Connaissance Vigne Vin, 1977, **11**, N° 4, 313-323.

ETUDE DE L'INFLUENCE DE QUELQUES FONGICIDES SUR LA MICROFLORE DU RAISIN

Béatrice KARADIMTCHEVA

Faculté d'Agronomie, Chaire de Viticulture
8, boulevard Dr. Zankov, Sofia (Bulgarie)

INTRODUCTION

La microflore présente sur le raisin est très variée ; une partie joue un rôle positif dans la vinification : ce sont les levures de l'espèce *Saccharomyces ellipsoideus ;* une autre partie — en particulier les champignons du type *Mycoderma vini, Aspergillus, Penicillium* et *Botrytis cinera* — a une action néfaste en vinification et dans la conservation du raisin. Ces dernières années, on a attaché une importance toute particulière à l'agent de la pourriture grise *Botrytis cinerea ;* sa propagation a augmenté sensiblement et les pertes causées par ce champignon atteignent des proportions considérables. C'est pourquoi, pour lutter contre cette pourriture grise emploie-t-on de nombreux fongicides.

On a montré que les produits utilisés dans la lutte contre les maladies de la vigne ont une influence sur la qualité et la composition de la microflore du raisin. Ainsi, par exemple, des produits déjà connus comme **l'Euparène,** l'**Orthophaltane,** la **Couprozine,** la **Perozine,** etc... ont une action sur le développement de la pourriture grise du raisin et sur les levures (MINARIK et RAGALA, 1966 ; BRANAS, 1968 ; MICHOURENKO, 1968 ; NEGRITU, 1970 ; GARTNER, 1971 ; BOLAY, 1970 et 1972). La plupart de ces fongicides sont employés très vite les uns après les autres et les teneurs résiduelles sur le raisin sont parfois importantes. LEMPERLE et KERNER (1970) ont trouvé des doses qui varient de 4 à 21,2 mg par kg de vendange.

C'est pourquoi le problème de l'influence des mélanges de fongicides sur la microflore du raisin possède une importance capitale.

D'après ces divers résultats, nous avons étudié, au laboratoire, l'influence de quelques mélanges de fongicides vis-à-vis des microorganismes constituant la flore du raisin.

MATERIEL ET METHODES

Les fongicides **Euparène, Orthophaltane, Mycodifol, Topsin 50** et **Tekto 60** ont été testés sur les microorganismes suivants : *Saccharomyces ellipsoideus, Mycoderma vini, Aspergillus niger, Penicillium sp.* et *Botrytis cinerea ;* ces microorganismes ont été isolés à partir de raisin frais. Nous avons égale-

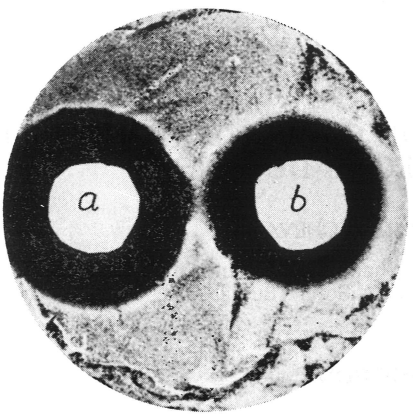


Fig. 1 — Influence de deux mélanges de fongicides sur le développement de *Saccharomyces ellipsoideus* :
a - **Euparène + Topsin 50**
b - **Orthophaltane + Topsin 50**

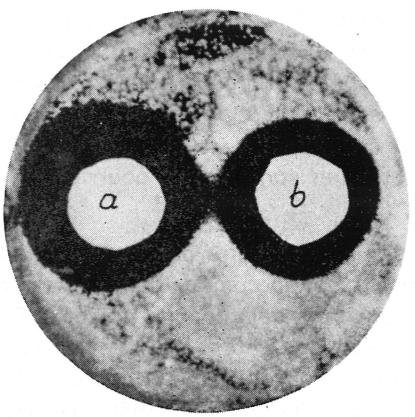


Fig. 2. — Influence de deux mélanges de fongicides sur le développement de *Mycoderma vini* :
a - **Euparène + Tekto 60**
b - **Orthophaltane + Tekto 60**

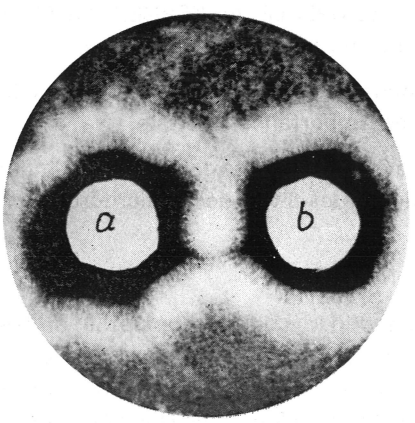


Fig. 3. — Influence de deux mélanges de fongicides sur le développement d'*Aspergillus niger* :
a - **Orthophaltane + Tekto 60**
b - **Orthophaltane + Topsin 50**

TABLEAU I

Influence de quelques mélanges de fongicides sur le développement de *Saccharomyces ellipsoideus* et *Mycoderma vini*

Durée de l'essai (h)	*Saccharomyces ellipsoideus* 24	48	72	96	*Mycoderma vini* 24	48	72	96
Témoin	+++	++++	+++++	+++++	+	++	+++	++++
Euparène + Orthophaltane	—	—	—	—	—	—	—	—
Euparène + Mycodifol	—	—	—	—	—	—	—	—
Euparène + Tekto 60	—	—	—	—	—	—	—	—
Euparène + Topsin 50	—	—	—	—	—	—	—	—
Orthophaltane + Mycodifol	—	—	—	—	—	—	—	—
Orthophaltane + Tekto 60	—	—	—	—	—	—	—	—
Orthophaltane + Topsin 50	—	—	—	—	—	—	—	—
Mycodifol + Tekto 60	—	—	—	—	—	—	—	—
Mycodifol + Topsin 50	—	—	—	—	—	—	—	—
Tekto 60 + Topsin 50	+++	++++	++++	+++++	—	++	+++	++++

(—) pas de développement
(+) faible développement
(++) (+++) fort développement
(++++) (+++++) très fort développement

TABLEAU II

Influence de quelques mélanges de fongicides sur le développement de *Saccharomyces ellipsoideus* **et de** *Mycoderma vini*
(L'intensité de l'inhibition est exprimée par la valeur (mm) du rayon de la zone d'inhibition).

Durée de l'essai (h)	Rayon de la zone d'inhibition (mm)					
	Saccharomyces ellipsoideus			*Mycoderma vini*		
	24	48	72	24	48	72
Euparène + Orthophaltane	15,5	15,5	13,0	18,0	16,0	12,0
Euparène + Mycodifol	13,0	13,0	12,0	13,0	13,0	9,0
Euparène + Tekto 60	12,5	12,5	12,0	13,0	12,0	10,0
Euparène + Topsin 50	12,0	12,0	11,0	16,0	14,5	12,0
Orthophaltane + Mycodifol	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	9,0
Orthophaltane + Tekto 60	10,0	8,5	8,5	9,5	6,5	4,5
Orthophaltane + Topsin 50	7,0	5,5	5,5	9,0	5,5	1,5
Mycodifol + Tekto 60	11,0	10,5	10,0	11,0	11,0	11,0
Mycodifol + Topsin 50	10,5	10,0	10,0	12,0	12,0	11,0
Tekto 60 + Topsin 50	0	0	0	0	0	0

TABLEAU III

Influence de quelques mélanges de fongicides sur le développement d'*Aspergillus niger* et de *Penicillium sp.*

Durée de l'essai (h)	*Aspergillus niger* 72	96	120	144	*Peniccilium sp.* 72	96	120	144
Témoin	+	++	+++	++++	+	++	+++	++++
Euparène + Orthophaltane	—	—	—	—	—	—	—	—
Euparène + Mycodifol	—	—	—	—	—	—	—	—
Euparène + Tekto 60	—	—	—	—	—	—	—	—
Euparène + Topsin 50	—	—	—	—	—	—	—	—
Orthophaltane + Mycodifol	—	—	—	—	—	—	—	—
Orthophaltane + Tekto 60	—	+	++	+++	—	—	—	—
Orthophaltane + Topsin 50	—	+	+	++	—	—	—	—
Mycodifol + Tekto 60	—	—	—	—	—	—	—	—
Mycodifol + Topsin 50	—	+	++	+++	—	+	++	+++

(—) pas de développement
(+) faible développement
(+++) (++) fort développement
(++++) très fort développement

TABLEAU IV

Influence de quelques mélanges de fongicides sur le développement d'*Aspergillus niger* et de *Penicillium sp.*
(L'intensité de l'inhibition est exprimée par la valeur (mm) du rayon de la zone d'inhibition).

Durée de l'essai (h)	*Aspergillus niger*			*Penicillium sp.*		
	48	72	96	48	72	96
Euparène + Orthophaltane	13,0	10,0	10,0	—	—	26,0
Euparène + Mycodifol	15,5	12,0	12,0 *	—	—	—
Euparène + Tekto 60	12,0	10,0	10,0 *	26,0	26,0	25,0
Euparène + Topsin 50	13,0	10,0	10,0	—	—	23,0
Orthophaltane + Mycodifol	9,0	3,0	3,0	16,5	15,0	14,0
Orthophaltane + Tekto 60	7,0	7,0	5,0 *	20,0	20,0	18,0
Orthophaltane + Topsin 50	6,0	5,0	3,0 *	18,0	16,0	16,0
Mycodifol + Tekto 60	10,5	9,0	9,0 *	—	—	22,0
Mycodifol + Topsin 50	9,0	9,0	9,0 *	—	16,5	16,5
Tekto 60 + Topsin 50	9,0	9,0	8,0	18,5	18,5	18,5

(—) pas de croissance
(*) pas de sporulation

ment testé des mélanges divers, par couple de deux produits présents chacun à dose égale ; le milieu de culture, de pH 5,5, contient les substances nutritives liquides et solides qu'on trouve dans le moût. L'ensemencement est réalisé soit en milieu liquide dans des tubes à essais, soit en milieu solide dans les boîtes de Petri. Dans tous les cas on utilise le même volume de suspension, prélevée sur des cultures, de 24 heures pour *Saccharomyces ellipsoideus* et *Mycoderma vini,* de 72 heures pour *Aspergillus niger, Penicillium sp.* et *Botrytis cinerea.* Dans les tubes à essais on introduit une goutte de la solution contenant les fongicides étudiés ; dans les boîtes de Petri on place des disques de papier filtre stérile imprégnés de la même solution. Les résultats sont mesurés après culture à 25 °C. L'effet fongistatique est exprimé, en milieu solide, en millimètres de zone stérile autour des disques de papier filtre ; en milieu liquide il est évalué par comparaison avec un témoin.

RESULTATS

Dans le tableau I on a rassemblé les résultats concernant le développement de *Saccharomyces ellipsoideus* et de *Mycoderma vini* en milieu liquide : ces champignons ne se développent pas en présence des mélanges de fongicides, exception faite du mélange **Tekto 60** + **Topsin 50** qui n'a pas d'influence.

TABLEAU V

Influence de quelques mélanges de fongicides sur le développement de *Botrytis cinerea*

(L'intensité de l'inhibition est exprimée par la valeur (mm) du rayon de la zone d'inhibition).

Durée de l'essai (h)	72	96	120	144
Euparène + Orthophaltane	26,5	25,0	25,0	25,0
Euparène + Mycodifol	—	—	—	—
Euparène + Tekto 60	—	—	—	—
Euparène + Topsin 50	18,0	17,0	16,0	16,0
Orthophaltane + Mycodifol	—	—	—	—
Orthophaltane + Tekto 60	—	—	25,0	22,0
Orthophaltane + Topsin 50	21,5	18,0	16,5	14,0
Mycodifol + Tekto 60	20,5	20,0	18,5	18.0
Mycodifol + Topsin 50	25,0	24,0	23,0	23,0
Tekto 60 + Topsin 50	—	—	26,5	26,5

Dans le tableau II on a rassemblée les résultats relatifs à l'influence des mélanges de fongicides sur les microorganismes en milieu solide : presque tous les mélanges ont un effet fongistatique sensible ; cet effet s'exprime par une zone stérile de rayon variant de 5,5 à 15,5 mm. Le développement des levures et de *Mycoderma vini* est essentiellement inhibé par les solutions d'**Euparène** (rayon de 9 à 13 mm à la 72e heure). **Tekto 60** **Topsin 50** ne manifestent pas d'effet fongistatique vis-à-vis des deux champignons étudiés ; cependant, en mélange avec l'**Orthophaltane**, la zone stérile, à la 72e heure, n'est que de 4,5 à 1,5 mm pour *Mycoderma vini* et de 8,5 à 5,5 mm pour *Saccharomyces ellipsoideus.* A part cela, l'influence des mélanges de deux fongicides présente diverses variations ; pour *Sacch. ellipsoideus* l'effet fongistatique, de la 24e à la 72e heure, diminue seulement de 0,5 à 2,5 mm ; pour *Mycoderma vini* cette diminution est sensiblement supérieure, jusqu'à 7,5 mm.

Le tableau III présente les résultats concernant le développement des divers champignons en milieu liquide ; on voit que les mélanges de fongicides gênent le développement d'*Aspergillus niger* et de *Penicillium sp.* Par rapport à *Aspergillus niger* le mélange **Orthophaltane** + **Tekto 60** (ou **Topsin 50**) comme celui **Tekto 60** + **Topsin 50** n'ont presque pas d'effet inhibiteur. Ce dernier n'a également aucune influence sur *Penicillium sp.* ; les autres mélanges exercent une action inhibitrice assez sensible sur les deux champignons à la fois, car jusqu'à la 144e heure on n'observe aucune croissance.

Sur milieu solide, la croissance et le développement d'*Aspergillus niger* et de *Penicillium sp.* sont plus ou moins inhibés par tous les mélanges (tableau IV).

Par rapport à *Aspergillus niger,* l'effet fongistatique est généralement plus faible ; après la 72e heure, il se manifeste essentiellement par l'inhibition de la sporulation. *Penicillium sp.* est plus sensible aux produits précédents : lors de l'application de certains mélanges (**Euparène** + **Orthophaltane**, **Euparène** + **Topsin 50**, **Mycodifol** + **Tekto 60** ainsi que d'autres) il n'y a aucun développement jusqu'à la 96e heure ; au-delà, on constate une inhibition de la croissance dans une zone variant de 22 à 26 mm. C'est le mélange **Euparène** + **Mycodifol** qui possède l'effet inhibiteur le plus puissant (jusqu'à la 144e heure il n'y a aucune croissance de *Penicillium sp.).*

En ce qui concerne la durée d'action des fongicides, il importe de mentionner que de la 48e à la 96e heure on n'observe qu'une faible diminution de la zone stérile ; pour certains produits, il n'y a aucune diminution.

Les figures 1, 2 et 3 mettent en évidence l'effet spécifique des mélanges de fongicides.

Vis-à-vis de *Botrytis cinerea,* agent de la pourriture grise, les mélanges de fongicides étudiés au cours de ce travail ont eu un effet intense, sans diminution pendant plus de 7 jours (tableau V) ; ce sont les mélanges

Mycodifol + **Euparène** et **Mycodifol** + **Orthophaltane** qui ont montré l'effet botryticide maximum).

CONCLUSIONS

L'étude, au laboratoire, de l'influence de quelques mélanges de fongicides mettent en évidence un effet inhibiteur vis-à-vis de *Saccharomyces ellipsoideus* et de *Mycoderma vini*. L'inhibition la plus intense est obtenue avec le mélange **Euparène** + **Orthophaltane**, la plus faible avec le mélange **Orthophaltane** + **Tekto 60** ou **Orthophaltane** + **Topsin 50**. Le mélange **Tekto 60** + **Topsin 50** n'a pas d'action sur le développement de champignons.

Les divers mélanges exercent une effet fongistatique spécifique vis-à-vis d'*Aspergillus niger* et de *Penicillium sp.*, ce qui s'exprime par une inhibition, à des degrés divers, du développement de ces deux microorganismes. Pour *Aspergillus niger*, l'influence des mélanges étudiés, après la 96e heure, se traduit par une inhibition de la sporulation, dans une zone plus ou moins large. Pour *Penicillium sp.* l'action de ces mélanges est plus intense ; le développement de ce champignon est totalement inhibé par l'**Euparène** et le **Mycodifol** ; les autres mélanges ont une zone d'action de rayon sensiblement plus grand que dans le cas d'*Aspergillus niger*.

Les mélanges de fongicides étudiés ici exercent également un effet fongistatique intense sur *Botrytis cinerea* ; cet effet est maximum avec les mélanges **Euparène** + **Mycodifol** et **Euparène** + **Orthophaltane**.

Manuscrit reçu le 28 novembre 1977.

RESUMÉ

On a étudié au laboratoire l'effet de certains mélanges de deux fongicides en proportions égales, sur *Sacch. ellipsoideus, Mycoderma vini, Aspergillus niger, Penicillium sp.* et *Botrytis cinerea.*

On a pu établir une effet inhibiteur d'intensité variable mesuré par l'importance plus ou moins grande du rayon de la zone d'inhibition mesuré en millimètres.

Penicillium sp. est sensible aux mélanges d'**Euparène** et d'autres fongicides. L'action de la plupart des produits sur *Aspergillus niger,* à partir de la 96e heure, ne se manifeste que par un arrêt de la sporulation. En ce qui concerne *Botrytis cinerea* l'effet fongistatique est plus intense mais aussi plus prolongé.

SUMMARY

Laboratory studies have been made of the effect of certain blends of two fungicides in equal proportions, on *Sacch. ellipsoideus, Mycoderma vini, Asp. niger, Penicillium sp.* and *Botrytis cinerea.*

An inhibitory effect of variable intensity measured by the importance of the range of the zone of inhibition measured in millimeters has been established.

Penicillium sp. is sensitive to blends of **Euparene** and other fungicides. The action of most of the products on *Aspergillus niger,* from the 96 th hours onwards,

is only show by a stopping of the sporulation. In so far as *Botrytis cinerea* is concerned, the fungistatic effect is more intense but also more prolonged.

ZUSAMMENFASSUNG

Mischungen in gleichbleibendem Verhältnis von je zwei Fungiziden dienten dazu, deren Wirkung auf *Sacch. ellipsoideus, Mycoderma vini, Aspergillus niger, Penicillium sp.* und *Botrytis cinerea* in Laborversuchen zu studieren. Der Durchmesser de Hemmhofes in Millimetern stellt das Mass für die Intensität der Hemmung dar. Penicillium sp. wird durch Mischungen von **Euparène** mit anderen Fungiziden gehemmt. Die Wirkung der Mehrzahl der Produkte auf *Aspergillus niger* manifestiert sich nur darin, dass dieser Pilz nach dem vierten Tag die Sporulation einstellt. Der fungistatische Effekt auf *Botrytis cinerea* ist grösser und länger anhaltend.

RESUMEN

Se ha estudiado en laboratorio el efecto de algunas mezclas de los fungicidas en iguales proporciones, sobre *Sacch. ellipsoideus, Mycoderma vini, Asp. niger, Penicilium sp.* y *Botrytis cinerea.*

Se ha podido establecer un efecto inhibidar, variable, mediro por la dimension mas o menos grande del radio de la zona de inhibicion, medida en milimetros.

Penicillium sp. Es sensible a las mezclas de **Eupareno** y otros fungicidas, la accion de la mayor parte de productos, sobre *Aspergillus niger,* a partir de la 96ava hora, no se manifiesta sino por un alto en la esporacion.

En cuanto a *Botrytis cinerea,* el efecto fungistatico es mas intenso, pero tambien mas prolongado.

RIASSUNTO

Si e studiato al laboratorio l'effetto di alcuni miscugli di due funghicidi in proporzioni uguali, su *Sacch. ellipsoideus, Micoderma vini, Asp. niger, Penicillium sp.* E *Botrytis cinerea.* Si e potuto stabilire un effetto inibitore d'intensita variabile misurato per l'importanza piu omeno grande del raggio della zona d'inibizione misurato in millimetri.

Penicillium sp. e sensibile ai miscugli d'**Euparène** e d'altri funghicidi. L'azione della piu parte die prodotti sul *Aspergillus niger,* a partire dalla 96ima ora, non si manifesta che per un arresto della sporalazione.

Per quanto concerne *Botrytis cinerea* l'effetto fungistatico e piu intenso ma anche piu prolungato.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

BOLAY A., CRETTENAND J., GNAEGI F. et SCHOPFER J.-F., 1972. Les fongicides systémiques dans la lutte contre la pourriture grise des raisins. *Rev. suisse vitic. Arboric. Hortic.*, **IV**, *3*, 88-95.

BOLAY A., CRETTENAND J. DVORAK V. et SCHOPFER J.-F., 1970. Lutte contre la pourriture grise des raisins et vinification. *Rev. suisse Vitic. Arboric. Hortic.*, **II**, *5*, 105-113.

BRANAS J., 1968. Encore la pourriture grise. *Prog. agric. vitic.*, **85**, *19*, 444-446.

GARTNER H., 1971. Versuche zur Bekämpfung von *Botrytis cinerea* (Grauschimmel) als Traubenfäule, *Mitt. Rebe Wein, Obstrau Frutchtverwert*, **21**, *3*, 183-198.

KARADIMTCHEVA B., 1975. Einfub einiger Fungizide auf die erreger der Traubenfäule. *Mitt. Rebe Wein, Obstrau Fruchtverwert*, **25**, *2*, 101-106.

KARADIMTCHEVA B. et PETKOVA, 1974. *Gradin. i lozarska Nauka (Sofia)*, **8** (en Bulgare).

LEMPERLE E., KERNER E. et STRECKER H., 1970. Wickstoffrückstände und Gärverhalten nach Anwendung von Botrytiziden im Weinbau, *Wein-Wiss.*, **25**, 8/9, 313-328.

MINARIK E. et RAGALA P., 1966. Einflub einiger Fungizide auf die Hefeflora bei der spontanen Mostgärung, *Mitt., Rebe Wein, Obstrau Fruchtverwert*, **26**, *2*, 107-114.