

## Résistance de *Sclerotinia sclerotiorum* vis-à-vis des IDM, QoI et SDHI en culture de colza

### PLAN DE SURVEILLANCE 2012

Mise en ligne : Août 2013

#### Introduction et mise en garde de la DGAL :

Ce bilan a été réalisé par l'Anses suite à l'analyse des échantillons prélevés dans le cadre du réseau national de surveillance biologique du territoire auquel participent les partenaires engagés dans l'axe 5 du plan Ecophyto. Ce bilan contribue au rapport national sur la surveillance biologique du territoire remis au Parlement conformément aux dispositions du Code Rural. Ce bilan a vocation à être diffusé largement au sein du réseau de partenaires de la surveillance biologique du territoire.

Les plans de surveillance « résistance » sont intégrés dans le volet « suivi des Effets Non Intentionnels » du dispositif national de surveillance biologique du territoire (axe 5 du plan Ecophyto). Ils concourent à l'analyse de risque phytosanitaire et au suivi des mécanismes de résistance, contribuant ainsi à l'objectif de réduction de l'utilisation des produits phytopharmaceutiques.

Ces plans de surveillance constituent un outil d'alerte pour la DGAL. C'est dans cet objectif que sont définis le nombre d'échantillons et la nature des parcelles et/ou pratiques de traitements recherchées dans chaque région (Note de service DGAL/SDQPV/N2012-8049 du 05 mars 2012). Ces programmes sont construits pour une lecture nationale principalement, et ils contribuent globalement à l'amélioration des suivis post-AMM.

Pour les professionnels, la valorisation de ces résultats s'effectue essentiellement au travers des notes communes nationales (ex: mildiou et oïdium de la vigne, tavelure du pommier, sclerotinia du colza...).

Cette source d'information doit être complétée par les résultats des essais « résistances » et des monitoring pilotés par d'autres opérateurs.

#### Résumé :

En 2012, les suivis de résistance de *Sclerotinia sclerotiorum* aux fongicides ont été réalisés vis-à-vis des IDM, des QoI et des SDHI au niveau national, sur des parcelles commerciales ainsi que sur des essais "érosion d'efficacité" mis en place par les Services Régionaux de l'Alimentation (SRAL).



Cette surveillance est effectuée par le biais de tests biologiques au cours desquels le champignon est mis en contact (après un isolement à partir des sclérotés) avec une dose discriminante de chacun des fongicides testés.

Aucune résistance aux IDM ou aux QoI n'a été décelée. En revanche, une souche (correspondant à un sclérote) issue d'une parcelle commerciale de Picardie s'est révélée résistante à une substance active de type SDHI (le boscalid, appartenant à la famille chimique des pyridine-carboxamides).

**Mots clés :** *Sclerotinia sclerotiorum*, colza, résistances aux fongicides

## I. Présentation - contexte

*Sclerotinia sclerotiorum* est le champignon responsable de la pourriture blanche, ou sclérotiniose, maladie affectant notamment le colza, le tournesol et les pois. La lutte contre ce pathogène commence par une bonne prophylaxie qui consiste à pratiquer une rotation, en choisissant au maximum des cultures peu ou pas sensibles à la maladie. Il est important aussi de contrôler les adventices dicotylédones sensibles au sclérotinia par un désherbage en situation à risque. Ces mesures évitent l'accumulation, dans le sol, des sclérotés (formes de conservation du champignon) et limitent l'*inoculum* primaire.

La lutte fongicide est uniquement conseillée en préventif dans les situations à risque, lorsque toutes les conditions favorables à la maladie sont réunies : climat, cultures sensibles et fréquence de plantation, milieu. L'alternance des familles chimiques est également fortement recommandée pour limiter l'apparition de phénomènes de résistance.

Des tests de suivi des résistances aux **IDM**, aux **QoI** et aux **SDHI** sont menés tous les ans par l'Anses sur des parcelles commerciales dans le cadre d'un plan de surveillance de la DGAL. En 2011, aucune souche résistante n'avait été décelée. En revanche, cette même année, des données (résultats d'un monitoring réalisé par une firme) apportaient la preuve de l'existence d'une résistance aux SDHI (avec 2% de sclérotés résistants détectés sur l'ensemble des sites suivis en France en 2011, soit 128 sites). Mais jusqu'ici aucune baisse d'efficacité n'a été observée au terrain.

## II. Description brève de la méthode utilisée

Avant la réalisation des analyses de résistance proprement dites, une première étape consiste à mettre en culture *Sclerotinia sclerotiorum* à partir des sclérotés récoltés sur chaque parcelle. Pour chaque échantillon, 13 sclérotés sont sélectionnés puis désinfectés, scindés en deux et mis en culture sur un milieu sélectif, ce qui représente au final 26 mises en cultures pour 13 sclérotés. Chaque sclérote est clairement identifié par le numéro d'origine de la parcelle et par un numéro propre au sclérote. Après 6 jours d'incubation à 21°C et à l'obscurité, les analyses de résistance sont menées sur ces cultures.

Les tests de résistance sont réalisés par méthode biologique vis-à-vis de l'ensemble des familles chimiques autorisées sur le sclérotinia du colza : carboxamides, IDM et QoI,



avec 4 substances actives qui représentent respectivement ces trois familles : boscalid, metconazole et prothioconazole, azoxystrobine.

Pour chaque substance active, les tests sont réalisés avec une dose discriminante déterminée (2 mg/L pour le prothioconazole, le metconazole et le boscalid, 1 mg/L pour l'azoxystrobine). La solution fongicide est directement incorporée dans le milieu de culture avant que celui-ci ne soit coulé en boîtes de Petri. Chaque demi-sclérote mis en culture est testé. Des implants de diamètre connu sont prélevés dans toutes les boîtes de culture (à la périphérie du mycélium) et placés au centre des boîtes amendées en fongicide et des boîtes témoins. Les cultures sont ensuite laissées à température ambiante durant 3-4 jours avant la notation.

Les notations consistent à mesurer la croissance mycélienne à partir de l'implant. Les valeurs sont ramenées en pourcentage de croissance par rapport au témoin. Le niveau de résistance est déterminé à partir de ce rapport. Deux cas sont différenciés :

- les souches dont le pourcentage de croissance par rapport au témoin est supérieur ou égal à 50% sont considérées comme résistantes (notées R),
- celles dont le pourcentage de croissance est supérieur ou égal à 25% sont notées en suspicion de résistance (notées r ?).

Dans les deux cas (R ou r ?), des tests de confirmation doivent être effectués en suivant la même méthode mais avec une gamme de doses encadrant la dose discriminante utilisée lors des premiers tests.

Les gammes de doses utilisées sont les suivantes :

- prothioconazole, metconazole et boscalid : 0,5, 2 et 5 mg/L,
- azoxystrobine : 1, 2 et 10 mg/L.

### III. Echantillons

#### a. Méthode de prélèvement

Les échantillons sont prélevés dans des sites sensibles au sclérotinia du colza, sur des parcelles où la culture revient fréquemment (un an sur trois ou un an sur deux). Un protocole de prélèvement, rédigé par l'unité RPP de l'Anses, est envoyé aux préleveurs (via la personne ressource "*Maladies cryptogamiques des oléagineux et protéagineux*" de la DGAL) ainsi qu'une fiche de prélèvement à remplir pour chaque échantillon. Les prélèvements sont effectués par les techniciens de chaque région et envoyés au laboratoire avec l'historique des traitements de chaque échantillon. Dans chaque parcelle, sont prélevés 20 à 25 sclérotines (soit 1 sclérote par plante) issus chacun d'une plante différente.

#### b. Echantillons reçus

Trente-huit parcelles ont été analysées en 2012. Ces parcelles sont soit des parcelles commerciales (n = 16) issues de sept régions différentes, soit des parcelles d'essais "Erosion d'efficacité" mis en place par les SRAL (n = 6).

**Tableau : Bilan des parcelles commerciales**

REGIONS	Nb parcelles prévues par la NS 2012	Nb parcelles reçues
Bourgogne	5	5
Champagne- Ardennes	5	3
Lorraine	5	5
Picardie	5	3
Rhône-Alpes	5	0
<b>Total</b>	<b>25</b>	<b>16</b>

**Tableau : Bilan des parcelles d'essais Erosion d'efficacité**

REGIONS	Nombre d'essais érosion reçus	Nombre parcelles/essai
Auvergne	1	2
Bourgogne	1	5
Bretagne	1	5
Ile de France	1	1
Lorraine	1	4
Haute-Normandie (essai via CETIOM)	1	5
<b>Total</b>	<b>6</b>	<b>22</b>

Les quatre substances actives citées au paragraphe 2 sont testées systématiquement, dans les parcelles commerciales.

Pour les essais érosion d'efficacité, seuls les témoins sont soumis à toutes les substances actives ; pour les autres modalités, elles sont analysées en fonction du type de traitement reçu :

- Modalités prothioconazole ou tébuconazole : tests avec prothioconazole et metconazole,
- Modalités boscalid : tests uniquement vis-à-vis de boscalid
- Modalités azoxystrobine : tests uniquement vis-à-vis de l'azoxystrobine.

## IV. Résultats - Discussion

### a. Parcelles commerciales

#### - Résultats des analyses sur IDM et QoI

Après les premiers tests de résistance avec une dose discriminante, sur les parcelles commerciales, plusieurs souches ont montré une suspicion de résistance, notamment au metconazole et à l'azoxystrobine. Cependant, suite aux tests de confirmation en gamme de doses, cette hypothèse n'a été confirmée dans aucune parcelle et toutes les souches se sont révélées sensibles vis-à-vis des IDM et des QoI.

#### - Résultats des analyses sur SDHI

Une souche issue d'un sclérote prélevé dans une parcelle de Picardie a montré une faible sensibilité au boscalid lors du premier test ; cette faible sensibilité a été observée pour les deux répétitions constituées par les deux demi-sclérotés (N°12a et 12b – cf Tableau 3). Les tests de confirmation, effectués sur les deux demi-sclérotés correspondant à cette souche, ont confirmé cette résistance (avec une croissance par rapport au témoin supérieure à 50% à la dose 5 mg/L).

Ces deux demi-sclérotés ont été envoyés à l'INRA Bioger qui, après un second test de confirmation, a vérifié leur résistance aux SDHI. Cette souche représente le premier cas de résistance aux SDHI décelé à l'Anses et correspond à 1 sclérote sur 173 analysés.

En 2012, sur cette parcelle de Picardie, trois traitements ont été appliqués : un premier à base de prothioconazole et de tébuconazole, un second à base de boscalid et un dernier à base de metconazole. Il faut noter également que, au moins depuis 2006, aucune culture de colza ou d'autres espèces sensibles à la sclérotiniose n'avaient été plantées sur cette parcelle (blé, betterave, orge).

**Page suivante : Tableau synthétique des résultats sur les parcelles commerciales**

N° Labo	Réf.	Test prothioconazole DD 2 mg/L	Test metconazole DD 2 mg/L	Test boscalid DD 2 mg/L	Test Qol (Az) DD 1 mg/L
<b>Auvergne</b>					
12-187	PEE-AU-03- Parcelle Agri (tébuconazole + prothioconazole)	Sensible	Sensible	-	-
<b>Bourgogne</b>					
12-299	BO-21-01	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible
12-300	BO-21-02	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible
12-301	BO-89-03	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible
12-302	BO-89-04	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible
12-303	BO-89-05	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible
<b>Champagne-Ardenne</b>					
12-469	CA-10 (Boscalid- prothioconazole + tébuconazole)	Sensible	Sensible	Sensible	-
12-470	(azoxystrobine)	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible
12-471	-	inexploitable : deux 1/2 sclérotés sur 13 ont donné une culture			
<b>Lorraine</b>					
12-266	LO-54-01 (boscalid)	-	-	Sensible	-
12-267	LO-54-02 (boscalid)	-	-	Sensible	-
12-268	LO-54-03 (boscalid)	-	-	Sensible	-
12-269	LO-54-04 (prothioconazole + tébuconazole)	Sensible	Sensible	-	-
12-270	LO-57-01 (tébuconazole + prothioconazole)	Sensible	Sensible	-	-
<b>Picardie</b>					
12-265	PI-02-01	Sensible	Sensible	demi-sclérotés 12a et 12b : 57 et 54 % à 5 mg/L	Sensible
12-304	-	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible
12-305	(metconazole - boscalid - prothioconazole + tébuconazole)	Sensible	Sensible	Sensible	-

## V. Essais Erosion d'efficacité

Les essais mis en place par les SRAL comportent 5 modalités plus un témoin (cf. plan d'essai en annexe 1). Excepté la modalité 05 (modalité de référence), toutes les modalités ont été soumises à prélèvement de sclérotés avec envoi à l'Anses pour analyse (à l'exception des essais d'Auvergne et d'Île de France pour lesquels seuls les sclérotés prélevés dans les témoins ont été envoyés et analysés).

Sur la totalité de ces parcelles d'essais analysées, quel que soit le traitement appliqué au champ et quelle que soit la substance active testée au laboratoire, aucune souche résistante n'a été décelée (Cf Tableau en annexe 2).

## VI. Conclusions - perspectives

Le suivi des résistances de *Sclerotinia sclerotiorum* vis-à-vis des différentes substances actives utilisées dans les situations à risque (en complément des mesures prophylactiques) montre, depuis 2011, qu'il existe un risque non négligeable de voir se développer chez ce parasite des cas de résistance spécifique aux SDHI (comme il en existe déjà chez d'autres pathogènes tels que *Alternaria alternata*, *Corynespora cassiicola*, *Didymella bryoniae*, *Podosphaera xanthii*, ...).

Ces observations qui montrent une fréquence faible des cas de sclérotés résistants et sans perte d'efficacité observée au terrain, auront pour l'instant peu d'incidence sur les recommandations d'utilisation. Cependant, dans les situations où le colza revient plus d'une année sur trois dans la rotation, l'alternance entre des traitements avec des SDHI (ou SDHI-QoI) et des traitements IDM sera très fortement conseillée d'une année sur l'autre (Cf Note technique commune 2013).

Le suivi des résistances chez *Sclerotinia sclerotiorum* sera poursuivi en 2013 avec un focus sur les SDHI ainsi que sur les QoI qui constituent également un type de substances actives à haut risque de résistance.

## VII. Partenaires scientifiques et techniques

- **INRA Grignon** (Anne-Sophie Walker) INRA - UMR 1290 BIOGER-CPP - Bât 13 - Avenue Lucien Brétignières - BP01 - 78850 Thiverval-Grignon
- **CETIOM** (Annette Penaud) - Direction Technique - Pathologie végétale - Campus de Grignon - Avenue Lucien Brétignières - 78850 Thiverval-Grignon
- **Expert Référent Grandes Cultures de la DGAI** (Marc Delos) - Draaf-Sral Midi-Pyrénées - Cité administrative - Bât.E - Bd Armand Duportal - 31074 Toulouse Cedex
- **Personne ressource DGAI** "*Maladies cryptogamiques des oléagineux et protéagineux*" (Jacques Moinard) - Draaf-Sral Midi-Pyrénées - Cité administrative - Bât.E - Bd Armand Duportal - 31074 Toulouse Cedex
- **Réseau des DRAAF-SRAL et des organisations professionnelles de la Surveillance Biologique du Territoire** pour la participation aux prélèvements.

## VIII. Bibliographie

- **Note commune CETIOM - Anses - INRA - DGAL/SDQPV 2013**

## ANNEXE 1

### Plan d'expérimentation des essais Erosion d'efficacité mis en place par les SRAL

	Spécialité commerciale	Substances actives	Dosage
00		Temoin	
01	HORIZON	Tébuconazole	1 l/ha
02	PICTOR PRO	Boscalid	0.5 kg/ha
03	AMISTAR	Azoxystrobine + Cyproconazole	1 l/ha
04	JOAO	Prothioconazole	0.7 l/ha
05	PICTOR PRO + JOAO + AMISTAR (référence)	Boscalid + Prothioconazole + Azoxystrobine + Cyproconazole	0.5 kg/ha + 0.7 l/ha + 1 l/ha

## ANNEXE 2

**Tableau synthétique des résultats sur les essais Erosion d'efficacité**

N° Labo	Réf.	Test prothioconazole DD 2 mg/L	Test metconazole DD 2 mg/L	Test boscalid DD 2 mg/L	Test QoI (Az) DD 1 mg/L
<b>Auvergne (PEE-AU-03)</b>					
12-186	Témoin	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible
<b>Bourgogne (PEE-BO-21)</b>					
12-097	Témoin	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible
12-098	Tébuconazole	Sensible	Sensible	-	-
12-099	Boscalid	-	-	Sensible	-
12-100	Azoxystrobine	-	-	-	Sensible
12-101	Prothioconazole	Sensible	Sensible	-	-
<b>Bretagne</b>					
12-191	Témoin	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible
12-192	Tébuconazole	Sensible	Sensible	-	-
12-193	Boscalid	-	-	Sensible	-
12-194	Azoxystrobine	-	-	-	Sensible
12-195	Prothioconazole	Sensible	Sensible	-	-
<b>Haute-Normandie (Essai via CETIOM)</b>					
12-482	Boscalid	-	-	Sensible	-
12-483	Azoxystrobine	-	-	-	Sensible
12-484	Tébuconazole	Sensible	Sensible	-	-
12-485	Prothioconazole	Sensible	Sensible	-	-
12-486	Témoin	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible
<b>Ile de France (PEE-IF-91)</b>					
12-157	Témoin	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible
<b>Lorraine (PEE-LO-54)</b>					
12-238	Témoin	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible
12-239	Tébuconazole	Sensible	Sensible	Sensible	-
12-240	Boscalid	Sensible	-	-	-
12-241	Azoxystrobine	-	-	-	Sensible

## ANNEXE 3

**Tableau détaillé des résultats des parcelles commerciales**

N° Labo	Réf.	Organisme expéditeur	Nom expéditeur	Test prothioconazole DD 2 mg/L	Test metconazole DD 2 mg/L	Test boscalid DD 2 mg/L	Test Qol (Az) DD 1 mg/L
<b>Auvergne</b>							
12-187	PEE-AU-03-Parcelle Agri	SRAL Auvergne	Françoise BAUBET	Sensible	Sensible	-	-
<b>Bourgogne</b>							
12-299	BO-21-01	CETIOM 10 avenue de Dallas 21000 DIJON	Louis-Marie ALLARD	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible
12-300	BO-21-02			Sensible	Sensible	Sensible	Sensible
12-301	BO-89-03			Sensible	Sensible	Sensible	Sensible
12-302	BO-89-04			Sensible	Sensible	Sensible	Sensible
12-303	BO-89-05			Sensible	Sensible	Sensible	Sensible
<b>Champagne-Ardenne</b>							
12-469	CA-10 (Boscalid-prothioconazole + tébuconazole)	CETA de Romilly sur Seine ZI la Glacière 10510 Maizières La Grande Paroisse	Nicolas CHARTON	Sensible	Sensible	Sensible	-
12-470	(azoxystrobine)	COMPAS SA rte de Rosnay 51390 GUEUX	Ludovic BRAEM	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible
12-471	-	CETIOM CA - BP 525 51009 Châlons en champagne cedex	Laurent RUCK	inexploitable : deux 1/2 sclérotés sur 13 ont donné une culture			
<b>Lorraine</b>							
12-266	LO-54-01 (boscalid)	Chambre Régionale d'Agriculture de Lorraine 9 rue de la Vologne Bât. I 54520 Laxou	Nathael LECLECH	-	-	Sensible	-
12-267	LO-54-02 (boscalid)			-	-	Sensible	-
12-268	LO-54-03 (boscalid)			-	-	Sensible	-
12-269	LO-54-04 (prothioconazole + tébuconazole)			Sensible	Sensible	-	-
12-270	LO-57-01 (tébuconazole +			Sensible	Sensible	-	-
<b>Picardie</b>							
12-265	PI-02-01	COMPAS SA rte de Rosnay 51390 GUEUX	Ludovic BRAEM	Sensible	Sensible	demi-sclérotés 12a et 12b : 57 et 54 % à 5 mg/L	Sensible
12-304	-	Chambre Régionale d'Agriculture de Picardie 19 bis rue Alexandre DUMAS 80090	C. LEMOINE	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible
12-305	(metconazole - boscalid - prothioconazole + tébuconazole)	CETIOM	Bruno SCHMITT	Sensible	Sensible	Sensible	-