

# Détection en France de souches de *Bremia lactucae*, agent du mildiou de la laitue, résistantes au métalaxyl et à l'oxadixyl

par P. LEROUX\*, Brigitte MAISONNEUVE\*\*  
et Y. BELLEC\*\*

## Introduction.

Avec la mise au point du métalaxyl et de divers analogues structuraux comme le bénomyl, le furaxyl, l'ofurace ou l'oxadixyl regroupés au sein de la famille des phénylamides (ou acylanilides), il semblait qu'un progrès considérable allait être réalisé dans la lutte contre les Péronosporales (dont *Bremia lactucae*, l'agent du mildiou de la laitue). Ces diverses matières actives sont systémiques et douées d'une excellente activité curative. Ces phénylamides sont des inhibiteurs spécifiques de la biosynthèse d'ARN-ribosomiaux (Davidse, 1987). Si, effectivement, des résultats spectaculaires ont été obtenus sur les mildioux de la vigne ou de la pomme de terre, très rapidement il a fallu déchanter car des isolats résistants se sont développés dans la nature (Cohen et Coffey, 1986; Leroux et Clerjeau, 1985). Des travaux récents réalisés par Davidse (1987) sur des mutants de laboratoire (*Phytophthora megasperma*) ou des isolats résistants de la nature (*Phytophthora infestans*) indiquent que la résistance aux phénylamides résulte d'une affinité réduite de ces fongicides pour l'ARN-polymérase cible. En dehors de l'abandon pendant plusieurs saisons de ces phénylamides dans les zones les plus touchées par la résistance (ex. : vignoble de Cognac pour le mildiou de la vigne), diverses mesures ont été prises pour réduire l'impact pratique de ce phénomène. Ainsi, parmi les conseils d'utilisation des phénylamides, il est suggéré :

- de ne pas dépasser 14 jours entre deux applications de tels mélanges;
- de limiter leur emploi au cours d'une saison (2 à 4 interventions);
- de ne jamais les appliquer en curatif ou en éradicant et donc de toujours traiter préventivement;
- de ne pas réaliser des traitements de sol pour combattre des parasites aériens.

Ces diverses mesures qui doivent permettre de limiter la sélection des isolats résistants aux phénylamides entrent dans le cadre des stratégies anti-résistance qui ont l'aval des firmes phytosanitaires (Urech et Staub, 1985) ainsi que celui des services officiels ou d'instituts techniques. En France, ceci concerne la lutte contre les mildioux de la pomme de terre et de la vigne. Mais, comme nous l'avons indiqué précédemment, les phénylamides sont actives sur des Péronosporales attaquant d'autres plantes.

En France, bien qu'ils ne soient pas autorisés sur le mildiou de la laitue, l'Acylon F ou l'Acylon Super F (mélanges de métalaxyl et de folpel) sont utilisés depuis plusieurs années dans certaines zones maraîchères pour le traitement du terrain servant à la confection des mottes; ces formulations sont également parfois appliquées sur le feuillage.

En fait, dans notre pays, ce n'est que très récemment que les phény-

lamides ont été autorisées; en effet, c'est en 1987 que le Pulsan (qui, outre l'oxadixyl, renferme du cymoxanil et du mancozèbe) a été autorisé en traitements foliaires. Dans d'autres pays et notamment en Grande-Bretagne, les phénylamides (seules ou associées à d'autres fongicides) sont utilisées depuis une dizaine d'années (en traitements de sols ou aériens) et les premiers cas de résistance y ont été observés fin 1983 (Crute, 1987; Crute *et al.*, 1987); ce phénomène est également signalé aux Pays-Bas (Blok, 1987). En France, c'est au cours de l'hiver 1987-1988 que les premiers isolats de *B. lactucae* résistants aux phénylamides ont été décelés. Avant de préciser les caractéristiques de ces divers isolats, nous ferons une courte synthèse des résultats obtenus par Crute et ses collaborateurs afin de mieux cerner les similitudes et différences entre les situations en France et en Grande-Bretagne.

## La résistance du *B. lactucae* aux phénylamides en Grande-Bretagne.

Les premiers isolats résistants ont été collectés dans une zone de culture intensive de laitues au Lancashire à l'automne 1983 (soit cinq ans après le début de l'utilisation du

\* I.N.R.A., Station de phytopharmacie, route de Saint-Cyr, 78026 Versailles Cedex.

\*\* I.N.R.A., Station de génétique et d'amélioration des plantes, route de Saint-Cyr, 78026 Versailles Cedex.

métalaxyl). Dans les années suivantes, des isolats résistants ont été de nouveau décelés dans cette zone et à l'extérieur; ainsi, en 1985, la majorité des zones maraîchères anglaises d'abri et de plein champ était touchée. Pour expliquer cette progression fulgurante, Crute *et al.* (1987) pensent que les souches résistantes ont été propagées par l'intermédiaire de plants contaminés produits dans le Lancashire et vendus dans les autres régions.

La plupart des isolats collectés dans la nature sont très fortement résistants au métalaxyl; en effet, ils sporulent aussi bien sur des plantules cultivées sur un substrat traité avec 100 mg/l que sur des témoins non traités alors qu'un traitement du substrat à la dose de 0,1 mg/l empêche le développement des isolats sensibles (Crute *et al.*, 1987). La résistance est croisée positive avec trois autres phénylamides : furalaxyl, ofurace, cyprofurame, mais ce phénomène ne concerne ni le phosethyl-Al, ni le propamocarbe: autrement dit, ces deux derniers fongicides présentent une activité similaire sur tous les isolats de *B. lactucae*. Des études en conditions contrôlées, avec des isolats bien caractérisés, indiquent que les isolats résistants présentent une compétitivité équivalente à celle des sensibles; ce résultat suggère que la résistance peut se maintenir en absence de traitement à base de phénylamides (résistance de type persistante, Leroux, 1987).

Dans le cas de la laitue, de nombreux gènes de résistance spécifiques ont été utilisés pour lutter contre *B. lactucae*. Mais, face à de tels hôtes résistants, le parasite est susceptible de produire des races virulentes. Actuellement, de telles races

existent vis-à-vis de la plupart des gènes de résistance connus (il y en a une quinzaine). Dans un tel contexte, les populations naturelles comportent des races multi-virulentes. Ainsi, les isolats résistants aux phénylamides collectés en Grande-Bretagne sont capables d'attaquer les variétés de laitue portant les facteurs de résistance R<sub>1</sub> (Blondine), R<sub>2</sub> (Ravel, R<sub>2</sub> + R<sub>7</sub>), R<sub>3</sub> (Dandie), R<sub>4</sub> (R<sub>4</sub>T 57E), R<sub>5/8</sub> (Valmaine, Valverde), R<sub>6</sub> (Sabine), R<sub>7</sub>, R<sub>15</sub> (Mesa 659, R<sub>7</sub> + R<sub>15</sub>), R<sub>9</sub> (Bourguignonne, R<sub>5/8</sub> + R<sub>9</sub>), R<sub>10</sub> (Sucrine, R<sub>5/8</sub> + R<sub>10</sub>), R<sub>12</sub> (Hilde), R<sub>13</sub> (Vanguard 75), R<sub>14</sub> (Lednicky), R<sub>15</sub> (Pennlake) (Crute *et al.*, 1987). Ces mêmes isolats sont avirulents vis-à-vis des facteurs R<sub>11</sub>, R<sub>16</sub>, R<sub>17</sub> et R<sub>18</sub> puisqu'ils ne sporulent pas sur Capitan, Saffier, Kinemontepas et Mariska. Quant aux isolats sensibles aux phénylamides, certains ont des spectres de virulence similaires à ceux des isolats résistants, mais d'autres sont virulents sur R<sub>11</sub>.

Ces dernières observations ont conduit Crute *et al.* (1987) à proposer en Grande-Bretagne une stratégie de lutte consistant à effectuer des traitements avec des formulations comportant une phénylamide et à utiliser des variétés de laitues comportant au moins R<sub>11</sub>.

### Caractéristiques des souches de *B. lactucae* résistantes aux phénylamides, isolées en France.

Au cours de l'hiver 1987-1988, sur diverses cultures de laitues d'abri, des attaques de mildiou importantes ont été signalées dans plusieurs zones maraîchères françaises, et ce, malgré plusieurs inter-

ventions fongicides. Parmi les causes de ces échecs, nous avons envisagé la résistance aux phénylamides, particulièrement dans les cultures ayant été traitées plusieurs fois (avec des formulations comportant du métalaxyl et de l'oxadixyl). Des isolats de *B. lactucae* ont donc été collectés, puis des analyses ont été conduites afin de déterminer leur résistance (éventuelle) aux phénylamides et leur spectre de virulence.

#### 1. Etude de la résistance aux phénylamides.

Les semis de laitues sont effectués dans un mélange tourbe/sable contenu dans une boîte en plastique, dont l'atmosphère est saturée en humidité. Au bout de six jours, les plantes au stade cotylédonaire sont pulvérisées jusqu'à ruissellement avec du métalaxyl (sous forme de Ridomil à 25 % de métalaxyl) ou de l'oxadixyl (sous forme de produit technique; dans ce cas, un mouillant, le Tween 80, est ajouté pour préparer les solutions fongicides). Le lendemain, les plantules sont inoculées par pulvérisation d'une suspension de conidies (50.000 à 200.000 conidies/ml) obtenue en trempant des cotylédons porteurs de spores du champignon dans de l'eau. Après une phase d'incubation d'une semaine, les plantes saines et malades (sporulation) sont notées. Ces essais sont conduits en chambre climatisée : 16 heures d'éclairage, température de nuit 12°C et de jour 16°C. Chaque traitement est effectué sur une cinquantaine de plantules et les divers isolats sont testés dans deux expériences séparées. Afin de limiter les effets de vapeur des phénylamides, les boîtes comportant des plantules traitées sont mises dans une enceinte en plastique.

Vis-à-vis du métalaxyl, les isolats de *B. lactucae* présentent deux comportements extrêmes. En effet, ceux que nous pouvons considérer comme sensibles sont totalement inhibés entre 0,6 et 6 mg/l, alors qu'à 120 mg/l les isolats résistants se développent normalement (tableau 1). Cette très forte résistance au métalaxyl semble correspondre à celle observée par Crute *et al.* (1987). Avec l'oxadixyl, là encore, les isolats résistants ne sont pas affectés à 120 mg/l; quant aux isolats sensibles, leur inhibition est

# UTILAIR

**1<sup>er</sup> CONSTRUCTEUR de générateurs d'air chaud conçus pour serres**

OFFRE :            Les meilleures performances actuelles  
                          Des prix d'usine  
                          Des garanties exceptionnelles

**Route de Grasse**  
**06600 ANTIBES**

**Tél. 93.33.16.19**

**Tableau 1. — EFFETS DU METALAXYL ET DE L'OXADIXYL SUR LE MILDIOU DE LA LAITUE**  
(résultats exprimés en % plantes malades, étude sur 50 à 200 plantes par traitement)

Fongicides "phénylamide"	Isolats de <i>B. lactucae</i> *	Dose de fongicides en mg/l				
		0	0,6	6	60	120
Métalaxyl	Sensible	100	14	0	0	—
	Résistants	100	—	—	100	100
Oxadixyl	Sensible	100	100	46	0	—
	Résistants	100	—	—	100	100

\* Origine des isolats :

**Sensible** : isolat collecté dans le sud-est de la France, en 1988, sur une culture n'ayant reçu aucun traitement à base de phénylamides;

**Résistants** : trois isolats collectés sur des cultures ayant reçu des traitements à base de phénylamides (sol et aériens); deux proviennent du Roussillon et un d'Alsace.

obtenue entre 6 et 60 mg/l (tableau 1). Au vu de ces résultats, il s'avère qu'il y a résistance croisée positive entre le métalaxyl et l'oxadixyl. La différence d'activité observée entre ces deux phénylamides au niveau des isolats sensibles doit être considérée avec précaution car les conditions de formulation étaient différentes.

## 2. Etude des spectres de virulence.

La détermination des spectres de virulence est effectuée par inoculation (selon la méthode précédemment décrite) des isolats à vingt variétés de laitues possédant chacune l'un des gènes (Dm) ou des facteurs (R) de résistance identifiés. Sur les dix-huit facteurs de résistance définis (Crute *et al.*, 1987), quatorze gènes Dm ont été identifiés (Farrara *et al.*, 1987; Ilott *et al.*, 1987). Notre grille d'hôtes différentiels (tableau 2) permet d'identifier treize de ces gènes, les deux facteurs  $R_{12}$  et  $R_{18}$  et la résistance de Bourguignonne. Les trois isolats résistants aux phénylamides collectés en France (Alsace et Roussillon) présentent le même spectre de virulence (tableau 2) : seules les variétés Sabine, Saffier, Kinemontepas, Mariska et Musette ne sont pas attaquées. Ce résultat peut s'expliquer par une absence de virulence vis-à-vis de Dm6, Dm16 et  $R_{18}$ . Un isolat de *B. lactucae* sensible aux phénylamides collecté durant l'hiver 87-88 dans le Roussillon présentait le même spectre de virulence, lequel se trouve, notons-le, similaire à celui de l'isolat appelé NL 15 (différence seulement avec Bourguignonne, variété ayant une résistance différente selon les origines des graines.

**Tableau 2. — SPECTRES DE VIRULENCE DE SOUCHES DE *B. LACTUCAE* RESISTANTES AUX FONGICIDES PHÉNYLAMIDES COLLECTÉES EN FRANCE**

(+ et - indiquent respectivement que la variété est attaquée ou non)

Variétés de laitues	Gène de résistance de <i>B. lactucae</i> d'après Ilott <i>et al.</i> (1987)	Réponse des isolats résistants (voir origines dans le tableau 1)
Cobham-Green ....	Pas de gène	+
Lednicky .....	Dm1	+
Blondine .....	Dm1 + Dm13	+
UCDM 2 .....	Dm2	+
Dandie .....	Dm3	+
T 57 .....	Dm4	+
Valmaine .....	Dm5/8 (a)	+
Valverde .....	Dm5/8 (a)	+
Sabine .....	Dm6	-
Musette .....	Dm6 + Dm11 (b)	-
GL 659 .....	Dm7 + Dm13 (c)	+
Bourguignonne 9b .	$R_{5/8} + R_{9b}$ (b)	+
Sucriner .....	Dm5/8 (a) + Dm10	+
Capitan .....	Dm11	+
Pennlake .....	Dm13	+
Vanguard 75 .....	Dm7 + Dm10 + Dm13	+
Saffier .....	Dm1 + Dm3 + Dm7 + Dm16	-
Kinemontepas ....	Dm10 + Dm13 + Dm16	-
Prado (Hilde) .....	$R_{12}$ (d)	+
Mariska .....	$R_{18}$ (d)	+

(a) : les gènes Dm5 et Dm8 sont identiques.

(b) : d'après Crute *et al.* (1987).

(c) : variété probablement identique à Mesa 659.

(d) : la résistance de ces variétés n'a pas été bien caractérisée.

## Conclusion - Discussion.

La confrontation des résultats obtenus par Crute *et al.* (1987) en Grande-Bretagne et nos observations indiquent que chez *B. lactucae* la résistance au métalaxyl est de

haut niveau. La résistance croisée positive entre cette phénylamide et le cyprofurame, le furalaxyl, l'ofurace (Crute *et al.*, 1987) touche également l'oxadixyl (une phénylamide associée au cymoxanil et au mancozèbe au sein du Pulsan). Quant aux spectres de virulence des iso-

lats résistants collectés en France et en Grande-Bretagne, ils se différencient pour deux gènes. En effet, dans notre pays, les isolats résistants aux phénylamides sont avirulents sur les variétés comportant le gène Dm6 et virulents sur celles comportant le gène Dm11; la situation inverse s'observe avec les isolats anglais.

Au vu des résultats précédents, il est évident que la stratégie proposée par Crute *et al.* (1987) qui consiste à cultiver des variétés comportant le gène Dm11 et à traiter avec des phénylamides est à proscrire en France. Par contre, l'utilisation des gènes Dm6, Dm16 et du facteur R<sub>18</sub> semble intéressante. Mais, sachant que très peu d'échantillons ont été étudiés, nous ne pouvons affirmer qu'il n'existe pas déjà en France des isolats résistants aux phénylamides, attaquant ces résistances. Des isolats, sensibles au métalaxyl, attaquant Sabine et Saffier ont été collectés dans d'autres régions.

Devant cette large virulence des isolats résistants aux phénylamides, la solution génétique est réduite dans l'immédiat pour les cultures sous abri, puisque les variétés actuellement les plus cultivées en France sont sensibles à ce type d'isolats. Parmi les nouvelles variétés, celles déclarées résistantes à NL15 ou possédant au moins l'un des gènes Dm6-Dm16 ou le facteur R<sub>18</sub> (notées dans les catalogues commerciaux gènes R<sub>6</sub>-R<sub>16</sub>-R<sub>18</sub>) seraient intéressantes.

Par conséquent, il convient de rationaliser la lutte chimique contre ce parasite. Tout d'abord, si nous nous en tenons aux recommandations générales d'emploi des phénylamides, les traitements de sol devraient être abandonnés. Cela se justifie du fait que, même appliquée sous forme de mélanges, seule la

« Purpan », revue de l'Ecole supérieure d'agriculture de Purpan-Toulouse, a publié récemment un numéro spécial : « Le guide pratique du producteur de kiwifruits » (n° 145 de sa collection). On peut se le procurer en s'adressant à « P.H.M.-Revue Horticole », B.P. 1516, 87021 Limoges cedex.

Prix franco : 100 F.

phénylamide subit un transport suffisant dans les parties aériennes et donc exerce une pression de sélection très forte (notamment de longue durée) sur les populations de *B. lactucae*. Bien évidemment, quand la résistance aux phénylamides est peu ou pas implantée, de telles applications sont efficaces en traitement de sol. Les solutions actuelles de remplacement, soit sont moins performantes (ex. : propamocarbe), soit risquent de générer de la phytotoxicité dans certaines conditions (ex. : phoséthyl-Al).

Quant aux traitements foliaires, il faut rappeler que seuls ceux appliqués préventivement ont toutes les chances d'être efficaces. Autrement dit, les interventions en curatif tant avec les phénylamides qu'avec le cymoxanil ou le phoséthyl-Al, sont à éviter. Si, dans les programmes de traitement, il faut envisager des alternances de spécialités commerciales comportant des matières

actives différentes (ne présentant pas entre elles de résistance croisée positive), une interrogation persiste sur l'intérêt du Pulsan dans les cultures où la résistance aux phénylamides (donc à l'oxadixyl) est fortement implantée. Si nous ne disposons d'aucun élément de réponse sur le mildiou de la laitue, nous pouvons toutefois considérer qu'au vu des résultats obtenus sur la pomme de terre et la vigne, l'emploi du Pulsan ne devrait pas entraîner de problèmes majeurs, à condition de suivre les prescriptions mentionnées en introduction (traitements préventifs, limitation du nombre d'interventions par cycle de culture et donc en alternance avec d'autres spécialités...) (Leroux, 1987). Enfin, il faut insister sur le fait qu'une production indemne de mildiou ne s'obtient que si une excellente protection est réalisée en pépinière et peu de temps après la plantation des laitues.

## REMERCIEMENTS

Nous les adressons aux collègues du C.E.A.P.O. (Perpignan), du G.R.I.S.P. de Colmar et de la Chambre d'Agriculture

de Haute-Savoie qui nous ont fourni les isolats de *Bremia* et les informations sur les calendriers de traitements effectués.

## Références bibliographiques

- BLOK I. (1987). — In Annual Report 1986 of Research Institute for Plant Protection, Wageningen (Pays-Bas), p. 18.
- COHEN Y. and COFFEY M.D. (1986). — Systemic fungicide and the control of Oomycetes. *Ann. Rev. Phytopathol.*, **24**, 311-338.
- CRUTE I.R. (1987). — The occurrence, characteristics, distribution, genetics and control of a metalaxyl-resistant pathotype of *Bremia lactucae* in the United Kingdom. *Plant Dis.*, **71**, 763-767.
- CRUTE I.R., NORWOOD J.M. and GORDON P.L. (1987). — The occurrence, characteristics, distribution in the United Kingdom of resistance to phenylamide fungicides in *Bremia lactucae* (lettuce downy mildew). *Plant Pathol.*, **36**, 297-315.
- DAVIDSE L.C. (1987). — Mechanisms of resistance in fungi to benzimidazoles, inhibitors of sterol biosynthesis and phenylamides. In *Combating resistance to xenobiotics* (Ed. Ford M. Hollomon D.W., Khambay B.P.S. and Sawicki R.M.) VCH Ellis Horwood, Chichester (U.K.), 216-227.
- FARRARA B.F., ILOTT T.W., MICHELMORE R.W. (1987). — Genetic analysis of factors for resistance to downy mildew (*Bremia lactucae*) in species of lettuce (*Lactuca sativa* and *L. serriola*). *Plant Pathol.*, **36**, 499-514.
- ILOTT T.W., DURGAN M.E., MICHELMORE R.W. (1987). — Genetics of virulence in Californian populations of *Bremia lactucae* (lettuce downy mildew). *Phytopathology*, **77**, 1381-1386.
- LEROUX P. (1987). — La résistance des champignons aux fungicides. *Phytoma*, **385**, 6-14 et **386**, 31-35.
- LEROUX P. et CLERJEAU M. (1985). — Resistance of *Botrytis cinerea* Pers. and *Plasmopara viticola* (Berk. and Curt.) Berl. and de Toni to fungicides in French vineyards. *Crop Prot.*, **4**, 137-160.
- URECH P.A. and STAUB T. (1985). — The resistance strategy for acylalanine fungicides. *Bull. OEPP*, **15**, 539-543.

## ABSTRACT

### DETECTION, IN FRANCE, OF STAINS OF BREMIA LACTUCAE (LETTUCE DOWNY MILDEW) RESISTANT TO METALAXYL AND OXADIXYL

As observed previously in United Kingdom strains of *B. lactucae* highly resistant to metalaxyl have been detected in France during winter 1987-1988 in protected cultures. Such resistant isolates were also resistant to oxadixyl (which is a phenylamide associated with cymoxanil and mancozeb in Pulsan). The french resistant strains were avirulent against the genes Dm6, Dm16 and resistance factor R<sub>18</sub>; but they were virulent against the gene Dm11 contrary to the strains from UK.

The practical consequences of the development of such strains are discussed. Combination of chemical (application of fungicides) and genetical (use of resistant varieties of lettuce) methods are proposed to insure a correct control of lettuce downy mildew.