

**AFPP – ONZIÈME CONFÉRENCE INTERNATIONALE SUR LES MALADIES DES PLANTES
TOURS – 7 AU 9 DÉCEMBRE 2015**

**IDENTIFICATION ET HIERARCHISATION DES DETERMINANTS AGRONOMIQUES DE L'ERGOT ET DES
ALCALOÏDES ASSOCIES SUR CEREALES A PAILLE**

B. ORLANDO ⁽¹⁾, C. MAUMENE ⁽¹⁾, R. VALADE ⁽²⁾, L. MAUNAS ⁽³⁾, N. ROBIN ⁽³⁾, L. BONIN ⁽¹⁾

⁽¹⁾ Arvalis Institut du Végétal – Station expérimentale 91720 Boigneville – France
b.orlando@arvalisinstitutduvegetal.fr ; c.maumene@arvalisinstitutduvegetal.fr ;
l.bonin@arvalisinstitutduvegetal.fr

⁽²⁾, Arvalis Institut du Végétal – Avenue Lucien Brétignières, Bât. INRA Bioger-cpp
78850 THIVERVAL-GRIGNON – France
r.valade@arvalisinstitutduvegetal.fr

⁽³⁾ Arvalis Institut du Végétal - 21 chemin de Pau 64121 Montardon – France
l.maunas@arvalisinstitutduvegetal.fr ; n.robin@arvalisinstitutduvegetal.fr

RÉSUMÉ

Le Parlement Européen a notifié le 10 juillet 2015 la modification du règlement 1881/2006 concernant l'instauration de limites maximales de teneur en ergot (*Claviceps purpurea*) sur les céréales brutes destinées à la consommation humaine. Les études d'occurrence ont permis de montrer que toutes les céréales à paille sont touchées par cette maladie, le triticale et le seigle étant les plus sensibles. Depuis 2012, plus de 2 000 parcelles de blé tendre, blé dur, orge, triticale et seigle ont été enquêtées selon une même méthodologie, au sein d'une démarche menée par ARVALIS-Institut du végétal en collaboration avec différents partenaires de la filière. Ces travaux ont permis d'une part de déterminer la relation entre la contamination en ergot des cultures, et la production des alcaloïdes associés. D'autre part, cette enquête a permis d'identifier et de hiérarchiser les leviers agronomiques permettant de limiter le risque ergot dans les cultures. Leur pertinence a pu être confirmée par des essais analytiques.

Mots-clés : *Claviceps purpurea*, ergot, alcaloïdes, gestion du risque, leviers agronomiques.

ABSTRACT

IDENTIFICATION AND CLASSIFICATION OF AGRONOMIC FACTORS INVOLVED IN ERGOT CONTENTS AND ITS ALKALOIDS IN SMALL GRAIN CEREALS

The European Parliament has notified on 10th July 2015 the modification of the 1881/2006 Regulation on the establishment of maximum limits for ergot contents (*Claviceps purpurea*) in small grain cereals for human consumption. Occurrence studies have shown that all the small grains cereals are affected by this disease, triticale and rye are the most sensitive. Since 2012, more than 2000 farm fields of soft wheat, durum wheat, barley, rye and triticale were studied according to the same methodology, by ARVALIS- Institut du vegetal in collaboration with partners. This work allowed one hand to determine the relationship between ergot contamination of crops, and production of associated alkaloids. On the other hand, the survey helped identify and prioritize agronomic levers to limit the risk in crops. Their relevance was confirmed by analytical testing.

Keywords: *Claviceps purpurea*, ergot, alkaloids, risk assessment, agronomic factors.

INTRODUCTION

L'ergot du seigle (*Claviceps purpurea*), est un champignon ascomycète présentant une faible spécificité d'hôte et s'installant au stade floraison sur les ovaires des graminées sauvages ou adventices alentours (vulpin, ray-grass etc.), parfois directement sur les céréales cultivées. Les sclérotés formés par *Claviceps purpurea* constituent la forme de conservation du champignon. Ils contiennent des toxines de la famille des alcaloïdes, actuellement suivis de près par la Commission Européenne. Une quarantaine d'alcaloïdes ont été isolés, les plus courants étant des ergopeptides toxiques : ergotamine, ergométrine, ergosine, ergocornine, ergocristine, et ergocryptine. Ce sont des dérivés de l'acide isolysergique, ou de l'acide lysergique, dont est issu le LSD notamment. Il existe une relation entre la teneur en ergot et les alcaloïdes (Orlando, 2014(2)). Leur présence dans les récoltes constitue donc un enjeu sanitaire et économique, la gestion de ce risque passant par le respect de la réglementation en vigueur.

Pour l'alimentation humaine, le Parlement Européen a notifié le 10 juillet 2015 la modification du règlement 1881/2006 concernant l'instauration de limites maximales de teneur en ergot (*Claviceps purpurea*) sur les céréales brutes destinées à la consommation humaine. Par ailleurs, le règlement 1272/2009 fixe un seuil de 0.5 g/kg pour le blé tendre et le blé dur destinés à l'intervention. Pour l'alimentation animale, la limite maximale réglementaire est fixée à 1 g/kg de céréales (directive Européenne 2002/32 – règlement 574/2011). Enfin, pour la production de semences, la Directive européenne 66/402 impose un maximum de 3 sclérotés (ou fragments) pour 500 g de semences certifiées, et un maximum de 1 sclérote (ou fragment) pour 500 g de semences de base.

Des contaminations d'ergot ont pu être notées sur le territoire français en 2010, 2012, 2013 et 2014. Des modifications récentes des pratiques agricoles, comme l'abandon du labour au profit de techniques d'implantation sans labour, et le développement des graminées en cultures pourraient, en partie, expliquer cette résurgence. L'introduction de la maladie par les lots de semences contaminées contribue également à l'entretien et l'amplification de l'inoculum sur le territoire.

Par ailleurs, toutes les céréales ne présentent pas la même sensibilité à l'ergot (Orlando, 2015). Le seigle, allogame, est la céréale la plus sensible à la maladie. Intra-espèce, il existe également des différences de sensibilité des variétés à l'ergot des céréales (Maumené, 2015).

Le relai de l'ergot par les graminées a bien été caractérisé et l'importance de la gestion de celles-ci a été soulignée (Mantle & Shaw, 1977 ; Dokken et al., 2009). Les graminées adventices seraient ainsi des vecteurs et amplificateurs des contaminations d'ergot sur culture. En effet, leur période de floraison concorde très souvent avec la période de germination des sclérotés, alors que la floraison des cultures est généralement plus tardive. Environ 7 jours après la contamination primaire d'ergot sur les adventices, qui fleurissent précocement au printemps, celles-ci peuvent produire du miellat contenant des spores. Les chances de concordance avec la floraison de la culture et donc de contamination secondaire d'ergot sur culture sont alors augmentées (Fernandez et al., 2000 ; Dokken et al., 2009 ; Jacquin et al., 2010). Ainsi les désherbages inefficaces ou incomplets pourraient être favorables aux contaminations de l'ergot sur culture (Bonin *et al.*, 2013). Ce phénomène pourrait par ailleurs être renforcé par le développement des populations de graminées résistantes (vulpin et ray-grass).

Par ailleurs, si le développement d'ergot sur les graminées adventices ne conduit pas systématiquement au passage sur la culture, la production de sclérotés entretient et introduit l'inoculum sur la parcelle. Quant à l'utilisation des lots de semences contaminés par l'ergot, elle peut introduire l'inoculum sur des parcelles saines et participer à sa dissémination. Vis-à-vis de ce risque, des techniques de lutte préventive ont fait leur preuve : triage des lots de semences (Orlando, 2014(1)) et application de traitements de semences fongicides appropriés qui inhibent la germination des sclérotés. (Maunas, 2015).

MATERIEL ET METHODE

Entre 2012 et 2014, un total de 2060 parcelles de blé tendre (916), blé dur (347), orge (439), triticale (191), seigle (99) et avoine (68) ont été enquêtées par ARVALIS - Institut du végétal en collaboration avec différents partenaires de la filière.

CHOIX DES PARCELLES ENQUETEES

L'objectif de cette enquête pluriannuelle est d'identifier puis hiérarchiser l'importance des différents facteurs agronomiques impliqués dans la contamination en ergot et en alcaloïdes des céréales. Cette étude a été menée dans les principales régions françaises productrices de ces cultures.

Le premier objectif étant d'identifier les facteurs agronomiques susceptibles d'influer sur les teneurs en ergot et alcaloïdes associés, la sélection des parcelles étudiées s'est basée sur la diversité géographique des situations, ainsi que sur la variabilité des critères agronomiques caractérisant l'historique de la parcelle et l'itinéraire cultural.

QUESTIONNAIRE AGRONOMIQUE, PRELEVEMENT DES ECHANTILLONS ET ANALYSE DE L'ERGOT ET DES ALCALOÏDES

Pour chaque parcelle, un questionnaire retraçant l'historique cultural a été renseigné, et un échantillon de 3 kg de grain a été constitué à la récolte. Cet échantillon est composé de 3 sous-échantillons de 1kg minimum chacun, prélevés à la vidange de la moissonneuse batteuse. Les trois sous-échantillons ont été rassemblés. L'échantillon est pesé puis l'ensemble des sclérotés a été isolé sur cet échantillon. Ceux-ci sont ensuite pesés pour déterminer la teneur en ergot de l'échantillon.

Parallèlement, les échantillons exempts de sclérotés sont ensuite homogénéisés, nettoyés pour retirer les impuretés (pailles glumes, petits grains, grains cassés, poussières...) puis divisés de manière à obtenir 1,5kg de grain pour analyse. Les sclérotés sont réintroduits en totalité dans ce sous-échantillon.

Celui-ci est d'abord broyé à l'aide d'un broyeur équipé d'une grille de 1mm, puis un sous-échantillon de 500g de ce broyat a été prélevé pour analyse des alcaloïdes par chromatographie liquide, détection couplée masse-masse (LC-MSMS). Les alcaloïdes mesurés sont l'ergocornine, l'ergocristine, l'ergométrine, l'ergotamine, l'ergosine, l'ergocryptine, ainsi que leurs formes épimères respectives, soit un total de 12 molécules. Les teneurs en alcaloïdes mesurées sont ensuite corrigées du facteur de concentration induit par l'échantillonnage de grain précédemment décrit.

ANALYSE STATISTIQUE DES DONNEES

L'ensemble de l'étude statistique a été réalisée à l'aide du logiciel R, sur la somme des 12 alcaloïdes.

Un modèle linéaire mixte a été utilisé pour analyser les données. La variable à expliquer, teneur en alcaloïdes, a été transformée en $\ln(\text{alcaloïdes})$ afin de normaliser la distribution des données. Les variables explicatives sont qualitatives (facteurs agronomiques). Le facteur année a été considéré comme aléatoire, ainsi que toutes les interactions impliquant ce facteur. Des analyses de variance ont été réalisées sur la base de ce modèle, ainsi que le calcul de moyennes ajustées.

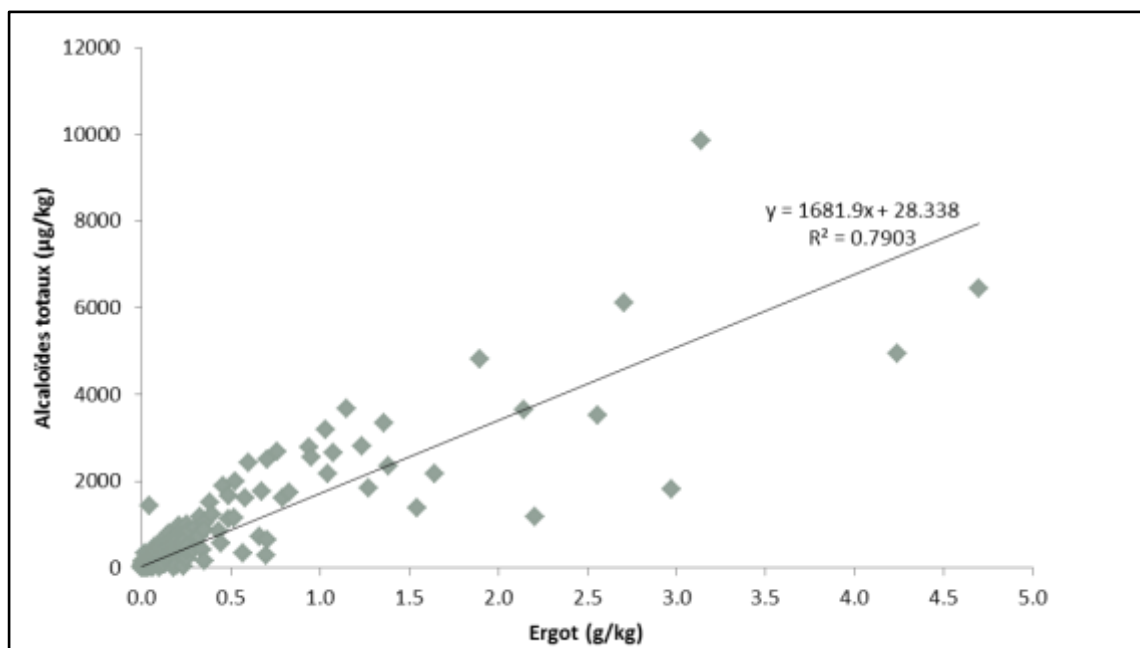
RESULTATS

COMPOSITION EN ALCALOÏDES DES SCLEROTES

L'ergotamine, l'ergosine et l'ergocristine et leurs épimères respectifs représentent 74% de la teneur totale en alcaloïdes. L'ergométrine, l'ergocryptine et l'ergocornine sont plus minoritaires. La forme épimère représente en moyenne 30% de la teneur totale en alcaloïdes.

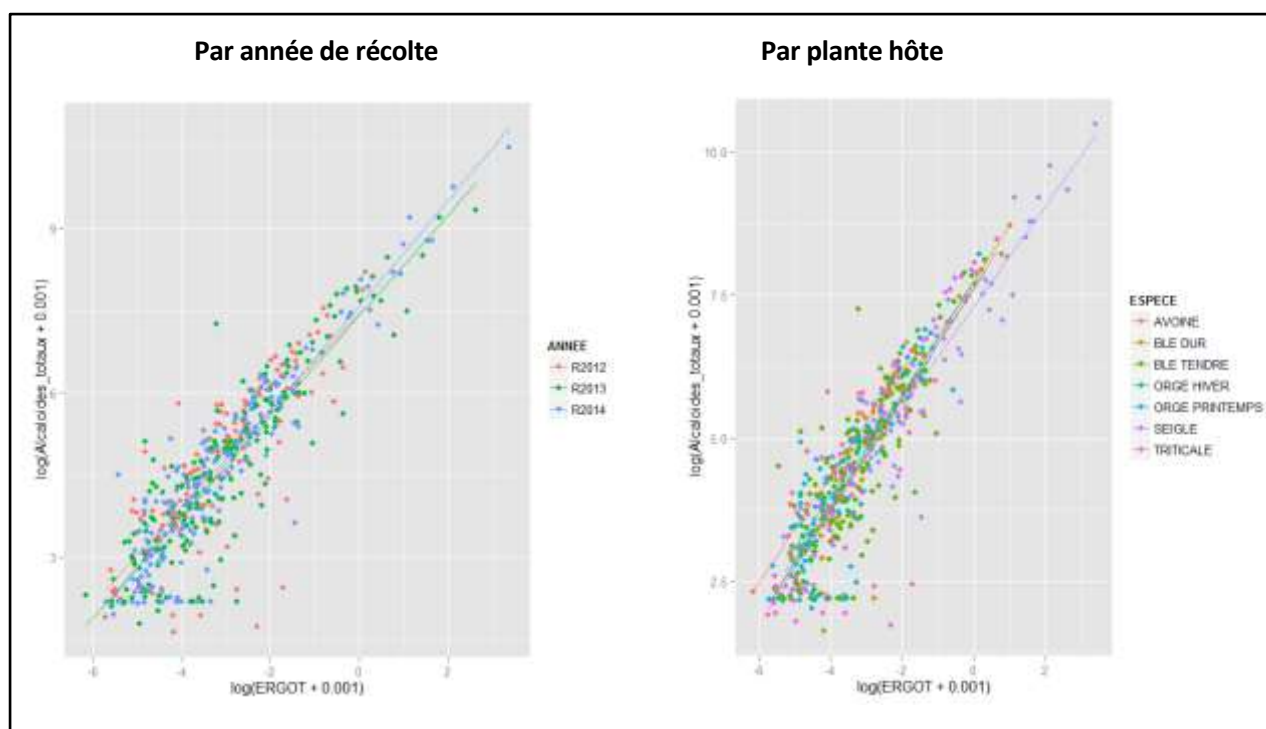
On observe une forte variabilité de la teneur en alcaloïdes dans 1g de sclérotés, qui varie de 57µg à 36 385µg/g de sclérote. 1g de sclérotés contient en moyenne 3103µg d'alcaloïdes. Mais malgré cette variabilité inter-sclérotés, 79% de la variabilité des teneurs en alcaloïdes mesurées dans les échantillons est expliquée par la teneur en ergot de l'échantillon (Figure 1).

Figure 1 : Teneur en alcaloïdes des échantillons en fonction de leur teneur en ergot
(Alkaloid content of samples according to their ergot content)



La relation sclérotés/alcaloïdes est indépendante de l'année et de la plante hôte (Figure 2)

Figure 2 : Corrélation entre $\ln(\text{alcaloïdes})$ et $\ln(\text{ergot} + 0.001)$ par année de récolte et par plante hôte
(Correlation between $\ln(\text{alkaloid})$ and $\ln(\text{ergot content} + 0.001)$ by harvest year and by host plant)



DETERMINANTS AGRONOMIQUES INFLUANT SUR LA TENEUR EN SCLEROTES

Le choix variétal n'est pas intégré dans cette étude. En effet, définir les différences de sensibilité des variétés n'est possible qu'au travers de dispositifs analytiques d'évaluation spécifiques. ARVALIS travaille depuis 2013 sur la méthodologie de ce type d'essai (ARVALIS, données non publiées).

Une analyse de variance a permis de hiérarchiser les facteurs agronomiques influant sur les niveaux de contamination en alcaloïdes (Tableau I).

Tableau I : Analyse de variance : facteurs agronomiques influant sur les teneurs en alcaloïdes
(Variance analysis: agronomic factors involved in alkaloid contents)

	F value	Pr(>F)
Plante hôte	44	$2.2 \cdot 10^{-16}$
Précédent cultural	35	0.0004
Présence de graminées adventices	28	0.016
Travail du sol	3	0.066

Plante hôte

Le calcul des moyennes ajustées -toutes choses égales par ailleurs- pour les différentes céréales montre que le seigle, plante allogame, est plus sensible car plus exposé aux contaminations par l'ergot à floraison. Le triticales, est également sensible : c'est une plante autogame qui présente une tendance plus prononcée à l'allogamie que les autres céréales. Enfin, les autres cultures présentent une moindre sensibilité (Tableau II).

Tableau II : Moyennes ajustées des teneurs en alcaloïdes, et comparaison des plantes hôtes
(Adjusted means of alkaloid contents, and comparison of host plants)

	Moyenne ajustée (µg/ kg)	Test de Tukey (5%)
Avoine	11	a
Blé dur	12	a
Blé tendre	12	a
Orge d'hiver	12	a
Orge de printemps	15	a
Triticale	26	b
Seigle	198	c

Présence de graminées adventices

Le calcul des moyennes ajustées -toutes choses égales par ailleurs- concernant la présence de graminées adventices dans et autour des parcelles montre que les parcelles les moins contaminées sont les parcelles exemptes d'adventices ; les plus contaminées étant les parcelles avec présence de graminées adventices dans et autour de la parcelle (Tableau III).

Tableau III : Moyennes ajustées des teneurs en alcaloïdes, en fonction de la présence de graminées dans et/ou en bordure de champ
(Adjusted means of alkaloid contents, according to the presence of grassweeds in and/or at the margin of the field)

	Moyenne ajustée (µg/ kg)	Test de Tukey (5%)
Absence	18	a
Présence bordure	17	ab
Présence champ	24	ab
Présence bordure + champ	27	b

Précédent cultural

Le calcul des moyennes ajustées -toutes choses égales par ailleurs- pour les différents précédents montre que les céréales, hôtes de l'ergot, sont un précédent plus à risque que les cultures de printemps ou d'été. Plus largement, il convient d'être vigilant sur les rotations induisant des difficultés de désherbage telles que le colza où les graminées adventices peuvent entretenir significativement le réservoir d'inoculum présent dans la parcelle (Tableau IV).

Tableau IV : Moyennes ajustées des teneurs en alcaloïdes, et comparaison des précédents culturaux
(Adjusted means of alkaloid contents, and comparison of previous crops)

	Moyenne ajustée (µg/ kg)	Test de Tukey (5%)
Cultures d'été	18	a
Cultures de printemps	19	a
Céréales	22	ab
Colza	28	b

Travail du sol

Le calcul des moyennes ajustées -toutes choses égales par ailleurs- pour le travail du sol montre que les parcelles labourées semblent moins contaminées que les parcelles non labourées. Les deux modalités sont très proches.

Tableau V : Moyennes ajustées des teneurs en alcaloïdes, avec et sans labour.
(Adjusted means of alkaloid contents, with and without ploughing)

	Moyenne ajustée (µg/ kg)	Test de Tukey (5%)
Labour	18	a
Non labour	19	a

DISCUSSION

Cette étude a permis d'identifier et de hiérarchiser quatre facteurs agronomiques influant sur les niveaux de contamination en alcaloïdes des céréales. La plante hôte constitue un facteur de première importance. Le seigle est la culture la plus sensible à la maladie, ce qui justifie l'appellation historique « ergot du seigle ». Le triticale est également identifié comme sensible à la maladie. Cette sensibilité s'explique par le degré d'allogamie des différentes cultures, les plantes allogames présentant une sensibilité supérieure à floraison. Si l'on extrapole ce principe au choix variétal, des variétés de seigle commercialisées possèdent le gène IRAN IX : ce gène favorise la pollinisation, ce qui permet de diminuer la période de sensibilité à floraison. Ainsi, les ascospores ne peuvent plus contaminer les épis après la fécondation. L'efficacité indirecte de ce gène a pu être constatée (Maumené, 2015) mais d'autres sources de résistances doivent être explorées.

Les graminées adventices jouent également un rôle de premier rang dans les contaminations en ergot des cultures. La présence de graminées en sortie d'hiver peut constituer une source de contamination de la récolte et de la parcelle à plus long terme. Cette contamination peut être directe (les sclérotés des graminées, non contrôlés se retrouvent dans la récolte) soit indirecte (les graminées servant de relais à l'ergot, avant de contaminer la céréale en floraison). La maîtrise des graminées est donc cruciale afin de limiter les risques sanitaires liés à l'ergot, quelle que soit la culture concernée. Compte tenu du développement des populations de vulpins et ray-grass résistants, le risque lié à l'ergot est amplifié, faute de solutions chimiques efficaces en sortie d'hiver. Le recours au désherbage d'automne est donc une nécessité dans de nombreuses situations (Bonin, 2013).

Le précédent cultural joue également un rôle : les précédents céréales, hôtes de la maladie, doivent être particulièrement surveillées, mais aussi plus largement toutes les cultures telles que le colza induisant des difficultés de désherbage, les graminées adventices entretenant l'inoculum dans les parcelles. L'ergot contamine les graminées à un stade phénologique très précis : à floraison, avant fécondation (James F. White, 2003). Ce délai peut être très court pour certaines graminées ou variétés selon le climat de l'année.

Le travail du sol profond permet d'enfouir les sclérotés dans le sol suffisamment pour que ces derniers germent dans le sol, empêchant l'émission des ascospores dans l'air, et donc la contamination des graminées à floraison (Maunas, 2013). L'importance de ce levier agronomique a pu être démontrée par ailleurs au travers d'essais analytiques puisque le labour, en enfouissant à plus de 10 cm les sclérotés, permet de diminuer le potentiel infectieux de la parcelle de 85% (Maumené, 2015). A l'échelle de 2 rotations, la nécessité d'effectuer l'année suivante un second labour – qui remonterait à la surface 60% des sclérotés précédemment enfouis- ou bien de réaliser un travail superficiel- doit être évaluée en tenant compte des adventices naturellement présentes dans l'environnement, et qui pourraient apporter à la surface du sol de nouveaux sclérotés.

D'autres facteurs constituent des leviers pour gérer le risque ergot, mais ne sont pas identifiables au travers de cette approche d'enquête. C'est le cas de certains traitements de semences (Maunas, 2015) inhibant la germination des sclérotés présents dans les lots de semences.

CONCLUSION

La gestion agronomique du risque ergot est multifactorielle. La lutte contre cette maladie s'articule autour de 3 axes :

- éviter d'introduire la maladie dans la parcelle : traitement de semences, maîtrise des graminées dans et autour des parcelles
- éviter de multiplier l'inoculum : maîtrise du désherbage et adaptation du travail du sol

- éviter de cultiver des espèces et variétés sensibles dans les situations à risque.

Outre les pratiques agronomiques, le climat joue un rôle déterminant dans les contaminations. Si les températures hivernales rencontrées sur notre territoire permettent la germination des sclérotés, le champignon nécessite pour se développer des conditions printanières avec des pluies régulières. L'humidité environnante est un facteur déterminant tant pour la germination des sclérotés que la libération des ascospores.

REMERCIEMENTS

Cette étude a reçu le soutien financier de FranceAgriMer, de la filière Intercéréales et du Compte d'Affectation Spécial pour le Développement Agricole et Rural géré par le Ministère de l'agriculture, de l'agroalimentaire et de la forêt. Les auteurs remercient l'ensemble des personnes qui d'une manière ou d'une autre ont contribué à la réalisation de cette étude.

BIBLIOGRAPHIE

BONIN L., ORLANDO B., GAUTELLIER-VIZIOZ L., 2013. Impact des pratiques de désherbage dans la gestion du risque *Claviceps purpurea*. 22e CONFÉRENCE DU COLUMA, DIJON 10-12 décembre.

DOKKEN F., PEARSE P., RECKSIEDLER B. et RISULA D., 2009. Fact Sheet: Ergot of cereals and grasses. Saskatchewan Ministry of Agriculture. Disponible à l'adresse suivante : <http://www.grainscanada.gc.ca>

FERNANDEZ M.R., DEPAUW R.M. et DUNBAR B., 2000. Ergot in common and durum wheat in Saskatchewan in 1999, Canadian Plant Disease Survey, 80: 54-55.

JACQUIN D., DÉLOS M. et REBOUD X., 2010. L'ergot dépasse le seigle. Phytoma-la défense des végétaux 633, 38-42.

JAMES F. WHITE Jr *et al.*, 2003. Clavicipitacean Fungi : Evolutionary Biology, Chemistry, Biocontrol And Cultural Impacts 422-423

MANTLE, P. G. et SHAW, S., 1977. Role of weed grasses in the etiology of ergot disease in wheat. In : Annales applied Biologists. 1977. n° 86, pp. 339 351.

MAUMENÉ C., ORLANDO B., BONIN L., LABREUCHE J., LECLERE A., MAUNAS L., VALADE R., 2015. Outils de gestion agronomiques : les principaux leviers. 5^{ème} colloque qualité sanitaire des céréales, PARIS - 1^{er} avril.

MAUMENE C., ORLANDO B., LABREUCHE J., LECLERE A., MAUNAS L., 2015. Le travail du sol, un levier efficace pour limiter les risques de multiplication de l'ergot des céréales. 11^{ème} Conférence Internationale sur les Maladies des Plantes, TOURS – 7-9 décembre.

MAUNAS L., LECLERE A., 2013. Un travail profond du sol réduit les contaminations ultérieures. Perspectives Agricoles n°402 pp. 46-47.

MAUNAS L. ROBIN N., MAUMENÉ C., 2015. Effet de différents traitements de semences fongicides sur la germination de sclérotés de *Claviceps purpurea*. 11^{ème} Conférence Internationale sur les Maladies des Plantes, TOURS – 7-9 décembre.

ORLANDO B (1)2013. L'ergot et ses alcaloïdes détectés de plus en plus souvent. Perspectives Agricoles 402,34-38.

ORLANDO B., COMPAGNON C. et MAUMENÉ C. (2), 2013. Epidémiologie de l'ergot : une dissémination à courte portée. Perspectives Agricoles 402, 39-41.

ORLANDO B., CREPON K., MOREAU JY., 2014(1). Ergot des céréales : des avancées dans le nettoyage des grains. Perspectives Agricoles n°416 pp. 22-24.

ORLANDO B., PIRAUX F., 2014(2). *Claviceps purpurea* and alkaloid in cereals: variability, relationship and pattern. 8th World Mycotoxin Forum, at Vienna, AUSTRIA 10-12 november.

ORLANDO B., 2015. Identification et hiérarchisation des déterminants de l'ergot et des alcaloïdes du champ à l'assiette. 5^{ème} colloque qualité sanitaire des céréales, PARIS -1^{er} avril.