

Résistances de *Sclerotinia sclerotiorum* en culture de colza

PLAN DE SURVEILLANCE 2014

Résumé :

En 2014, le suivi de la résistance de *Sclerotinia sclerotiorum* aux fongicides a été réalisé vis-à-vis des SDHI au niveau national sur 8 parcelles commerciales. Ce suivi de la résistance a également été réalisé vis-à-vis des IDM, des QoI et des SDHI sur un essai « 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.

Des sclérotés résistants vis-à-vis de la famille des SDHI ont été décelés dans 3 parcelles commerciales situées en Lorraine (2 parcelles) et en Picardie (1 parcelle).

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

1. 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 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 fortement recommandée pour limiter l'apparition de phénomènes de résistance.

Des tests de suivi des résistances 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 parallèle, des tests de résistance sont également réalisés sur des essais Erosion d'efficacité vis-à-vis des SDHI mais également vis-à-vis des IDM et des QoI.

2. 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 des SDHI sur les parcelles commerciales et vis-à-vis des IDM et QoI sur les essais, en fonction des modalités. Les substances actives testées sont respectivement les suivantes : 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.

3. Echantillons

3.1 - 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 ainsi qu'une fiche de prélèvement (à remplir pour chaque échantillon) est rédigé par l'unité RPP de l'Anses à l'intention des préleveurs. 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 sclérotine par plante) issus chacun d'une plante différente.

3.2 - Echantillons reçus

Onze parcelles ont été analysées en 2014. Ces parcelles sont soit des parcelles commerciales (n = 8) issues de 3 régions différentes, soit des parcelles d'essais "Erosion d'efficacité" mis en place par les SRAL (1 parcelle d'essai avec 3 modalités analysées).

Tableau 1 : Bilan des parcelles commerciales

Région	Nombre parcelles prévues par NS 2014	Nombre parcelles reçues
Bourgogne	2	0
Champagne-Ardenne	2	4
Lorraine	2	2
Picardie	2	2
Rhône-Alpes	2	0

Tableau 2 : Bilan des parcelles d'essais Erosion d'efficacité

Région	Nombre d'essais Erosion reçus	Nombre modalités/essai
Bretagne	1	3

Seul le boscalid est testé sur les parcelles commerciales, sauf demande particulière.

Pour les essais Erosion d'efficacité, les parcelles témoins sont soumises à toutes les substances actives ; pour les autres modalités, les échantillons sont analysés 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.

4. Résultats - Discussion

4.1- Parcelles commerciales

Pour rappel, en 2012, sur 16 parcelles commerciales analysées (soit 186 sclérotés testés), une souche issue d'un sclérote prélevé dans une parcelle de Picardie s'était avérée résistante au boscalid. Les tests de confirmation effectués par l'Anses et l'INRA Bioger avaient confirmé cette résistance. Cette souche représente le premier cas de résistance aux SDHI décelé par le biais du plan de surveillance.

Aucune résistance n'avait été décelée en 2013 ; en revanche, en 2014 la résistance au boscalid a été à nouveau mise en évidence : 14 sclérotés (sur 102 analysés) issus de 3 parcelles commerciales (2 en Lorraine et 1 en Picardie) ont montré une croissance à la dose de 2 mg/L de boscalid lors du premier test. Les tests de confirmation ont confirmé cette résistance pour 8 sclérotés avec une croissance supérieure à 50% par rapport au témoin à la dose 2 mg/L. Parmi ceux-ci, cinq présentent une résistance forte avec également une croissance supérieure à 50% à la dose 5 mg/L par rapport au témoin.

Le calendrier de traitement de l'année 2014 de la parcelle 14-038 (1 sclérote résistant) comprend un seul traitement à base de boscalid, le dernier datant de 2010. En revanche, en ce qui concerne la parcelle 14-085 (5 sclérotés résistants), la rotation est plus courte et le dernier traitement à base de boscalid depuis 2014 datait de 2012. La parcelle 14-057 (2 sclérotés résistants) a été traité au boscalid en 2012 et 2014, mais le prélèvement ayant servi aux tests de résistance a été effectué sur une zone de la parcelle non traitée en 2014.

Toutes les souches suspectées résistantes ont été envoyées à l'INRA Bioger afin d'effectuer un second test de confirmation, et toutes ont été confirmées résistantes une nouvelle fois.

Tableau 3 : Tableau synthétique des résultats sur les parcelles commerciales

N° Labo	Nombre de sclérotés analysés	Test boscalid DD 2 mg/L	Test boscalid DD 5 mg/L	Matières actives utilisées année 2014
Champagne-Ardenne				
14-101	13	Sensible	Sensible	Pas de traitement
14-102	13	Sensible	Sensible	boscalid + metconazole + prothioconazole + tébuconazole
14-103	13	Sensible	Sensible	Pas de traitement
14-104	12	Sensible	Sensible	boscalid
Lorraine				
14-038	13	1 sclérote résistant	1 sclérote résistant / 1 sclérote résistant à 2 mg/L	boscalid + azoxystrobine
14-085	13	5 sclérotés résistants	3 sclérotés résistants / 5 sclérotés résistants à 2 mg/L	boscalid + metconazole
Picardie				
14-039	12	Sensible	Sensible	boscalid + dimoxystrobine
14-057	13	2 sclérotés résistants	1 sclérote résistant / 2 sclérotés résistants à 2 mg/L	Prélèvement sur une zone non traitée

4.1 - Essais Erosion d'efficacité

Les essais mis en place par les SRAL comportent 5 modalités et un témoin (cf. plan d'essai en annexe 1). Seul un essai en provenance de Bretagne a été analysé, celui-ci ne comportant que 3 modalités : témoin, SDHI et QoI. Pour les modalités SDHI et QoI, les tests ont été fait avec respectivement le boscalid et l'azoxystrobine. En revanche, tous les modes d'action ont été testés dans la modalité témoin. Sur la totalité des sclérotés testés issus de ces 3 modalités, aucun n'a montré une baisse de sensibilité vis-à-vis des trois familles chimiques ciblées (résultats : cf. annexe 2).

5. Conclusions - perspectives

Avec un faible nombre de parcelles analysées, le plan de surveillance 2013 n'avait pas mis en évidence de résistance au boscalid. Cependant, depuis 2011, le suivi des résistances de *Sclerotinia sclerotiorum* vis-à-vis des différentes substances actives utilisées dans les situations à risque a montré qu'il existait un risque non négligeable de voir se développer des cas de résistance spécifique, notamment aux SDHI. Le plan de surveillance 2012 a renforcé cette idée avec la présence d'une souche résistante au boscalid. L'année 2014 conforte le fait que cette surveillance doit être poursuivie et que les stratégies de lutte doivent être adaptées.

6. 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.

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	Modalités	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
Bretagne					
14-073	Témoin	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible
14-074	Boscalid			Sensible	
14-075	Azoxystrobine				Sensible