

AFPP - 9^{ème} CONFÉRENCE INTERNATIONALE SUR LES MALADIES DES PLANTES
TOURS - 8 ET 9 DÉCEMBRE 2009

« RÉSEAU PERFORMANCE ORGES » : ÉTAT DE LA RÉSISTANCE
DE L'HELMINTHOSPORIOSE DE L'ORGE AUX STROBILURINES
ET IMPACT SUR L'EFFICACITÉ EN PRATIQUE

C. MAUMENE ⁽¹⁾, G. COULEAUD ⁽¹⁾, J.-Y. MAUFRAS ⁽²⁾

(1) c.maumene@arvalisinstitutduvegetal.fr; g.couleaud@arvalisinstitutduvegetal.fr

ARVALIS - Institut du végétal, 91720 BOIGNEVILLE

(2) jy.maufras@arvalisinstitutduvegetal.fr

ARVALIS - Institut du végétal, Station Inter-Instituts, 6, Chemin de la Côte Vieille
31450 BAZIEGE

RÉSUMÉ

Les premiers cas de résistance de l'helminthosporiose de l'orge, *Pyrenophora teres* (*Dreschlera*) aux strobilurines (remplacement de l'acide aminé phénylalanine par l'acide aminé leucine en position 129 du cytochrome b, conduisant à la substitution F129L) ont été détectés en France en 2004. Un état de la résistance a été établi de 2006 à 2009, grâce à la mise en place d'un réseau d'essai multilocal. La fréquence de la substitution est relativement stable, sur 4 ans (31 % en moyenne) et répartie de façon hétérogène sur les zones de production. Malgré des fréquences de la résistance relativement faibles, l'efficacité en pratique de l'ensemble des strobilurines testées dans le réseau (azoxystrobine, pyraclostrobine, picoxystrobine, trifloxystrobine) est affectée, mais à des degrés variables en fonction des molécules.

Mots-clés : helminthosporiose de l'orge, état de lieux, résistance F129L, strobilurines, efficacité au champ.

SUMMARY

The first observation of net blotch resistance to strobilurins (F129L: change of an amino acid in position 129 of the cytochrome b) was first detected in France in 2004. The status of the resistance has been established from 2006 to 2009, with the help of a multilocal trial network. The frequency of the substitution is relatively stable (31% on average) and distributed heterogeneously between the different production areas. In spite of relatively low frequency of the resistance, the efficacy in practice of all strobilurins tested in the network (azoxystrobin, pyraclostrobin, picoxystrobin, trifloxystrobin) is reduced, but at various degrees dependant of each molecule.

Key words: net blotch, survey, resistance F129L, strobilurins, field efficacy.

INTRODUCTION

Des isolats d'helminthosporiose (*Dreschlera teres*) résistants aux strobilurines ont été détectés dès 2004 dans le Nord de la France. La substitution concernée F129L sur le cytochrome b, a déjà été rencontrée auparavant chez l'helminthosporiose du blé dans le Nord de l'Europe. Les niveaux de résistance observés sont généralement inférieurs à ceux constatés dans le cas de la substitution G143A détectée sur la même protéine (Stammler & al, 2006 ; Frac, 2009). Dès 2006, à l'image du « Réseau Performance blé », un « Réseau Performance orge » a été mis en place, grâce au concours de 17 partenaires, pour établir un état des lieux de la résistance de l'helminthosporiose de l'orge aux strobilurines, et évaluer ses conséquences pratiques au champ.

MATERIEL ET MÉTHODE

DISPOSITIF EXPERIMENTAL

L'objectif du réseau consiste à associer une analyse de la résistance aux strobilurines des populations d'helminthosporiose (*Dreschlera teres*) à des résultats d'efficacité au champ, dans le but d'évaluer l'impact de la résistance sur l'efficacité en pratique des molécules concernées. 22 essais ont été réalisés en 2006, 30 en 2007, 29 en 2008 et 22 en 2009, soit 103 essais au total. Les essais ont été répartis géographiquement sur les principales régions de production d'orge. Les essais ont été réalisés exclusivement sur orge d'hiver ou escurgeon en privilégiant le choix de variétés sensibles à l'helminthosporiose. Pour éviter toute confusion, seules les expérimentations où l'helminthosporiose était la principale maladie présente ont été regroupées.

Le protocole expérimental inclut un tronc commun à toutes les expérimentations. Ce tronc commun a évolué dans le temps. Les applications de produits sont répétées 2 fois à l'identique au stade Z31 et Z45. Les essais sont réalisés en bloc de Fischer avec 3 ou 4 répétitions. Les observations sont réalisées après la deuxième application de T2+20 jours à T2+45 jours.

La mesure du rendement n'est mesurée que sur certains essais.

En 2006, il était postulé initialement que le suivi d'une seule des molécules de la famille des strobilurines suffirait à percevoir d'éventuelles dérives de performance de la famille. Le choix s'est arrêté initialement sur la picoxystrobine, très largement utilisée sur les orges. Autour de la picoxystrobine différentes associations, incluant ou non cette molécule, ont été incluses dans le dispositif expérimental.

Protocole 2006 : Spécialités et associations mises en comparaison dans le « réseau performance orge »

| | |
|--|--|
| UNIX 0.3 kg/ha + OPUS 0.3 l/ha | Cyprodinil 225 g/ha + Epoxiconazole 37.5 g/ha |
| ACANTO 0.3 l/ha + OPUS 0.3 l/ha | Picoxystrobine 75 g/ha + Epoxiconazole 37.5 g/ha |
| UNIX 0.3 kg/ha + ACANTO 0.3 l/ha | Cyprodinil 225 g/ha + Picoxystrobine 75 g/ha |
| ACANTO 1 l/ha | Picoxystrobine 250 g/ha |
| UNIX 0.3 kg/ha+ACANTO 0.3 l/ha+OPUS 0.3 l/ha | Cyprodinil 225 g/ha+Picoxystrobine 75 g/ha+Epoxiconazole 37.5 g/ha |

En 2007, le protocole a été étendu à la plupart des strobilurines présentes sur le marché soit seules lorsqu'elles sont disponibles commercialement, soit associées dans le cas de Madisonpack (ou FANDANGO S). Pour les besoins de la comparaison, une parcelle apportant du prothioconazole seul, ou éventuellement associé à de la spiroxamine a été ajouté au dispositif.

Protocole 2007 : Spécialités et associations mises en comparaison dans le « Réseau Performance orge »

| | |
|-----------------------------------|---|
| ACANTO 1 L/ha | Picoxystrobine 250 g/ha |
| AMISTAR 1 L/ha | Azoxystrobine 250 g/ha |
| COMET 1 L/ha | Pyraclostrobin 250 g/ha |
| JOAO* 0.4 L/ha | Prothioconazole 100 g/ha |
| MADISONPACK** 0.4 L/ha + 0.1 L/ha | Prothioconazole 100 g/ha + Trifloxystrobine 50 g/ha |
| ACANTO + UNIX 0.3 L/ha + 0.3 kg | Picoxystrobine 75 g/ha + Cyprodinil 225 g/ha |

* JOAO ou INPUTPACK (JOAO+VIRTUOSE)

** MADISONPACK (JOAO+TWIST 500 SC) ou FANDANGO S

En 2008, le protocole a été à nouveau ajusté. Toutes les strobilurines ont été testées seules, comme en 2007. Seule la fluoxastrobine, disponible exclusivement en association dans la spécialité Fandango S, a été testée associée avec pour terme de comparaison le prothioconazole seul. Les doses retenues sont généralement des pleines doses, ou dans le cas de l'association une dose permettant d'évaluer l'apport de la strobilurine dans le cadre du mélange (cas du Fandango S). Le protocole est resté stable en 2009 à l'exception du MADISON pack qui n'apparaît pas cette année.

Protocole 2008 et 2009 : Spécialités et associations mises en comparaison dans le « Réseau Performance orge »

| | |
|-----------------------------------|---|
| ACANTO 1 L/ha | Picoxystrobine 250 g/ha |
| AMISTAR 1 L/ha | Azoxystrobine 250 g/ha |
| COMET 1 L/ha | Pyraclostrobin 250 g/ha |
| TWIST 500 SC 0.5 L/ha | Trifloxystrobine 250 g/ha |
| JOAO 0.4 L/ha | Prothioconazole 100 g/ha |
| FANDANGO S 1L/ha | Prothioconazole 100 g/ha + fluoxastrobine 50 g/ha |
| MADISONPACK** 0.4 L/ha + 0.1 L/ha | Prothioconazole 100 g/ha + Trifloxystrobine 50 g/ha |

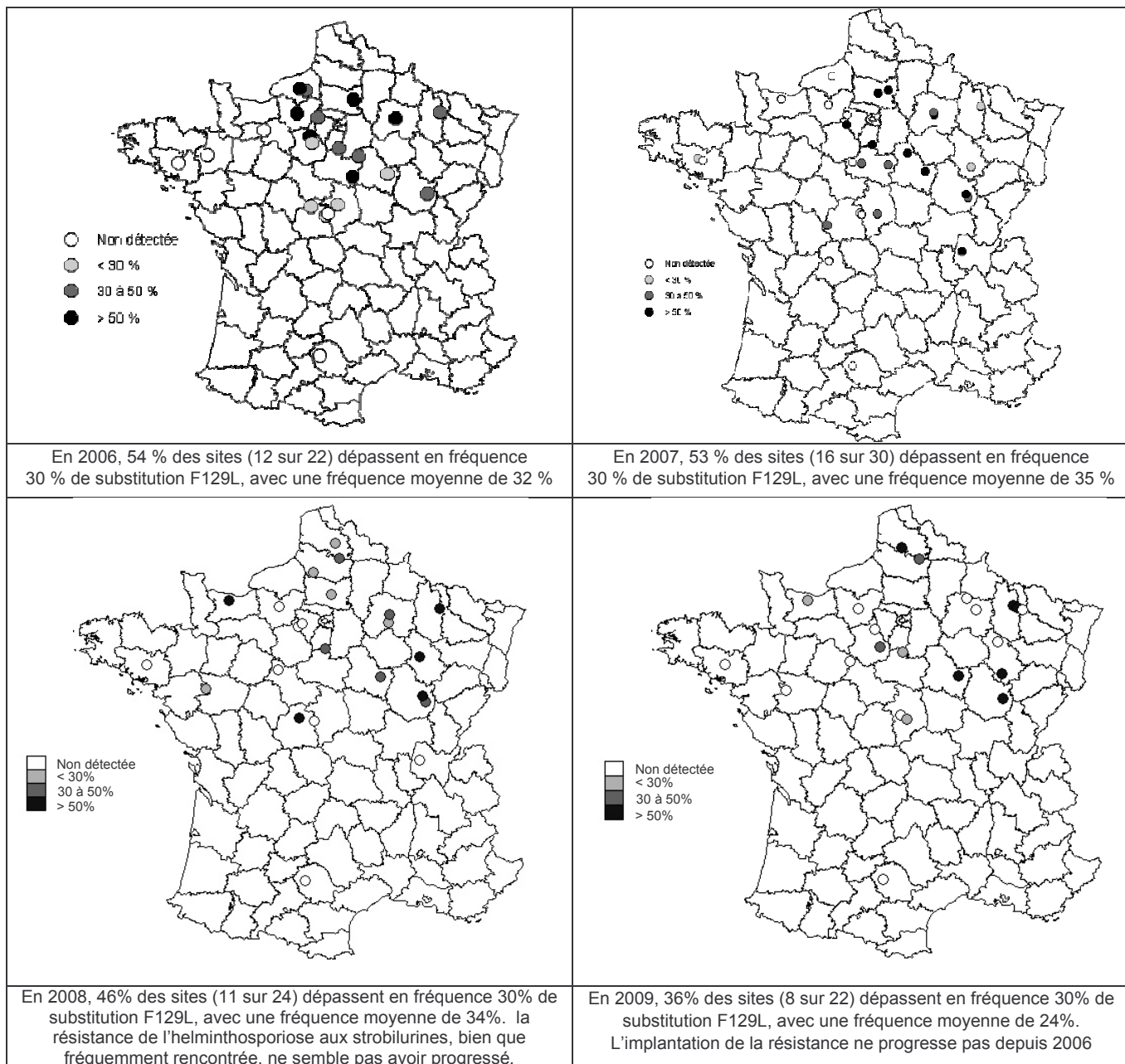
** MADISONPACK (JOAO+TWIST 500 SC) en 2008 uniquement

La société BASF, partenaire du réseau a produit l'ensemble des analyses permettant de quantifier la fréquence de l'allèle muté F129L dans les populations par méthode qPCR. Les échantillons sont prélevés dans les parcelles témoin au moment de l'application du T1. Ils sont constitués de 30 feuilles présentant des symptômes. En l'absence de symptômes, les prélèvements peuvent avoir été différés dans le temps. Ils sont, dans tous les cas, prélevés dans des parcelles non traitées.

RESULTATS

Etat de la résistance

Figure 1 : État de la résistance (F129L) de *D. teres* aux strobilurines sur le « Réseau Performance Orge » de 2006 à 2009. Analyses par méthode moléculaire qPCR (BASF).



Dès 2006, les résultats d'analyses montrent que la résistance aux QoI semble généralisée sauf en régions Centre, Bretagne et Sud-Ouest. En effet, la substitution F129L est détectée dans plus de $\frac{3}{4}$ (17 sites sur 22) des échantillons prélevés sur les témoins non traités. 12 sites sur 22 dépassent une fréquence de 30 % de substitution F129L, avec une fréquence moyenne égale à 32 %.

En 2007, les résultats d'analyses montrent que la résistance aux QoI semble stabilisée dans le quart Nord-est de la France. Seules les régions Centre et Bourgogne pourraient faire l'objet d'une certaine extension géographique de la résistance par rapport à 2006. La situation est inchangée pour le Sud-Ouest et la Bretagne. La résistance est présente dans le Nord de Rhône-Alpes. La substitution F129L est détectée dans les deux tiers des échantillons prélevés. La fréquence moyenne de la substitution est de 35 % à l'échelle nationale et passe à 52 % si l'on exclue les sites où la résistance est non détectée.

Dans les essais où la substitution est détectée, la fréquence la plus basse est de 8 % en Bretagne et 99 % en Picardie, pour la plus haute.

En 2008, la résistance de l'helminthosporiose aux strobilurines, bien que fréquemment rencontrée, ne semble pas avoir progressé. Dans près d'un site sur deux, la substitution F129L est détectée à une fréquence supérieure à 30 %. Comme en 2007, tous lieux confondus, la fréquence moyenne de la substitution est d'environ 35 %.

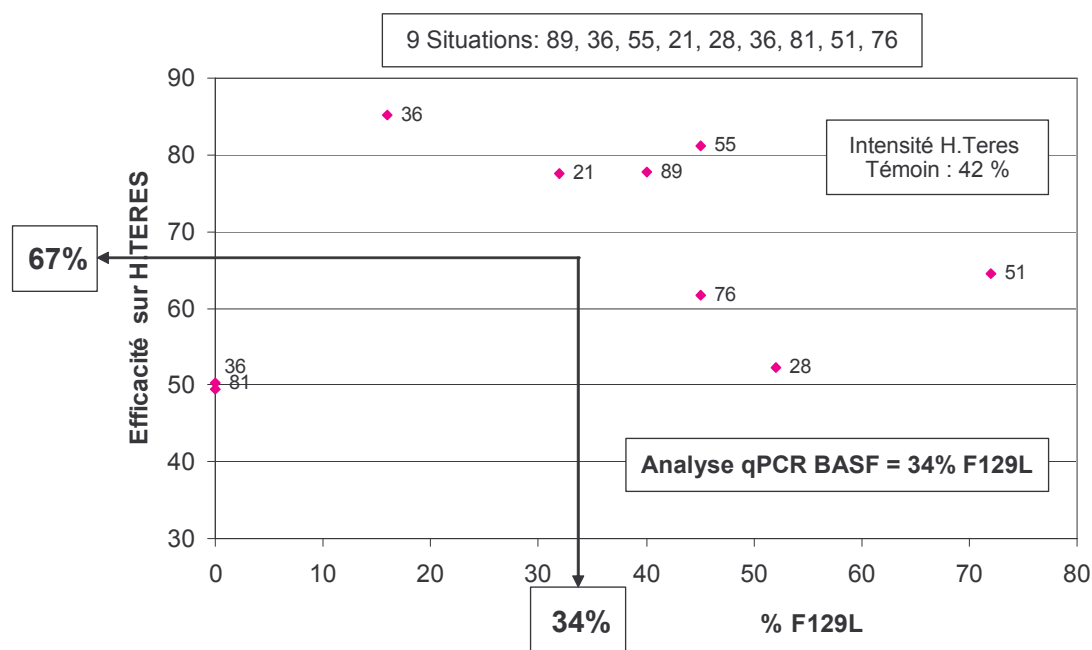
En 2009, la résistance de l'helminthosporiose aux strobilurines est rencontrée dans la moitié des sites prélevés, et semble ne plus progresser. 8 sites sur 22 dépassent une fréquence de 30 % de substitution F129L, avec une fréquence moyenne égale à 24 % à l'échelle nationale. Elle passe à 48 % sur les 11 sites où la résistance est détectée. Dans ces derniers, la fréquence de la substitution la plus basse est de 10 % dans le Centre et la plus élevée est observée en Bourgogne avec 75 %.

Efficacité en pratique

En 2006, sur 9 situations du réseau, nous avons pu mettre en relation les efficacités helminthosporiose avec les résultats d'analyse qPCR de résistance.

Pour ces situations, on constate qu'il n'existe pas de lien direct entre l'efficacité de la strobilurine utilisée seule (ici ACANTO 1 l/ha) et la fréquence de substitution F129L sur les échantillons prélevés dans les témoins non traités (Figure 2). 67% et 34% représentent respectivement l'efficacité moyenne observée pour Acanto et la fréquence moyenne de la substitution F129L.

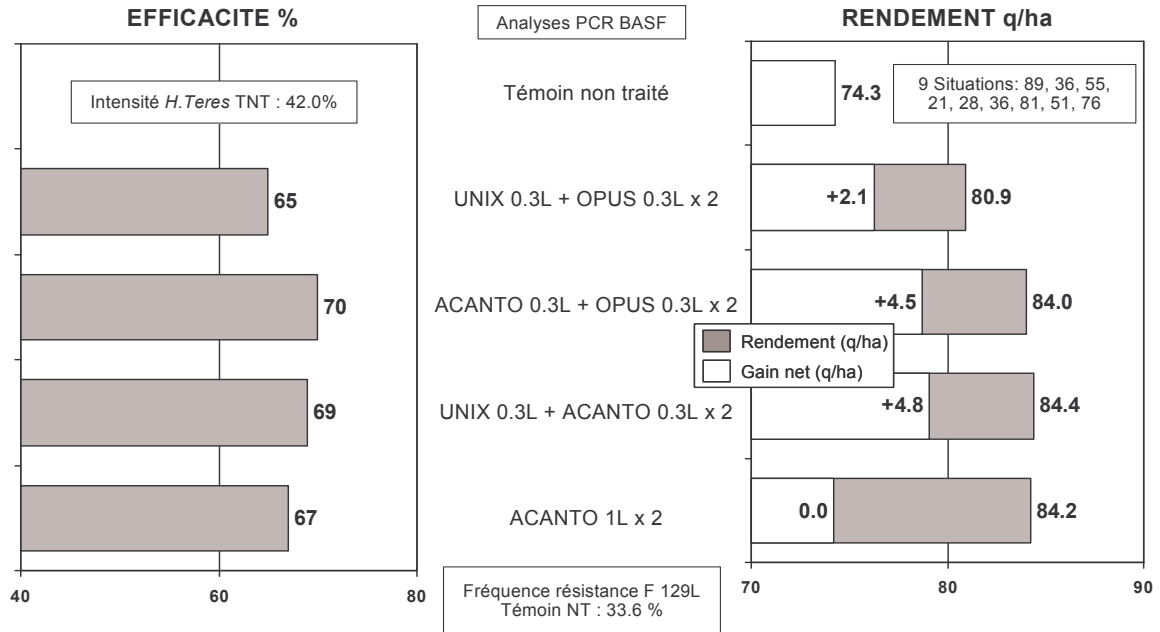
Figure 2 : Efficacité helminthosporiose pour ACANTO 1 l/ha en relation avec la fréquence de résistance strobilurine F129L.



En terme d'efficacité et de rendement dans ces mêmes situations, les associations sur une base ACANTO 0.3 l/ha sont comparables entre elles et nettement supérieures à l'association UNIX 0.3 + OPUS 0.3 (Figure 3) sans strobilurines. Elles soulignent l'intérêt de la famille sur cette maladie, malgré la présence de la résistance.

L'efficacité de la double application ACANTO 1l/ha présente ici une efficacité bonne à moyenne de 67 % (qui ne correspond cependant plus tout à fait aux résultats obtenus antérieurement avec ce type de produit).

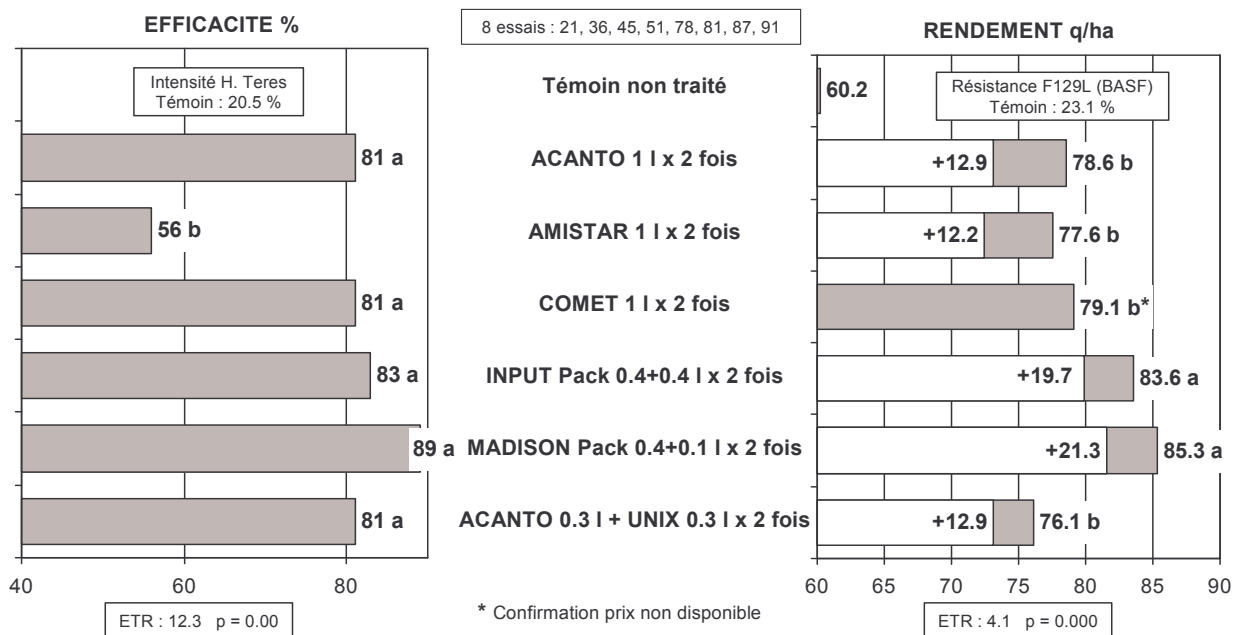
Figure 3 : Efficacité et rendements en situations d'helminthosporiose dominante. 9 essais « réseau Performance Orge » 2006



Les lettres a,b,c...représentent les groupes homogènes du test statistique de Newman et Keuls au seuil de 5%

En 2007, si l'on regroupe les 8 essais qui permettent d'associer efficacité et rendement, toutes situations de résistance confondues, on constate la faible efficacité de la spécialité Amistar, le très bon résultat des autres strobilurines, Acanto et Comet, ainsi que l'excellent résultat de Madison pack, tant sur le plan des efficacités sur *D. teres* comme sur le plan des rendements bruts et nets. L'utilisation de la trifloxystrobine en mélange avec du prothioconazole, intrinsèquement très efficace contre *D.teres*, rend difficile le diagnostic de la résistance pour cette molécule.

Figure 4 : Efficacités sur *D. teres* et rendements toutes situations de résistance aux Qol confondues. 8 essais « Réseau Performance Orge » 2007



Les lettres a,b,c...représentent les groupes homogènes du test statistique de Newman et Keuls au seuil de 5%

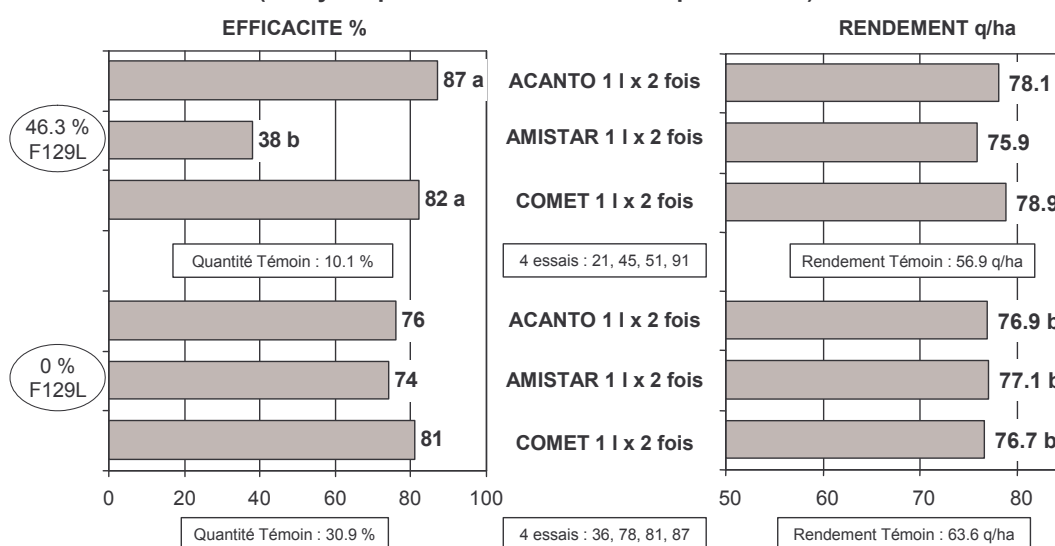
Dans le détail il est possible de regrouper les différents essais réalisés selon la fréquence de la résistance (Figure 5), en se concentrant sur l'activité des strobilurines utilisées solo.

Le premier regroupement (partie supérieure de la figure 5) est composé de 4 essais où la fréquence de substitution F129L est supérieure à 30 %, dans les témoins non traités (moyenne de 46 %). Le deuxième regroupement (partie inférieure) comprend 4 essais non concernés par la résistance (0 % F129L).

Dans le premier cas, on constate qu'en présence de la résistance F129L, l'efficacité de l'azoxystrobine est très affectée. Amistar 1l/ha "décroche" significativement par rapport aux deux autres strobilurines testées.

Si la substitution F129L entraîne en théorie une résistance croisée à l'ensemble des strobilurines, en pratique la résistance affecte en 2007 prioritairement l'azoxystrobine.

Figure 5 : Efficacités et rendements des parcelles traitées strobilurines en présence ou non de la résistance (F129L) de *D. teres* « Réseau Performance Orge 2007 ».
(Analyses par méthode moléculaire qPCR-BASF).



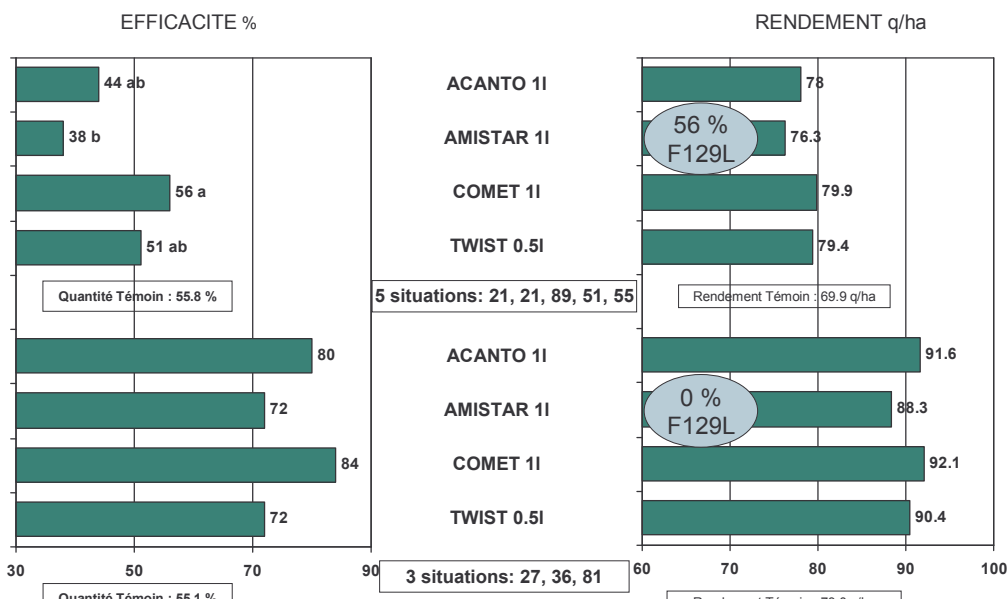
Les lettres a,b,c...représentent les groupes homogènes du test statistique de Newman et Keuls au seuil de 5%

En 2008, en présence de la substitution, l'efficacité de toutes les strobilurines testées est affectée. (Fig.6). Les différences d'activité intrinsèque entre les strobilurines sont plus ou moins conservées.

L'azoxystrobine reste la molécule la plus concernée, alors que la pyraclostrobine et la trifloxystrobine semblent un peu moins touchées. Les rendements confirment parfaitement les efficacités observées.

En l'absence de souches résistantes l'efficacité des strobilurines reste d'un très bon niveau.

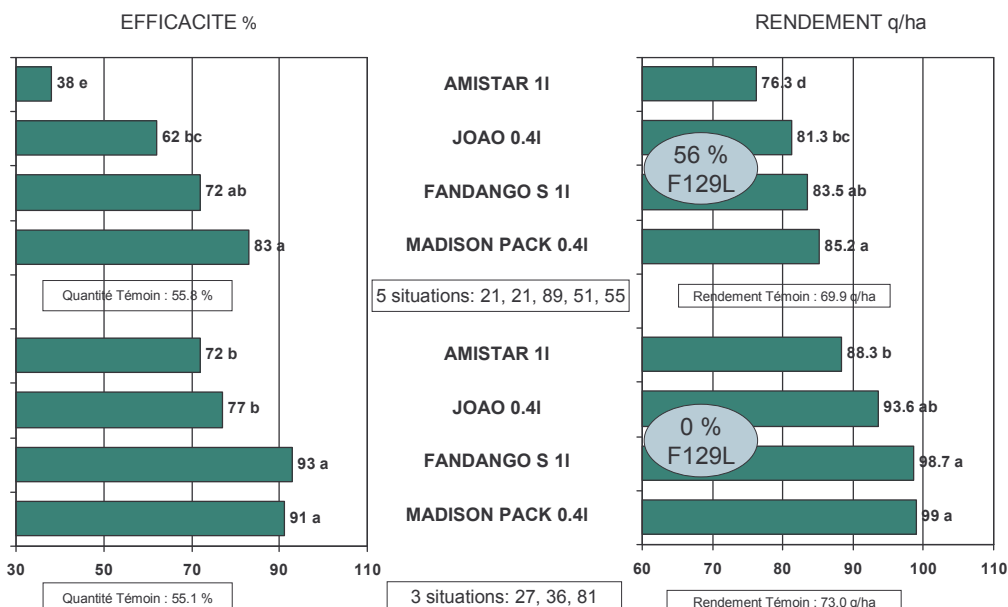
Figure 6 : Efficacités et rendements des strobilurines en fonction de la fréquence de la résistance (F129L) de *D. teres* « Réseau Performance Orge » 2008.



Les lettres a,b,c...représentent les groupes homogènes du test statistique de Newman et Keuls au seuil de 5%

L'apport de la trifloxystrobine comme de la fluoxastrobine sur une base prothioconazole en présence, comme en l'absence de souches résistantes conduit à des résultats d'un excellent niveau. Il reste difficile de conclure sur l'activité intrinsèque de la fluoxastrobine, au vu de ces seuls résultats. L'apport de la trifloxystrobine reste néanmoins significatif (Fig. 7).

Figure 7 : Intérêt de la fluoxastrobine et de la trifloxystrobine en association avec le prothioconazole sur helminthosporiose (*D. teres*) en fonction de la fréquence de la substitution F129L : « Réseau Performance Orge » 2008 (double application).



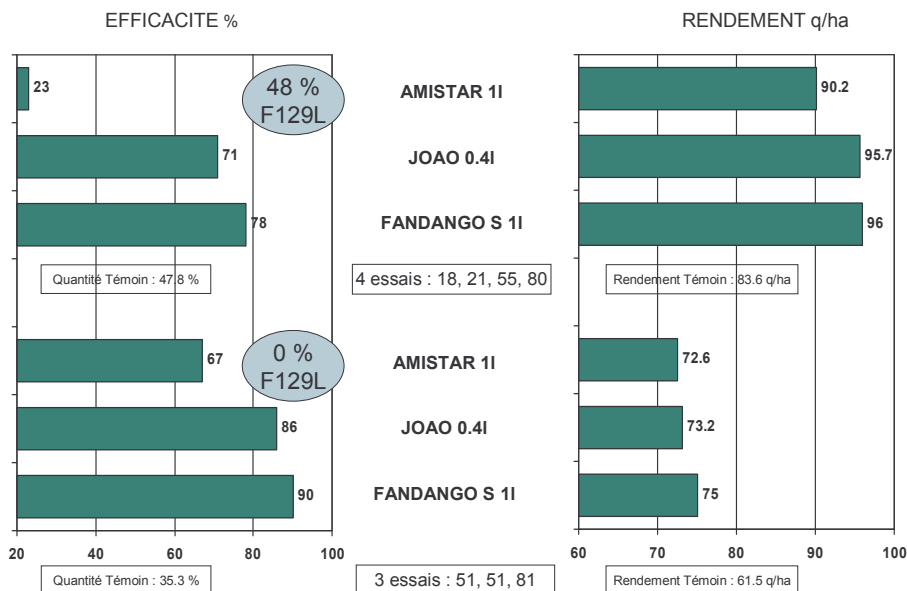
Les lettres a,b,c...représentent les groupes homogènes du test statistique de Newman et Keuls au seuil de 5%

En 2009, en présence de la substitution, l'efficacité de toutes les strobilurines testées est affectée. Les différences d'activité intrinsèque entre les strobilurines sont conservées et à l'image de 2008. L'azoxystrobine reste la molécule la plus concernée, alors que la pyraclostrobine confirme qu'elle est la moins touchée. La picoxystrobine et la trifloxystrobine

sont affectées de la même façon. Les rendements confirment parfaitement la hiérarchie des efficacités observées. (Fig.8)

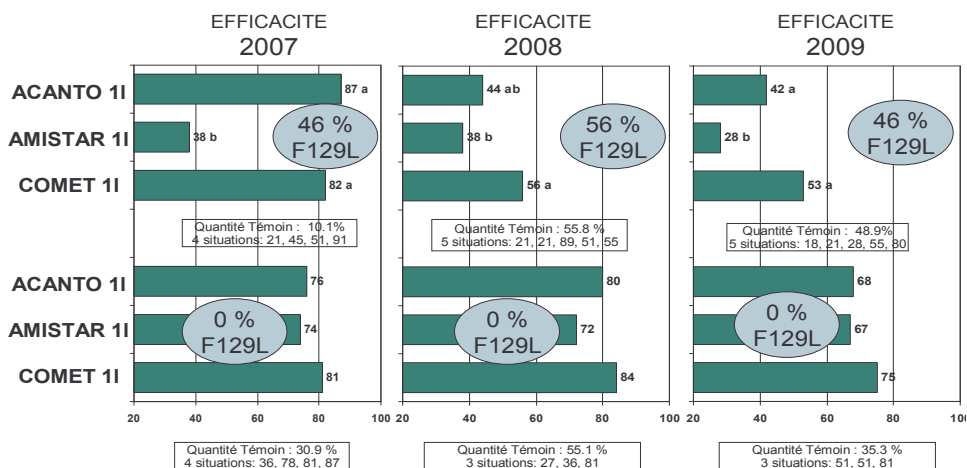
En l'absence de souches résistantes l'efficacité des strobilurines reste d'un bon niveau mais toutefois inférieure aux efficacités observées en 2008.

Figure 8 : Efficacités et rendements des strobilurines en fonction de la fréquence de la résistance (F129L) de *D. teres* « Réseau Performance Orge » 2009



Les performances relatives des strobilurines de 2007 à 2009 sont résumées à la figure 9. Elles soulignent la stabilité des résultats obtenus sur les 3 ans.

Figure 9 : Impact de la résistance (F129L) de *D. teres* aux strobilurines sur le « Réseau Performance Orge » de 2007 à 2009. Analyses par méthode moléculaire qPCR (BASf)



Les lettres a,b,c...représentent les groupes homogènes du test statistique de Newman et Keuls au seuil de 5%

DISCUSSION

En France, la résistance d'*Helminthosporium teres* aux strobilurines est bien implantée et ne semble pas avoir progressé significativement depuis 2006 et reste distribuée de façon hétérogène. Les régions de l'ouest semblent moins concernées. La résistance n'est jamais généralisée. La substitution (F129L) se situe en position 129 du cytochrome b et induit des niveaux de résistance faibles à modérés (Stammler & al, 2006 ; FRAC, 2009). Si en 2006, seule l'azoxystrobine semblait concernée par une perte d'efficacité en pratique, en 2007, 2008, et en 2009, toutes les strobilurines testées sont concernées. Des nuances entre les molécules sont clairement identifiées. Les résultats indiquent que l'activité de la pyraclostrobine et de la trifloxystrobine est en effet moins pénalisée. Contrairement à toute attente, des niveaux de résistances faibles à modérés sont ainsi associés à des baisses de performance au champ significatives. Sur le plan des recommandations pratiques, il est conseillé de toujours associer les strobilurines avec d'autres fongicides efficaces et présentant d'autres modes d'action (en particulier prothioconazole ou cyprodinil). Eviter également les doubles applications de strobilurines ou de prothioconazole sur une même saison.

CONCLUSION

L'organisation en réseau de la surveillance des populations pathogènes a permis de détecter très tôt des changements dans les populations de *D.teres*, et d'en évaluer immédiatement les conséquences pratiques. Il en a découlé des recommandations pratiques plus ciblées concernant l'utilisation des strobilurines dans les programmes de traitement conseillés, et une communication plus argumentée sur la nécessité de diversifier les modes d'actions des produits utilisés en culture.

REMERCIEMENTS

Ce travail a été réalisé grâce au soutien de l'Agence du Développement Agricole et Rural (ADAR) qui assure le financement de programmes portant sur la recherche appliquée et sur la diffusion des innovations techniques auprès des exploitants agricoles et en particulier dans le cadre du projet CASDAR 6128 : «Gestion des fongicides et insecticides sur blé et colza : suivi des phénomènes de résistances, et développement d'outils d'aide au raisonnement des traitements fongicides en grandes cultures, afin de limiter le recours à la lutte chimique et de préserver l'efficacité des substances actives », qu'ils en soient remerciés.

BIBLIOGRAPHIE

FRAC: Fungicide resistance action Committee: <http://www.frac.info/frac/index.htm> : [Minutes of 2008 Meeting Recommendations for 2009](#)

Collectif, 2009. Note Commune INRA, SPV, ARVALIS - Institut du végétal. Résistances aux fongicides : maladies des céréales à paille - 2009.

<http://www.afpp.net/commande/commissions/maladie.htm#Résistances%20aux%20fongicides>

Stammler G., Strobel D., Semar M., KLAPPACH K., 2006. Diagnostics of fungicide resistance and relevance of laboratory data. In Fungicide resistance are we winning the battle but losing the war ? *Aspects of Applied Biology*, 178 :29-36.

Sierotzki H., Frey R., Wullschleger J., Palermo S., Karli S., Godwin J. and Gisi U. (2006, accepted for publication) Cytochrome b gene sequence and structure of *Pyrenophora teres* and *P. tritici-repentis* and implications for Qol resistance. *Pest Management Science* 63:225–233 (2007)

Semar M., Strobel D., Koch A. Klappach K. and Stammler G. (2007): Field efficacy of pyraclostrobin against populations of *Pyrenophora teres* containing the F129L substitution in the cytochrome b gene. *Journal of Plant Diseases and Protection*: 114: 117-119