

**AFPP- ONZIÈME CONFÉRENCE INTERNATIONALE SUR LES MALADIES DES PLANTES
TOURS- 7, 8 ET 9 DÉCEMBRE 2015**

**ETUDE AU CHAMP DE L'EFFICACITE ET DE LA PRESSION SELECTIVE EXERCEE PAR DES ASSOCIATIONS
FONGICIDES SUR LA SENSIBILITE DES POPULATIONS DE *ZYMOSEPTORIA TRITICI* CES DERNIERES
ANNEES EN FRANCE**

G. COULEAUD¹, A.-S. WALKER² et C. MAUMENE¹

¹ARVALIS – Institut du Végétal, station expérimentale, F91720 Boigneville

²INRA, UMR BIOGER-CPP, Avenue Lucien Bretignières, F78850 Thiverval-Grignon

RESUME

Le contrôle de la septoriose reste largement dépendant de l'utilisation des fongicides, malgré la mise en œuvre de bonnes pratiques agricoles et le recours à des variétés résistantes. A cela s'ajoutent des perspectives de restrictions croissantes des molécules disponibles pour cet usage, du fait des évolutions réglementaires européennes et nationales. Dans ce contexte, l'utilisation des fongicides mérite d'être accompagnée de recommandations assurant la durabilité de l'ensemble des solutions disponibles. A partir du Réseau Performance animé par Arvalis Institut du Végétal et l'INRA Bioger, les résultats d'efficacité des fongicides en fonction de l'évolution des populations de *Zymoseptoria tritici* en France sont présentés et discutés. Une étude de la pression sélective, exercée par les représentants des IDMs et des SDHI ainsi que du chlorothalonil, a été réalisée de 2010 à 2013, Les résultats sont présentés et discutés.

Mots-clés : septoriose, résistance aux fongicides, SDHI, IDMs, efficacité pratique.

ABSTRACT

STUDY FIELD EFFICACY AND SELECTIVE PRESSURE EXERCISED BY ASSOCIATIONS FUNGICIDES ON SENSITIVITY OF POPULATION *ZYMOSEPTORIA TRITICI* RECENT YEARS IN FRANCE

Control of septoria remains largely dependent on the use of fungicides, despite the implementation of good agricultural practices and the use of resistant varieties. Added to this are the prospects of increasing restrictions on molecules available for this use, because of the European and national regulatory developments. In this context the use of fungicides worth with recommendations ensuring the durability of the set of available solutions. From the Performance Network hosted by Arvalis Institut du Végétal and INRA Bioger, the fungicides efficacy results based on the evolution of *Zymoseptoria tritici* populations in France are presented and discussed. A study of the selective pressure exerted by the representatives of DMI and SDHI and chlorothalonil, was conducted from 2010 to 2013. These results are presented and discussed.

Keywords: septoria leaf blotch, fungicide resistance, SDHI, DMIs, field efficacy.

INTRODUCTION

La septoriose du blé, due à *Mycosphaerella graminicola* (an. *Septoria tritici*, syn. *Zymoseptoria tritici*) est la principale maladie du blé, causant principalement des dégâts quantitatifs (de 0 à 40 q/ha, avec une moyenne estimée sur les 15 dernières années à 17 q/ha). En l'absence de variétés totalement résistantes à la maladie, la lutte repose principalement sur des méthodes chimiques, faisant intervenir en particulier des fongicides Inhibiteurs de la DÉMéthylation des stérols (IDMs), comme les triazoles (ex : époxiconazole, cyproconazole, propiconazole, metconazole...), les imidazoles (ex : prochloraze) ou les triazolinethiones (prothioconazole). Les fongicides Qols (inhibiteurs du complexe mitochondrial III de la respiration : azoxystrobine, pyraclostrobine, picoxystrobine, fluoxastrobine,...) sont d'un intérêt limité depuis la généralisation au début des années 2000 des souches très résistantes en Europe. Les SDHIs (inhibiteurs de la succinate deshydrogénase, impliquée dans le complexe II de la respiration : boscalid, isopyrazam, bixafen, fluxapyroxad, penthiopyrad) représentent un mode d'action nouveau pour lutter contre la septoriose du blé et de nouvelles molécules de cette famille sont en cours d'homologation en Europe et seront prochainement disponibles pour les agriculteurs.

La sélection d'une résistance est un phénomène évolutif qui permet à des mutants résistants d'augmenter en fréquence dans les populations sous pression de sélection. Au niveau individuel, la résistance aux fongicides correspond à une perte de sensibilité à cette molécule, déterminée par une modification (mutation, délétion) de son génome. Selon, entre autres, son intensité (mesurée par le niveau de résistance NR) et la fréquence des individus résistants dans les populations, une résistance peut avoir un impact variable sur l'efficacité pratique au champ. Ainsi, toute résistance détectée au niveau individuel n'induit pas forcément des pertes d'efficacité au fongicide concerné (résistance au champ).

Chez *M. graminicola*, des isolats résistants aux Qols et aux benzimidazoles (fongicides anti-microtubules anciens, peu utilisés actuellement) sont décrits et généralisés en France. Des isolats résistants aux IDMs sont connus depuis la fin des années 80 en France et sont maintenant généralisés en Europe (Stammler *et al.* 2008). La totalité des isolats ont acquis un ou plusieurs changements dans la protéine cible (14 α -déméthylase) de ces fongicides, correspondant à l'acquisition d'un ou plusieurs événements de mutation/délétion dans le gène *cyp51* codant pour cette cible. La pression de sélection avec les triazoles étant maintenue en Europe depuis la fin des années 70, mais avec de nouvelles molécules introduites régulièrement, plusieurs mutations et combinaisons de mutations se sont accumulées au cours du temps sur *cyp51*, déterminant des phénotypes de plus en plus résistants aux triazoles (résistance quantitative) et montrant des profils variés (Leroux *et al.* 2007). Ces mutations affectent principalement le canal d'accès du fongicide et le site actif de la protéine cible. Plus récemment, il a été démontré l'importance prépondérante de ces mutations pour le déterminisme des phénotypes résistants aux IDMs (Cools *et al.* 2010) en utilisant un système d'expression hétérologue dans la levure. De plus, d'autres mécanismes que la mutation de la cible, sont connus pour induire la résistance aux IDMs. Parmi eux, le mécanisme de surexpression de la cible *cyp51*, déterminée par une insertion dans la séquence promotrice de *cyp51* vient d'être démontré (Cools *et al.* 2012). Enfin, depuis 2008, nous détectons dans les populations françaises de nouveaux phénotypes plus résistants aux IDMs :

- Des souches dites « TriMR évoluées », présentant de forts niveaux de résistance à quelques triazoles, et une absence de résistance croisée avec d'autres modes d'action. Ces souches présentent de nouvelles combinaisons de mutations déjà connues, modifiant la structure de *cyp51*. Les génotypes impliquant la substitution S524T sont particulièrement fréquents ces dernières années. Ces souches sont maintenant dominantes en Irlande et Grande-Bretagne, et progressent en France, même si elles ne sont pas majoritaires.
- Des souches dites « MDR » (MultiDrug Resistance) (Leroux & Walker 2011; Omrane *et al.*, 2015). Ces dernières présentent un spectre de résistance croisée à tous les IDMs, et des

niveaux de résistance particulièrement élevés vis-à-vis des pyridines, des triazoles et du prochloraze. Elles présentent également une résistance croisée avec les QoIs et SDHIs, mais avec des niveaux de résistance faibles. La MDR est liée à la surexpression de pompes membranaires qui excrètent les fongicides en dehors de la cellule fongique. Présentes en plus grande quantité dans les souches MDR que dans les souches non MDR, ces pompes sont donc plus efficaces à diminuer la concentration en fongicides à l'intérieur de la cellule du champignon, ce qui cause la résistance.

L'objectif de cet article est, après un rapide état des lieux, d'évaluer l'impact de la résistance en pratique, sur l'efficacité des solutions fongicides actuellement disponibles.

MATERIEL ET METHODES

SUIVI TEMPOREL DE L'EFFICACITE ET DE LA PRESSION DE SELECTION EXERCEE PAR DES FONGICIDES AU SEIN DU RESEAU PERFORMANCE

Le réseau performance existe depuis 2004. Entre 2012 et 2014, jusqu'à 49 organismes (principalement des chambres d'agriculture, mais aussi des coopératives et des négoce, le Service de la Protection des Végétaux, des firmes phytosanitaires) ont collaboré dans un réseau dit « Performance » d'essai fongicides coordonné par ARVALIS - Institut du végétal et en partenariat avec l'INRA. L'objectif de ce réseau est d'unir des moyens expérimentaux répartis sur le territoire pour augmenter la capacité de collecte d'échantillons et simultanément de données relatives à la performance des fongicides courants utilisés en programme pour lutter contre la septoriose (*Z. tritici*). Grâce à cette démarche commune, 85 essais ont été suivis en 2012, 74 essais en 2013 et 70 essais en 2014. Les échantillons prélevés en 2010 et 2011 sont également valorisés dans l'étude de la pression sélective des traitements.

Le réseau est basé sur un protocole simple comprenant un faible nombre de modalités communes à tous les essais (Tableau 1) pour permettre d'apprécier des variations éventuelles de performance des triazoles seuls ou associés aux SDHI ou au chlorothalonil combinés en programme de manière à appliquer zéro, un ou deux SDHI dans la saison.

Les essais font l'objet d'observations sur feuilles permettant d'évaluer l'efficacité des différents fongicides testés en programme. Un prélèvement de 20 feuilles minimum, avec symptômes de septoriose, est réalisé sur tous les essais au moment de la notation finale à T+30 jours sur les parcelles témoins non traités et sur certaines parcelles choisies pour évaluer l'état de la résistance et la pression de sélection exercée par les différents fongicides testés.

Tableau 1 : Tronc commun proposé aux partenaires du réseau Performance en 2012, 2013 et 2014

N° modalités	T1 de Z32 à Z37		T2 de Z45 à Z55	
1	Témoin non traité		Témoin non traité	
2	Propiconazole 87.5 g/ha + Cyproconazole 70 g/ha + Chlorothalonil 525 g/ha	Cherokee 1.4 l/ha ⁽¹⁾ "IDM + CTL"	Epoxiconazole 62.5 g/ha + Prochloraze 315 g/ha	Opus New 0.75 l/ha ⁽²⁾ + Pyros 0.7 l/ha « IDM + IDM »
3	Propiconazole 87.5 g/ha + Cyproconazole 70 g/ha + Chlorothalonil 525 g/ha	Cherokee 1.4 l/ha ⁽¹⁾ "IDM + CTL"	Epoxiconazole 50 g/ha + Fluxapyroxad 50 g/ha	Adexar 0.8 l/ha ⁽³⁾ "IDM + SDHI"
4	Bixafen 45 g/ha + Prothioconazole 90 g/ha	Aviator Xpro 0.6 l/ha ⁽⁴⁾ « IDM + SDHI »	Epoxiconazole 50 g/ha + Fluxapyroxad 50 g/ha	Adexar 0.8 l/ha ⁽³⁾ "IDM + SDHI"

⁽¹⁾ En 2012 la dose de Cherokee est 1.4 l/ha, 1.6 l/ha en 2013 et 1.33 l/ha en 2014.

⁽²⁾ En 2013, le second traitement a été remplacé par Osiris win 1.2 l/ha + Pyros 0.6 l/ha et Osiris win 1.4 l/ha + Pyros 0.7 l/ha en 2014

⁽³⁾ En 2014, la dose d'Adexar est 0.9 l/ha (Epoxiconazole 56 g/ha + Fluxapyroxad 56 g/ha)

⁽⁴⁾ En 2014, la dose d'Aviator Xpro est 0.5 l/ha (Bixafen 37.5 g/ha + Prothioconazole 75 g/ha)

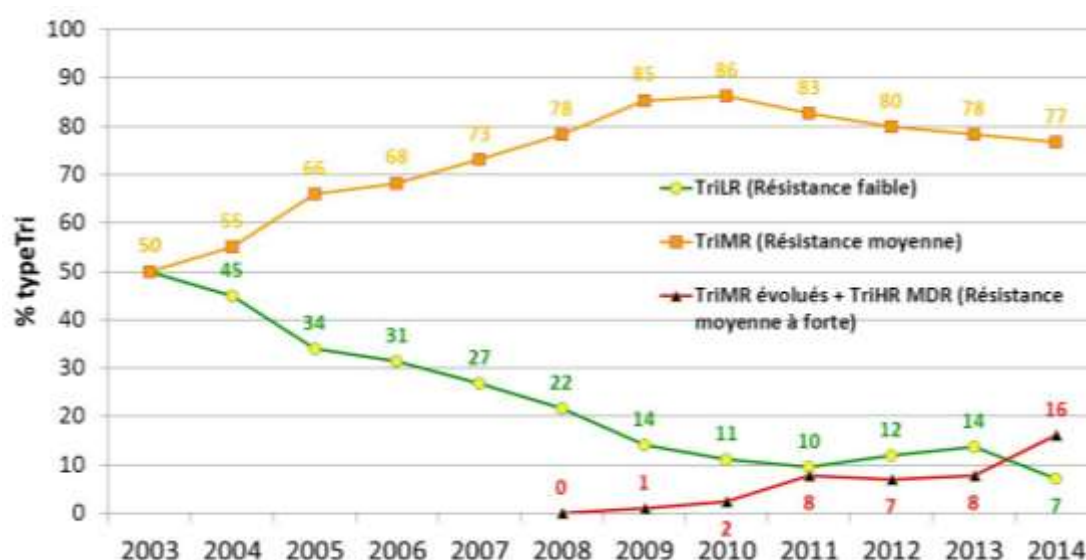
RESULTATS ET DISCUSSION

STRUCTURE DES POPULATIONS

Les populations de septoriose sont constituées d'un grand nombre de phénotypes (voir Walker et Leroux, 2012) en mélange. Leurs proportions sont variables d'un lieu à l'autre et la structure des populations continue d'évoluer, sous l'effet des pressions de sélection contemporaines.

Les souches faiblement résistantes (TriLR) ont émergé en France à la fin des années 80. Avec la sélection de la mutation I381V, ces populations furent progressivement remplacées à la fin des années 90 par les souches moyennement résistantes (TriMR), qui représentent actuellement près de 80% des populations françaises. Depuis 2008, les nouveaux isolats décrits dans le paragraphe précédent sont détectés à faible fréquence : autour de 13% en moyenne pour l'ensemble des populations analysées, en 2014 pour les TriMR évoluées et autour de 3% pour les souches MDR. Dans les parcelles concernées, les fréquences de ces souches peuvent avoisiner 20-30%. Par ailleurs, la répartition géographique de ces isolats progresse en France, puisqu'ils étaient retrouvés en 2014 dans 67% des échantillons et 50% en 2012. En 2015, les premiers résultats indiquent une poursuite de cette progression, en particulier pour les phénotypes MDR.

Figure 2 : Evolution de la structure des populations de *M. graminicola* résistantes aux IDMs dans les échantillons prélevés sur les témoins non traités en fin de saison du Réseau Performance



Si le risque de résistance en pratique reste faible actuellement, en raison principalement de la fréquence limitée des souches MDR et TriMR évoluées, il convient d'identifier les fongicides les plus à même de sélectionner chacun des types et d'estimer la perte potentielle d'efficacité en cas de généralisation de ces isolats.

EFFICACITE ET PRESSION SELECTIVE DES FONGICIDES DANS LE RESEAU PERFORMANCE

Sur la base de 115 essais réalisés entre 2012 et 2014, l'efficacité et les rendements permis par les solutions testées, représentant des produits de la classe des triazoles, des triazoles+SDHI et des triazoles+imidazole, restent relativement stables sur l'ensemble des trois années d'expérimentation (Figure 2, 3 et 4). Dans le détail les comparaisons entre années font apparaître de faibles différences.

Figure 2 : Efficacité vis-à-vis de la septoriose et rendements - 43 essais du Réseau Performance 2012

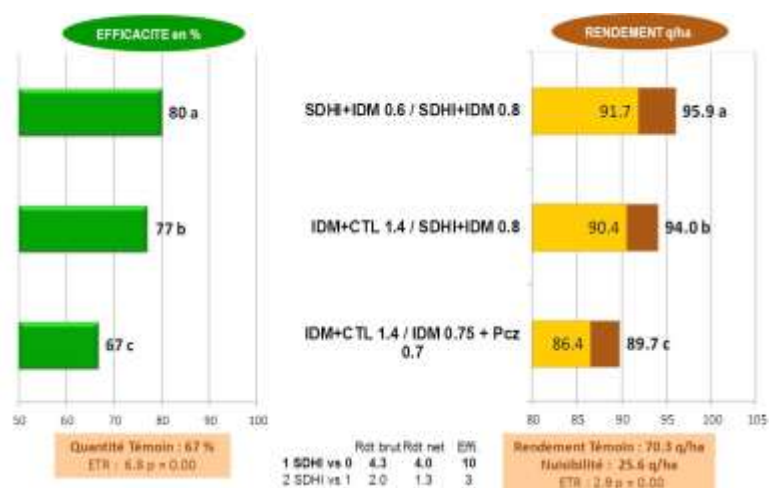


Figure 3 : Efficacité vis-à-vis de la septoriose et rendements - 48 essais du Réseau Performance 2013

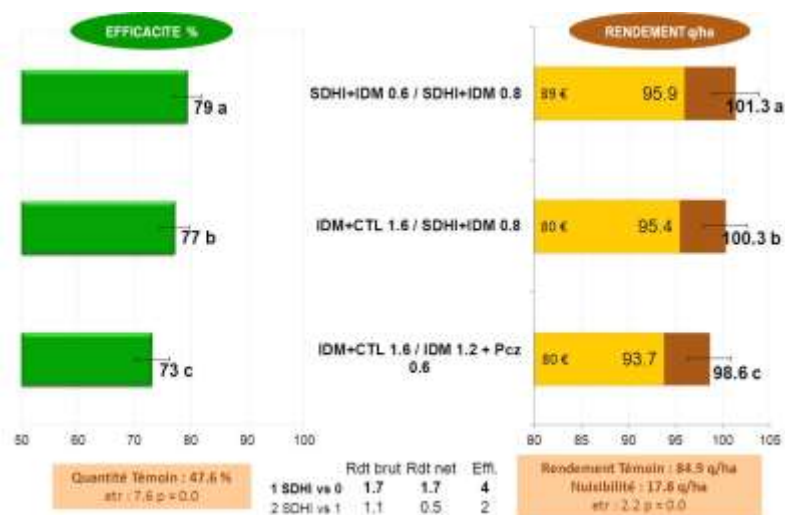
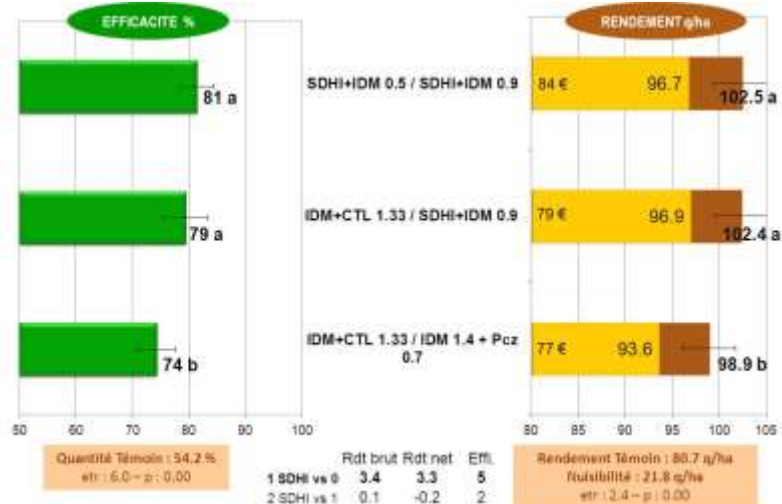


Figure 4 : Efficacité vis-à-vis de la septoriose et rendements - 24 essais du Réseau Performance 2014



La hiérarchie relative des solutions testées dans le cadre du Réseau Performance reste relativement stable entre 2012 et 2014. Le programme IDM+chlorothalonil (Cherokee) suivi en deuxième application (T2) de IDM+prochloraze est significativement inférieur pour les trois années au programme IDM+chlorothalonil puis IDM+SDHI (Adexar) que l'on peut qualifier de référence pratique. Ce dernier programme fait par ailleurs presque jeu égal avec des doubles applications d'IDM+SDHI, associations considérés par ailleurs comme parmi les meilleures solutions du moment. Ce résultat confirme la possibilité pratique de diversification des modes d'action, offerte par le chlorothalonil, sans prise de risque sur le résultat technique et économique final. En effet, bien que légèrement à l'avantage des doubles applications de SDHI, la différence avec un programme comprenant un seul SDHI en programme est considérée comme marginale.

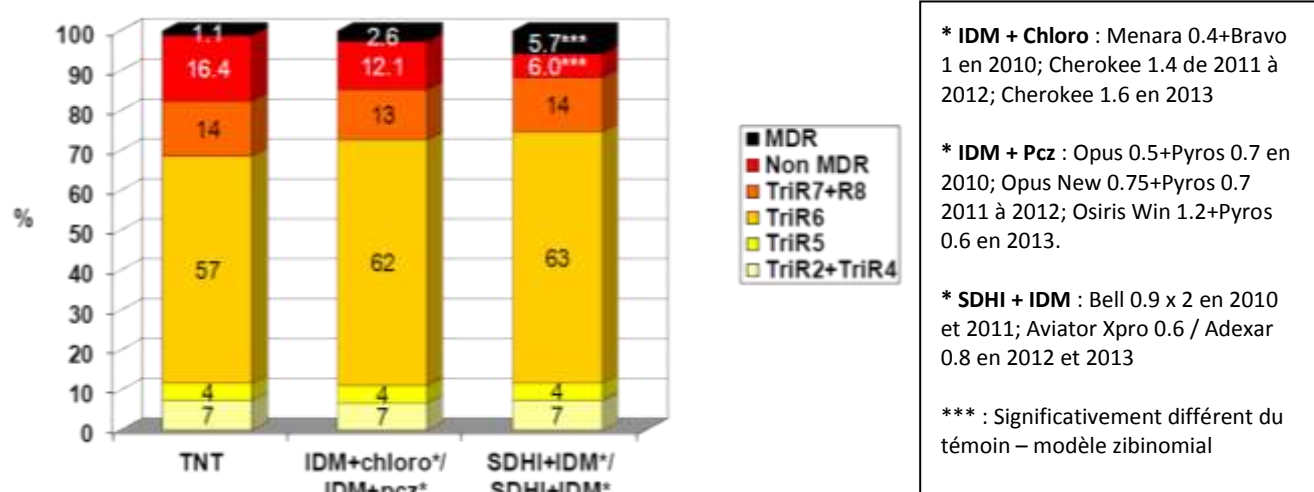
Dans le détail, le bénéfice lié à l'utilisation des SDHI est un peu plus marqué en 2012, où la nuisibilité due à la septoriose est forte. Il faut noter que l'apport d'un premier SDHI apporte sur le rendement un bénéfice équivalent au double (+4.3 q/ha) de celui apporté par le second (+1.9 q/ha). En 2013, le bénéfice lié à l'utilisation des SDHI est moins marqué, du fait d'une nuisibilité due à la septoriose, le plus souvent moyenne, et avec une dose plus forte au T1. Comme en 2013, l'apport d'un premier SDHI apporte sur le rendement un bénéfice double (+1.7 q/ha) de celui apporté par le second (+1 q/ha).

Sur la moyenne des essais 2014, l'intérêt des SDHI est confirmé. L'introduction dans les essais d'un SDHI en T2 apporte un plus technique et économique significatif par rapport à un programme sans SDHI de coût équivalent. Ce sont 5 points de plus d'efficacité et plus de 3 q/ha de mieux en rendement. La valeur technique et économique de cette famille est donc bien confirmée. En revanche doubler les SDHI en T1 et en T2 ne semble procurer aucun bénéfice cette année-là (résultat NS).

SDHI ET LA SELECTION DES SOUCHES MDR

L'effet des traitements sur la structure des populations est étudié ici à partir de 40 essais, issus des campagnes de 2010 à 2013, tous validés pour la cohérence des résultats de terrain et ayant fait l'objet d'une analyse de sensibilité pour chacune des modalités. Les résultats présentés correspondent aux seuls essais du réseau avec des souches évoluées présentes dans les témoins non traités. Depuis quatre ans, le programme avec chlorothalonil et sans SDHI ne modifie pas la structure de la population. En revanche, la double application de SDHI fait progresser significativement la population de souches MDR. Elle réduit par ailleurs significativement la proportion de souches TriMR évoluées (figure 5), sans changement pour le reste de la population.

Figure 5 : Effet des traitements sur la structure des populations de *Z. tritici*
40 essais avec présence de souches non MDR dans le témoin non traité – Réseau Performance 2010 à 2013



Nous concluons que le programme IDM+CTL suivi de SDHI+IDM est différent d'une double application de SDHI+IDM pour la sélection des phénotypes MDR. Autrement dit, la double application, plus que le programme de référence sélectionne les souches MDR. Limiter le nombre de SDHI à une seule application et recourir au chlorothalonil apparaît donc comme une solution préférable pour limiter le processus de sélection.

CONCLUSION

De multiples mécanismes de résistance sont mis en œuvre par *M. graminicola* pour résister aux fongicides, déterminant une grande variété de phénotypes. Cette observation reflète la grande capacité d'adaptation de ce champignon, probablement liée à de grandes tailles de populations et une grande plasticité de son génome. L'émergence récente de nouveaux isolats très résistants montre que les populations continuent d'évoluer, sous l'influence d'une pression de sélection continue depuis la fin des années 70, mais qui change qualitativement au cours du temps, par l'introduction de nouvelles molécules. L'arrivée en particulier de nouveaux modes d'action peut orienter l'adaptation vers de nouveaux mécanismes de résistance plus « polyvalents », tels la MDR. Par précaution, pour assurer la pérennité des nouvelles familles comme des anciennes, il nous appartient d'en limiter l'usage en diversifiant autant qu'il est possible les modes d'actions ou à défaut les molécules au sein d'une même famille. Dans ce contexte, la surveillance de l'évolution des populations, corrélée au suivi de l'érosion de l'efficacité des spécialités demeure primordiale pour adapter les pratiques et augmenter la durabilité de la lutte qui à court terme ne peut s'envisager sans recourir, au moins partiellement, à des solutions chimiques.

REMERCIEMENTS

Nous remercions tous les partenaires du Réseau Performance pour la fourniture d'échantillons de blé avec septoriose et la réalisation des essais du réseau.

BIBLIOGRAPHIE

- Cools HJ, Bayon C, Atkins S, Lucas JA, Fraaije BA (2012) Overexpression of the sterol 14 α -demethylase gene (MgCYP51) in *Mycosphaerella graminicola* isolates confers a novel azole fungicide sensitivity phenotype. *Pest Management Science* **68**, 1034-1040.
- Cools HJ, Mullins JGL, Fraaije BA, *et al.* (2011) Impact of Recently Emerged Sterol 14 alpha-Demethylase (CYP51) Variants of *Mycosphaerella graminicola* on Azole Fungicide Sensitivity. *Applied and Environmental Microbiology* **77**, 3830-3837.
- Cools HJ, Parker JE, Kelly DE, *et al.* (2010) Heterologous expression of mutated eburicol 14 alpha-demethylase (CYP51) proteins of *Mycosphaerella graminicola* to assess effects on azole fungicide sensitivity and intrinsic protein function. *Applied and Environmental Microbiology* **76**, 2866-2872.
- Leroux P, Albertini C, Gautier A, Gredt M, Walker AS (2007) Mutations in the CYP51 gene correlated with changes in sensitivity to sterol 14 alpha-demethylation inhibitors in field isolates of *Mycosphaerella graminicola*. *Pest Management Science* **63**, 688-698.
- Leroux P, Walker A-S (2011) Multiple mechanisms account for resistance to sterol 14 α -demethylation inhibitors in field isolates of *Mycosphaerella graminicola*. *Pest Management Science* **67**, 44-59.
- Omrane S, Fillinger S, Walker AS (2012) Caractérisation du mécanisme MDR (MultiDrug Resistance) chez les souches de *Mycosphaerella graminicola* fortement résistantes aux fongicides IDM. In: *10ème conférence internationale sur les maladies des plantes* (ed. AFPP), Tours.
- Omrane, S., *et al.* (2015). "Fungicide efflux and the MgMFS1 transporter contribute to the multidrug resistance phenotype in *Zymoseptoria tritici* field isolates." *Environmental Microbiology* **17**(8): 2805-2823.
- Parker JE, Warrilow AGS, Cools HJ, *et al.* (2011) Mechanism of binding of prothioconazole to *Mycosphaerella graminicola* CYP51 differs from that of other azole antifungals. *Applied and Environmental Microbiology* **77**, 1460-1465.
- Stammler G, Carstensen M, Koch A, *et al.* (2008) Frequency of different CYP51-haplotypes of *Mycosphaerella graminicola* and their impact on epoxiconazole-sensitivity and -field efficacy. *Crop Protection* **27**, 1448-1456.
- Walker AS, Leroux P, Couleaud G, Maumene C (2012) Evolution de la résistance de type MDR chez l'agent de la septoriose du blé et évaluation du risque en pratique. In: *10ème conférence internationale sur les maladies des plantes* (ed. AFPP), Tours.