

Surveillance Résistance Mildiou de la vigne

Plasmopara viticola

**CAA (Carboxylic acid amides),
Cyazofamide et Zoxamide**

1- Présentation - contexte

Le mildiou de la vigne est dû au champignon parasite *Plasmopara viticola* qui s'attaque à tous les cépages de vigne (*Vitis vinifera*). Il est présent dans tous les vignobles au niveau mondial. C'est la maladie qui a l'impact économique le plus important sur cette culture. La lutte contre le mildiou est, globalement en France, celle qui occasionne le plus de traitements sur vigne (jusqu'à ¾ des applications). Elle impose une série de traitements qui peut aller jusqu'à une dizaine au cours des années difficiles, les différences régionales pouvant s'expliquer par des conditions climatiques différentes ou des considérations économiques.

Compte tenu des risques importants de résistance vis à vis de certaines substances actives, un plan de surveillance national est mis en place par la DGAL (en concertation avec l'Anses) et les analyses sont confiées à l'unité Rpp de l'Anses-Lyon.

Les prélèvements sont effectués du mois de mai au mois de septembre, pendant la phase épidémique de la maladie.

Les tests de résistance vis à vis du groupe des **CAA**, sur les substances actives diméthomorphe (ou DMM) et iprovalicarbe, ont débuté en 2003 dans le but d'étudier la sensibilité de base à cette famille de fongicides. Dès cette année 2003, il a été mis en évidence au laboratoire l'existence de populations résistantes **à la fois** à l'iprovalicarbe et au DMM. L'étude a donc été poursuivie depuis 2003 en mettant l'accent sur la surveillance de la résistance croisée entre ces 2 produits, résistance croisée qui a été confirmée en 2006 et suivie jusqu'en 2009.

En 2010, la priorité porte à nouveau sur l'étude de la résistance aux CAA. La résistance croisée avec les autres produits de cette famille ayant été démontrée par l'unité Rpp au cours des années précédentes, les tests sont réalisés uniquement avec l'iprovalicarbe en tant que représentant de cette famille.

En ce qui concerne l'étude de la **zoxamide** (famille des benzamides), substance active commercialisée depuis 2003, la sensibilité de base est étudiée depuis 2004. Le mode d'action de ce produit est équivalent à celui de la famille des BMC et cette substance active est donc considérée comme à risque vis à vis des résistances (des cas de résistance à cette famille avaient été constatés dès les années 80 sur pourriture grise de la vigne, avec des cas de perte d'efficacité au vignoble). Même s'il n'a pas été constaté de dérive importante de sensibilité, du fait d'un risque potentiel, la surveillance de l'apparition de la résistance s'est néanmoins poursuivie en 2010 sur des parcelles ayant reçu cette substance active durant 3 ans au minimum.

Enfin, en 2010 s'est également mise en place l'étude de la sensibilité de base de la **cyazofamide**, substance active de la famille des QiI, autorisée depuis octobre 2009 sur mildiou de la vigne.

2- Description brève de la méthode utilisée

Il s'agit d'une méthode d'analyse basée sur des tests biologiques.

Les échantillons sont prélevés dans des sites sensibles au mildiou. Un protocole de prélèvement rédigé par l'unité Rpp de l'Anses est envoyé aux préleveurs (via la personne ressource "*Maladies cryptogamiques de la vigne*" de la DGAL), ainsi qu'une fiche de prélèvement à remplir pour chaque échantillon. Au niveau régional, la collecte des échantillons est organisée par les Draaf-Sral et réalisée avec le concours du réseau d'épidémiologie-surveillance. Les échantillons de feuilles de vigne atteintes de mildiou sont prélevés et envoyés à l'unité Rpp de l'Anses-Lyon avec l'historique des traitements de chaque échantillon. Le programme de prélèvements d'échantillons est établi avec l'expert-référent et la personne ressource de la DGAL afin de prévoir une répartition par vignoble (environ 80 échantillons pour 2010).

Les tests biologiques ne sont jamais réalisés directement sur l'échantillon. Ils sont effectués après deux étapes :

- lavage des feuilles, découpe des taches, mise en chambre humide et nouvelle sporulation des taches sous 24 heures.
- repiquage de l'inoculum obtenu sur feuilles saines avec une nouvelle sporulation au bout de 8 jours.

C'est sur cette nouvelle sporulation que sont réalisés les tests. Si la quantité de spores est insuffisante, un nouveau repiquage du champignon est réalisé.

Iprovalicarbe : Test biologique sur disques foliaires - Méthode dite « volume à volume »

Les données obtenues au cours des années précédentes sur cette substance active ayant permis de bien cerner les valeurs de CI50 (concentration inhibitrice de 50 % de la population) et de CMI (concentration minimale inhibitrice de 100 % de la population), la gamme de doses a été réduite aux 3 concentrations qui sont apparues les plus discriminantes.

Les doses utilisées en 2010 sont donc : **témoin 0 – 3 – 10 – 100 mg/L**

Les solutions fongicides sont appliquées sur les disques foliaires par dépôt de gouttes, en mélange avec la suspension de spores à raison de 1 volume de fongicide (à 6, 20 et 200 mg/L) pour 1 volume de suspension de spores (200 000 spores/mL)

Cyazofamide : Test biologique sur disques foliaires - Méthode dite « volume à volume »

Une gamme de 6 doses est testée afin de déceler au mieux les dérives de sensibilité.

Concentrations testées : **0 – 0,001 – 0,01 – 0,1 – 1 – 10 – 100 mg/L**

Les solutions fongicides sont appliquées sur les disques foliaires par dépôt de gouttes, en mélange **volume à volume** avec la suspension de spores.

Zoxamide : Test biologique sur disques foliaires - Méthode dite « volume à volume »

Une gamme de 5 doses est testée afin de déceler au mieux les dérives de sensibilité.

Concentrations testées : **0 – 0,01 – 0,1 – 1 – 10 – 100 mg/L**

Les solutions fongicides sont appliquées sur les disques foliaires par dépôt de gouttes, en mélange **volume à volume** avec la suspension de spores.

Nombre de répétitions :

Pour chaque analyse et pour chaque dose, une boîte de Petri contient 10 disques de feuille de vigne, avec, pour chaque disque, un dépôt de 3 gouttes de suspension de spores. Chacune de ces gouttes constitue une répétition, ce qui représente 30 répétitions par dose.

Notation :

Il s'agit d'une notation qualitative de l'intensité de la sporulation (observée pour chaque dépôt de goutte) après 7 jours d'incubation. La notation est réalisée selon un abaque qui permet d'attribuer une note de 0 à 4. La moyenne des 30 notes est calculée et transformée en pourcentage de sporulation par rapport au témoin. Le test est validé si la note du témoin est au minimum de 2.

A partir des courbes représentant le pourcentage de sporulation par rapport au témoin, en fonction du logarithme (\log_{10}) des concentrations testées, la CI50 (concentration qui inhibe 50% de la sporulation par rapport au témoin) et la CMI (concentration qui inhibe 100 % de la sporulation) sont déterminées.

3- Résultats - Discussion

3-1 Résultats CAA

Tableau 1 : nombre d'échantillons analysés par région en 2010

Régions	échantillons demandés	échantillons reçus	échantillons reçus exploitables et analysés	Commentaires
Alsace	4	0		
Lorraine		0		
Aquitaine	8	14	13	1 inexploitable
Auvergne	4	2	2	
Centre		0		
Bourgogne	8	11	10	+ 1 éch. Inoculum essai
Champagne	8	13	12	1 inexploitable
Franche-comté	4	3	2	1 inexploitable
Languedoc-Roussillon	5	0		
Midi-Pyrénées	8	14	7	1 inexploitable + 6 éch. Essai
PACA	5	1	1	
Pays de Loire	6	3	3	
Poitou-Charentes	8	16	10	+ 6 éch. Essai
Rhône-Alpes	6	12	11	1 inexploitable
total	74	89	71	

Parmi les 89 échantillons reçus des différentes régions concernées par ce plan de surveillance (tableau 1), 6 provenaient de différentes parcelles (après traitement) d'un essai "efficacité", 1 correspondait à l'inoculum initial de l'essai (testé avant inoculation artificielle des différentes modalités) et 71 provenaient de parcelles de vignoble ayant présenté une sporulation suffisante pour permettre la réalisation des tests de résistance.

Tableau 2 : résultats de tests CAA par région - en nombre de parcelles Résistantes (R), en dérive de sensibilité (r) et Sensibles (S)

2010 (71 parcelles)	Nombre de parcelles avec :			total
	Populations Résistantes	Populations présentant une Dérive de sensibilité	Populations Sensibles	
Région	R	r	S	
Alsace - Lorraine				0
Aquitaine	5	6	2	13
Auvergne	0	0	2	2
Centre				0
Bourgogne	4	5	1	10
Champagne	5	7	0	12
Franche-Comté	1	1	0	2
Languedoc-Roussillon				0
Midi-Pyrénées	6	0	1	7
PACA	1	0	0	1
Pays de Loire	3	0	0	3
Poitou-Charentes	9	1	0	10
Rhône-Alpes	6	3	2	11
total	40	23	8	71
	56,3%	32,4%	11,3%	

Trois types de populations de souches de mildiou sont identifiés (tableau 2) :

- les populations Sensibles (S) : CI50 (de <0,3 à 3 mg/L) et CMI maximale de 10
- les populations avec une Dérive de sensibilité (r) : CI50 de type sensible et CMI élevée (>10)
- les populations Résistantes (R) : CI50 (> 3) et CMI élevées (> 10)

Figure 1 : évolution de la résistance aux CAA de 2005 à 2010

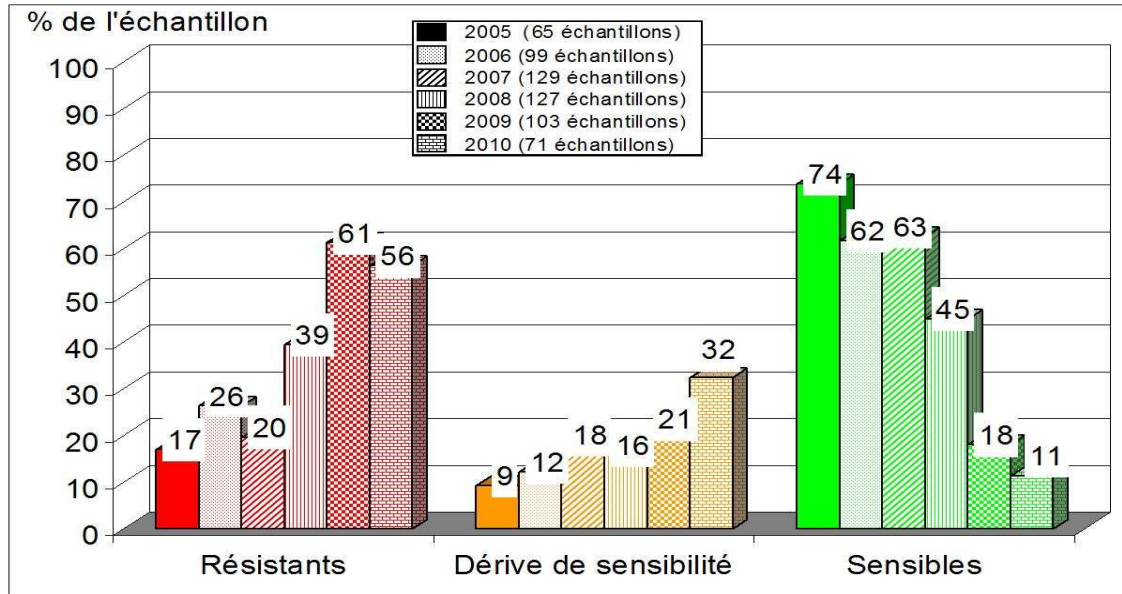
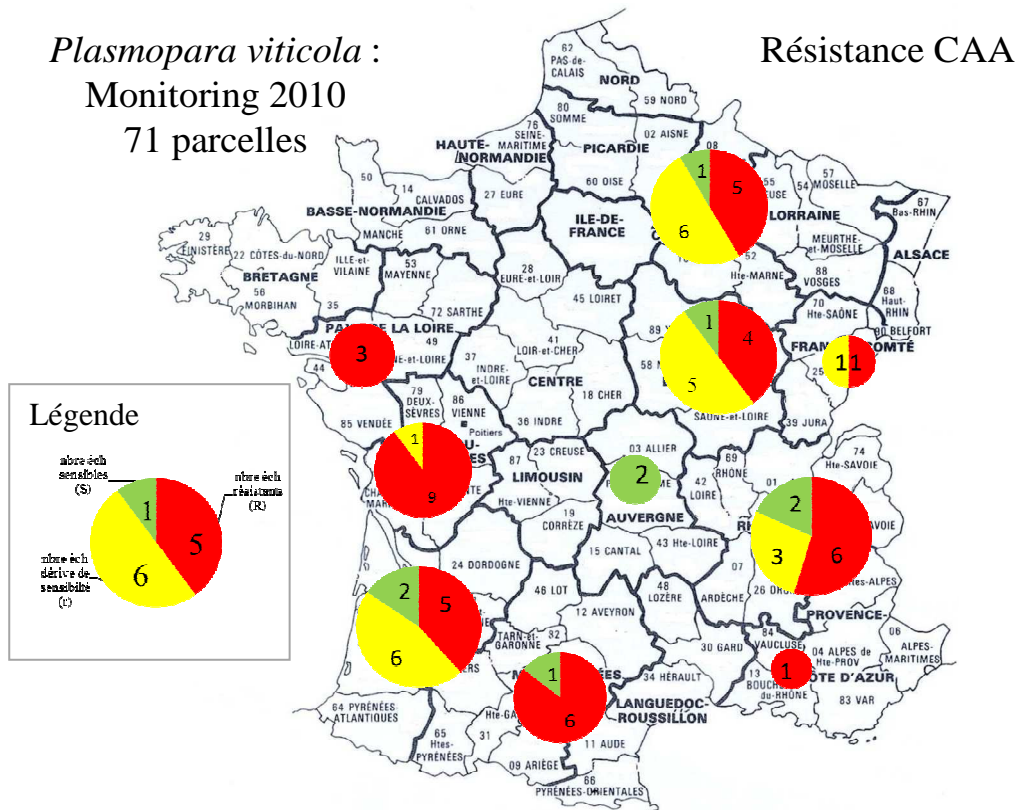


Figure 2 : Cartographie 2010 de la résistance aux CAA de *Plasmopara viticola*



Au niveau national, la progression de la résistance s'est accentuée en 2008, elle est sans doute à mettre en relation avec la forte pression de mildiou en 2007 et l'utilisation importante des CAA dans la lutte contre *Plasmopara viticola*. La progression de la résistance s'est poursuivie en 2009 (figure 1). En 2010, avec un nombre d'échantillons en diminution par rapport aux années précédentes, mais une répartition par vignoble voisine de celle de 2009, les résultats confirment l'évolution de la résistance constatée en 2009. Les sites sensibles sont peu fréquents, aux alentours de 11% et les sites résistants dominent largement (62% en 2009 et 56% en 2010) (tableau 2 et figure 2).

3-2 Résultats Cyazofamide

63 populations (choisies parmi les 71 parcelles exploitables du plan de surveillance CAA) ont été soumises aux tests de résistance vis-à-vis de la cyazofamide. La très grande majorité des populations analysées présentent une CI50 moyenne de 0,01 mg/L avec des valeurs minimale et maximale respectivement de 0,001 et 0,05 mg/L. La CMI maximale s'avère être ≤ 1 mg/L pour 84% des populations testées.

Tableau 3 : résultats test résistance cyazofamide

Régions	populations avec CMI > 100 mg/L	populations avec CMI > 1 mg/L	populations avec CMI ≤ 1 mg/L	Total parcelles
Aquitaine	1	1	11	13
Auvergne			1	1
Bourgogne	1	2	5	8
Champagne			10	10
Franche-Comté		1	1	2
Midi-Pyrénées	1	1	4	6
PACA			1	1
Pays de Loire		1	2	3
Poitou-Charentes			9	9
Rhône-Alpes	1		9	10
Total	4	6	53	63

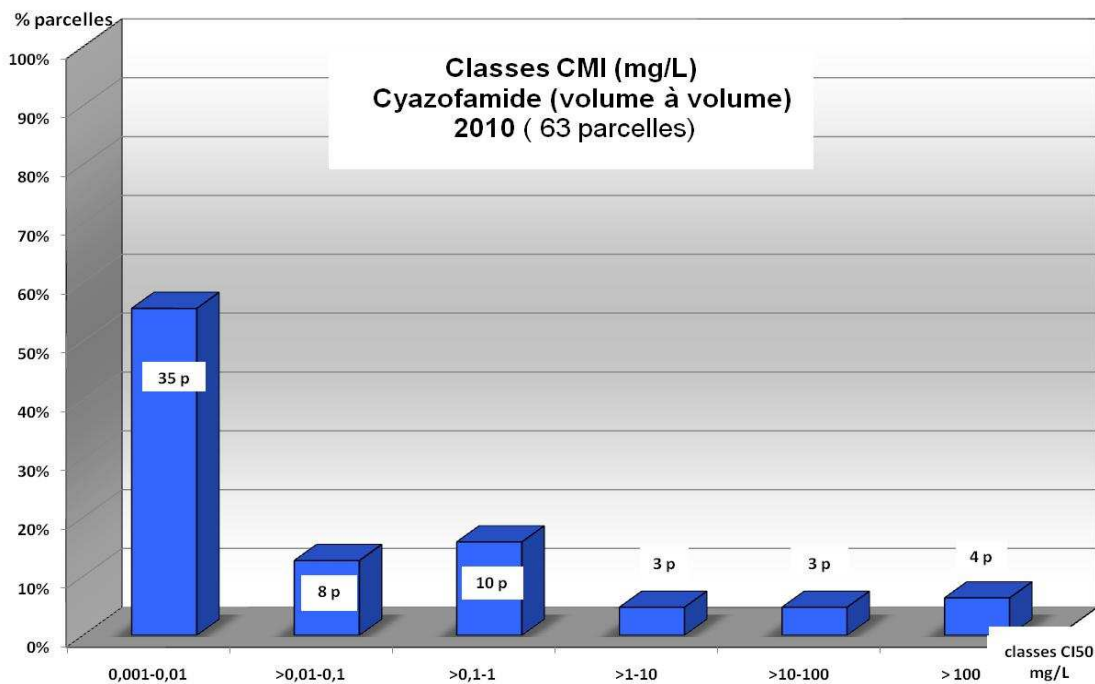
Par contre, cette première année d'analyse a permis de mettre en évidence l'existence de 4 populations provenant de 4 vignobles différents avec des CMI > 100 mg/L démontrant l'existence de souches résistantes, avec des fréquences variables selon la population considérée.

Ainsi, à 100 mg/L,

- la population de Midi-Pyrénées présente encore 86% de sporulation,
- la population de Bourgogne : 22% de sporulation,
- la population d'Aquitaine : 17% de sporulation,
- la population de Rhône-Alpes : 13% de sporulation.

Des analyses complémentaires sont en cours sur ces populations.

Figure 3 : classes des CMI Cyazofamide



A noter également, 6 populations pour lesquelles la CMI s'avère supérieure à 1 mg/L (ou 10 mg/L) (donc supérieure à la CMI des populations considérées comme sensibles). Cependant, pour celles-ci, la germination à 10 et 1 mg/L est faible (de l'ordre de 2 à 4 %). Pour ces populations, se pose la question de la présence d'une minorité de souches (faiblement ?) résistantes. Ces parcelles devront faire l'objet d'un nouveau prélèvement en 2011.

3-3 Résultats Zoxamide

Cette année, 33 populations (choisies parmi les 71 parcelles analysées en CAA) ont été soumises aux tests de résistance vis-à-vis de la zoxamide.

La majorité d'entre elles (30) ont un comportement vis-à-vis de la zoxamide du type sensible avec des CI50 < 0,09 mg/L et des CMI maximales de 1 mg/L (voir figure 4 et 5 en annexe).

Tableau 4 : résultats test résistance Zoxamide

Région	Populations avec CMI > 1 mg/L	Populations Sensibles	Total parcelles
Aquitaine	1	5	6
Auvergne		1	1
Bourgogne	1	4	5
Champagne		6	6
Midi-Pyrénées		3	3
Pays de Loire		2	2
Poitou-Charentes	1	3	5
Rhône-Alpes		6	6
total	3	30	33

Cependant trois populations ont montré une CMI supérieure à 1 mg/L :

- une population en Aquitaine avec 2% de sporulation à 1 mg/L
- une population en Bourgogne avec 1% de sporulation à 1 mg/L
- une population en Poitou-Charentes avec 2% de sporulation à 1 mg/L.

Etant donné le faible pourcentage de sporulation à 1 mg/L, ces 3 échantillons ne sont pas considérés comme étant en dérive de sensibilité. Les 3 parcelles concernées devront être prélevées à nouveau en 2011 pour une nouvelle analyse afin de surveiller l'évolution éventuelle de ces populations.

4- Conclusions – perspectives

Le plan de surveillance Mildiou de la vigne 2010 a concerné essentiellement 3 familles de fongicides :

- les **CAA** (iprovalicarbe) pour laquelle les plans de surveillance successifs (débutés en 2003) montrent, notamment depuis 2009, une progression du nombre de parcelles possédant des souches résistantes.
L'existence d'une résistance croisée entre toutes les substances actives appartenant à cette famille a entraîné des recommandations de limitation du nombre d'applications dans les *notes nationales* éditées depuis 2004. Ces recommandations ont été renouvelées avec plus de force dans la *note nationale 2011*.
L'évolution de ces résistances est à suivre avec attention dans les années à venir.
- les **QiI** (cyazofamide) : ce premier plan de surveillance (mis en place après une seule campagne d'utilisation de la première substance active possédant ce mode d'action)

révèle l'existence d'un certain nombre de parcelles avec des populations présentant un pourcentage variable de souches résistantes.

Ces résultats ont fait l'objet de recommandations dans la *note nationale 2011*. L'évolution de cette situation devra être suivie au cours des prochaines années. En parallèle, des études seront menées pour comprendre les mécanismes de résistance en jeu et appréhender l'impact de ces mécanismes sur l'efficacité au champ des substances actives appartenant à cette famille.

- les **benzamides** (zoxamide) : ayant fait l'objet de plans de surveillance depuis 2004, cette famille ne semble pas, pour l'instant, poser de problèmes majeurs de résistance chez le mildiou de la vigne.

En conclusion, pour les futurs plans de surveillance sur ce parasite majeur de la vigne, un effort particulier devra être fait vis-à-vis de la famille des **QoI**, compte tenu du contexte : existence de populations possédant une proportion détectable de souches résistantes (après seulement une année d'utilisation de la première substance active présentant ce mode d'action) et, par ailleurs, avant la probable très prochaine arrivée sur le marché de plusieurs autres substances actives de la même famille.

5- Partenaires Scientifiques

- INRA Versailles (Anne-Sophie Walker)
- Expert-référent national vigne Draaf-Sral Rhône-Alpes (Jacques Grosman)
- Personne ressource Vigne Draaf-Sral Bourgogne (Claude Magnien)

6- Bibliographie

- C. Magnien, A. Micoud, M. Glain, F. Remuson – 2003 : « La résistance du mildiou de la vigne aux QoI - Plan de surveillance et essais de comportement en 2002 ». AFPP Tours, 7^{ème} conférence internationale sur les maladies des plantes, 3-4-5 décembre 2003
- C. Magnien, A. Micoud, F. Remuson, J. Grosman – 2009 : « La résistance du mildiou de la vigne aux fongicides : résultats des plans de surveillance de la Sous Direction de la Qualité et de la Protection des Végétaux de 2005 à 2008 ». AFPP Tours, 9^{ème} conférence internationale sur les maladies des plantes, 8 et 9 décembre 2009
- Lien Draaf Rhône-Alpes *note nationale MILDIOU de la VIGNE 2011* : http://draaf.rhone-alpes.agriculture.gouv.fr/rubrique.php3?id_rubrique=217

7- Annexes :

Figure 4 : Classes CI50 tests Zoxamide

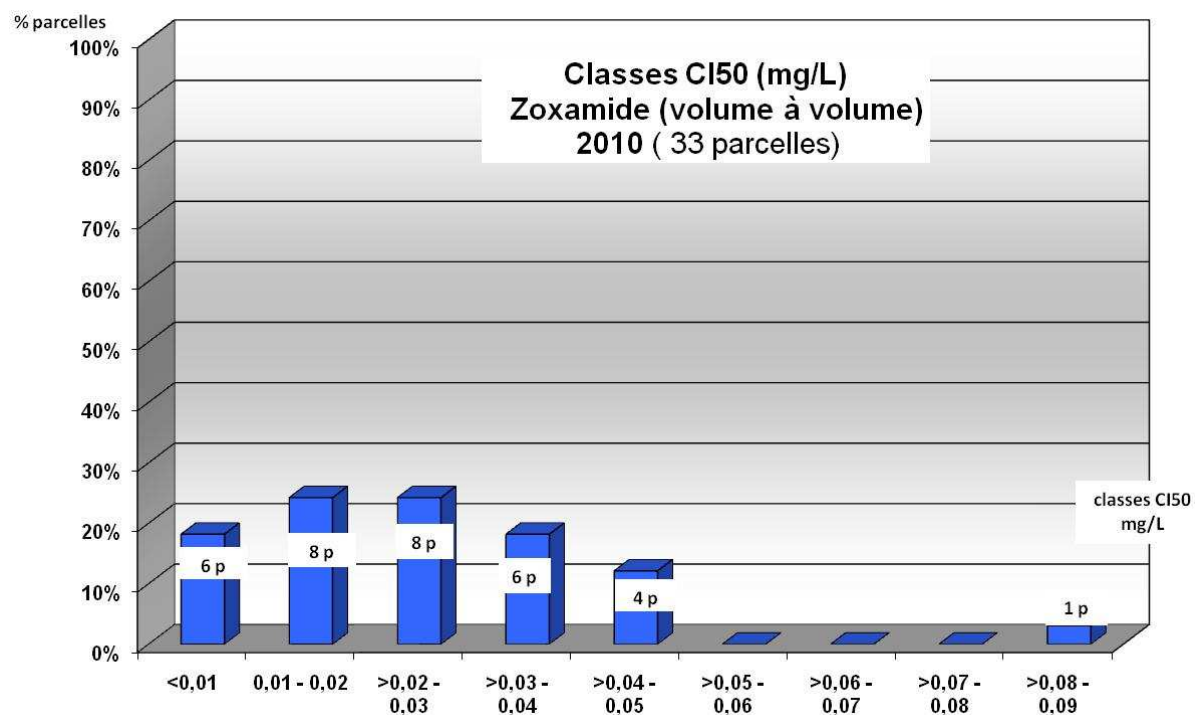


Figure 5 : Classes CMI tests Zoxamide

