

# Résistance du mildiou de la vigne (*Plasmopara viticola*) vis-à-vis des CAA et des Qil

## PLAN DE SURVEILLANCE 2012

### Résumé :

En 2012, le suivi de la résistance du mildiou de la vigne aux fongicides a été réalisé vis-à-vis des Qil (Quinone Inhibitors) au niveau national, et des CAA (Carboxylic Acid Amides) sur essentiellement 3 régions (Bourgogne, Champagne et Rhône-Alpes). Ce suivi est effectué grâce à la mise en place de tests biologiques : le champignon *Plasmopara viticola*, sous forme de suspension de spores, est mis en contact, sur disques de feuilles saines, avec chaque fongicide à différentes doses. L'analyse met donc en évidence la présence plus ou moins importante de phénotypes résistants.

- Pour les **CAA**, la résistance a été confirmée en 2012 dans la plupart des vignobles. Dans ce contexte, une surveillance est maintenue afin de suivre l'évolution de cette résistance.
- Le suivi de la résistance aux **Qil** a été la priorité de cette année 2012, suite à la mise en évidence, en 2010 et 2011, de 10 parcelles avec des populations présentant un pourcentage variable mais faible de souches résistantes. L'objectif 2012 a donc été de poursuivre la surveillance de l'émergence de populations résistantes : 3 populations contenant quelques souches non sensibles ont été détectées sur 94 testées.

18 mars 2013

## 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). Ce nombre peut atteindre la dizaine lors des années difficiles, les différences régionales pouvant s'expliquer par des conditions climatiques différentes ou des considérations économiques.

Le plan national de surveillance des phénomènes de résistance, organisé annuellement par le Ministère en charge de l'Agriculture (Sous-Direction de la Qualité et de la Protection des Végétaux de la Direction Générale de l'Alimentation) est désormais intégré au suivi des effets non intentionnels des pratiques agricoles dans l'axe 5 du plan ECOPHYTO (surveillance biologique du territoire). Il a pour objet de recueillir des informations sur d'éventuelles dérives de sensibilité des champignons aux fongicides. Selon les résultats, des investigations complémentaires renseigneront sur les pertes d'efficacité susceptibles d'être engendrées par le développement de la résistance. L'analyse de toutes ces données permet d'élaborer les recommandations dans la note technique commune "maladies de la vigne" et apporte des éléments complémentaires dans le cadre de la post-autorisation des produits phytosanitaires.

Le programme et le protocole de prélèvement sont élaborés au niveau national en fonction des enjeux agronomiques. Les prélèvements sont réalisés sous coordination régionale dans le cadre des réseaux de surveillance biologique du territoire.

Les tests de résistance ont été réalisés par l'unité Résistance aux produits phytosanitaires (Rpp) du laboratoire de l'Anses-Lyon.

**Au niveau CAA :** La sélection de la résistance au diméthomorphe (CAA) en France remonte à 1994. Depuis 2003, la famille des CAA s'est élargie avec l'arrivée sur le marché de nouvelles substances actives : iprovalicarbe (2003), benthiavalicarbe, mandipropamid (2009) et valifénalate (2010). L'importance prise par cette famille dans la lutte contre le mildiou et la progression de la résistance observée localement en 2007 et confirmée en 2008 a justifié de poursuivre l'étude de la résistance aux CAA. Les tests de résistance vis à vis du groupe des **CAA** (Carboxylic Acid Amides), 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 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 deux produits qui a été confirmée en 2006 et suivie jusqu'en 2009, année où la situation de la résistance aux CAA s'est dégradée et les sites résistants sont devenus majoritaires dans la plupart des vignobles.

En 2012 (comme en 2010 et 2011) l'évolution de cette résistance aux CAA s'est donc poursuivie, en se basant uniquement sur l'iprovalicarbe, sur 35 parcelles (nombre de populations testées suffisant pour juger d'une évolution) concentrées essentiellement sur les régions de Bourgogne, Rhône-Alpes et Champagne. Ce choix de suivre la résistance sur uniquement 3 vignobles a été dicté par trois raisons principales : des résultats disponibles en nombre suffisant depuis 2005, une évolution de la résistance aux CAA dans ces vignobles similaire à celle observée au niveau national et une réduction marquée de l'emploi des fongicides à base de CAA depuis 2010.

**Au niveau Qil :** l'étude sur les Qil a été mise en place en 2010, suite à l'autorisation de mise sur le marché en octobre 2009 d'une préparation contenant de la cyazofamide sur mildiou de la vigne. Dès cette première année d'analyses, la présence de quelques souches résistantes a été détectée dans quelques populations, ce qui a justifié la poursuite de ce suivi en 2011 et 2012.

## **2- Description brève de la méthode utilisée**

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

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 pour obtenir une nouvelle sporulation au bout de huit 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 sur feuilles saines.

**Qil** : test biologique sur disques foliaires - Méthode dite « volume à volume ».

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

Concentrations testées : **0 (témoin) – 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 : un volume de fongicide (à 0,02 – 0,2 – 2 – 20 et 200 mg/L) pour un volume de suspension de spores (200 000 spores/mL).

**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 trois concentrations qui sont apparues les plus discriminantes.

Les doses utilisées en 2012 sont donc : **0 (témoin) – 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 d'un volume de fongicide (à 6, 20 et 200 mg/L) pour un volume de suspension de spores (200 000 spores/mL)

### **Nombre de répétitions :**

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

### **Notation :**

Les boîtes inoculées sont placées en enceinte climatique à l'obscurité à 22°C pendant 48 à 72 heures. Les gouttes sont alors aspirées et les boîtes remises à l'étuve à 22°C avec une photopériode de 16 heures de jour et 8 heures de nuit pendant 4 jours. Une notation visuelle, qualitative de l'intensité de la sporulation, est faite 7 jours après l'inoculation. La notation est réalisée selon une échelle qui permet d'attribuer une note de 0 (sporulation nulle) à 4 (sporulation intense).

La moyenne des 30 notes est calculée et transformée en pourcentage d'intensité de sporulation par rapport au témoin. Le témoin doit avoir une note minimale de 2 pour valider le test.

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

## **3- Prélèvements des échantillons**

Les échantillons sont prélevés dans des sites sensibles au mildiou, pendant la phase épidémique de la maladie, au cours des mois de mai à septembre.

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. Par parcelle, l'échantillon est constitué d'une trentaine de feuilles prélevées sur 30 cepes différents qui portent des taches de mildiou récentes. Au niveau régional, la collecte des échantillons est organisée par les animateurs des réseaux de surveillance biologique du territoire, sous supervision des Draaf-Sral. Les échantillons 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 national et la personne ressource de la DGAL afin de prévoir une répartition par vignoble (environ 110 échantillons pour 2012).

Tableau 1 : nombre d'échantillons analysés par région en 2012

Régions	échantillons demandés	échantillons reçus	échantillons reçus exploitables et analysés	Commentaires Tests réalisés
Alsace	5	5	4	Qil
Aquitaine	15	15	15	Qil
Bourgogne	15	21	15	Qil + CAA
Centre	5	5	2	
Champagne	15	16	15	Qil + CAA
Franche-Comté	5	5	5	Qil
Languedoc-Roussillon	5	2	2	Qil
Midi-Pyrénées	10	13	7	Qil
PACA	5	2	2	Qil
Pays de la Loire	10	10	8	Qil
Poitou-Charentes	10	12	9	Qil
Rhône-Alpes	10	10	10	Qil + CAA
total	110	116	94	

#### 4- Résultats

Parmi les 116 échantillons reçus des différentes régions concernées par ce plan de surveillance (tableau 1), 94 proviennent de parcelles de vignoble ayant présenté une sporulation suffisante pour permettre la multiplication de l'inoculum et la réalisation des tests de résistance vis-à-vis des Qil et/ou des CAA.

##### 4-1 Résultats CAA

Les résultats sont exprimés en fonction de 2 critères :

- la CI50 qui représente la concentration limitant de 50 % l'intensité de sporulation par rapport au témoin.
- la CMI qui correspond à la concentration minimale inhibant 100 % de la sporulation.

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

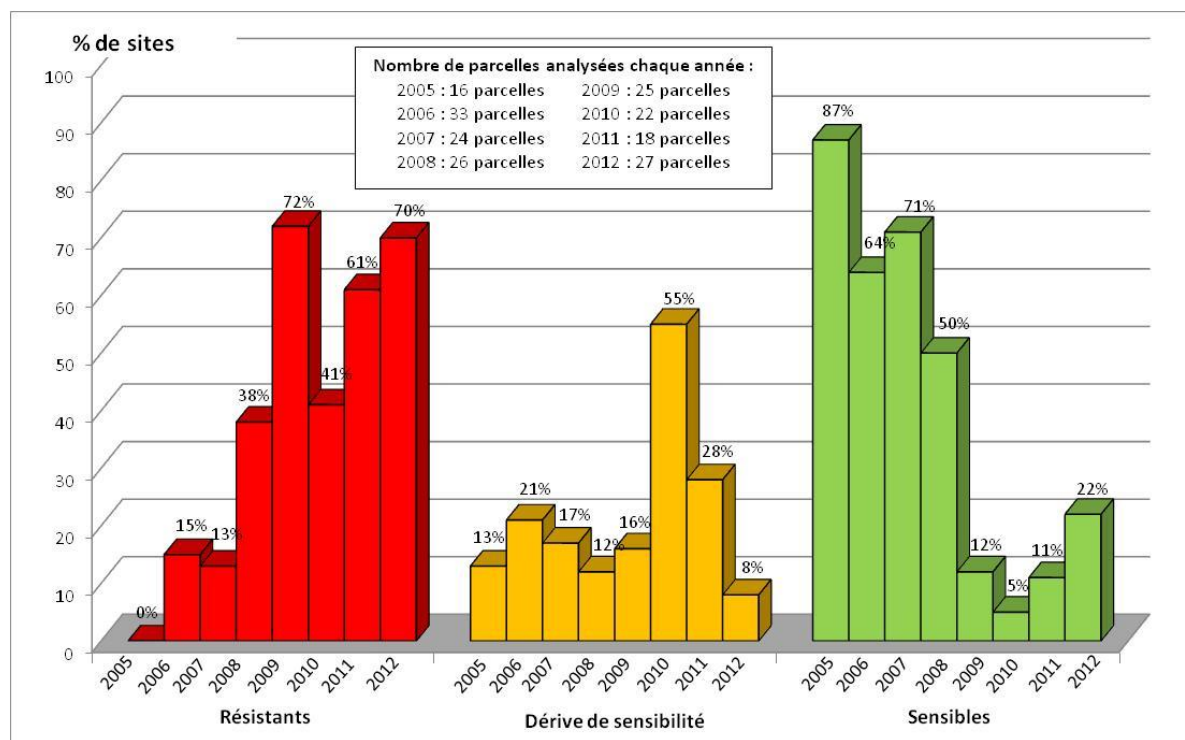
- les populations **sensibles** (S) : CI50 (de <0,3 à 3 mg/L) et CMI maximale de 10,
- les populations avec une **dérive de sensibilité** (r) : CI50 de type sensible (de < 0,3 à 3 mg/L) et CMI élevée (>10 mg/L) : ces populations ont un comportement comparable aux populations sensibles mais des souches résistantes sont présentes au sein de la population,
- les populations **résistantes** (R) : CI50 (> 3 mg/L) et CMI élevées (> 10 mg/L).

Tableau 2 : résultats de tests CAA par région - en nombre de parcelles présentant des populations résistantes (R), en dérive de sensibilité (r) et sensibles (S)

2012 (35 parcelles)	CAA - Nombre de parcelles avec :			total
	Populations résistantes	Populations présentant une dérive de sensibilité	Populations sensibles	
Région	R	r	S	
Bourgogne	10		5	15
Champagne-Ardenne	9	2	1	12
Rhône-Alpes	7	0	1	8
<b>Total</b>	<b>26</b>	<b>2</b>	<b>7</b>	<b>35</b>
Répartition en %	<b>74%</b>	<b>6%</b>	<b>20%</b>	

Durant la campagne 2009, la situation de la résistance aux CAA s'était fortement dégradée et les sites résistants étaient devenus majoritaires dans la plupart des vignobles. En 2010, la pression de la maladie a été plus faible, quasi inexistante en 2011. En 2012, la pression de la maladie a été un peu plus forte. Malgré la baisse d'utilisation de ces fongicides constatée ces 3 dernières années (moins de 1 traitement en moyenne), la résistance est toujours fortement installée en 2012 avec 78% des sites présentant des souches résistantes (sites résistants + sites en dérive de sensibilité). Depuis 2009, les sites sensibles sont peu fréquents (10% en moyenne sur 2009 et 2011), mais remontent légèrement en 2012 (22%) sans atteindre le niveau des années 2006 à 2008 (62% en moyenne).

Figure 1 : évolution de la résistance aux CAA de 2005 à 2012 : Bourgogne + Champagne



#### 4-2 Résultats Qil

La surveillance de la **résistance aux Qil** a été engagée en 2010 et maintenue en 2011 et 2012. Au cours de ces trois années, la très grande majorité (93 %) de toutes les populations analysées (nombre total : 222) ont présenté des CMI inférieures (voire très inférieures) à 1 mg/L. Quelques populations ont néanmoins fait exception.

Ainsi, en 2010, à l'issue de cette première année de suivi, il a été identifié dans 5 des 63 populations analysées, la présence de quelques souches résistantes caractérisées par des CMI élevées (supérieures à 100 mg/L). Ces cinq populations ont été découvertes dans quatre vignobles différents (Aquitaine, Bourgogne, Champagne, Midi Pyrénées et Rhône-Alpes). De plus, 3 populations contenaient quelques souches non contrôlées à 10 mg/L (en Aquitaine, Franche Comté et Midi-Pyrénées).

En 2011, des analyses effectuées sur des populations provenant des cinq sites repérés en 2010 avec une CMI supérieure à 100 mg/L, n'ont pas permis de retrouver trace de souches résistantes. Par contre, dans 2 populations sur 65 analysées, la présence de souches non contrôlées à 100 mg/L de Qil a été à nouveau décelée dans deux parcelles du Jura (dont une déjà repérée en 2010 avec quelques souches non contrôlées à 10 mg/L). Quelques souches non contrôlées à 10 mg/L ont également été détectées dans une population en Champagne.

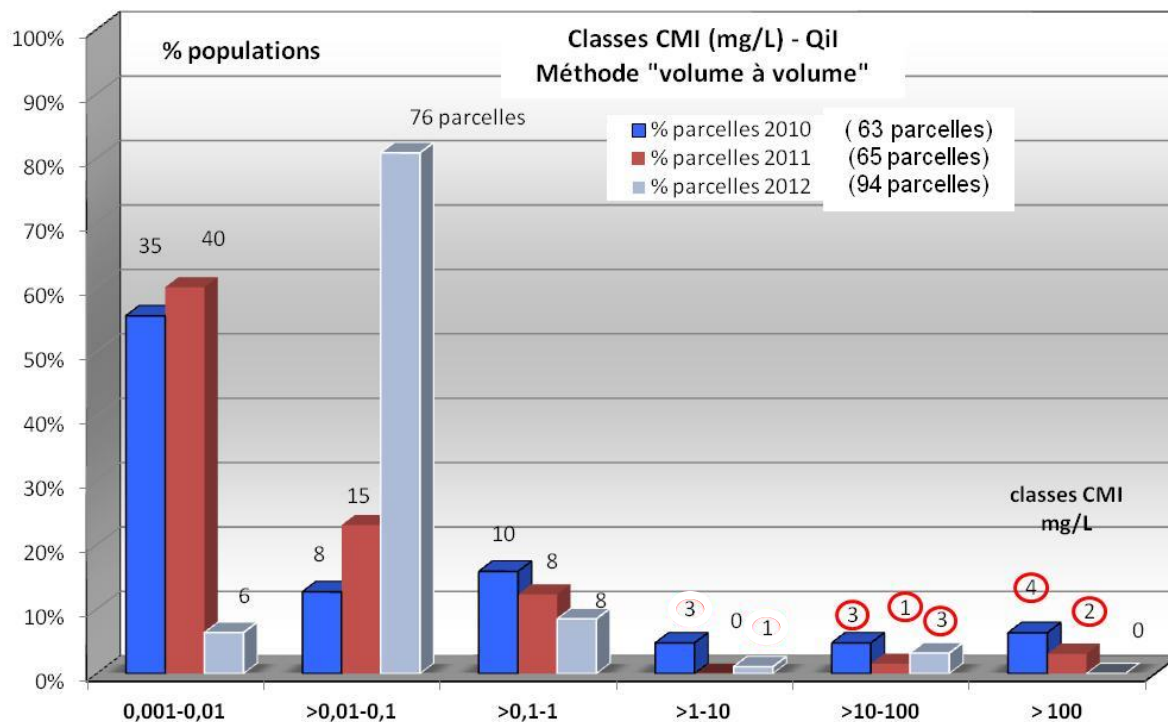
Tableau 3 : résultats des tests de résistance aux Qil en 2012

Régions	populations avec CMI ]10 - 100] mg/L	populations avec CMI ]1 – 10] mg/L	populations avec CMI ≤ 1 mg/L	Total parcelles
Alsace	0	0	4	4
Aquitaine	0	0	15	15
<b>Bourgogne</b>	<b>1</b>	0	14	15
Centre	0	0	2	2
<b>Champagne</b>	<b>1</b>	0	14	15
Franche-Comté	0	0	5	5
Languedoc-Roussillon	0	0	2	2
Midi-Pyrénées	0	0	7	7
PACA	0	0	2	2
Pays de la Loire	0	0	8	8
<b>Poitou-Charentes</b>	0	<b>1</b>	8	9
<b>Rhône-Alpes</b>	<b>1</b>	0	9	10
Total	<b>3</b>	<b>1</b>	90	94

En 2012, 94 populations (parcelles) ont été soumises aux tests de résistance vis-à-vis des Qil (tableau 3). La très grande majorité des populations analysées (90) présente une CMI inférieure ou égale à 1 mg/L. 4 cas de populations avec présence de souches non contrôlées ont été détectés :

- 1 population en Poitou-Charentes avec quelques souches non maîtrisées à 1 mg/L (CMI comprise entre 1 et 10 mg/L),
- 3 populations non maîtrisées à 10 mg/L (CMI comprises entre 10 et 100 mg/L) en Bourgogne, Champagne et Rhône-Alpes. La parcelle de Bourgogne avait déjà été détectée en 2010 comme ayant une CMI supérieure à 100 mg/L et s'est avérée présenter, en 2012, des résultats comparables (quelques souches non contrôlées à 10 mg/L) sur 2 échantillons prélevés à des dates différentes, l'un au printemps (25/06/2012), l'autre à l'automne (17/09/2012).

Figure 3 : Comparaison de la répartition (en %) des populations analysées vis-à-vis des Qil, entre 2010 et 2012, en fonction des CMI (exprimées en classes)



En 2012, l'écart avec les populations témoins concerne donc la CMI de 4 populations sur 94 testées. La CI 50 est comparable à celle des populations sensibles dans la totalité des cas. On peut donc dire que, depuis le début de l'utilisation des Qil au vignoble, l'ensemble des populations reste sensible à cette famille de fongicide. Seules quelques souches dans un nombre limité de populations sont détectées comme résistantes.

## 5- Discussion

**Ces résultats d'analyses (réalisées sur plusieurs années) permettent d'avoir une image dynamique de l'évolution des résistances du mildiou aux deux familles de fongicides étudiées.**

**La famille des CAA** pour laquelle une progression assez généralisée de la résistance (excepté en Beaujolais et Bordelais) avait été observée en 2008 a fait l'objet d'un suivi attentif les années suivantes. En 2009, la dégradation de la situation s'est confirmée ; elle s'est étendue à l'ensemble du vignoble français. Les populations sensibles aux CAA ne représentaient plus que 10 à 20 % des parcelles prélevées alors que la proportion des populations résistantes avoisinait les 60 %. L'utilisation assez fréquente de fongicides contenant une substance de la famille des CAA de 2007 à 2009 dans des conditions souvent difficiles (fortes pressions de la maladie, mildiou déclaré) peut avoir contribué à cette évolution de la résistance. Se posait alors la question de savoir si cette progression était liée à la pression de la maladie de 2007 à 2009. La surveillance s'est poursuivie dans le but d'évaluer l'évolution de la résistance dans des conditions de pression différentes afin d'estimer la capacité de maintien de populations résistantes dans le vignoble. Les résultats de 2010 sur l'ensemble du vignoble français et ceux de 2011-2012 pour la zone viticole Champagne, Bourgogne



et Rhône-Alpes, montrent que la résistance aux CAA reste fortement implantée alors que l'activité du mildiou a été réduite, notamment en 2010 et 2011, et que l'emploi des CAA a régressé de façon significative. Ces éléments suggèrent que la résistance du mildiou aux CAA pourrait se maintenir à un niveau élevé dans les années à venir.

La surveillance de la **résistance aux Qil** a été engagée en 2010. Dès cette première année de suivi, il a été identifié plusieurs populations (12 % des populations analysées) avec présence de souches résistantes caractérisées par des CMI supérieures (voire très supérieures) à celles observées dans la très grande majorité des populations analysées. Ces populations ont été découvertes dans plusieurs vignobles différents.

Au cours des deux années suivantes, de nouvelles populations avec un certain nombre de souches non maîtrisées ont été détectées (environ 5% des populations analysées en 2011 et environ 3 % en 2012). Deux de ces populations (en Franche Comté et en Bourgogne) avaient déjà été repérées en 2010. Le nombre limité de populations présentant un pourcentage peu important de souches non maîtrisées explique très probablement qu'aucun cas de résistance en pratique (diminution, au terrain, de l'efficacité de la famille des Qil), n'ait été constaté entre 2010 et 2012.

## **6- Conclusion – perspectives**

La surveillance de la résistance du mildiou aux fongicides est réalisée depuis 2005 pour la famille des CAA et depuis 2010 pour celle des Qil.

La résistance aux CAA a été suivie sur 3 régions viticoles (Champagne, Bourgogne et Rhône-Alpes) considérées comme représentatives de l'évolution de la résistance au niveau national. Après une progression régulière de la résistance jusqu'en 2009, cette dernière se maintient depuis à un niveau élevé. La surveillance de la résistance aux CAA, toujours effectuée sur les vignobles de Bourgogne, Champagne et Rhône-Alpes, sera poursuivie. Il conviendra dans le même temps, de s'assurer du maintien de l'intérêt de cette famille dans la lutte contre le mildiou.

La résistance aux Qil est surveillée pour la 3<sup>ème</sup> année. Depuis 2010 (date de la première utilisation au vignoble pour cette famille), on constate la présence de quelques souches résistantes détectées dans plusieurs populations de différents vignobles. Cette situation ne semble pas évoluer. Néanmoins, du fait de l'utilisation non négligeable de ce type de fongicides, une surveillance étroite de la sensibilité du mildiou aux Qil doit être maintenue. 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.

## **7- Partenaires Scientifiques**

- INRA Versailles (Anne-Sophie Walker)
- Expert national vigne Draaf-Sral Rhône-Alpes (Jacques Grosman)
- Personne ressource *Maladies cryptogamiques de la vigne* Draaf-Sral Bourgogne (Claude Magnien)

## **8- 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<sup>ème</sup> 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<sup>ème</sup> conférence internationale sur les maladies des plantes*, 8 et 9 décembre 2009
- Groupe national résistance aux fongicides de la vigne (DGAI-SDQPV, INRA, IFV, APCA, CIVC), 2012 – Note nationale gestion de la résistance mildiou et oïdium de la vigne. Disponible sur les sites internet des DRAAF et des Chambres d'Agriculture
- C. Magnien, F. Remuson, M. Le Guellec, A. Micoud, , J. Grosman – 2012 : « La résistance de *Plasmopara viticola* aux fongicides : résultats des plans de surveillance de la Sous Direction de la Qualité et de la Protection des Végétaux de 2009 à 2011 ». *AFPP Tours, 10<sup>ème</sup> conférence internationale sur les maladies des plantes*, 3, 4 et 5 décembre 2012

18 mars 2013