

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

MECANISME DE LA RESISTANCE MULTIDROGUES (MDR) ET PREVENTION DU RISQUE DE
RESISTANCE AUX ANTI-SEPTORIOSE CHEZ *ZYMOSEPTORIA TRITICI*

G. GAZEAU et A.-S WALKER

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

RÉSUMÉ

La résistance multidrogues, ou MDR, est caractérisée chez *Zymoseptoria tritici* par de faibles niveaux de résistance aux IDM, Qol et SDHI. Le mécanisme associé est la surexpression du transporteur membranaire MFS1, induisant un efflux plus efficace de ces fongicides en dehors de la cellule fongique. Trois insertions de séquences nucléotidiques (types I à III), variant selon leur taille et leur position dans la séquence promotrice de *mfs1*, sont responsables de la surexpression de MFS1 et donc du phénotype MDR. Ce mécanisme de résistance est indépendant du mécanisme plus fréquent de modification de la cible des fongicides, et chez *Z. tritici*, la reproduction sexuée permet la combinaison de ces mécanismes. Nous montrons ainsi une augmentation significative des niveaux de résistance aux IDM et SDHI, compatibles avec des pertes d'efficacité en pratique, lorsque les deux mécanismes sont associés au sein des mêmes isolats. Par ailleurs, la croissance *in vitro* des isolats portant ces allèles, seuls ou combinés, ne semble pas être affectée, suggérant le maintien d'une fitness identique à celle des individus sensibles ou ne présentant qu'un seul mécanisme de résistance. Enfin, nous discutons des mesures de gestion permettant de limiter la sélection des différents mécanismes de résistance.

Mots-clés : septoriose, efflux accru, mécanisme de résistance aux fongicides, fitness, coût de la résistance, résistance multiple.

ABSTRACT

RESISTANCE MECHANISM OF MULTIDRUG RESISTANCE (MDR) AND RISK ASSESSMENT TOWARDS FUNGICIDES IN *ZYMOSEPTORIA TRITICI*

Multidrug resistance, or MDR, is characterized in *Zymoseptoria tritici* by low levels of resistance to DMIs, Qols and SDHIs. The associated mechanism is the overexpression of the membrane transporter MFS1, inducing a more effective efflux of these fungicides outside the fungal cell. Three insertions of nucleotide sequences (types I to III), varying according to their size and position in the promoter of *mfs1*, are responsible for the overexpression of MFS1 and therefore of the MDR phenotype. This resistance mechanism is independent from the more frequent fungicide target modification mechanism, and in *Z. tritici*, sexual reproduction allows the combination of these mechanisms. We thus show a significant increase in the levels of resistance to DMIs and SDHIs, compatible with losses in efficacy in practice, when the two mechanisms are combined in the same isolates. Moreover, the *in vitro* growth of isolates bearing these resistance alleles, solo or combined, doesn't seem to be affected, suggesting the maintenance of a fitness identical to that of sensitive individuals or presenting only one resistance mechanism. Finally, we discuss management measures to limit the selection of different resistance mechanisms.

Keywords: septoria leaf blotch, enhanced efflux, fungicide resistance mechanism, fitness, resistance cost, multiple resistance.

INTRODUCTION

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 (Garnault *et al.* 2018).

Les résistances aux benzimidazoles et Qols, respectivement généralisées dans les années 80 et 2000, présentent des dynamiques spatio-temporelles qualitatives et sont associées à des mutations ponctuelles des gènes codant pour les cibles de ces fongicides. L'efficacité en pratique de ces modes d'action appliqués en solo est très limitée.

La résistance aux IDM évolue depuis la fin des années 80 et présente une dynamique quantitative, liée à l'accumulation et à la combinaison au cours du temps de 1 à 6 mutations ponctuelles affectant le gène *cyp51*, codant pour la 14 α -déméthylase, cible des IDM. D'autres mécanismes, sélectionnés plus récemment, comme la surexpression du gène *cyp51* et l'efflux accru lié à la surexpression du transporteur membranaire *mfs1* (induisant le phénotype de résistance multidrogues ou MDR), ont contribué à augmenter progressivement les niveaux de résistance aux IDM chez les individus résistants. Les populations françaises actuelles sont constituées de mélanges d'une grande diversité de génotypes, dont les fréquences varient fortement localement. Cette importante hétérogénéité explique l'imprédictibilité de l'efficacité de nombreuses triazoles, affectées totalement ou partiellement selon les populations en présence.

Les SDHI ont été introduits sur le marché des anti-septoriose en 2007 avec le boscalide (pyridine-carboxamides), puis après les années 2000 pour les pyrazole-carboxamides (e.g. benzovindiflupyr, bixafène, fluxapyroxade, isopyrazam, penthiopyrade). La première souche résistance détectée en France en 2012 portait une modification de la sous-unité C (SdhC-T79N) de la succinate déshydrogénase, cible des SDHI et présentait de faibles niveaux de résistance aux SDHI. Actuellement, plus d'une dizaine de mutations sont décrites en Europe, présentant des niveaux de résistance variables et des spectres de résistance entre les différentes classes chimiques de SDHI contrastés (Rehfus *et al.* 2018). La substitution SdhC-H152R, principalement détectée en Irlande et en Grande Bretagne, est associée à de forts niveaux de résistance aux pyrazole-carboxamides (Dooley *et al.* 2016). La résistance aux SDHI est émergente en France, présente à des fréquences sans doute très faibles, et n'affecte pas pour le moment l'efficacité de ce mode d'action unisite. La durabilité des SDHI constitue un enjeu important pour la lutte contre la septoriose, dans l'attente de l'homologation de nouveaux modes d'action. L'efficacité au champ de cette famille pourrait en effet être compromise par l'augmentation en fréquence de souches portant des mutations de la cible, un mécanisme d'efflux accru (MDR) ou une combinaison de ces deux mécanismes indépendants, permise par la reproduction sexuée, régulière chez *Z. tritici*.

Dans ce contexte, l'objectif de notre travail est (1) d'élucider le déterminisme génétique de la résistance MDR, afin (2) de caractériser le risque de résistance associé respectivement aux mécanismes de résistance (mutation de cible vs. efflux accru) et à leur combinaison chez *Z. tritici*. Enfin, nous cherchons également (3) à caractériser les coûts potentiellement associés à l'évolution de ces résistances, et qui pourraient contribuer à ralentir naturellement leur résistance et donc constituer des leviers de gestion efficaces.

MATERIEL ET METHODES

Déterminisme moléculaire de la résistance multidrogues

L'identification de la mutation conférant la MDR a été permise par une approche de « bulk segregant analysis » présentée précédemment (Omrane *et al.* 2015a; Omrane *et al.* 2015b). Chez les deux souches MDR utilisées pour cette étude, cette approche a permis d'identifier une insertion de 519 bp dans la région promotrice du gène codant pour *MFS1*. Cette mutation associée au phénotype MDR a été validée fonctionnellement par une approche de génétique reverse. Nous avons alors développé une méthode de diagnostic simple par PCR pour détecter cette insertion dans les populations naturelles de *Z. tritici*, afin d'en estimer la fréquence et détecter d'autres mutations éventuelles affectant le promoteur de *mfs1*. Les nouvelles insertions détectées par cette méthode ont été validées par la même méthode que précédemment, pour confirmer leur impact sur la surexpression de *mfs1*. La séquence de ces nouvelles

insertions a été établie par séquençage Sanger et des analyses bioinformatiques ont permis d'identifier les séquences homologues au génome de la souche de référence IPO-323.

Production d'un matériel biologique semi-isogénique

Afin d'analyser le phénotype de résistance associé aux mutations d'intérêt (résistance spécifique aux IDM, aux SDHI et MDR) et à leurs combinaisons, indépendamment du fond génétique des isolats les portant, nous avons choisi de comparer les descendants de deux croisements réalisés dans notre laboratoire selon le protocole établi par (Suffert *et al.* 2016). Cette approche était de plus rendue nécessaire par l'indisponibilité d'individus portant certaines combinaisons de mutations dans la nature. Nous avons donc d'abord croisé au laboratoire (croisement 35) une souche présentant le seul mécanisme d'efflux (absence de mutations sur *cyp51* ; insertion de 519 bp dans le promoteur de *mfs1*) avec une souche du champ compatible portant la mutation SdhC-T79N, induisant de faibles niveaux de résistance aux SDHI, et des mutations sur *cyp51* induisant une résistance modérée aux IDM (génotype *cyp51* G15 ; voir (Garnault *et al.* 2018) ; Fig. 1). Nous avons également croisé (croisement 37) cette même souche MDR avec une autre souche du champ compatible, mais présentant de forts niveaux de résistance aux SDHI (à cause de la substitution SdhC-H152R) et aux IDM (génotype *cyp51* G35). Ces deux croisements permettent de « borner » le risque de résistance, car ils utilisent les allèles respectivement à risque faible et fort de résistance aux SDHI et IDM. Les descendants de ces deux croisements présentaient ainsi (i) soit aucune des mutations de résistance parentales (groupe phénotypique G1, sensible aux IDM et SDHI), (ii) soit une seule mutation associée à la résistance (groupes G2, G3 et G7), (iii) soit deux ou trois mutations déterminant la résistance (groupes G4, G5, G6 et G8)(Fig. 1). Si l'on considère les trois loci *sdhC*, *cyp51* et *mfs1*, la fréquence théorique de chaque groupe génotypique dans la descendance est de 1/8^{ème} soit 12,5%. Dans la pratique, les fréquences observées peuvent être différentes de cette fréquence théorique, lorsque le nombre de descendants isolés est limité (71 pour le croisement 35 et 40 pour le croisement 37). Les souches parentales étant toutes résistantes aux benzimidazoles, tous les descendants présentaient ce phénotype. La résistance aux Qol était portée par les parents résistants aux SDHI et a ségrégré dans la descendance. Chaque descendant produit dans ces croisements partage la moitié de son génome avec tout autre descendant (souches semi-isogéniques), ce qui limite la variabilité liée au fond génétique lors de la mesure comparée des phénotypes de résistance.

Analyse du risque de résistance

Les descendants des deux croisements sont purifiés et conservés dans l'eau glycérolée à -80°C. L'intensité de la résistance aux IDM (époxyconazole) et aux SDHI (boscalide, benzovindiflupyr, bixafène et fluxapyroxade), ainsi qu'au tolnaftate, une allylamine inhibant la squalène époxidase impliquée dans la biosynthèse des stérols et permettant de détecter facilement la MDR, est mesurée par l'exposition des descendants de chaque groupe génotypique à des gammes de ces fongicides (courbes dose-réponse). Jusqu'à une dizaine de souches par groupe génotypique est testée en étalant une suspension de spores calibrée de chaque souche sur des boîtes de Pétri contenant un milieu de culture phosphate-glucose amendé avec les fongicides, et incubées à 17°C dans l'obscurité (voir protocole détaillé dans Leroux & Walker 2011). Une observation microscopique est réalisée à 48h et permet de mesurer la longueur des filaments germinatifs des spores en culture, comparativement à celle des spores cultivées en l'absence du fongicide. La relation $\%croissance/témoin = a * \log([Fongicide]) + b$ est établie pour chaque groupe génotypique et chaque fongicide et permet *in fine* de mesurer la EC₅₀, ou dose de fongicide limitant la survie d'un individu de 50%. Le facteur de résistance correspond au rapport entre les EC₅₀ moyennes d'un groupe phénotypique résistant et celles du groupe phénotypique sensible au même fongicide et issu du même croisement. La variabilité de la sensibilité pour chaque groupe génotypique et chaque fongicide est présentée sous forme de boîtes à moustaches et une analyse de variance à un facteur permet de détecter statistiquement les différences de sensibilité entre les groupes génotypiques issus d'un même croisement.



Figure 1. Schéma des croisements entre une souche MDR et deux souches résistant spécifiquement aux SDHI, permettant la production de descendants semi-isogéniques.

Diagram of crosses between a MDR strain and two strains specifically resistant to SDHI, allowing the production of semi-isogenic progeny.

Si l'on considère les 3 loci *sdhC*, *cyp51* et *mfs1*, 8 combinaisons d'allèles parentaux sont obtenues dans la descendance, selon les lois de Mendel, à une fréquence théorique de 12,5% chacune. Ces combinaisons, ou groupes génotypiques, sont numérotés G1 à G8 et comportent 0 à 3 mutations associées à la résistance aux fongicides.

Analyse du coût associé à la résistance

La fitness d'un individu est sa capacité à survivre dans les populations et à laisser des descendants, comparativement aux autres individus. La fitness est par essence l'observation des effets cumulés d'un grand nombre de processus physiologiques, et peut être estimée en mesurant l'intensité de plusieurs traits biologiques, impliqués si possibles dans les différentes étapes du cycle de vie d'un organisme. La croissance *in vitro*, à différentes températures et sur différents milieux de culture, la croissance *in planta*, la capacité de sporulation et la capacité à produire des ascospores ont été mesurés pour les différents groupes génotypiques (Fig. 1). Nous ne présentons ici que les résultats obtenus pour la culture *in vitro* en milieu liquide.

La croissance des descendants des croisements 35 et 37 est réalisée en microplaques, avec un dépôt de 200 µl par puits de suspension de spores ajustée à 2.10⁵ spores/ml de milieu glucose-levure. Les plaques sont incubées à 17°C à l'obscurité. La croissance est mesurée quotidiennement pendant 10 jours, par mesure de la densité optique (DO) à 405 nm. L'expérimentation a été répétée deux fois, avec à chaque fois deux réplicats techniques et deux mesures de DO par plaque. Des courbes de croissance

pour chaque groupe génotypique et chaque croisement sont établies et une analyse de variance permet de comparer la croissance « en point final », obtenue pour la dernière date de mesure, pour les différents groupes de descendants.

RESULTATS

Déterminisme moléculaire de la résistance multidrogues

La variation de longueur de la séquence promotrice de *mfs1* a été analysée par PCR (Omrane *et al.* 2017) chez 303 souches pures de *Z. tritici* collectées en France entre 2006 et 2017. Dans cet échantillonnage, aucune variation de longueur, comparativement à celle de la souche sensible de référence IPO-323, n'a été observée chez les souches ne présentant pas le phénotype MDR (souches sensibles ou présentant d'autres résistances).

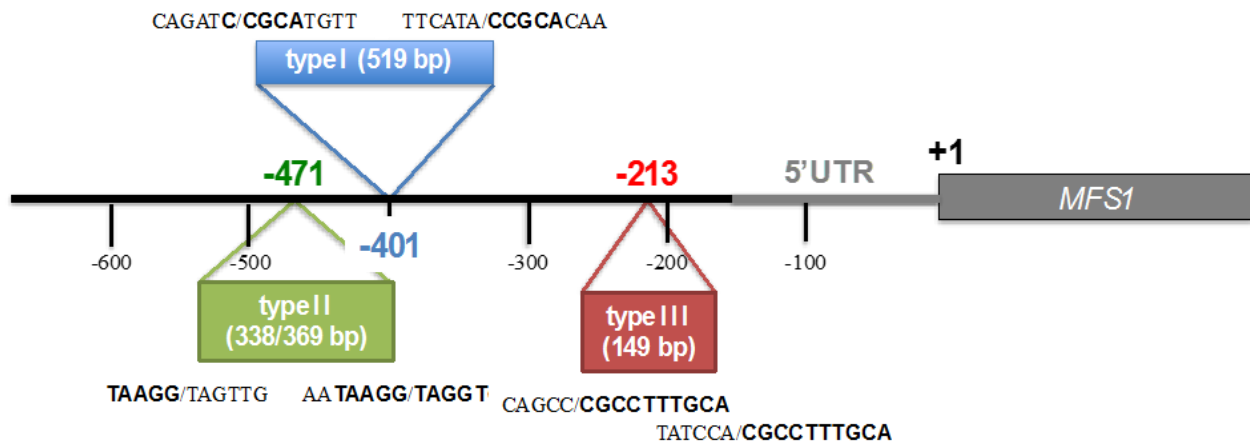


Figure 2. Représentation de la région promotrice du gène *mfs1*, codant pour le transporteur membranaire associé à la résistance multidrogues, et positionnement des inserts responsables de la surexpression de ce gène chez les souches MDR.

Representation of the promoter region of the *mfs1* gene, encoding the membrane transporter associated with multi-drug resistance, and positioning of the inserts responsible for the overexpression of this gene in MDR strains.

Les inserts de type I, II et III se différencient par leur longueur, ainsi que par leur position dans le promoteur de *MFS1*.

Parmi les souches présentant un phénotype MDR, trois catégories d'amplicons ont été détectées, correspondant à des longueurs différentes des séquences insérées (Fig. 2). Le séquençage de ces souches a confirmé des positionnements également différents des insertions, permettant de définir trois catégories de souches MDR. Les souches de type I sont de loin les plus fréquentes (78% des souches MDR analysées ; (Garnault *et al.* 2018)) et présentent un insert de 519 bp. La séquence de cet insert est celle des extrémités LTR d'un rétrotransposon de type Ty1/Copia. Cet élément transposable est toujours actif et se positionne sur le chromosome 18 de la souche de référence. Il contient 4 motifs nucléotidiques répétés, impliqués dans l'activation de la transcription de l'ADN, ce qui est cohérent avec leur implication dans la surexpression de *mfs1*. Les souches de type II représentent 18% de notre échantillonnage MDR et sont associées à deux séquences de tailles similaires (338/369 bp), insérées au même codon du promoteur de *mfs1*. Ces séquences sont quasiment identiques à celle d'un insert de la région promotrice de *cyp51*, et induisant sa surexpression. Elles présentent différents motifs nucléotidiques potentiellement impliqués dans la régulation des gènes. Enfin, les souches MDR de type III ne représentent que 4% de notre échantillonnage et sont associées aux insertions les plus courtes (149 bp). L'implication de ces trois types d'inserts dans le déterminisme de la MDR a été validé par génétique reverse (Omrane *et al.* 2017).

Résistance associée aux mécanismes de modification de la cible, d'efflux accru et à leur combinaison

La sensibilité moyenne au tolnaftate et à l'époxiconazole des souches non MDR issues du croisement 35 a été mesurée à 0,017 mg/l et 0,002 mg/l, respectivement (Fig. 3). Le facteur de résistance associé aux souches MDR est estimé à 25 pour le tolnaftate, et 16 pour l'époxiconazole, ce qui suggère un impact modéré de ce mécanisme de résistance au champ lorsqu'il n'est pas associé à d'autres. Lorsque le mécanisme de modification de la cible (FR = 20 pour le génotype *cyp51* G15 pour l'époxiconazole) est associé au mécanisme d'efflux, les facteurs de résistance sont mesurés à 95, ce qui suggère un impact sur l'efficacité en pratique.

Concernant les SDHI testés (benzovindiflupyr, bixafène, boscalide et fluxapyroxade), leur activité intrinsèque est similaire pour les souches sensibles issues des deux croisements et comprise entre 0,001 et 0,070 mg/l (Fig. 3). Les facteurs de résistance associés à la substitution *SdhC*-T79N (croisement 35) sont compris entre 8 et 17, le boscalide étant la molécule la moins affectée. Les facteurs de résistance mesurés pour la substitution *SdhC*-H152R (croisement 37) sont compris entre 14 (boscalide) et 174-185 pour les pyrazole-carboxamides, ce qui confirme le plus fort risque de résistance associé à cette mutation. Les facteurs de résistance associés à la MDR sont inférieurs à 10 pour le boscalide, et compris entre 36 et 101 pour les pyrazole-carboxamides. Lorsque les deux mécanismes de résistance sont associés, le niveau de résistance augmente significativement, pour atteindre 18-31 (boscalide ; 2 croisements), 35-141 (pyrazole-carboxamides ; croisement 35) ou 302-1069 (pyrazole-carboxamides ; croisement 37).

Cette expérimentation confirme que :

- le risque de résistance augmente significativement lorsque le mécanisme d'efflux et de modification de la cible sont combinés dans les mêmes fonds génétiques, permettant régulièrement d'atteindre des niveaux de résistance compatibles avec une perte d'efficacité au champ,
- les mutations portées par la SDH sont associées à des niveaux de résistance et spectres de résistance croisée spécifiques, distinguant entre autre les pyridine-carboxamides et pyrazole-carboxamides.

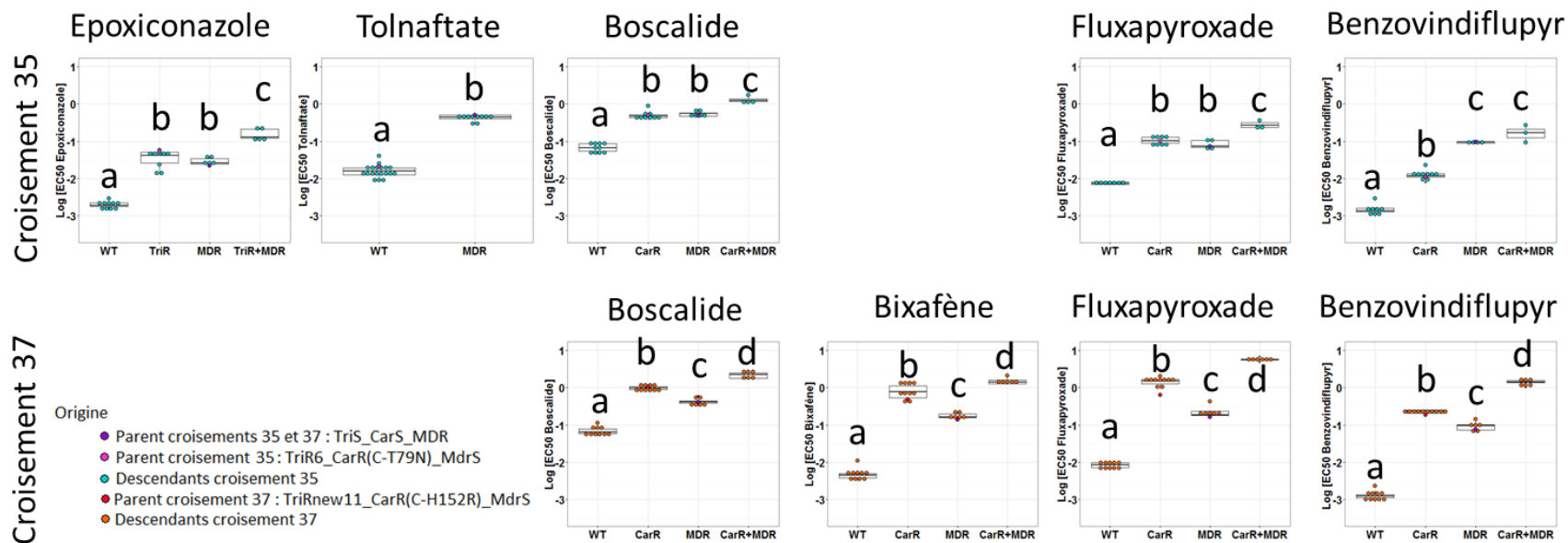


Figure 3. EC_{50} mesurées pour différents groupes génotypiques et fongicides, à partir des descendants des croisements 35 et 37 de *Z. tritici*.

EC_{50} measured for different genotype groups and fungicides, from offspring of crosses 35 and 37 of *Z. tritici*.

Pour chaque groupe, les lettres sont différentes lorsque les valeurs de EC_{50} sont statistiquement différentes entre les groupes. Sur chaque figure, P indique la valeur de la statistique associée à l'analyse de variance ; le test est considéré comme significatif au seuil de 5% lorsque sa valeur est inférieure à 0,05.

Fitness associée aux mécanismes de modification de la cible, d'efflux accru et à leur combinaison

La fitness est ici approchée en comparant les dynamiques de croissance *in vitro* de souches appartenant aux différents groupes génotypiques (G1-G8 ; Fig. 1), comparativement à la souche sensible de référence IPO-323 (G1Ref) et aux parents de chaque croisement.

Les dynamiques de croissance des descendants des deux croisements sont similaires, avec une croissance exponentielle visible entre 0 et environ 55h de culture, puis une phase de croissance plus lente entre 55 et 100h, différenciant les groupes génotypiques.

Concernant le croisement 35, la croissance des descendants est intermédiaire de celle des parents utilisés pour ce croisement, à l'exception des descendants des groupes G4 et G7 (portant seulement le mécanisme d'efflux, associé ou non à la résistance aux IDM), qui montrent une croissance significativement supérieure à tous les autres groupes, y compris sensibles à tous les fongicides. Par ailleurs, la croissance des souches portant l'allèle SdhC-T79N semble affectée uniquement lorsque ce mécanisme de résistance est associé à un autre allèle de résistance (résistance MDR ou résistance aux IDM).

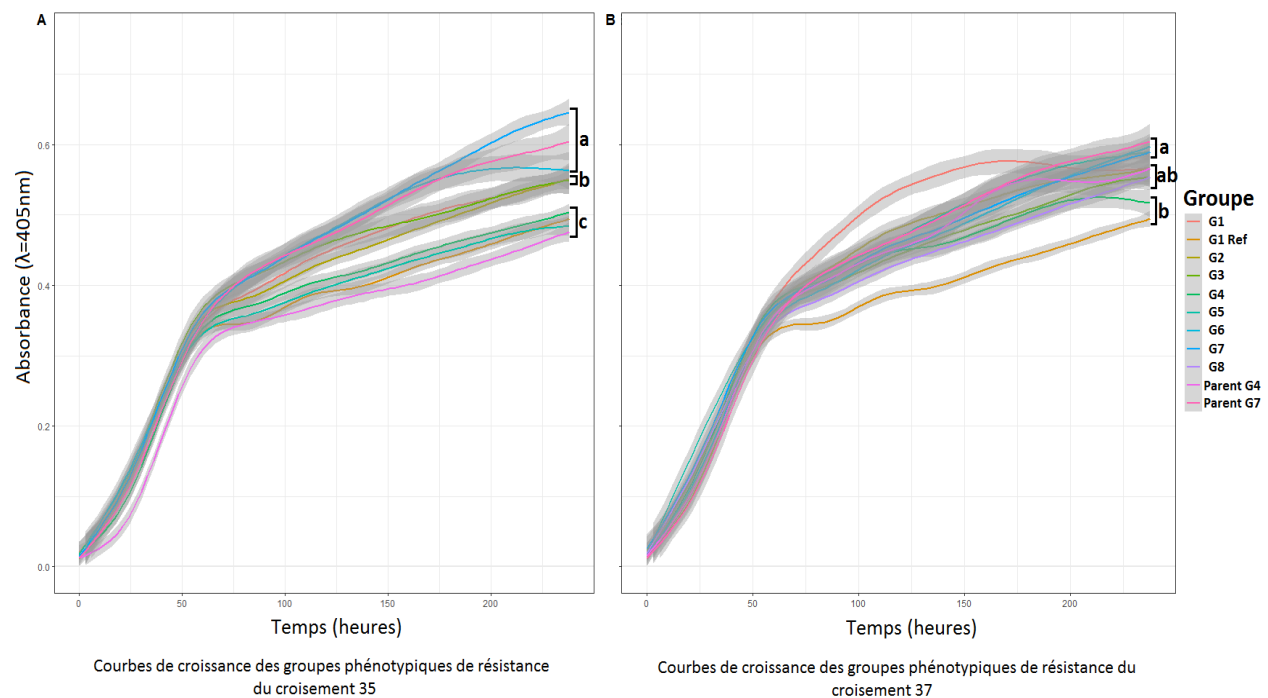


Figure 4. Evolution de l'utilisation des modes d'action fongicides et la fréquence des résistances associées au sein des populations françaises de *Z. tritici*.

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

Chaque courbe de couleur correspond à la croissance (mesurée en densité optique) de trois individus appartenant au même groupe génotypique (Fig. 1). Les marges grisées autour des courbes permettent d'apprécier la variabilité des mesures. A la dernière date de mesure, les lettres permettent de distinguer les groupes présentant ou non des croissances similaires (différenciés au seuil de significativité de 5%).

Concernant le croisement 37, les souches portant l'allèle *mfs1* type I présentent une croissance toujours supérieure aux autres souches résistantes et aux souches sensibles, même lorsque la MDR est associée à la résistance spécifique aux IDM (*cyp51* G35) et SDHI (SdhC-H152R). Leur croissance est légèrement diminuée, mais non significativement, lorsque les trois allèles de résistance sont combinés. La fitness des souches portant l'allèle SdhC-H152R semble davantage liée aux associations alléliques qu'à un coût spécifiquement associé à cette mutation.

Pour conclure, il n'a pas été relevé, pour le trait biologique mesuré dans cette expérimentation, de coût important associé aux différents allèles de résistance portés par les descendants de nos deux

croisements. Ces résultats sont confirmés par la mesure d'autres traits biologiques sur les mêmes isolats (données non présentées). La fitness associée à l'allèle induisant la MDR semble même supérieure à celles des autres allèles pour le trait mesuré.

DISCUSSION ET CONCLUSION

Ce travail conclut plusieurs années de recherche visant à décrire précisément les mécanismes biochimiques et moléculaires de la résistance multidrogues. Cette recherche fondamentale était indispensable afin de développer un outil moléculaire de quantification fine de la MDR dans les populations. Un tel outil est en cours de développement et sera utilisé pour caractériser la dynamique spatio-temporelle de la résistance dans les populations françaises de *Z. tritici*, mais également pour caractériser les pressions de sélection associées aux différentes stratégies de traitement. Une caractérisation régulière des mécanismes de la MDR dans les populations contemporaines permettra de détecter les nouveaux allèles MDR pouvant émerger et d'adapter l'outil de quantification en conséquence.

Ce travail confirme également que la combinaison de différents mécanismes de résistance (en particulier, modification de la cible et efflux accru) augmente significativement le risque de résistance en pratique. La recombinaison génétique étant très régulière chez *Z. tritici* du fait de la reproduction sexuée, il est plus que pertinent d'adopter des stratégies de traitement visant à maintenir de faibles fréquences les différents allèles de résistance pouvant se combiner. La combinaison entre les allèles associés à la MDR et à la résistance spécifique est systématique dans les populations françaises, car le mécanisme d'efflux a été sélectionné sur des fonds génétiques déjà largement résistants aux IDM. Cette association des mécanismes a largement contribué à l'érosion de l'efficacité des triazoles. L'association de la MDR et de la résistance spécifique aux SDHI est par contre rarement observée en France. Dans un contexte où la MDR est présente dans 61% des prélèvements réalisés en 2018, avec une fréquence moyenne de 23% dans les parcelles concernées, il convient de mettre en œuvre des stratégies visant à limiter à la fois la sélection des souches MDR et des souches résistantes spécifiquement aux SDHI. La mise en œuvre de ces stratégies est d'autant plus important que la fitness des souches résistantes ne semble pas affectée. Les résultats des réseaux Performance et AFPP (voir communication Couleaud *et al*, CIMA 2018) montrent qu'il y a une relation positive entre le nombre d'applications de SDHI et la sélection des souches MDR. Ces observations justifient la limitation d'usage de SDHI à une seule application par saison (note commune céréales 2018). L'association de fongicides anti-septoriose multisites contribue également à améliorer l'efficacité des programmes. Etant donné la variabilité des niveaux de résistance associés aux différents SDHI, il semble également intéressant de varier les substances actives SDHI. La gestion préventive de la résistance MDR est également une opportunité pour préserver l'efficacité de nouveaux modes d'action à venir.

REMERCIEMENTS

Ce travail fait l'objet du travail d'ingénieur en apprentissage de Gwilherm Gazeau. Il a été financé en partie par l'agence française pour la biodiversité, dans le cadre de l'appel à projets « Résistances et Pesticides », grâce à la taxe pour pollution diffuse prévue par le plan Ecophyto. Les auteurs remercient les expérimentateurs de terrain envoyant régulièrement un matériel biologique précieux pour le suivi des résistances aux fongicides dans les populations françaises de *Z. tritici*.

LITTÉRATURE

- Dooley H, Shaw MW, Mehenni-Ciz J, Spink J, Kildea S (2016) Detection of *Zymoseptoria tritici* SDHI-insensitive field isolates carrying the SdhC-H152R and SdhD-R47W substitutions. *Pest Management Science* **72**, 2203-2207.
- 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*.
- 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**.
- Omrane S, Audéon C, Ignace A, et al. (2015a) La résistance de type MDR chez l'agent de la septoriose du blé: dernières avancées sur un mécanisme de résistance original. *11^{ème} conférence sur les maladies des plantes*. Tours, Décembre 2015.
- Omrane S, Sghyer H, Audéon C, et al. (2015b) Fungicide efflux and the MgMFS1 transporter contribute to the multidrug resistance phenotype in *Zymoseptoria tritici* field isolates. *Environmental Microbiology* **17**, 2805-2823.
- Rehfus A, Strobel D, Bryson R, Stammler G (2018) Mutations in *sdh* genes in field isolates of *Zymoseptoria tritici* and impact on the sensitivity to various succinate dehydrogenase inhibitors. *Plant Pathology* **67**, 175-180.
- Suffert F, Delestre G, Carpentier F, et al. (2016) Fashionably late partners have more fruitful encounters: Impact of the timing of co-infection and pathogenicity on sexual reproduction in *Zymoseptoria tritici*. *Fungal Genetics and Biology* **92**, 40-49.