

**LE POINT SUR LES RESISTANCES, LIEES A DES MUTATIONS DE CIBLE, VIS A  
VIS DES INHIBITEURS DE LA 14 $\alpha$ -DEMETHYLASE ET DES STROBILURINES  
CHEZ *ERYSIPHE NECATOR*-  
BILAN DE QUATRE ANNEES DE SUIVIS**

S. FONTAINE<sup>(1)</sup>, L. CADDOUX<sup>(1)</sup>, A. MICOUD<sup>(1)</sup>, J. GROSMAN<sup>(2)</sup>, C. MAGNIEN<sup>(3)</sup>, MC.  
DUFOUR<sup>(4)</sup> et MF CORIO-COSTET<sup>(4)</sup>

(1) Anses Lyon- Unité Résistance aux produits phytosanitaires - 31 avenue Tony  
Garnier - 69 364 Lyon Cedex 07 – France – [severine.fontaine@anses.fr](mailto:severine.fontaine@anses.fr)

(2) DGAL-SDQPV – Expert-référent national vigne - DRAAF Rhône-Alpes - 165, rue  
Garibaldi - Cité administrative de la Part-Dieu - BP 3202 - 69401 LYON cedex 03 – France  
[jacques.grosman@agriculture.gouv.fr](mailto:jacques.grosman@agriculture.gouv.fr)

(3) DRAAF-SRAI- Personne ressource maladies de la vigne - 4, bis rue Hoche - BP  
87865 - 21078 DIJON – France - [claudemagnien@agriculture.gouv.fr](mailto:claudemagnien@agriculture.gouv.fr)

(4) INRA, ISVV, UMR SAVE (1065)- BP 81-33883 Villenave d'Ornon – France  
[coriocos@bordeaux.inra.fr](mailto:coriocos@bordeaux.inra.fr)

## RÉSUMÉ

Dans le cadre des plans de surveillance des résistances aux fongicides chez *Erysiphe necator*, l'agent de l'oïdium de la vigne, un suivi pluriannuel de la fréquence de deux allèles impliqués dans la résistance aux IDMs et aux Qols a été réalisé depuis 2008 à l'aide d'outils d'analyse par PCR quantitative. Le bilan de ces suivis, présenté ici, montre une progression continue de l'acquisition de la résistance aux Qols au cours des quatre dernières années. Initialement cantonné au Gers, l'allèle de résistance aux Qols est maintenant présent dans dix régions. Concernant les IDMs, famille chimique plus ancienne, la situation est plus variable selon les années. En effet, entre 2008 et 2009, le nombre de parcelles où l'allèle de résistance aux IDMs était présent, avait diminué alors, qu'*a contrario*, 2011 a vu ce nombre fortement progresser.

Mots-clés : Oïdium vigne, résistance, IDMs, Qols, qPCR

## SUMMARY

### **Demethylation inhibitors (DMIs) and Quinone outside inhibitors (Qols) resistance in *E. necator* : survey of four years of monitoring**

This study presents an assessment of fungicide resistance of *Erysiphe necator*, the causal agent of grape powdery mildew. This work is carried out in the national framework of DMIs and Qols resistance monitoring. The analyses were achieved between 2008 and 2011, with a quantitative PCR method to evaluate the frequencies of two alleles involved in the target resistance of each chemical family above-mentioned. The monitoring shows a steadily increase of resistant allele to Qols. This resistance allele was initially limited to the department "Midi Pyrénées", although it was found in ten administrative areas in 2011. As for the DMIs resistance, the situation is more variable between years. From 2008 to 2009, the number of vineyards where the allele of resistance was detected decreased, but this number has increased in 2011.

Key words: *Erysiphe necator*, resistance, DMIs, Qols, qPCR

## INTRODUCTION

L'oïdium de la vigne, causé par le champignon *Erysiphe necator*, se caractérise par un feutrage blanc qui peut se manifester sur tous les organes herbacés de la plante. Cette maladie cryptogamique a été introduite en Europe, en provenance des Etats Unis, il y a un peu plus de 160 ans. Des études de génétique des populations ont mis en évidence, en Europe, l'existence de deux groupes génétiques intraspécifiques distincts (Délye *et al.*, 1997a). pouvant résulter de deux introductions potentielles à partir des populations indigènes des Etats Unis (Brewer *et al.*, 2010). Toutefois, la présence d'une forte diversité des souches de groupe A sur le continent indien pourrait suggérer d'autres possibilités (Délye *et al.*, 1997b). Ces deux groupes, désignés par A et B, vivraient en sympatrie du fait d'occupation de niches écologiques différentes dans le temps. Des travaux réalisés en laboratoire ont également montré que le biotype A se différenciait du groupe B du fait de sa plus grande sensibilité à certains fongicides (triadiménol, penconazole, tébuconazole, azoxystrobine et quinoxifène) (Corio-Costet *et al.* 2000).

*E. necator* est un agent phytopathogène généralement mieux maîtrisé que le mildiou, il peut cependant, certaines années, occasionner d'important dégâts lorsque les conditions lui sont favorables (années chaudes et plutôt sèches et des conditions d'hygrométrie plutôt élevée) ou dans des parcelles mal protégées. La lutte contre ce champignon repose en partie sur des mesures prophylactiques (maîtrise de la vigueur de la vigne, suppression des pampres, rognage soigné, drainage) et une stratégie préventive. En France, même si plus de 250 spécialités sont homologuées, elles ne sont formulées qu'à partir d'une vingtaine de substances actives appartenant à huit familles chimiques (IDMs, amines, Qols, phenoxyquinoléines et quinazolinones, SDHIs, benzophénones, dérivés du phénol, soufre). Les familles les plus utilisées sont les IDMs, les produits de contact (soufre et meptyldinocap) et les Qols. Parmi ces familles, des phénomènes de résistance d'*E. necator* aux fongicides ont été observés en France pour trois d'entre-elles : les IDMs, les Qols et les phenoxyquinoléines (note nationale mildiou et oïdium de la vigne, 2012 – <http://draaf.franche-comte.agriculture.gouv.fr/Notes-nationales-maladies-de-la>).

*E. necator* étant un parasite obligatoire, il ne se développe que sur son support végétal. Sa culture au laboratoire, est, de fait, difficile et la réalisation de tests de sensibilité vis-à-vis de fongicides est délicate et fastidieuse. En effet, ce type d'analyses repose sur des tests biologiques qui nécessitent l'obtention d'un inoculum en quantité suffisante, accompagnée d'une germination de spores *in vitro* sur des feuilles maintenues en survie. La mise en œuvre de ces tests en routine est donc laborieuse. Pour cet agent pathogène, les techniques de biologie moléculaire sont plus aisées à manipuler à condition toutefois d'avoir, au préalable, identifié et caractérisé précisément le déterminant génétique de la résistance.

Cette étude présente le suivi pluriannuel, dans les différents bassins viticoles, de deux résistances de cible vis-à-vis de deux familles de fongicides couramment utilisées dans les programmes de lutte contre l'oïdium de la vigne :

- les Inhibiteurs de la Biosynthèse des Stéroïdes de groupe I : IDMs (inhibiteurs de la 14- $\alpha$ -stérol - déméthylase),
- les Qols : inhibiteurs du complexe III de la respiration cellulaire (inhibiteurs de la face externe du centre d'oxydation du cytochrome b) dont les strobilurines.

La résistance aux IDMs chez *E. necator* est apparue depuis une vingtaine d'années. Cette résistance s'est peu développée grâce à une restriction du nombre de traitements annuels (3) à base d'IDMs depuis 1992, ainsi qu'à l'alternance des familles chimiques de fongicides. Un des mécanismes majeur de résistance à cette famille a été identifié comme étant lié à une mutation ponctuelle du gène de la cible : la 14- $\alpha$ -stérol déméthylase. Une adénosine chez les isolats sensibles est remplacée par une thymine chez les isolats résistants ce qui entraîne, au niveau protéique, la substitution d'une tyrosine par une phénylalanine en position 136 (Y136F) (Délye *et al.*, 1997). Les analyses de qPCR mises en œuvre permettent de détecter uniquement cet allèle de résistance. Or d'autres allèles ou mécanismes de résistance aux IDMs existent, sachant que la résistance aux IDMs est

polygénique (accumulation de plusieurs mutations sur le gène cible des IDMs et/ou de plusieurs mécanismes de résistance). Néanmoins, la présence de l'allèle Y136F est toujours liée à une résistance avérée. La surexpression de la cible des IDMs, la 14 $\alpha$ -stérol-déméthylase, d'autres mutations ponctuelles pourraient être impliquées dans la résistance aux IDMs chez *E. necator*.

Pour les Qols, la présence de souches d'oïdium résistantes était connue dans d'autres pays d'Europe (Hongrie, Autriche) depuis 2006. Concernant la France, de telles souches ont été décelées en 2008, dans le cadre des plans de surveillance mis en place, l'un par la Sous Direction de la Qualité et de la Protection des Végétaux (SDQPV) en collaboration avec l'INRA, l'autre par une société phytosanitaire. Le mode d'action de ces fongicides consiste à inhiber le transfert des électrons de la chaîne respiratoire mitochondriale *via* un blocage du site d'oxydation du cytochrome b. Plusieurs espèces de champignons phytopathogènes (35) ont développé un mécanisme de résistance susceptible de compromettre l'efficacité au champ de cette famille (FRAC : Fungicide Resistance Action Committee <http://www.frac.info/frac/index.htm>). Les mécanismes les plus fréquemment identifiés à ce jour résident dans la présence d'une mutation ponctuelle du gène mitochondrial du cytochrome b. La substitution la plus courante concerne une guanine qui est remplacée par une cytosine. Ce changement entraîne, au niveau protéique, le changement d'une glycine en une alanine au niveau de l'acide aminé 143 (G143A). Cette mutation est le mécanisme le plus couramment rencontré. Il est ainsi présent chez plus de 75 % des espèces ayant développé une résistance aux Qols. A ce jour, la mutation G143A du cytochrome b est le seul mécanisme de résistance identifié chez *E. necator*.

Depuis 2008, l'unité Résistance aux produits phytosanitaires (Rpp) de l'Anses est sollicitée dans le cadre du plan de surveillance national de la DGAL « résistance de l'oïdium de la vigne aux fongicides ». La programmation (répartition et protocoles de prélèvement des échantillons) est mise en œuvre par l'expert vigne et la personne ressource de la DGAL. Les résultats d'analyses présentés dans cette communication sont issus d'une étroite collaboration entre l'INRA de Bordeaux et l'Anses de Lyon. A partir de ces analyses, nous disposons donc de données qui rendent compte de l'évolution de la résistance aux IDMs et aux Qols au cours des années 2008 à 2011.

## MATERIEL ET MÉTHODE

### ÉCHANTILLONNAGE

Les prélèvements au terrain ont été réalisés, selon les consignes définies par les plans de surveillance annuels de la DGAL, grâce aux réseaux des SRAL ainsi qu'à leurs différents partenaires (FREDON, chambres d'agriculture, coopératives). Pour une grande proportion des parcelles collectées, les prélèvements reçus ont été analysés dans le but de rechercher une résistance de cible à chacune des familles concernées par le plan de surveillance (IDMs et Qols). Ainsi, de 2008 à 2011, plus de 200 parcelles, choisies en grande partie de façon aléatoire, ont été échantillonnées et analysées pour la recherche des résistances de cible aux IDMs et aux Qols. En 2008, le plan de surveillance se limitait aux régions Aquitaine (AQ), Bourgogne (BO), Champagne-Ardenne (CA), Languedoc-Roussillon (LR), Midi-Pyrénées (MP) et Provence Alpes Côte d'Azur (PACA). La surveillance s'est étendue à Rhône-Alpes (RA) en 2009, Franche-Comté (FC), Pays de Loire (PL) et Poitou-Charentes (PC) en 2010 et à la région Centre (C) en 2011. Ainsi, le nombre de parcelles échantillonnées a été plus important au cours de ces deux dernières années et, de fait, près des 2/3 des parcelles analysées ont été collectées en 2010 et 2011 (cf. Tableau I).

**Tableau I :** Nombre de parcelles analysées en fonction des années de prélèvement et de la résistance de cible recherchée (R IDMs : résistance de cible aux IDMs Y136F, R Qols : résistance de cible aux Qols G143A)

**Table I:** List of vineyards analyzed for screening specific resistant alleles towards DMIs and Qols, according to the sampling year.

REGIONS	2008		2009		2010		2011	
	R IDMs	R Qol						
AQUITAINE	5		3		11	10	13	
BOURGOGNE	4		12	7	9	11	12	13
CENTRE	-		-		-		3	
CHAMPAGNE-ARDENNE	5	4	3	2	8		8	
FRANCHE-COMTE	-		-		1		3	
LANGUEDOC-ROUSSILLON	4	3	8	10	1		11	14
MIDI-PYRENEES	15	12	15	6	11	8	7	8
PAYS DE LA LOIRE	-		-		4		2	
POITOU-CHARENTES	-		-		4	5	5	
PROVENCE-ALPES-COTE D'AZUR	2	1	-		1		2	
RHONE-ALPES	-	-	3	4	5	6	6	4
<b>TOTAL</b>	<b>35</b>	<b>29</b>	<b>44</b>	<b>32</b>	<b>55</b>	<b>55</b>	<b>72</b>	<b>75</b>

Il est important de noter que, pour certaines parcelles, des prélèvements simultanés, de feuilles et de grappes ont été réalisés puis analysés séparément. Ainsi, 41 parcelles ont fait l'objet de deux prélèvements : 7 en 2008, 9 en 2009, 13 en 2010 et 12 en 2011.

#### RECUPERATION DU MATERIEL FONGIQUE ET EXTRACTION D'ADN

Chaque échantillon est constitué d'une trentaine de feuilles ou d'une dizaine de grappes oïdiées. Pour les échantillons foliaires de chaque parcelle, 15 rondelles de feuilles oïdiées, issues de 15 feuilles, sont découpées à l'emporte-pièce et regroupées dans un microtube. Pour les grappes, le prélèvement se fait par grattage des baies attaquées afin de collecter le mycélium d'*E. necator* dans un microtube. Les prélèvements ainsi constitués sont conservés à -20°C jusqu'à l'extraction d'ADN réalisée selon une méthode CTAB (bromure d'hexadécyltriméthylammonium).

#### RECUPERATION DU MATERIEL FONGIQUE ET EXTRACTION D'ADN

La détection et la quantification des souches d'oïdium résistantes ont été réalisées selon la méthode publiée par Dufour *et al.* (2011) pour la résistance aux IDMs et par la méthode publiée par Baudoin *et al.* (2007) pour la résistance aux Qols. Ces outils reposent sur des techniques de PCR quantitative. Ils permettent de quantifier, au sein des gènes d'une population, la proportion d'allèle porteur de la mutation Y136F affectant la 14 $\alpha$ -stérol déméthylase et impliquée dans la résistance aux IDMs ainsi que la proportion d'allèle porteur de la mutation G143A du cytochrome b, responsable de la résistance aux Qols.

#### RESULTATS

Les figures 1 et 2 représentent, par région et par année, la proportion de parcelles appartenant aux différentes classes de pourcentage d'allèles mutés au sein des populations échantillonnées (allèle Y136F : figure 1 ou allèle G143A : figure 2). Ces cartes permettent, d'une part, de visualiser l'augmentation du nombre de régions concernées par les analyses et, d'autre part, de percevoir la dynamique d'évolution de la résistance de cible aux IDMs et

aux Qols. Pour les parcelles ayant fait l'objet de plusieurs prélèvements la même année (prélèvements de feuilles et de grappes), lorsque les résultats obtenus étaient discordants, l'échantillon présentant les plus fortes fréquences d'allèles de résistance a été conservé pour la cartographie. Sur un total de 41 parcelles analysées sur feuilles et sur grappes, ces résultats discordants correspondent à dix parcelles pour la résistance de cible aux IDMs et sept pour la résistance de cible aux Qols.

## RESISTANCE DE CIBLE Y136F AUX IDMs

**En 2008**, les parcelles concernées par la résistance étaient situées uniquement dans deux régions (MP et BO), sur les six incluses dans le plan de surveillance de la DGAL. Ainsi, dans plus de 80 % des parcelles analysées, les tests réalisés n'ont pas permis de détecter la présence de l'allèle responsable de la résistance aux IDMs. Dans environ 10 % des parcelles où l'allèle a été mis en évidence, il n'a pas pu être quantifié précisément car il était présent à l'état de traces. Par contre, dans une parcelle, située en région Midi-Pyrénées, la fréquence de l'allèle muté était supérieure à 74 %.

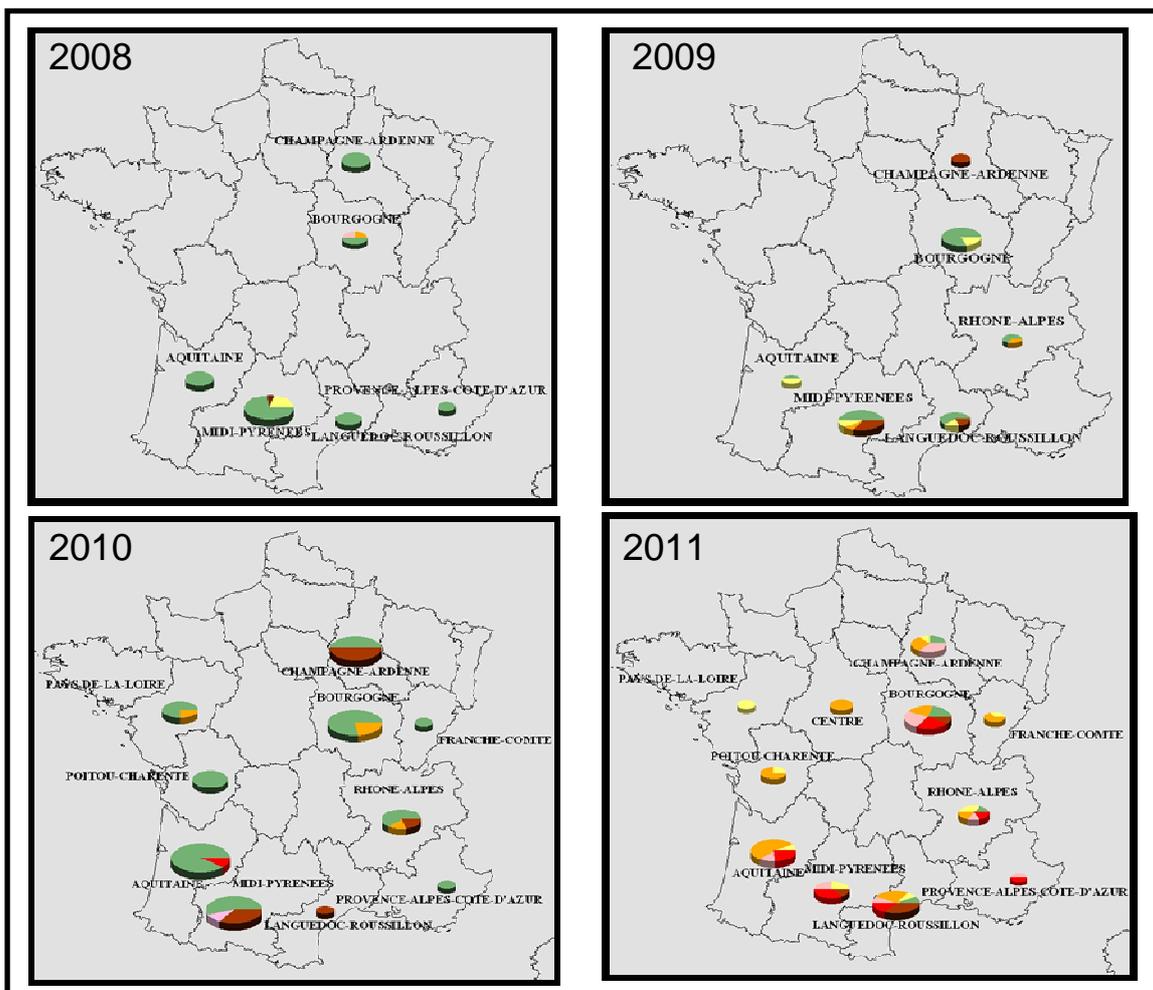
**En 2009**, le plan de surveillance concernait approximativement les mêmes régions que celui de 2008 (AQ, BO, CA, LR, MP) à l'exception de la région PACA remplacée par la région Rhône-Alpes (RA) pour 2009. Le nombre de parcelles analysées dans les différentes régions était similaire à celui de 2008, à l'exception des régions Bourgogne et Languedoc Roussillon, mieux échantillonnées en 2009 (Tableau I). Au cours de cette deuxième année de monitoring, la situation plutôt rassurante de 2008 semblait se détériorer sensiblement. En effet, l'allèle de résistance a été détecté dans toutes les régions concernées par le monitoring et globalement, dans plus de 50 % des parcelles analysées. La fréquence moyenne de l'allèle de résistance des échantillons testés au laboratoire a progressé de 4 à 16 % entre 2008 et 2009. Si 14 % de parcelles présentaient plus de 75 % d'allèle de résistance, les fréquences parcellaires de cet allèle demeuraient globalement modérées, car moins 34 % des parcelles présentaient moins de 25 % de l'allèle Y136F (Figure 3).

**En 2010**, le plan de surveillance s'est étendu à trois nouvelles régions (FC, PC et PL) et a permis l'analyse de 55 parcelles pour la résistance de cible aux IDMs. Comme attendu, la résistance a été détectée dans les six régions déjà échantillonnées en 2009 et dans une nouvelle : les Pays de la Loire. Le nombre de parcelles concernées par la résistance était plus faible que celui de l'année précédente, puisque l'allèle a été détecté dans 30 % des parcelles vs 52 % en 2008. Parmi les régions où au moins huit parcelles ont été analysées, deux (CA et MP) présentent plus d'un tiers de parcelles avec une fréquence de l'allèle de résistance aux IDMs supérieure ou égale à 75 %. Concernant, la fréquence moyenne de l'allèle muté, elle est restée assez stable entre les deux années (16 % en 2009 vs 22 % en 2010).

**En 2011**, la région Centre s'est ajoutée aux dix régions de l'année précédente. La figure 1 montre que l'allèle de résistance aux IDMs est présent dans la *quasi* totalité des parcelles (90,9 %) mais pour 15 % d'entre-elles, la quantification précise de l'allèle n'a pas été possible car il s'agit de traces. Malgré cette forte augmentation du nombre de parcelles concernées par la résistance, la fréquence moyenne de l'allèle Y136F dans les échantillons analysés a peu évolué (22,4 % en 2010 vs 26 % en 2011). Ainsi, l'augmentation du nombre de parcelles présentant l'allèle recherché est-elle essentiellement due à celles ayant moins de 74 % d'allèle muté Y136F. Par contre, la classe ayant plus de 75 % d'allèle Y136F a diminué entre les deux années (18 % en 2010 vs 9 % en 2011 - figure 3).

**Figure 1** : Répartition de la fréquence de l'allèle Y136F déterminant de la résistance aux IDMs au sein des parcelles analysées de 2008 à 2011 par région

**Figure 1:** Cartography of the Y136F allele frequency, determining DMIs resistance, analyzed in vineyard regions between 2008 and 2011



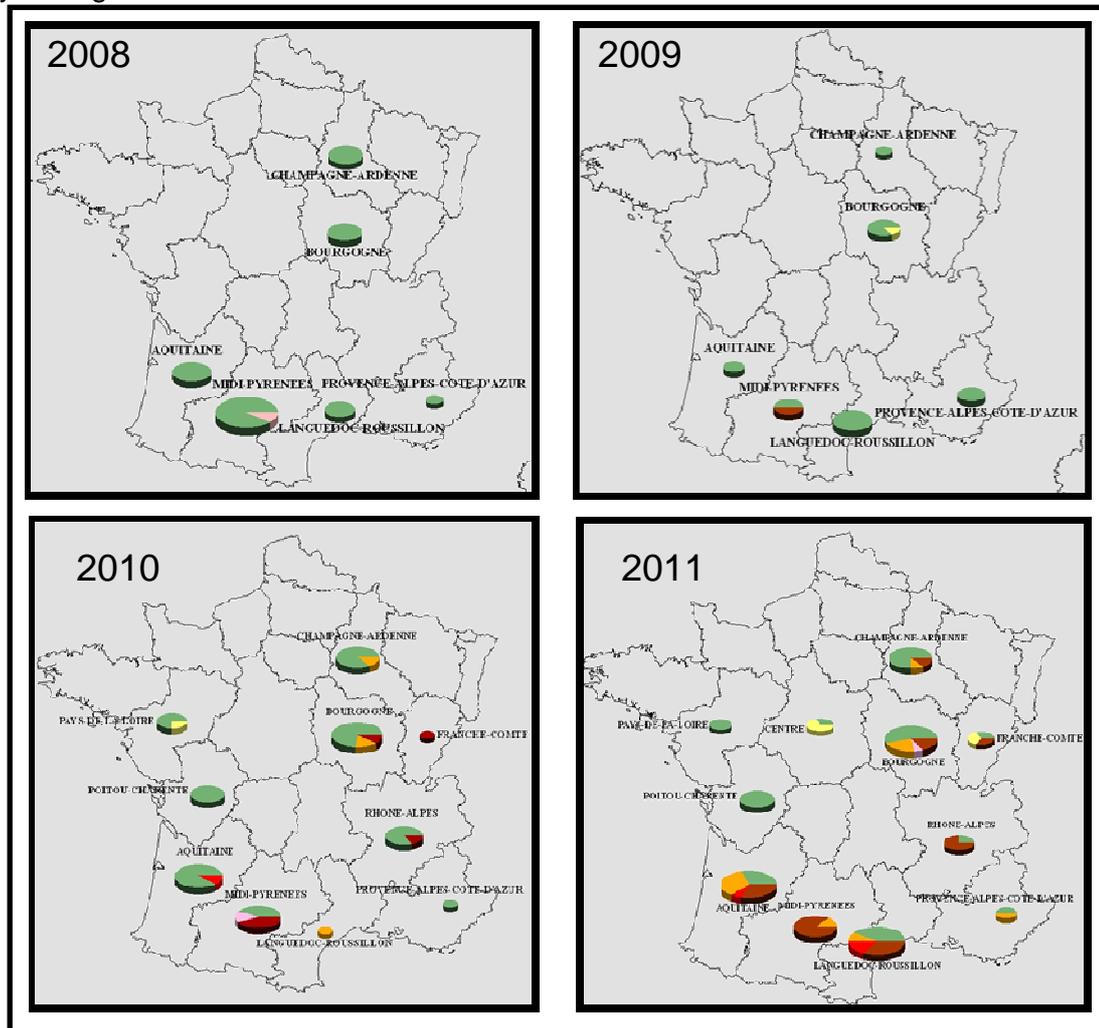
Classes de % d'allèle muté (Y136F) au sein des populations échantillonnées		Nombre de parcelles analysées	
	0		25 à 49 %
	TRACES		50 à 74 %
	2 à 24 %		75 à 100 %
			5 PARCELLES
			15 PARCELLES

### RESISTANCE DE CIBLE G143A AUX QOIS

Pour la recherche de la résistance de cible aux Qois, l'échantillonnage a concerné les mêmes régions que pour la résistance aux IDMs et il a évolué de façon similaire au cours des années.

**Figure 2 :** Répartition de la fréquence de l'allèle G143A déterminant de la résistance aux Qols au sein des parcelles analysées de 2008 à 2011 par région

**Figure 2:** Cartography of the G143A allele frequency, determining Qols resistance, analyzed in vineyard regions between 2008 and 2011



Classes de % d'allèle muté (G143A) au sein des populations échantillonnées		Nombre de parcelles analysées	
	0		25 à 49 %
	TRACES		50 à 74 %
	2 à 24 %		75 à 100 %
			5 PARCELLES
			15 PARCELLES

**En 2008**, l'allèle de résistance a été détecté, dans le cadre du plan de surveillance de la SDQPV en collaboration avec l'INRA, dans une parcelle située en région Midi-Pyrénées dans le Gers (31 % des allèles de cette population étaient porteur de la mutation).

**En 2009**, l'allèle muté G143A est de nouveau détecté en Midi-Pyrénées dans la moitié des six parcelles prélevées et ce, à des fréquences très élevées (>75 %). De plus, l'allèle de résistance aux Qols a été détecté pour la première fois, à l'état de traces, dans une parcelle de Bourgogne.

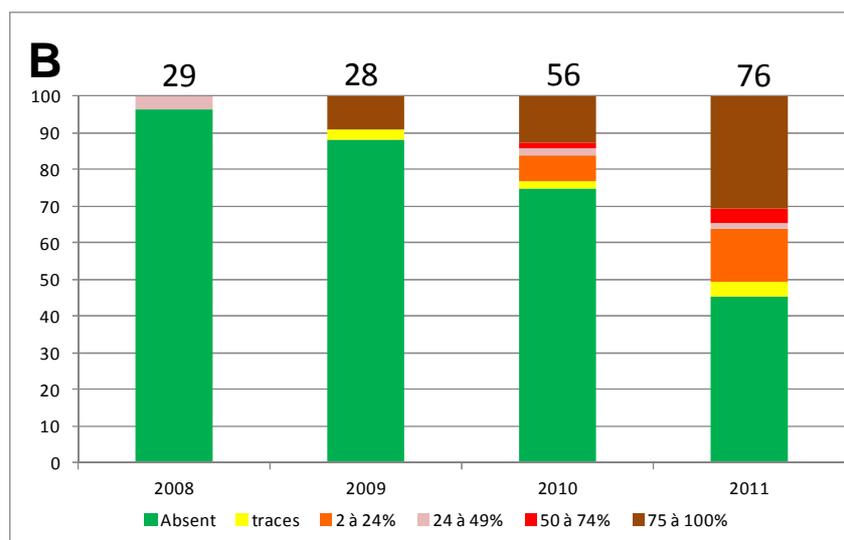
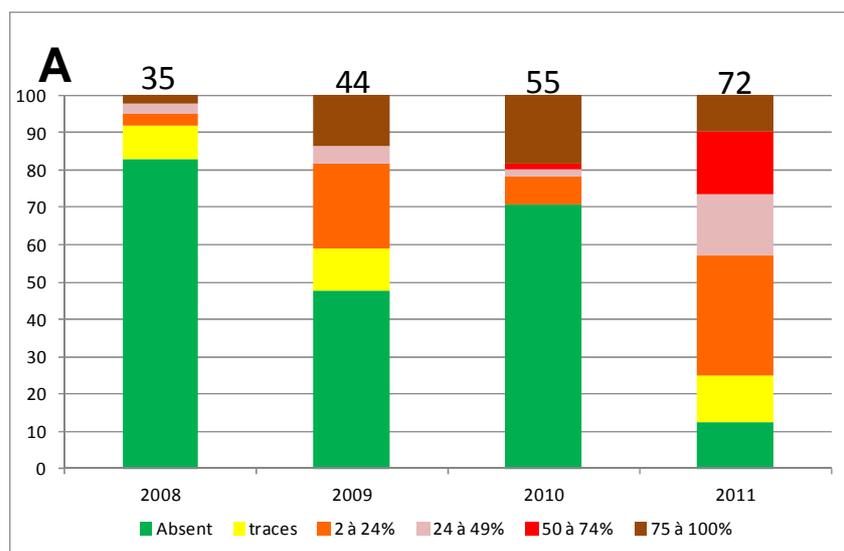
**En 2010**, année au cours de laquelle le plan de surveillance concernait dix régions, dont trois nouvelles, la situation paraît se détériorer. En effet, l'allèle de résistance a été

détecté dans ¼ des parcelles analysées (vs 12 % en 2009 - figure 3), ce qui représente 12 parcelles réparties dans huit régions : Aquitaine, Bourgogne, Champagne-Ardenne, Franche-Comté, Languedoc-Roussillon, Midi-Pyrénées, Pays de Loire et Rhône-Alpes. De plus, pour cinq de ces régions, au moins une des parcelles échantillonnées présente une fréquence d'allèle muté supérieure à 50 % (Aquitaine, Bourgogne, Franche-Comté, Midi-Pyrénées et Rhône-Alpes). Concernant, la fréquence moyenne de l'allèle muté dans les échantillons, elle a peu progressé (en moyenne 8,5 % d'allèle G143A en 2009 vs 10,5 % en 2010).

**En 2011**, l'allèle de résistance aux Qols est détecté dans plus de la moitié (54 % vs 24 % en 2010) des 75 parcelles analysées. De plus, la résistance est présente dans 9 régions sur les 11 concernées par le plan de surveillance. Quant au pourcentage de parcelles présentant la mutation à un taux supérieur à 50 %, il est en forte augmentation, et représente 34 % des parcelles testées (vs 14,9 % en 2010 – figure 3). Parmi les régions les plus représentées en nombre d'échantillons en 2011, celles qui paraissent les plus concernées par cette résistance liée à la cible (>50 % d'échantillons avec plus de 50 % d'allèle muté détecté) sont les suivantes : Languedoc-Roussillon, Midi-Pyrénées et Rhône-Alpes. A noter, que pour la région Poitou-Charentes, échantillonnée en 2011 comme en 2010, la résistance liée à la cible Qols n'a toujours pas été détectée dans les prélèvements (dix parcelles échantillonnées au total sur les deux années).

**Figure 3** : Répartition des fréquences de l'allèle de résistance aux : A : IDMs (Y136F) ; B : Qols (G143A) eu sein des parcelles analysées entre 2008 et 2011. Le chiffre au dessus des histogrammes indique le nombre de parcelles analysées.

**Figure 3** : Distribution of the percentage of resistant allele to : A : DMIs (Y136F) ; B : Qols (G143A) in vineyards analyzed between 2008 and 2011 The numbers above the histograms shows the number of vineyards analyzed.



## DISCUSSION ET CONCLUSION

Les résultats présentés ici illustrent l'évolution de la fréquence des allèles de résistance, liée à des mutations de cible, vis-à-vis de deux familles majeures de fongicides utilisées pour la protection des vignobles contre l'oïdium : les IDMs et les Qols.

**Pour les Qols**, la résistance progresse régulièrement depuis 2008. En effet, au départ limitée au vignoble de l'Armagnac, la résistance a fortement progressé et a été détectée dans 10 régions sur les 11 échantillonnées au cours des deux dernières années (2010-2011). De plus, la fréquence moyenne de l'allèle muté au sein de tous les échantillons analysés a évolué progressivement pour passer de 1,2 % à 31 % en 4 ans. Cette intensification est double. Elle s'observe au niveau du nombre de régions concernées, et au niveau du pourcentage d'allèle trouvé au sein des populations analysées. Cette progression intervient malgré les préconisations de la note nationale vigne qui limite les traitements à base de Qols à 1 ou 2 applications par an, selon les situations.

**Pour les IDMs**, la fréquence de l'allèle de résistance dans les parcelles concernées, évolue globalement peu au cours des 4 années de suivi mais sa présence (% de parcelles concernées) a plutôt tendance à augmenter. En 2011, le nombre de parcelles, dans lesquelles l'allèle de résistance est détecté atteint un chiffre record (90 %) mais la fréquence de cet allèle reste néanmoins inférieure à 50 % dans la majorité des populations analysées.

En parallèle à cette augmentation de la fréquence des allèles de résistance aux IDMs et aux Qols, notamment en 2011, nous avons observé un accroissement du nombre de parcelles où les deux allèles de résistance étaient détectés simultanément. Ainsi, durant les deux années précédentes, cette présence simultanée concernait-elle moins de 10 % des parcelles analysées, alors qu'en 2011, 40 % des parcelles étaient dans cette situation. Parmi elles, 11 ont des fréquences, pour chacun des deux allèles, supérieures à 50 %. Les régions les plus concernées par ce type de parcelles sont les régions Languedoc-Roussillon et Midi-Pyrénées. Ces résultats préoccupants sont également à mettre en lien avec les difficultés de contrôle de l'oïdium de la vigne, observées en 2011, en région Languedoc-Roussillon.

Bien que l'année 2011 semble être une année où la situation de la résistance, liée à des mutations de cible, aux IDMs et Qols se soit détériorée, la pression parasitaire exercée par l'oïdium a souvent été peu importante, à l'exception des régions de la façade atlantique et du Languedoc-Roussillon (Grosman *et al.*, 2011). Mais de 2008 à 2010, la pression parasitaire de l'oïdium a été plutôt forte dans le sud et le nord-est, avec notamment de fortes attaques sur grappes en 2010 (Grosman *et al.*, 2008 et 2010). Ainsi dans les régions du Sud les trois années avec de fortes pressions parasitaires ont-elles conduit en parallèle à des pressions de sélection répétées des produits phytosanitaires qui ont pu favoriser le développement de souches résistantes aux IDMs ou/et aux Qols. Ces faits pourraient expliquer, pour partie, l'évolution des résistances constatée en 2011.

Cependant, une meilleure compréhension de l'évolution des allèles de résistance aux IDMs et aux Qols nécessiterait des études de génétique des populations faisant appel à des marqueurs neutres (*i.e.* non sélectionnés) afin de mieux cerner la dynamique de dispersion des allèles de résistance. En effet, les évolutions observées dans cette étude pourraient être le fruit de l'émergence et de la dispersion d'un nombre très restreint de souches résistantes ou bien les conséquences d'émergences multiples et indépendantes, comme cela a déjà été démontré pour d'autres agents pathogènes (e.g. mildiou de la vigne). Selon l'hypothèse retenue, la gestion de la résistance pourrait être différente.

En conclusion, bien que la détection d'allèles de résistance dans les échantillons collectés ne soit pas systématiquement liée à des pertes d'efficacité au terrain, les résultats obtenus au laboratoire permettent de détecter précocement l'apparition de souches porteuses des allèles mutés impliqués dans la résistance, et d'avoir un aperçu de leur évolution spatio-temporelle. Les méthodes d'analyses utilisées dans cette étude représentent des outils de veille innovants pour suivre la progression des souches mutées et anticiper le risque de développement de perte d'efficacité au vignoble vis-à-vis des deux familles chimiques ciblées. Elles fournissent des informations essentielles pour la

préconisation de stratégies de lutte, avec un objectif majeur, de prévenir le développement de la résistance en pratique.

## REMERCIEMENTS

Les auteurs tiennent à remercier tous les membres des DRAAF-SRAL, des FREDON, des chambres d'agriculture, des coopératives et de l'IFV pour l'organisation et la réalisation des campagnes d'échantillonnages.

## BIBLIOGRAPHIE

- Amrani L., Corio-Costet M.-F., 2006 - Single nucleotide polymorphism (SNP) in  $\beta$ -tubulin gene distinguishes two genotypes of *E. necator* : PCR assays from different symptoms in the vineyard. *Plant Pathology*, 55, 505-512.
- Baudoin A I., Olaya G., Delmotte F., Colcol J. F. Sierotzki H., 2008 - Qol resistance of *Plasmopara viticola* and *Erysiphe necator* in the Mid-Atlantic united states. *Plant Management Network. Plant Health Progress*. Doi:10.1094/PHP-2008-0211-02-RS
- Brewer M.-T., Milgroom M.-G., 2010 - Phylogeography and population structure of the grape powdery mildew fungus, *Erysiphe necator*, from diverse *Vitis* species. *BMC Evolutionary Biology*, 10, 268
- Corio-Costet M.-F., 2007 - *Erysiphe necator*. Monographie, Tec/Doc Lavoisier, Paris, 132 p.
- Corio-Costet M.-F., Douence L., Richard-Cervera S., Delye C., Barreau C. Moroy S., 2000 - Résistance de l'oïdium de la vigne aux fongicides. Rôle de la biodiversité. AFPP, 6<sup>ème</sup> Conférence Internationale sur les maladies des plantes (Tours, 6-8 décembre), II, 763-770.
- Cortesi P, Pizzati C, Bertocchi B and Milgroom M.-G., 2008 - Persistence and spatial autocorrelation of clones of *Erysiphe necator* overwintering as mycelium in dormant buds in an isolated vineyard in northern Italy. *Phytopathology* 98,148–152.
- Delye C., Laigret F., Corio-Costet M.-F., 1997 - New tools for studying epidemiology and resistance of grape powdery mildew to DMI fungicides. *Pesticide Science* 51(3), 309-314.
- Delye C., Laigret F., Corio-Costet M.-F., 1997 - RAPD analysis provides insight into the biology and epidemiology of *Uncinula necator*. *Phytopathology* 87, 670-677.
- Délye C., and Corio-Costet M.-F., 1998 - Origin of primary infections of grape powdery mildew *Uncinula necator*. RAPD analysis discriminate two biotypes. *Mycol. Research*, 102, 283-288.
- Délye C., V Ronchi, Laigret F., Corio-Costet M.-F., 1999 - Nested allele-specific PCR primers distinguish genetic groups of *Uncinula necator*. *Appl. Envir. Microbiol.* 65, 3950-3954.
- Dufour MC, Fontaine S, Montarry J, Corio-Costet M.-F., 2011 - Assessment of fungicide resistance and pathogen diversity in *E. necator* using quantitative real time PCR assays. *Pest Manag. Sci*, 67, 60-69.
- Frenkel, O., Brewer, M.-T. and Milgroom, M.-G., 2010 - Variation in pathogenicity and aggressiveness of *Erysiphe necator* from different *Vitis* spp. and geographic origins in the eastern United States. *Phytopathology*, 100, 1185–1193.
- Grosman J.; Magnien C.; Retaud P., 2008 - Dossier : vigne. *Phytoma, la défense des végétaux*, 621, 10-32.
- Grosman J., Decoin M., Viguès V., 2010 - Dossier : vigne. *Phytoma, la Défense des végétaux*, 638, 18-41.
- Grosman J., Magnien C., Doublet B., Trespaillé-Barrau J.-M., 2011- Bilan de santé de la vigne en 2011 (dossier : vigne). *Phytoma, la défense des végétaux*, 649, 17-23.

Montarry J, Cartolaro P, Delmotte F, Jolivet J and Willocquet L, 2008 - Genetic structure and aggressiveness of *Erysiphe necator* populations during grapevine powdery mildew epidemics. *Appl Envir Microbiol* 74, 6327-6332.

Peros JP, Troulet C, Guerriero M, Michel-Romiti C and Notteghem J.-L., 2005 - Genetic variation and population structure of the grape powdery mildew fungus, *Erysiphe necator*, in southern France. *Eur J Plant Pathol* 113,407–416.