

**AFPP – CINQUIÈME CONFÉRENCE INTERNATIONALE
SUR LES MÉTHODES ALTERNATIVES DE PROTECTION DES PLANTES
LILLE – 11 AU 13 MARS 2015**

**EVALUATION AU LABORATOIRE ET AUX VERGERS
DE L'EFFICACITÉ D'HUILES ESSENTIELLES SUR *VENTURIA SP.***

J. MUCHEMBLED¹, N. CORROYER², C. DEWEER¹, N. DUPONT³, K. SAHMER⁴, P. HALAMA¹,
J.-F. LARRIEU⁵, J. Le MAGUET³, J.-M. NAVARRO⁶, L. TOURNANT⁷, R. VIDAL⁸

ISA Lille - Institut Charles Viollette ¹

Laboratoire Biotechnologie et Gestion des Agents Pathogènes en agriculture (BioGAP),
48 boulevard Vauban, 59046 Lille CEDEX, France - jerome.muchembled@isa-lille.fr

² CRAN (Chambre Régionale d'Agriculture de Normandie)

³ IFPC (Institut Français des Productions Cidricoles)

⁴ ISA Lille – LgCGE

⁵ CA82 (Chambre d'Agriculture du Tarn et Garonne)

⁶ ADABIO 38, 73 (Association pour le Développement de l'Agriculture Biologique, 01, 38, 73, 74)

⁷ FREDON Nord Pas de Calais (Fédération Régionale de Défense contre les Organismes Nuisibles)

⁸ ITAB (Institut Technique de l'Agriculture Biologique)

RÉSUMÉ

L'étude de l'efficacité de 7 huiles essentielles sur les spores de *Venturia inaequalis*, le champignon responsable de la tavelure du pommier a été réalisée dans le cadre d'un projet CASDAR « évaluation de l'intérêt d'utiliser des huiles essentielles en protection des cultures » (2013-2015). Une souche résistante (R) aux fongicides de type triazoles comparativement à une souche sensible (S) est testée en milieu liquide non seulement par rapport à 7 huiles essentielles mais aussi par rapport au metconazole, au sulfate de cuivre et au soufre. Toutes ces modalités sont additionnées ou pas d'un adjuvant (alcool terpénique) et les CI_{50} sont calculées après plusieurs expériences indépendantes. Les résultats montrent que certaines des 7 huiles essentielles sont plus efficaces que d'autres sur les 2 souches (girofle et eucalyptus). La souche R est beaucoup plus sensible au sulfate de cuivre que la souche S. De même, la souche R semble plus sensible aux huiles essentielles que la souche S. Si l'utilisation *in vitro* d'un adjuvant augmente significativement l'efficacité du sulfate de cuivre et du metconazole, il n'augmente cependant pas l'efficacité des huiles essentielles et du soufre. Des tests aux vergers sont en cours afin de déterminer l'intérêt des huiles essentielles non seulement en Agriculture Biologique (comparativement au cuivre) mais aussi, par extension, en production fruitière intégrée.

Mots-clés : Biocontrôle - huile essentielle - *Venturia* - laboratoire - vergers.

ABSTRACT

EVALUATION IN LABORATORY AND IN ORCHARDS OF THE EFFECTIVENESS OF ESSENTIAL OILS ON *VENTURIA SP.*

The effectiveness of 7 essential oils on spores of *Venturia inaequalis*, the fungus that causes apple scab, was studied as part of a CASDAR project "Evaluation of the benefits of using essential oils crop Protection "(2013-2015). A resistant strain (R) to triazoles fungicides compared with a sensitive strain (S) is tested in liquid medium with 7 essential oils and also with Metconazole, copper sulfate and sulfur. All these modalities are added or not with an adjuvant (terpene alcohol) and the IC_{50} are calculated after several independent experiments. The results show that some of the 7 essential oils are more effective than others on the 2 strains (clove and eucalyptus). The strain R is much more sensitive to copper sulfate than the strain S. Similarly, the strain R seems to be more sensitive to the essential oils than the strain S. If the *in vitro* use of an adjuvant significantly increased the efficiency of copper sulfate and metconazole, it does not increase the effectiveness of essential oils and sulfur. Tests orchards are underway to determine the interest not only of essential oils in Organic Agriculture (compared to copper) but also, by extension, in integrated fruit production.

Keywords : Biocontrol - essential oil - *Venturia* - laboratory - orchards.

INTRODUCTION

Dans le cadre du développement du biocontrôle, l'utilisation d'huiles essentielles comme substances naturelles d'origine végétale est possible en France depuis quelques années dans quelques cas. L'huile essentielle de menthe est ainsi utilisable en antigerminatif au stockage des pommes de terre (BioX-M®). L'huile essentielle d'écorce d'orange est utilisable sur plusieurs cultures à la fois contre certains insectes et certains champignons (Prev-am®, Limocide®). L'huile essentielle de girofle est utilisée en post-récolte des pommes et des poires contre les maladies de conservation (Bioxéda®). Il y a peu de recul sur l'utilisation et l'intérêt des huiles essentielles en protection des cultures. Dans le cadre d'un programme de recherche prospectif financé par le Ministère de l'Agriculture (CASDAR Innovation et partenariat n°1222, 2013-2015 : évaluation de l'intérêt d'utiliser des huiles essentielles en protection des cultures), des huiles essentielles sont testées *in vitro* et *in planta* sur les principales maladies fongiques de la pomme de terre, du pommier, de la salade et de la vigne. Pour la tavelure, même si cette maladie doit se gérer de manière systémique, elle peut être responsable de l'utilisation importante de fongicides chimiques dans les vergers conventionnels (moyenne IFT fongicides Sud Est/Sud Ouest/Val de Loire = 22.2 dont 16.3 pour la tavelure ; Sauphanor, 2009). De nombreux cas de dérive de sensibilité aux fongicides triazoles (Köller et al, 1995 ; Gao et al, 2009 ; Xu et al, 2010) ou de cas de résistance sont d'ailleurs référencés de par le monde dans ces vergers conventionnels (pour les triazoles : Shirane et al, 1996 ; Vijaya Palani et Lalithakumari, 1999 ; pour les strobilurines : Fontaine et al, 2009 ; Mondino et al, 2014). Dans les vergers en Agriculture Biologique, la tavelure peut se gérer en utilisant du soufre et du cuivre, ce dernier pouvant causer des problèmes environnementaux (EFSA, 2013). Est-ce que les huiles essentielles présentent une efficacité contre la tavelure ? Permettraient-elles de diminuer non seulement les fongicides chimiques en vergers conventionnels mais aussi les fongicides minéraux en vergers AB ?

MATERIEL ET METHODES

EVALUATION DES HUILES ESSENTIELLES AU LABORATOIRE

MILIEU DE CULTURE ET VENTURIA

2 souches de *Venturia inaequalis* ont été isolées de la variété Golden : les souches S755 et R552 sont fournies (équipe ECOFUN IRHS, INRA, centre Angers-Nantes) pour être respectivement sensibles et résistantes aux fongicides chimiques de la famille des triazoles (Schnabel et Parisi, 1997). Les souches sont conservées sur malt agar, sans lumière et à 19° C.

HUILES ESSENTIELLES (HE), FONGICIDES DE REFERENCE ET ADJUVANT

Les HE choisies pour ces tests sont celles de feuilles d'eucalyptus *Eucalyptus citriodora* (E), de griffe de girofle *Syzygium aromaticum* (G), de feuilles de menthe *Mentha spicata* (M), de sommités florales d'origan *Origanum compactum* (O), de feuille de sariette *Satureja montana* (S), de feuilles de tea tree *Melaleuca alternifolia* (TT) et de sommités florales de thym *Thymus vulgaris* (T). Les huiles essentielles ont été produites par hydrodistillation. Elles sont certifiées Agriculture Biologique et fournies avec une analyse prouvant l'absence de pesticides.

La substance active fongicide de référence pour les triazoles est le metconazole, dilué dans du DMSO à 1 %. Le sulfate de cuivre et le soufre sont aussi testés. Tous les produits sont testés avec ou sans adjuvant à 0,2 % (alcool terpénique).

Suspension de spores

Une suspension de spores à 4.10^4 spores/mL est réalisée à partir de cultures âgées de 20 jours sur du malt agar.

Criblage des huiles essentielles (HE)

Une gamme de 8 concentrations en HE et en fongicide est mélangée avec du glucose peptone et répartie dans des microplaques 96 puits. 8 puits par concentration sont additionnés à la suspension de spores. Les 4 autres puits serviront de témoin pour calculer la DO nette. Les microplaques sont ensuite scellées et mise en agitation (140 rpm) à 20°C pendant 6 jours (Stammler *et al.*, 2012 ; Deweer *et al.*, 2013 ; Deweer *et al.*, 2014).

Lecture des résultats

Elle se fait à 635 nm avec un lecteur de microplaques. La DO nette obtenue en fonction des concentrations permet de calculer la CI_{50} (Concentration inhibitrice à 50 %) à l'aide d'une régression non linéaire. Les expérimentations sont réalisées au moins trois fois de manière indépendante et permettent de calculer une CI_{50} globale selon une méthode statistique innovante (Sahmer *et al.*, 2014). Plus la CI_{50} est faible et plus l'huile essentielle est efficace.

EVALUATION DES HUILES ESSENTIELLES AUX VERGERS

4 HE sont principalement testées depuis la campagne 2014 par 2 réseaux d'expérimentation (Nord et Sud) : eucalyptus, girofle, sariette et tea tree. Les HE sont utilisées à la concentration de 0,2 % v/v additionnées d'Héliosol à 0,2 % v/v. Le traitement a lieu tous les 7 jours (sauf s'il n'y a pas de précipitation durant cette période) ou tous les 20 mm de pluie. 5 à 6 notations tavelure sont prévues au cours de la saison :

- 1er passage : sortie des taches issues des premières contaminations au seuil de projection de 5% d'ascospores projetées
- 2ème passage : sortie des taches issues des contaminations au seuil de projection de 25% d'ascospores projetées
- 3ème passage : 50 %
- 4ème passage : 75 %
- 5ème passage : fin des contaminations primaires
- 6ème passage : récolte

Le réseau Nord est constitué de la CRAN, de la FREDON NPC et de l'IFPC sur pomme de table et pomme à cidre.

- CRAN :
 - o Variété : Clos Renaux (cidre)
 - o Volume de bouillie : 500 L/ha
 - o Essais Plein champ (verger expé)
 - o 7 Modalités : TNT + T Héliosol + Réf producteur (cuivre et soufre) + 4 HE à 0,2 %
 - o Notations complémentaires : pucerons
- FREDON Nord Pas-de-Calais
 - o Variété : Jonagored
 - o Volume de bouillie : 300 L/ha puis 500 L/ha
 - o Essais Plantes en pot
 - o 11 modalités : TNT+ Témoin héliosol + Témoin référence producteur (cuivre et soufre) + test des 7 HE à 0,2 % (=600 ml/ha) + test HE Girofle à 0,5 % (=1500 mL/ha)
 - o Notations complémentaires : pucerons
- IFPC
 - o Variété : Kermerrien (cidre)
 - o Volume de bouillie : 1000 L/ha
 - o Essais Plein champ (verger expé, 28 blocs répartis sur 4 rangs avec 36 arbres par rangs)
 - o 7 Modalités : TNT + Héliosol seul + Réf producteur (cuivre & soufre) + 4HE à 0,2 % + HE de sarriette à 0,5 % pour tester la phytotoxicité sur quelques arbres.
 - o Notations complémentaires : pucerons

Le réseau Sud est constitué de ADABIO 38 et de la CA 82 sur pomme de table et poire.

- ADABIO 38, 73
 - Variété : poirier, variété passe crassane
 - Volume de bouillie : 500 L/ha
 - Essais Plein champ (chez producteur)
 - 7 modalités : TNT + Témoin Héliosol + Témoin référence producteur + test des 4 HE choisies à 0,2 %
 - Notations complémentaires : pucerons
- CA82
 - Variété : Gala
 - Volume de bouillie : 300 L/ha
 - Essais Plein champ (chez producteur)
 - 7 modalités : Témoin référence producteur + Test des 4 HE choisies à 0,2 %
 - Notations complémentaires : pucerons

RESULTATS AU LABORATOIRE

EFFETS DU METCONAZOLE, DU SULFATE DE CUIVRE ET DU SOUFRE SUR LES SOUCHES S & R TRIAZOLE

Tableau I : Concentrations Inhibitrices à 50 % (CI_{50}) pour le metconazole additionné ou non d'un adjuvant (noté +H)

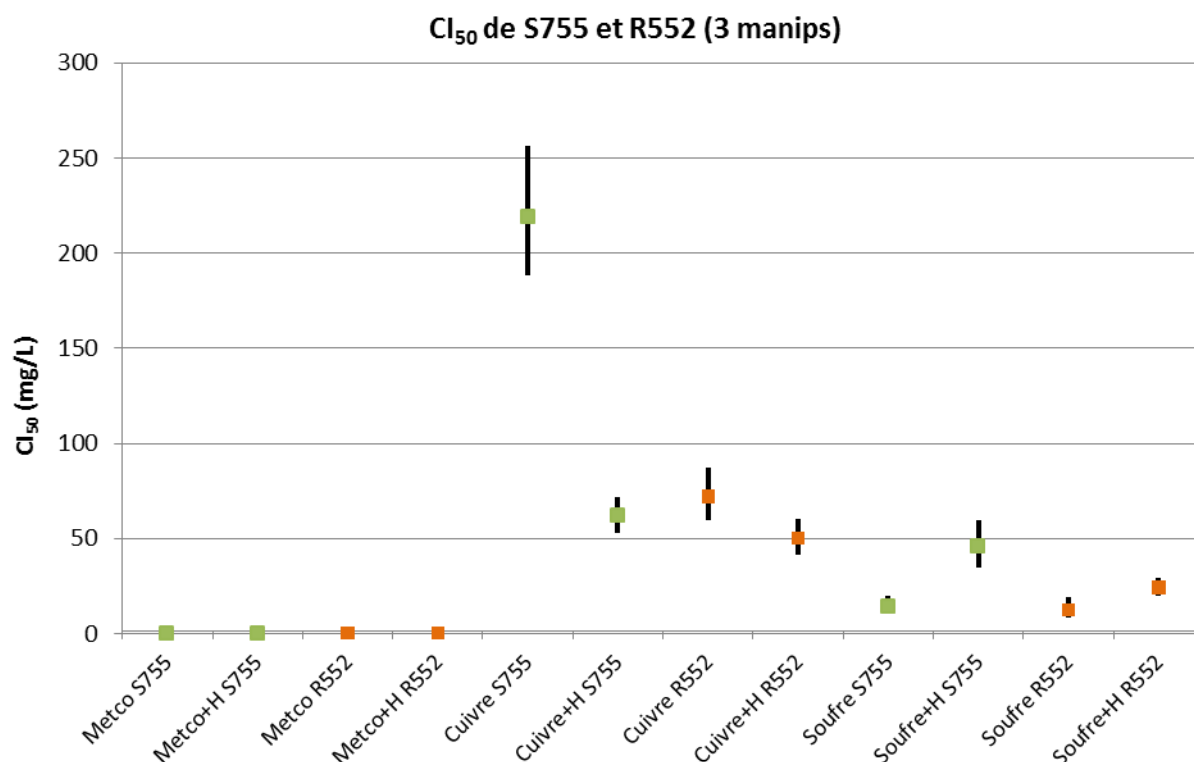
Table I: Half maximal inhibitory concentration (IC_{50}) for metconazole with or without adjuvant (noted +H)

Souches	Substance active avec ou sans alcool terpénique (H)	* CI_{50}	*Int de confiance CI_{50}	Niveau de résistance
S755	Metconazole	0,006	[0,004 – 0,007]	-
	Metconazole+H	0,002	[0,001 – 0,003]	-
R552	Metconazole	0,51	[0,42 – 0,62]	125
	Metconazole+H	0,25	[0,20 – 0,32]	85

*Calculés à partir de 3 expériences répétées de manière indépendante ; intervalle de confiance à 95 % avec borne inférieure à 2,5% et borne supérieure à 97,5 %.

Les résultats montrent que les CI_{50} calculées pour la souche 755 sont beaucoup plus faibles que celles calculées pour la souche 552, avec ou sans alcool terpénique respectivement. La souche 755 est donc plus sensible au metconazole que la souche 552. Le niveau de résistance de la souche 552 par rapport à la souche 755 est très élevé avec une moyenne de 110. Pour les 2 souches, l'adjuvant augmente significativement l'efficacité du metconazole.

Figure 1 : CI_{50} du metconazole, du sulfate de cuivre et du soufre additionnés ou non d'adjuvant (H).
Figure 1: IC_{50} of metconazole, copper sulfate and sulfur with or without adjuvant (H).



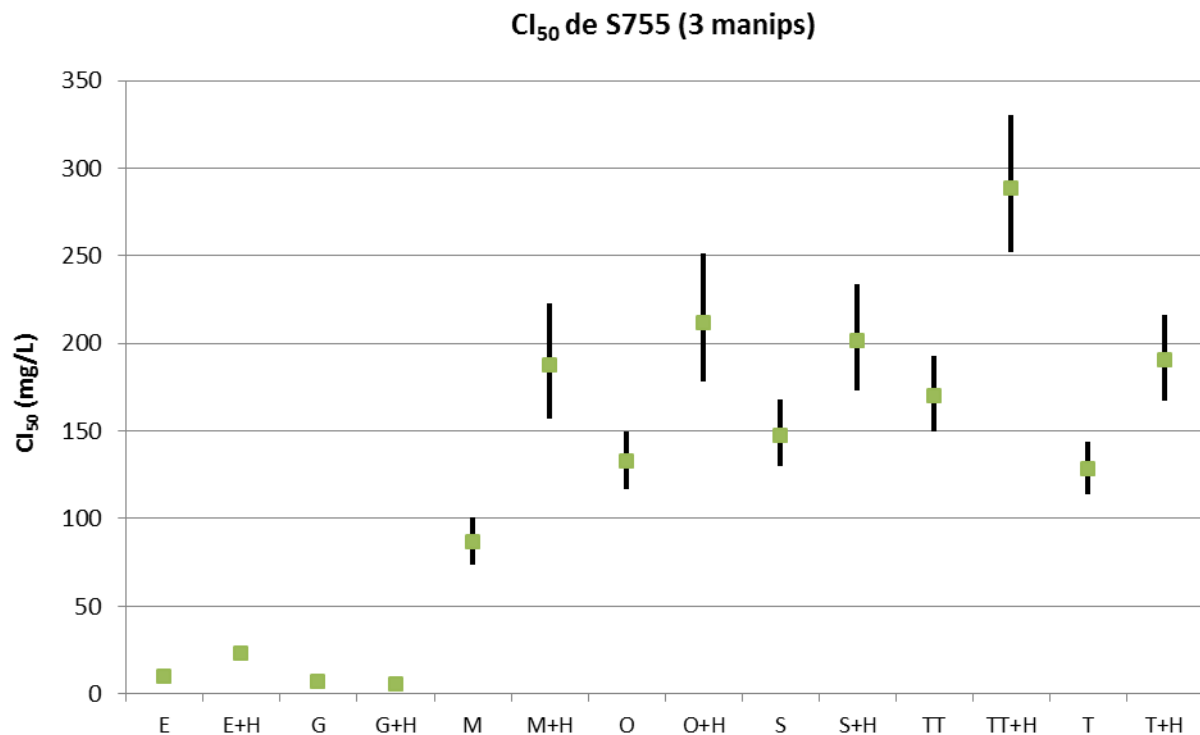
Les CI_{50} du sulfate de cuivre et du soufre, additionnés ou non d'adjuvant, sont plus élevées que le metconazole pour les 2 souches (les valeurs du metconazole sont celles du tableau 1). Le sulfate de cuivre et le soufre sont donc moins efficaces que le metconazole. Pour le sulfate de cuivre, il est beaucoup moins efficace sur la souche S755 que sur la souche R triazole. L'ajout d'alcool terpénique au sulfate de cuivre augmente son efficacité sur les 2 souches. Pour le soufre, il est globalement plus efficace que le cuivre sur les 2 souches. L'ajout d'alcool terpénique au soufre augmente ici les CI_{50} pour les 2 souches, à l'inverse du cuivre.

La souche sensible S755 présente une CI_{50} plus élevée pour le cuivre que la souche résistante R552 mais additionné d'un adjuvant, le cuivre présente la même efficacité sur les 2 souches. Concernant le soufre, il n'y a pas de différence significative entre les 2 souches même en présence d'adjuvant.

EFFETS DES HE SUR LA SOUCHE S755 AVEC ET SANS ADJUVANT

Figure 2 : CI_{50} des 7 HE additionnées ou non d'adjuvant (H) sur la souche sensible.

Figure 2 : IC_{50} of the 7 EO with or without adjuvant (H) on the sensitive strain.

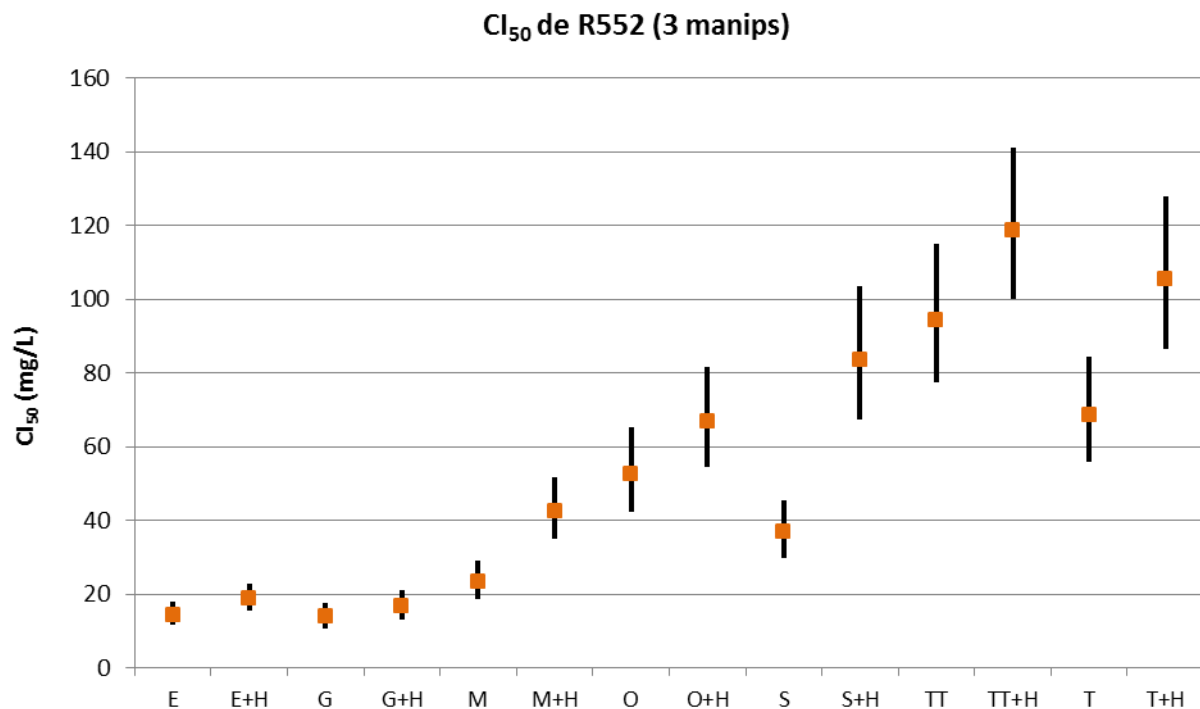


Une CI_{50} est calculable pour chacune des HE testées sur la souche sensible et elles présentent toutes une activité biofongicide. Les résultats montrent que l'eucalyptus (E) et la girofle (G) additionnées ou non d'adjuvant présentent les CI_{50} les plus faibles par rapport aux autres HE (environ 7 mg/L sans adjuvant). Ensuite, c'est la menthe sans adjuvant qui est l'huile essentielle la plus efficace. Sauf pour la girofle, toutes les HE présentent une CI_{50} plus élevée quand elles sont additionnées de l'adjuvant.

EFFETS DES HE SUR LA SOUCHE R552 AVEC ET SANS ADJUVANT

Figure 3 : CI_{50} des 7 HE additionnées ou non d'adjuvant (H) sur la souche résistante.

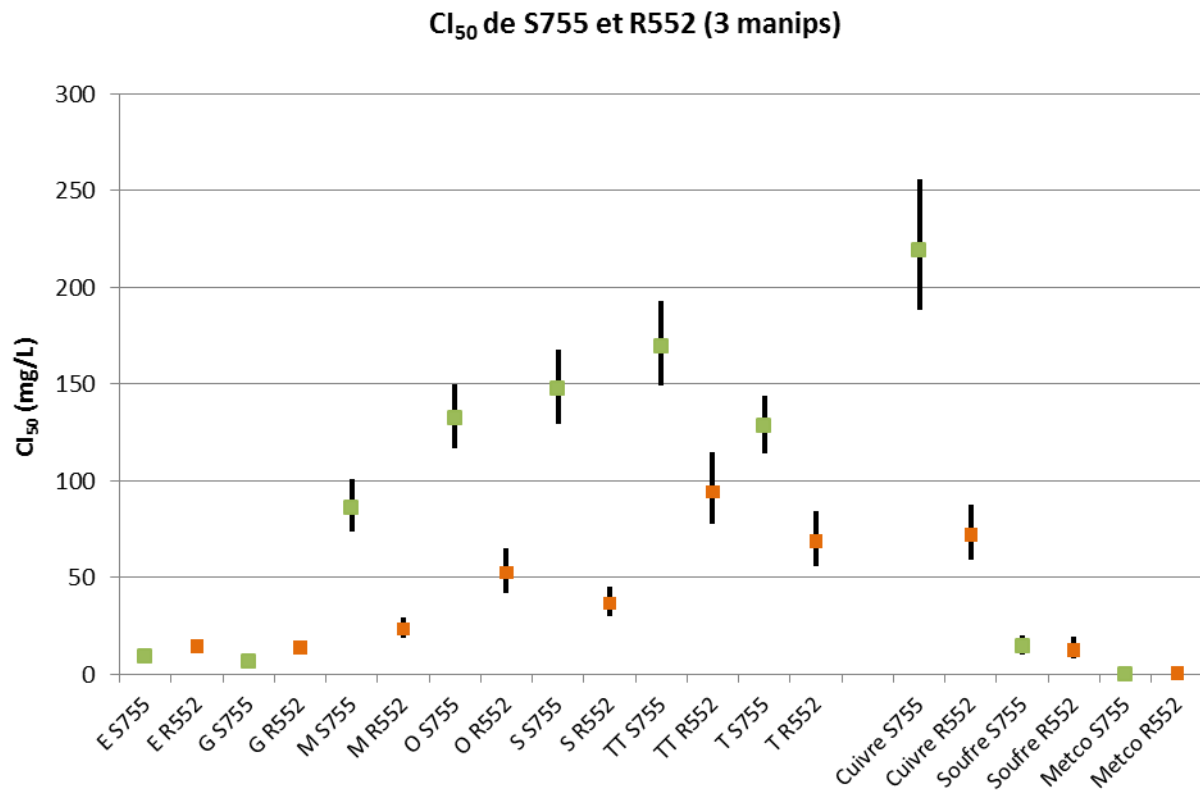
Figure 3: IC_{50} of the 7 EO with or without adjuvant (H) on the resistant strain.



Une CI_{50} est calculable pour chacune des HE testées sur la souche résistante triazole et elles présentent toutes une activité biofongicide. Les résultats montrent que l'eucalyptus et la girofle, additionnés ou non d'adjuvant, présentent des CI_{50} plus faibles par rapport aux autres HE testées (environ 14 mg/L sans adjuvant). Si l'adjuvant n'a aucun effet significatif pour eucalyptus, girofle, origan et tea tree ; il augmente la valeur de la CI_{50} pour la menthe, la sarriette et le thym.

COMPARAISON SUR LES SOUCHES S & R DE L'EFFET DES HE, DU SULFATE DE CUIVRE, DU SOUFRE ET DU METCONAZOLE,

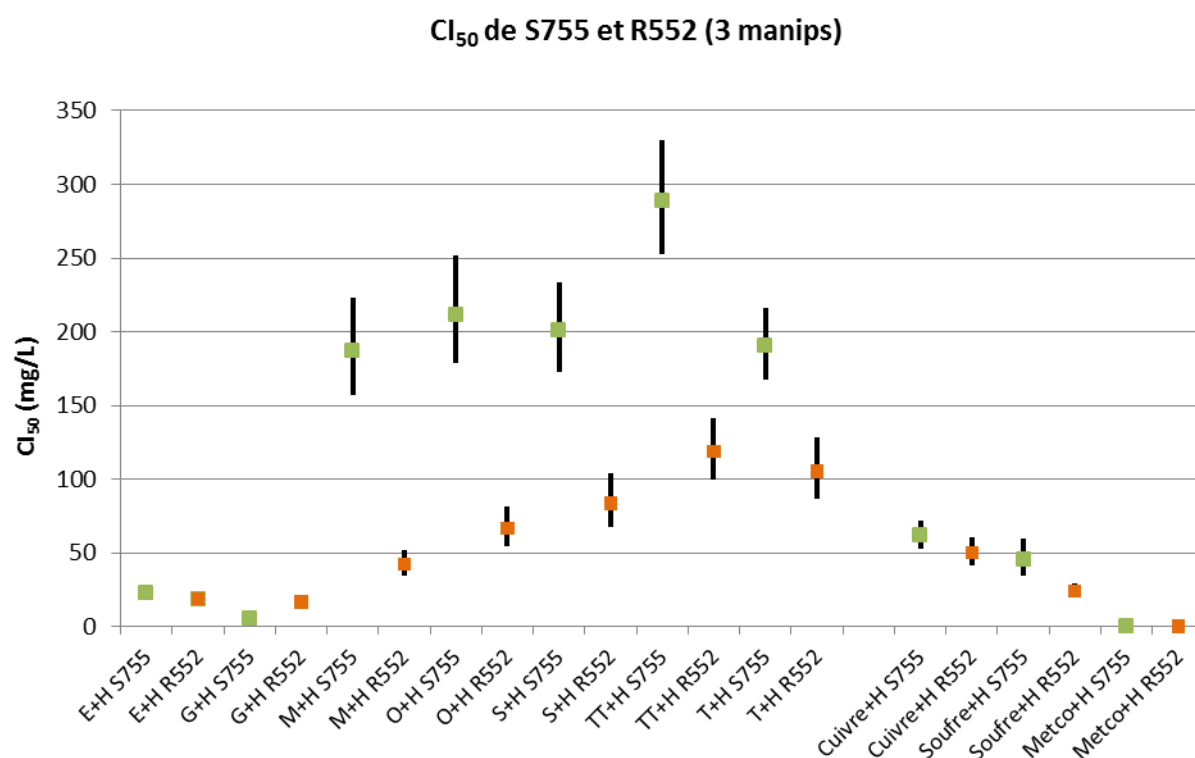
Figure 4 : CI_{50} des 7 HE, du $CuSO_4$, du Soufre et du metconazole, comparativement sur les 2 souches.
Figure 4 : IC_{50} of the 7 EO, $CuSO_4$, sulfur and metconazole on the two strains.



Pour les 2 souches, les CI_{50} de l'eucalyptus et de la girofle sont les plus basses de toutes les HE testées. Les CI_{50} les plus élevées sont celles du sulfate de cuivre et du tee tree. La souche S est significativement plus sensible à l'eucalyptus et à la girofle que la souche R. A l'inverse, pour les 5 autres HE et pour le sulfate de cuivre ; c'est la souche R qui est plus sensible que la souche S. Il n'y a pas de différence significative entre les CI_{50} des souches S Et R pour le soufre, l'eucalyptus et la girofle. Si le metconazole possède les valeurs de CI_{50} les plus basses sur les 2 souches, l'HE de girofle est ensuite la modalité la plus efficace sur la souche S, avant l'eucalyptus et le soufre (statistiquement identiques). Pour la souche R, soufre, eucalyptus et girofle ont le même niveau d'efficacité.

Figure 5 : CI_{50} des 7 HE, du $CuSO_4$, du Soufre et du metconazole, additionnés d'adjuvant (H), comparativement sur les 2 souches.

Figure 5 : IC_{50} of the 7 EO, $CuSO_4$, sulfur and metconazole added with an adjuvant (H) on the two strains.



Pour les 2 souches, les CI_{50} de l'eucalyptus + H et de la girofle + H sont les plus basses de toutes les HE testées (la plus élevée est celle de tea tree + H). La souche S est significativement plus sensible à la girofle + H que la souche R alors qu'il n'y a pas de différence entre les 2 souches pour eucalyptus + H. Pour les 5 autres HE + H et pour le soufre + H, c'est la souche R qui présente la CI_{50} les plus faibles. A la différence des résultats du tableau 5, les CI_{50} pour le cuivre + H sont identiques pour les 2 souches alors que c'est la souche R qui est plus sensible au soufre + H que la souche S. Si le metconazole + H est la modalité la plus efficace sur la souche S, les modalités qui sont ensuite les plus efficaces sont par ordre d'efficacité : girofle + H, eucalyptus + H puis soufre + H/cuivre + H (identiques). Si le metconazole + H reste la modalité la plus efficace sur la souche R, les modalités qui sont ensuite les plus efficaces sont eucalyptus + H, girofle + H, soufre + H (non différentes) puis cuivre + H, menthe + H et origan + H.

L'adjuvant semble améliorer l'efficacité du cuivre mais il reste néanmoins moins efficace que l'eucalyptus et la girofle additionnées d'adjuvant. Le soufre additionné d'adjuvant devient moins efficace que la girofle mais aussi efficace que l'eucalyptus. Le metconazole possède la valeur de CI_{50} la plus basse parmi tous les produits testés sur les 2 souches.

RESULTATS AUX VERGERS

En 2014, la pression modérée à faible de la tavelure du pommier, couplée à une forte attaque de pucerons (non endiguée par les huiles essentielles) n'a pas permis de mettre en évidence de différence significative entre les modalités. A la dose de 0,2 % et à une fréquence de 7 jours, aucun symptôme de phytotoxicité (brûlure du feuillage...) n'a été observé. En revanche, à cette même fréquence, une dose de 0,5 % d'huile essentielle de girofle a quant à elle engendré des symptômes sur feuillage.

DISCUSSION

Les résultats montrent que les huiles essentielles présentent toutes une activité biofongicide sur les 2 souches de *Venturia inaequalis*. Les huiles essentielles les plus efficaces sont la girofle et l'eucalyptus alors que l'huile essentielle la moins efficace est celle de tea tree. En règle générale, l'adjuvant de type alcool terpénique n'augmente pas l'efficacité des HE et du soufre dans nos conditions expérimentales (microplaques). Par contre, l'adjuvant augmente l'efficacité du metconazole et du sulfate de cuivre, toujours sur les 2 souches. Il y a donc une spécificité entre l'adjuvant et le « produit » testé. En ce qui concerne la sensibilité/résistance des souches, il faut noter la plus grande sensibilité au sulfate de cuivre de la souche R triazole que la souche S. De même, cette souche R triazole est systématiquement beaucoup plus sensible à 5 des 7 huiles essentielles (menthe, origan, sarriette, tea tree, thym) que la souche S triazole. Pour les 2 HE restantes (girofle et eucalyptus), la trop grande efficacité de ces modalités doit probablement écraser ces différences. Il y a donc une spécificité de souche par rapport aux huiles essentielles testées. La girofle et l'eucalyptus sont les 2 HE qui sont au moins aussi efficaces que le sulfate de cuivre et le soufre, le metconazole restant cependant la substance active la plus efficace sur les 2 souches. Si aucune huile essentielle n'atteint l'efficacité du metconazole, les huiles essentielles gardent l'avantage d'être d'origine naturelle, renouvelables et probablement plus facilement biodégradables. Rappelons qu'une HE de girofle est actuellement commercialisée pour un usage fongicide de post-récolte contre les maladies de conservations (pommes, poires ; Bioxeda®, Xéda).

CONCLUSION

A notre connaissance, il s'agit de la première étude conduite en microplaque sur les spores de *Venturia inaequalis*. La modélisation au laboratoire de l'efficacité des HE par un calcul innovant de CI_{50} permet de montrer des différences statistiquement significatives entre les HE et les souches testées. Les expérimentations aux vergers doivent se poursuivre afin d'évaluer la pertinence de la potentielle utilisation des HE pour lutter contre la tavelure du pommier. De nouveaux essais sont d'ores et déjà programmés pour 2015. Ces derniers s'attacheront à confirmer ou infirmer l'efficacité des huiles essentielles seules ou combinées, comme substance de substitution ou d'alternative à l'usage d'autres.

REMERCIEMENTS

Les auteurs remercient le Ministère de l'Agriculture, de l'Agroalimentaire et de la forêt pour le co-financement de cette étude.

BIBLIOGRAPHIE

- Deweir, C., Muchembled, J., and Halama, P. (2014) In vitro evaluation of 7 essential oils efficacy on *Venturia inaequalis*. Oral communication, Natural Products and Biocontrol, Perpignan (France).
- Deweir, C., Yaguiyan, A., Muchembled, J., Sahmer, K., Dermont, C., and Halama, P. (2013) In vitro evaluation of dill seed Essential Oil antifungal activities to control *Zymoseptoria tritici*. 65th International Symposium on Crop Protection, Ghent, Belgium. *Communications in Agricultural and Applied Biological Sciences*, 489-496.
- EFSA (2013). Conclusion on the peer review of the pesticide risk assessment of confirmatory data submitted for the active substance Copper (I), copper (II) variants namely copper hydroxide, copper oxychloride, tribasic copper sulfate, copper (I) oxide, Bordeaux mixture, EFSA Journal;11(6):3235.
- Gao Liqiang, Berrie Angela, Yang Jiarong and Xu Xiangming (2009). Within- and between-orchard variability in the sensitivity of *Venturia inaequalis* to myclobutanil, a DMI fungicide, in the UK. *Pest Manag Sci* 2009; 65: 1241–1249.
- Koller, W., Smith, F. D., Reynolds, J. K. L., Wilcoxi, W. F. and Burri, J. A. (1995). Seasonal changes of sensitivities to sterol demethylation inhibitors in *Venturia inaequalis* populations. *Mycol. Res.* 99 (6): 689-692.

Mondino, P., Casanova, L., Celio, A., Bentancur, O., Leoni, C. and Alaniz, S. (2014), Sensitivity of *Venturia inaequalis* to Trifloxystrobin and Difenoconazole in Uruguay. Journal of Phytopathology. doi: 10.1111/jph.12274.

Sahmer, K., Deweer, C., Muchembled, J., and Halama, P. (2014) Utilisation d'une régression non linéaire pour comparer l'efficacité d'huiles essentielles en tant que biofongicides. 46^{èmes} Journées de Statistique, Rennes (France). 6 p.

Sauphanor B., Dirwimmer C. (2009). Ecophyto R&D, Vers des systèmes de culture économes en produits phytosanitaires, Volet 1, Tome IV: analyse comparative de différents systèmes en arboriculture fruitière. INRA.

Schnabel, G., Parisi, L. (1997) Sensitivity of *Venturia inaequalis* to five DMI fungicides, including the new triazole fluquinconazole, and to pyrimethanil. Z Pflanzenk Pflanz 104:36–46.

Shirane, N., Takenaka, H., Ueda, K., Hashimoto, Y., Katoh, K., Ishii, H. (1996). Sterol analysis of DMI resistant and -sensitive strains of *Venturia inaequalis*. Phytochemistry, Vol. 41, No. 5, pp. 1301-1308.

Stammler, G. Taher, K., Koch, A., Haber, J., Liebmann, B., Bouagila, A., Yahyaoui, A., Nasraoui, B., (2012) Sensitivity of *Mycosphaerella graminicola* isolates from Tunisia to epoxiconazole and pyraclostrobin. Crop Protection, 32-36.

Vijaya Palani, P., Lalithakumari, D. (1999). Resistance of *Venturia inaequalis* to the sterol biosynthesis inhibiting fungicide, penconazole [1-(2-(2,4-dichlorophenyl) pentyl)-1H-1,2,4-triazole]. Mycol. Res. 103 (9) : 1157-1164.

Xu X.-M., Gao L.-Q., Yang J.-R. (2010). Are insensitivities of *Venturia inaequalis* to myclobutanil and fenbuconazole correlated ? Crop Protection 29, 183-189.