



Septoriose du blé: sensibilité aux fongicides de la population suisse de *Mycosphaerella graminicola*

S. SCHÜRCH et P. FREI, Station de recherche Agroscope Changins-Wädenswil ACW, CP 1012, 1260 Nyon
R. FREY, J. WULLSCHLEGER et H. SIEROTZKI, Syngenta Crop Protection AG, Research Biology, Disease Control, 4332 Stein

@ E-mail: stephanie.schuerch@acw.admin.ch
Tél. (+41) 22 36 34 444.

Résumé

Le niveau de sensibilité aux fongicides de *Mycosphaerella graminicola*, un des agents de la septoriose du blé, a été évalué dans 17 parcelles en 2008. Les gènes codant pour les cibles des fongicides QoI et DMI ont été caractérisés génétiquement. La fréquence des souches résistantes aux QoI variait de 1 à 96%, indiquant que la population suisse se trouve dans une phase de transition. Par rapport aux populations européennes de *M. graminicola*, la population suisse est en moyenne plus sensible aux DMI. Ces informations permettent de formuler des recommandations d'utilisation de ces deux groupes de matières actives pour soutenir la durabilité de la lutte chimique contre cette maladie foliaire du blé.

Introduction

Mycosphaerella graminicola (Fuckel) J. Schröt. (anamorphe: *Septoria tritici* Rob. in Desm.) est un des agents de la septoriose, une maladie foliaire majeure du blé (fig. 1) qui entraîne réguliè-

rement des pertes de rendement. Pour la combattre, outre le choix variétal, la gestion des restes de cultures et le respect des rotations, la lutte par pulvérisation de matières fongicides est essentielle. Les matières actives utilisées à cette fin appartiennent à deux groupes

principaux: les fongicides QoI (*Quinone outside Inhibitors*) inhibent une réaction chimique de la chaîne respiratoire mitochondrienne (productrice d'énergie) des cellules fongiques. Plus précisément, leur cible est le cytochrome b, une protéine transmembranaire. Parmi les QoI, les strobilurines, mises sur le marché en 1996, inhibent efficacement la germination des spores et la pénétration du mycélium dans les tissus foliaires (Bartlett *et al.*, 2001). En 2002, les premières souches de *M. graminicola* résistantes aux QoI ont été détectées dans plusieurs pays européens (Leroux *et al.*, 2007). Chez ce pathogène, comme chez d'autres, la résistance aux QoI est déterminée par une mutation du gène codant le cytochrome b (Gisi *et al.*, 2002; Fraaije *et al.*, 2003). Apparue indépendamment à plusieurs reprises (Torriano *et al.*, 2009), cette mutation entraîne l'incorporation d'une alanine en position 143 à la place d'une glycine (G143A) lors de la synthèse du cytochrome b. Les isolats de *M. graminicola* portant cette mutation sont insensibles aux QoI. La pression de sélection exercée par l'application de QoI conduit à une rapide augmentation de la fréquence de cette résistance monogénique. Lorsque cette fréquence dépasse 30%, une baisse d'efficacité abrupte est observée, contre laquelle une augmentation de la dose d'application reste sans effet.

Le second groupe de matières actives utilisées dans la lutte contre la septoriose comprend les fongicides DMI (*Demethylation Inhibitors*), auxquels appartiennent les triazoles. En se liant

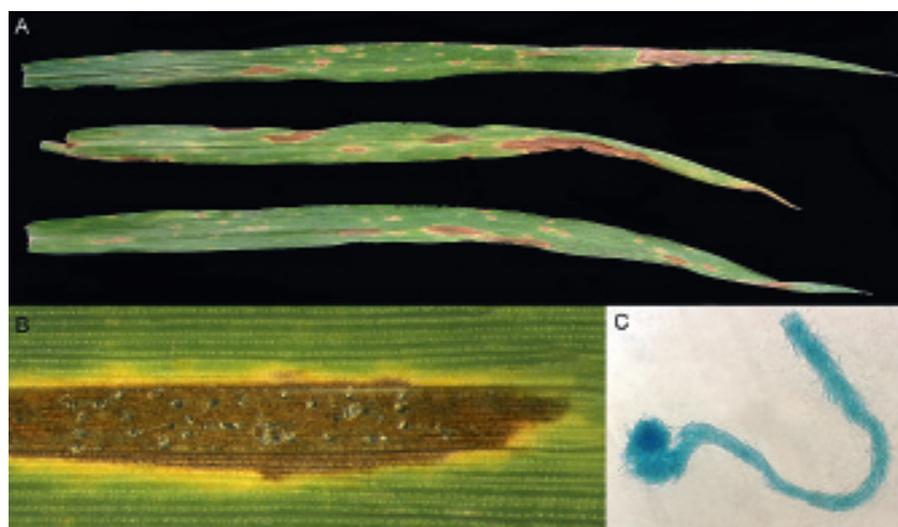


Fig. 1. Septoriose sur blé d'automne cv. Tapidor. A: lésions sur feuilles. B: pycnides sporulantes. C: cirrhes et spores de *Septoria tritici*.

Avec la collaboration des offices phytosanitaires cantonaux.

Tableau 1. Mutations du gène CYP51 et génotypes associés chez *Mycosphaerella graminicola*.

Génotype	Mutations
I	Génotype sauvage
II	Y137F
III	Complexe
IV	V136A
V	I381V
VI	A379G + I381V

D'après Chassot *et al.*, 2008, modifié.

au CYP51, un enzyme-clé de la biosynthèse des stérols, ils inhibent la production de ces composés indispensables des membranes cellulaires fongiques. La diminution de la sensibilité aux DMI est liée à trois mécanismes majeurs (Cools et Fraaije, 2008): des mutations du gène CYP51, la surexpression de ce gène et la surexpression de transporteurs membranaires réduisant la concentration de matière active à l'intérieur de la cellule (exsorption accrue). De nombreuses mutations du gène CYP51 ont été recensées; certaines semblent déterminer la sensibilité aux DMI (Leroux *et al.*, 2007). Actuellement, les mutations sont généralement regroupées en six catégories (génotypes I à VI; tabl.1) selon leur impact sur la sensibilité aux DMI (Chassot *et al.*, 2008). Contrairement à la mutation G143A qui confère une résistance totale aux QoI, les isolats de *M. graminicola* qui portent ces mutations sont moins sensibles aux DMI, mais pas totalement résistants. Au champ, cela se traduit par une érosion graduelle de l'efficacité des DMI.

Si différentes études renseignent sur la fréquence des isolats de *M. graminicola* résistants aux QoI et aux DMI au niveau européen, seules quelques données éparées sont disponibles pour la Suisse. L'étude présentée ici a évalué la fréquence et la répartition géographique de la mutation G143A et des six génotypes du CYP51 d'échantillons provenant de 17 parcelles suisses de blé d'automne lors de la saison 2008.

Matériel et méthodes

Choisies dans des cantons à forte production de blé, 17 parcelles cultivées en mode extenso ou témoins non traitées ont été échantillonnées. Certaines de ces parcelles faisaient simultanément l'objet d'un suivi détaillé de la progression des maladies foliaires. Pour chaque parcelle échantillonnée, la date de prélèvement, le stade de développement de la culture, la variété, l'estimation du niveau d'attaque de septoriose, le précé-

dent et l'antécédent cultural ont été relevés, ainsi que le pourcentage de blé dans la rotation de l'exploitation et le pourcentage de céréales cultivées en mode extenso dans la région. Après un premier examen visuel des lésions foliaires, une analyse moléculaire des gènes codant pour le cytochrome b et le CYP51 a été effectuée. Plusieurs rondelles ont été découpées dans les feuilles de blé là où des lésions étaient visibles et l'ADN extrait de l'ensemble des rondelles provenant d'un même site. Pour le cytochrome b, la fréquence de la mutation G143A a été déterminée par PCR quantitative (Gisi *et al.*, 2005). Pour le CYP51, la fréquence des génotypes a été déterminée par PCR quantitative avec des amorces spécifiques aux différents génotypes.

Résultats et discussion

Fongicides QoI

La fréquence de la mutation G143A qui confère une résistance totale aux QoI a été déterminée pour 17 populations de *M. graminicola* (fig. 2). La fréquence moyenne de cette mutation était de 43% (tabl. 2), avec d'importantes différences entre les parcelles (1 à 96%). Une si grande variabilité caractérise la phase de transition entre population sensible et population résistante. Ces résultats semblent donc indiquer que la population suisse de *M. graminicola* est dans une situation intermédiaire mais, en l'absence d'un suivi temporel de la fréquence de G143A, cela ne peut être confirmé. Aucune répartition géographique particulière n'apparaît. Pour huit parcelles, cette fréquence était inférieure ou égale à 30%, seuil au-dessus

duquel une perte d'efficacité des QoI est constatée. Une fréquence particulièrement élevée a été observée sur la parcelle n° 13. Aucun facteur agronomique ne permet d'expliquer ce résultat et le niveau d'attaque de septoriose y était faible. Un groupe intermédiaire (69-76%) et un groupe situé autour de la moyenne (36-53%) sont également repérables. Les données obtenues ne permettent pas de mettre en évidence une corrélation entre la fréquence de la mutation G143A et l'antécédent cultural, la proportion de blé dans la rotation ou la proportion de céréales cultivées en mode extenso. Au niveau européen, il existe pourtant un lien entre l'intensité d'utilisation des QoI et le niveau de résistance des populations de *M. graminicola*. En effet, en Grande-Bretagne, aux Pays-Bas, dans le nord de la France et de l'Allemagne, les QoI ont été utilisés intensivement et la proportion de souches résistantes y est très élevée. Le fait que ce lien ne peut pas être mis en évidence pour les populations suisses de *M. graminicola* peut être expliqué par le nombre éventuellement insuffisant de parcelles échantillonnées et/ou par la phase de transition dans laquelle les populations semblent se trouver, comme dit précédemment.

Fongicides DMI

La proportion des différents génotypes du CYP51 a été déterminée pour les échantillons provenant de 14 parcelles (sur trois des parcelles, l'infection de *M. graminicola* était trop faible; fig. 3).

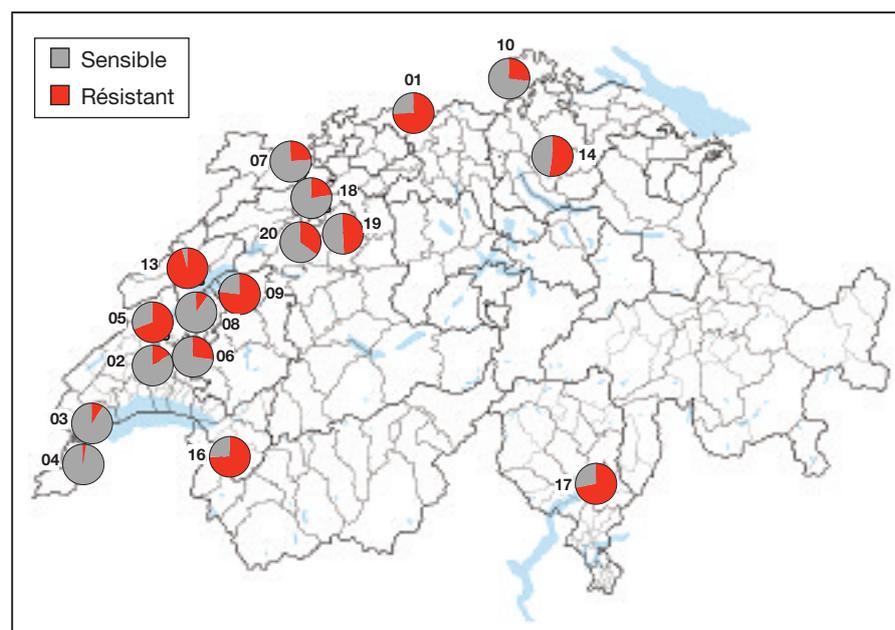


Fig. 2. Fréquence de la mutation G143A au sein de 17 populations de *Mycosphaerella graminicola* en Suisse en 2008 (en rouge). Les numéros des parcelles sont également mentionnés dans le tableau 2.

Tableau 2. Fréquence de la mutation G143A dans les populations de *M. graminicola*, échantillonnées dans 17 parcelles en Suisse en 2008, et données culturales.

Fréquence G143A	N°	Lieu	Précédent	Antéprécédent ^a	% Blé dans la rotation ^b	% Céréales extenso ^c
96	13	Fresens NE	maïs	colza	33	100
76	08	St-Aubin FR	maïs	betterave	40	50
75	16	Ollon VD	maïs	blé	50	0
74	01	Stein AG	maïs	soja	20	100
72	17	Gudo TI	maïs	blé	50	50
69	05	Chavornay VD	maïs			
53	14	Lindau ZH	maïs	prairie	22	10
49	16	Wangen a. A. BE	maïs	orge	25	70
43		Moyenne				
36	17	Wengi BE	maïs	prairie	40	30
27	05	Moudon VD	maïs	betterave	33	33
27	10	Gächlingen SH	betterave	blé	40	40
24	07	Courtemelon JU	maïs	prairie	18	57
23	18	Bellach SO	colza	blé	35	90
16	03	Changins VD	colza	orge	40	50
10	08	Murist FR	maïs	betterave	25	30
10	02	Goumoens VD	pois	blé	40	50
1	04	Gy GE	pois	blé	50	80

Une ligne rouge indique le seuil de 30% au-dessus duquel une application de QoI n'apporte plus un contrôle suffisant de la septoriose. Les éléments qui pourraient être liés à une forte pression de sélection en faveur de la mutation G143 A sont surlignés en rouge.

^a blé en antéprécédent cultural.

^b % de blé dans la rotation \geq 40%.

^c % de céréales extenso \leq 70%.

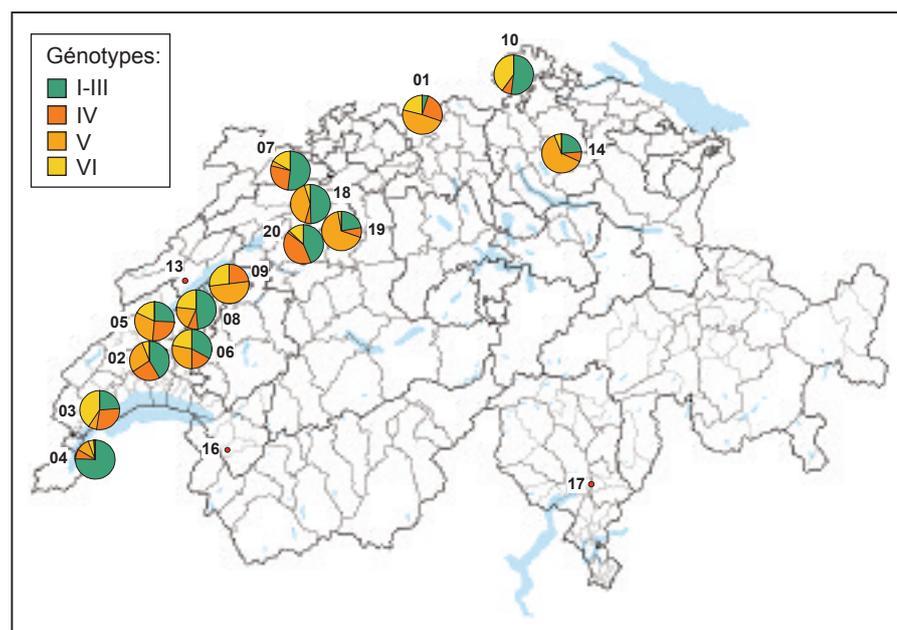


Fig. 3. Fréquence de six génotypes (ou groupes de génotypes) du gène *CYP51* parmi 14 populations de *Mycosphaerella graminicola* en Suisse en 2008. Les numéros des parcelles sont également mentionnés dans le tableau 2.

La fréquence moyenne des groupes I-III était de 36%. Ces trois groupes comprennent le génotype sauvage ainsi que les deux génotypes les plus anciens et sont quasiment absents des populations européennes actuelles (Stammler *et al.*, 2008). Le génotype IV, qui est le moins sensible au prochloraze, est présent avec une fréquence moyenne de 18%. Celle des génotypes V et VI est respectivement de 28 et 18%. En Europe, la majorité des isolats appartiennent dorénavant aux génotypes V et VI (Stammler *et al.*, 2008). La fréquence moyenne des génotypes CYP51 ainsi que leur sensibilité respective aux DMI indique qu'en moyenne la population suisse est plus sensible aux DMI que les populations européennes.

Conclusions

Cette première étude nationale sur la résistance aux fongicides de *Mycosphaerella graminicola* indique que des souches résistantes aux QoI sont présentes sur tout le territoire suisse, de même que tous les génotypes CYP51 détectés en Europe. Cependant, la situation suisse semble moins critique, probablement grâce à la bonne application d'une stratégie anti-résistance, et l'efficacité au champ se maintient. Cette stratégie contribue à la durabilité de la lutte chimique et repose sur les recommandations suivantes:

- ❑ Respecter les doses recommandées.
- ❑ Utiliser les QoI uniquement en mélange avec des matières actives ayant d'autres modes d'action (pas d'application pure).
- ❑ Limiter l'utilisation des QoI à deux applications par parcelle et par saison.
- ❑ Les QoI inhibent efficacement la germination des spores et doivent donc être utilisés de préférence au début du cycle de la maladie.
- ❑ Une utilisation de DMI seuls est possible (mais il faut éviter les applications répétées contre des pathogènes à risque, comme l'oïdium).

Bibliographie

- Bartlett D.W., Clough J. M., Godfrey C. R. A., Godwin J. R., Hall A. A., Heaney S. P. & Maund S. J., 2001. Understanding the strobilurin fungicides. *Pesticide Outlook* August, 143-148.
- Chassot C., Hugelshofer U., Sierotzki H. & Gisi U., 2008. Sensitivity of *CYP51* genotypes to DMI Fungicides in *Mycosphaerella graminicola*. In: Modern Fungicides and Antifungal Compounds V (eds H. W. Dehne, U. Gisi, K. H. Kuck, P. E. Russel, and H. Lyr). DPG, Bonn D., 129-136.
- Cools H. J. & Fraaije B. A., 2008. Are azole fungicides losing ground against Septoria wheat disease? Resistance mechanisms in *Mycosphaerella graminicola*. *Pest Management Science* **64**, 681-684.
- Fraaije B. A., Lucas J. A. Clark W. S. & Burnett F. J., 2003. QoI resistance development in populations of cereal pathogens in the UK. In: The BCPC International Congress – Crop Science & Technology, pp. 689-694.
- Gisi U., Pavic L., Stanger C., Hugelshofer U. & Sierotzki H., 2005. Dynamics of *Mycosphaerella graminicola* populations in response to selection by different fungicides. In: Modern Fungicides and Antifungal Compounds IV (eds H. W. Dehne, U. Gisi, K. H. Kuck, P. E. Russel, and H. Lyr). BCPC, Alton UK, 73-80.
- Gisi U., Sierotzki H., Cook A., & McCaffery A., 2002. Mechanisms influencing the evolution of resistance to Qo inhibitor fungicides. *Pest Management Science* **58**, 859-867.
- Leroux P., Albertini C., Gautier A., Gredt M. & Walker S., 2007. Mutations in the *CYP51* gene correlated with changes in sensitivity to sterol 14 α -demethylation inhibitors in field isolates of *Mycosphaerella graminicola*. *Pest Management Science* **63**, 688-698.
- Stammler G., Carstensen M., Koch A., Semar M., Strobel D. & Schlehuber S., 2008. Frequency of different *CYP51*-haplotypes of *Mycosphaerella graminicola* and their impact on epoxiconazole-sensitivity and -field efficacy. *Crop Protection* **27**, 1448-1456.
- Torriano S. F. F., Brunner P., McDonald B. A. & Sierotzki H., 2009. QoI resistance emerged independently at least 4 times in European populations of *Mycosphaerella graminicola*. *Pest Management Science* **65**, 155-162.

Summary

Septoria leaf blotch of wheat: sensitivity to fungicides of the Swiss *Mycosphaerella graminicola* population

The fungicide resistance level of *M. graminicola*, a major agent of leaf blotch of wheat, was evaluated in 2008 for samples from 17 fields. Genes coding for the target proteins of QoI and DMI fungicides were characterised genetically. The frequency of the mutation conferring QoI resistance ranged between 1 and 96%, indicating that the Swiss *M. graminicola* population is in a transitory phase. Compared to other European populations of this pathogen, the Swiss population is on average more sensitive to DMI fungicides. These results represent the basic information to formulate recommendations regarding the use of these two fungicide groups to achieve a durable chemical control of this widespread leaf disease of wheat.

Key words: fungicide, resistance, *Septoria tritici*, *Mycosphaerella graminicola*, sensitivity.

Zusammenfassung

Septoria Blattdürre des Weizens: Fungizidresistenz der Schweizer *Mycosphaerella graminicola* Population

2008 wurde in 17 Parzellen das Niveau der Empfindlichkeit von *M. graminicola* (Blattseptoria des Weizens) gegenüber Fungiziden untersucht. Die Gene, die für die Target-Proteine der QoI und DMI Fungizide kodieren, sind genetisch charakterisiert worden. Die Häufigkeit der Stämme, die gegen QoI-Fungizide resistent waren, variierte zwischen 1 und 96%. Dies zeigt, dass sich die einheimische Population in einer Übergangsphase befindet. Gegenüber den europäischen Populationen von *M. graminicola* sind die Stämme aus der Schweiz im Durchschnitt empfindlicher gegenüber DMI-Fungiziden. Diese Informationen erlauben Empfehlungen zum Einsatz dieser zwei Wirkstoffgruppen zu formulieren, um die Nachhaltigkeit der chemischen Bekämpfung dieser Blattkrankheit des Getreides zu unterstützen.

Riassunto

Septoriosi del grano: sensibilità ai fungicidi della popolazione di *Mycosphaerella graminicola* presente in Svizzera

Il livello di sensibilità a differenti fungicidi di *M. graminicola*, responsabile della septoriosi del grano, è stata valutata durante il 2008 su campioni provenienti da 17 differenti coltivi. Sono stati analizzati i geni fungini codificanti per le proteine target dei fungicidi QoI e DMI. La frequenza dei mutamenti sulle proteine target dei fungicidi QoI è stata calcolata fra 1 e 96%, indicando uno stato transitorio fra sensibilità e resistenza, a tali fungicidi, della popolazione Svizzera di *M. graminicola*. Comparata ad altri paesi d'Europa la popolazione Svizzera di *M. graminicola*, oggetto di questo studio, mostra in media una maggiore sensibilità ai fungicidi DMI. Questi risultati rappresentano una base di informazioni utili per formulare raccomandazioni sull'uso di fungicidi QoI e DMI e mantenere la durabilità della lotta chimica contra questa malattia fogliare del grano.



Nos collections 
CHF 18.- **Plantes fleuries**
des prairies permanentes

COMMANDE: Agroscope Changins-Wädenswil ACW, CP 1012, CH-1260 Nyon 1,
tél. ++41 (22) 363 41 51, fax ++41 (22) 363 41 55.
E-mail: cathy.platiou@acw.admin.ch