

VégéphyI – 12^e CONFÉRENCE INTERNATIONALE SUR LES MALADIES DES PLANTES
TOURS – 11 ET 12 DÉCEMBRE 2018

DYNAMIQUES SPATIO-TEMPORELLES DE LA RESISTANCE AUX FONGICIDES CHEZ
ZYMOSEPTORIA TRITICI EN FRANCE : CONTRASTES ET EVOLUTIONS

M. GARNAULT^(1,2), C. DUPLAIX⁽¹⁾, P. LEROUX⁽¹⁾, G. COULEAUD⁽³⁾, F. CARPENTIER⁽¹⁾, O. DAVID⁽²⁾
et A-S WALKER⁽¹⁾

⁽¹⁾ UMR1290 BIOGER, INRA, AgroParisTech, Université Paris-Saclay, F-78850 Thiverval-Grignon, France

⁽²⁾ MalAGE, INRA, Université Paris-Saclay, 78350 Jouy-en-Josas, France

⁽³⁾ Arvalis-Institut du Végétal, Boigneville, France

RÉSUMÉ

La gestion des résistances aux fongicides doit être adaptée à leurs dynamiques spatio-temporelles, qui restent cependant difficile à anticiper du fait de l'interaction entre de nombreux facteurs. Dans cette étude, nous étudions rétrospectivement l'évolution des résistances aux benzimidazoles, QoI, IDM et SDHI dans les populations françaises de *Zymoseptoria tritici*, afin d'identifier de potentiels leviers de gestion.

En utilisant trois modèles d'analyses statistiques et les données produites par le réseau Performance (2004-2017 ; environ 70 essais par an), nous mettons en évidence des dynamiques d'évolution contrastées pour les différents phénotypes résistants, en particulier pour (1) leur distribution spatiale, (2) leur vitesse de croissance à l'échelle nationale, et (3) leur vitesse de croissance relative entre les régions. Nous caractérisons ainsi de manière quantitative l'évolution spatiale et temporelle des différentes résistances, opposant régulièrement les régions du Nord et du Sud de la France et révélant des structurations parfois cryptiques.

Mots-clés : septoriose, dynamique spatio-temporelle, résistance aux fongicides, modélisation mathématique.

ABSTRACT

SPATIO-TEMPORAL DYNAMICS OF FUNGICIDE RESISTANCE CONTRAST QUANTITATIVELY IN THE PATHOGENIC FUNGUS *ZYMOSEPTORIA TRITICI* IN FRANCE

Fungicide resistance management must be adapted to resistance spatio-temporal dynamics, which however remain difficult to anticipate due to the interaction between many factors. In this study, we retrospectively study the evolution of resistance to benzimidazoles, QoIs, DMIs and SDHIs in the French populations of *Zymoseptoria tritici*, in order to identify potential management levers.

Using three statistical models and data produced by the Performance network (2004-2017; about 70 trials per year), we highlight contrasting evolution dynamics for the different resistant phenotypes, particularly for (1) their spatial distribution, (2) their national growth rate, and (3) their growth rate across regions. We thus highlight a quantitative description, sometimes cryptic, of the spatial and temporal evolution of the various resistances, regularly opposing the regions of the North and the South of France.

Keywords: septoria leaf blotch, spatio-temporal dynamics, fungicide resistance, mathematical modelling.

INTRODUCTION

La résistance aux fongicides est la capacité intrinsèque et héritable de certains génotypes de pathogènes leur permettant de survivre à des concentrations de fongicides qui tuent ou inhibent le développement de génotypes sensibles de la même espèce. Cette capacité est déterminée par une ou plusieurs mutations naturelles présentes dans le génome des génotypes résistants (R4P 2016). Lorsque la fréquence des individus résistants augmente, elle peut conduire dans certains cas à des pertes d'efficacitées totales ou partielles de fongicides concernés (résistance en pratique). Un enjeu important de la protection des plantes est donc de prévenir la sélection des souches résistantes en adoptant les stratégies de traitement les plus adaptées. L'optimisation de ces stratégies repose sur la connaissance de plusieurs facteurs, dont les mécanismes et la génétique de la résistance, et la dynamique d'évolution des populations.

Chez *Zymoseptoria tritici*, agent de la septoriose du blé (maladie la plus importante de cette culture en Europe), la gestion des résistances est un problème particulièrement prégnant, puisqu'il concerne tous les modes d'action unisites actuellement homologués (*i.e.* benzimidazoles, QoI, SDHI et IDM), à des degrés divers (voir description ultérieure). Plusieurs mécanismes peuvent être associés à la résistance mais le plus fréquent reste celui associé à la modification de la cible. Dans ce cas, une ou plusieurs mutation(s) affecte(nt) le gène codant pour la protéine cible du fongicide ; l'affinité du fongicide pour sa cible est réduite, ce qui induit la résistance (mécanisme décrit pour tous les unisites anti-septoriose). Le mécanisme de surexpression de la cible implique une modification de la région promotrice du gène cible, induisant l'expression accrue de la protéine cible (mécanisme décrit pour les IDM). Enfin, le mécanisme d'efflux accru implique la surexpression d'un transporteur membranaire, permettant à la cellule fongique d'excréter les fongicides de manière plus efficace. Chez *Z. tritici*, la surexpression du transporteur MFS1 est déterminée par l'insertion d'une séquence nucléotidique dans la région promotrice du gène *mfs1* (3 séquences possibles, de 519 bp, 383 bp ou 150 bp – respectivement types I, II et III). Ce mécanisme induit un phénotype de résistance multidrogues (MDR), *i.e.* une résistance de faible intensité à plusieurs modes d'action (IDM, QoI, SDHI, dans le cas de *Z. tritici*) (Omrane *et al.* 2017). Ces trois mécanismes sont indépendants et peuvent être combinés chez les individus résistants, grâce à la reproduction sexuée régulière chez ce pathogène. Cette diversité de mécanismes, induisant des phénotypes de résistance variés, ainsi que l'hétérogénéité spatiale et temporelle des pressions de sélection, rendent difficile la prédiction de la dynamique des populations.

Dans ce contexte, l'objectif de notre travail est de comprendre rétrospectivement l'évolution des résistances aux fongicides au sein des populations françaises de *Z. tritici*, afin d'en décrire quantitativement la dynamique et améliorer notre prédiction de l'évolution des résistances.

MATERIEL ET METHODES

Echantillonnage, données et mesure de la fréquence des résistances

Les populations analysées pour la fréquence de leurs résistances ont été collectées par le Réseau Performance. Entre 2004 et 2017, ce réseau d'expérimentateurs, coordonné par Arvalis-Institut du Végétal, a réalisé 1029 essais répartis dans toutes les régions céréalières françaises. Les essais suivent annuellement un protocole commun, permettant de comparer 4 à 10 modalités traitées à une modalité témoin, selon un dispositif en blocs randomisés (3 à 4 répétitions; parcelles élémentaires d'au minimum 20 m²). Pour chaque essai, une population est constituée de 30 à 40 feuilles (dernier étage foliaire infecté), présentant des symptômes de septoriose, collectées de manière aléatoire dans les différents blocs d'une même modalité. Les échantillons sont collectés 20 à 30 jours après le dernier traitement puis envoyés au laboratoire pour analyse. Les données antérieures à 2004 proviennent des réseaux AFPP (Association Française de Protection des Plantes) et de collectes propres à l'INRA.

Les échantillons ont été analysés annuellement par l'INRA BIOGER à Thiverval-Grignon, selon un protocole décrit précédemment (Warangot *et al.* 2015). Rapidement, les fragments de feuilles malades d'une population sont mélangés puis trempés dans l'eau stérile de manière à obtenir une suspension de spores représentatives de la parcelle. Cette suspension est ensuite étalée dans des boîtes de Pétri contenant un milieu solide amendé avec une dose discriminante de fongicides. Ces doses sont optimisées de manière à distinguer les souches résistant spécifiquement aux benzimidazoles

(phénotype BenR), aux Qol (StrR), aux SDHI (CarR) et aux IDM (phénotypes TriLR, TriMR, TriHR et MDR, selon les niveaux de résistance et les spectres de résistance croisés associés aux génotypes de cette résistance quantitative ; voir Tableau 1)(Leroux & Walker 2011). Des notations microscopiques à 48h permettent d'estimer la proportion de spores résistantes au fongicide discriminant, pour chaque modalité.

Les données concernant l'utilisation régionale des fongicides (quantité en kg par hectare déployé) ont été fournies par les panels internes de Bayer CropScience. Afin d'approcher les pressions de sélection associées à chaque mode d'action, nous avons calculé, par année et pour l'ensemble du territoire, l'indice HA_D correspondant à la somme des hectares déployés pour toutes les molécules anti-septoriose d'un même mode d'action, divisée par la surface en blé cultivée annuellement.

Modélisation de la dynamique des résistances

Seules les données issues des populations témoin ont été analysées, afin de représenter l'évolution des populations dans leur environnement local, indépendamment des pressions de sélection associées aux traitements. Les fréquences de résistances citées pour ces parcelles sont sans doute inférieures à celles mesurables dans les parcelles de production.

Un premier modèle mathématique a été développé pour visualiser l'agrégation spatiale des différents phénotypes résistants sur le territoire, année après année. Un algorithme a permis de différencier sur ces cartes les compartiments de l'espace contenant des fréquences homogènes des différents phénotypes.

Un second modèle, basé sur une analyse de variance, a permis d'identifier les années ou les régions pour lesquelles la fréquence d'un phénotype de résistance varie significativement de la moyenne nationale.

Enfin, un modèle dynamique a permis l'estimation de la vitesse de croissance des différents phénotypes résistants, aux échelles nationale et régionale, i.e. les comparaisons des évolutions relatives des différentes résistances entre elles, sur le pas de temps considéré.

La formulation mathématique de ces trois modèles, ainsi que leurs paramétrages, est en cours de publication (Garnault *et al.* 2018).

RESULTATS ET DISCUSSION

Evolution de la résistance aux anti-microtubules

La résistance aux anti-microtubules (e.g. thiophanate-méthyl) est déterminée par une mutation unique (E198A, affectant la β -tubuline). Sélectionnée à partir des années 70, et généralisée au moins depuis les années 90, la période d'observation de ce travail ne permet pas de caractériser une dynamique très probablement qualitative (Fig. 1). Malgré une utilisation anecdotique de ce mode d'action, la fréquence des souches résistantes reste proche de 100% et semble stabilisée, comme l'indiquent des vitesses de croissance proches de 1 (Fig. 2). Des fréquences inférieures, proches de 80%, ont été détectées en régions Bretagne et Aquitaine.

Evolution de la résistance aux Qol

La résistance aux Qol (e.g. azoxystrobine, pyraclostrobine, trifloxastrobine) est détectée dans les populations françaises depuis 2002, soit 5 ans après la première utilisation de ce mode d'action. La généralisation rapide de cette résistance, associée à d'importantes pertes d'efficacité, explique le report d'utilisation de ce mode d'action vers d'autres maladies des céréales (Fig. 1).

La fréquence de phénotypes StrR est estimée à 45% en moyenne en 2004 (début de la période d'observation) et à 98% en 2012, avec un seuil de 90% atteint dès 2010.

Sur la même période, le modèle dynamique estime que les individus StrR se sont développés deux fois plus rapidement que le reste de la population, et se sont donc très rapidement généralisés (Fig. 2). Par ailleurs, durant les premières années d'observation (2004-2007), une forte structure spatiale est détectée, mettant en évidence un gradient de fréquence opposant les régions du Nord (fortes fréquences) aux régions du Sud (absence de résistance) (Fig. 3). Pendant la période 2004-2010, la

sélection de la résistance StrR était significativement plus faible dans les régions du Nord comme la Picardie et la Champagne, comparativement aux régions du Sud, comme Midi-Pyrénées et Poitou-Charentes (Fig. 2), où la marge de progression de la résistance était plus importante. Ce scénario est compatible avec l'observation de la progression spatiale d'un front de colonisation, mobile du Nord vers le Sud, à une vitesse moyenne de 120-145 km/an, selon les années considérées. Cette dynamique des souches StrR est la plus rapide et la plus contrastée de tous les phénotypes testés. Elle corrobore le risque fort de résistance associé à ce mode d'action et complète les hypothèses de migration longitudinale de cette résistance, du Nord-Ouest de l'Europe vers l'Europe centrale, émise par d'autres auteurs (Torriani *et al.* 2009).

Evolution de la résistance aux SDHI

Les SDHI sont utilisés en France depuis l'introduction du boscalide en 2007, suivie par l'homologation des pyrazoles-carboxamides (benzovindiflupyr, bixafène, fluxapyroxade, penthiopyrade) et d'un benzamide (fluopyram) depuis 2011. Des souches résistantes faiblement ou modérément aux SDHI sont ponctuellement isolées en France depuis 2012 par différents acteurs, sans que l'efficacité des spécialités semble compromise. La résistance est associée à une modification des sous-unités B, C ou D de la succinate deshydrogénase (e.g. C-T79N, D-D129G ; à noter que la substitution C-H152R, associée à de forts niveaux de résistance, n'a pas été détectée en France, à notre connaissance). Ces souches résistantes sont également détectées dans le réseau Performance, à faible, voire très faible fréquence : l'analyse des populations témoins du réseau a permis de détecter une population en Pays de Loire en 2016 et trois autres en Champagne, Nord-Pas de Calais et Picardie en 2017. En raison de la rareté actuelle de cette résistance, il est impossible d'en modéliser la dynamique.

Classe phéno- typique principale†	Phénotype†	Code du génotype	Génotype d'après la nomenclature de Huf et al, 2018*	Codon cyp51*									Nombre de mutations	Détection d'inserts*				
				134	136	137	379	381	459	460	461	524		cyp51 120 bp	cyp51 1000 bp	mfs1 type 1	mfs1 type 2	mfs1 type 3
TriS	TriS	G1	-	D	V	Y	A	I	Y	G	Y	S	0					
		G2	A5	D	V	Y	A	I	Y	-	Y	S	1					
TriLR	TriR2	G3	A1	D	V	Y	A	I	Y	D	Y	S	1					
	TriR3	G4	A6	D	V	F	A	I	Y	G	Y	S	1					
	TriR4	G5	D1, D4,D5, E1, E14	D	V	Y	A	I	-	-	Y	S	1					
		G6	-	D	V	Y	A	I	H	G	Y	S	1					
		G7	B8, D24	D	V	Y	A	I	Y	G	S	S	1					
		G8	A11, B9, D3	D	V	Y	A	I	Y	G	H	S	1					
		G9	E16, F3, F13	D	C	Y	A	I	-	-	Y	S	1					
		G10	B10	D	C	Y	A	I	Y	G	H	S	1					
		G11	C7	D	A	Y	A	I	Y	G	H	S	2					
	TriR5	G12	B2, C6	D	A	Y	A	I	Y	G	S	S	2					
		G13	C10, D8, E6, E11, E15, F5	D	A	Y	A	I	-	-	Y	S	2					
TriMR	TriR6	G14	B12, C1, C8, C16, D20, D21	D	V	Y	A	V	Y	G	H	S	2	X		X		
		G15	-	D	V	Y	A	V	Y	G	S	S	2					
		G16	B4, C2	D	V	Y	A	V	S	G	Y	S	2					
		G17	B3, C4, D22	D	V	Y	A	V	D	G	Y	S	2					
		G18	-	D	V	Y	A	V	N	G	Y	S	2					
	TriR7	G19	E17, E22, F2, F14	D	V	Y	A	V	-	-	Y	S	2	X		X		
TriHR	TriR8	G20	E20, F11, F16, G1, G4, H1, H2, H3, H5, H8	D	V	Y	G	V	-	-	Y	S	3			X		
	TriR9	G21	C11, D7	D	A	Y	A	I	Y	G	S	T	3					
	-	G22	-	D	C	Y	A	I	Y	G	H	T	2					
	TriR10	G23	C12, D10	D	A	Y	A	V	Y	G	H	S	3		X	X		
	-	G24	-	D	A	Y	A	V	Y	G	S	S	3		X			X
	-	G25	E5	D	A	Y	A	V	Y	G	H	T	4		X	X	X	
	TriR12	G26	E3	D	A	Y	A	V	Y	G	S	T	4					
	TriR11	G27	D18, E4	G	A	Y	A	V	Y	G	H	S	4			X	X	X
	-	G28	F8, G5	G	A	Y	A	V	Y	G	H	T	5					X
	-	G29	D13, E7, F4	D	C	Y	A	V	Y	G	H	T	3					
	-	G30	-	G	V	Y	A	V	Y	G	H	S	3		X	X		
	-	G31	F7, G7	D	A	Y	G	V	Y	G	S	T	5					
	-	G32	E9	G	A	Y	A	V	S	G	Y	S	4					
	-	G33	F1	D	V	Y	G	V	D	G	Y	T	4					
	TriR9	G34	E23, F6, G3	D	A	Y	A	I	-	-	Y	T	3					
	TriRz	G35	F12	G	A	Y	A	I	-	-	Y	S	3					
	-	G36	-	G	C	Y	A	I	-	-	H	S	3					
	-	G37	G2, H9	D	V	Y	A	V	-	-	Y	T	3					
	-	G38	-	G	V	Y	A	V	-	-	H	S	4	X				
	-	G39	H4, I1	D	A	Y	G	V	-	-	Y	T	5					
	-	G40	F9, H6, I3	D	C	Y	G	V	-	-	Y	T	4					
	-	G41	-	G	C	Y	G	V	-	-	H	T	6		X			
	-	G42	-	G	V	Y	G	V	-	-	H	S	5		X			

Tableau 1. Groupes phénotypiques différenciés lors de l'analyse des résistances des populations de *Zymoseptoria tritici* et génotypes associés.

Phenotype groups differentiated after the resistance analysis of *Zymoseptoria tritici* populations and associated genotypes.

La liste de génotypes de base sur l'isolement et la caractérisation moléculaire de 314 souches pures entre 1969 et 2017. Elle n'est pas exhaustive. D'autres génotypes peuvent être présents dans les populations et certains ont été rapportés par d'autres auteurs.

[†]Nomenclature décrite dans (Leroux & Walker 2011).

[‡]Le nombre indique le codon affecté par une mutation ou une délétion au sein de la séquence protéique de Cyp51, parmi les souches de la collection. Les lettres indiquent les acides aminés, selon la nomenclature standard. Par souci de simplicité, ne sont utilisés ici que les codons pour lesquels un déterminisme de la résistance aux triazoles a été validé (Cools et al. 2011; Cools et al. 2010), à l'exception des modifications affectant le motif DYGYG. Les substitutions L50S, D107V, N178S, S188N, S208T, S259F, N284H, H303Y, A311G, G312A, A410T, G412A, G476S, V490L, N504K, G510C et/ou N513K ne sont pas impliquées dans la résistance aux IDM mais sont régulièrement détectées. Les prendre en compte augmenterait considérablement ce tableau.

[§]Nomenclature décrite par (Huf et al. 2018). Comme davantage de codons sont pris en compte dans cette nomenclature, plusieurs codes sont parfois possible pour correspondre aux génotypes listés ici.

[§]Description des mécanismes de résistance additionnels pouvant affecter la sensibilité aux IDM. Deux types d'insertion ont été décrits dans la séquence promotrice de cyp51 et leur implication pour la résistance aux IDM n'a été démontrée que pour la plus courte (Cools et al. 2012). Trois inserts (types 1-3) dans la séquence promotrice de mfs1 induisent la surexpression du transporteur MgMfs1, causant la MDR (Omrane et al. 2017). 'X' indique que l'insertion a été régulièrement retrouvée associée au génotype cyp51 correspondant (les trois mécanismes de résistance sont indépendants). Certaines associations peuvent manquer.

Evolution de la résistance aux IDM

Les IDM incluent les imidazoles (e.g. prochloraze), les triazoles (e.g. cyproconazole, époxiconazole, metconazole et propiconazole) et le prothioconazole, une triazolinethione dont le métabolite, le prothio-desthio, est un triazole. Ces molécules sont utilisées en France depuis la fin des années 70 et des homologations régulières ont permis leur renouvellement, modifiant ainsi qualitativement la pression de sélection. Leur utilisation est en augmentation régulière (Fig. 1), probablement suite à une augmentation des doses ou du nombre de molécules associées dans les programmes, permettant de mieux contrôler les souches résistantes.

La dynamique de la résistance est quantitative, i.e. plusieurs phénotypes, contrastés par leurs niveaux de résistance et leur spectre de résistance croisée, envahissent successivement les populations avant d'être remplacés par des phénotypes plus avantageux, selon la pression de sélection contemporaine. Ainsi, les souches TriLR (faibles niveaux de résistance ; mécanisme de résistance = altération de la cible, associée à 1-2 modifications de Cyp51) ont précédé dans les années 80 les souches dites TriMR (niveaux de résistance modérés ; mécanisme de résistance = altération de la cible, associée à 2-3 substitutions de Cyp51), elles-mêmes remplacées progressivement depuis 2008 par les souches TriHR (niveaux de résistance forts à plusieurs IDM ; mécanisme de résistance = altération de la cible, associée à 2-6 modification de cyp51 + surexpression de Cyp51) et les souches MDR (très résistantes aux IDM, et combinant les mécanismes d'altération de la cible, d'efflux accru, voire de surexpression de la cible)(Fig.1 ; Tableau 1).

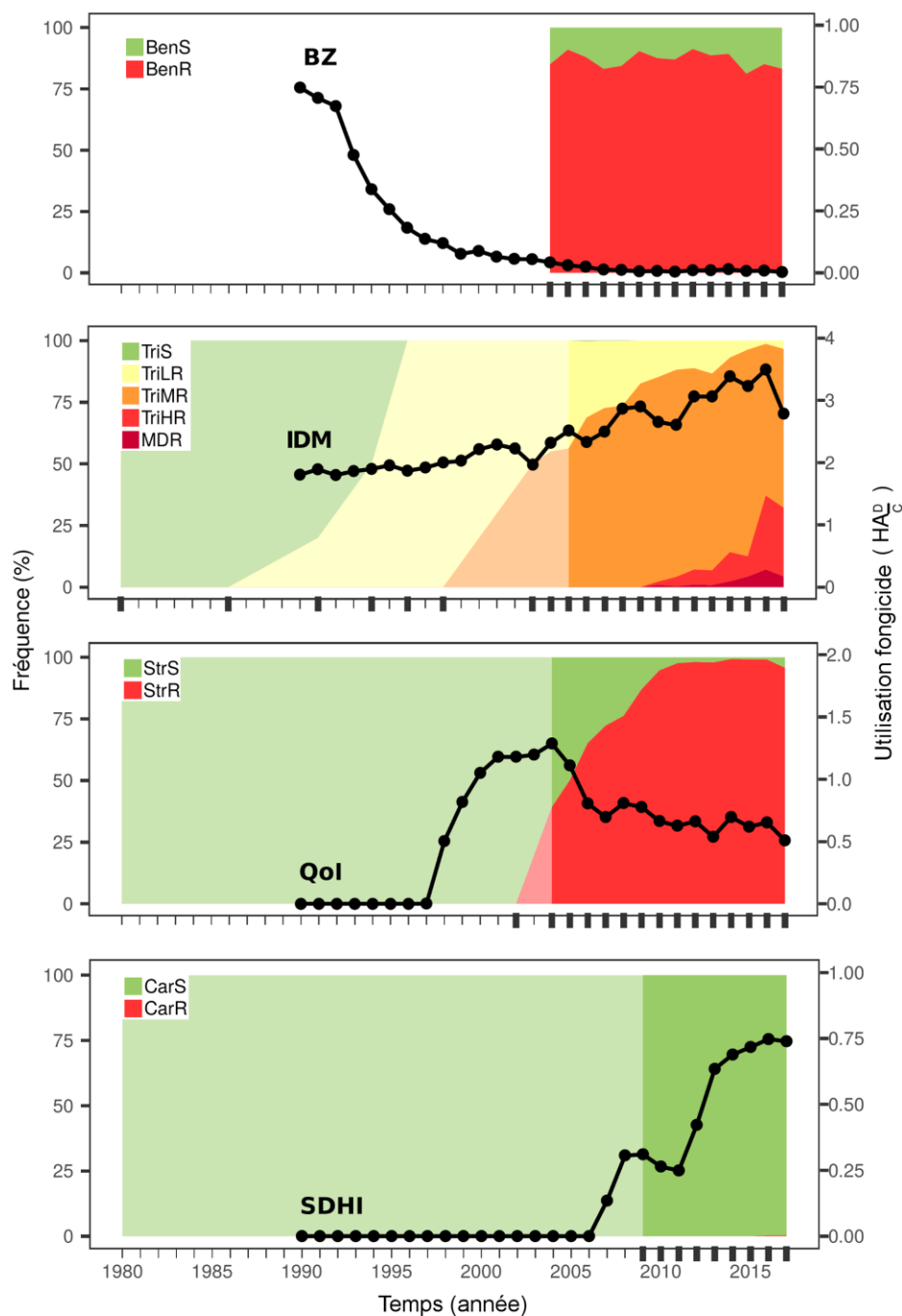


Figure 1. Evolution de l'utilisation des modes d'action fongicides et la fréquence des résistances associées au sein des populations françaises de *Z. tritici*.

Changes in fungicide use and resistance frequency in *Z. tritici* populations in France.

Les marques épaisses le long de l'axe des x indiquent les années pour lesquelles la fréquence de résistance a été évaluée par le réseau Performance ou par des monitoring pré-Performance (P. Leroux). Des marques fines indiquent que l'information a été extrapolée à partir des points réellement observés. BZ : benzimidazoles ; DMI : inhibiteurs de la déméthylation des stérols ; QoI : inhibiteurs ou complexes respiratoires III ; SDHI : inhibiteurs du complexe respiratoire II. Phénotypes décrits dans le tableau 1 et dans (Leroux & Walker 2011).

Cette dynamique quantitative est confortée dans nos modèles par des vitesses de croissance annuelles négatives pour les souches TriLR (Fig. 2), et des fréquences estimées en moyenne à 39% en 2005 et à

moins de 1% en 2017. Les souches TriR5 (TriLR demeurant sensibles au tébuconazole et difénoconazole) ont été détectées plus fréquemment dans les régions Poitou-Charente et Centre (et moins fréquemment dans les régions du Nord), sur l'ensemble de la période.

Les souches TriMR présentent globalement des vitesses de croissance positives avant 2011 (mais cependant inférieures aux vitesses observées pour la résistance aux Qol), puis négatives après cette date, ce qui correspond à une diminution en fréquence de ces souches sur l'ensemble du territoire. Le modèle spatial indique une forte structuration spatiale des souches TriMR, remarquablement stable dans le temps, avec une sous-population TriR6 significativement plus fréquente dans les régions du Nord, et une sous-population TriR7-TriR8 (restant sensible au prochloraze) significativement plus fréquente dans les régions du Sud-Ouest (Fig. 3). Cette structuration s'explique probablement par les différences pédo-climatiques opposant ces deux régions, et induisant des pratiques de la lutte chimique contrastées. Il est à noter également que la surface cultivée en blé dur est plus importante dans le Sud ; cette culture héberge des populations de *Z. tritici* génétiquement différentes de celles associées au blé tendre, ce qui peut contribuer à limiter les flux d'allèles résistants entre les territoires.

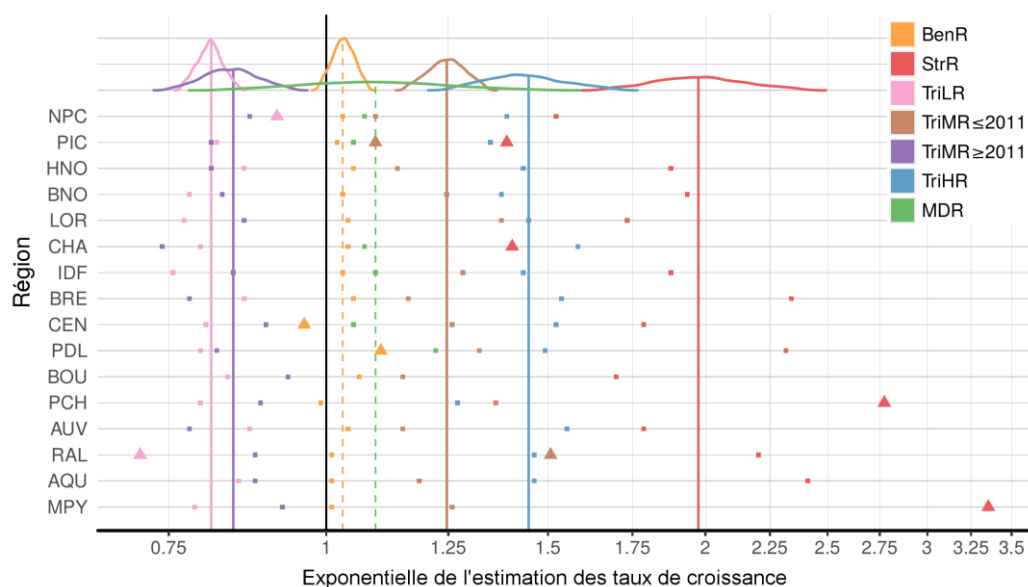


Figure 2. Estimations des taux de croissance nationaux et régionaux (augmentation de la fréquence de la résistance en valeur exponentielle) pour différents phénotypes résistants de *Z. tritici*.

Exponential of national and regional growth rate estimates (increases in frequency of resistance) for different resistant phenotypes.

Lorsque l'exponentielle du taux de croissance est proche de 1, la fréquence de résistance tend à être constante dans la population. Lignes verticales : estimations du taux de croissance à l'échelle nationale pour chaque phénotype ; les lignes sont continues si les paramètres sont significatifs ($P < 0,05$), discontinues autrement. Points : estimations de l'ajustement régional du taux de croissance national ; les points sont triangulaires si les paramètres sont significatifs ($P < 0,05$), carrés autrement. Distributions en haut : distributions a posteriori des paramètres du taux de croissance national limitées à l'intervalle de confiance à 95 %, quantifiant la variabilité des estimations.

Les souches TriHR voient leur fréquence globale augmenter de 2% en 2010, à plus de 16% en 2016. Cette forte augmentation s'accompagne des vitesses de croissance les plus fortes associées à des populations résistantes aux IDM (mais inférieures cependant à la progression de la résistance aux Qol ; Fig. 2). Il n'a pas été observé de structuration spatiale particulière associée à ces souches, probablement parce que cette population inclut la plus grande diversité de génotypes résistants et qu'il est difficile de caractériser leurs comportements individuels (Tableau 1). Des travaux récents basés sur la quantification moléculaire de certaines mutations associées à la résistance mettent en évidence de plus fortes fréquence des génotypes TriHR incluant les substitutions V/C136A et D134G dans Cyp51, dans

le Nord de la France. Ces fortes fréquences sont associées à des efficacités réduites de l'époxiconazole, du prothioconazole, du metconazole et du tébuconazole (Jorgensen *et al.* 2018).

La résistance MDR a été détectée pour la première fois en France en 2008. Ce mécanisme d'efflux accru a été sélectionné dans des fonds génétiques déjà résistants aux IDM et aux Qol et a donc contribué à accroître encore les niveaux de résistance associés à ces molécules. La fréquence moyenne des souches MDR était inférieure à 10% dans les parcelles témoin du réseau Performance, mais bien supérieure dans les parcelles traitées, en particulier avec des doubles applications de SDHI associés aux triazoles (note commune céréales 2018 www.inra-r4p.fr). La vitesse de croissance des populations MDR est positive et reste inférieure à celle des populations TriHR (Fig. 2). Les caractéristiques de fitness de ces isolats sont présentées dans la communication de G. Gazeau (CIMA 2018). Le modèle spatial n'a pas détecté d'hétérogénéité quant à la distribution des ces souches sur le territoire, probablement parce qu'elles sont généralement à faible fréquence pour l'ensemble du jeu de données.

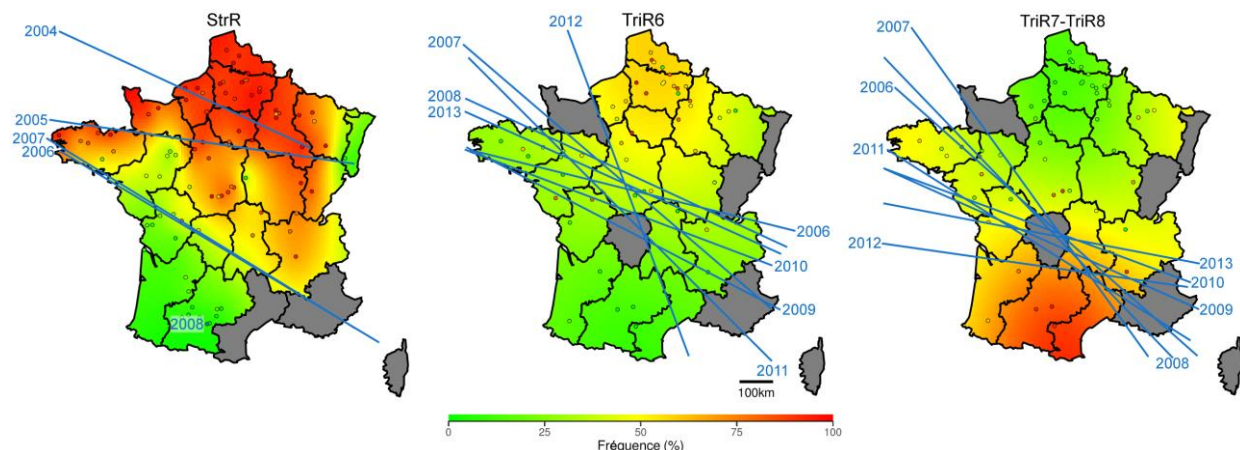


Figure 3. Répartition spatiale au cours temps des phénotypes StrR, TriR6 et TriR7-TriR8 en France.

Spatial partitioning over time for the StrR, TriR6 and TriR7-TriR8 phenotypes in France.

Les cartes de fond avec gradient de couleur sont obtenues par krigeage, à partir d'observations réelles (points). Les couleurs à l'intérieur des points d'observation indiquent la fréquence réelle observée dans les essais. Les lignes divisent l'espace en deux blocs homogènes, l'un avec des fréquences plus basses que l'autre (ou aucune résistance du tout pour le phénotype StrR). Gauche : carte de fond et points représentant l'état de la résistance aux Qol en 2006 avec fronts de colonisation de 2004 à 2007. Au centre : carte de fond et points représentant l'état de la résistance aux IDM (phénotype TriR6) en 2013 ; les lignes de délimitation de 2006 à 2013 sont indiquées. Droite : carte de fond et points représentant l'état de la résistance aux IDM (phénotypes TriR7-TriR8) en 2013 avec lignes de délimitation de 2006 à 2013.

Globalement, la dynamique de la résistance aux IDM est cohérente et complémentaire de celle décrite qualitativement à l'échelle européenne par d'autres auteurs. Il est proposé que les nouvelles combinaisons de mutations affectant *cyp51* ont émergé localement, probablement en Grande Bretagne ou au Danemark, avec un nombre réduit d'évènements, puis ont migré d'Ouest en Est dans le Nord de l'Europe, la reproduction sexuée et la recombinaison intragénique favorisant la sélection de nouveaux génotypes (Brunner *et al.* 2008). Cette dynamique quantitative est compatible avec le constat d'une érosion graduelle et généralisée de l'efficacité des triazoles, dans les différents pays européens dont la France.

CONCLUSION

La grande quantité de données produite par le réseau Performance a permis d'effectuer une description quantitative, quasi-exhaustive et fine de la dynamique de la résistance dans le temps et dans l'espace. Notre approche basée sur la fréquence de la résistance a permis d'analyser des centaines de populations annuellement, sans avoir besoin d'isoler des souches, fournissant ainsi une couverture spatiale annuelle suffisante pour la modélisation. Les données ont été recueillies dans le cadre d'un réseau animé sur le long terme et comprenant une grande diversité d'acteurs, ce qui démontre la puissance de l'action collective pour surveiller et gérer la résistance aux fongicides. Notre analyse, basée sur des données de terrain, a permis de détecter des structures spatiales originales et des

différences dans la variation des fréquences de résistance entre phénotypes et régions, permettant de décrire plus précisément le statut de résistance en France que les analyses partielles et à court terme généralement réalisées. Cette approche devrait améliorer la gestion régionale de la résistance. Elle offre une vision complémentaire à celle fournie par les modèles théoriques d'évolution de la résistance généralement proposés, et peut également fournir des estimations de paramètres validées empiriquement. De plus, les trois modèles statistiques utilisés ici ne sont pas spécifiques à *Z. tritici* et peuvent être considérés comme des outils génériques, utilisables dans des études similaires pour d'autres résistances.

La valeur de cette approche pour décrire la dynamique de la résistance étant maintenant bien établie, les travaux futurs sur *Z. tritici* chercheront à expliquer les sources de variation de l'évolution de la résistance locale et à identifier les facteurs extrinsèques ou intrinsèques qui déterminent la dynamique de la résistance. Ces facteurs peuvent en effet être des leviers opérationnels utiles pour la gestion de la résistance. La pression sélective régionale (c'est-à-dire l'utilisation régionale des fongicides) sera en particulier explorée, ainsi que les facteurs démographiques (par exemple, l'intensité des épidémies locales) et les facteurs agronomiques et environnementaux locaux. Une telle amélioration de notre modèle faciliterait la prédiction de la structure des populations résistantes année après année et aiderait les agriculteurs à adapter leurs stratégies de traitement, tout en mettant en œuvre des stratégies locales durables avant la généralisation de la résistance. Ces perspectives sont particulièrement pertinentes pour préserver sur le long terme les nouveaux modes d'action anti-septoriose en cours de développement.

REMERCIEMENTS

Ce travail fait l'objet du travail de thèse de Maxime Garnault, à l'INRA (UMR BIOGER et MALaGE) via une bourse CIFRE Bayer CropScience. Les auteurs remercient chaleureusement les participants du réseau Performance.

LITTERATURE

- Brunner PC, Stefanato FL, McDonald BA (2008) Evolution of the CYP51 gene in *Mycosphaerella graminicola*: evidence for intragenic recombination and selective replacement. *Molecular Plant Pathology* 9, 305-316.
- Cools HJ, Bayon C, Atkins S, Lucas JA, Fraaije BA (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, 1034-1040.
- Cools HJ, Mullins JGL, Fraaije BA, et al. (2011) Impact of recently emerged sterol 14 alpha-demethylase (CYP51) variants of *Mycosphaerella graminicola* on azole fungicide sensitivity. *Applied and Environmental Microbiology* 77, 3830-3837.
- Cools HJ, Parker JE, Kelly DE, et al. (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, 2866-2872.
- Garnault M, Duplaix C, Leroux P, et al. (2018) Spatiotemporal dynamics of fungicide resistance contrast quantitatively in the pathogenic fungus *Zymoseptoria tritici*. *Soumis à Pest Management Science*.
- Huf A, Rehfus A, Lorenz KH, et al. (2018) Proposal for a new nomenclature for CYP51 haplotypes in *Zymoseptoria tritici* and analysis of their distribution in Europe. *Plant Pathology* 0.
- Jorgensen LN, Matzen N, Hansen JG, et al. (2018) Four azoles' profile in the control of Septoria, yellow rust and brown rust in wheat across Europe. *Crop Protection* 105, 16-27.
- Leroux P, Walker A (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, Audéon C, Ignace A, et al. (2017) Plasticity of the MFS1 promoter leads to multidrug resistance in the wheat pathogen *Zymoseptoria tritici*. *mSphere* 2.
- R4P (2016) Trends and Challenges in Pesticide Resistance Detection. *Trends in Plant Science* 21, 834-853.

- Torriani SFF, Brunner PC, McDonald BA, Sierotzki H (2009) QoI resistance emerged independently at least 4 times in European populations of *Mycosphaerella graminicola*. *Pest Management Science* 65, 155-162.
- Warangot L, Durand T, Walker A-S, Délos M (2015) Résultats du réseau d'essais de suivi des résistances de septoriose aux fongicides (AFPP). In: Proceedings of the "11ème Conférence Internationale sur les Maladies des Céréales" (ed. AFPP), Tours (France).