

Rapport final

No projet : IA119040

Optimisation et intégration du Virosoft CP4 dans un programme de lutte contre le carpocapse de la
pomme

Responsable scientifique : Dr Daniel Cormier

Établissement : Institut de recherche et de développement en agroenvironnement

2 mai 2023

Section 1 - Chercheurs impliqués et responsable autorisé de l'établissement (ces personnes doivent également faire parvenir un courriel pour attester qu'ils ont lu et approuvent le rapport.)

Daniel Cormier, *Ph.D.*, IRDA. Chercheur, entomologiste responsable scientifique. Il a supervisé le projet et participé à toutes les étapes de réalisation du projet ainsi qu'aux communications et publications scientifiques.

Gérald Chouinard, *Ph.D.*, agr., IRDA. Chercheur, entomologiste. Il a participé au transfert des résultats auprès des membres du Réseau-pommier et aux communications et publications scientifiques.

Mick Wu, *Ph.D.*, IRDA. Biostatisticien. Il a conçu les modèles statistiques et il a réalisé toutes les analyses.

Harnaivo Rasamimanana, *Ph.D.*, BioTEPP Inc. Chargé de production du virus chez BioTEPP. Il a participé aux rencontres annuelles et à l'interprétation des résultats.

Section 2 - Partenaires

Franz Vanoosthuysse, M. Sc., IRDA. Professionnel de recherche en entomologie fruitière. Il a été responsable de la réalisation du volet 3.

Audrey Charbonneau, B. Env., IRDA. Professionnelle de recherche en entomologie. Elle a été responsable de la réalisation des volets 1 et 2, des activités de transfert et des rapports d'étapes et final.

Michel Tremblay, agr., BioTEPP Inc. Directeur technique et mise en marché. Il a participé à toutes les étapes du projet et il était le contact principal chez BioTEPP.

Johanne M. Simard, agr. BioTEPP Inc. Responsable, développement des produits. Elle s'est jointe au projet en 2022. Elle a participé à diverses rencontres et apporté son expertise au projet.

Pierre Laborde, BioTEPP Inc. Vice-président aux finances et directeur des opérations. Il a participé aux rencontres annuelles.

Véronique Decelles, technologue, Nicole Gagné, agr., Gilles Tremblay, agr., Sébastien Beauchamps, agr. Ils ont aidé à la sélection des vergers, relevé les pièges hebdomadairement, fait le suivi lors des applications et agit comme intermédiaire entre notre équipe et les producteurs.

Producteurs pomicoles (4) à Rougemont et St-Paul-d'Abbotsford. Ils ont donné accès aux parcelles de leurs vergers et fait les applications selon le protocole établi.

Section 3 – Fiche de transfert

Un virus pour protéger les pommes

Daniel Cormier et Audrey Charbonneau

No de projet : IA119040

Durée : 03/2019 – 05/2023

FAITS SAILLANTS

Le carpocapse de la pomme, dont les larves se nourrissent de pommes, est le ravageur principal dans les vergers québécois. Une nouvelle formulation du virus de la granulose du carpocapse de la pomme, le Virosoft CP4, a été testée en laboratoire et en vergers de pommiers. En laboratoire, aucune perte d'efficacité, comparativement à la formulation actuellement homologuée, n'a été observée pour lutter contre les jeunes larves du carpocapse de la pomme. L'ajout d'un adjuvant n'a pas permis d'augmenter l'efficacité de la nouvelle formulation du Virosoft CP4. Le mélange du Virosoft CP4 avec un bioinsecticide à base de bactéries, *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki* (le Bioprotec PLUS) a causé une perte d'efficacité du Virosoft CP4 en diminuant le taux de mortalité des jeunes larves de carpocapse de la pomme. D'autre part, l'efficacité du Virosoft CP4 à causer la mortalité des jeunes larves n'a pas été affectée lorsque mélangé avec le biofongicide bicarbonate de potassium. Cependant, de plus faibles taux de mortalité des jeunes larves ont été observés lorsque le Virosoft CP4 était mélangé avec un biofongicide à base de soufre (Kumulus^{MD} DF). Une réduction de la mortalité était encore plus marquée lorsque le Virosoft CP4 était mélangé avec de la chaux soufrée. Les essais réalisés en vergers commerciaux et expérimental, suggèrent qu'appliquer le Virosoft CP4 sur les pommes à sept jours d'intervalle durant la période d'éclosion des œufs du carpocapse de la pomme offre des taux de protection plus élevés qu'un régime d'applications moins fréquent. Nous avons observé une réduction significative du nombre de larves hibernantes et des dégâts profonds sur les pommes ayant été pulvérisées avec la nouvelle formulation du Virosoft CP4 comparativement aux pommes ayant reçu uniquement de l'eau.

OBJECTIF(S) ET MÉTHODOLOGIE

L'objectif principal était d'offrir aux pomiculteurs du Québec un outil de gestion de lutte au carpocapse de la pomme avec une formulation améliorée du bioinsecticide, Virosoft CP4. Les objectifs spécifiques étaient ; 1) de sélectionner une formulation du Virosoft CP4 plus efficace en termes de rapidité d'action, de virulence et de rémanence; 2) d'évaluer l'efficacité d'un adjuvant et 3) d'estimer la compatibilité du Virosoft CP4 en mélange avec différents pesticides biologiques.

Des essais en laboratoire ont été effectués afin d'évaluer l'efficacité de la nouvelle formulation, d'évaluer l'ajout d'un adjuvant et d'estimer la compatibilité du Virosoft CP4 avec un autre bioinsecticide à base de *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki* (*Btk*) et des biofongicides couramment utilisés par les pomiculteurs. Des essais en vergers commerciaux et expérimental ont permis d'évaluer l'ajout d'un adjuvant et l'efficacité de la nouvelle formulation de Virosoft CP4 testée à différentes doses.

RÉSULTATS SIGNIFICATIFS POUR L'INDUSTRIE

Dans nos bioessais en laboratoire, aucune différence significative n'a été détectée entre les courbes concentrations-réponses de la nouvelle formulation du Virosoft CP4 (VCP4-2) et de la formulation de référence (VCP4-1) (Figure 1). Quoique non significatives, les valeurs des concentrations létales, CL₅₀, CL₉₀ et CL₉₅ de la nouvelle formulation étaient plus faibles que celles de la formulation de référence, indiquant qu'une quantité virale moindre peut causer la mortalité des jeunes larves du carpocapse de la pomme.

L'adjuvant Stick N Stay n'a pas augmenté l'efficacité du VCP4-2 et sa capacité à réduire la photodégradation du VCP4-2 n'a pas été démontrée autant dans les tests en laboratoire que ceux réalisés dans le verger.

En vergers commerciaux et expérimental, les données suggèrent qu'appliquer le VCP4-2 à six reprises à sept jours d'intervalle durant la période d'éclosion des œufs du carpocapse de la pomme est préférable à l'application à quatre reprises à 7 à 10 jours d'intervalle. En 2022, nous avons observé une réduction significative du nombre de larves hibernantes et du nombre de dégâts profonds dans les parcelles pulvérisées au VCP4-2 comparativement à celles pulvérisées avec de l'eau (témoin) (Figure 2). Cependant, à notre grande surprise, nous avons constaté que le VCP4-2 pulvérisé à demi-dose a été plus efficace que le VCP4-2 pleine-dose en verger expérimental. Toutefois, il faut noter que ces essais en vergers ont été réalisés qu'une seule année et qu'il faudrait les répéter au moins deux autres années avant de conclure à leur efficacité.

Le mélange de deux bioinsecticides, le VCP4-2 et le Bioprotec PLUS a réduit la mortalité totale des jeunes larves et la mortalité induite par le virus, suggérant qu'une application dans le verger de ce mélange réduirait la mortalité des larves du carpocapse de la pomme (Figure 3). Cependant, les deux bioinsecticides pourraient être mélangés dans une cuve pour une pulvérisation en vergers si l'insecte ravageur ciblé n'est pas le carpocapse de la pomme.

Parallèlement, le mélange VCP4-2 avec le biofongicide bicarbonate de potassium peut être envisagé en utilisation en verger sans réduire la mortalité aux larves du carpocapse de la pomme (Figure 4). Les mélanges avec soufre ou avec soufre et bicarbonate de potassium pourraient aussi être envisagés, mais avec une réduction de la mortalité des larves du carpocapse de la pomme. Une réduction de l'efficacité du VCP4-2 serait plus marquée lorsque mélangée avec la chaux soufrée. Ces suggestions doivent préalablement être testées en verger de pommiers avant de conclure à leur efficacité.

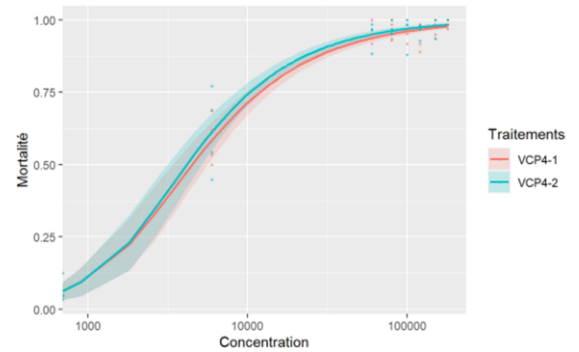


Figure 1. Courbes concentrations-réponses estimées de la formulation de référence VCP4-1 et de la nouvelle formulation VCP4-2 sur les jeunes larves du carpocapse de la pomme, observées sept jours postapplication

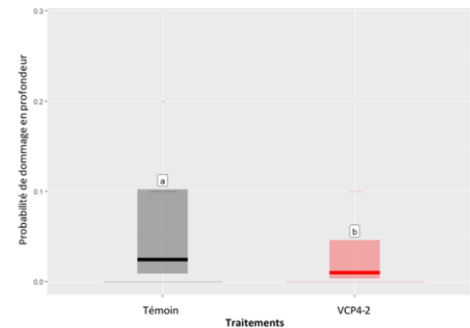


Figure 2. Évaluation des dommages profonds de la génération 1 du carpocapse de la pomme (moyenne \pm IC 95 %) sur 400 pommes par parcelle prélevées dans des vergers commerciaux

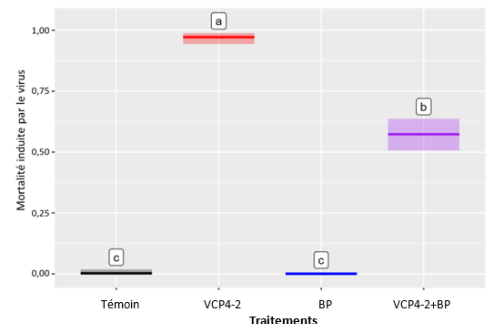


Figure 3. Mortalité induite par le virus (moyenne \pm IC 95%), en laboratoire, des jeunes larves du carpocapse de la pomme observée 7 jours postintroduction des

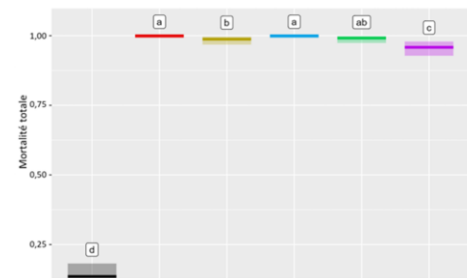


Figure 4. Mortalité totale (moyenne \pm IC 95%) observée en laboratoire, des jeunes larves du carpocapse de la pomme, 7 jours postintroduction des larves

APPLICATIONS POSSIBLES POUR L'INDUSTRIE ET/OU SUIVI À DONNER

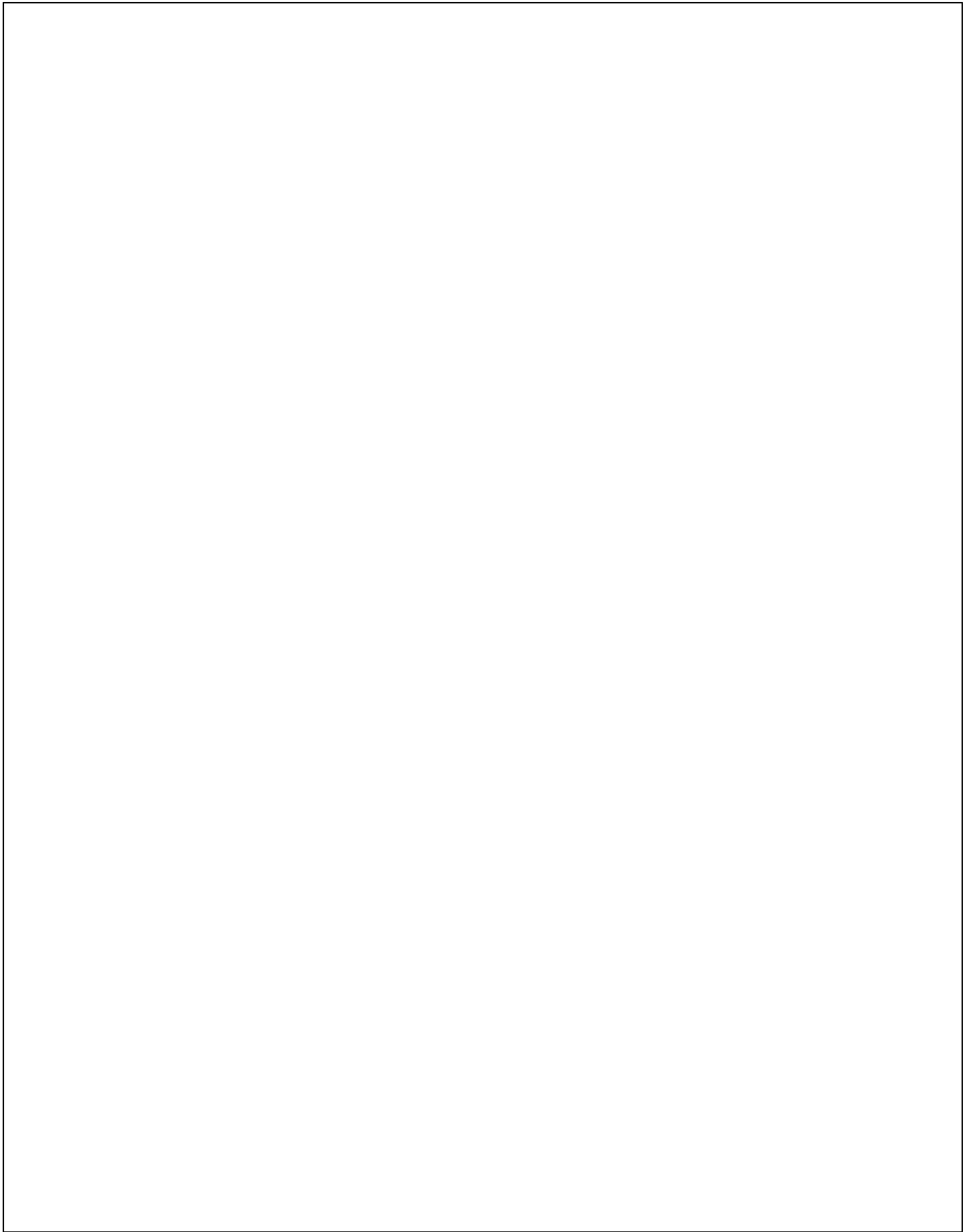
On peut anticiper une utilisation de la nouvelle formulation du Virosoft CP4, lorsqu'elle sera homologuée, particulièrement chez les producteurs désireux de réduire les risques pour l'environnement et la santé associés à l'utilisation des insecticides. Dans ce contexte, les pomiculteurs pratiquant la lutte par confusion sexuelle, pourraient envisager des traitements de bordure avec le virus de la granulose, plutôt qu'avec un insecticide de synthèse, car cette zone n'est pas bien couverte par la confusion sexuelle. Notons que plus de 2 292 ha de vergers de pommiers au Québec étaient sous confusion sexuelle en 2022, ce qui représente 52 % des surfaces en production. De plus, le Virosoft CP4 est compatible avec le bicarbonate de potassium pour lutter contre le carpocapse de la pomme et la tavelure simultanément et sans perte d'efficacité contre l'insecte ravageur. Cependant, le bioinsecticide *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki*, peut être pulvérisé en mélange avec le Virosoft CP4 pour lutter contre la tordeuse à bandes obliques et le carpocapse de la pomme, mais avec une perte d'efficacité contre le second ravageur. Des essais supplémentaires en vergers sont requis pour valider les données que nous avons obtenues avec les essais en laboratoire et ceux réalisés pendant une seule année en vergers.

POINT DE CONTACT POUR INFORMATION

Nom du responsable du projet : Daniel Cormier
Téléphone : (450) 653-7368 poste 360
Courriel : daniel.cormier@irda.qc.ca

REMERCIEMENTS AUX PARTENAIRES FINANCIERS

Ces travaux ont été réalisés grâce à une aide financière du Programme Innov'Action agroalimentaire, un programme issu de l'Accord Canada-Québec de mise en œuvre du Partenariat canadien pour l'agriculture conclu entre le ministère de l'Agriculture, des Pêcheries et de l'Alimentation et Agriculture et Agroalimentaire Canada.



Section 4 - Activité de transfert et de diffusion scientifique (joindre en annexe la documentation en appui si applicable.)

- Charbonneau, A., F. Vanoosthuysse, G. Chouinard, H. Rasamimanana et D. Cormier. 2022. Compatibilité du Virosoft CP4 en mélange avec différents pesticides biologiques. Affiche présentée à la 149^{ième} réunion annuelle de la Société d'entomologie du Québec, Granby, QC, 27 et 28 oct.
- Cormier, D., F. Vanoosthuysse, G. Chouinard and H. Rasamimanana. 2022. Compatibility of CpGV with Fungicides and *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki*. Affiche présentée au PheroFruits 2022; Joint meeting of the IOBC/WPRS working groups Pheromones and other semiochemicals in IP & Integrated protection of fruit crops, Girona, Espagne, 25-29 sept.

Section 5 - Activités de diffusion et de transfert aux utilisateurs (joindre en annexe la documentation en appui. Au moins une preuve de réalisation d'une activité de transfert aux utilisateurs est obligatoire pour l'acceptation du rapport final.)

Cormier, D. et F. Vanoosthuysse. 2022. Compatibilité du Virosoft avec certains fongicides.
Présentation orale aux journées annuelles sur la recherche et l'innovation technologique
du groupe d'experts en protection du pommier, mode virtuel, 10-11 févr.

Section 6 – Grille de transfert des connaissances

1. Résultats Présentez les faits saillants (maximum de 3) des principaux résultats de votre projet.	2. Utilisateurs Pour les résultats identifiés, ciblez les utilisateurs qui bénéficieront des connaissances ou des produits provenant de votre recherche.	3. Message Concrètement, quel est le message qui devrait être retenu pour chacune des catégories d'utilisateurs identifiées? Présentez un message concret et vulgarisé. Quels sont les gains possibles en productivité, en rendement, en argent, etc.?	4. Cheminement des connaissances a) Une fois le projet terminé, outre les publications scientifiques, quelles sont les activités de transfert les mieux adaptées aux utilisateurs ciblés? (conférences, publications écrites, journées thématiques, formation, etc.) b) Selon vous, quelles pourraient être les étapes à privilégier en vue de maximiser l'adoption des résultats par les utilisateurs.
La nouvelle formulation du Virosoft CP4 est aussi efficace que la formulation de référence	1. Pomiculteurs biologiques 2. Pomiculteurs en PFI	1. Pas de perte d'efficacité qui cause la mortalité des jeunes larves du carpocapse de la pomme 2. Un choix à considérer dans la stratégie de lutte contre le carpocapse de la pomme lorsque l'application doit avoir lieu près de la récolte	a) Pour les pomiculteurs : présentation lors des journées d'information régionales (journées horticoles de Saint-Rémi, journée technique d'Agropomme, etc.) et capsules d'information dans les communiqués du RAP-pommier. Pour les conseillers et membres du Réseau-pommier, conférence lors des journées annuelles sur la recherche et l'innovation technologique b) Informer d'abord les intervenants de la première ligne soit les conseillers pomicoles privés et publics qui eux conseilleront les pomiculteurs. Parallèlement, informer les pomiculteurs via les présentations orales aux diverses journées.
Compatibilité des biopesticides en mélange avec la nouvelle formulation de Virosoft CP4	Pomiculteurs biologiques et en PFI	1. Le biofongicide, bicarbonate de potassium est compatible en mélange avec le Virosoft CP4 pour lutter contre la tavelure et le carpocapse de la pomme sans perte d'efficacité contre l'insecte ravageur. 2. Le bioinsecticide <i>Bacillus thuringiensis</i> subsp. <i>kurstaki</i> , peut être pulvérisé en mélange avec le Virosoft CP4 pour lutter contre la tordeuse à bandes obliques et le carpocapse de la pomme, mais avec une perte d'efficacité contre le second ravageur.	a) Idem b) Idem
Nouvelle stratégie de lutte en vergers commerciaux (données préliminaires, mais prometteuses)	Pomiculteurs biologiques et en PFI	1. Possibilité d'utiliser 125 ml/ha (une demi-dose) de Virosoft CP4 pour lutter contre le carpocapse de la pomme 2. Possibilité de faire une application par semaine durant toute la période d'éclosion des œufs du carpocapse de la pomme soit durant environ 6 semaines.	a) trop tôt pour diffuser cette information; des données supplémentaires sont nécessaires avant de recommander cette stratégie. b) s.o.

Section 7 - Contribution et participation de l'industrie réalisées

La contribution et la participation de la compagnie BioTEPP Inc., partenaire au projet, ont été conformes à celles décrites dans le formulaire de présentation de projet 2018-2019. De nombreux échanges téléphoniques et par courriels ont eu lieu avec Michel Tremblay, directeur technique et de mise en marché. Des échanges moins fréquents, mais tout aussi importants ont eu lieu avec le chargé de production du virus, Harnaivo Rasamimanana et Johanne Simard, responsable, développement de produits à partir de 2022. Ces échanges ont permis de discuter des résultats sur une base régulière et de proposer et d'approuver conjointement, la modification du protocole de certains volets. La participation de l'entreprise a été exemplaire au niveau des rencontres annuelles où tous les représentants convoqués étaient présents. Lors de ces rencontres, une très bonne dynamique existait entre les membres de l'IRDA et ceux de BioTEPP.

Tel qu'indiqué dans le formulaire de présentation de projet 2018-2019, la compagnie BioTEPP Inc. a fourni les produits nécessaires à la réalisation des divers volets du projet de recherche notamment, les deux formulations (homologuée et nouvelle) du Virosoft CP4 et l'adjuvant Stick N Stay. Les quantités fournies par l'entreprise ont permis de couvrir tous nos besoins lors des essais en laboratoire en verger expérimental et en vergers commerciaux.

Section 8 - Rapport scientifique et/ou technique (format libre réalisé selon les normes propres au domaine d'étude)

INTRODUCTION

Le carpocapse de la pomme (CP) *Cydia pomonella* (L.) (Lepidoptera: Tortricidae), est un ravageur majeur dans les vergers de pommiers. Pour lutter contre le CP, plusieurs pomiculteurs utilisent des moyens de lutte à risques réduits comme le virus de la granulose (CpGV). La compagnie québécoise BioTEPP inc. fabrique depuis une quinzaine d'années un bioinsecticide à base de CpGV: le Virosoft^{MC} CP4. Comme plusieurs insecticides biologiques, ce produit possède une faible rémanence comparativement à des insecticides de synthèse. Notre projet visait à augmenter la rémanence, la rapidité d'action et la virulence du Virosoft CP4. Dans un premier temps, nous avons évalué une nouvelle formulation. Dans un deuxième temps, nous avons évalué l'addition d'un adjuvant qui devait être à propriété anti-UV. Enfin, nous avons évalué qualitativement et quantitativement en laboratoire l'usage du Virosoft CP4 en mélange avec des pesticides susceptibles d'être appliqués conjointement dans un programme de lutte à risques réduits.

OBJECTIFS

Offrir aux pomiculteurs du Québec un outil de gestion de lutte au CP avec une formulation améliorée du Virosoft CP4.

1. Sélectionner une formulation du Virosoft CP4 plus efficace en termes de rapidité d'action, de virulence et de rémanence;
2. Évaluer l'efficacité de l'adjuvant Stick N Stay;
3. Estimer la compatibilité de Virosoft CP4 en mélange avec différents pesticides biologiques.

MÉTHODOLOGIE ET RÉSULTATS

Les formulations de Virosoft CP4 (VCP4) ainsi que le Stick N Stay ont été fournies par la compagnie BioTEPP Inc. Les produits ont été entreposés selon les conditions stipulées par les fabricants.

L'ensemble des statistiques a été effectué à l'aide du logiciel R.

VOLET 1 : ÉVALUATION DE L'EFFICACITÉ EN TERMES DE RAPIDITÉ D'ACTION, DE VIRULENCE ET DE RÉMANENCE D'UNE NOUVELLE FORMULATION DU VIROSOFT CP4

Le volet 1, réalisé en laboratoire et en verger expérimental, visait à évaluer l'efficacité de la nouvelle formulation en termes de rapidité d'action, de virulence et de rémanence. Les deux formulations testées sont les suivantes : 1) VCP4 régulier, formulation de référence (VCP4-1), 2) VCP4 homogénéisé avec glycérol, nouvelle formulation (VCP4-2).

Volet 1A. Comparaison en laboratoire de la nouvelle formulation du Virosoft CP4 à différentes concentrations.

Volet 1A-1 : Comparaison de la virulence à l'aide de courbes concentrations-réponses

Le VCP4-1 et le VCP4-2 ont été testés à sept concentrations et un traitement à l'eau a servi de témoin. La mortalité de 64 larves néonates placées individuellement sur une diète contaminée ou non (témoin) dans les puits d'une plaque Elisa a été observée 7 jours après l'application du produit. Chaque traitement a été répété 4 fois.

Les données de mortalité pour les deux formulations ont été analysées à l'aide d'une régression paramétrique sur les données de survie des larves (modèle de Weibull avec mortalité maximale fixée à 100%) (figure 1). Les concentrations létales 50 (Cl_{50}), 90 (Cl_{90}) et 95 (Cl_{95}), ont été estimées.

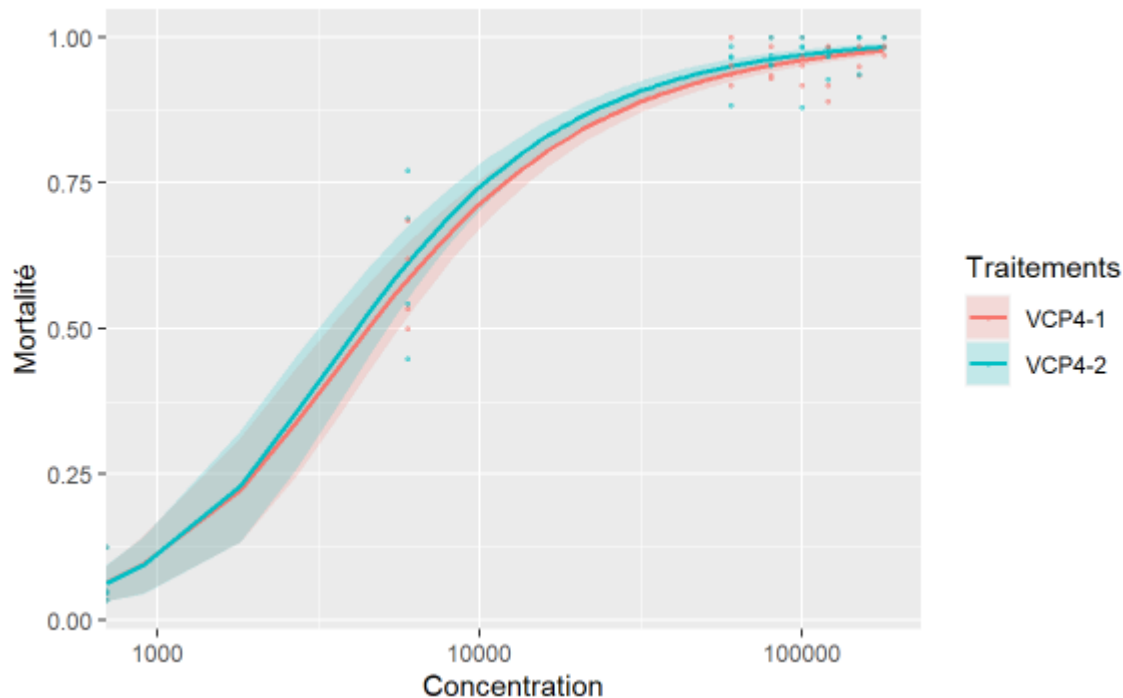


Figure 2. Courbes concentrations-réponses estimées (\pm IC 95 %) de la formulation de référence VCP4-1 et de la nouvelle formulation VCP4-2 sur les larves néonates du carpocapse de la pomme, observées sept jours postapplication. Les points correspondent à la moyenne estimée de chaque répétition.

La Cl_{50} (moyenne \pm IC à 95%) de la **formulation de référence** (VCPA-1) a été estimée à 4 993 (3 780 – 6 207) Gvs/ml, la Cl_{90} à 38 441 (30 568 – 46 314) Gvs/ml et la Cl_{95} à 83 845 (61 455 – 106 236) Gvs/ml. La Cl_{50} (moyenne \pm IC à 95%) de la **nouvelle formulation** (VCPA-2) a été estimée à 4 577 (3 472 – 5 682) Gvs/ml, la Cl_{90} à 31 063 (24 820 – 37 307) Gvs/ml et la Cl_{95} à 64 570 (47 836 – 81 304).

Bien que les concentrations létales estimées de la nouvelle formulation soient plus faibles que celle de la formulation de référence, aucune différence significative n'a été observée entre les deux formulations pour la Cl_{50} ($p=0,63316$), la Cl_{90} ($p=0,18990$) et la Cl_{95} ($p=0,22596$).

Dans le rapport d'étape 2020, les analyses de courbes concentrations-réponses présentées avaient été analysées à l'aide du logiciel PoloJr (Robertson et coll. 2017). L'analyse du présent rapport a permis de réduire les intervalles de confiance des concentrations létales estimées. Toutefois, la conclusion demeure la même : il n'y a pas de différence significative entre les deux formulations.

Volet 1A-2 : Comparaison de la rapidité d'action des deux formulations à la Cl_{95} de VCP4-1

Le VCP4-1 et le VCP4-2 ont été testés à la concentration létale 95 (Cl_{95}) de VCP4-1 qui a été calculée au volet 1A-1 et un traitement à l'eau a servi de témoin. La mortalité de 32 larves néonates placées individuellement dans les puits d'une plaque Elisa a été observée à 3, 5 et 7 jours après l'application du produit. Chaque traitement a été répété 4 fois.

Aucune différence significative quant à la mortalité larvaire n'a été observée entre les deux formulations à la 3^e journée ($p=0,2895$), la 5^e journée ($p=0,2994$) et la 7^e journée ($p=0,2472$). Pour plus de détail, consulter le rapport d'étape 2021.

Volet 1B. Évaluation en verger expérimental de la nouvelle formulation du Virosoft CP4 à différentes doses

Le volet 1B a été effectué dans le verger expérimental de l'IRDA au Mont-Saint-Bruno sur des parcelles non traitées contre le CP et les tordeuses (sauf les pulvérisations du projet). Le VCP4-2 a été testé à trois doses : 1) 75 ml/ha, 2) 165 ml/ha et 3) 250 ml/ha et un traitement à l'eau a servi de témoin. Chaque unité expérimentale comprenait 18 arbres et était répétée quatre fois pour chaque traitement. Quatre pulvérisations de VCP4-2 ou d'eau (témoin) ont été effectuées à l'aide d'un pulvérisateur à jet porté et ventilateurs tangentiels Weber. La première pulvérisation a été effectuée lors de l'éclosion des premiers œufs du CP (2-3 %) et les suivantes ont eu lieu à 7 à 10 jours d'intervalle. Le nombre de larves en diapause en fin de saison a été évalué par des bandes pièges de carton ondulé placées à la base de chaque tronc et le nombre de dégâts sur pomme fait par la première et la deuxième génération a été évalué sur 400 pommes/parcelle/génération. Les dégâts ont été classés en deux catégories : dégât peu profond (< 6mm) et dégât profond (≥ 6 mm). Le nombre de larves par bande-piège n'était pas significativement différent entre les doses et le témoin ($p=0,6514$).

Le pourcentage de pommes endommagées par des larves de carpocapse de la pomme de la première génération ($p=0,8248$) et de la deuxième génération ($p=0,8013$) n'était pas significativement différent parmi les différentes doses et le témoin.

Pour plus de détail, consulter le rapport d'étape 2021.

VOLET 2 : ÉVALUATION D'UN ADJUVANT SUR L'EFFICACITÉ EN TERMES DE RAPIDITÉ D'ACTION, DE VIRULENCE ET DE RÉMANENCE DU VIROSOFT CP4.

L'adjuvant Stick N Stay (SNS) fabriqué par Attune Agriculture (www.attuneag.com) a été sélectionné par notre partenaire BioTEPP afin d'être testé en verger expérimental et en laboratoire. La nouvelle formulation de Virosoft CP4 (VCP4-2) a été utilisée pour ce volet.

Volet 2A. Évaluation en laboratoire d'un adjuvant sur l'efficacité du Virosoft CP4 sous l'effet des ultraviolets (UV)

Le VCP4-2 avec et sans l'adjuvant Stick N Stay a été testé avec et sans exposition aux UV. Un traitement à l'eau avec et sans exposition aux UV a servi de témoin. Quatre demi-pommes par traitement ont été pulvérisées à l'aide d'une tour de Potter et les traitements sous UV ont été exposés 1h à la longueur d'onde de 350 nm, pour un réglage d'irradiance de 765 W/m² (accumulation d'énergie radiante de 9,36x10⁶ J/m²). À la suite de l'exposition ou non aux UV, 5 larves néonates ont été déposées sur chaque demi-pomme et la mortalité des larves a été observée 7 jours après. Chaque traitement a été répété 12 fois.

Les données de mortalité ont été analysées à l'aide d'un modèle linéaire généralisé mixte (GLMM) avec les variables traitement, UV et interaction traitement et UV avec les répétitions comme effet aléatoire. La distribution binomiale a été utilisée. L'importance des variables indépendantes a été testée en comparant l'AIC du modèle complet à ceux de modèles simplifiés. Le modèle retenu a été celui avec effet traitement seulement. Ce bioessai n'a pas permis de détecter d'effet UV sur l'effet du Virosoft. Il n'est donc pas possible de conclure sur l'efficacité du Stick N Stay comme anti-UV. L'entreprise BioTEPP a pris la décision en 2021 de ne pas inclure d'adjuvant dans leur nouvelle formulation.

Volet 2B. Évaluation en verger expérimental d'un adjuvant sur l'efficacité du Virosoft CP4.

Le volet 2B a été effectué dans le verger expérimental de l'IRDA au Mont-Saint-Bruno sur des parcelles non traitées contre le CP et les tordeuses (sauf les pulvérisations du projet) de 18 à 24 arbres/parcelle et répété quatre fois. Le nombre de larves en diapause à la fin de la saison a été évalué par des bandes pièges de carton ondulé placées à la base de chaque tronc et le nombre de dégâts sur pomme fait par la première et la deuxième génération a été évalué sur 400

pommes/parcelle/génération. Les dégâts ont été classés en deux catégories : dégât peu profond (< 6mm) et dégât profond (\geq 6mm).

Ce volet a été effectué au cours des étés 2021 et 2022. Pour la deuxième année du volet, en concertation avec notre partenaire, certains changements ont été apportés.

En 2021, les traitements étaient 1) VCP4-2 (250 ml/ha), 2) VCP4-2 (250 ml/ha) + SNS, 3) eau (témoin). Il y a eu quatre pulvérisations effectuées à l'aide d'un pulvérisateur à jet porté et ventilateurs tangentiels Weber. La première pulvérisation a été effectuée lors de l'éclosion des premiers œufs du CP (2-3 %) et les suivantes ont eu lieu à 7 à 10 jours d'intervalle. Les pulvérisations avaient lieu le matin vers 8h30. Vingt fruits/parcelle ont été récoltés après chaque pulvérisation puis 24 h, 72 h et 168 h plus tard. Trois larves néonates/pommes ont été déposées et la mortalité a été observée 7 jours plus tard.

En 2022, les traitements étaient 1) VCP4-2 (250 ml/ha), 2) VCP4-2 (125 ml/ha), 3) eau (témoin). Il y a eu six pulvérisations effectuées à l'aide d'un pulvérisateur à jet porté et ventilateurs tangentiels Weber. La première pulvérisation a été effectuée lors de l'éclosion des premiers œufs du CP (2-3 %) et les suivantes ont eu lieu à 7 jours d'intervalle. Les pulvérisations avaient lieu en fin d'après-midi vers 17h. Vingt fruits/parcelle ont été récoltés 12h après 4 des 6 pulvérisations. Cinq larves néonates/pommes ont été déposées et la mortalité a été observée 7 jours plus tard.

En 2021, certaines parcelles ont été déplacées en cours d'été, dû à un manque de pommes. Ces déplacements de parcelles ne permettent pas d'analyser correctement les données de dégâts sur pommes et du nombre de larves en diapause. Pour l'année 2021, seules les données de la survie larvaire seront présentées.

Les données de survie des larves 2021 ont été analysées à l'aide d'un modèle linéaire généralisé (GLM) avec une distribution binomiale avec les variables traitements, jours et interaction traitements et jours (figures 2 à 5). Pour comparer les estimations de la survie larvaire, un test de Tukey a été utilisé.

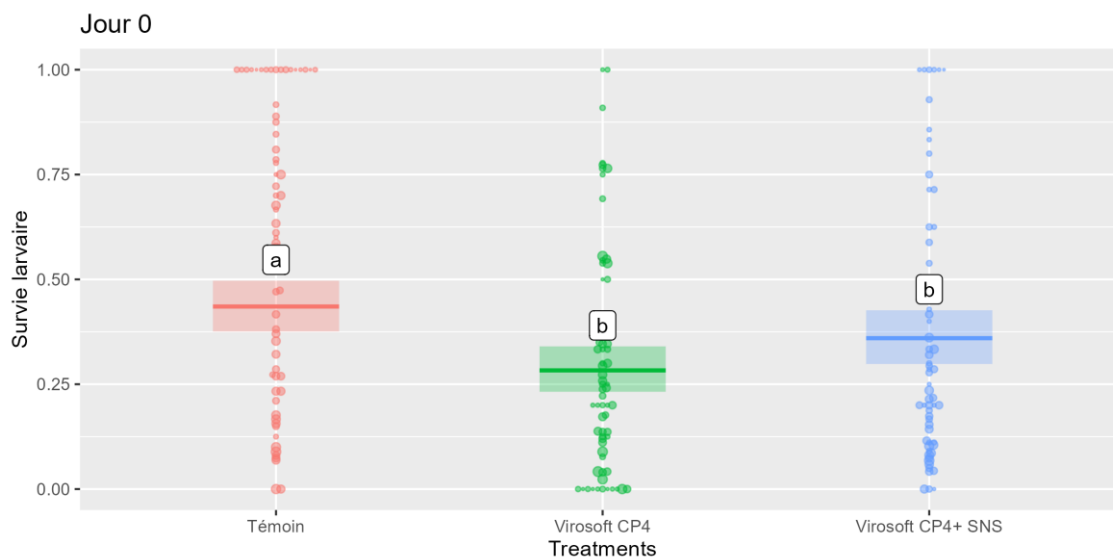


Figure 3. Survie moyenne des larves néonates de CP observée 7 jours après avoir été déposées sur des pommes récoltées immédiatement après la pulvérisation

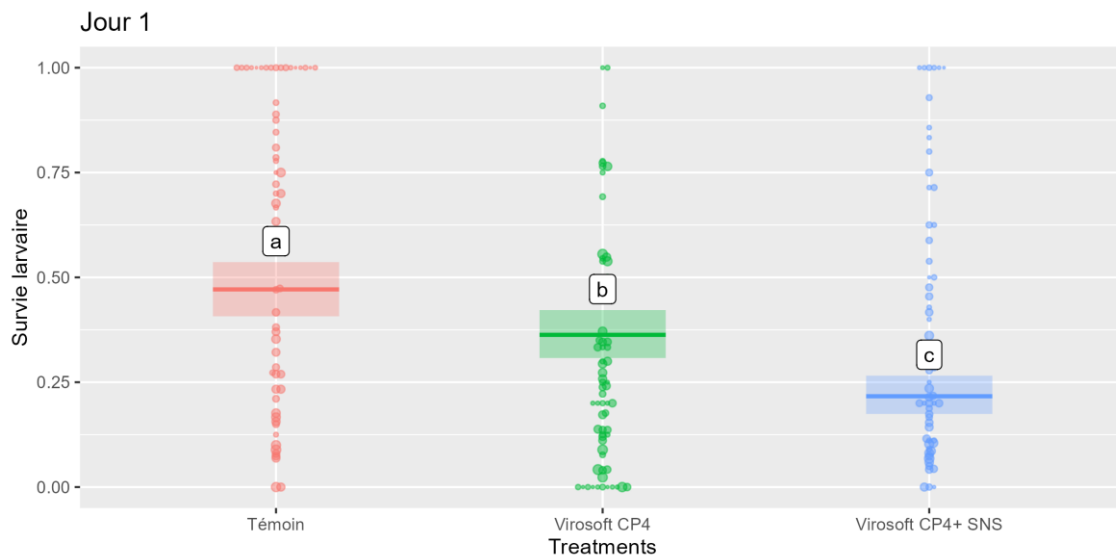


Figure 4. Survie moyenne des larves néonates de CP observée 7 jours après avoir été déposées sur des pommes récoltées 1 jour après la pulvérisation

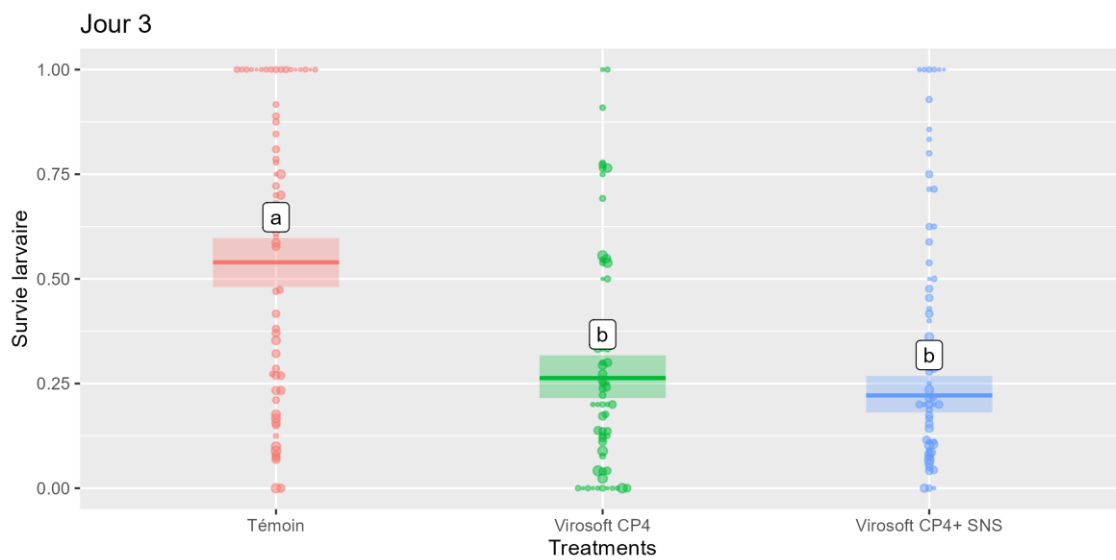


Figure 5. Survie moyenne des larves néonates de CP observée 7 jours après avoir été déposées sur des pommes récoltées 3 jours après la pulvérisation

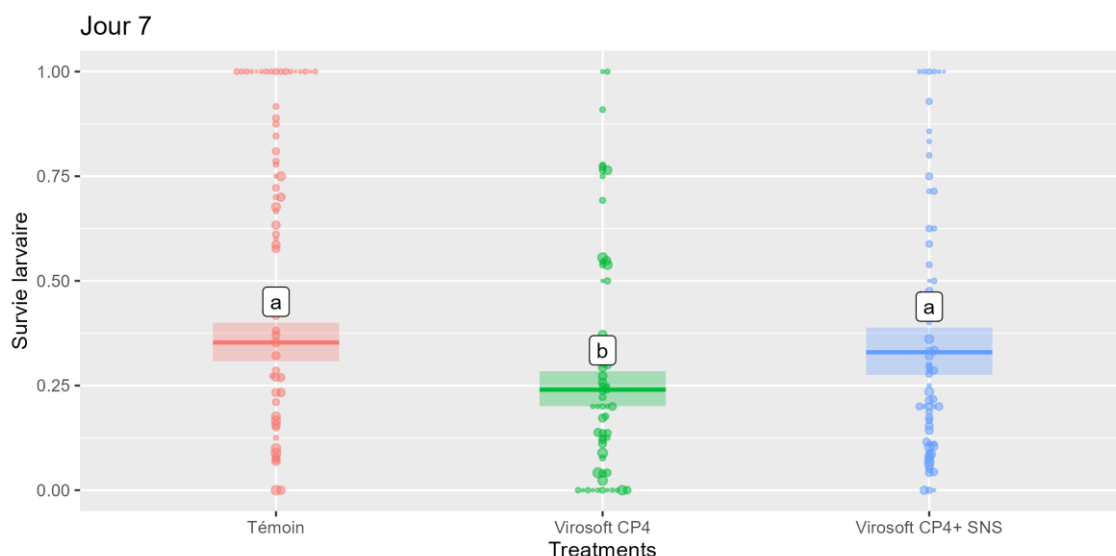


Figure 6. Survie moyenne des larves néonates de CP observée 7 jours après avoir été déposées sur des pommes récoltées 7 jours après la pulvérisation

La survie des larves était significativement plus faible pour le traitement VCP4-2 tous les jours (jour 0, $p=0,0009$; jour 1, $p=0,039$; jour 3, $p<0,0001$ et 7, $p=0,0013$).

La survie des larves était significativement plus faible pour le traitement VCP4-2 + SNS que pour le témoin lors des jours 1 et 3 ($p<0,0001$), mais non significative aux jours 0 ($p=0,2210$) et 7 ($p=0,8088$).

La survie des larves était significativement plus faible pour le traitement VCP4-2 + SNS que pour le VCP4-2 au jour 1 ($p=0,0003$) et 7 ($p=0,0314$), mais non significative aux jours 0 ($p=0,1722$), 3 ($p=0,4413$).

Bande-pièges

En 2022, les données du nombre de larves vivantes et du nombre d'hibernaculum ont été analysées à l'aide d'un modèle linéaire généralisé mixte (GLMM) avec comme variable les traitements et les parcelles considérées comme effet aléatoire. La distribution binomiale négative a été utilisée. Un test de Tukey a été utilisé pour comparer les moyennes estimées (figures 6 et 7).

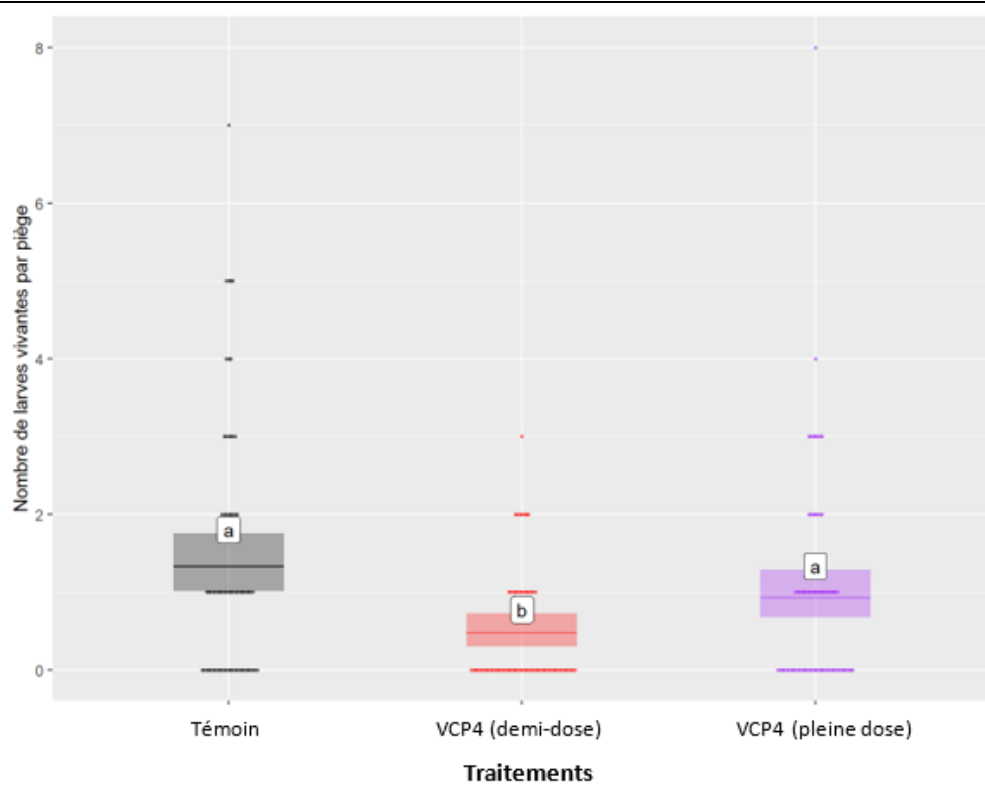


Figure 7. Nombre de larves hibernantes vivantes (moyenne \pm IC 95 %) par bande-piège dans les parcelles du verger expérimental

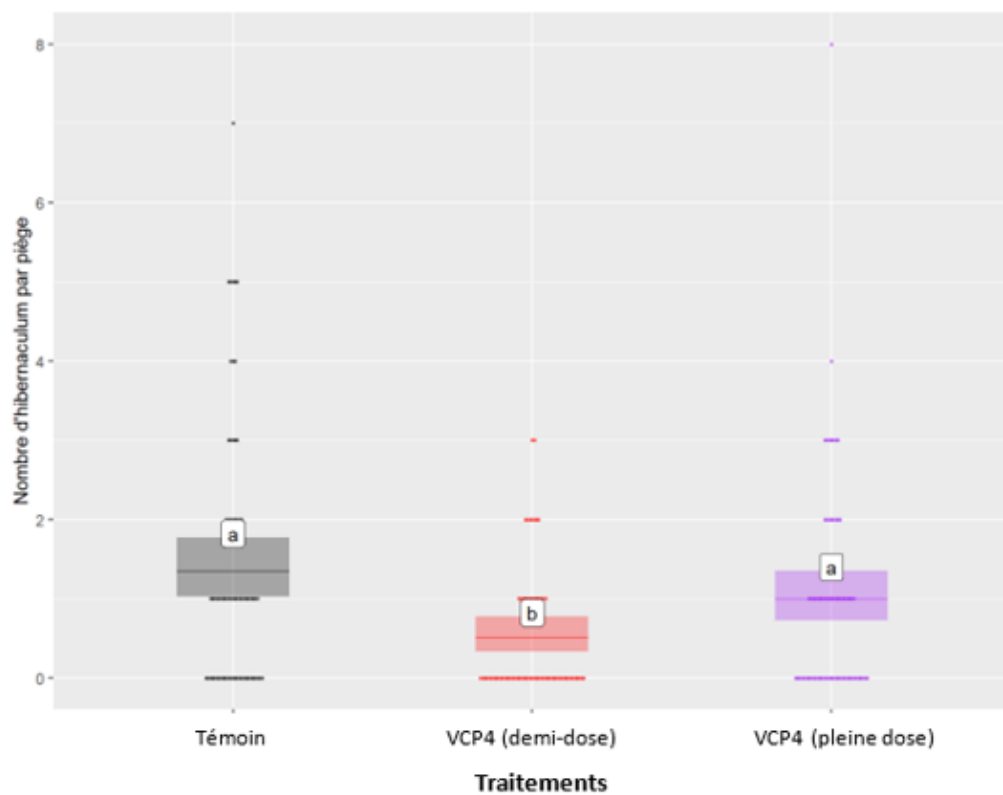


Figure 8. Nombre d'hibernaculum (moyenne \pm IC 95 %) par bande-piège dans les parcelles du verger expérimental

Le nombre de larves vivantes était significativement plus faible pour le VCP4-2 (demi-dose) que pour le témoin ($p=0,0001$) et pour le VCP4-2 (pleine dose) ($p=0,0249$). Le nombre d'hibernaculum total suivait la même tendance; il y avait significativement moins d'hibernaculum totaux pour le VCP4-2 (demi-dose) que pour le témoin ($p=0,0003$) et pour le VCP4-2 (pleine dose) ($p=0,0236$).

Dégât sur pommes

Les données de dégâts sur pommes de 2022 ont été analysées à l'aide d'un modèle linéaire généralisé mixte (GLMM) avec comme variables les traitements, les générations et l'interaction traitements et génération en considérant les pommiers comme un effet aléatoire. La distribution binomiale a été utilisée. L'importance des variables indépendantes a été testée en comparant l'AIC du modèle complet à ceux de modèles simplifiés. Pour les dégâts totaux et les dégâts profonds (figure 8), le modèle retenu a été celui avec effet traitements et générations. Pour les dégâts de surface, le modèle retenu a été celui avec effet générations seulement. Un test de Tukey a été utilisé pour comparer les moyennes estimées.

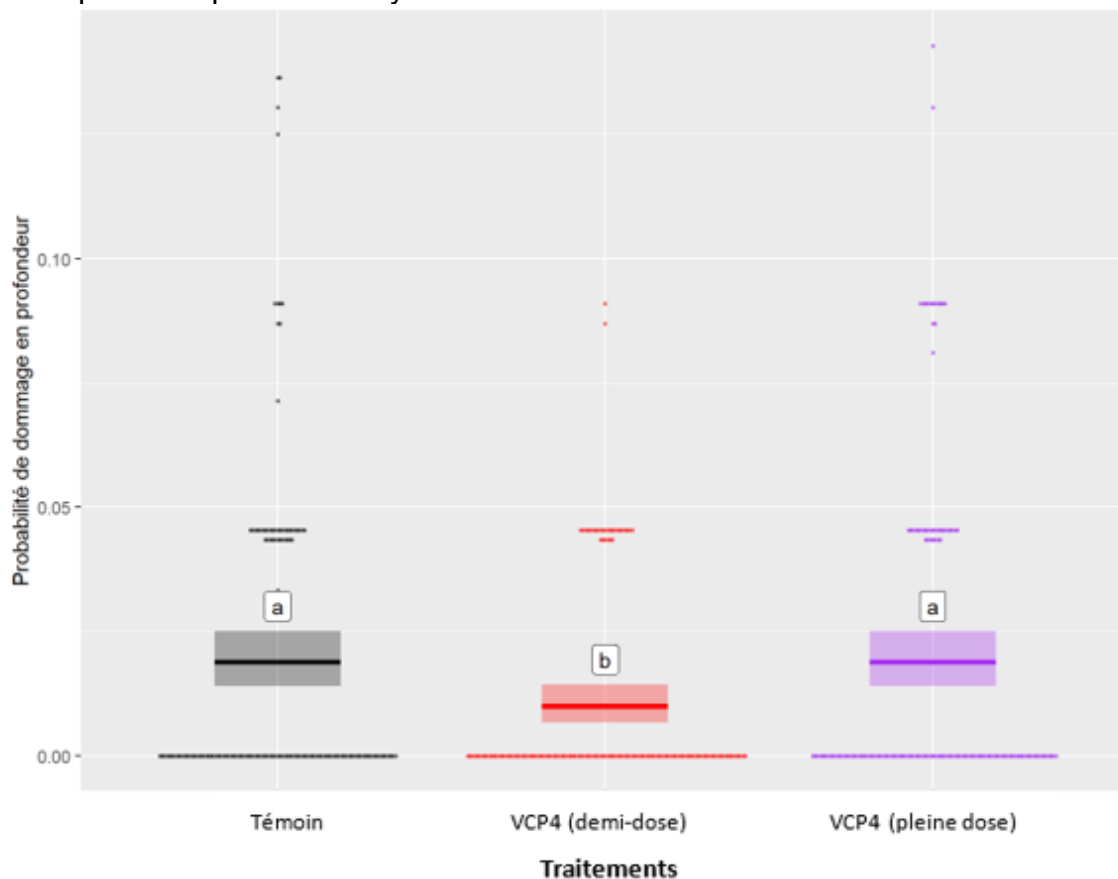


Figure 9. Évaluation des dommages profonds de la G1 et la G2 (moyenne \pm IC 95 %) sur 400 pommes par parcelle du verger expérimentale

Le nombre de dégâts total et le nombre de dégâts de surface n'étaient pas significativement différents d'un traitement à l'autre ($p>0,05$), mais le nombre de dégâts profonds était significativement plus faible pour le VCP4-2 (demi-dose) que pour le témoin ($p=0,0086$) et pour le VCP4-2 (pleine dose) ($p=0,0086$).

Mortalité des larves

En 2022, les données de mortalité des larves déposées sur des pommes qui ont été prélevées 12h après l'application des traitements ont été analysées à l'aide d'un modèle linéaire généralisé mixte (GLMM). Le modèle avait les traitements comme variable et considérait un effet aléatoire pomme

et pulvérisation. La distribution binomiale a été utilisée. Un test de Tukey a été utilisé pour comparer les moyennes estimées (figure 9).

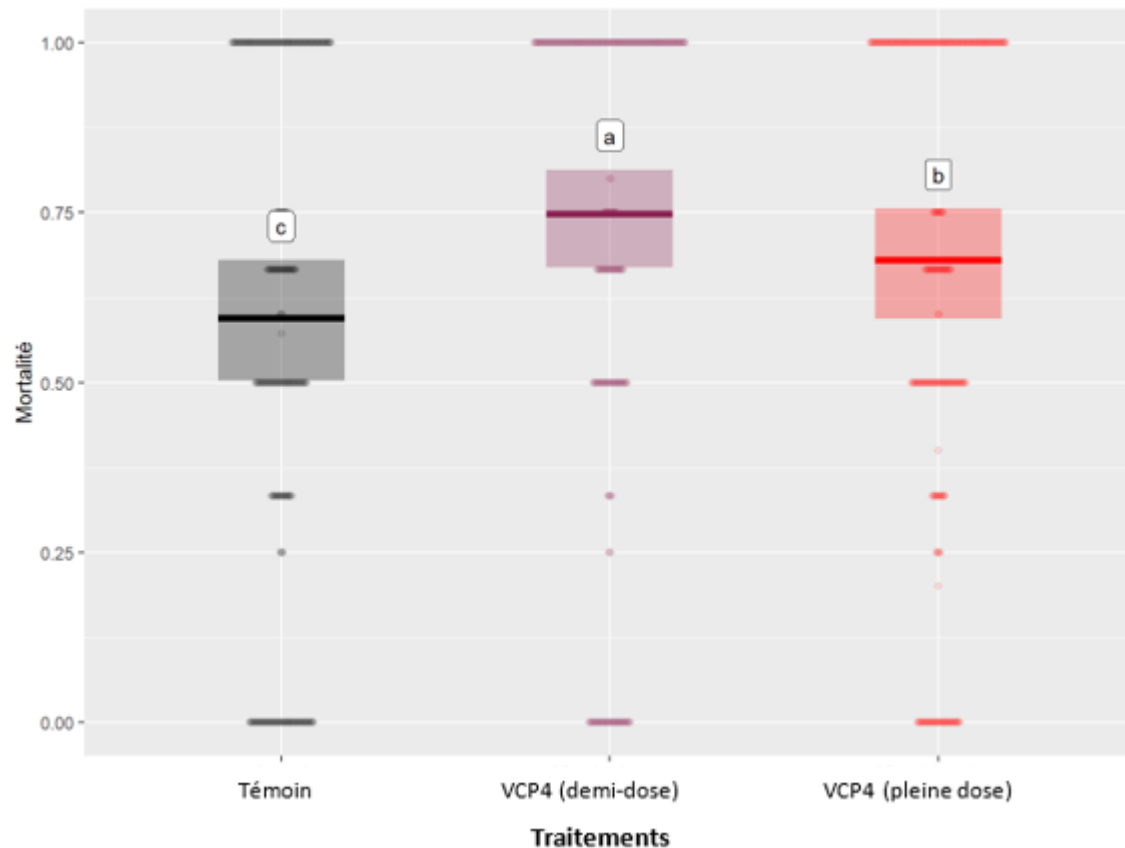


Figure 10. Mortalité des larves néonates de CP (moyenne \pm IC 95 %) observée sept jours après avoir été déposées sur des pommes récoltées 12h après l'application des traitements

La mortalité des larves était significativement plus faible pour le témoin que pour le VCP4 (demi-dose) ($p < 0,0001$) et pour le VCP4-2 (pleine dose) ($p = 0,0038$). La mortalité des larves était significativement plus élevée pour le VCP4 (demi-dose) que pour le VCP4-2 (pleine dose) ($p = 0,0220$).

Volet 2C. Évaluation en vergers commerciaux d'une stratégie de lutte avec le Virosoft CP4 et un adjuvant

Le volet 2C a été effectué en 2021 et 2022 dans 4 vergers commerciaux de la Montérégie-Est sur des parcelles non traitées contre le CP et les tordeuses (sauf les pulvérisations du projet). Dans chaque verger, 2 traitements ont été testés : 1) VCP4-2 (250 ml/ha), 2) eau (témoin) et chaque traitement était réalisé sur une superficie d'environ 1 hectare. Le nombre de larves en diapause en fin de saison a été évalué par des bandes pièges de carton ondulé placées à la base de 40 arbres/traitement. Le nombre de dégâts sur pomme fait par la première et la deuxième génération a été évalué sur 400 pommes/traitement/génération. Les dégâts ont été classés en deux catégories : dégât peu profond ($< 6\text{mm}$) et dégât profond ($\geq 6\text{mm}$). Un piège Delta appâté de l'attractif combo CM/DA a été placé dans chacune des parcelles afin de relever le nombre de carpocapses capturés (données non présentées).

En 2021, quatre pulvérisations ont été effectuées à 7 à 10 jours d'intervalle. En 2022, six pulvérisations ont été effectuées à 7 jours d'intervalle. Cette décision de modification du protocole a été prise en concertation avec notre partenaire BioTEPP et représente davantage les futures recommandations de pulvérisation du Virosoft CP4. Dans les deux cas, la première pulvérisation a été effectuée lors de l'éclosion des premiers œufs du CP (2-3 %).

Bande-pièges

Les données du nombre de larves vivantes et du nombre d'hibernaculum ont été analysées à l'aide d'un modèle linéaire généralisé mixte (GLMM) en fonction de traitements, années et interaction traitements et années avec un effet aléatoire verger. L'importance des variables indépendantes a été testée en comparant l'AIC du modèle complet à ceux de modèles simplifiés. Pour le nombre de larves vivantes, le modèle complet a été retenu, tandis que pour le nombre d'hibernaculum, le modèle sans l'interaction traitements et années a été retenu. La distribution binomiale négative a été utilisée. Le test de Student a été utilisé pour comparer les moyennes estimées (figures 10 et 11).

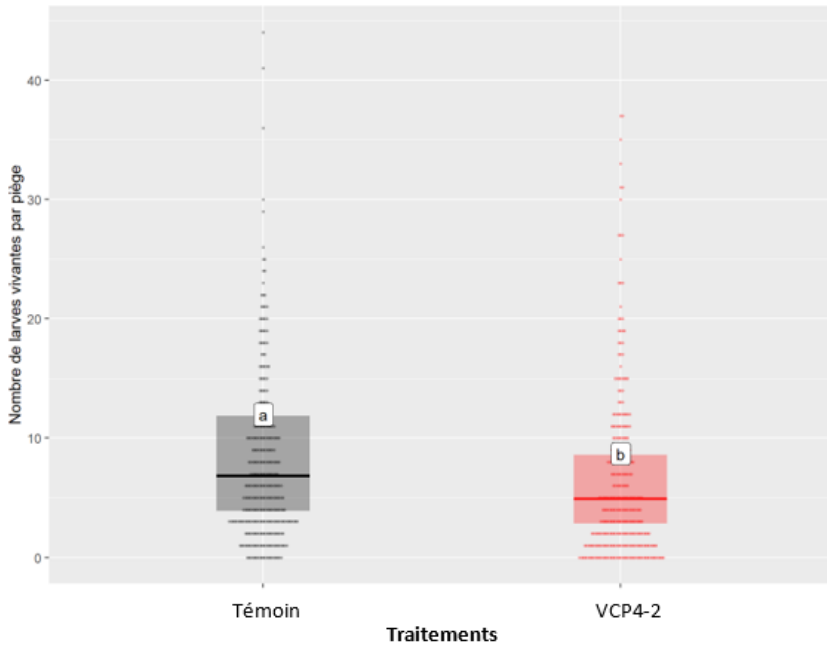


Figure 11. Nombre de larves hibernantes vivantes (moyenne \pm IC 95 %) par bande-piège dans les parcelles des vergers commerciaux en 2022

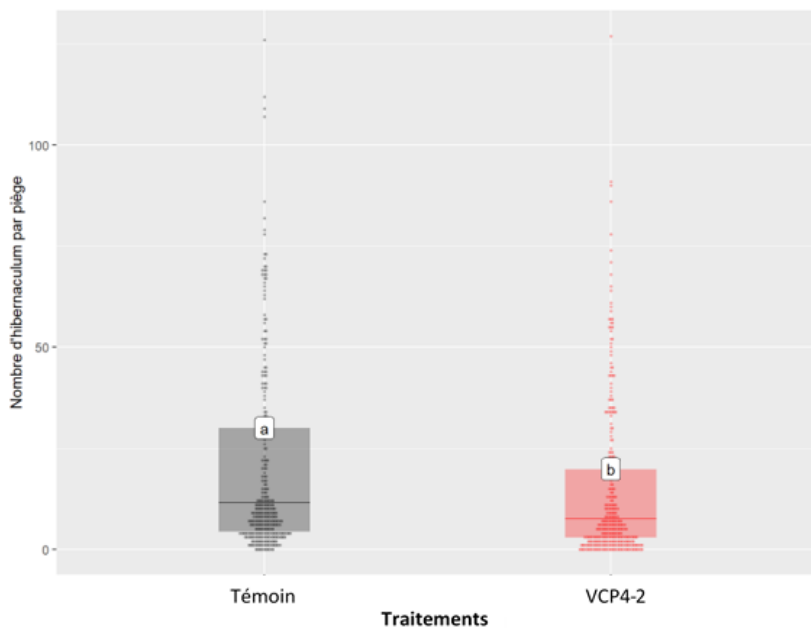


Figure 12. Nombre d'hibernaculum (moyenne \pm IC 95 %) par bande-piège dans les parcelles des vergers commerciaux pour 2021 et 2022 (données regroupées)

En 2021, il n'y a pas eu de différence entre le nombre de larves vivantes du témoin et du VCP4-2 ($p=0,4964$). En 2022, il y a eu significativement plus de larves vivantes pour le témoin que pour VCP4-2 ($p=0,0001$). Pour le nombre d'hibernaculum total, les données 2021 et 2022 ont été analysées ensemble puisqu'il n'y avait pas d'interaction entre les traitements et les années. Le nombre moyen d'hibernaculum total est significativement plus élevé dans le témoin que dans VCP4-2 ($p<0,0001$).

Dégâts sur pommes

En 2021, les données de dégâts sur pommes ont été analysées à l'aide d'un modèle linéaire généralisé mixte (GLMM) en fonction de traitements, générations et interaction traitements et générations avec un effet aléatoire verger. La distribution binomiale a été utilisée. Le test de Student a été utilisé pour comparer les moyennes estimées. Pour la G1, il y a eu significativement moins de pommes endommagées dans le témoin que dans le VCP4-2 pour les dégâts totaux ($p=0,0020$) et les dégâts de surface ($p=0,0031$). Il n'y avait pas de différence significative pour la G2 ni pour les dommages profonds ($p>0,05$). Ces résultats sont fortement influencés par un des vergers qui avaient des dommages beaucoup plus élevés que les trois autres vergers.

En 2022, les données de dégâts sur pommes ont été analysées à l'aide d'un modèle linéaire généralisé mixte (GLMM) avec une distribution binomiale en fonction de traitements, générations et interaction traitements et générations avec un effet aléatoire verger et arbre. Le modèle a été analysé avec des méthodes bayésiennes puisque certains traitements n'avaient aucun dégât. Pour les comparaisons entre traitements, des valeurs de p approximatives ont été calculées à partir des distributions postérieures du modèle (figure 12).

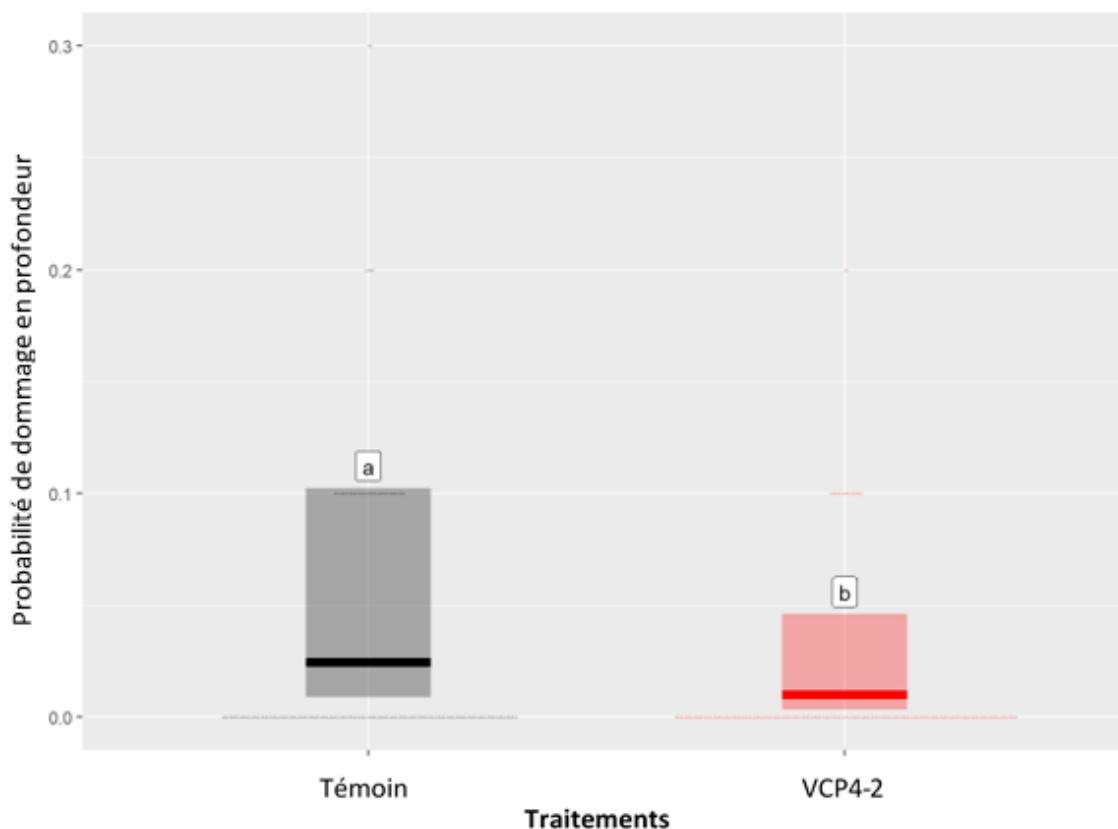


Figure 13. Évaluation des dommages profonds de la génération 1 de CP (moyenne \pm IC 95 %) sur 400 pommes par parcelle des vergers commerciaux

Le nombre de dégâts total et le nombre de dégâts de surface ne sont pas significativement différents d'un traitement à l'autre ($p>0,05$), mais le nombre de dégâts profonds de la G1 est significativement plus faible pour le VCP4-2 que pour le témoin ($p<0,001$). Il n'y a pas de différence

significative entre le VCP4-2 et le témoin pour le nombre de dégâts profond de la G2 ($p>0,05$).

VOLET 3 : EFFET DE MÉLANGE DE DIFFÉRENTS PESTICIDES UTILISÉS EN AGRICULTURE BIOLOGIQUE SUR LE VIROSOFT CP4.

Le volet 3 a été effectué en laboratoire en 2021.

Volet 3A : Impact du mélange avec le Bioprotec PLUS sur l'efficacité du Virosoft CP4

Des doses terrain de Bioprotec PLUS (BP) (1,8L/ha) et de VCP4-2 (250 ml/ha) ont été utilisées pour les essais du volet 3A. Chacun des bioinsecticides a été testé séparément ainsi qu'en mélange et un traitement à l'eau a servi de témoin. La mortalité de 64 larves néonates placées individuellement sur une diète contaminée ou non (témoin) dans les puits d'une plaque Elisa a été observée 7 jours après l'application du produit. Chaque traitement a été répété 4 fois.

Les données de mortalité des larves ont été analysées à l'aide d'un modèle linéaire généralisé (GLM) avec une distribution binomiale et la variable traitements comme facteur. Le modèle a été analysé avec des méthodes bayésiennes puisque certains traitements avaient 0% ou 100% de mortalité. Pour les comparaisons entre traitements, des valeurs de p approximatives ont été calculées à partir des distributions postérieures du modèle (figures 13 et 14).

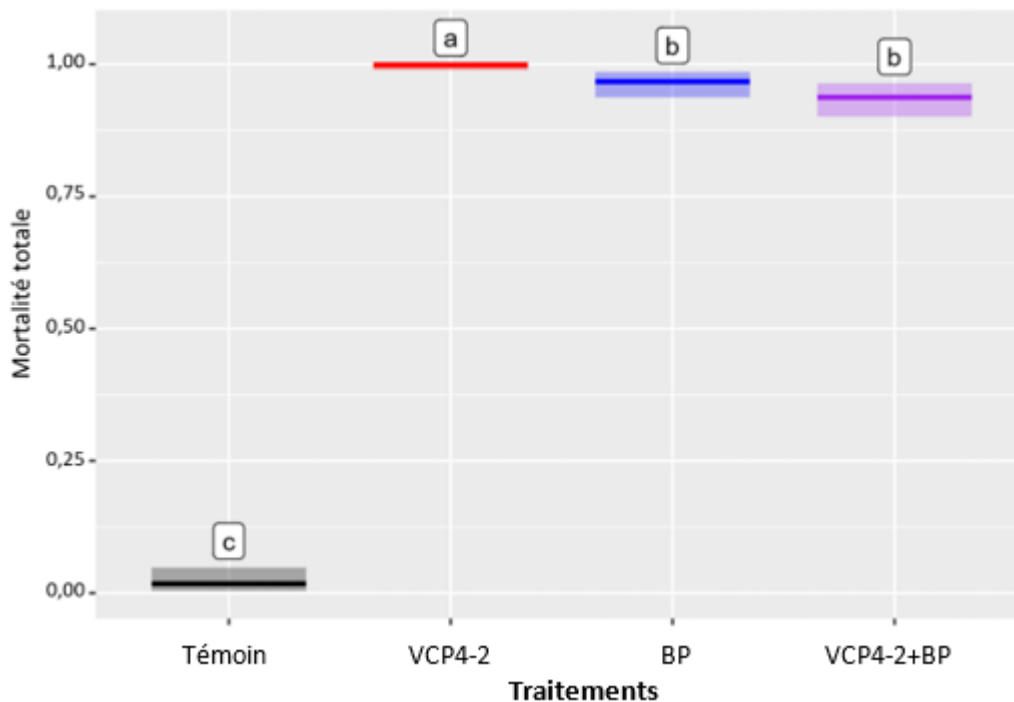


Figure 14. Mortalité totale (moyenne et IC 95%) des larves néonates de carpocapse de la pomme observée 7 jours post introduction des CP

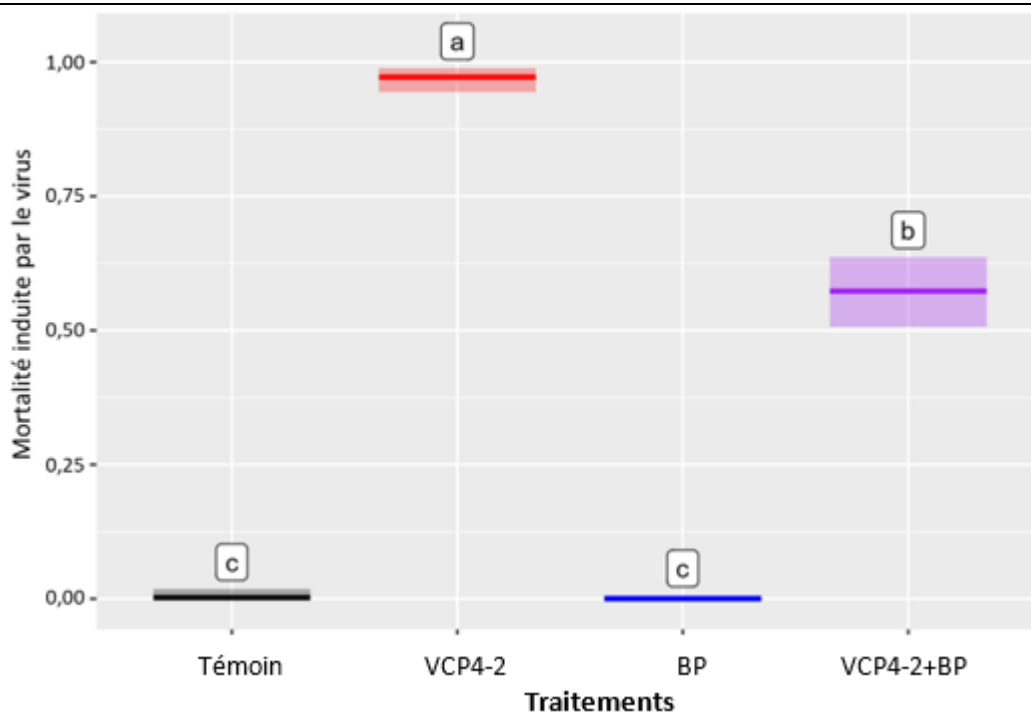


Figure 15. Mortalité induite par le virus (moyenne et IC 95%) des larves néonates de carpacapse de la pomme observée 7 jours post introduction des CP

La mortalité totale a été significativement plus élevée dans le traitement VCP4-2 que dans les traitements BP ($p=0,001$) et VCP4-2 + BP ($p<0,001$). La mortalité induite par le virus a été significativement plus faible dans le mélange VCP4-2 + BP que dans le traitement VCP4-2 ($p<0,001$).

Volet 3B : Impact du mélange de fongicides sur leur compatibilité physico-chimique avec du Virosoft CP4

Pour le volet 3B, les traitements suivants ont été testés 1) VCP4-2 (250 ml/ha); 2) mélange de Kumulus DF (5kg/ha) avec VCP4-2; 3) mélange de bicarbonate de potassium (Bp) (4kg/ha) avec VCP4-2; 4) mélange de Kumulus DF (5kg/ha) et de bicarbonate de potassium (4kg/ha) avec VCP4-2; 5) mélange de chaux soufrée (916ml/ha) avec VCP4-2.

Le VCP4-2 a été ajouté 1 minute après la dilution des autres produits. Le pH des solutions de fongicides a été mesuré 1 minute (T1) et 15 minutes (T15) après l'ajout du Virosoft VCP4-2 et du SNS. La température de la solution a été prise avant l'ajout du Virosoft VCP4-2 et du SNS ainsi qu'après 5, 10 et 15 minutes (données non présentées). La formation de particules de coagulation et d'un précipité ont été observés après 5, 10 et 15 minutes et l'épaisseur du précipité a été mesurée en fin d'expérimentation (données non présentées).

Les données de pH ont été analysées à l'aide d'un modèle linéaire généralisé (GLM) avec les variables traitements, temps et interaction traitements et temps comme facteurs. Un test de Tukey a été utilisé pour comparer les moyennes estimées (figure 15).

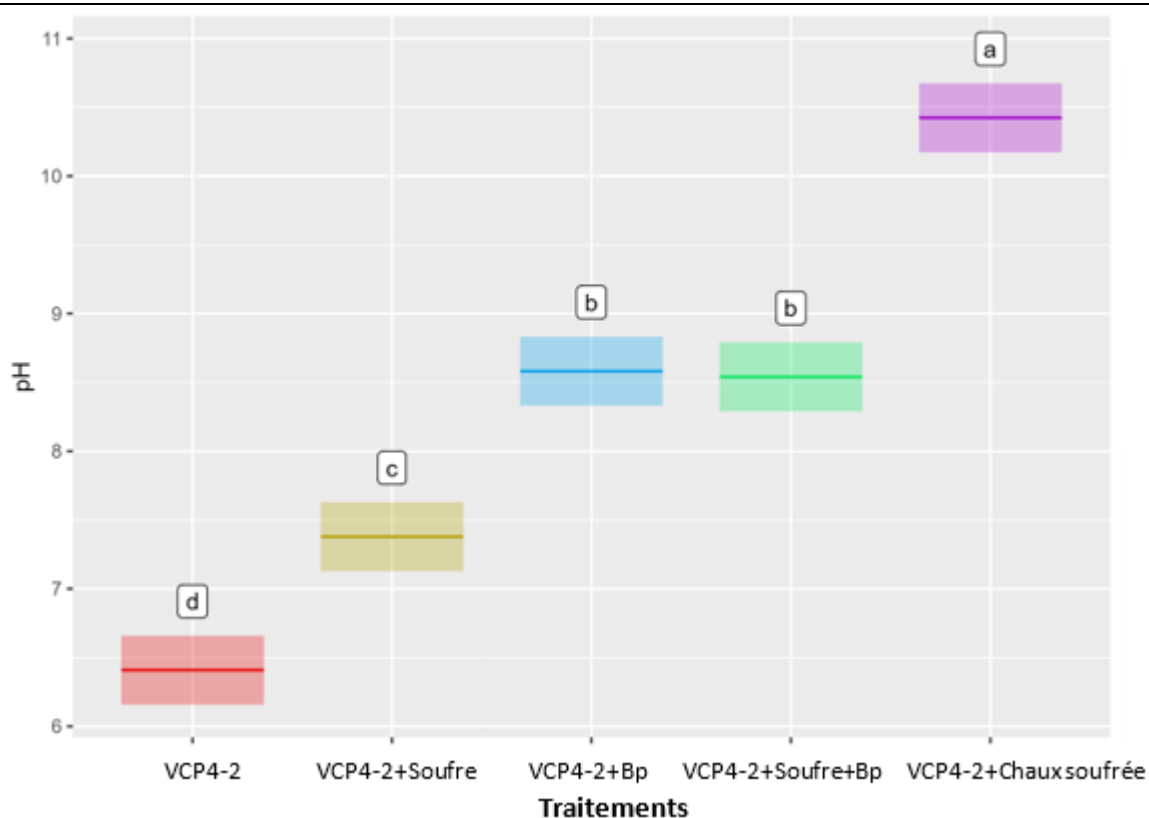


Figure 16. pH (moyenne \pm IC 95 %) pour chaque traitement mesuré à l'aide d'un pH-mètre après la préparation des mélanges

Les valeurs de pH étaient statistiquement différentes entre les traitements ($p < 0,001$), mais non statistiquement différentes entre T1 et T15 ($p=0,6$). Il n'y avait pas d'interaction significative entre le temps et les traitements ($p=0,78$).

Les valeurs de pH étaient différentes entre tous les traitements ($p < 0,0001$), sauf entre VCP4-2 + Bp et VCP4-2 + Soufre + Bp ($p=0,9992$).

Volet 3C : Impact du mélange de fongicides sur l'efficacité du Virosoft CP4

Pour le volet 3C, les traitements suivants ont été comparés 1) VCP4-2 (250 ml/ha); 2) mélange du Kumulus DF (5kg/ha) avec VCP4-2; 3) mélange de bicarbonate de potassium (Bp) (4kg/ha) avec VCP4-2; 4) mélange de chaux soufrée (916ml/ha) avec VCP4-2; 5) mélange du Kumulus DF (5kg/ha) et du bicarbonate de potassium (4kg/ha) avec VCP4-2; 6) eau (témoin). La mortalité de 64 larves néonates placées individuellement sur une diète contaminée ou non (témoin) dans les puits d'une plaque Elisa a été observée 7 jours après l'application du produit. Chaque traitement a été répété 4 fois.

Les données de mortalité des larves ont été analysées à l'aide d'un modèle linéaire généralisé (GLM) avec une distribution binomiale et la variable traitements comme facteur. Le modèle a été analysé avec des méthodes bayésiennes puisque certains traitements avaient 100% de mortalité. Pour les comparaisons entre traitements, des valeurs de p approximatives ont été calculées à partir des distributions postérieures du modèle (figure 16).

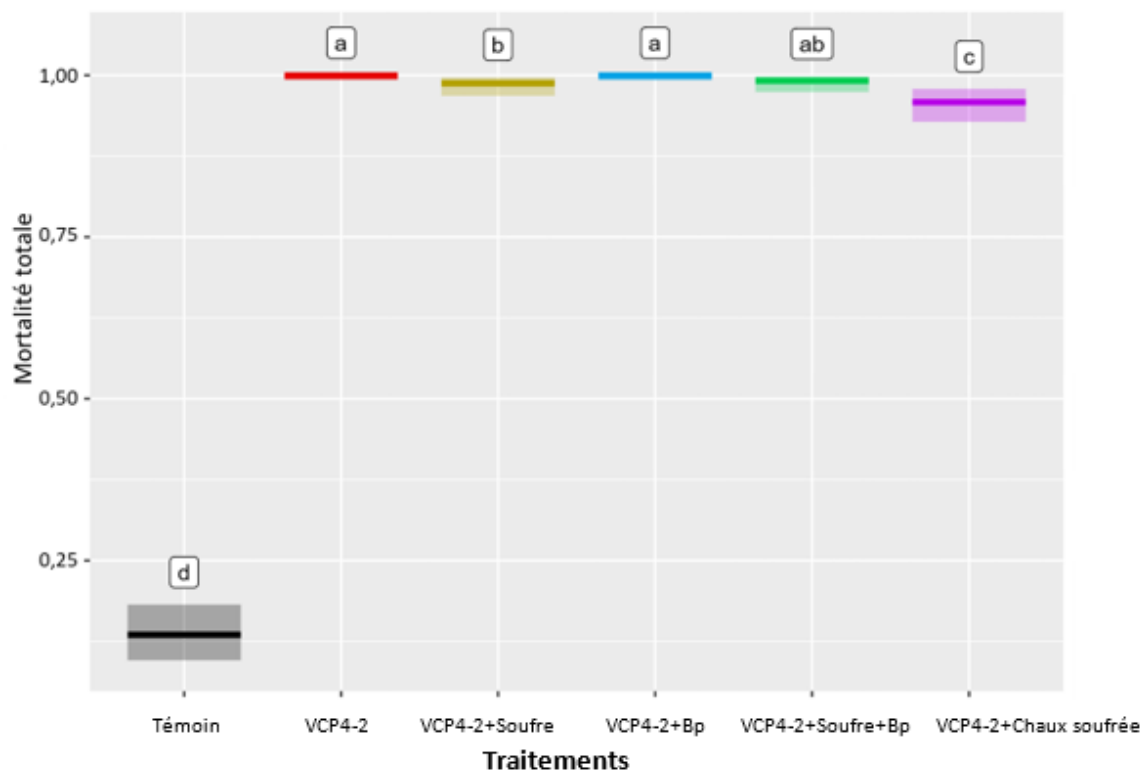


Figure 17. Mortalité totale (moyenne ± IC 95 %) des larves néonates de CP observée 7 jours post introduction des CP

La mortalité des néonates a été significativement réduite dans les mélanges VCP4-2 + soufre ($p < 0,05$) et VCP4-2 + chaux soufrée ($p < 0,001$) par rapport au VCP4-2 seul.

La mortalité des néonates a été réduite, mais de façon non significative dans le mélange VCP4-2 + soufre + Bp par rapport au VCP4-2 seul ($p > 0,05$).

CONCLUSION

Dans nos bioessais en laboratoire, nous n'avons pas détecté de différence significative entre les courbes doses-réponses de la nouvelle formulation du Virosoft CP4 (VCP4-2) et de la formulation de référence (VCP4-1). Quoique non significatives, les valeurs des CL50, CL90 et CL95 de la nouvelle formulation étaient plus faibles que celles de la formulation de référence, indiquant qu'une quantité virale moindre est nécessaire pour causer la mortalité des larves néonates.

L'adjuvant Stick N Stay (SNS) n'a pas augmenté l'efficacité du VCP4-2 et sa capacité à réduire la photodégradation du VCP4-2 n'a pas été démontrée autant dans les tests en laboratoire que ceux réalisés dans le verger. Le produit n'a pas été retenu par notre compagnie partenaire BioTEPP.

En vergers commerciaux et expérimental, les données suggèrent qu'appliquer le VCP4-2 à six reprises à 7 jours d'intervalle durant la saison est préférable à l'application à 4 reprises à 7 à 10 jours d'intervalle. En 2022, nous avons observé une réduction significative du nombre de larves hibernantes et du nombre de dégâts profonds dans les parcelles pulvérisées au VCP4-2 comparativement au témoin. Cependant, à notre grande surprise, nous avons constaté que le VCP4-2 pulvérisé à demi-dose a été plus efficace que le VCP4-2 pleine-dose en verger expérimental. Toutefois, il faut noter que ces tests en verger ont été réalisés qu'une seule année et qu'il faudrait les répéter au moins deux autres années avant de conclure à leur efficacité.

Le mélange VCP4-2 + Bioprotect PLUS a réduit la mortalité totale des néonates et la mortalité induite par le virus, suggérant qu'une application dans le verger de ce mélange réduirait la mortalité des larves de carpocapse de la pomme. Cependant, les deux bioinsecticides pourraient être mélangés dans une cuve pour une pulvérisation en vergers si l'insecte ravageur ciblé n'est

pas le carpocapse de la pomme. Parallèlement, le mélange VCP4-2 et le biofongicide bicarbonate de potassium peut être envisagé en utilisation en verger sans réduire la mortalité aux larves du carpocapse de la pomme. Les mélanges avec soufre ou avec soufre et bicarbonate de potassium pourraient aussi être envisagés, mais avec une réduction de la mortalité des larves du carpocapse de la pomme. Une réduction de l'efficacité du VCP4-2 serait plus marquée lorsque mélangée avec la chaux soufrée. Ces suggestions doivent préalablement être testées en verger de pommiers avant de conclure à leur efficacité.

ANNEXES

Activité de transfert et de diffusion scientifique

Charbonneau, A., F. Vanoosthuyse, G. Chouinard, H. Rasamimanana et D. Cormier. 2022. Compatibilité du Virosoft CP4 en mélange avec différents pesticides biologiques. Affiche présentée à la 149^{ième} réunion annuelle de la Société d'entomologie du Québec, Granby, QC, 27 et 28 oct.

COMPATIBILITÉ DU VIROSOFT^{MC} CP4 EN MÉLANGE AVEC DIFFÉRENTS PESTICIDES BIOLOGIQUES



Charbonneau A¹, F. Vanoosthuyse¹, G. Chouinard¹, H. Rasamimanana² et D. Cormier¹

¹Institut de recherche et de développement en agroenvironnement (IRDA), Saint Bruno de Montarville, QC J3V 0G7 Canada.

²BioTEPP Inc., Lévis, QC G6V 6Z3 Canada.

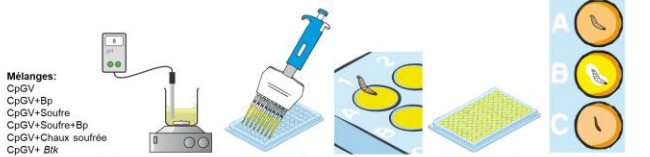
INTRODUCTION

- Pour lutter contre le carpocapse de la pomme (*Cydia pomonella* (L.) (Lepidoptera: Tortricidae), plusieurs pomiculteurs utilisent des moyens de lutte à risques réduits comme le Virosoft^{MC} CP4, un bio-insecticide à base de virus de la granulose (CpGV).
- Pour une lutte efficace, ce bio-insecticide doit être appliqué à plusieurs reprises pendant une période où d'autres ravageurs et maladies sont présents, ce qui mène à des mélanges de pesticides.
- Pendant cette période, les bio-fongicides sont surtout utilisés pour lutter contre la tavelure et le bio-insecticide *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki* (Btk) est utilisé pour lutter contre la tordeuse à bandes obliques, *Choristoneura rosaceana* (Harris) (Lepidoptera: Tortricidae).
- Cette étude visait à estimer l'efficacité du Virosoft^{MC} CP4 en mélange avec des bio-pesticides susceptibles d'être appliqués conjointement.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Tableau 1. Bio-pesticides testés lors des bioessais en laboratoire

Produits commerciaux	Abréviation	Ingrédients actifs	Doses terrain (ha)	Concentrations (L)
Virosoft ^{MC} CP4	CpGV	<i>Cydia pomonella</i> granulovirus souche CMGv4	0,25 L	3,56 x 10 ⁹ CIs
Bioprotec PLUS [®]	Btk	<i>Bacillus thuringiensis</i> <i>kurstaki</i> souche EVB113-19	1,8 L	0,65 ml
Bicarbonate de potassium technique	Bp	Bicarbonate de potassium	4 kg	8 g
Kumuluf [®] DF	Soufre	Soufre	5 kg	10 g
Bouillie (chaux) soufrée	Chaux soufrée	Polysulfure de calcium	916 ml	9,16 ml



1. Mélange	2. Mesure du pH	3. Dépôt du mélange	4. Introduction des larves	5. Incubation des larves	6. Observation
CpGV ajouté • 1 min après la dilution des autres produits	Temps après le mélange • T1 = 1 min • T15 = 15 min • Répétitions: 3	Dépôt de 6 µl de mélange sur 200 µl de diète de CP/ puits Période de séchage avant l'introduction des CP: 1 h	1 larve néonate de CP/ puits Total: 64 néonates/ mélange Répétitions: 4	25 ± 1°C; 65 ± 5% RH; 16:8 (L:D) Mortalité larvaire: 7 jours post-introduction des CP CP vivant: • Réaction au toucher avec un pinceau (A) • Réaction au toucher avec un pinceau (A) • Mortalité induite par le virus, aucune réaction, liquide blanchâtre autour ou sortant des larves (B) • Cause de mortalité inconnue, aucune réaction, sans liquide blanchâtre (C)	

Analyses statistiques:

- Analyse de la variable pH: Modèles linéaires généralisés (GLM) avec traitements, temps et interaction traitement et temps comme facteurs. Tukey comme test de comparaison.
- Analyse de la variable mortalité: GLM avec une distribution binomiale et traitements comme facteur. Méthodes bayésiennes comme test de comparaison.
- Les valeurs sont exprimées en moyenne ± intervalle de confiance (IC) 95 %.

DISCUSSION

- La réduction significative de la mortalité des néonates dans le mélange avec la chaux soufrée pourrait être associée à une valeur de pH supérieur à 10, connue pour dissoudre les corps d'inclusion virale (Harvey and Volkman 1983). Une réduction de la mortalité du CP a également été observée lorsque le CpGV était mélangé à des fongicides dans des conditions alcalines (Fritsch et al. 2012).
- La réduction de la mortalité observée dans le mélange CpGV + Soufre (pH < 8) n'a pas pu être associée à la dissolution des corps d'inclusion viraux dans les conditions alcalines suggérant que le soufre a joué un rôle dans la réduction de la mortalité des néonates. Le rôle du soufre n'est pas clair, mais il est connu pour être impliqué dans le processus de pénétration de certains virus à travers la membrane cellulaire (Cheng et al. 2020).
- Le mélange CpGV + Btk a réduit la mortalité totale des néonates et la mortalité induite par le virus. Une réduction semblable a été observée par Chancey et al. (1973), suggérant une inhibition de l'alimentation ou une inhibition du passage viral dans les cellules de l'intestin moyen. L'effet alimentaire inhibiteur du Btk sur les larves peut avoir entraîné une réduction de l'absorption de CpGV par les larves et une réduction du nombre de virus qui ont induit la mortalité (Pingel and Lewis, 1999). D'autre part, les deux entomopathogènes provoquent une pathologie dans l'intestin moyen et le Bt agit plus rapidement que le baculovirus (Knowles, 1994; Granados and William, 1986), ce qui peut avoir causé la mortalité plus rapide des néonates par le Btk que par le CpGV.

REMERCIEMENTS

Les auteurs remercient Mariloup Duchesne pour son aide technique et Mick Wu pour les analyses statistiques.

Ce projet a été financé par l'entremise du programme InnoAction Agroalimentaire, en vertu du Partenariat canadien pour l'Agriculture, entente conclue entre les gouvernements du Canada et du Québec.

RÉFÉRENCES

- Chancey G. Jr., W.C. Yearian, et S.Y. Young. 1973. Pathogen mixtures to control insect pests. *Ark. Farm Res.* 22: 9.
- Cheng Y., A.T. Pham, T. Kato, B. Lim, D. Moreau, J. López-Andarias, L. Zeng, N. Sakai et S. Malle. 2021. Inhibitors of thiol-mediated uptake. *Chem. Sci.* 12: 626-631.
- Fritsch, E., K. Undorf-Spahn, J. Kienzle, J. Huber et J.A. Jehle. 2012. Effect of mixtures with other products on the efficacy of codling moth granulovirus (CpGV). *Proceeding of the 15th International Conference on Organic Fruit-Growing*, 332-337.
- Granados, R.R., et K.A. Williams. 1986. *In vivo* infection and replication of baculoviruses, pp. 89-108. In R.R. Granados and B.A. Federici [eds.]. *The biology of baculoviruses*, vol. 1. CRC, Boca Raton, FL.
- Harvey, J.P. et E. Volkman. 1983. Biochemical and biological variation of *Cydia pomonella* (codling moth) granulose virus. *Virology* 124: 21-34.
- Knowles, B.H. 1994. Mechanisms of action of *Bacillus thuringiensis* insecticidal delta-endotoxins. *Adv. Insect Physiol.* 24: 275-307.
- Pingel, R.L. et L.C. Lewis. 1999. Effect of *Bacillus thuringiensis*, *Anagrapha faicifera* multiple nucleopolyhedrovirus, and their mixture on three lepidopteran corn ear pests. *J. Econ. Entomol.* 92: 91-96.

RÉSULTATS

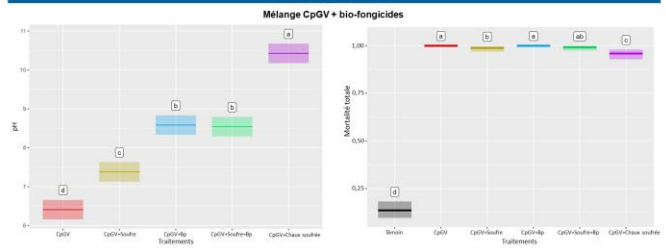


Figure 2. Mortalité totale (moyenne ± IC 95 %) des larves néonates de CP observée 7 jours post-introduction des CP.

- La mortalité des néonates a été significativement réduite dans les mélanges CpGV + soufre et CpGV + chaux soufrée (p < 0,001).
- La mortalité des néonates a été réduite, mais de façon non significative dans le mélange CpGV + soufre + Bp.

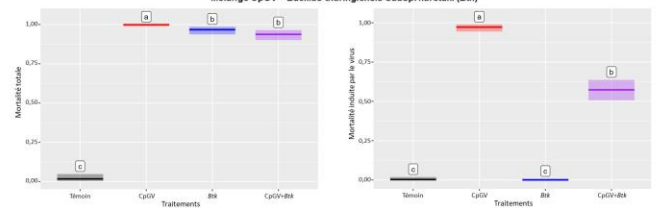


Figure 3. Mortalité totale (gauche) et mortalité induite par le virus (droite) (moyenne et intervalle de confiance 95 %) des larves néonates de CP observées 7 jours post-introduction des CP.

- La mortalité totale a été significativement plus élevée dans le traitement CpGV que dans les traitements Btk (p = 0,001) et CpGV + Btk (p < 0,001).
- La mortalité induite par le virus a été significativement plus faible dans le mélange CpGV + Btk que dans le traitement CpGV (p < 0,001).

Cormier, D., F. Vanoosthuysse, G. Chouinard and H. Rasamimanana. 2022. Compatibility of CpGV with Fungicides and *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki*. Affiche présentée au PheroFruits 2022; Joint meeting of the IOBC/WPRS working groups Pheromones and other semiochemicals in IP & Integrated protection of fruit crops, Girona, Espagne, 25-29 sept.

COMPATIBILITY OF CpGV WITH BIOFUNGICIDES AND *BACILLUS THURINGIENSIS* SUBSP. *KURSTAKI*



Daniel Cormier¹, Franz Vanoosthuysse¹, Gérald Chouinard¹ and Harnaivo Rasamimanana²

¹Research and Development Institute for the Agr-Environment (IRDA), 335 rang des Vingt-Cinq Est, Saint-Bruno-de-Montarville, J3V 0G7 (Quebec) Canada, ²BioTEPP Inc., 201 rue Monseigneur-Bourget, Lévis, G6V 6Z3 (Quebec) Canada.

INTRODUCTION

- The codling moth *Cydia pomonella* granulovirus, CpGV, has recently been used in our region to control codling moth, particularly since an increase number of apple growers have adopted low risk pest control methods.
- For effective control, CpGV must be applied repeatedly covering a period when other pests and diseases are present, which will lead to mixture pesticide applications.
- During this period, biofungicides are sprayed mostly to control apple scab and the bioinsecticide *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki* (*Btk*) to control obliquebanded leafroller, *Choristoneura rosaceana* (Harris).
- This study focused on the virus activity when the CpGV is mixed with currently used biopesticides.
- We evaluated in laboratory bioassays, the compatibility of the CpGV with biofungicides and *Btk* at field concentrations.

MATERIALS AND METHOD

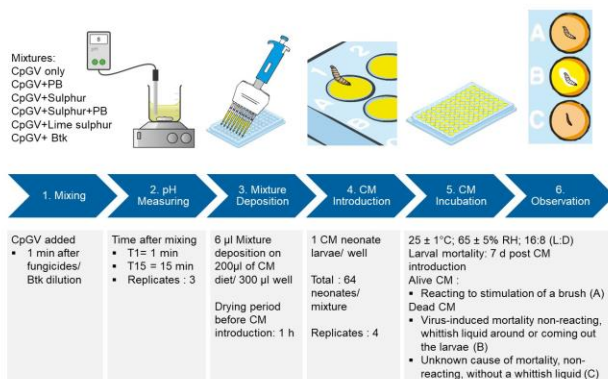


Table 1. Commercial bioinsecticides mixed with CpGV for larval bioassays at field concentrations

Commercial products	Active ingredients	Doses (l/ha)	Concentrations (l/L)
Virosoft ^{MC} CP4	<i>C. pomonella</i> granulovirus strain CMGv4	0.25 L	3.56 x 10 ⁹ Obs
Bioprotec PLUS®	<i>Bacillus thuringiensis</i> <i>kurstaki</i> strain EVB113-19	1.8 L	0.65 ml
Potassium bicarbonate technical	Potassium bicarbonate	4 kg	8 g
Kumulus® DF	Sulphur	5 kg	10 g
Lime sulphur	Calcium polysulphide	916 ml	9.16 ml

Statistical Analysis

GLM with treatments, time and treatments*time as factors with Tukey as a comparison test, for the pH variable and GLM with binomial distribution and treatments as factors and the Bayesian approach as comparison test for the mortality variable. Values are expressed as mean ± 95 % confidence intervals.

DISCUSSION

- The significant mortality reduction of neonates in the mixture with lime sulphur formation could be associated with a pH value greater than 10, known to dissolve the viral occlusion bodies (Harvey and Volkman 1983). Reduction of codling moth mortality was also observed when CpGV was mixed with fungicides under alkaline conditions (Fritsch et al. 2012).
- However, when CpGV was mixed with sulphur formulation, alone or with potassium bicarbonate, a reduction, was observed in the mortality of neonate but the pH could not be associated with the reduction.
- The mortality reduction observed in the CpGV + sulphur (pH < 8) could not be associated with the dissolution of the viral occlusion bodies in alkaline conditions suggesting that sulphur played a role in the mortality reduction of neonate. However, the addition of PB to the CpGV + sulfur mixture had reduced the neonate mortality. The role of sulphur is unclear, but it is known to be involved in the process of some virus penetration through the cell membrane (Cheng et al. 2020).
- Mixing *Btk* with CpGV reduced the total mortality of neonates but more extensively the virus-induced mortality. Such reduction was also observed by Chancey et al. (1973), suggesting an inhibition of feeding or an inhibition of viral passage into the midgut cells. Inhibitory feeding effect of *Btk* on larvae may have resulted in reduction of CpGV intake by the larvae and reduction in number of virus that induced mortality (Pingel and Lewis, 1999). In the other hand, both entomopathogen cause pathology in the midgut and *Bt* acts more rapidly than baculovirus (Knowles, 1994; Granados and Williams, 1986), which may have caused more rapidly the mortality of neonates than CpGV.

ACKNOWLEDGEMENTS

We are thankful to Manioup Duchesne and Audrey Charbonneau for their technical support and Mick Wu for his helpful assistance in statistical analysis.

This project was funded through the "Innov'Action Agroalimentaire" Program, under the Canadian Agricultural Partnership, an agreement between the governments of Canada and Quebec

REFERENCES

- Chancey, G., Jr., W.C. Yearian, and S.Y. Young. 1973. Pathogen mixtures to control insect pests. *Ark. Farm Res.* 22: 9.
- Cheng, Y., A.T. Pham, T. Kato, B. Lim, D. Moreau, J. López-Andarias, L. Zong, N. Sakai and S. Matile. 2021. Inhibitors of thiol-mediated uptake. *Chem. Sci.* 12: 628-631.
- Fritsch, E., K. Undorf-Spann, J. Kienzle, J. Huber and J.A. Jehle. 2012. Effect of mixtures with other products on the efficacy of codling moth granulovirus (CpGV). Proceeding of the 15th International Conference on Organic Fruit-Growing, 332-337.
- Granados, R.R., and K.A. Williams. 1986. In vivo infection and replication of baculoviruses, pp. 89-108. In R.R. Granados and B.A. Federic (eds.), *The biology of baculoviruses*, vol. 1. CRC, Boca Raton, FL.
- Harvey, J.P. and L.E. Volkman. 1983. Biochemical and biological variation of *Cydia pomonella* (codling moth) granulosis virus. *Virology* 124: 21-34.
- Knowles, B.H. 1994. Mechanisms of action of *Bacillus thuringiensis* insecticidal delta-endotoxins. *Adv. Insect Physiol.* 24: 275-307.
- Pingel, R.B. and L.C. Lewis. 1999. Effect of *Bacillus thuringiensis*, *Anagrapha falicifera* multiple nucleopolyhedrovirus, and their mixture on three lepidopteran corn ear pests. *J. Econ. Entomol.* 92: 91-96.

RESULTS

Mixture CpGV + Biofungicides

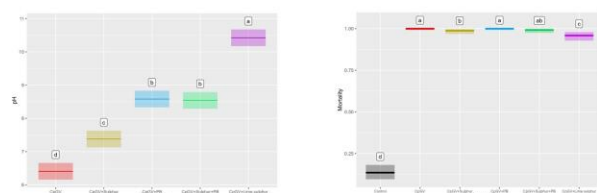


Figure 1. Potential of hydrogen (mean ± 95 % CI) for each treatment taken by a pH-meter after the preparation of the mixture.

- pH values statistically different between biopesticides ($p < 0.001$), but not statistically different between T1 and T15 ($p = 0.6$) with no interaction between time and biopesticides ($p = 0.78$).
- pH values differed between all treatments ($p < 0.0001$), but not between CpGV + PB and CpGV + Sulphur + PB ($p = 0.9992$).

Figure 2. Mortality (mean ± 95 % CI) of codling moth neonates observed 7 days post CM introduction.

- Neonate mortality was significantly reduced in the CpGV + sulphur and the CpGV + lime sulphur mixture ($p < 0.001$).
- Highest neonate mortalities were observed but not significantly between CpGV, CpGV + PB and CpGV + sulphur + PB mixture.
- Lowest neonate mortality in mixture was observed in the CpGV + Lime sulphur.

Mixture CpGV + *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki* (*Btk*)

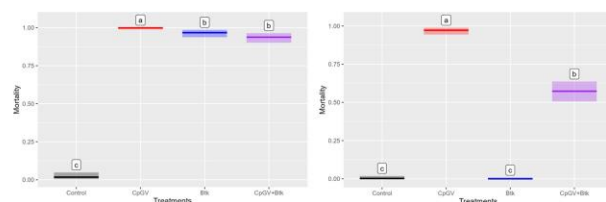


Figure 3. Total (left) and virus-induced (right) mortality (mean ± 95 % CI) of codling moth neonates observed 7 days post CM introduction.

- Total mortality was significantly higher in the CpGV treatment than in *Btk* ($p = 0.001$) and in CpGV + *Btk* ($p < 0.001$) treatments.
- Virus-induced mortality was significantly lower in the CpGV-*Btk* mixture than CpGV alone ($p < 0.001$).

Activités de diffusion et de transfert aux utilisateurs

Cormier, D. et F. Vanoosthuysse. 2022. Compatibilité du Virosoft avec certains fongicides. Présentation orale aux journées annuelles sur la recherche et l'innovation technologique du groupe d'experts en protection du pommier, mode virtuel, 10-11 févr.

COMPATIBILITÉ DU VIROSOFT CP4 AVEC CERTAINS FONGICIDES

Daniel Cormier, *Ph.D.*
Franz Vanoosthuysse, *M.Sc.*

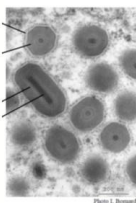


INTRODUCTION

- Virosoft CP4 utilisé contre les larves de carpocapse
- Applications régulières de fongicides
- Est-ce qu'un mélange peut être approprié?
- pH peut affecter l'efficacité du Virosoft CP4
- pH varie selon les fongicides
- Évaluer en laboratoire, la compatibilité du Virosoft CP4 et certains fongicides
- À partir des concentrations retrouvées dans la cuve de pulvérisation

CPGV

- Granulovirus: granule + virion
- $CL_{50} = 1,2$ à 5 granules/néonate
- Granule doit être ingérée
- Granule est dissoute dans des lieux alcalins (pH>10)
- Libération du virion, puis infection des cellules
- Mort s'ensuit dans les 3 jours
- Virosoft CP4: 4×10^{13} granules/L



VIROSOFT-NOUVELLE FORMULATION

- Ajout d'un adjuvant
 - Meilleure homogénéisation
 - Meilleure dispersion
 - Produit plus fluide au froid
- Projet en collaboration pour évaluer la nouvelle formulation
- Disponible en 2023

FONGICIDES - ÉTIQUETTES

- Kumulus^{MD} DF
 - Soufre 80% + agitation
 - Ne pas mélanger avec des composés diazotés, du tetradifon ou des huiles
- B2K
 - Bicarbonate de potassium 100%
 - Ne pas mélanger avec d'autres pesticides ou engrais
- Chaux soufrée
 - Polysulfure de calcium 22%

COMPATIBILITÉ VIROSOFT-FONGICIDES

- Physico-chimique
 - pH
 - Température
- Biologique
 - Bioessais en laboratoire sur des néonates de carpocapse de la pomme

PHYSICO-CHIMIQUE

Traitements

- Virosoft (nouvelle formulation)
- Virosoft + Kumulus
- Virosoft + B2K
- Virosoft + Kumulus + B2K
- Virosoft + Chaux soufrées



PHYSICO-CHIMIQUE

• Concentrations utilisées

Virosoft	3,56 x 10 ⁶ Gv/ml
+ Kumulus DF	10 g/L
+ B2K	8 g/L
+ Chaux soufrée	9,16 ml/L

• Répétitions: 3



PHYSICO-PHYSIQUE - PROCÉDURE

1. Dissolution du fongicide dans 200 ml H₂O
2. Agitation à 60 TPM pendant 1 min
3. Ajout du CP4
4. Agitation à 60 TPM pendant 1 min
5. Repos pendant 15 minutes

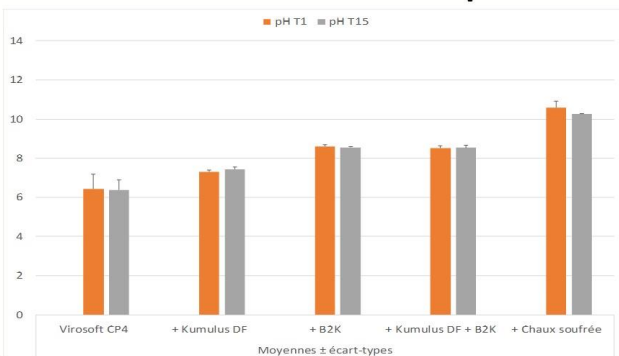


VARIABLES MESURÉES

- pH
 - T1 et T15
- Températures
 - T1, T5, T10 et T15
 - T1 (1 min après l'ajout du CP4)
 - T5 (5 min après l'ajout du CP4)
 - T10 (10 min après l'ajout du CP4)
 - T15 (15 min après l'ajout du CP4)



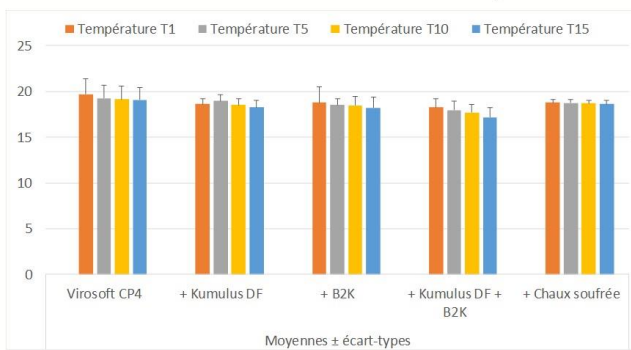
RÉSULTATS PRÉLIMINAIRES - pH



- À T1 et T15 le pH est similaire, sauf Kumulus + B2K
- Chaux soufrée: 10,23 < pH > 10,94



RÉSULTATS PRÉLIMINAIRES - Température



- Généralement stable de 1 à 15 minutes, sauf + Kumulus + B2K (15 min)



BIOLOGIQUE

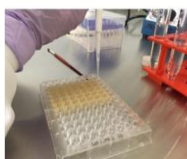
Traitements

- Virosoft (nouvelle formulation)
- Virosoft + Kumulus
- Virosoft + B2K
- Virosoft + Kumulus + B2K
- Virosoft + Chaux soufrée
- Témoin (eau)



BIOLOGIQUE - PROCÉDURE

- Diète artificielle dans puits
- Refroidissement pendant 10 min
- Ajout du mélange (traitements)
- Séchage pendant 1h
- Larve placée individuellement
- Unité expérimentale: 64 larves
- Mortalité à 7 jours



CONCLUSION

- Bouillie soufrée
 - Réduction significative de la mortalité → incompatible
 - Fort probablement associée à un pH > 10
 - Dissolution d'une partie des granules dans la cuve plutôt que dans l'insecte
- B2K
 - 100% mortalité → compatible avec Virosoft CP4
 - Mais selon l'étiquette; ne pas mélanger avec d'autres pesticides ! De plus asynchronisme des applications
- Kumulus et kumulus + B2K
 - Réduction de la mortalité → in-compatible ?



BIOLOGIQUE

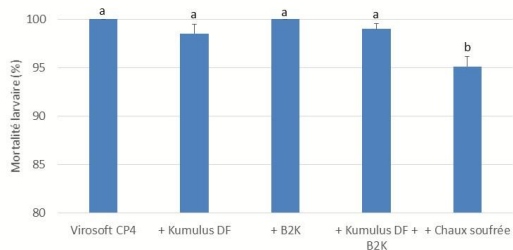
Concentrations utilisées

Virosoft	3,56 x 10 ⁶ Gv/ml
+ Kumulus DF	10 g/L
+ B2K	8 g/L
+ Chaux soufrée	9,16 ml/L

Répétitions: 4



RÉSULTATS- MORTALITÉ LARVAIRE



- B2K : aucune réduction
- Kumulus: réduction non significative
- Chaux soufrée: réduction significative



REMERCIEMENTS

- Assistance technique: Mariloup Duchesne, Valentin Joubert
- Chercheur collaborateur: Gérald Chouinard
- Collaborateurs: Michel Tremblay, Harnaivo Rasamimanana, BioTEPP Inc.
- \$\$
 - Programme Innov'Action Agroalimentaire
 - BioTEPP



PARTENARIAT
CANADIEN pour
L'AGRICULTURE

Canada Québec

