et que ces populations se maintiennent d'années en années. Il ne s'agit donc plus de simples observations anecdotiques.

Ces résultats démontrent que le champignon entomopathogène attaquant le tarsonème du fraisier est largement répandu dans les fraisières de la région, mais qu'il est relativement peu abondant. Nous démontrons également qu'il est présent lors de toute la saison de croissance, mais que son abondance varie avec le temps. Ces observations permettent de répondre au premier sous-objectif de ce projet.

En ce qui concerne le second sous-objectif, soit identifier les facteurs influençant la répartition observée, les données obtenues ne permettent malheureusement pas d'y répondre efficacement. En effet, une seule des fraisières échantillonnées supporte des populations significatives d'*Hirsutella* sp. Il devient donc impossible de faire converger un modèle statistique impliquant ces données. En effet, l'effet du site sera toujours le plus important et il devient impossible de discriminer les autres paramètres. Néanmoins, nos observations offrent quelques pistes de solution.

La Ferme Jean-Pierre Plante, où le champignon avait été identifié en 2020 et où nous avons observé des populations significatives en 2021, est la seule des fraisières échantillonnées exhaustivement entièrement en régie biologique. Cela tend à supporter notre hypothèse comme quoi cette régie favorise le champignon entomopathogène (Klingen et al., 2002). Cependant, nous avons également échantillonné quatre champs dans la Ferme François Gosselin, dont un en régie biologique. De façon intéressante, toutes nos observations de tarsonèmes mycosés sur cette fraisière (cinq au total), l'ont été dans deux des champs conventionnels.

On peut également s'intéresser aux différents champs de la Ferme Jean-Pierre Plante. Nous en avons échantillonné cinq. Parmi ceux-ci, deux étaient sous paillis de plastique et étaient irrigués avec des gouttes-à-gouttes, alors que les trois autres étaient en rangs nattés et étaient irrigués par aspersion au besoin uniquement. Un champ de chaque type a été échantillonné uniquement en début de saison (jusqu'à la rénovation en début juillet), alors que les trois autres ont été échantillonnés exhaustivement tout le reste de l'été. Nos observations ont révélé que les populations de champignon entomopathogènes étaient beaucoup plus faibles dans les champs sous paillis de plastique et équipés de gouttes-à-gouttes que dans les champs en rangs nattés et irrigués par aspersion uniquement au besoin (Figure 6). En effet, pratiquement aucun tarsonème mycosé n'a été observé dans le champ sous paillis de plastique échantillonné tout l'été. Il est impossible statistiquement de tester cet effet (l'effet du champ est indissociable de celui de la régie), mais cette observation

jette un éclairage intéressant sur les paramètres pouvant potentiellement influencer le tarsonème et sur les futures avenues à étudier. De plus, les niveaux d'infestation par les tarsonèmes étaient similaires dans les deux types de champs. Ces résultats sont cohérents avec ceux de Hummel et al. (2002) qui a observé une diminution de l'abondance des entomopathogènes du sol sous paillis de plastique.

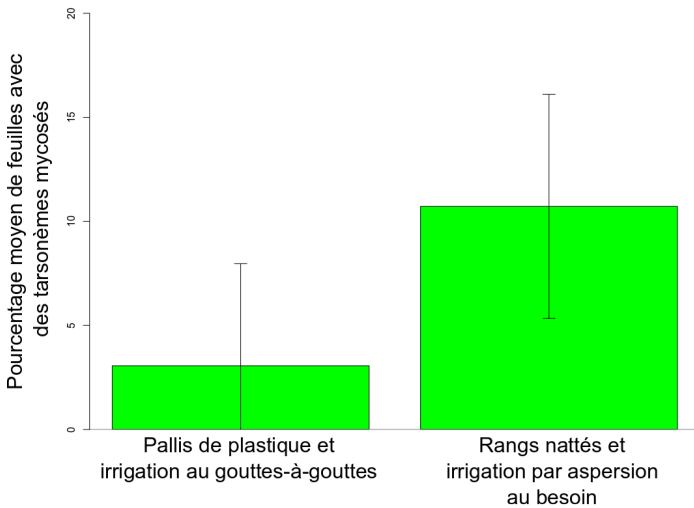


Figure 6. Pourcentage moyen de feuilles présentant des tarsonèmes mycosés en fonction de la régie des champs de la Ferme Jean-Pierre Plante. Les pourcentages ont été calculés pour un champ donné lors d'une date donnée. Les moyennes ont été calculées avec toutes les données de la saison pour chacun des champs. Les barres d'erreur représentent des intervalles de confiance à 95 %. Les données ne concernent que la Ferme Jean-Pierre Plante.

Finalement, afin de répondre au dernier sous-objectif et de réaliser les tests des postulats de Koch en laboratoire, nous avons tenté de faire sporuler nos souches d'*Hirsutella* sp. Cependant, la croissance du champignon a été très lente sous toutes les conditions auxquelles il a été exposé et il n'a jamais sporuler. Nous avons opté pour tester les postulats avec une suspension de propagules (mycélium), plutôt qu'avec une suspension de spores.

À la suite de l'application de la suspension sur les tarsonèmes, un suivi fréquent (trois fois par semaine) a permis d'observer des tarsonèmes mycosés sur deux des 20 feuilles expérimentales. Cependant, le niveau de contamination important et la vitesse de dégradation très rapide des feuilles nous ont empêché de réaliser les autres étapes de l'expérience. En effet, les deux tarsonèmes mycosés ont été mis sur des milieux nutritifs, mais ceux-ci ont été contaminés et il a été impossible d'isoler le champignon entomopathogène pour l'identifier. Ces résultats laissent néanmoins supposer qu'il est possible d'infecter des tarsonèmes à partir d'une solution de propagules et que l'espèce d'*Hirsutella* sp. que nous avons découvert est bel et bien un pathogène.

L'ensemble de ces résultats ouvre la porte vers des possibilités très intéressantes. Ce projet a été pour nous l'occasion d'amasser des connaissances fondamentales sur *Hirsutella* sp. qui nous permettront de continuer de travailler afin de développer les stratégies de lutte biologique de conservation. Même si peu de conclusions formelles peuvent être tirées de cet échantillonnage, toutes les informations amassées indiquent qu'*Hirsutella* sp. a un fort potentiel comme agent de lutte biologique de conservation. En effet, il apparaît largement

répandu, présent toute la saison et potentiellement influencé par les pratiques à la ferme. Il serait ainsi possible d'optimiser sa présence en modifiant ces pratiques. Finalement, nous sommes également sur la voie de démontrer qu'il est en effet un pathogène, et pas seulement un saprophyte. La poursuite de cette étude fait actuellement l'objet d'une demande de financement au programme Innov'Action (soumise en septembre 2021).

APPLICATIONS POSSIBLES POUR L'INDUSTRIE

Tous les producteurs de fraise de la province pourraient être intéressés par ces résultats. En effet, le tarsonème est une problématique largement répandue et l'ajout d'un tel outil de lutte intégré pourrait s'avérer fort utile. Les retombées sont, pour l'instant, limitées, puisqu'il nous a été impossible d'identifier les paramètres précis à manipuler pour augmenter les populations de champignons entomopathogènes dans les champs. Cependant, il est possible de croire que la majorité des fraisières de la région, voire de la province, possèdent des souches de champignons entomopathogènes. En effet, il a été découvert sur toutes les fraisières échantillonnées exhaustivement. Les producteurs pourraient être intéressés à réduire leurs applications de fongicides ou à amorcer une conversion vers une régie moins intensives. L'un des producteurs participant au projet a d'ailleurs tenté d'augmenter ses populations de champignons entomopathogènes en introduisant dans un de ses champs quelques spécimens de tarsonèmes mycosés que nous avons trouvé dans la Ferme Jean-Pierre Plante. Le succès de l'opération n'a pu être démontré, mais cela dénote néanmoins un intérêt de la part des producteurs. Les expériences et observations qui seront réalisées sous le programme Innov'Action permettront de répondre en détails à chacun des objectifs et de fournir aux producteurs les outils qui leur permettront d'utiliser les populations d'*Hirsutella* sp. à leur avantage.

BIBLIOGRAPHIE

- Hummel, R.L., Walgenbach, J.F., Barbercheck, M.E., Kennedy, G.G., Hoyt, G.D., & Arellano, C. (2002) Effects of production practices on soil-borne entomopathogens in western North Carolina vegetable systems. *Environmental Entomology*, **31**, 84-91.
- Klingen, I., Eilenberg, J., & Meadow, R. (2002) Effects of farming system, field margins and bait insect on the occurrence of insect pathogenic fungi in soils. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, **91**, 191-198.
- Patenaude, S., Tellier, S., & Fournier, V. (2020) Cyclamen mite (Acari: Tarsonemidae) monitoring in eastern Canada strawberry (Rosaceae) fields and its potential control by the predatory mite *Neoseiulus cucumeris* (Acari: Phytoseiidae). *Canadian Entomologist*, **152**, 249-260.
- Pell, J.K., Hannam, J.J., & Steinkraus, D.C. (2010) Conservation biological control using fungal entomopathogens. *BioControl*, **55**, 187-198.
- Stenseth, C. & Nordby, A.L.F. (1976) Damage, and control of the strawberry mite *Steneotarsonemus pallidus* (Acarina: Tarsonemidae), on strawberries. *Journal of Horticultural Science*, **51**, 49-54.

POINT DE CONTACT POUR INFORMATION

Valérie Fournier, Centre de recherche et d'innovation sur les végétaux (CRIV), Université Laval; valerie.fournier@fsaa.ulaval.ca; 418-656-2131 p.404629

REMERCIEMENTS AUX PARTENAIRES FINANCIERS

Ce projet a été réalisé dans le cadre du volet 2 du programme Prime-Vert – Approche régionale et interrégionale avec une aide financière du ministère de l'Agriculture, des Pêcheries et de l'Alimentation. Nous remercions les producteurs participants. Nous remercions également Maxime Delisle-Houde pour son assistance lors des manipulations au laboratoire.