

# Caractérisation des souches de *Phytophthora infestans*, agent du mildiou, de 1993 à 2003 en France

## Types sexuels, résistance aux fongicides

Delphine Détourné\*, Marie-Pierre Mathon\*\*, Ludovic Dubois\*\*\* et Serge Duvauchelle\*\*\*

*La surveillance du territoire, ce n'est pas seulement celle des organismes de quarantaine même si celle-ci est primordiale (voir les articles pp. 28 et 31). Il faut aussi surveiller des organismes très souvent rencontrés et habituellement combattus, notamment le mildiou ou plus précisément son agent pathogène Phytophthora infestans.*

*Pourquoi ? Parce que P. infestans, connu généralement en France sous la forme du type sexuel A1, peut présenter deux types : A1 et A2.*

*Or la présence des deux types dans une même région peut donner au pathogène plus de facilité pour évoluer par croisement (gare aux résistances !) et la possibilité de production d'oospores. Lesquelles savent passer l'hiver dans le sol sans avoir besoin de tissus végétaux (tas de déchets etc.), et donner un inoculum plus présent et plus précoce, donc plus menaçant qu'aujourd'hui... Voilà pourquoi on surveille les types sexuels, ainsi que la sensibilité aux fongicides.*

Le suivi des souches de *P. infestans* quant à leur type sexuel est réalisé tous les ans depuis 1993. Quant à celui de la résistance aux fongicides, il a commencé également en 1993 pour une famille chimique, et de nouvelles familles ont été suivies à partir de 1999.

### Détermination du type sexuel

La méthode utilisée pour déterminer le type sexuel est le test de confrontation sur milieu gélosé. La souche à tester est confrontée à une souche de référence A1 et à une souche de référence A2.

Pour chaque souche, on réalise 4 types de croisement :

- Souche à tester x souche de référence A1.
- Souche à tester x souche de référence A2.
- Souche à tester x souche à tester.
- Souche de référence A1 x souche de référence A2 : sert de témoin au test ; ce croisement implique la formation d'oospores (reproduction sexuée).

La ligne de confrontation des deux mycéliums est observée pour chaque type de croisement au

microscope après 10 jours d'incubation. Suivant les observations, le type sexuel de la souche testée est ainsi déterminé.

### Résultats

#### Nord-Pas-de-Calais, Picardie et Champagne-Ardenne

Sur les trois régions, toutes les souches étaient de type A1 parmi les 86 testées en 1993, les 35 testées en 1994, les 21 testées en 1995 et les 62 testées en 1996. Mais en 1997, parmi les 93 souches testées, 11 appartenaient au type A2. Leur provenance est récapitulée dans le tableau 1.

En 1998, la surveillance s'est donc intensifiée avec 165 souches testées. 164 étaient de type A1 et 1 de souche A2 (elle provenait de tomate en jardin).

En 1999, 151 souches ont été testées ; en 2000, 78 souches ; en 2001, 52 souches ; en 2002, 40 souches. Durant ces quatre années, elles étaient toutes de type A1.

Mais en 2003, sur les 63 souches testées, 56 sont de type A1, 6 de type A2 et 1 autoféconde.

#### Bretagne

78 souches ont été testées en 1993, 66 en 1994 et 73 en 1995. En 1996, les données sont manquantes. 72 souches ont été testées en 1997, 55

en 1998, 65 souches en 1999 et 70 souches testées en 2000. Durant toute cette surveillance, toutes les souches se sont révélées de type A1.

À noter la détection par l'INRA d'une souche A2 à Ploudaniel en 2003.

**Tableau 1 - Résultats en 1997, de la détermination des souches sur tomate et pomme de terre pour les régions Nord-Pas-de-Calais, Picardie et Champagne-Ardenne : origines et dates de prélèvement des 11 souches A2 détectées.**

Date de prélèvement	Nature et origine de l'échantillon
9 juin 97	pomme de terre/parcelle
6 juillet 97	tomate/jardin
7 juillet 97	pomme de terre/jardin
7 juillet 97	pomme de terre/jardin
6 juillet 97	tomate/jardin
10 juillet 97	pomme de terre/parcelle
15 juillet 97	tomate/jardin
16 juillet 97	pomme de terre/parcelle
16 juillet 97	repousses pomme de terre
21 juillet 97	tomate/jardin
24 juillet 97	tomate/jardin

\* Laboratoire Loos-en-Gohelle.

\*\* LRPV Loos-en-Gohelle.

\*\*\* SRPV Loos-en-Gohelle.



**Tableau 2 - Origine en 2003 des souches A2 et auto-féconde sur pomme de terre (parcelles, jardins et tas de déchets) pour les régions Nord-Pas-de-Calais, Picardie et Champagne-Ardenne.**

Date de prélèvement	Lieu de prélèvement	Origine de l'échantillon	Type sexuel
17 juin 2003	Bapaume (62)	Tas déchets de pomme de terre	A2
17 juin 2003	Bapaume (62)	Tas déchets de pomme de terre	A2
19 juin 2003	Quesnoy/Deule (59)	Parcelle de pomme de terre	A2
26 juin 2003	St-Sylvestre-Cappel (59)	Parcelle de pomme de terre	A1 +A2
26 juin 2003	Bucquoy (62)	Parcelle de pomme de terre	A2
26 août 2003	Favreuil (62)	Tas déchets de pomme de terre	A2
26 août 2003	Favreuil (62)	Tas déchets de pomme de terre	A2

**2003 pose question**

Depuis 1993, 846 isolats ont été testés dans le Nord-Pas-de-Calais ; 829 sont du type A1 et 17 du type A2. En 1997, sur les 11 souches A2, la plupart provenaient de jardins et 4 seulement de parcelles agriculteurs.

En 2003, 6 souches sont A2 et 1 auto féconde, toutes de parcelles agriculteurs (Tableau 2). S'agit-il d'un phénomène nouveau ? Est-ce en liaison avec quelques attaques très précoces en foyers localisés en 2003 ? Les résultats de la surveillance 2004 devraient être disponibles début 2005 et donner des éléments de réponse avant le démarrage de la prochaine campagne.

En attendant, la prudence s'impose quand on sait que les souches A2 peuvent se croiser avec les souches A1 et former des oospores qui peuvent se conserver dans le sol.

Notons qu'en Belgique la fréquence des souches A2 est de l'ordre de 15 à 20 % et aux Pays-Bas elle est de l'ordre de 15 à 75 % selon les secteurs. Si le phénomène « oospores » se confirmait, il faudrait intégrer cet aspect dans les modèles épidémiologiques ainsi que dans le raisonnement de lutte. Dès à présent, n'oublions pas deux facteurs de prévention importants : origine du plant certifié, rotation longue.

**Surveillance de la résistance aux phénylamides**

**En Nord-Pas-de-Calais et Picardie, de 1993 à 1996**

La méthode utilisée est celle des disques de feuilles de pommes de terre mis à flotter sur une solution de métalaxyl. La gamme de concentra-

tion s'étend de 0,01 ppm à 100 ppm. Chaque disque est inoculé avec une gouttelette de 10 µl de l'inoculum à tester. Après 7 jours d'incubation à 16 °C, on estime le pourcentage de surface sporulante pour chaque disque.

L'Ec<sub>50</sub> (concentration qui inhibe 50 % du développement — ici la sporulation) est alors déterminée graphiquement.

Le classement des souches s'effectue selon la valeur du facteur de résistance (FR) :

FR = Ec<sub>50</sub> de la souche testée/Ec<sub>50</sub> de la souche la plus sensible de l'année.

- Si FR < 5, la souche est sensible (S).
- Si 5 < FR < 10, la souche est moyennement sensible (MS).
- Si 10 < FR < 100, la souche est moyennement résistante (MR).
- Si FR > 100, la souche est résistante (R).

Les résultats obtenus sont reportés sur la figure 1. Même si la différence de nombre d'échantillons testés d'une année sur l'autre ne facilite pas la lecture de cette figure, on voit que la résistance restait bien implantée mais sans gagner de terrain : la proportion de souches sensibles tend même à remonter.

**En Nord-Pas-de-Calais, Picardie et Champagne-Ardenne depuis 1997**

Depuis 1997, la méthode utilisée est celle décrite par le FRAC, utilisant la méthode des disques flottants (Sozzi *and al.*, 1992).

Des disques sont découpés à l'emporte-pièce dans des feuilles de pommes de terre issues de la serre. Cinq disques sont placés dans une boîte de Petri contenant 12 ml d'eau ou de solution fongicide (métalaxyl). Une gamme de 6 doses est testée : à 0,001 ; à 0,01 ; à 0,1 ; à 1 ; à 10 et enfin à 100 ppm. Pour chaque concentration, on réalise deux répétitions.

Chaque disque est inoculé avec une gouttelette de 10 µl de l'inoculum à tester. Les disques ainsi inoculés sont incubés à 16 °C pendant 7 jours avec une photopériode 16 heures/8 heures. Après 7 jours d'incubation, le pourcentage de surface sporulante est évalué pour chaque disque de chaque concentration.

L'Ec<sub>50</sub> est déterminée graphiquement pour chaque souche testée. Le classement des souches est effectué selon la valeur de l'Ec<sub>50</sub> :

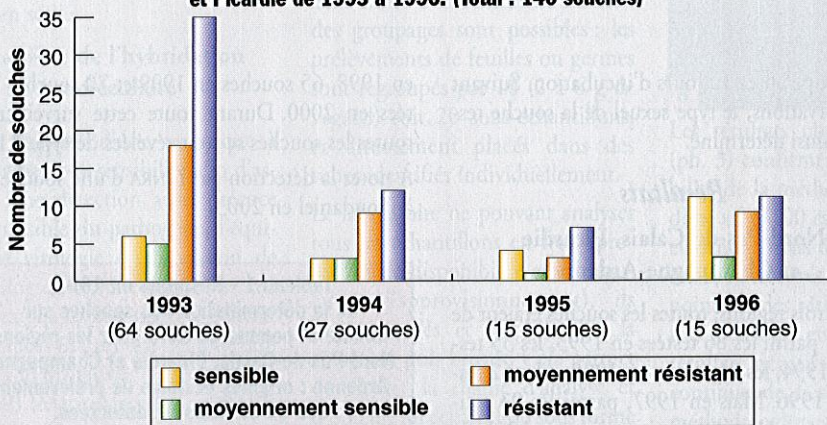
- 0,001 < Ec<sub>50</sub> ≤ 0,01 ppm : souche sensible ;
- 0,01 < Ec<sub>50</sub> ≤ 10 ppm : souche intermédiaire ;
- Ec<sub>50</sub> > 10 ppm : souche résistante.

La résistance aux phénylamides a été détectée en jardins particuliers, en parcelles d'agriculteurs, sur tas de déchets et repousses (Figure 2).

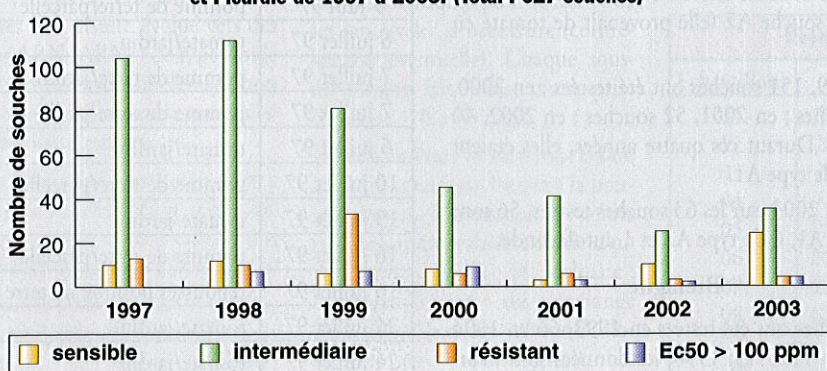
**En Bretagne, depuis 1997**

La méthode utilisée est celle des disques de feuilles de pommes de terre découpés et mis à flotter sur deux doses discriminantes de métalaxyl à 10 et à 100 ppm. Un témoin eau est inclus. Les souches testées sont classées de la façon suivante :

**Figure 1 - Résultats des tests de résistance au métalaxyl en Nord-Pas-de-Calais et Picardie de 1993 à 1996. (Total : 140 souches)**



**Figure 2 - Résultats des tests de résistance au métalaxyl en Nord-Pas-de-Calais et Picardie de 1997 à 2003. (Total : 627 souches)**



POMME DE TERRE





**Test selon la méthode des « disques flottants ».** Dans chaque boîte, cinq disques de feuille de pomme de terre flottent sur l'eau, soit pure (le témoin), soit avec du fongicide à une concentration différente dans chaque boîte, et on inocule les 30 disques avec la souche à tester.  
(ph. SRPV Nord-Pas-de-Calais, 2004)

- sensible : sporulation observée uniquement sur le témoin eau.
- intermédiaire : sporulation observée sur le témoin eau et la dose 10 ppm et non sur la dose 100 ppm.
- résistante : sporulation observée sur les deux doses testées et le témoin eau.

Les résultats de la sensibilité au métalaxyl sont visibles figure 3.

### Conclusions

#### • Sur les méthodes

La méthode simplifiée Bretagne convient très bien, comme « marqueur » de type de souche. Cependant il nous semble intéressant quand on étudie l'évolution de la résistance à des fins de préconisation, de garder un nombre plus important de concentrations en matière active dans le test. Une méthode intermédiaire est à l'étude.

#### • Sur les pratiques agriculteurs

La résistance aux phénylamines est « naturellement » présente. Les spécialités à base de cette famille de fongicides peuvent être utilisés en tout début de saison où les systémiques ont tout leur intérêt, mais uniquement en préventif et pas plus de trois fois dans la même parcelle, la même année. Ces données sont prises en compte dans le choix des fongicides dans les *Avertissements Agricoles®* et dans le système d'aide à la décision MILPV.

### Surveillance de divers fongicides

D'autres matières actives sont testées sur une partie des souches provenant des différentes régions. Le diméthomorphe est testé depuis 1999, le cymoxanil depuis 2000 et le propamocarbe depuis 2002.

#### Tests réalisés sur le diméthomorphe, le cymoxanil et le propamocarbe

140 souches ont été testées vis-à-vis du diméthomorphe de 1999 à 2003. Les résultats sont reportés figure 4.

68 souches ont été testées vis-à-vis du cymoxanil de 2000 à 2003.

Pour les 16 souches testées en 2000, l'Ec50 moyenne est de 0,390 ppm (0,11-0,95 ppm).

Pour les 22 souches testées en 2001, l'Ec50 moyenne est de 0,403 ppm (0,105-1 ppm).

Pour les 10 souches testées en 2002, l'Ec50 moyenne est de 0,365 ppm (0,15-0,85 ppm).

Pour les 20 souches testées en 2003, l'Ec50 moyenne est de 0,39 ppm (0,102-1,096 ppm).

Enfin, 35 souches ont été testées vis-à-vis du propamocarbe en 2002 et 2003. Pour l'ensemble des souches testées, les sporulations sont inhibées à 500 ppm.

### Une situation à maintenir

Pour ces trois matières actives, il n'y a pas de résistance détectée en France. Elles peuvent donc être utilisées sans problème en respectant les conditions d'homologation.

À noter que plusieurs études de mises au point de tests sont conduites sur d'autres fongicides.

Par ailleurs les premiers résultats sur les échantillons 2004 sont encore en nombre trop restreint à ce jour pour être évoqués.

### Conclusion générale

Cette surveillance du territoire est indispensable pour conduire une vraie protection raisonnée.

A noter que quelques suivis sur la virulence Rgène sont conduits au LRPV de Loos-en-

Gohelle (Nord-Pas-de-Calais). Cet aspect, ainsi que tous les tests génotypiques sont réalisés à l'INRA du Rheu (Bretagne) dans l'équipe de Didier Andrivon. ■

### Summary

#### MONITORING OF PHYTOPHTHORA INFESTANS : STRAINS AND SENSIBILITY

The monitoring of *Phytophthora infestans* samples since 1993 shows that A2 strains are in France but in a very slight ratio.

There is always phenylamide resistance but the fungicides of this family can be used in precise conditions. For cymoxanil, dimethomorphe, propamocarbe no resistance are detected.

**Key words :** potato, *Phytophthora infestans*, mating type, strain, resistance, fungicide, monitoring.

### Résumé

Le suivi des souches de *Phytophthora infestans* (agent du mildiou de la pomme de terre), mené depuis 1993, montre que les souches A2 sont présentes en France, mais actuellement en très faible proportion.

Par ailleurs, le suivi de la sensibilité de *P. infestans* aux phénylamides mené depuis 1993 montre que la résistance à cette famille de fongicides se maintient, mais que ces fongicides restent utilisables dans des conditions précises.

Pour le cymoxanil, le diméthomorphe et le propamocarbe, suivis respectivement depuis 1999, 2000 et 2002, aucune résistance n'a été détectée.

**Mots-clés :** pomme de terre, mildiou, *Phytophthora infestans*, type de souche, résistance, fongicides, surveillance.

Figure 3 - Sensibilité des souches testées vis-à-vis du métalaxyl en Bretagne de 1997 à 2000 (Total : 217 souches).

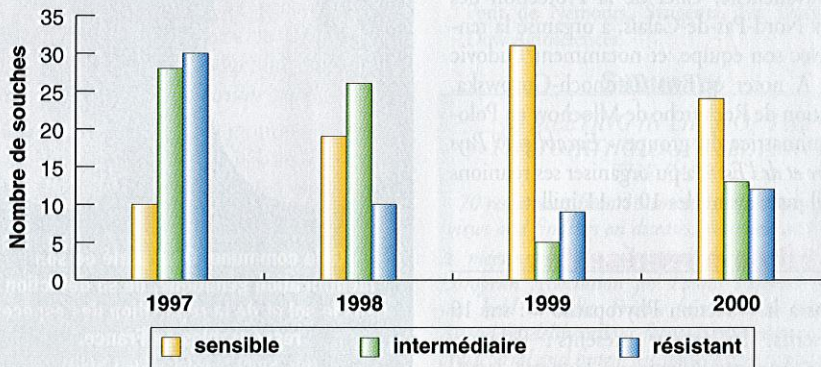


Figure 4 - Sensibilité des souches testées vis-à-vis du diméthomorphe de 1999 à 2003 et toutes régions en France.

