



Le déoxynivalénol et le blé tendre

Le point sur les travaux menés en Wallonie

Anne Chandelier* et Georges Sinnaeve*

En matière de mycotoxines, la Wallonie connaît des risques climatiques proches de ceux du Nord de la France. Nous présentons ici la situation en ce qui concerne les fusarioses des épis et le DON (déoxynivalénol), mycotoxine vedette sur le blé tendre, avec les corrélations entre les deux phénomènes. Du travail a été fait pour gérer le problème. D'abord, pour évaluer le risque chaque année, il y a eu des essais de modélisation (pas encore transformés !) et d'évaluation en pré-récolte grâce à des prélèvements pour analyse par test ELISA — système qui a fait ses preuves. Ensuite, il y a la gestion des lots : leur destination, les tests "tigettes" et les autres... Sans compter la gestion agronomique préventive. Le tout constitue une stratégie cohérente. Présentation.

Blé tendre en Wallonie, quelques particularités

Le blé tendre (ou froment d'hiver) constitue la principale céréale cultivée en Wallonie (129 897 ha en 2005⁽¹⁾). Les superficies cultivées se situent principalement dans une zone centrale orientée est-ouest allant de la province de Hainaut à la province de Liège sur un sol limoneux. Les conditions agroclimatiques y sont relativement semblables et permettent de considérer que cette zone est homogène d'un point de vue cultural.

La betterave sucrière et le maïs fourrage constituent les deux principaux précédents culturaux, suivis de la pomme de terre et du blé tendre. La culture de maïs grains, considérée comme précédent très favorable à la contamination du blé tendre par des fusariotoxines⁽²⁾, est peu rencontrée.

Certains agriculteurs pratiquent le semis direct mais, en règle générale, les parcelles sont

Symptômes de fusariose sur épi de blé.



ph. CRA-W

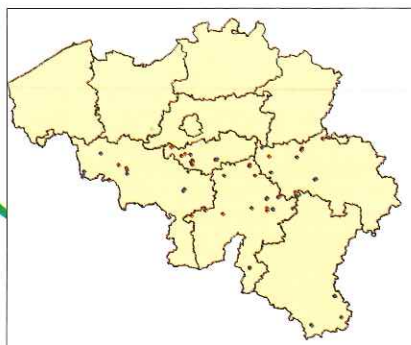
cultivées sous labour. Enfin, l'assortiment variétal est très important et la durée de vie d'une variété relativement courte (4-5 ans).

Contamination des lots par du DON et fusariose de l'épi

Chaque année depuis 2001, des échantillons de grains provenant de champs situés dans toute la zone de culture de blé tendre sont analysés pour déterminer leur taux de DON (par test ELISA en utilisant le kit Veratox 5/5 commercialisé par la firme Néogen — test en cours d'accréditation BELAC⁽³⁾ selon la norme ISO/CEN 17025) ainsi que la flore fongique totale (par analyse mycologique de 208 grains par lot sur milieu gélosé (Potato Dextrose Agar).

Jusqu'en 2006, les niveaux de contamination en DON étaient relativement faibles (teneur moyenne inférieure à 1 000 ppb). En 2007, les conditions météorologiques à la floraison de la céréale ont été très favorables à la fusariose de l'épi et le niveau moyen de DON a atteint une valeur supérieure à la teneur maximale autorisée dans des grains destinés à l'alimentation

Carte d'échantillonnage des lots de blé tendre en Wallonie en 2007.



* Groupe de travail mycotoxines, Centre Wallon de Recherches Agronomiques (CRA-W).
Rue de Liroux, 4 ; B-5030 Gembloux, Belgique.
email : chandelier@cra.wallonie.be

(1) Évolution de l'Économie Agricole et horticole de la région wallonne 2005-2006, Direction Générale de l'Agriculture, Division de la Politique agricole, Direction de l'Analyse économique agricole.

(2) Dill-Macky R. & Jones R.K., 2000 - The effect of previous crop residues and tillage on Fusarium head blight of wheat. Plant Disease 84, 71-76

(3) Organisme belge de certification (correspondant au COFRAC en France).

humaine (1 250 ppb, règlement CE N° 1881/2006 de la commission) (Tableau 1).

Les valeurs restent toutefois relativement faibles en comparaison avec d'autres régions européennes, ce phénomène pouvant s'expliquer notamment par la quasi absence de précédent à haut risque (maïs grain).

Parmi les espèces toxigènes rencontrées sur les grains, *Fusarium graminearum* représente la principale espèce, suivie par *F. avenaceum*. Les deux autres espèces généralement associées à la fusariose de l'épi, *F. culmorum* et *F. poae*, restent par contre peu présentes.

Microdochium nivale, responsable de la fusariose de l'épi mais non toxigène, est détecté dans des proportions qui varient fortement d'une année à l'autre (Tableau 1). Plusieurs espèces sont généralement rencontrées sur une même parcelle.

En 2007 (année à risque), une bonne corrélation a été observée entre le taux de DON et le taux de *F. graminearum*. Le coefficient de détermination était moindre en 2003 (année à faible risque DON) malgré des taux de *F. graminearum* non négligeables.

Cette observation suggère que l'infection par *F. graminearum* est une condition nécessaire mais pas suffisante à l'accumulation de DON dans les grains (Figure 1).

Stratégie de gestion du risque DON

Modélisation pas au point...

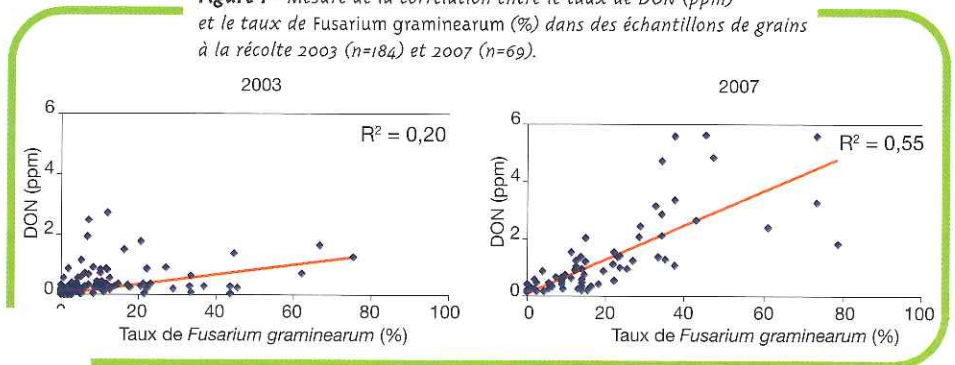
Des données culturales et météorologiques ont été collectées depuis 2003 lors de chaque campagne de surveillance en vue de modéliser le risque DON (Detrixhe *et al.*, 2004⁽⁴⁾).

Toutefois, aucun de ces modèles n'a permis de prédire de manière fiable le risque de conta-

Tableau 1 - Suivi des concentrations en déoxynivalénol (ppb) et des populations fongiques responsables de la fusariose de l'épi dans des échantillons de grains de froment d'hiver issus de champs de la zone de cultures céréalières. Échantillonnage en pré-récolte (sauf en 2001). 110 ppb = limite de détection du test ELISA (LOD). Incidence = nombre d'échantillons présentant un taux de DON supérieur à 110 ppb. Nd = non déterminé.

		2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007
Déoxynivalénol	Nombre échantillons	67	66	184	112	104	115	69
	Moyenne (ppb)	< 110	620	270	200	< 110	115	1 320
	Médiane (ppb)	< 110	400	< 110	< 110	< 110	113	870
	Maximum (ppb)	400	2 850	2 750	2 500	190	680	5 610
	Incidence (%)	8,4	74,7	51	35	8,6	65	100
> 1 250 ppb (%)	0	18	5	1,8	0	0	36	
Fusariose épis	<i>F. graminearum</i> (%)	nd	3,7	8,2	5,8	0,1	0,8	20,8
	<i>F. avenaceum</i> (%)	nd	1,8	8,2	3,6	1,6	0,9	2,5
	<i>F. poae</i> (%)	nd	1,1	1,7	1,5	1,5	1,5	1,7
	<i>F. culmorum</i> (%)	nd	0,5	0,9	0,1	1,4	0,3	0,2
	Autres <i>Fusarium</i> (%)	nd	2,1	2,3	0	0,1	0,1	0,2
	<i>M. nivale</i> (%)	nd	3,6	1,9	4,1	0,4	1	12,1

Figure 1 - Mesure de la corrélation entre le taux de DON (ppm) et le taux de *Fusarium graminearum* (%) dans des échantillons de grains à la récolte 2003 (n=184) et 2007 (n=69).



mination à la parcelle. Ces échecs résultent probablement du caractère multifactoriel de l'infection, de l'absence de données précises sur la sensibilité variétale à l'accumulation de DON, de paramètres météorologiques difficiles à modéliser (la fenêtre de collecte de données devrait dépasser le stade floraison) et surtout du manque de données relatives à des années « à risque » générant des données exploitables.

Les mêmes conclusions ont été déduites d'une étude similaire menée en France dans le cadre du projet RARE (Desgranges C *et al.*, 2007⁽⁵⁾).

Repérer les lots contaminés en pré-récolte pour éviter de les introduire dans les silos

Dans ces conditions, une autre stratégie a été envisagée pour gérer la problématique et aider la filière. Cette stratégie repose sur l'analyse en

pré-récolte de quelques échantillons de grains prélevés dans des champs situés dans toute la zone de culture et sur une hiérarchisation des facteurs de risque tenant compte de la réglementation en vigueur (Figure 2).

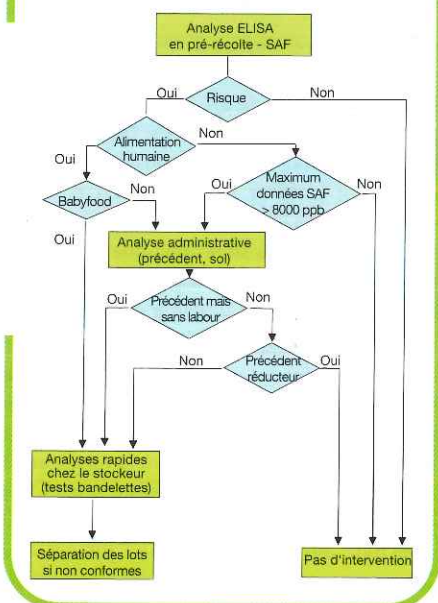
Les analyses de pré-récolte

Chaque année, un réseau de champs (entre 50 et 100) est sélectionné en collaboration avec des agriculteurs de toute la zone de culture de blé tendre. Les parcelles sont choisies pour représenter différents itinéraires techniques (précédent culturel, variété). Quelques jours avant la récolte, on collecte des épis (environ 300) à la main en parcourant la plus grande diagonale du champ sur la base d'un prélèvement fait de manière aléatoire. Après battage en laboratoire, les grains sont analysés pour déterminer le taux de DON par ELISA.

La méthode d'échantillonnage de pré-récolte a été validée en 2007 (année à risque élevé, données exploitables) sur 40 échantillons. La comparaison des teneurs en DON mesurées à la récolte (en prélevant un ravier de 500 g de grains lors du remplissage de chaque benne) et des teneurs en DON mesurées en pré-récolte montre une bonne corrélation (Figure 3).

Selon les taux de DON retrouvés dans les grains lors des surveillances de pré-récolte, l'année est considérée comme année à risque ou année normale. Une année est considérée comme nor-

Figure 2 - Stratégie de gestion des lots de blé tendre pour gérer le risque de mélange des lots sains et des lots contaminés par du DON à la récolte. SAF = Système d'alerte fusariotoxine.



(4) Detrixhe P., Chandelier A., Cavalier M., Buffet D., Oger R., 2003 - Development of an agrometeorological model integrating leaf wetness duration estimation to assess the risk of head blight infection in wheat. Aspects of Applied Biology 68, 199-204.

(5) Desgranges C, Penetier A, Veron-Delors G., 2007 - Base de données multifactorielle de l'incidence des facteurs agro-climatiques sur l'intensité de la fusariose et les teneurs en fusariotoxines. In : Recueil des résumés et abstracts, colloque scientifique « Progrès et perspectives de la recherche sur les mycotoxines de Fusarium dans les céréales », Arcachon, 11-13 septembre 2007.

male si moins de 5 % des lots ont une teneur en DON supérieure à 1 250 ppb (le seuil maximal autorisé pour des lots destinés à l'alimentation humaine, règlement CE 1881/2006). Dans ce cas, il n'y a pas d'intervention. Cette situation est la plus fréquente en Wallonie (Tableau 1). En revanche, si le pourcentage de lots supérieurs à 1 250 ppb dépasse 5 % ou si la moyenne du taux de DON dépasse 500 ppb, l'année est considérée comme à risque.

La destination de la céréale

S'il s'agit de blés destinés à l'alimentation animale, il n'y a pas d'intervention, sauf si le maximum des valeurs observées dans le cadre des analyses de pré-récolte dépasse 8 000 ppb, la recommandation fixée par l'Union Européenne le 17 août 2006. Cette situation ne s'est jamais présentée en Wallonie dans le cadre des plans de surveillance mis en place depuis 2001, même en 2007, année à risque élevé.

S'il s'agit de grains destinés à l'alimentation humaine, il faut encore distinguer les grains destinés à l'alimentation pour enfants en bas âge (« babyfood ») des autres destinations.

En effet, même si la teneur maximale autorisée dans les grains bruts est la même (1 250 ppb) pour les deux destinations, la teneur autorisée dans les préparations à base de céréales pour bébés est très basse (200 ppb) (règlement CE 1881/2006). Tenant compte des données récoltées lors des surveillances en année à risque (2002 et 2007), il est prudent de procéder à une analyse systématique des lots destinés au « babyfood ». À l'inverse, s'il s'agit de grains destinés à l'alimentation humaine autre que le « babyfood », il faudra procéder à une analyse administrative de la parcelle.

L'analyse administrative : les pratiques culturales à risque

Selon une étude réalisée par Syngenta Agro (Gautier *et al.*, 2006⁽⁶⁾), les précédents culturels peuvent être classés en trois catégories : les précédents réducteurs du taux de DON, les précédents neutres et les précédents aggravants. En reprenant cette classification pour les données de surveillance collectées entre 2003 et 2007 en Wallonie, on obtient les résultats présentés figure 4.

Le précédent aggravant (maïs fourrage dans notre cas) ne pose problème qu'en cas de non labour (100 % des lots ayant un taux de DON supérieur à 1 000 ppb en 2007, et environ 50 % des lots sur la période 2003-2007).

En revanche, si la parcelle est labourée avant semis, le précédent maïs fourrage ne présente plus ce caractère aggravant. Les précédents colza, lin ou pois semblent avoir un effet réducteur puisqu'en moyenne sur 5 ans (2003-

(6) Gautier P., Froment A., Charon X., 2006 - Le déoxynivalénol, prévision et gestion dans les blés en France. *Phytoma-La Défense des Végétaux* 589, 4-6.

(7) Chandelier A., Detrixhe P., Oger R., Sinnaeve G., Romnée J.M., Ciza A., Dekeyser A., Cavellier M., 2005 - Livre blanc « céréales » F.U.S.A et CRA-W Gembloux, février 2005.

Mise en œuvre d'un test ELISA. Ils sont réalisés tous les ans sur des échantillons prélevés quelques jours avant récolte, pour évaluer le risque de l'année.



ph. Chandelier

Figure 3 - Comparaison des teneurs en DON (ppm) mesurée en pré-récolte et à la récolte pour 40 parcelles cultivées en froment d'hiver en 2007.

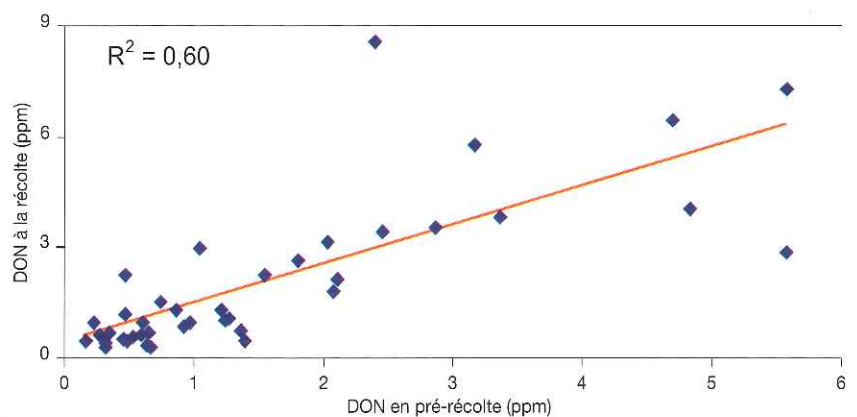
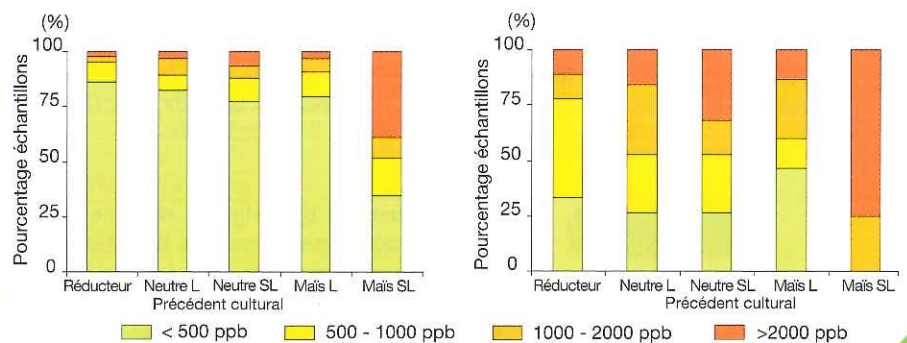


Figure 4 - Influence du précédent cultural et du travail du sol (L = labour; SL = non labour) sur le taux de DON (ppb). À gauche, cumul des données 2003-2007 (n=559) ; à droite, résultats de l'année 2007 (année à risque), (n=69). Réducteur = colza, lin, pois : neutre = avoine, betterave, blé, chicorée, pomme de terre ; aggravant = maïs fourrage.



2007), environ 5 % des parcelles échantillonnées avec ces précédents ont un taux de DON supérieur à 1 000 ppb. Au contraire, le seuil de 1 000 ppb est dépassé pour environ 15 % des parcelles cultivées après précédent neutre (céréale à paille, pomme de terre, betterave sucrière, chicorée) ou maïs labouré.

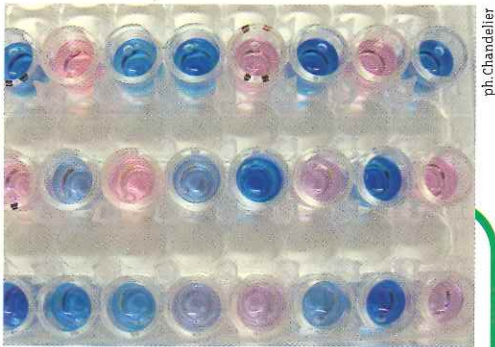
Ces résultats sont confirmés en 2007 (année à risque) puisque la proportion de parcelles avec un taux de DON supérieur à 1 000 ppb n'est que de 22 % pour des parcelles avec un précédent réducteur contre 50 % pour des parcelles avec précédent neutre (avec ou sans labour) et 100 % pour des parcelles cultivées après maïs sans labour. L'outil d'aide à la

décision mis en place au CRA-W intègre donc ce critère dans la sélection des lots nécessitant des analyses (Figure 2).

Le choix variétal joue également un rôle dans le risque de contamination en DON, et des travaux d'inoculation au champ d'un panel de variétés ont montré que la réponse à l'infection et à l'accumulation de DON étaient des paramètres qui n'étaient pas toujours corrélés, rendant les cotations visuelles au champ souvent insuffisantes pour caractériser les variétés de blé tendre en terme de risque DON (Chandelier *et al.*, 2005⁽⁷⁾).

Tableau 2 - Comparaison entre ELISA et test tigarette pour le dosage du DON selon 4 classes (ppm) dans des moutures de blé tendre (échantillons de la récolte 2007).

		Test tigarette				Total
		< 0,5	0,5-1	1-2	> 2	
ELISA	< 0,5	5	2	0	0	7
	0,5-1	0	4	2	0	6
	1-2	0	1	2	0	3
	> 2	0	0	0	7	7
Total		5	7	4	7	23



ph.Chandelier

Pour les tests à la récolte chez les organismes stockeurs, on peut utiliser des tests rapides, et vérifier avec un ELISA les lots qui semblent poser problème.

Les essais ont aussi montré que même en conditions d'inoculation artificielle, le comportement des variétés pouvait varier d'une année à l'autre, rendant nécessaires des essais plurianuels. Dans ces conditions, et tenant compte d'une part de la diversité de l'assortiment variétal, et d'autre part de la durée de vie très courte d'une variété (4-5 ans), ce paramètre n'a pas été repris dans la stratégie envisagée.

Les tests rapides « tigarette »

Des tests sous forme de tigarettes sont proposés par divers fournisseurs. Ces tests immunochromatographiques à lecture visuelle offrent

l'avantage d'être rapides et adaptés au traitement d'un grand nombre d'échantillons. Ils sont donc envisagés pour une utilisation par les organismes stockeurs à la récolte (Figure 2).

Certains fournisseurs proposent en outre des lecteurs optiques qui permettent d'interpréter les résultats selon 4 niveaux de DON (< 0,5, 0,5-1, 1-2 et > 2 ppm). Par ailleurs, les résultats peuvent être archivés, ce qui est important dans un contexte de traçabilité.

Le kit proposé par la firme Néogen (« Reveal for DON ») a été testé sur un panel de 23 échantillons de la récolte 2007 et comparé aux résultats de l'ELISA (Tableau 2).

Sur les 23 échantillons testés, 18 donnent un résultat identique au test ELISA (78 % de résultats corrects). Lorsqu'il y a des différences entre méthodes, il n'y a jamais de saut de plus d'une classe. Enfin, seul un résultat pose problème dans un contexte de sécurité alimentaire (risque consommateur) car il conduit à l'acceptation d'un lot contaminé à plus de 1 000 ppb. La méthode semble donc suffisamment fiable pour une utilisation dans le cadre de la gestion des lots à la récolte.

Conclusion

Vouloir contrôler tous les lots de grains qui arrivent chez les stockeurs est illusoire étant donné la rapidité avec laquelle les récoltes sont menées (de l'ordre de 3 jours), le nombre

de lots qu'il faudrait analyser (environ 200 bennes par jour et par point de collecte) et la durée des analyses. Une stratégie doit donc être envisagée pour limiter les analyses aux lots les plus à risque.

Partant de cette constatation, des données de surveillance accumulées depuis 2001 et des « habitudes culturelles » en Wallonie, une stratégie de gestion du risque DON a été proposée à la filière céréale.

Le premier facteur pris en considération est le facteur « année », soit les conditions météorologiques qui ont prévalu durant la culture et qui conditionnent non seulement l'infection par les agents de la fusariose de l'épi (conditions relativement bien connues) mais aussi l'accumulation de DON (conditions peu connues).

Si l'année est défavorable à l'accumulation de DON, les lots non conformes sont peu fréquents et ils seront très largement dilués avec des lots sains dans les silos. Le risque de résultats non conformes lors d'analyses officielles est donc négligeable.

Si, en revanche, l'année est favorable à l'accumulation de DON, il y a lieu d'intervenir. En Wallonie, cette situation s'est présentée en 2002 et en 2007. En 2007, le système d'analyses en pré-récolte mis en place au CRA-W a fonctionné et la filière a été avertie du risque DON au moment de la récolte.

L'intervention a lieu chez le stockeur en utilisant des tests « tigarette » à lecture optique. La destination des grains est importante puisque les teneurs maximales autorisées/recommandées sont très différentes. Lors de la réception en année à risque, l'historique parcellaire est important. Selon nos données, le précédent maïs fourrage non labouré est sans conteste la combinaison culturelle la plus à risque. Par contre, s'il y a labour, le précédent maïs fourrage n'est pas plus dangereux qu'un autre précédent.

Cette observation a son importance car le maïs fourrage constitue l'un des principaux précédents du blé tendre en Wallonie et le choix du maïs fourrage dans la rotation se justifie pour d'autres raisons (tête de rotation, culture désherbante, facile et économiquement rentable). Par ailleurs, il est important de souligner que de plus en plus de variétés de maïs fourrage sont sélectionnées pour leur résistance à la fusariose, les résidus sont donc moins colonisés par des *Fusarium*.

L'outil d'aide à la décision décrit ici n'a pu être validé qu'en 2007 puisque des échantillons avec charge élevée en DON étaient disponibles. En conséquence, il n'a pas encore été mis en place au niveau de la filière.

Toutefois, il répond à un besoin des organismes stockeurs qui, depuis le 1^{er} janvier 2005, doivent en effet instaurer un système d'autocontrôle⁽⁸⁾ basé sur l'HACCP.

(8) Arrêté royal du 14 novembre 2003 relatif à l'autocontrôle, à la notification obligatoire et à la traçabilité dans la chaîne alimentaire (Moniteur belge du 12.12.2003, 59076-59086).

Résumé

Un suivi des populations de *Fusarium* toxigènes et du taux de déoxynivalénol (DON) dans des grains de blé tendre est effectué depuis 2001 en Wallonie.

Cette étude a permis de montrer que la contamination en DON des récoltes était liée principalement aux conditions météorologiques. *Fusarium graminearum* et *F. avenaceum* sont les principales espèces toxigènes rencontrées sur les grains.

Une stratégie de gestion du risque DON est proposée à l'échelle de la Wallonie.

Cette stratégie intègre des échantillonnages de grains en pré-récolte et l'utilisation d'un outil d'aide à la décision qui permet à la filière de gérer les lots contaminés.

Mots-clés : blé, Belgique, Wallonie, fusariotoxines, déoxynivalénol, DON, *Fusarium graminearum*, *Fusarium avenaceum*.

Summary

A LOOK AT THE RISKS ASSOCIATED WITH DEOXYNIVALENOL IN SOFT WHEAT HARVESTED IN WALLONIA (BELGIUM)

A monitoring study of populations of toxigenic *Fusarium* and levels of deoxynivalenol (DON) in grains of soft wheat has been carried out since 2001 in Wallonia. This study has shown that DON contamination of crops was largely influenced by meteorological conditions. *Fusarium graminearum* and *F. avenaceum* are the main toxigenic species found on grains. The article presents details of a proposed risk management strategy for DON throughout Wallonia. This strategy involves the sampling of grains prior to harvesting and the use of a decision-making tool to enable the industry to deal with contaminated batches.

PHYTOMA

7,40 €

La Défense des Végétaux

Mars 2008 • N° 613

Dossier Méthodes alternatives

Tester

insecticides et couvain d'abeilles

Observer

OGM mondiaux

DON et blé tendre

piment d'Espelette

Réglementation

en Europe, en France



ISSN : 1 164-6993