

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

ÉVALUATION DE LA RÉSISTANCE AUX SDHI CHEZ DES POPULATIONS DE *PYRENOPHORA TERES* (*ANA. HELMINTHOSPORIUM TERES*) SUR ORGE

F. REMUSON¹, M. LE GUELLEC¹, S. FONTAINE¹, L. CADDoux¹,
G. COULEAUD², J.-Y. MAUFRAS², B. BARRÈS¹

¹Université de Lyon, Anses, INRA, USC CASPER, 69007 Lyon, France

²Arvalis - Institut du végétal Station expérimentale de Boigneville 91720 France

RÉSUMÉ

Les résistances de *Pyrenophora teres* vis-à-vis du boscalide en 2016 et 2017 et vis-à-vis du bixafène, du fluopyram et du fluxapyroxade en 2017, qui sont tous des inhibiteurs de la succinate déshydrogénase (ou SDHI), ont été recherchées dans des populations prélevées dans le cadre d'essais mis en place par les professionnels. Au total, 7 et 17 prélèvements ont été analysés au laboratoire en 2016 et 2017 respectivement. En 2016, parmi les 7 prélèvements qui ont pu être analysés par une méthode biologique en germination des spores en gamme de doses, 5 ont révélé des souches résistantes au boscalide. Pour 3 des populations résistantes, des isoléments monospores ont été réalisés. Des séquençages des gènes codant pour les sous-unités B, C et D de la succinate déshydrogénase ont été effectués sur 7 isoléments d'une de ces populations. Des mutations connues pour conférer une résistance aux SDHI ont été identifiées dans une large majorité (79 %) de ces individus isolés. Enfin, des tests en croissance mycélienne ont été réalisés sur 24 isoléments monospores choisis au hasard dans une des populations résistantes. Une forte majorité (79 %) des isolats s'est révélée résistante au boscalide. En 2017, un total de 464 souches isolées à partir des 17 prélèvements a pu être testé sur les 4 substances actives. 50 %, 11 %, 0,5% et 7 % des souches ont été identifiées comme résistantes au boscalide, bixafène, fluopyram et fluxapyroxade, respectivement, avec des facteurs de résistance de 10 ou plus.

Mots-clés : SDHI, *Pyrenophora teres*, orge, mutations de la succinate déshydrogénase.

ABSTRACT

Resistance to boscalid in 2016 and 2017 and to bixafen, fluopyram and fluxapyroxad in 2017, all succinate dehydrogenase inhibitors (or SDHI), has been investigated in populations of *Pyrenophora teres* collected in field trials. A total of 7 and 17 samples were analyzed in the laboratory in 2016 and 2017 respectively. In 2016, of the 7 samples that could be analyzed by a biological method for spore germination, 5 revealed strains resistant to boscalid. For 3 of the resistant populations, single-pore isolations were performed. Sequencing of the B, C and D subunits of succinate dehydrogenase was performed on 7 isolates from one of these populations. Mutations known to confer resistance to SDHIs have been identified in a large majority (79%) of these isolated individuals. Finally, mycelial growth tests were performed on 24 single-pore isolates randomly selected from one of the resistant populations. A large majority (79%) of the isolates were found to be resistant to boscalid. In 2017, a total of 464 strains isolated from the 17 samples could be tested on the 4 active substances. 50%, 11%, 0.5% and 7% of the strains were identified as resistant to boscalid, bixafen, fluopyram and fluxapyroxad, respectively (resistance factor greater than 10).

Keywords: SDHI, *Pyrenophora teres*, barley, mutations of succinate dehydrogenase.

INTRODUCTION

Pyrenophora teres est un champignon ascomycète nécrotrophe qui s'attaque à plusieurs espèces de graminées mais les orges d'hiver et de printemps (*Hordeum vulgare*) constituant les espèces hôtes d'intérêt agronomique majeures. Plusieurs familles de fongicides sont utilisées pour lutter contre cette maladie dont les Qol, les IDM ou les SDHI. Ce sont les phénomènes de résistances à cette dernière famille de produits qui sont recherchés ici. Les inhibiteurs de la succinate déshydrogénase (ou SDHI) miment l'interaction stérique du coenzyme Q dans la poche de fixation de la SDH, formée par les sous-unités B, C et D. Au moins 14 mutations affectant les gènes codant pour les sous-unités B, C et D de la succinate déshydrogénase confèrent des résistances aux fongicides SDHI chez *P. teres* (Rehfus *et al.* 2016 et note commune 2017). La substitution C-G79R semble par contre prépondérante dans les populations françaises. La recherche de résistance est réalisée pour des prélèvements effectués sur des parcelles d'essais d'efficacité mises en place par Arvalis. Le boscalide, SDHI de la classe des pyridine-carboxamides, fut introduit en 2007 dans un contexte de développement de la résistance de *P. teres* aux strobilurines. Seul SDHI présent sur le marché des céréales avec plus de 2 millions d'hectares traités à cette période, le boscalide a ensuite été progressivement remplacé par le fluxapyroxade et le bixafène (pyrazole-carboxamides) à partir de 2012. Pour ces raisons, nous avons testé la sensibilité de souches de *P. teres* au boscalide en 2016 et au boscalide, au bixafène, au fluopyram (benzamides-carboxamides) et au fluxapyroxade en 2017 en réalisant des tests biologiques. Ces tests ont été complétés en 2016 par le séquençage des sous-unités de la succinate déshydrogénase pour quelques souches.

MATÉRIELS ET MÉTHODES

1) Prélèvements et produits phytosanitaires

Les prélèvements ont été réalisés en juin 2016 sur des parcelles d'essais mises en place par Arvalis pour mesurer l'efficacité des produits fongicides sur les maladies de l'orge. Un prélèvement consiste en 40 feuilles présentant des symptômes d'helminthosporiose (au moins 3 lésions par feuille), échantillonnées sur une parcelle de façon homogène et aléatoire. Les feuilles sont séchées à l'air libre puis les différents prélèvements sont envoyés aux laboratoires de l'Anses de Lyon où ils sont analysés.

Des témoins sensibles (HL-11005 et HL-12008) collectés en 2016 fournis par Arvalis ont été utilisés afin de servir de référence sensible. Des témoins résistants au boscalide (D1-14, D34-1, D34-10, D34-11 et D34-3) fournis par Stefan Weigand (Bayerische Landesanstalt Landwirtschaft) via Anne-Sophie Walker (INRA) ont été utilisés afin de servir de témoins positifs. Les quatre substances actives ont été utilisées sous forme de produit technique à environ 99 % de pureté, achetées auprès de la société commerciale Sigma.

2) Tests biologiques de résistance

a) Test par mesure de la croissance moyenne du tube germinatif de populations de spores

Ce test sur milieu gélosé consiste à mesurer le taux de germination des spores ainsi que la longueur des tubes germinatifs en présence d'une quantité croissante de substance active. Les prélèvements provenant du terrain sont mis à sporuler : les 40 feuilles présentant des symptômes sont incubées sous UV dans une étuve à 18°C pendant 24 à 72 heures pour chaque prélèvement. Lorsqu'une sporulation suffisante est observée, des spores sont prélevées à l'aide d'un pinceau et mises en solution dans de l'eau ultra-pure. La concentration de la suspension de spores est normalisée à environ 50 000 spores par mL. Une gamme de dilution au 1/10^{ème} de substance active a été réalisée dans de l'éthanol 96°C en cascade à partir de deux solutions mères à 30 et 100 mg/L avec les concentrations suivantes :

0 - 0.001 - 0.003 - 0.01 - 0.03 - 0.1 - 0.3 - 1 - 3 - 10 - 30 - 100 mg/L

Pour chaque prélèvement, 250 µl de la suspension de spores sont réparties dans les boîtes de Pétri en milieu gélosé « PS » (2 g K₂HPO₄, 2 g KH₂PO₄, 4 g succinate, 12.5 g agar et H₂O qsp 1L) amendées en fongicides avec les différentes concentrations et mises à incuber à 13°C pendant 24 heures. Le taux de germination est estimé par comptage des spores germées et non germées sur 100 spores au total sous microscope au grossissement x100. Un témoin négatif (sans fongicide mais avec une quantité d'éthanol identique à celle introduite dans les boîtes traitées) permet de mesurer le taux de germination des spores afin de s'assurer de la qualité de la préparation. En deçà d'un taux de germination de 50 % du témoin négatif, l'expérimentation n'est pas prise en compte. Pour chaque échantillon et chaque dose, l'estimation moyenne de la longueur du tube germinatif est ramenée en pourcentage par rapport au témoin négatif. La concentration inhibitrice de 50 % de la longueur du tube germinatif (CI50) est déterminée par régression probit sur les résultats obtenus sur la gamme de concentrations. La CI90 et la concentration minimale inhibitrice de germination (CMI) sont également évaluées par la même méthode. Le facteur de résistance (FR) est déterminé par le rapport entre la CI50 de l'échantillon analysé sur la moyenne des CI50 des références sensibles. Ces tests ont été uniquement réalisés pour les échantillons de 2016.

b) Test par mesure de la croissance mycélienne sur isollements monospores

Ce test consiste à mesurer la croissance mycélienne d'un isolement monospore sur des boîtes de Pétri en milieu PDA amendées avec des concentrations croissantes de substance active. La croissance de l'isolement est ensuite comparée à la croissance du témoin négatif afin d'obtenir un pourcentage de croissance par rapport au témoin. Les isollements monospores ont été réalisés uniquement sur certains des prélèvements qui présentaient des niveaux importants de résistance par la méthode du taux de germination (prélèvements 16-001, 16-002 et 16-003). Ces isollements ont servi à la recherche de mutation par séquençage (voir ci-après). Les tests biologiques par mesure de la croissance mycélienne ont été réalisés sur les isollements monospores du prélèvement 16-001.

Un isolement monospore se réalise en prélevant sous loupe binoculaire (stérilement sous hotte à flux laminaire) une spore germée et en la mettant en culture sur un milieu nutritif. Il peut être nécessaire de réaliser 1 ou 2 repiquages pour obtenir une culture pure. Après 10 jours de culture en boîte de Pétri diamètre 90 mm, le diamètre de la culture est suffisant pour réaliser le test en croissance mycélienne. La gamme de dilutions utilisée pour ces tests est la même que pour la méthode par mesure du taux de germination en 2016 et une gamme de doses moins étendue a été utilisée en 2017 (0 - 0,001 - 0,01 - 0,1 - 1 - 10 - 30 mg/L). Le test consiste à prélever sur le front de la culture mycélienne un implant calibré de 8 mm et de le transplanter dans de nouvelles boîtes de Pétri avec du milieu PDA amendé avec les différentes concentrations de fongicides. Après 7 jours d'incubation dans une étuve à 20°C (avec contrôle de la croissance tous les 2 jours), le diamètre de la culture est mesuré, le % de croissance par rapport au témoin est calculé pour chaque dose afin d'évaluer la CI50, la CI90, la CMI et le FR. La concentration inhibitrice de 50 % de la croissance mycélienne (CI50) est déterminée par régression probit sur les résultats obtenus sur la gamme de concentrations. La CI90, la CMI et le FR sont déterminés comme décrit au paragraphe précédent.

3) Recherche de mutation dans les sous unités B, C et D de la succinate déshydrogénase

Des mutations sur les gènes codant pour les différentes sous-unités de la succinate déshydrogénase sont connues pour conférer différents niveaux de résistance et spectres de résistance croisée aux SDHI chez *P. teres* (Rehfus et al. 2016). Afin d'identifier rapidement les mutations présentes dans les populations françaises, des séquences par méthode Sanger ont été réalisées pour les 3 sous-unités concernées pour 7 isollements monospores réalisés sur la population 16-001 prélevée en 2016. Des prélèvements de mycélium par grattage des cultures monospores ont été réalisés puis conservés à -80°C jusqu'à extraction des ADN. Les extractions ont été effectuées à l'aide de kits commerciaux (kit Nucléospin plant8 de chez Macherey-Nagel® ou kit DNeasy plant Mini de chez Qiagen®). Quel que soit le kit d'extraction utilisé, une étape de broyage du mycélium au micropilon a précédé la lyse cellulaire. L'élution des ADN a été réalisée dans 50 µL de tampon d'élution. Les séquençages de sous unités B, C et D de la succinate déshydrogénase ont été réalisés à l'aide des couples d'amorces listées dans le Tableau 1 (d'après Rehfus et al. 2016).

Tableau 1 : listes des couples d'amorces utilisées pour le séquençage des gènes codant les sous-unités B, C et D de la succinate déshydrogénase.

Table 1: lists of primers used for sequencing the B, C and D subunits genes of succinate dehydrogenase

Sous Unité	Nom	Séquence	Taille d'amplicon (kb)
B	KES 1825 Sens	CATAACCGAGGAAGCTTGAGTG	1.2
	KES 1837 Reverse	CAAACACAACCTCGCAATTAACGC	
C	KES 1827 Sens	ATCACCCAACACCACCATCG	0.85
	KES 1828 Reverse	ATGTTGCAAACCTTCAATCGTACCC	
D	KES 1833 Sens	CGATCCTTCAACCCACCTCCGA	0.75
	KES 1834 Reverse	ACCCGCTTATGCATGCCACAG	

Chacune des trois PCR a été réalisée indépendamment. Les amplifications ont été effectuées dans un volume réactionnel de 30 µL composé de 1 x de Qiagen multiplex, de 0.5 µM de chacune des amorces et de 2µL d'ADN. Le cycle PCR était constitué d'une dénaturation initiale de 15min à 95°C puis de 35 cycles avec une dénaturation de 30s à 95°C, une hybridation de 60s à 57°C et une élongation de 45s à 72°C. Après analyse des produits d'amplification par migration à l'aide du système Qiaxcel (cartouche screening, méthode AM420), les amplicons ont été séquencés en double sens avec la méthode Sanger par la société GENEWIZ. L'analyse des chromatogrammes et la comparaison des séquences ont été réalisées à l'aide du logiciel bioedit.

RÉSULTATS

1) Tests biologiques de résistance

- a) Résultats des tests de résistance en population par mesure de la croissance moyenne du tube germinatif

Sur les 22 prélèvements reçus, seul 7 ont pu être exploités. Les 15 autres prélèvements n'ont pas produit de spores après incubation pendant 24 heures en chambre humide. Les tests n'ont donc pas pu être réalisés pour ces prélèvements. Une hypothèse qui permettrait d'expliquer ce fort taux d'échec est la similarité des symptômes de la ramulariose et de l'helminthosporiose de l'orge. Parmi les 7 prélèvements testés en population par mesure de la croissance moyenne du tube germinatif des spores, 5 (soit 71 %) étaient résistants au boscalide (FR>10, Tableau 2).

Tableau 2 : Résultats des tests de résistance au boscalide obtenus par mesure de la croissance moyenne du tube germinatif des spores de populations de *P. teres*.

Table 2: Results of boscalid resistance tests obtained by measuring the average growth of the germ tube of spores from *P. teres* populations.

Référence laboratoire	Département	Variété	Pourcentage de germination du témoin	CI50	FR	CI90	CMI
16-001	18	Abondance	98	2,4	53	>100	>100
16-002	18	Etincel	85	1,7	38	>100	>100
16-003	31	Kétos	95	2,1	47	>100	>100
16-004*	31	Kétos	95	0,04	1	0,7	3
16-005*	31	Kétos	95	0,05	1	0,7	>100
16-036	27	Kétos	50	8,7	193	>100	>100
16-037	27	Kétos	83	4,7	104	>100	>100

*populations ayant servi de références sensibles

b) Résultats des tests par mesure de la croissance mycélienne sur des isoléments monospores de 2016

Afin de confirmer les résultats obtenus en population, des isoléments monospores ont été réalisés sur les 3 premiers prélèvements identifiés comme résistants au boscalide (16-001, 16-002 et 16-003). Pour chacun de ces prélèvements, 48 spores ont été isolées et 24, 31 et 20 cultures monospores propres ont été obtenues pour les échantillons 16-001, 16-002 et 16-003, respectivement. Les isoléments monospores du prélèvement 16-001 ont été testés pour la résistance au boscalide par mesure de la croissance mycélienne (Tableau 3). Parmi les isoléments réalisés sur le prélèvement 16-001, 79 % (19/24) sont résistants au boscalide (FR>10). Les niveaux de résistances observés sont importants (FR compris entre 20,7 et 165,5) même s'ils restent bien inférieurs aux FR des témoins les plus résistants (FR>3000).

Tableau 3 : Résultats des tests de résistance au boscalide obtenus par mesure de la croissance mycélienne d'isoléments monospores issus du prélèvement 16-001. Le FR est calculé à l'aide de la moyenne des CI50 obtenus pour les souches témoins sensibles (CI50 = 0,029).

Table 3: Results of boscalid resistance tests obtained by measuring the mycelial growth of monospore isolations from sample 16-001. The RF is calculated using the average of the IC50 values obtained for sensitive control strains (IC50 = 0.029).

Classe d'échantillon	Référence laboratoire	CI50	FR	CI90	CMI	Sous-unité Substitution	-
Isoléments monospores	16-001-01	1,17	40,3	>100	>100	non testé	
	16-001-03	4,8	165,5	>100	>100	C-S135R	
	16-001-04	0,92	31,7	6,8	30	non testé	
	16-001-05	0,1	3,4	1,5	10	pas de sub.	
	16-001-06	1,9	65,5	>100	>100	non testé	
	16-001-07	1	34,5	2,7	10	D-E178K	
	16-001-08	2,4	82,8	>100	>100	non testé	
	16-001-09	1,7	58,6	>100	>100	non testé	
	16-001-10	1,6	55,2	>100	>100	non testé	
	16-001-11	0,12	4,1	1	30	non testé	
	16-001-12	0,72	24,8	2,5	30	D-E178K	
	16-001-13	0,07	2,4	1,3	3	non testé	
	16-001-14	0,6	20,7	2,3	10	non testé	
	16-001-15	0,05	1,7	0,52	3	non testé	
	16-001-16	4,1	141,4	>100	>100	non testé	
	16-001-17	0,68	23,4	22	>100	pas de sub.	
	16-001-18	0,81	27,9	2,8	>100	non testé	
	16-001-19	2,3	79,3	>100	>100	non testé	
	16-001-20	2,7	93,1	>100	>100	C-S135R	
	16-001-21	2	69,0	>100	>100	C-S135R	
	16-001-22	0,7	24,1	9	>100	non testé	
	16-001-23	4,3	148,3	>100	>100	non testé	
	16-001-24	0,025	0,9	0,28	>100	non testé	
	16-001-25	2,3	79,3	>100	>100	non testé	

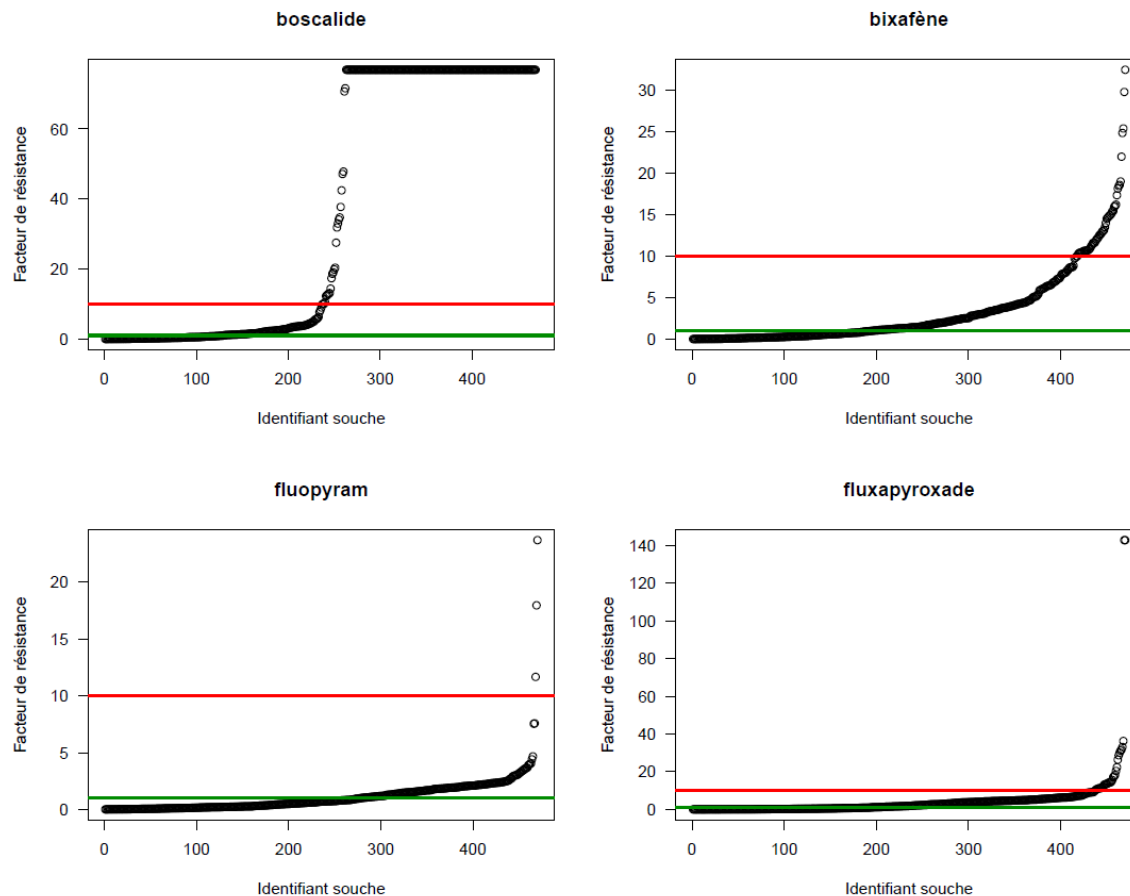
Références résistantes	D1-14	6,1	210,3	>100	>100	C-G79R
	D34-1	3	103,4	>100	>100	C-G79R
	D34-10	100	3448,3	>100	>100	C-H134R
	D34-11	100	3448,3	>100	>100	C-H134R
	D34-3	100	3448,3	>100	>100	C-H134R
Références sensibles	HL-11005	0,04	1,4	0,25	10	non testé
	HL-12008	0,017	0,6	0,95	3	pas de sub.

c) Résultats des tests par mesure de la croissance mycélienne sur des isoléments monospores de 2017

En 2017, il a été décidé de réaliser seulement des tests sur des isoléments monospores afin de mieux appréhender la distribution de la sensibilité des souches de *P. teres* prélevées dans les essais. Chaque isolement a été testé sur les quatre SDHI : le boscalide, le bixafène, le fluopyram et le fluxapyroxade par mesure de la croissance mycélienne. La distribution des facteurs de résistance des 464 souches testées pour chacune des substances actives est représentée dans la Figure 1. Globalement, et si l'on considère un seuil de facteur de résistance de 10, 50 %, 11 %, 0,5% et 7 % des souches ont été identifiées comme résistantes au boscalide, bixafène, fluopyram et fluxapyroxad, respectivement. La distribution de la fréquence des souches résistantes aux différentes substances actives parmi les différents prélèvements est homogène.

Figure 1 : Distribution des FR par souches monospores prélevées en 2017 pour le boscalide, le bixafène, le fluopyram et fluxapyroxade.

Figure 1: Resistance factor distribution for monospore strains collected in 2017 for boscalid, bixafen, fluopyram and fluxapyroxad.



2) Recherche des mutations sur les sous-unités B, C et D de la succinate déshydrogénase

Les mutations conférant une résistance aux SDHI ont été recherchées sur les sous-unités B, C et D de la succinate déshydrogénase. Un total de 29 isoléments monospores ont été étudiées (7, 15 et 7 pour les prélèvements 16-001, 16-002 et 16-003, respectivement). Le taux de réussite du séquençage est variable selon les sous-unités : 70 %, 97 % et 97 % pour les sous-unités B, C et D, respectivement. Seul 69 % (20/29) des isoléments ont les 3 sous-unités séquencées. Des mutations ont été détectées dans 79 % (19/24) des isolats testés. Un isolat est considéré comme ne portant pas de mutation si et seulement si les 3 sous-unités ont pu être séquencées avec succès et ne portent pas de mutation. Au total, 6 mutations différentes ont été identifiées. Les types et les fréquences des différentes mutations varient selon les prélèvements étudiés (Figure 2 et Tableau 4), ce qui suggère une diversité forte intra et inter-parcelles. Parmi les isolats monospores du prélèvement 16-001 dont la sensibilité au boscalide a été testée par la méthode de croissance mycélienne, sept ont également été séquencés. Un de ces isoléments monospores, sensible en test phénotypique, ne présentait aucune mutation sur les 3 sous-unités séquencées. Les 6 autres isoléments présentaient tous un phénotype de résistance (FR>10). Une mutation a pu être identifiée pour 5 de ces 6 isoléments (Tableau 4). Aucune mutation sur les 3 sous-unités de la succinate déshydrogénase séquencées n'a pu être mise en évidence sur l'isolement monospore 16-001-17 alors que celui présente un FR de 23,4. Ceci suggère la mise en œuvre d'un mécanisme de résistance alternatif.

Figure 2 : Distribution des facteurs de résistance au boscalide et génotype SDH (lorsque disponible) des souches monospores de la population 16-001. Les points noirs représentent les souches de l'étude non génotypées. Les points rouges représentent les souches références résistantes, les points verts les souches références sensibles et les points bleus sont les isoléments monospores phénotypés qui ont également été génotypés. Le génotype des individus est indiqué par une étiquette.

Figure 2 : Resistance factor to boscalid distribution and SDH genotype (when available) of monospore strains of 16-001 population. The black dots represent strains from the study that were not genotyped. Red dots represent resistant reference strains, green dots sensitive reference strains and blue dots are phenotyped single-pore isolations that have also been genotyped. The genotype of individuals is indicated by a label.

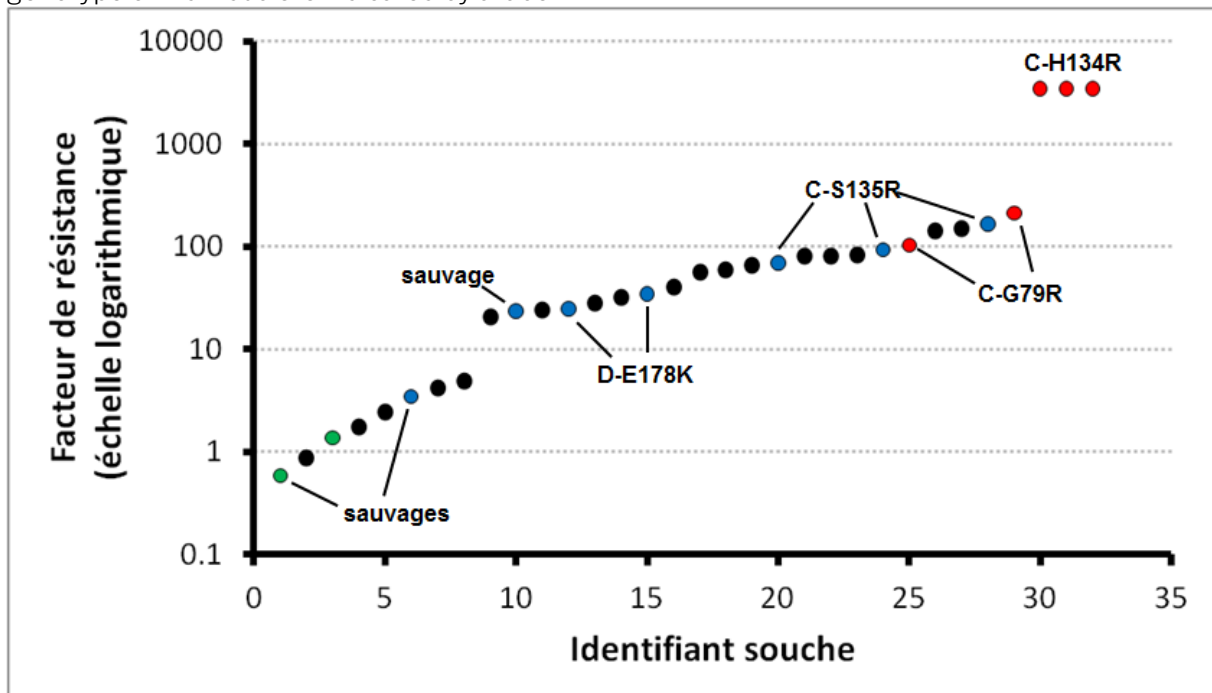


Tableau 4 : Fréquences et types de mutations identifiées dans les séquences des sous-unités B, C et D de la succinate déshydrogénase dans les trois prélèvements étudiés. Les mutations identifiées au moins une fois dans un des prélèvements sont indiquées en gras.

Table 4: Frequency and type of mutation identified within the sequences of the subunits B, C and D of the succinate dehydrogenase in three studied samples. Mutations that have been identified at least once in one sample are in bold.

	mutation	Prélèvements			
		16-001	16-002	16-003	Total
Sous-unité B % de mutant (mutant/total)	B-H277Y	0% (0/7)	30% (3/10)	0% (0/3)	15% (3/20)
	B-A27P*	0% (0/7)	10% (1/10)	0% (0/3)	5% (1/20)
Sous-unité C % de mutant (mutant/total)	C-H134R	0% (0/7)	0% (0/15)	0% (0/6)	0% (0/28)
	C-S135R	43% (3/7)	7% (1/15)	0% (0/6)	14% (4/28)
	C-G79R	0% (0/7)	33% (5/15)	17% (1/6)	21% (6/28)
	C-N75S	0% (0/7)	0% (0/15)	0% (0/6)	0% (0/28)
Sous-unité D % de mutant (mutant/total)	D-D124N/E	0% (0/7)	0% (0/14)	0% (0/7)	0% (0/28)
	D-H134R	0% (0/7)	29% (4/14)	0% (0/7)	14% (4/28)
	D-D145G	0% (0/7)	0% (0/14)	0% (0/7)	0% (0/28)
	D-E178K	29% (2/7)	0% (0/14)	0% (0/7)	7% (2/28)

*cette substitution est détectée pour la première fois, à notre connaissance, et son impact sur la résistance n'a pas été démontré

CONCLUSIONS

En 2016, le monitoring de populations de *P. teres* pour la résistance vis-à-vis des SDHI a permis de mettre en évidence 71 % de populations résistantes (sur 7 populations prélevées). Bien qu'inquiétants, ces résultats sont toutefois à relativiser étant donné le faible nombre de prélèvements ayant pu être analysé. Une hypothèse pouvant expliquer le fort taux d'échec des prélèvements est la similarité des symptômes de la ramulariose et de l'helminthosporiose de l'orge. Les résultats obtenus sur les populations par test biologique sont confirmés par les tests biologiques sur isolements monospores. Il existe également une bonne concordance entre les résultats des tests biologiques et les tests biomoléculaires. Il est intéressant de noter qu'une grande diversité de mutations (6) a pu être détectée sur ce faible échantillonnage. La mutation C-H134R (qui semble conférer de très hauts niveaux de résistance à la plupart des SDHI, Rehfus *et al.* 2016) n'a pas été détectée dans cette enquête.

En 2017, le plus grand nombre de populations testées sur des isolements monospores permet de confirmer que la situation de la résistance vis-à-vis du boscalide est préoccupante. La fréquence des souches résistantes est élevée et est homogène dans les différents prélèvements. La situation des autres substances actives SDHI testées est moins préoccupante. Il faut toutefois noter que pour toutes les substances actives, quelques souches avec un FR non négligeable ont été détectées systématiquement. Il est donc essentiel de rester vigilant vis-à-vis de la résistance de *P. teres* au SDHI.

RÉFÉRENCE

Rehfus A, Miessner S, Achenbach J, Strobel D, Bryson R, Stammler G. Emergence of succinate dehydrogenase inhibitor resistance of *Pyrenophora teres* in Europe. Pest management science. 2016. 72(10):1977-88.