

**AFPP- 9^{ème} CONFÉRENCE INTERNATIONALE SUR LES MALADIES DES PLANTES
TOURS-8 ET 9 DÉCEMBRE 2009**

**ETAT DE LA RESISTANCE AUX FONGICIDES AU SEIN DES POPULATIONS
FONGIQUES FRANÇAISES RESPONSABLES DE LA FUSARIOSE DES CEREALES**

P. LEROUX et A.-S. WALKER

INRA, UMR BIOGER-CPP, Avenue Lucien Bretignières, F78850 Thiverval-Grignon
walker@versailles.inra.fr

RESUME

Chez les céréales à paille, diverses espèces fongiques appartenant aux genres *Microdochium* et *Fusarium* sont particulièrement dommageables au niveau des épis, entraînant des baisses de rendement et des altérations qualitatives des grains. L'application de fongicides au moment de la floraison est une pratique courante et implique trois classes principales de fongicides : des antimicrotubules, des inhibiteurs de la biosynthèse des stéroïdes (IBS) et des inhibiteurs respiratoires Qols. A partir de souches collectées en 2007 et 2008, il apparaît que la résistance acquise aux antimicrotubules et aux Qols est fortement implantée chez *Microdochium sp.* ; une moindre sensibilité est également observée vis-à-vis de certains IBS. Quant aux *Fusarium sp.* qui sont naturellement tolérants aux Qols, ils demeurent globalement sensibles aux autres classes de fongicides.

Mots-clés : fusariose, céréale, *Microdochium*, *Fusarium*, fongicide, résistance

SUMMARY

STATUS OF RESISTANCE TO FUNGICIDES IN FRENCH FUSARIUM HEAD BLIGHT POPULATIONS

On cereals, several *Microdochium* and *Fusarium* species are responsible for Fusarium Head Blight (FHB) and cause alteration of spikes that lead to yield losses and decreases in grain quality. Fungicide spraying at flowering time is usual and concerns three main classes of inhibitors; antimicrotubules, inhibitors of sterol biosynthesis (SBIs) and respiratory inhibitors (Qols). Using strains collected in 2007 and 2008, we established that resistance towards Qols was generalized in *Microdochium sp.* populations; a lower susceptibility towards some SBIs was also observed. *Fusarium* species are naturally resistant to Qols but stay globally fully susceptible to other fungicide classes.

Keywords: fusarium head blight, cereal, *Microdochium*, *Fusarium*, fungicide, resistance

INTRODUCTION

Sur le blé et l'orge, la fusariose des épis entraîne des baisses de rendement et peut induire des altérations technologiques des grains. De plus, certaines espèces fongiques impliquées produisent des mycotoxines qui présentent des risques toxicologiques pour l'homme et les animaux. Cette maladie est provoquée par un complexe d'espèces appartenant aux genres *Microdochium* et *Fusarium*. Le premier genre est représenté par les espèces *M. majus* et *M. nivale* qui ont été très longtemps considérées comme deux variétés d'une même espèce ; elles ne produisent pas de mycotoxines. Le second genre comporte de nombreuses espèces qui peuvent partiellement être regroupées en fonction de la nature des mycotoxines qu'elles peuvent synthétiser. Ainsi, *F. graminearum* et *F. culmorum* produisent de la zéaralénone et des trichothécènes de type B (ex : deoxynivalnol, nivalnol). D'autres comme *F. sporotrichoides*, *F. poae* et *F. langsethiae* synthétisent des trichothécènes de type A (ex : toxines T2 et HT2). Les espèces apparentées *F. avenaceum* et *F. tricinctum* sont potentiellement productrices de moniliformine. Cette toxine, ainsi que les fumonisines sont synthétisables par les espèces du complexe *F. fujikuroi* (ex *F. proliferatum*, *F. subglutinans*, *F. verticilloides*) qui sont fréquentes sur maïs mais rares sur blé et orge. Dans une espèce donnée, il peut y avoir des différences quantitatives et qualitatives de production des mycotoxines (chénotypes). Il convient enfin de noter qu'au sein d'une espèce, ce polymorphisme n'a pas d'impact évident sur l'agressivité des souches (D'Mello *et al.*, 1999; Champeil *et al.*, 2004; Loos *et al.*, 2004; D'Mello *et al.*, 1998).

Ces différents agents de la fusariose des épis des céréales ont des cycles biologiques relativement similaires. Ainsi, au moment de la mise en place de la culture, les plantules sont détruites par de l'inoculum issu des semences ou des résidus de récolte. Par la suite, les pathogènes peuvent se développer sur la base des tiges et des gaines (seul le genre *Microdochium* semble infecter les limbes foliaires). Enfin, au moment de la floraison, les épis sont contaminés par des conidies et/ou des ascospores transportées par le vent ou projetées par les gouttes de pluie (Champeil *et al.*, 2004). De tels événements pluvieux se sont notamment produits en 2007 et 2008 dans de nombreuses régions céréalières françaises, expliquant les forts niveaux d'infestation. Par ailleurs, la recrudescence de *Microdochium sp.* dans des parcelles traitées avec des strobilurines laissent suspecter des problèmes de résistance.

Sur un plan pratique, pour limiter l'impact de ces agents de la fusariose, il convient de choisir des méthodes culturales adaptées (en évitant par exemple un précédent maïs ou le travail minimal du sol), des variétés tolérantes et d'appliquer des fongicides efficaces. Ceux-ci peuvent s'utiliser soit en traitement de semences pour limiter les fontes de semis (certains travaux suggèrent qu'ils pourraient aussi influencer sur les infestations des épis en limitant la migration systémique des champignons (ex : fludioxonil selon Syngenta), soit au moment de la floraison. Pour ce second type d'intervention, outre l'efficacité basée sur les symptômes visuels, il est important d'évaluer l'effet sur les teneurs en mycotoxines des produits récoltés. Ainsi, dans de nombreux essais au champ, il a été montré que les IDMs (fongicides inhibiteurs de la 14 α -déméthylation des stérols) entraînaient généralement une diminution des teneurs en mycotoxines, alors que les strobilurines avaient un effet inverse (Simpson *et al.*, 2001).

Grace aux fortes infestations observées sur blé et orge dans de nombreuses régions céréalières françaises en 2007 et 2008, il a été possible de constituer une collection importante de souches fongiques impliquées dans le complexe fusarié. Des essais ont été conduits en laboratoire pour évaluer leur sensibilité vis-à-vis des principaux fongicides utilisés sur semence ou en cours de végétation.

MATERIEL ET METHODE

Souches fongiques

La plupart des isolats de *Fusarium* et *Microdochium* sont issus de grains de blé ou d'orge infectés collectés en France par le Service Régional de la Protection des Végétaux de Nancy et par Arvalis. Les souches isolées dans notre laboratoire proviennent de la base de tiges de blé. Elles ont été identifiées par divers critères phénotypiques (loos *et al.*, 2004) ou moléculaires dans le cas de *Microdochium* (Walker *et al.*, 2009).

Essais fongicides

Toutes les substances actives sous forme de produits techniques sont dissoutes dans de l'éthanol puis ajoutée à un milieu gélosé après autoclavage. La concentration finale en alcool est de 0.5 mL^{-1} et pour chaque fongicide, 5 à 8 concentrations ont été testées. Le milieu de culture comporte du glucose, des sels minéraux (K_2HPO_4 , KH_2PO_4 , MgSO_4 et NaNO_3), de l'extrait de levure et de l'agar agar et est réparti dans des boîtes de Pétri de 90 mm de diamètre. Un implant mycélien est déposé au centre de chaque boîte et les diamètres des plages mycéliennes sont mesurés chaque jour pendant une semaine d'incubation à 19°C et à l'obscurité. A partir de ces observations, pour chaque fongicide, la concentration inhibant de 50% (CI_{50}) la vitesse de croissance mycélienne est calculée. Le niveau de résistance est ensuite évalué en faisant le rapport EC_{50} souche résistante / EC_{50} souche sensible.

Analyses moléculaires

L'ADN des différentes souches est extrait avec le kit Qiagen Plant MiniKit. Le gène codant pour le cytochrome b chez *Microdochium sp.* a été amplifié en élaborant des amorces dégénérées basées sur les séquences de différentes espèces de *Fusarium*, mises en banques et annotées après séquençage complet des génomes de ces espèces. Une partie du gène *cytb* a finalement été amplifié par PCR pour des souches représentatives de nos différents phénotypes, après élaboration d'amorces spécifiques aux 2 espèces de *Microdochium*. Le fragment comprend les positions d'acides aminés 129, 137 et 143, connues dans la littérature pour avoir un lien avec la résistance aux QoIs chez divers champignons phytopathogènes. Enfin, un test CAPS (Cleavable Amplified Polymorphism Sequence) a été mis en place pour tester en routine la présence de la substitution G143A : ce test nécessite l'amplification par PCR d'un fragment du gène *cytb* comprenant la position 143 puis la digestion de ce fragment par l'enzyme de restriction *SaI* qui reconnaît spécifiquement le site nucléotidique généré lors de la substitution de la glycine (G) en Alanine (A) (2 fragments de PCR au lieu d'un lorsque la mutation est présente. Le détail des protocoles a été décrit précédemment (Walker *et al.*, 2009).

RESULTATS ET DISCUSSION

Fongicides antimicrotubules

Dans le domaine agricole, les antimicrotubules efficaces contre des Ascomycètes ou des Adelomycètes sont des benzimidazoles (bénomyl, carbendazime, fubendazole, thiabendazole), des thiophanates (ex : thiophante-méthyl) et des phénylcarbamates (ex : diéthofencarbe). A noter que le benomyl et le thiophanate-méthyl sont des précurseurs du carbendazime. L'action primaire se situe au niveau des microtubules qui sont des constituants majeurs du cytosquelette et du fuseau achromatique. En fait, ces molécules se fixent sur la β -tubuline, un des composants protéique des microtubules. Ces fongicides vont entraîner un arrêt de l'élongation des filaments germinatifs et des hyphes mycéliens et induire d'importantes déformations. A fortes concentrations, certaines de ces substances actives affectent les processus respiratoires et provoquent l'inhibition de la germination des spores. Pour le thiophanate-méthyl, la réduction des teneurs en mycotoxines observées en pratique pourraient résulter de cet effet sur la respiration (Buschhaus and Ellner, 2007; Buschhaus and Ellner, 2008).

Les essais conduits sur *Microdochium* indiquent que le carbendazime comme le thiabendazole entraînent une forte inhibition de la croissance mycélienne avec des CI₅₀ inférieures à 0,1 mg/l. Les deux espèces ont un comportement similaire vis-à-vis du carbendazime alors que *M. nivale* est un peu moins inhibé que *M. majus* par le thiabendazole (tableau I). Toutefois, la réponse *in-vitro* des souches de *Microdochium* sensibles à ces deux fongicides est similaire à celle observée pour d'autres pathogènes comme *Oculimacula* sp. (piétin-verse) et *Mycosphaerella graminicola* (septoriose du blé). A côté de ces souches sensibles aux benzimidazoles, il a été possible de caractériser plusieurs phénotypes résistants. Le plus fréquemment rencontré tant en 2007-2008 qu'il y a une vingtaine d'années présentent une très forte résistance (BenR1) au carbendazime, au thiabendazole et également au thiophanate-méthyl (tableau II ; (Leroux and Gredt, 1988)). Ce phénomène, associé avec une sensibilité accrue aux phénylcarbamates (ex : diéthofencarbe) est probablement déterminé par une mutation en position 198 du gène codant pour la β -tubuline. A noter que chez *Oculimacula* sp. et *M. graminicola* le changement dominant est E198A. Actuellement, en France, ces souches sont généralisées chez *Oculimacula* sp., *M. graminicola* et *M. majus*, malgré un usage très limité des benzimidazoles depuis près de deux décennies ; ceci suggère qu'elles possèdent une excellente fitness (capacité de survie). Dans un contexte similaire, *M. nivale* se singularise par une fréquence limitée de ce phénotype fortement résistant aux benzimidazoles et sensible aux phénylcarbamates. En effet, sur l'ensemble des échantillons analysés en 2007 et en 2008, les fréquences respectives de résistances étaient respectivement de 92% et 24% chez *M. majus* et *M. nivale* (tableau III). Par ailleurs, chez *M. majus* et *M. nivale*, quelques souches faiblement résistantes et moyennement résistantes aux benzimidazoles et insensibles aux phénylcarbamates ont été détectées au champ (tableau II).

Les essais conduits en laboratoire indiquent que globalement les espèces du genre *Fusarium* sont naturellement plus tolérantes aux benzimidazoles (tableau I). Ainsi, vis-à-vis du carbendazime, les CI₅₀ (pour des souches sensibles) de *F. graminearum*, *F. culmorum*, *F. langsethiae* et *F. poae* sont deux à trois fois supérieures à celles enregistrées pour *Microdochium* sp. ; ce facteur est de 40 pour *F. avenaceum* et *F. tricinctum*. Cette différence entre ces deux genres pourrait résulter du fait que *Microdochium* spp., comme beaucoup de champignons phytopathogènes, possède un seul type de β -tubuline alors que les espèces du genre *Fusarium* en possèdent deux (*tub1*, *tub2*). Concernant la résistance aux benzimidazoles et aux thiophanates, elle est très peu présente dans les populations de *Fusarium* spp. collectées en France en 2007 et 2008 ; ce phénomène concerne essentiellement *F. avenaceum* (tableau II). Par ailleurs, toutes les souches de *Fusarium* spp. résistantes à cette classe d'antimicrotubules sont sensibles aux phénylcarbamates. En Chine, où les benzimidazoles (et particulièrement le carbendazime) sont couramment utilisés sur blé contre *F. graminearum*, des baisses d'efficacité ont été constatées à la fin des années 1990 suite à la sélection de souches résistantes. En général, leurs fréquences ne dépassaient pas 25% et un arrêt des traitements entraînait leur regression, suggérant une moindre fitness. Les analyses moléculaires indiquent que ces mutants résistants possédaient généralement le changement F167Y au niveau de la β -tubuline 2 ; les substitutions E198Q et F200Y sont plus rarement observées. Enfin, l'acquisition de la résistance ne semble pas affecter l'agressivité de *F. graminearum* mais elle augmenterait par contre la capacité de production de trichotécènes (Yin *et al.*, 2009; Chen *et al.*, 2007; Zhang *et al.*, 2009).

Qols

Les strobilurines (ex : azoxystrobine, krésoxim-méthyl, pyraclostrobine, picoxystrobine, trifloxystrobine, fluoxastrobine, dimoxystrobine) constituent la principale classe de Qols dont la cible est le cytochrome b, un des composants du complexe mitochondrial III. Ces strobilurines sont particulièrement actives *in-vitro* sur *M. majus* et *M. nivale*, avec des CI₅₀ inférieures à 0,01 mg/l. A l'inverse, les espèces du genre *Fusarium* sont peu sensibles à ces Qols avec souvent une croissance importante même à 5 mg/l (tableau I). L'adjonction de SHAM, un inhibiteur d'une voie alternative de la respiration (alternative oxydase ou AOX)

provoque une augmentation significative de la fongitoxicité des strobilurines chez *Fusarium sp.* mais pas chez *Microdochium sp.* En outre, des mycelia de *M. nivale* et *F. graminearum* traités par l'azoxystrobine présentent des cinétiques et niveaux de transcription de l'AOX très différents : respectivement lent-faible et rapide-fort (Kaneko and Ishii, 2009). Ces résultats suggèrent que la faible efficacité des strobilurines vis-à-vis des *Fusarium* est liée au fonctionnement de la voie alternative de la respiration AOX.

Chez *Microdochium sp.*, nous avons pu caractériser (à côté des souches sensibles) des souches faiblement (Str r) et fortement résistantes (Str R) aux strobilurines (tableau IV). Chez la plupart des souches Str R, le cytochrome b porte le changement G143A qui correspond au mécanisme majeur de résistance spécifique aux Qols observés chez de nombreux champignons phytopathogènes. Dans notre étude, cette mutation a été détectée soit par séquençage direct, soit en utilisant le test CAPS (figure 1). Pour l'ensemble des souches collectées en 2007 et 2008, il apparaît que cette forte résistance concerne surtout *M. majus* (tableau III). Cette tendance également observée pour les antimicrotubules suggère qu'au champ la pression sélective des fongicides est différente pour les deux espèces de *Microdochium*, et/ou que leur biologie est différente. Concernant les souches faiblement résistantes, la synergie au SHAM constitue une preuve directe d'une production accrue de l'AOX (Walker *et al.*, 2009).

Inhibiteurs de la biosynthèse des stérols

Deux types de fongicides inhibiteurs de la biosynthèse des stérols (IBS) sont utilisables sur céréales. Les plus nombreux, qui bloquent la 14 α -déméthylation des stérols incluent des triazoles (ex : bitertanol, metconazole, tébuconazole), un imidazole, le prochloraze et une triazolinethione, le prothioconazole. L'autre classe d'IBS qui affecte la Δ 14-réduction et/ou la Δ 8 \rightarrow Δ 7 isomérisation des stérols est constituée d'« amines » cycliques (ex : fenpropimorphe, fenpropidine, tridémorphe) ou non (ex : spiroxamine).

Au laboratoire, parmi les IDM, certains comme le bitertanol, le prothioconazole ou le prochloraze présentent une fongitoxicité équivalente sur les espèces des genres *Fusarium* et *Microdochium*. Par contre, le metconazole et le tébuconazole, largement utilisés au champ pour lutter contre la fusariose des épis, sont plus actifs sur *Fusarium spp.* que sur *Microdochium spp.* (tableau I). Par ailleurs, ces investigations conduites sur la croissance mycélienne en milieu gélosé indiquent que le prothioconazole est le moins fongitoxique alors qu'en pratique, c'est l'IDM le plus efficace sur l'ensemble des espèces fongiques responsables de la fusariose des épis (Maufras and Maumené, 2008). L'ensemble des souches de *Fusarium* collectées en 2007 et 2008 ne présentent pas de variabilité de sensibilité aux IDMs expérimentés et les valeurs de CI₅₀ sont similaires à celles observées sur des isolats collectés il y a une vingtaine d'années. Ces observations divergent de celles rapportées récemment en Allemagne et en Chine. En effet, dans le premier cas, des auteurs indiquent une légère dérive de sensibilité aux IDMs entre 1987 et 1999 chez *F. graminearum* mais le faible nombre de souches testées et les modalités expérimentales retenues ne permettent pas de l'affirmer avec certitude (Klix *et al.*, 2007). Les travaux conduits sur des populations chinoises de *F. asiaticum* et *F. graminearum* jamais traitées avec des IDMs indiquent la présence de quelques souches fortement résistantes (environ 2%) ; ce phénomène ne résulterait pas de changements qualitatifs de la cible de cette classe d'IBS (Yin *et al.*, 2009). Concernant *Microdochium*, une plus grande variabilité de réponse aux IDMs est observée entre souches comparativement à *Fusarium*. Ce phénomène particulièrement marqué avec le bitertanol fait apparaître une différence entre *M. majus* et *M. nivale* avec respectivement un gradient de variation et deux groupes de sensibilité différents (figure 2). A ce jour, nous ne connaissons pas les mécanismes de cette sensibilité réduite aux IDMs chez *Microdochium*, ni l'impact en pratique de ce phénomène.

Les IBS de la classe des amines sont principalement connus pour leur activité anti-oïdium. Toutefois, deux d'entre eux présentent une forte fongitoxicité *in-vitro* vis-à-vis de *Microdochium*. Il s'agit du tridémorphe et du fenpropimorphe. Cette seconde morpholine apparaît plus active sur *M. majus* que sur *M. nivale*. Par contre, les diverses espèces de *Fusarium* sont peu sensibles à l'ensemble des amines.

Autres fongicides

Le fludioxonil est utilisé en traitement de semences et sa fongitoxicité résulte d'une interaction avec une ou des protéines kinases impliquées dans l'osmorégulation. Ce phénylpyrrole a probablement le même mode d'action que les dicarboximides (ex : iprodione). Le fludioxonil présente une activité équivalente sur toutes les espèces de *Microdochium* et *Fusarium*. Par contre, l'iprodione est beaucoup moins fongitoxique et cette dicarboximide permet de classer les espèces fongiques en trois classes : (1) *M. majus* et *M. nivale* (2) *F. avenaceum* et *F. tricinctum* et (3) *F. graminearum*, *F. culmorum*, *F. langsethiae*, *F. poae*. Chez *M. majus* et *F. graminearum*, quelques souches résistantes au fludioxonil et à l'iprodione ont été détectées. De tels mutants sont directement induits au laboratoire (Leroux *et al.*, 1992) et leur faible fréquence au champ (2% pour les deux espèces fongiques citées précédemment) suggère une fitness réduite qui pourrait résulter d'une sensibilité accrue aux pressions osmotiques.

Le boscalid et plus généralement les carboxamides inhibitrices du complexe mitochondrial II sont peu fongitoxiques pour *Microdochium* et *Fusarium*. Toutefois, comme avec l'iprodione, une plus forte fongitoxicité est observée chez *M. majus*, *M. nivale*, *F. avenaceum* et *F. tricinctum*.

CONCLUSION

Plusieurs espèces appartenant aux genres *Microdochium* et *Fusarium* sont responsables de la fusariose des épis sur blé et orge. L'application de fongicides au moment de la floraison de ces céréales est une pratique courante en France. Trois classes principales de modes d'action sont utilisables. Il s'agit (1) d'antimicrotubules (benzimidazoles et thiophanates), (2) d'inhibiteurs de la biosynthèse des stérols, principalement des IDMs et (3) des inhibiteurs respiratoires Qo1s (strobilurines). Des traitements de semences à base d'IDMs mais aussi de fongicides multisites (ex : manèbe) ou de phénylpyrroles affectent l'osmorégulation (ex : fludioxonil). Des molécules comme le fludioxonil et quelques IDMs dont le prochloraze et le prothioconazole présentent des fongitoxicités équivalentes sur tous les agents de la fusariose. Pour d'autres, l'activité est meilleure soit sur *Fusarium* (ex : metconazole, tébuconazole), soit sur *Microdochium* (ex : benzimidazoles et thiophanates, strobilurines, fenpropimorphe). De plus, il s'avère que les phénomènes de résistance acquise affectent particulièrement *M. majus*. Dans ces conditions, une lutte efficace contre les fusarioses des épis implique l'application au moment de la floraison soit d'une seule molécule efficace contre toutes les souches fongiques actuelles (ex : prothioconazole), soit d'une combinaison de matières actives complémentaires (ex : IDM à triazole, prochloraze, thiophanate méthyl, fenpropimorphe). Il convient de signaler que plusieurs substances actives ayant de fortes potentialités vis-à-vis de *Microdochium* peuvent induire une synthèse accrue de mycotoxines fongiques (Maufras and Maumené, 2008)(Maumené, non publié).

REMERCIEMENTS

Nous remercions Arvalis-Institut du Végétal, le service régional de la protection des végétaux de Nancy, la société Qualtech et l'université de Brest pour la collecte et l'isolement des souches de *Fusarium* et *Microdochium*.

BIBLIOGRAPHIE

Buschhaus, H. & Ellner, F. (2007). Impact of DONstopp (Thiophanate-Methyl 700 WDG) on mycotoxin production *in-vitro* et *in-vivo*. In *Modern Fungicides and Antifungal Compounds V* (Eds H. W. Dehne, H. Deising, U. Gisi, K. Kuck, P. Russell and E. Lyr). Friedrichroda, Germany.

Buschhaus, H. & Ellner, F. (2008). Impact of DONstopp (Thiophanate-Methyl 700 WDG) on mycotoxin production *in-vitro* et *in-vivo*. In *Modern Fungicides and Antifungal Compounds*

(Eds H. W. Dehne, H. Deising, U. Gisi, K. Kuck, P. Russell and E. Lyr). Friedrichroda, Germany.

Champeil, A., Dore, T. & Fourbet, J. F. (2004). Fusarium head blight: epidemiological origin of the effects of cultural practices on head blight attacks and the production of mycotoxins by Fusarium in wheat grains. *Plant Science* 166(6): 1389-1415.

Chen, Y., Wang, J. X., Zhou, M. G., Chen, C. J. & Yuan, S. K. (2007). Vegetative compatibility of Fusarium graminearum isolates and genetic study on their carbendazim-resistance recombination in China. *Phytopathology* 97(12): 1584-1589.

D'Mello, J. P. F., Macdonald, A. M. C., Postel, D., Dijkema, W. T. P., Dujardin, A. & Placinta, C. M. (1998). Pesticide use and mycotoxin production in Fusarium and Aspergillus phytopathogens. *European Journal of Plant Pathology* 104(8): 741-751.

D'Mello, J. P. F., Placinta, C. M. & Macdonald, A. M. C. (1999). Fusarium mycotoxins: a review of global implications for animal health, welfare and productivity. *Animal Feed Science and Technology* 80(3-4): 183-205.

Loos, R., Belhadj, A. & Menez, M. (2004). Occurrence and distribution of *Microdochium nivale* and *Fusarium* species isolated from barley, durum and soft wheat grains in France from 2000 to 2002. *Mycopathologia* 158(3): 351-362.

Kaneko, I. & Ishii, H. (2009). Effect of azoxystrobin on activities of antioxidant enzymes and alternative oxidase in wheat head blight pathogens *Fusarium graminearum* and *Microdochium nivale*. *Journal of Genetic Plant Pathology*.

Klix, M. B., Verreet, J. A. & Beyer, M. (2007). Comparison of the declining triazole sensitivity of Gibberella zeae and increased sensitivity achieved by advances in triazole fungicide development. *Crop Protection* 26(4): 683-690.

Leroux, P. & Gredt, M. (1988). Activité *in-vitro* de fongicides antimitotiques et d'inhibiteurs de la biosynthèse des stéroïdes sur diverses espèces de *Fusarium*. *Annales AFPP - Second International Conference on Plant Diseases II*: 1303-1312.

Leroux, P., Lanen, C. & Fritz, R. (1992). Similarities in the antifungal activities of fenpiclonil, iprodione and tolclofos-methyl against Botrytis cinerea and Fusarium nivale. *Pesticide Science* 36(3): 255-261.

Maufras, J. & Maumené, C. (2008). La floraison sous protection rapprochée. *Perspectives Agricoles* (351): 23-29.

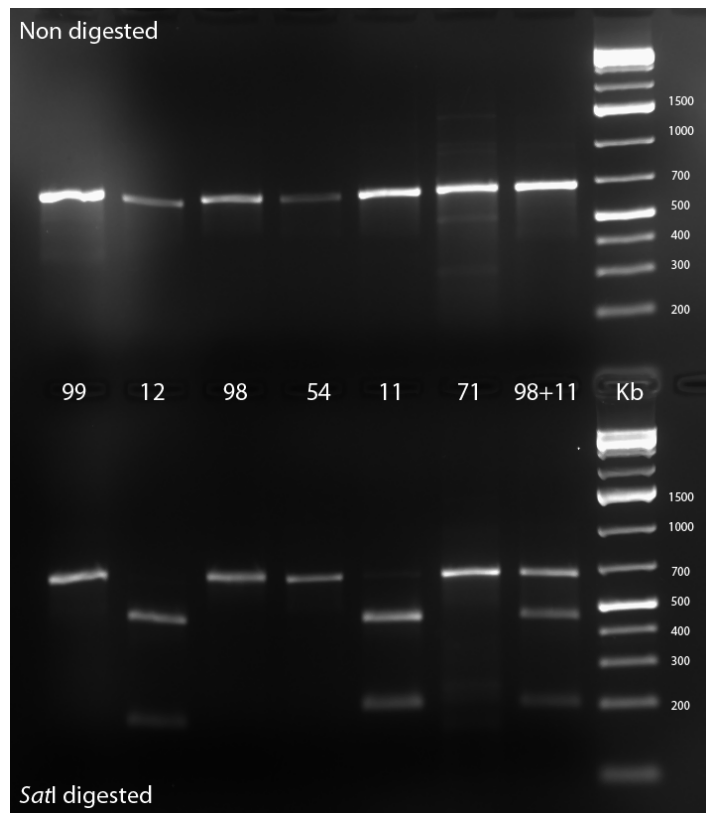
Simpson, D. R., Weston, G. E., Turner, J. A., Jennings, P. & Nicholson, P. (2001). Differential control of head blight pathogens of wheat by fungicides and consequences for mycotoxin contamination of grain. *European Journal of Plant Pathology* 107(4): 421-431.

Walker, A. S., Auclair, C., Gredt, M. & Leroux, P. (2009). First occurrence of resistance to strobilurin fungicides in *Microdochium nivale* and *Microdochium majus* from French naturally infected wheat grains. *Pest Management Science* 65(8): 906-915.

Yin, Y., Liu, X., Li, B. & Ma, Z. (2009). Characterization of Sterol Demethylation Inhibitor-Resistant Isolates of *Fusarium asiaticum* and *F. graminearum* Collected from Wheat in China. *Phytopathology* 99(5): 487-497.

Zhang, Y. J., Yu, J. J., Zhang, Y. N., Zhang, X., Cheng, C. J., Wang, J. X., Hollomon, D. W., Fan, P. S. & Zhou, M. G. (2009). Effect of Carbendazim Resistance on Trichothecene Production and Aggressiveness of Fusarium graminearum. *Molecular Plant-Microbe Interactions* 22(9): 1143-1150.

Figure 1 : Exemple de test CAPS permettant la détection de la substitution G143A sur le cytochrome b d'isolats de *M. majus* et *M. nivale*
 Figure 1: Example of CAPS test results, helping to detect the G143A change within cytochrome b of *M. majus* and *M. nivale*



La première ligne du gel montre le résultat de l'amplification par PCR d'un fragment du gène codant pour le cytochrome b, utilisant des amorces spécifiques de *Microdochium*.

La deuxième ligne montre la digestion de ce fragment de PCR par une enzyme de restriction qui reconnaît spécifiquement le site créé par la mutation liée à la résistance et coupe le fragment en ce point.

99-12 : *M. nivale*, Str S et Str R respectivement
 98-54-11-71 : *M. majus*, Str S, Str r, Str R et Str R respectivement.
 98+11 : mélange des 2 ADN

Figure 2: Variabilité de la sensibilité au bitertanol et au tébuconazole chez des isolates de *Microdochium* collectés au champ en 2007 et 2008
 Figure 2: Variability of sensitivity towards bitertanol and tebuconazole within French populations of *Microdochium* collected in 2007 and 2008

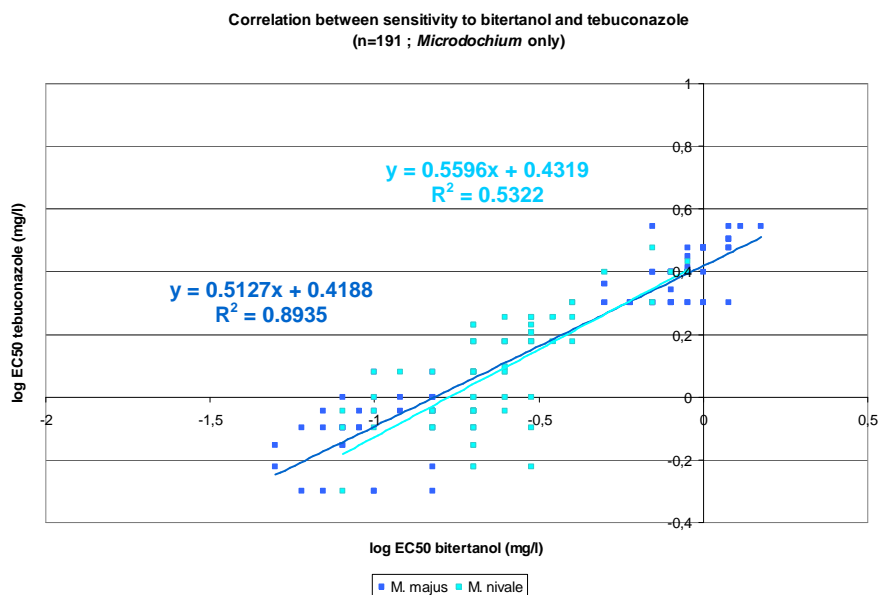


Tableau I: Effet de divers fongicides sur la croissance mycélienne de souches sensibles de *Microdochium spp.* et *Fusarium spp.* (EC₅₀ mg/l)

Table I: Effect of various fungicides on the mycelial growth of wild-type strains of *Microdochium spp.* and *Fusarium spp.* (EC₅₀ mg/l)

Fongicide	<i>Microdochium</i>			<i>Fusarium</i>				
	<i>nivale</i>	<i>majus</i>	<i>graminearum</i>	<i>culmorum</i>	<i>langsethiae</i>	<i>poae</i>	<i>avenaceum</i>	<i>tricinctum</i>
Carbendazime	0,02	0,02	0,25	0,3	0,3	0,2	0,8	0,8
Thiabendazole	0,05	0,03	0,25	0,3	0,3	0,2	1,2	1,2
Bitertanol	0,10	0,10	0,40	0,20	0,15	0,10	0,35	0,45
Metconazole	0,50	0,50	0,02	0,01	0,01	0,01	0,03	0,02
Tébuconazole	0,80	0,80	0,10	0,05	0,08	0,10	0,15	0,10?
Prochloraze	0,02	0,02	0,015	0,015	0,002	0,005	0,015	0,005
Prothioconazole	0,50	0,30	0,50	0,40	0,40	0,45	0,75	0,45
Fenpropidine	2,5	4,0	>5	>5	>5	>5	>5	>5
Fenpropimorphe	0,04	0,015	>5	>5	>5	>5	>5	>5
Spiroxamine	>5	>5	>5	>5	>5	>5	>5	>5
Tridémorphe	<0,02	<0,02	>5	>5	>5	>5	>5	>5
Azoxystrobine	0,005	0,005	>5	>5	0,3->5	>5	1->5	>5
Dimoxystrobine	0,004	0,004	1,5->2,5	>2,5	0,03->2,5	>2,5	0,2->2,5	0,05->2,5
Fludioxonil	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02
Iprodione	3,0	3,0	>10	>10	>10	>10	6,0	6,0
Boscalid	1,5	3,5	>10	>10	>10	>10	1,5	1,5

Tableau II : Résistance aux fongicides anti-microtubules chez des populations françaises de *Microdochium spp.* et *F. avenaceum*

Table II: Resistance to antimicrotubules fungicides in French populations of *Microdochium spp.* and *F. avenaceum*

Fongicides	CI ₅₀ mycélium en mg/l						
	<i>Microdochium</i>			<i>F. graminearum</i> et <i>F. culmorum</i>		<i>F. avenaceum</i>	
	Ben S	Ben R1	Ben R2	Ben S	Ben R	Ben S	Ben R
Carbendazime	0.02	>10	0.2	0.3	1.0	0.8	3.0
Thiabendazole	0.04	>5.0	1.0	0.3	1.0	1.2	>10
Diéthofencarbe	>10	<1	>10	>10	>10	>10	>10
% phénotypes dans les populations 2007-2008	28	70	2	97	3	84	16

NB : absence de résistance aux benzimidazoles chez *F. langsethiae*, *F. poae* et *F. tricinctum*.

Tableau III : Distribution des souches fortement résistantes aux benzimidazoles (Ben R1) et aux strobilurines (Str R) dans les populations françaises et anglaises de *Microdochium spp.*
 Table III: Distribution of strains highly resistant to benzimidazoles (Ben R1) and strobilurins (Str R) in French and English populations of *Microdochium spp.*

Année	Espèce	% Ben R1	% Str R
2007	<i>M. nivale</i>	20	18
	<i>M. majus</i>	90	91
2008	<i>M. nivale</i>	29	53
	<i>M. majus</i>	94	97

Tableau IV : Résistance aux fongicides Qols chez *Microdochium spp.*
 Table IV: Resistance to QoI fungicides in *Microdochium spp.*

Fongicides	CI ₅₀ mycélium en mg/l		
	Str S	Str r	Str R
Azoxystrobine	0.005	0.12	2.9
Trifloxystrobine	0.004	0.03	2.6
Krésoxim-méthyl	<0.003	0.04	>5.0
Picoxystrobine	0.004	0.05	4.2
Dimoxystrobine	0.004	NT	>2.5
Famoxadone	0.21	0.23	>10