

Résistance du Botrytis de la fraise (*Botrytis cinerea*) vis-à-vis des fongicides

PLAN DE SURVEILLANCE 2013

Diffusion : Octobre 2014

Introduction :

Les plans de surveillance « résistance » sont intégrés dans le volet « suivi des Effets Non Intentionnels » du dispositif national de surveillance biologique du territoire (axe 5 du plan Ecophyto). Ils concourent à l'analyse de risque phytosanitaire et au suivi des mécanismes de résistance, contribuant ainsi à l'objectif de réduction de l'utilisation des produits phytopharmaceutiques.

Ce bilan a été réalisé par l'Anses suite à l'analyse des échantillons prélevés dans le cadre du réseau national de surveillance biologique du territoire auquel participent les partenaires engagés dans l'axe 5 du plan Ecophyto. Ce bilan contribue au rapport national sur la surveillance biologique du territoire remis au Parlement conformément aux dispositions du Code Rural. Ce bilan a vocation à être diffusé largement au sein du réseau de partenaires de la surveillance biologique du territoire.

Ces plans de surveillance constituent un outil d'alerte pour la DGAL et les partenaires du réseau. C'est dans cet objectif que sont définis le nombre d'échantillons et la nature des parcelles et/ou pratiques de traitements recherchées dans chaque région (Note de service DGAL/SDQP/N2013-8086 du 15 mai 2013). Ces programmes sont construits pour une lecture nationale.

Les notes communes nationales (ex: mildiou et oïdium de la vigne, tavelure du pommier, sclerotinia du colza...) valorisent également ces résultats.

Cette source d'information doit être complétée par les résultats des essais « résistances » et des monitoring pilotés par d'autres opérateurs.



RÉSUMÉ

Le plan de surveillance de 2013 concernant la résistance de *Botrytis cinerea* aux fongicides en culture de fraise a permis d'analyser les profils de résistance de 5 populations provenant de 3 régions (Aquitaine, Centre et Nord-Pas-de-Calais).

Cette surveillance permet de suivre l'évolution de la fréquence des souches résistantes aux différentes familles chimiques par la mise en place de tests biologiques.

Les résultats obtenus montrent que, sur les trois familles chimiques testées et autorisées dans la lutte contre la pourriture grise sur fraise (dicarboximides, QoI et carboxamides), toutes peuvent être concernées par une résistance spécifique avec, pour chacune d'entre elles, quelques parcelles concernées et des taux plus ou moins élevés de souches résistantes dans ces parcelles.

Des tests de résistance complémentaires sur deux autres familles chimiques (anilinopyrimidines et hydroxyanilides) montrent la présence de souches résistantes dans certaines parcelles avec parfois des pourcentages non négligeables.

L'absence d'informations sur les calendriers de traitements ne permet pas de faire le lien entre ces résultats d'analyses et les stratégies de traitements adoptées. Mais les taux de souches résistantes détectés dans certaines parcelles laissent supposer l'existence d'une forte pression de sélection. Il paraît urgent de limiter l'utilisation des produits entraînant ces résistances sous peine d'échecs graves d'efficacité de la lutte.

Mots-clés : *Botrytis cinerea*, plan de surveillance, résistances, fraise

I. Contexte

1.1 - La maladie

La pourriture grise due à *Botrytis cinerea* est l'une des maladies les plus importantes sur fraise notamment sous abri, car les dégâts ont des répercussions directes sur le rendement et sur la qualité de la récolte. L'application de traitements fongicides est la principale méthode de lutte utilisée ; néanmoins l'efficacité des traitements peut être perturbée par la présence dans les serres de souches résistantes aux fongicides.

La moisissure grise s'attaque aux fleurs, aux pédoncules et aux fruits à toutes les étapes de leur croissance, entraînant ainsi leur pourriture et la formation d'une couche uniforme d'un duvet gris qui abrite les spores du champignon. Les attaques du champignon sur fruit s'observent aussi bien avant qu'après récolte. Les facteurs climatiques, en particulier l'hygrométrie et la température, ont un rôle important sur le développement de la maladie en favorisant la germination des conidies. *Botrytis cinerea* est aussi un parasite de blessures : si l'inoculum est présent, les facteurs favorisant les attaques sont en particulier les nécroses et les plaies. Enfin *Botrytis cinerea* est un parasite de faiblesse : toutes les opérations qui provoquent un affaiblissement de la plante (changements climatiques, fertilisation,...)



peuvent favoriser les attaques et le développement du champignon (sources : Viennot-Bourgin, Compendium).

1.2 - Le plan de surveillance

Le plan de surveillance 2013 concernant la résistance de la pourriture grise sur fraise a visé trois familles chimiques : les dicarboximides, les QoI et les carboxamides. Les substances actives appartenant à ces trois familles chimiques sont connues pour engendrer chez *Botrytis cinerea* des résistances spécifiques (résistance au mode d'action concerné par mutation spécifique du gène codant pour la cible du fongicide). Mais des mécanismes de résistance multiple (résultant d'une excrétion cellulaire accrue de fongicides appartenant à plusieurs familles chimiques) peuvent aussi être observés chez certaines souches de ce champignon.

II. Description brève de la méthode utilisée

Il s'agit d'une méthode d'analyse basée sur des tests biologiques (Leroux et *al.* 1984). Les tests de laboratoire sont réalisés sur conidies de *Botrytis cinerea*. Les fongicides testés sont utilisés sous forme de produits techniques, dissous dans l'éthanol ; ils sont incorporés dans un milieu gélosé à des doses discriminantes de fongicides afin de rechercher la fréquence des différents phénotypes résistants.

Les différents phénotypes résistants sont libellés comme suit :

- **ImiR1** : souches résistantes aux **dicarboximides** (iprodione)
- **QoIR** : souches résistantes aux **QoI** (pyraclostrobine)
- **ZarR** : souches résistantes aux **carboxamides** ou SDHI (boscalid)

Un milieu témoin (amendé uniquement avec la solution d'éthanol) accompagne chaque test. Ces milieux sont ensuite coulés en boîte de Petri de diamètre 55 mm.

La suspension de spores (d'environ 100 000 à 150 000 spores/mL), réalisée dans l'eau stérile à partir des cotons-tiges contenant la sporulation du champignon, est déposée à la surface des milieux gélosés et amendés, à raison de 250 µL par boîte. Les boîtes sont ensuite mises en incubation de 24 à 48 heures à 20°C et à l'obscurité.

Notation :

Après incubation, l'observation des spores au microscope permet de déterminer la proportion de souches résistantes de chaque population (échantillon). Les pourcentages de germination ainsi que la proportion de conidies présentant des filaments germinatifs d'une longueur supérieure ou égale à 50% de celles des conidies témoin sont évalués sous microscope. Seuls sont validés les résultats des échantillons présentant un pourcentage de germination dans les témoins d'au moins 50%. A partir de ces résultats, sont déterminés, pour chaque région et pour chaque phénotype :

- le pourcentage moyen d'échantillons résistants, soit la fréquence de populations présentant au moins une souche résistante,



- le pourcentage moyen (ou fréquence) de souches résistantes dans les parcelles concernées.

III. Prélèvements des échantillons

Les prélèvements de conidies sont réalisés à l'aide de cotons-tiges sur les fruits sporulants à raison de 30 fruits, issus de 30 plants de fraisier différents par parcelle. Six cotons-tiges permettent de réaliser l'échantillonnage d'une parcelle (soit 5 fruits par coton-tige).

Tableau 1 : Nombre d'échantillons analysés au cours de l'année 2013

Régions	Echantillons programmés	Echantillons reçus	Echantillons avec résultats exploitables
Aquitaine	2	2	2
Centre	2	2	2
Nord-Pas-de-Calais	1	1	1

IV. Résultats et discussion

Le tableau n°2 présente les résultats obtenus sur les échantillons prélevés en 2013, vis-à-vis des trois familles chimiques ciblées.

- La résistance aux **dicarboximides** (iprodione) a été détectée dans les cinq populations analysées avec des taux de souches résistantes variables de 35 à 76% suivant les régions (35% en moyenne en Aquitaine, 40% en Centre et 76% en Nord-Pas-de-Calais). Le peu d'informations obtenues sur les calendriers de traitements chimiques ne permet pas de croiser ces résultats d'analyse avec les stratégies de traitements mises en place.

- La résistance aux **carboxamides** (boscalid) a été détectée avec un taux de souches résistantes inférieur à 20% dans quatre des cinq populations analysées ; par contre, la cinquième population (Aquitaine) présente un taux de 82%. Il serait intéressant de connaître l'historique des traitements afin de savoir s'il y a eu plusieurs applications à base de boscalid sur plusieurs années.

-De même, la résistance aux **QoI** (pyraclostrobine) a été détectée dans les cinq populations analysées avec des taux de souches résistantes très variables suivant les parcelles. Ce taux est assez bas (de 7 à 23%) dans les régions Nord-Pas-de-Calais et Aquitaine ; en Centre les deux parcelles présentent des taux différents, un taux assez élevé pour l'une (41%) et un taux très élevé pour l'autre (76%). Là encore, aucune donnée n'a été communiquée sur les calendriers de traitements.

Tableau 2 : Résultats obtenus sur les échantillons 2013

Régions	N° labo 2013.Anses	Référence expéditeur	% germination / témoin	ImiR1	CarR	QoI R
Aquitaine	275	13-AQ-47-01	82	35	19	23
	308	13-AQ-24-02	87	35	82	7
Centre	250	13-CE-41-01	90	43	18	76
	251	13-CE-41-02	75	35	5	41
Nord-Pas-de-Calais	054	13-NP-62-01	80	76	13	19

Résultats complémentaires au plan de surveillance 2013

Des tests complémentaires ont été réalisés sur deux autres familles chimiques autorisées dans la lutte contre *Botrytis cinerea* de la fraise : les **anilino-pyrimidines** et les **hydroxyanilides**. Ces deux familles sont concernées, non seulement par des mécanismes de résistance spécifiques mais également par mécanismes de résistance multiple (*MDR1*, *MDR2* et *MDR3*).

Tableau 3 : Résultats complémentaires sur deux autres familles chimiques

Régions	N° labo 2013.Anses	Référence expéditeur	% germination / témoin	AniR1	MDR1	MDR2	MDR3	HydR3
Aquitaine	275	13-AQ-47-01	82	42	22	0	3	0
	308	13-AQ-24-02	87	80	0	0	0	0
Centre	250	13-CE-41-01	90	73	6	14	0	7
	251	13-CE-41-02	75	38	5	15	0	8
Nord-Pas-de-Calais	054	13-NP-62-01	80	24	24	9	1	41

- **AniR1** : souches fortement résistantes aux **anilino-pyrimidines** (pyriméthanol)
- **MDR1** : souches résistant faiblement, et simultanément, aux **anilino-pyrimidines**, aux **phénylpyrroles** et dans une moindre mesure aux **dicarboximides**, aux **carboxamides** (et aux **pyridinamines***)
- **MDR2** : souches résistant faiblement, et simultanément, aux **anilino-pyrimidines**, aux **dicarboximides**, aux **hydroxyanilides** et aux **carboxamides** (aussi aux **IDM***)
- **MDR3** : souches combinant les résistances de type **MDR1** et **MDR2**
- **HydR3** : souches résistantes aux **hydroxyanilides** (fenhexamid)



* les substances actives concernées par ce mode d'action ne sont pas autorisées sur l'usage pourriture grise en France.

- La résistance spécifique aux **anilinopyrimidines** (AniR1) a été détectée dans les cinq populations analysées avec des fréquences très variables selon les parcelles : une parcelle en Nord-Pas-de-Calais avec un taux relativement faible de 24%, deux (Centre et en Aquitaine) avec un taux moyen d'environ 40% et enfin deux (Centre et Aquitaine) avec un taux élevé (70 à 80%).
- La résistance multiple (MultiDrug Resistance ou MDR) induit une résistance croisée positive entre tous les anti-botrytis spécifiques. En ce qui concerne MDR1, elle a été décelée dans quatre des cinq parcelles analysées avec des taux de souches résistantes de 5 à 22%, pour MDR2 dans trois parcelles (dont les deux de Centre) avec un taux moyen de 12%, et enfin, pour MDR3, seules deux parcelles sont concernées avec 1 à 3% de souches résistantes détectées. Seule la parcelle d'Aquitaine, dont le pourcentage de souches résistantes aux anilinopyrimidines (AniR1) est le plus élevée, paraît rester indemne de souches MDR.
- La résistance aux **Hydroxyanilides** concerne trois parcelles avec une fréquence de souches résistantes faible pour deux d'entre elles (Centre) et un pourcentage relativement élevé pour la parcelle du Nord-Pas-de-Calais.

V. Conclusion – Perspectives

Le plan de surveillance 2013 de la résistance de *Botrytis cinerea* aux fongicides en culture de fraises montre que toutes les familles chimiques sont concernées par la résistance, en particulier les résistances spécifiques qui sont présentes dans toutes les parcelles analysées. Concernant la fréquence des souches résistantes dans ces parcelles, elles sont assez variables selon les populations mais ne sont pas négligeables dans plusieurs parcelles et peuvent donc avoir une incidence sur l'efficacité de la protection dans les parcelles concernées.

En ce qui concerne les résistances multiples, seules quelques souches MDR1 et MDR2 sont présentes dans certaines parcelles, avec des fréquences plutôt faibles.

VI. Partenaires scientifiques et techniques

- **INRA : Anne-Sophie Walker** – INRA-UMR 1290 Bioger-CPP - Bât 13, Avenue Lucien Brétignières , BP01 - 78850 Thiverval-Grignon France ;
- **DGAL : Experte nationale filière** – Sophie Szilvasi – SRAL Nord-Pas-de-Calais ;
- **Réseau des DRAAF-SRAL et des organisations professionnelles** dans le cadre de la Surveillance Biologique du Territoire (SBT) pour la participation aux prélèvements.



VII. Bibliographie

- Leroux P., Besselat B., 1984. Pourriture grise : la résistance aux fongicides de *Botrytis cinerea*. *Phytoma* 359, 25-31;
- Leroux P., Walker A.S., 2009. La résistance aux fongicides de type MDR (multidrug resistance) chez les champignons phytopathogènes : mythe ou réalité ? 9^{ème} *Conférence internationale sur les Maladies de plantes de l'AFPP, Tours, 8 et 9 décembre 2009. Session Résistances* ;
- Viennot-Bourgin G., 1949. Les champignons parasites des plantes cultivées ;
- Mass J.L., 1998. *Compendium of Strawberry Diseases*.

VIII. Annexes

Résultats d'analyses par région – 2013

Tests résistance *BOTRYTIS cinerea* Fraise 2013

Analyses réalisées par : Laboratoire Anses - Lyon
Unité RPP
31 avenue Tony Garnier
69364 LYON Cedex 07

Types de souches :

ImiR1 = Résistantes aux **dicarboximides** (Iprodione)

AniR1 = moyennement à hautement résistantes aux **anilino-pyrimidines** (pyriméthanol)

MDR1 = faiblement résistantes aux **anilino-pyrimidines** (pyriméthanol) et moyennement résistantes aux **phénylpyrroles** (fludioxonil)]

MDR2 = faiblement résistantes aux **anilino-pyrimidines** (pyriméthanol) aux **hydroxylanilides** (fenhexamid) et IDM

MDR3 (MDR1 et MDR2) = faiblement résistantes aux **anilino-pyrimidines** (pyriméthanol) aux **hydroxylanilides** (fenhexamid) et IDM, Moyennement résistantes aux **phénylpyrroles** (fludioxonil)]

HydR3 = Résistantes aux **hydroxylanilides** (fenhexamid)

QoI R = Résistantes aux **QoI** (pyraclostrobine)

CarR = Résistantes aux **SDHI** (Boscalid)

Résultats : % spores résistantes dans chaque échantillon analysé

Référence échantillon Anses	Région	Référence échantillon expéditeur	Date réception	Date d'analyse	% germination / témoin	% spores ImiR1	% spores AniR1	% spores MDR1	% spores MDR2	% spores MDR3	% spores HydR3	% spores QoI R	% spores CarR
275	AQ	BotF13-AQ-47-01	17/10/13	23/10/13	82	35	42	22	0	3	0	23	19
308	AQ	BotF13-AQ-24-02	20/11/13	06/01/14	87	35	80	0	0	0	0	80	7
250	CE	13-CE-41-01	11/10/13	14/10/13	90	43	73	6	14	0	7	76	18
251	CE	13-CE-42-02	11/10/13	14/10/13	75	35	38	5	15	0	8	41	5
54	NP	13-NP-62-01	17/07/13	22/07/13	80	76	24	24	9	1	41	19	13