



HAL
open science

La résistance de type MDR chez l'agent de la septoriose du blé : dernières avancées sur un mode d'action original

Selim Omrane, Colette C. Audeon, Amandine Ignace, Clémentine Duplaix, Hind Sghyer, Lamia Aouini, Gert Kema, Sabine Fillinger, Anne-Sophie Walker

► To cite this version:

Selim Omrane, Colette C. Audeon, Amandine Ignace, Clémentine Duplaix, Hind Sghyer, et al.. La résistance de type MDR chez l'agent de la septoriose du blé : dernières avancées sur un mode d'action original. CIMA, Association Française de Protection des Plantes (AFPP). FRA., Dec 2015, Tours, France. hal-02740700

HAL Id: hal-02740700

<https://hal.inrae.fr/hal-02740700>

Submitted on 2 Jun 2020

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

**LA RESISTANCE DE TYPE MDR CHEZ L'AGENT DE LA SEPTORIOSE DU BLE : DERNIERES
AVANCEES SUR UN MODE D'ACTION ORIGINAL**

Selim Omrane¹, Colette Audéon¹, Amandine Ignace¹, Clémentine Duplaix¹, Hind Sghyer¹, Lamia Aouini², Gert Kema², Sabine Fillinger¹ and Anne-Sophie Walker¹

⁽¹⁾ UMR BIOGER, INRA AgroParisTech, Avenue Lucien Brétignières, 78850 Thiverval-Grignon, France
walker@versailles.inra.fr

⁽²⁾ Plant Research International, Wageningen University, Wageningen, The Netherlands

RÉSUMÉ

La résistance multidrogues (MDR) est en progression dans les populations françaises de *Z. tritici*, depuis sa première détection en 2008. Ce mécanisme original est lié à un efflux accru de fongicides, induit par la surexpression du transporteur membranaire MgMFS1. Le phénotype MDR est déterminée par une insertion de 519 bp dans la région promotrice de *MgMFS1*, mais également, pour certaines souches, par au moins un autre mécanisme, à identifier. Le mécanisme MDR, associé à des modifications de cible de fongicides, notamment Cyp51 (cible des triazoles), confère de forts niveaux de résistance croisée. Ces résultats posent plus généralement la question de l'efficacité résiduelle des différentes spécialités fongicides si les souches MDR venaient à se généraliser.

Mots-clés : *Zymoseptoria tritici*, résistance multidrogues, monitoring, triazoles, bulk segregant analysis

ABSTRACT

MDR resistance in the causal agent of Septoria leaf blotch of wheat: new insights into an original resistance mechanism

Multidrug resistance (MDR) is increasing in French populations of *Z. tritici*, since its first detection in 2008. This original mechanism is linked to an increased efflux of fungicides, mediated by the overexpression of the membrane transporter MgMFS1. The MDR phenotype is determined by a 519 bp insert in the promoter region of *MgMFS1*, but also, for some strains, by at least one other mechanism, to be identified. The resistance mechanism of MDR, associated to target alteration, and especially to that of Cyp51 (azoles' target), induce high resistance factors. More generally, these results set the question of the residual efficacy of the various commercial fungicides concerned by MDR if these strains once generalized.

Keywords: *Zymoseptoria tritici*, multidrug resistance, monitoring, triazoles, bulk segregant analysis

INTRODUCTION

La septoriose du blé, causée par *Zymoseptoria tritici* (syn. *Mycosphaerella graminicola*) est la première maladie affectant le blé en Europe. Sa nuisibilité a été mesurée en moyenne à 24,6 q/ha en 2012 en France (source : Arvalis). En l'absence de variétés totalement résistantes (seules des résistances partielles sont connues pour certaines variétés (Abrinbana et al. 2012; Chartrain et al. 2004), la lutte, ciblant la septoriose mais également l'ensemble du cortège parasitaire affectant le feuillage, consiste principalement en l'application de 1 à 3 fongicides, du stade épi à 1 cm au stade épiaison. L'offre fongicide est actuellement principalement constituée de produits multisites (e.g. chlorothalonil), d'inhibiteurs de la 14 α -déméthylation des stérols (IDM, et en particulier, la famille des triazoles, qui constituent depuis 20 ans le socle des programmes de traitement), d'inhibiteurs de la respiration au niveau du complexe mitochondrial III (QoI dont la famille des strobilurines) ou du complexe mitochondrial II (inhibiteurs de la succinate deshydrogénase ou SDHI ou carboxamides). Depuis l'homologation du boscalid en 2006 sur blé, cette dernière famille représente l'essentiel des nouveautés fongicides puisque de nombreuses molécules représentatives de ce mode d'action sont ou seront autorisés très prochainement, tant pour protéger le feuillage que la semence, suscitant ainsi de grands espoirs pour le maintien de hauts niveaux de protection fongicide.

Un des effets non intentionnels (ENI) de la lutte contre les bioagresseurs des cultures est la sélection d'individus résistants dans les populations, consécutive à l'application de produits de protection des plantes (PPP). L'adaptation des bioagresseurs des cultures aux PPP est un phénomène évolutif qui conduit à l'augmentation en fréquence des génotypes résistants (i.e. présentant « une réduction stable de sensibilité à un produit toxique, résultant d'un changement génétique » (Anonymous 1988)), avantagés dans les populations sous pression de sélection. A partir d'un certain seuil de fréquence, et selon l'intensité de la résistance (ou niveau de résistance NR) portée par ces individus, l'efficacité des traitements chimiques peut être compromise, et conduire à des traitements inutiles (car inefficaces), de rattrapage, et/ou au recours à des molécules anciennes multisites, souvent (eco)toxiques et efficaces seulement à fortes doses. Ce problème est particulièrement prégnant chez *Z. tritici*. En effet, les dernières décennies ont vu l'émergence puis la généralisation en Europe des résistances aux anti-microtubules (mode d'action ancien à usage actuellement confidentiel sur septoriose) dans les années 70-80 (Griffin and Fisher 1985) et aux inhibiteurs du complexe III de la respiration au début des années 2000 (Fraaije et al. 2005; Torriani et al. 2009), conduisant à des échecs de traitement sans précédent (jusqu'à des pertes d'efficacité de 70-80 points). A l'inverse, la résistance aux SDHI est émergente en Europe, avec deux souches détectées en 2012 en Grande Bretagne (mutation portée par le gène *sdhC* conduisant au changement W80S) et dans le Nord de la France (SdhC T79N). Ces deux souches exprimeraient des phénotypes CarR de faible résistance aux SDHI (source FRAC <http://www.frac.info/>). Le cas de la résistance aux IDM est particulièrement intéressant. Même si cette résistance s'est progressivement généralisée en Europe (Stammler, Carstensen, et al. 2008), la perte d'efficacité est faible à modérée, liée à l'accumulation progressive de mécanismes de résistance indépendants, sélectionnés probablement par la grande diversité de molécules, ayant des particularités qualitatives distinctes, mises sur le marché entre 1976 (homologation du triadiméno) et 2006 (homologation du prothioconazole). La modification de l'enzyme 14 α -déméthylase (CYP51), cible des IDM, est clairement le mécanisme principal. Une grande diversité de mutations du gène *CYP51*, ou de combinaisons de mutations, déterminent une multiplicité de phénotypes, caractérisés par leurs niveaux de résistance (faible à moyen pour une molécule donnée, selon les phénotypes) et leur spectre de résistance croisée (complet ou partiel entre les molécules représentatives de ce mode d'action) (Frank et al. 2009; Stammler, Kern, et al. 2008; Leroux et al. 2007; Cools 2007; Cools and Fraaije 2012; Cools et al. 2010). Plus particulièrement, les phénotypes TriR6 et TriR7 sont actuellement majoritaires dans les populations (\approx 75%) et génèrent des niveaux de résistance moyens à la majorité des IDM. Plus récemment, des souches dites « TriMR évoluées » et présentant de nouvelles combinaisons mutationnelles dans *CYP51* sont également trouvées en fréquences croissantes. Ces souches présentent de forts niveaux de résistance à plusieurs IDM. Un mécanisme de surexpression de ce gène cible est également détecté et contribue de manière complémentaire à l'expression de la résistance

(Cools et al. 2012; Chassot et al. 2008). Enfin, plus récemment, un troisième mécanisme associé à la résistance aux IDM a été détecté dans les populations naturelles par notre équipe. Il s'agit d'un mécanisme générant des phénotypes multidrogues résistants (MDR), (Leroux and Walker 2011).

L'occurrence de la MDR progresse dans les populations françaises depuis 2008, même si sa fréquence actuelle ne semble pas suffisante pour compromettre l'efficacité des programmes. La MDR se caractérise par une résistance croisée entre toutes les molécules triazoles (forts niveaux de résistance), mais également de modes d'action différents, comme les QoIs et les SDHIs (Leroux and Walker 2011). Notre équipe, avec l'aide d'un consortium représentant les firmes agrochimiques et Arvalis, a caractérisé auparavant le mécanisme de résistances de deux isolats MDR (souches nommées MDR6 et MDR7 car sélectionnées respectivement sur des fonds génétiques TriR6 et TriR7, et cumulant donc deux mécanismes de résistance). Le mécanisme MDR est lié à un efflux actif de fongicides, démontré *in vitro* par l'utilisation de prochloraze radioactif (Omrane, Fillinger, and Walker 2012). Ce type de mécanisme est généralement liée à la surexpression d'un transporteur membranaire. Dans le cas des souches MDR de *Z. tritici*, le transporteur surexprimé majoritairement est MgMFS1 (Omrane, Fillinger, and Walker 2012; Omrane et al. 2015). Ce transporteur de type MFS (pour Major Facilitator Superfamily) utilise le gradient de proton membranaire pour expulser les molécules toxiques hors de la cellule fongique. Par contre la/les mutation(s) conduisant à la surexpression de ce transporteur restai(en)t à identifier. Cet article fait donc état des derniers résultats en la matière, et présente également l'évolution de cette résistance dans les populations.

MATERIEL ET MÉTHODE

SUIVI DE LA MDR DANS LES POPULATIONS

En l'absence de résultats définitifs quant au déterminisme moléculaire de la MDR, ce mécanisme est suivi annuellement par notre laboratoire, *via* des tests phénotypiques. Une trentaine de feuilles de blé septoriées sont collectées au champ puis utilisées pour constituer des suspensions de spores en mélange, représentatives de la population parcellaire. Ces suspensions sont inoculées sur milieu artificiel contenant des doses discriminantes de fongicides, et en particulier de tolnaftate et de terbinafine, des fongicides inhibiteurs de la biosynthèse des stérols connus pour révéler la MDR chez plusieurs espèces fongiques. La notation de la fréquence de filaments longs sur ces modalités, dans les mélanges parcellaires, reflète directement la fréquence de MDR (Leroux and Walker 2011).

Les échantillons ainsi traités proviennent des principaux réseaux d'essais (Réseau performance, animé par Arvalis, réseau AFPP « Maladies des céréales ») ainsi que d'essais privés. Environ 200 à 800 populations sont testées annuellement et permettent une vision relativement exhaustive de la dynamique de la résistance dans les principales régions françaises productrices de blé.

En parallèle à ces suivis populationnels, des souches MDR sont isolées annuellement pour les caractériser phénotypiquement (NR) et aussi génotypiquement. La séquence de *cyp51* est produite, par PCR, et permet de dénombrer les différents fonds génétiques *cyp51* avec lesquels le mécanisme MDR s'est recombinaé.

MESURE DE L'EXPRESSION DU TRANSPORTEUR MgMFS1

Le niveau d'expression du transporteur MgMFS1 a été analysé dans des isolats MDR et non-MDR, grâce à des amorces spécifiques, par qRT-PCR. Cette méthode permet de quantifier la quantité d'ARN MgMFS1 transcrit pour des souches MDR et non MDR, afin d'estimer la corrélation entre cet évènement et le phénotype MDR.

IDENTIFICATION DE LA MUTATION CONFERANT LA MDR

La stratégie de Bulk Segregant Analysis (BSA) utilisée pour identifier la mutation responsable de la MDR est illustrée dans la figure 1. Deux souches de référence MDR (dénommée MDR6 et MDR7 car associées à des mutations de *CYP51* générant les phénotypes TriR6 et TriR7) ont été croisées avec des souches sensibles, par le laboratoire du PRI à Wageningen. Les descendants de ce croisement ont été isolés puis

testés pour leur sensibilité au tolnaftate, permettant de distinguer les descendants sensibles des descendants MDR. L'ADN de ces descendants a été utilisé pour produire des mélanges (bulks) de descendants représentatifs de chaque groupe (MDR et sensible respectivement). Ces mélanges d'ADN ont été séquencés par la technologie Illumina. Les polymorphismes (ou SNP, pour Single Nucleotide Polymorphism) présents dans les génomes de chaque groupe ont été identifiés en comparant les séquences produites à celles des génomes parentaux, permettant d'assigner une fréquence dans le mélange à chaque SNP. Les SNP présents à forte fréquence dans les bulks MDR et à faible fréquence dans les bulks sensibles sont supposés être localisés dans les régions génomiques déterminant la MDR. Ces régions sont ensuite examinées sur un plus grand nombre de souches et en plus en détail, pour identifier les polymorphismes potentiellement impliqués dans la MDR.

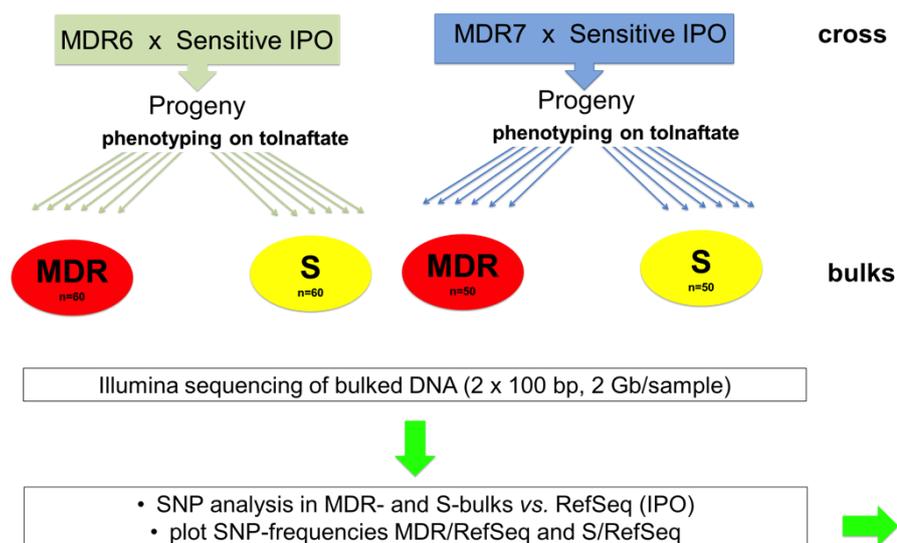


Figure 1 : Stratégie pour cartographier les mutations responsables de la MDR chez *Z. tritici*
Strategy designed to map the mutations responsible for MDR in *Z. tritici*

VALIDATION FONCTIONNELLE DE LA MUTATION IDENTIFIEE DANS LA RESISTANCE

L'analyse fine de la région identifiée a relevé la présence d'un insert de 519 bp dans la région promotrice du gène *MgMFS1*, en dehors d'autres polymorphismes seulement présents chez les descendants MDR. La surexpression du gène peut être induite par cette modification de sa région promotrice. Pour valider cette hypothèse nous avons généré des souches portant l'insert *MgMFS1* ou non dans la souche sensible IPO323 par génétique reverse.

RESULTATS

STRUCTURE DES POPULATIONS ET DIVERSITE DES MECANISMES DE RESISTANCE

Les analyses populationnelles effectuées en 2015 montrent que les souches moyennement résistantes (TriR6, TriR7 et TriR8) restent dominantes dans les populations françaises, même si leur proportion diminue lentement. A l'inverse, les souches TriMR évoluées progressent (Figures 2 et 3). Ces souches sont actuellement dominantes en Irlande et en Grande Bretagne. Elles montrent une grande diversité de combinaisons de mutations dans le gène *CYP51*, la substitution S524T étant à l'origine de nombreux génotypes nouveaux ces dernières années. Les souches MDR représentent en moyenne moins de 10% de l'échantillonnage global. Dans les parcelles concernées (environ 40% de l'échantillonnage global), elles représentent en moyenne près de 25% de la population (Figure 3) et leur distribution sur le territoire

semble s'accélérer ces dernières années. L'examen des polymorphismes *CYP51* associés montrent que le mécanisme MDR est au minimum recombiné avec 10 génotypes différents (Tableau I).

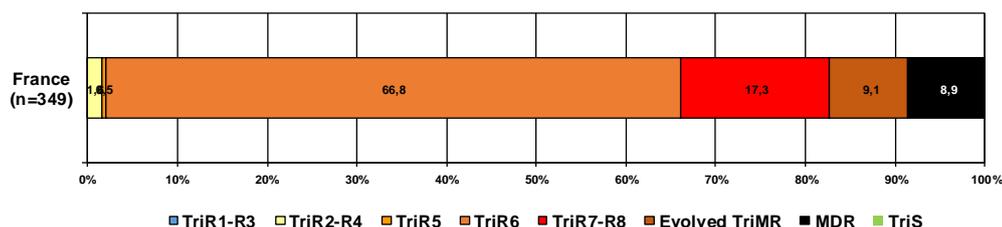


Figure 2 : Structure de la population française en 2015 pour la résistance aux fongicides IDM
Structure of the French populations in 2015 for DMI resistance

Groupe	Phénotype TriR	Génotype <i>CYP51</i> (mutation de cible)									Efflux accru ** (MDR)
		Position de l'acide aminé									
		134	136	137	379	381	459*	460*	461	524	
TriS	TriS	D	V	Y	A	I	Y	G	Y	S	
TriLR	TriR1-TriR3	D	V	F	A	I	Y	G	Y	S	
	TriR2	D	V	Y	A	I	Y	D	Y	S	
	TriR4a	D	V/C	Y	A	I	Y	G	H/S	S	
	TriR4b	D	V/C	Y	A	I	I	I	Y	S	X
	TriR5a ou TriR5a+	D	A	Y	A	I	Y	G	H/S	S	
TriR5b ou TriR5b+	D	A	Y	A	I	I	I	Y	S		
TriMR	TriR6a1	D	V	Y	A	V	S/D	G	Y	S	X
	TriR6a2	D	V	Y	A	V	Y	G	H/S	S	X
	TriR7	D	V	Y	A	V	I	I	Y	S	X
	TriR8 ou TriR8+	D	V	Y	G	V	I	I	Y	S	X
TriMR évoluées	TriR9a	D	A	Y	A	I	Y	G	S	T	
	TriR9b	D	A	Y	A	I	-	-	Y	T	X
	TriR10a	D	A	Y	A	V	Y	G	H	S	X
	TriR11	G	A	Y	A	V	Y	G	H	S	X
	TriR12	D	A	Y	A	V	Y	D	Y	T	
	TriRz	G	A	Y	A	I	-	-	Y	T	
	New1	D	V	Y	G	V	D	G	Y	T	
	New2	G	A	Y	A	V	Y	G	H	T	
	New3	D	C	Y	G	V	-	-	Y	T	X
	New4	D	C	Y	A	I	Y	G	H	T	
	New5	D	A	Y	G	V	-	-	Y	T	
	New6	D	A	Y	A	V	Y	G	H	T	X
New7	D	V/C	Y	A	V	Y	G	H	T		
New8	D	V	Y	A	V	-	-	Y	T		

Le gène *CYP51* code pour l'enzyme stérol 14 α -déméthylase.

Par souci de simplification, tous les génotypes ne sont pas présentés ; certains (présentant des modifications non liées à la résistance, sur des codons non listés dans ce tableau) ont été regroupés.

* Le signe '-' indique la double délétion $\Delta Y459/G460$.

** Génotypes TriR associés au mécanisme d'efflux, dans la collection INRA.

Au moins deux mécanismes de résistance (mutation de la cible et efflux accru) peuvent se combiner pour induire des phénotypes résistants aux IDM.

Tableau I : Polymorphisme du gène *CYP51* chez les isolats résistants aux IDM et combinaison avec le mécanisme MDR

CYP51 polymorphism in DMI resistant isolates and combination with the MDR mechanism

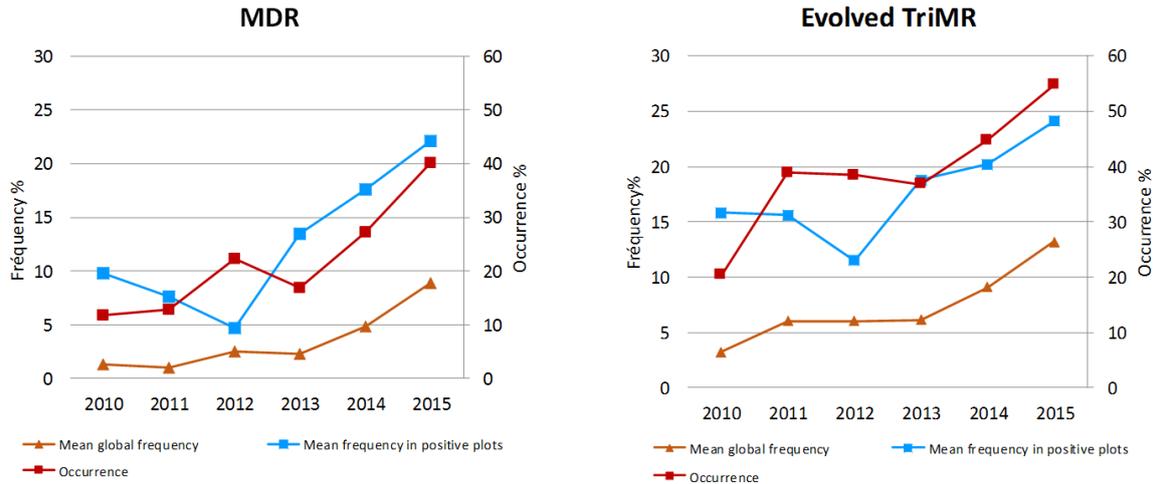


Figure 3 : Evolution temporelle des phénotypes MDR et TriMR évolués en France
Temporal evolution of MDR and evolved TriMR phenotypes in France

SUREXPRESSION DU TRANSPORTEUR MgMFS1 DANS DES SOUCHES MDR

L'expression du transporteur MgMFS1 a été mesurée par qRT-PCR pour des souches de phénotype MDR et des souches non MDR (souches sensibles ou avec résistance spécifique aux triazoles). L'expression de ce transporteur était très largement supérieure chez les souches MDR, comparativement aux souches non MDR (Figure 4). Ceci confirme que le phénotype MDR observé résulte bien de la surexpression du transporteur MgMFS1 chez les souches étudiées.

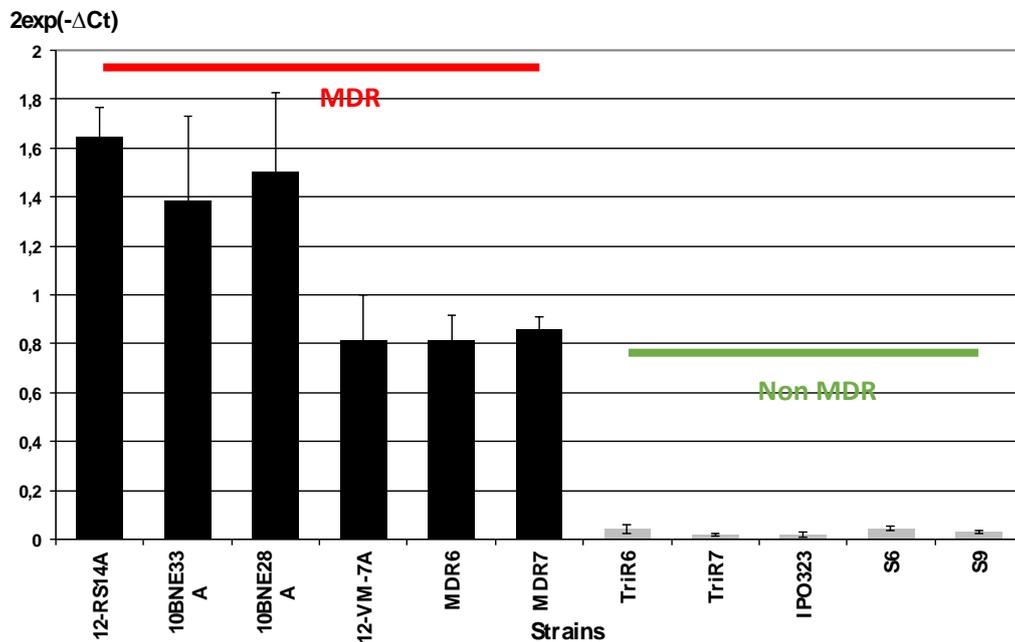


Figure 4 : Expression du gène *MgMFS1* mesurée par qRT-PCR chez différents isolats du champ de *Z. tritici*
Expression of the *MgMFS1* gene measured by qRT-PCR in various field isolates of *Z. tritici*

IDENTIFICATION DE LA MUTATION CONFÉRANT LA MDR

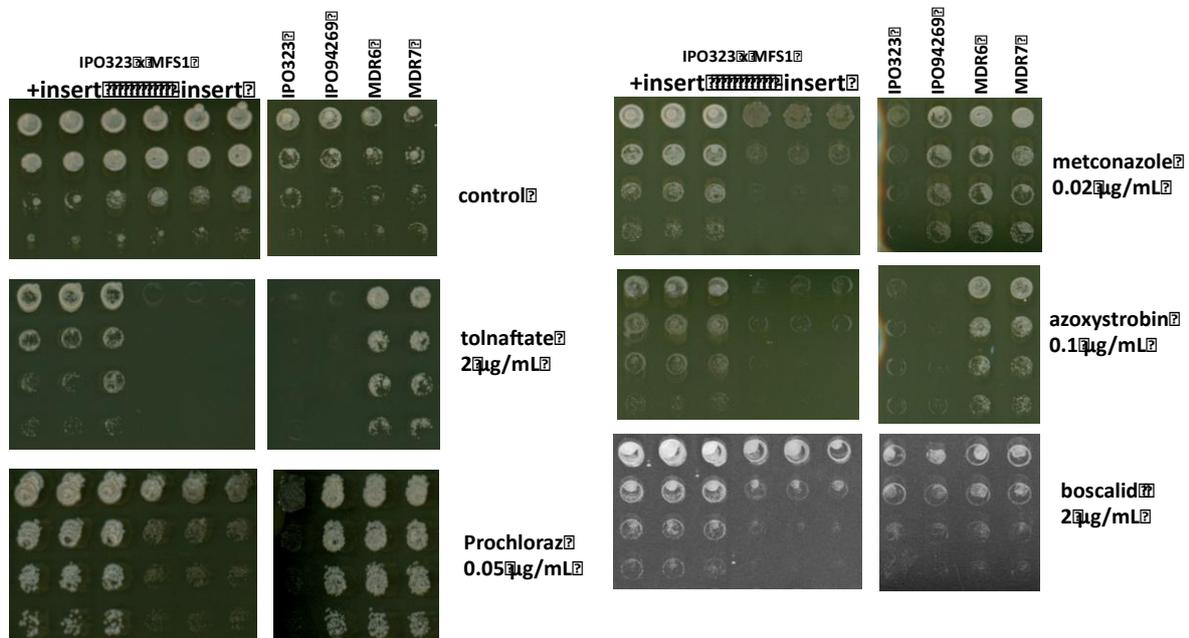
L'analyse de la fréquence des SNPs, détectés dans chaque pool de descendants, comparativement aux séquences parentales, montre une forte co-ségrégation du phénotype MDR avec une région de 40 kb

du chromosome 7. L'étude approfondie de cette région du génome a montré la présence du gène *MgMFS1*, décrit ci-dessus comme surexprimé dans les souches MDR isolées du champ.

La comparaison des séquences génomiques flanquant le gène *MgMFS1* indique la présence d'une insertion de 519 bp dans la région promotrice de ce gène, uniquement chez les souches MDR6 et MDR7. Cette insertion correspond à un reliquat de la séquence d'un élément transposable de type Ty1/Copia, retrouvé sur le chromosome 18 de la souche séquencée IPO323. La surexpression du transporteur *MgMFS1* pourrait donc être déterminée par cette insertion dans sa région promotrice, insertion elle-même générée par un évènement de transposition.

VALIDATION DU RÔLE DE L'INSERT DU PROMOTEUR *MgMFS1* DANS LA MDR

Par génétique reverse, il a été possible d'introduire des versions modifiées du gène *MgMFS1* dans la souche sensible IPO323, portant ou non l'insert dans la région promotrice. Si les souches portant l'insert présentent bien une croissance forte en présence de tolnaftate, triazoles, SDHI ou Qol (résistance croisée), comparativement au parent sensible, les souches sans insert présentent un phénotype similaire à celui du parent sensible (Figure 5). Ces résultats démontrent formellement l'implication de l'insert du promoteur *MgMFS1* dans le phénotype MDR.



IPO323/IPO94269 : souches sensibles de référence ; MDR6 et MDR7 : souches MDR de référence ; souches IPO323 x MFS1: souche IPO323 portant le gène codant pour le transporteur *MgMFS1* avec (+) ou sans insert (-).

Figure 5 : Validation du rôle de l'insert du promoteur *MgMFS1* dans la MDR. Croissance de différentes souches de *Z. tritici* sur milieu gélosé amendé avec divers fongicides (doses discriminantes).

Functional validation of the *MgMFS1* promoter insert in MDR. Growth of various *Z. tritici* strains on artificial medium, implemented with various fungicides (discriminating doses).

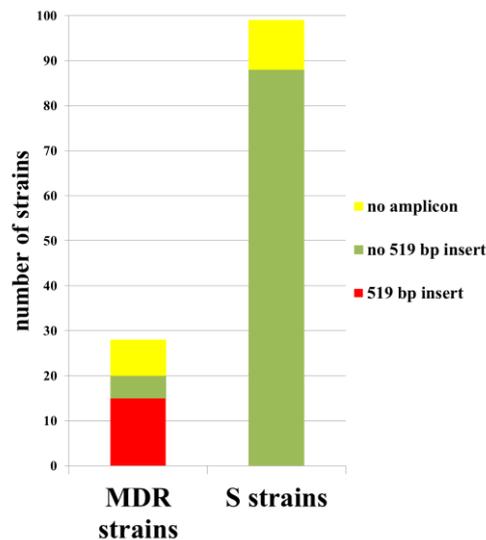


Figure 6 : Distribution de l'insert dans la région promotrice de *MgMFS1* chez des souches du champ de *Z. tritici*
Distribution of the *MgMFS1* promoter insert in field strains of *Z. tritici*

Cet insert dans la région promotrice de *MgMFS1* a été systématiquement recherché dans des souches du champ (choisies pour maximiser la diversité des dates et zones de collecte), phénotypées comme MDR ou non MDR (Figure 6). Cette insertion n'a jamais été retrouvée chez des souches non MDR. Elle est par contre présente dans la moitié des souches MDR. Ceci suggère que l'insertion détectée dans la région promotrice de *MgMFS1* est l'un des mécanismes déterminant le phénotype MDR, mais qu'un autre mécanisme est également présent.

DISCUSSION ET CONCLUSION

Par cette étude, nous démontrons donc que le phénotype MDR, lié à la surexpression d'un transporteur membranaire, identifié comme *MgMFS1*, est déterminée par une insertion de 519 bp dans la région promotrice du même gène, résultant d'un évènement de transposition. Si le mécanisme de MDR est largement étudié dans le milieu médical, sa découverte chez *Z. tritici* reste l'un des rares exemples validés chez un champignon phytopathogène (Omrane et al. 2015).

D'un point de vue pratique, l'augmentation en fréquence et la dispersion des souches MDR dans les populations de *Z. tritici* soulève inévitablement la question de l'impact de ces souches sur l'efficacité au champ des fongicides. Concernant les triazoles, le mécanisme de MDR a été sélectionné sur des fonds génétiques présentant préalablement une résistance spécifique aux triazoles, avec des NR faibles à moyens. La combinaison de ces deux mécanismes induisant des NR forts pour les triazoles, il est légitime d'envisager des pertes d'efficacité en cas de généralisation. Il est donc primordial de mettre en place des stratégies anti-résistance performantes, en choisissant la plus adaptée à la situation (voir également la note commune Maladies des céréales à paille <http://www.afpp.net/apps/accueil/autodefault.asp?d=5121>). Or, l'intérêt respectif de ces stratégies (alternance, mélange, modulation de la dose) est sujet à débat dans la communauté scientifique car fortement dépendant de la biologie des organismes et du déterminisme génétique de la résistance. Une étude récente (REX_Consortium 2013) portant sur la modélisation comparée des différentes stratégies d'utilisation des pesticides a conclu à l'intérêt des mélanges, en particulier lorsque la fitness des souches résistantes était comparable à celle des souches sensibles, alors qu'au contraire la stratégie d'alternance présentait un intérêt supérieur lorsqu'un coût de la résistance est détecté chez les souches résistantes. En conséquence, il est crucial d'évaluer la fitness des souches MDR, pour gérer au mieux les modes d'actions homologués sur céréales, en particulier les triazoles et les SDHIs. Ce travail constitue l'une de nos perspectives de recherche.

Par ailleurs, si les facteurs de résistance des isolats MDR, mesurés *in vitro* pour les SDHIs, sont faibles, les essais du réseau « Performance », animé par Arvalis, montrent depuis 2010 une tendance à la sélection préférentielle de ces souches MDR par les SDHIs associés aux IDM, comparativement aux programmes n'incluant que des triazoles. Dans le contexte technique et réglementaire actuel où les SDHIs constituent l'essentiel de l'innovation, leur utilisation, associée systématiquement aux IDM, prévue être de plus en plus large à l'échelle européenne dans les prochaines années, pourrait largement favoriser la résistance MDR et réduire encore l'efficacité pratique des IDM, déjà altérée par la résistance spécifique. De plus, la MDR progressant, le risque de sélection multiple (souches portant à la fois les mutations *mdr* et de résistance spécifique aux SDHIs) n'est pas non plus à exclure, puisque les premiers isolats portant cette résistance spécifique aux SDHIs ont été détectés en 2012 et que cette pression de sélection est croissante depuis cette date. Ainsi, pour préserver l'efficacité des triazoles et des SDHIs, il est fondamental de surveiller l'émergence et la propagation de la MDR dans les populations par un outil quantitatif adapté, en cours de développement dans notre laboratoire, et surtout de comparer les pressions sélectives exercées par les différentes stratégies de traitement à base de SDHI et de triazoles pour identifier celles présentant la meilleure durabilité. A l'inverse, il serait également intéressant de vérifier que les fongicides multisites (les seuls à ne pas être concernés par la résistance, et à ce titre, de plus en plus fréquemment intégrés dans les programmes pour assurer leur efficacité) contribuent à ralentir la sélection de la MDR. Ceci est d'autant plus important que l'émergence de cette résistance MDR intervient dans un contexte où la plupart des modes d'actions utilisés sur céréales sont menacés réglementairement (par exemple, certains triazoles et SDHI par les « cut-off » critères, reclassement en phrase de risque « T » pour l'époxiconazole, limitation de l'usage du chlorothalonil, retrouvé de manière importante dans l'eau et dans l'air... ; plan Ecophyto, règlement européen du 20/11/2009), ce qui réduit d'autant les possibilités de gestion du risque MDR. La gestion de la résistance de plus est compliquée par la rareté de nouveaux modes d'action mis sur le marché, ce qui tend à homogénéiser la pression de sélection pesticide, alors que la prévention et la gestion des résistances aux pesticides reposent sur l'emploi et le maintien d'une diversité de modes d'action, déployés dans l'espace et dans le temps.

REMERCIEMENTS

Les auteurs remercient les expérimentateurs leur ayant envoyé des populations de feuilles de blé septoriées. Ces résultats sont issus du contrat post-doctoral de Selim Omrane, financé par Arvalis et un consortium industriel constitué de Bayer, Syngenta, BASF et Dupont de Nemours.

BIBLIOGRAPHIE

- Abrinbana, M., J. Mozafari, M. Shams-bakhsh, and R. Mehrabi. 2012. 'Resistance spectra of wheat genotypes and virulence patterns of *Mycosphaerella graminicola* isolates in Iran', *Euphytica*, 186: 75-90.
- Anonymous. 1988. 'Fungicide resistance: definitions and use of terms', *EPPO Bulletin*, 18: 569-74.
- Chartrain, L., P. A. Brading, J. P. Widdowson, and J. K. M. Brown. 2004. 'Partial resistance to *Septoria tritici* blotch (*Mycosphaerella graminicola*) in wheat cultivars arina and riband', *Phytopathology*, 94: 497-504.
- Chassot, C, U. Hugelshofer, H. Sierotzki, and U. Gisi. 2008. "Sensitivity of *Cyp51* genotypes to DMI fungicides in *Mycosphaerella graminicola*." In *Modern Fungicides and Antifungals compounds V*, edited by Gisi U Dehne DW, Kuck KH, Russell PE and Lyr H., 129-36. Braunschweig, Germany: DPG Seebsterverlag.
- Cools, H. J. 2007. 'Molecular mechanisms correlated with reduced azole sensitivity in *Mycosphaerella graminicola*', *Phytopathology*, 97: S24-S24.
- Cools, H. J., C. Bayon, S. Atkins, J. A. Lucas, and B. A. Fraaije. 2012. 'Overexpression of the sterol 14 α -demethylase gene (*MgCYP51*) in *Mycosphaerella graminicola* isolates confers a novel azole fungicide sensitivity phenotype', *Pest Management Science*, 68: 1034-40.

- Cools, H. J., J. E. Parker, D. E. Kelly, J. A. Lucas, B. A. Fraaije, and S. L. Kelly. 2010. 'Heterologous expression of mutated eburicol 14 alpha-demethylase (CYP51) proteins of *Mycosphaerella graminicola* to assess effects on azole fungicide sensitivity and intrinsic protein function', *Applied and Environmental Microbiology*, 76: 2866-72.
- Cools, Hans J., and Bart A. Fraaije. 2012. 'Update on mechanisms of azole resistance in *Mycosphaerella graminicola* and implications for future control', *Pest Management Science*: n/a-n/a.
- Fraaije, B. A., H. J. Cools, J. Fountaine, D. J. Lovell, J. Motteram, J. S. West, and J. A. Lucas. 2005. 'Role of ascospores in further spread of QoI-resistant cytochrome b alleles (G143A) in field populations of *Mycosphaerella graminicola*', *Phytopathology*, 95: 933-41.
- Frank, M., D. Strobel, M. Semar, and G. Stammler. 2009. 'Mutations in the target of DMI fungicides (CYP51) in *Mycosphaerella graminicola* and their impact on DMI sensitivity', *Phytopathology*, 99: S37-S37.
- Griffin, M. J., and N. Fisher. 1985. 'Laboratory studies on benzimidazole resistance in *Septoria tritici*', *EPPO Bulletin*, 15: 505-11.
- Leroux, P., C. Albertini, A. Gautier, M. Gredt, and A. S. Walker. 2007. 'Mutations in the CYP51 gene correlated with changes in sensitivity to sterol 14 alpha-demethylation inhibitors in field isolates of *Mycosphaerella graminicola*', *Pest Management Science*, 63: 688-98.
- Leroux, P., and AS. Walker. 2011. 'Multiple mechanisms account for resistance to sterol 14 α -demethylation inhibitors in field isolates of *Mycosphaerella graminicola*', *Pest Management Science*, 67: 44-59.
- Omrane, S, S. Fillinger, and A. S. Walker. 2012. "Caractérisation du mécanisme MDR (MultiDrug Resistance) chez les souches de *Mycosphaerella graminicola* fortement résistantes aux fongicides IDM." In *10ème Conférence Internationale sur les Maladies des Plantes*, edited by AFPP. Tours.
- Omrane, Selim, Hind Sghyer, Colette Audéon, Catherine Lanen, Clémentine Duplaix, Anne-Sophie Walker, and Sabine Fillinger. 2015. 'Fungicide efflux and the MgMFS1 transporter contribute to the multidrug resistance phenotype in *Zymoseptoria tritici* field isolates', *Environmental Microbiology*, 17: 2805-23.
- REX_Consortium. 2013. 'Gestion des résistances. L'importance des modalités de déploiement des substances', *Phytoma-La Défense des Végétaux*, 669: 10-14.
- Stammler, G., M. Carstensen, A. Koch, M. Semar, D. Strobel, and S. Schlehuber. 2008. 'Frequency of different CYP51-haplotypes of *Mycosphaerella graminicola* and their impact on epoxiconazole-sensitivity and -field efficacy', *Crop Protection*, 27: 1448-56.
- Stammler, G., L. Kern, M. Semar, A. Galetli, and U. Schoefe. 2008. "Sensitivity of *Mycosphaerella graminicola* to DMI fungicides related to mutations in the target gene *Cyp51* (14-alpha demethylase)." In *Modern Fungicides and Antifungals compounds V*, edited by Gisi U Dehne DW, Kuck KH, Russell PE and Lyr H., 137-42. DPG Seebstervereag, Braunschweig, Germany.
- Torriani, S. F. F., P. C. Brunner, B. A. McDonald, and H. Sierotzki. 2009. 'QoI resistance emerged independently at least 4 times in European populations of *Mycosphaerella graminicola*', *Pest Management Science*, 65: 155-62.