

**AFPP - SEPTIEME CONFERENCE INTERNATIONALE
SUR LES MALADIES DES PLANTES
TOURS, FRANCE, 3-4-5 DECEMBRE 2003**

***SCLEROTINIA SCLEROTIORUM* SUR COLZA : ÉTAT DES RÉSISTANCES
AUX FONGICIDES**

A. PENAUD¹, B. HUGUET², V. WILSON², P. LEROUX³

¹CETIOM, BP4, F-78850 Thiverval-Grignon

²SRPV Ile-de-France, 10 rue du Séminaire, F- 94516 Rungis cedex

³INRA, Phytopharmacie et Médiateurs chimiques, F- 78026 Versailles cedex

RESUME :

Depuis plus de quinze ans, la lutte fongicide préventive et systématique contre la sclérotiniose du colza avec des fongicides à base de benzimidazole a conduit à l'apparition de souches de *Sclerotinia sclerotiorum* résistantes à cette substance active. Depuis trois ans, un monitoring résistance aux BMC et dicarboximides est mené par les SRPV, le CETIOM, des sociétés agro-pharmaceutiques, des coopératives et l'INRA. Il apparaît aujourd'hui que la résistance du *S. sclerotiorum* au carbendazime est largement répandue dans les régions de culture du colza, allant du Centre au Nord-Est de la France. Quelques rares cas de résistance aux imides ont été détectés ces deux dernières années. Désormais, la stratégie de lutte contre la sclérotiniose doit prendre en compte la gestion de ces résistances.

Mots-clés : *Sclerotinia*, fongicide, résistance, benzimidazoles, dicarboximides

SUMMARY :

STATUS OF FUNGICIDE RESISTANCE OF *SCLEROTINIA SCLEROTIORUM* IN OILSEED RAPE CROPS.

For more fifteen years, a preventive and systematic chemical control of sclerotinia stem rot with the same active ingredient has led to the occurrence of resistance of *Sclerotinia sclerotiorum* to benzimidazole fungicides. A large monitoring for MBC and dicarboximide fungicides was performed by SRPV, CETIOM, agrochemical companies and INRA over the last three years. MBC resistance of *S. sclerotiorum* is widespread in most oilseed rape cropping areas from the Centre to the north-eastern parts of France. Rare cases of *S. sclerotiorum* were detected the last two years. So, it is necessary to manage practical resistance for a durable crop protection.

Key-words : *Sclerotinia*, résistance, benzimidazoles, dicarboximides

INTRODUCTION

La sclérotiniose du colza est l'une des maladies du colza les plus préjudiciables. Lors d'attaques sévères, les pertes de rendement sont estimées de l'ordre de 1 à 1.5 q/ha par tranche de 10% d'attaque (PENAUD *et al*, 1994). Depuis vingt cinq ans, la protection de la culture consiste en un traitement fongicide préventif appliqué systématiquement en début floraison. Ce traitement a souvent été renouvelé lorsque la floraison s'étendait sur plus d'un mois. Parmi les fongicides utilisés, le carbendazime seul a été très largement employé, offrant un rapport efficacité-coût des plus avantageux pour les agriculteurs. C'est ainsi qu'en 1999, les données de la Charte Environnement CETIOM indiquait 44% des traitements fongicides réalisés avec du carbendazime seul. Mais un usage répété d'une même substance active à mode d'action unisite a fini par conduire à l'apparition de souches de *Sclerotinia sclerotiorum* résistantes.

Avec une mobilisation des Services Régionaux de la Protection des Végétaux, du CETIOM, des sociétés agro-pharmaceutiques et de l'agrofourriture, la surveillance de la résistance de *S. sclerotiorum* au carbendazime s'est intensifiée et s'est élargie à la famille des dicarboximides qui constitue aujourd'hui la principale alternative de traitement fongicide contre le sclerotinia. Cette action permet de dresser un état des lieux pour gérer au mieux la résistance du sclerotinia en colza en fonction de la gamme de fongicides autorisés.

MATERIELS ET METHODES

Chaque année, une action de pathovigilance est menée sur l'ensemble du territoire. Entre 100 et 300 échantillons d'une dizaine de sclérotés sont collectés dans des situations où les attaques de sclérotiniose sont repérées principalement en cultures de colza mais aussi de tournesol, pois ou féverole.

L'analyse consiste à désinfecter 10 sclérotés, les couper en deux et les déposer sur milieu malt agar, chaque moitié constituant une répétition. Dix souches de *S. sclerotiorum* sont ainsi isolées, avec deux répétitions. Leur sensibilité aux fongicides est ensuite testée selon la méthode mise au point par SOULIAC et LEROUX (1995). La méthode consiste à mesurer la croissance radiale des colonies sur des milieux amendés ou non en carbendazime ou iprodione. Pour chaque fongicide, deux concentrations ont été définies, respectivement 1 et 10 mg/l pour le carbendazime et 1 et 2 mg/l pour l'iprodione. La croissance mycélienne est mesurée après 3 jours d'incubation à 20°C et à l'obscurité. Les isolats de *S. sclerotiorum* sont considérés comme résistants quand le mycélium croît sur les deux concentrations testées. Dès qu'un isolat est résistant, la parcelle dont il est issu est alors considérée comme «situation résistante ».

En 2000, en même temps que l'envoi des sclérotés pour analyse, des informations complémentaires sur les pratiques culturales ont été collectées et analysées en AFC pour tenter de mettre en relation la présence de résistance au carbendazime et les pratiques à risques.

RESULTATS

La résistance de *S. sclerotiorum* au carbendazime a été détectée pour la première fois en 1994 dans deux parcelles de Côte d'Or. Au cours des quatre années qui ont suivi, peu ou pas de souche n'a été détectée. En 1999, plus de 20% des situations analysées montrent des souches résistantes au carbendazime. C'est surtout en 2000, année particulièrement favorable aux attaques de sclérotinia du colza, que le phénomène se manifeste dans toute son ampleur. Dans 270 situations principalement touchées par des inefficacités du traitement fongicide à la floraison, 70% présentent des souches résistantes au carbendazime. En 2001, année beaucoup moins favorable à l'expression de la sclérotiniose en colza, le suivi effectué dans plus de 200 parcelles conduit malgré tout à détecter des souches de *S. sclerotiorum* résistantes au carbendazime dans près de 70 % des cas. Enfin en 2002, les situations où une résistance au carbendazime est décelée représentent 57% des analyses (Tableau I).

Tableau I : Fréquence de *S. sclerotiorum* résistant au cardendazime.

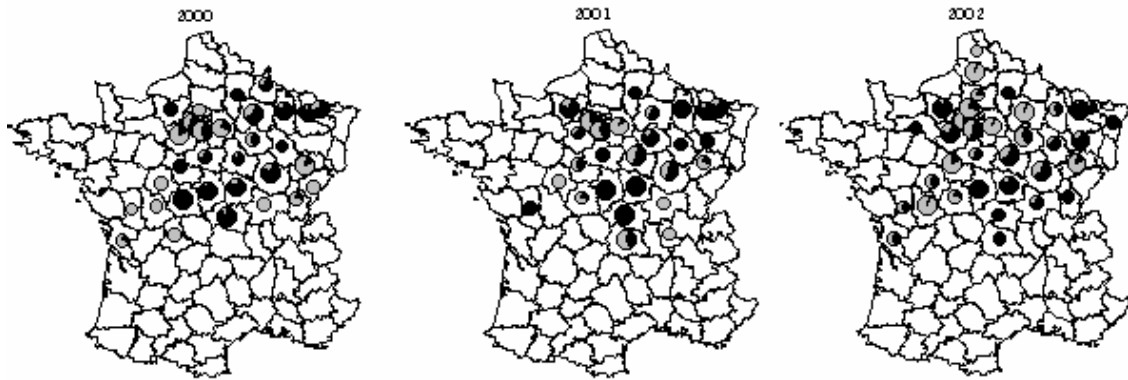
* Seulement deux régions concernées Ile-de-France et Franche-Comté
(Incidence of *S.sclerotiorum* resistant to carbendazim)

Années	1994	95-98	1999	2000	2001	2002
Nombre total d'analyses	5	155*	85	270	213	329
Pourcentage de parcelles analysées « résistantes » au carbendazime	40%	1,3%	21 %	70%	71%	57 %

D'un point de vue répartition spatiale (Figure 1), la résistance au carbendazime de *S. sclerotiorum* s'est manifestée en 2000 principalement en Lorraine, sur les plateaux de Bourgogne (Yonne et Nièvre), en Auvergne, (Allier), et en région Centre. Les résultats de 2001 confirment l'implantation de la résistance du sclerotinia au carbendazime dans toutes les régions du Centre, du Bassin Parisien et d'un grand quart Nord-Est de la France, alors qu'il n'a pas été noté de baisse d'efficacité de la protection fongicide à base de carbendazime. En 2002, malgré un très faible impact de la sclérotiniose du colza, la résistance aux benzimidazoles reste très fréquente dans les grands bassins de production de colza que sont la Lorraine, les côteaux de Bourgogne, le Nord de la région Centre, l'Allier et l'Ouest du Bassin Parisien. En revanche, elle demeure moins répandue dans les régions de l'Ouest et du Nord de la France.

Figure 1 : Répartition des cas de *S. sclerotiorum* résistants au BMC au cours des trois dernières années

(Survey of resistance of *S. sclerotiorum* to MBC fungicides over the last three years)

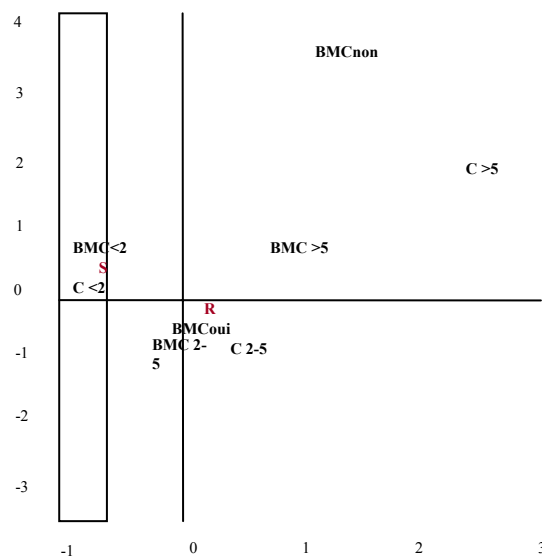


En noir : proportion d'analyses montrant au moins un isolat de *S. sclerotiorum* résistant au carbendazime

Quant à l'origine de l'apparition de souches de *S. sclerotiorum* résistantes au carbendazime en colza, l'analyse factorielle des correspondances associe deux facteurs favorables, d'une part des rotations courtes où le colza revient pratiquement tous les deux ans et d'autre part l'application de plus de 5 traitements à base de carbendazime au cours des dix dernières années, avec souvent deux applications en cours de la floraison (Figure 2).

Figure 2 : Relations entre nombre de traitements BMC, nombre de cultures de colza et la résistance du sclerotinia au BMC.

(Relationships between chemical control and resistance to MBC fungicides)



Vis-à-vis des dicarboximides, la détection de souches de *S. sclerotiorum* résistantes est rare : trois souches en Lorraine en 2001 et une souche instable en 2002.

DISCUSSION

Si les premières baisses d'efficacité se sont manifestées de façon très ponctuelles (SOULIAC *et al*, 1995), elles ont progressivement pris de l'ampleur pour véritablement exploser lors de conditions particulièrement favorables à l'expression de la maladie en 2000 (KACZMAR *et al*, 2000). Les régions les plus concernées sont celles où au cours des dix dernières années une pression de sélection s'est fortement exercée avec des rotations très courtes et de nombreux traitements à base de carbendazime.

Cependant, il convient de souligner que l'apparition de la résistance de *S. sclerotiorum* aux benzimidazoles s'est produite plus de vingt ans après les premières utilisations du carbendazime en culture de colza. Ce délai relativement long est vraisemblablement à attribuer à l'existence d'un seul cycle sexué annuel du champignon sur lequel a pu s'exercer la pression de sélection.

En 2002, les situations où une résistance aux benzimidazoles est détectée ne représentent que 60% des analyses contre 70% les années précédentes. Cette régression apparente serait davantage une résultante de l'échantillonnage. En effet, les analyses 2002 ont été proportionnellement plus nombreuses dans les régions de l'ouest de la France, moins touchées jusqu'à présent par la résistance.

De plus, il semble que la résistance de *S. sclerotiorum* soit de type persistant. En effet, la quasi totalité des souches de *S. sclerotiorum* résistantes aux benzimidazoles présentent une grande sensibilité aux phénylcarbamates comme le diéthofencarbe (les souches sensibles aux benzimidazoles sont naturellement résistantes à ces phénylcarbamates). Ce phénomène de résistance croisée négative est déterminé par une mutation ponctuelle du gène codant pour la β -tubuline, la protéine cible de ces deux familles d'anti-microtubules qui par voie de conséquence, bloquent la division cellulaire. La mutation qui induit le remplacement d'un glutamate par une alanine en position 198 de la β -tubuline est également trouvée chez d'autres champignons comme les agents de la pourriture grise ou du piétin-verse des céréales, où elle n'induit pas de réduction de la fitness des souches résistantes. Cette observation suggère donc que pour *S. sclerotiorum*, la situation soit similaire et donc conduise à une résistance persistante.

Une solution de remplacement des benzimidazoles est fournie par des matières actives de la famille des dicarboximides vis-à-vis desquelles quelques souches de *S. sclerotiorum* résistantes ont été détectées en France, sur Colza. A la suite des travaux conduits sur *Botrytis cinerea* (l'agent de la pourriture grise) et chez lequel la résistance en pratique est effective, il a été montré que la résistance était corrélée

avec une mutation dans le gène codant pour une protéine histidine kinase (*os1*) impliquée dans l'osmorégulation (LEROUX *et al.*, 2002). Des analyses conduites chez *S. sclerotiorum* confirment l'existence d'un gène de type *os1* et montrent que les quelques isolats résistants qui ont été détectés en France, comportent ou non, une mutation de ce gène (à une position différente de celle trouvée chez *B. cinerea*). Cette observation indique, d'une part que malgré la proximité phylogénétique des genres *Botrytis* et *Sclerotinia*, des mécanismes différents de résistance aux dicarboximides peuvent se développer, et d'autre part que la cible de ces fongicides n'est probablement pas cette protéine histidine kinase.

CONCLUSION

Cet état des lieux conduit à recommander une gestion des résistances et à modifier la stratégie de lutte contre le sclerotinia du colza. Les principales préconisations ont donné lieu à une note commune SPV-INRA-CETIOM et sont rappelées ci-après :

***abandonner tout traitement systématique** et raisonner la date d'intervention en fonction du climat (conditions défavorables : températures basses, pluies lessivantes...). En période sèche, le traitement peut être décalé jusqu'au retour de conditions plus favorables à la maladie. Si des conditions sèches persistent, ce décalage peut conduire à la suppression du traitement (attention cependant en rotations courtes et en cas de floraison longue),

*s'il s'avère nécessaire de traiter, réaliser une **seule application** contre le sclerotinia, à positionner à partir de l'apparition des premières siliques (10 siliques < 2 cm) et du début de floraison des hampes secondaires,

*choisir un **fongicide efficace**, en évitant le recours systématique à une même famille chimique, pour éviter qu'elle n'exerce une pression sélective sur le champignon (voir tableau),

*veiller à optimiser les conditions de pulvérisation pour favoriser la pénétration du produit dans le couvert,

En termes d'efficacité des fongicides :

- l'utilisation de **carbendazime** reste possible en situation sensible, mais on évitera d'exercer une pression sélective, en appliquant sur le colza un seul traitement et à dose pleine,

- les **dicarboximides** (vinchlozoline, procymidone) seules et à pleine dose sont régulièrement les plus efficaces mais leur emploi massif et généralisé n'est pas sans danger sur le risque d'évolution de résistance à cette famille chimique. L'efficacité de l'iprodione apparaît en retrait par rapport à celle des autres imides,

- les **triazoles seuls** se montrent au moins aussi efficaces que le dicarboximide le moins performant et offrent une alternative à ne pas négliger dans des conditions d'attaque modérée de sclerotinia. Outre l'alternance des familles chimiques qu'elles permettent, certains triazoles (tebuconazole, metconazole) montrent

régulièrement un effet bénéfique sur les rendements qui peut avantageusement compenser une efficacité plus faible,

- **l'azoxystrobine**, récemment autorisée sur sclérotinia, représente une autre alternative chimique, mais son efficacité sclérotinia est assez moyenne,

- les associations **dicarboximides + carbendazime** peuvent montrer une efficacité correcte. Toutefois, l'apport de carbendazime ne présente plus aucun intérêt sur sclérotinia résistant. De plus, une concentration trop réduite de dicarboximide peut s'avérer insuffisante en cas de forte attaque,

- pour les associations **triazole + carbendazime**, les efficacités sont d'autant meilleures que la concentration en carbendazime est importante. En situation de résistance, ces associations deviennent moins ou non efficaces,

- les mélanges **dicarboximides + triazoles** sont une autre piste explorée expérimentalement, mais on dispose de peu de résultats en situation fortement attaquée. En outre, cette utilisation ne pourra s'effectuer que dans le cadre d'une autorisation officielle du mélange concerné.

Par ailleurs, face à un choix limité des familles chimiques, seule une utilisation à bon escient de la protection contre le sclérotinia devrait permettre à terme de gérer les problèmes de résistance et de rendre plus durable les solutions chimiques. Enfin les études se poursuivent sur les solutions alternatives (PENAUD *et al*, 2003) et la mise au point d'outils d'aide à la décision (TAVERNE *et al*, 2003).

REMERCIEMENTS

Les auteurs remercient l'ensemble des laboratoires pour leur temps passé et le financement consacré aux analyses sans lesquelles aucune cartographie ne serait possible.

REFERENCES

KACZMAR M J., WILSON V., P. LEROUX, 2000. Sclérotiniose du colza : le carbendazime en sursis? *Phytoma-LDV* 529, 31-33.

LEROUX P., FRITZ R., DEBIEU D., ALBERTINI C., LANEN C., BACH J., GREDT M. and CHAPELAND F. 2002 – Mechanisms of resistance to fungicides in field strains of *Botrytis cinerea*. *Pest Manag. Sci.*, 58, 876-888

PENAUD A., ASSEMAT P., TOURVIEILLE D., 1994. *Sclerotinia sclerotiorum* : approche de la nuisibilité sur colza. *Annales 4^{ème} Conférence Maladies des Plantes ANPP Bordeaux*. III, 1139-1145.

PENAUD A., HUGUET B., WILSON V., P. LEROUX, 2001. Benzimidazole resistance of in French oilseed rape crops. *Sclerotinia Workshop*, York

PENAUD A., CHOLLET D., JUNG L., 2003. Biological control of *Sclerotinia sclerotiorum* by *Coniothyrium minitans* in crop rotation including oilseed rape in France. *Proc. 11th Int. Rapeseed Congres.* Copenhagen, Denmark, 4, 1094-1096.

SOULIAC L., P. LEROUX, 1995: Sclérotiniose du colza : Faut-il revoir la stratégie de lutte ? *Phytoma-LDV* 474, 29-31.

TAVERNE M., DUPEUBLE F., MEYNARD J.M., CERF M., PASQUIER C., A. PENAUD, 2003. Evaluation of a diagnostic test for sclerotinia on oilseed rape at flowering. *Proc. 11th Int. Rapeseed Congres.* Copenhagen, Denmark. 4, 1115-1117.