



**HAL**  
open science

## **Caractérisation du mécanisme MDR (Multidrug resistance) chez les souches de *Mycosphaerella graminicola* fortement résistantes aux fongicides IDM.**

Selim Omrane, Sabine, Helma Fillinger-David, Anne Sophie A. S. Walker

### ► **To cite this version:**

Selim Omrane, Sabine, Helma Fillinger-David, Anne Sophie A. S. Walker. Caractérisation du mécanisme MDR (Multidrug resistance) chez les souches de *Mycosphaerella graminicola* fortement résistantes aux fongicides IDM.. AFPP - 10ème Conférence Internationale sur les Maladies des Plantes, Dec 2012, Tours, France. p.110. <hal-01019116>

**HAL Id: hal-01019116**

**<https://hal.science/hal-01019116v1>**

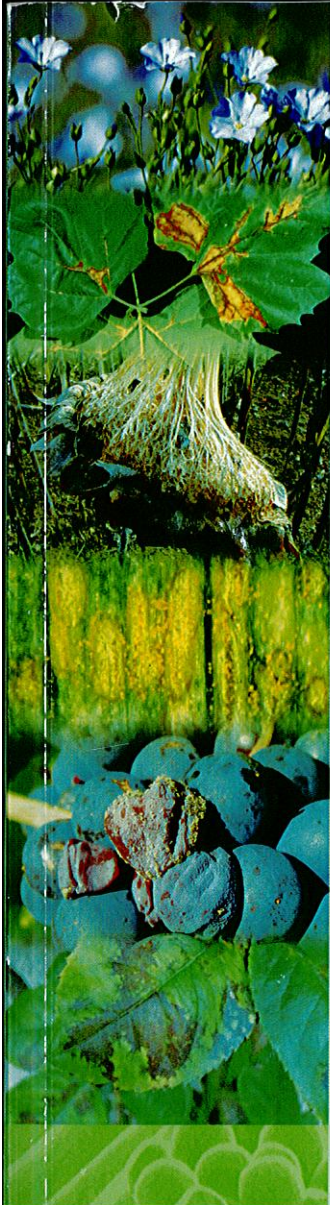
Submitted on 3 Jun 2020

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

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



HAL Authorization



# 10<sup>e</sup> Conférence Internationale sur les Maladies des Plantes

10<sup>th</sup> International  
Conference  
on Plant Diseases

**3, 4 & 5 décembre 2012**  
*December 3<sup>d</sup>, 4<sup>h</sup> & 5<sup>h</sup> 2012*

**Centre international  
de Congrès Vinci  
Tours - France**

AFPP – 10<sup>e</sup> CONFÉRENCE INTERNATIONALE SUR LES MALADIES DES PLANTES  
TOURS – 3, 4 et 5 DÉCEMBRE 2012

EVOLUTION DES POPULATIONS DE *LEPTOSPHAERIA MACULANS* SUR LES SITES  
D'ÉVALUATION VARIÉTALE DU CTPS

X. PINOCHET<sup>1</sup>, M.-H. BALESSENT<sup>2</sup>, S. BICHOT<sup>1</sup>, L. COUDARD<sup>2</sup>, T. ROUXEL<sup>2</sup>, M. LEFLON<sup>2</sup>

<sup>1</sup>CETIOM, Avenue Lucien Brétignières, F-78850 Thiverval-Grignon, pinochet@cetiom.fr

<sup>2</sup>UR-BIOGER Avenue Lucien Brétignières, F-78850 Thiverval-Grignon,  
mhb@versailles.inra.fr

**RÉSUMÉ**

Dix ans après une première caractérisation, les populations de *Leptosphaeriamoaculans* présentes sur huit sites expérimentaux, utilisés pour les tests de résistance des variétés de colza à *L. maculans*, ont été réévaluées sur la base d'un échantillonnage de 80 isolats par site issus de plantes pièges ne portant pas de résistance spécifique. Les allèles de virulence des isolats ont été déterminés pour huit loci d'avirulence, en utilisant des tests cotylédonaire ou des outils moléculaires. Les résultats obtenus sont confrontés à ceux obtenus 10 ans plus tôt et sont mis en relation avec l'évolution sur la même période des surfaces de colza cultivées avec chaque gène de résistance. Une évolution des populations est détectée et le contournement à terme de *Rlm7* est probable.

**Mots-clés** : nécrose du collet, colza, virulence, évaluation variétale, *Leptosphaeriamoaculans*.

**SUMMARY**

**EVOLUTION OF *L. MACULANS* POPULATIONS ON VARIETY TESTING SITES USED FOR REGISTRATION**

Ten years after a first characterization, 8 experimental locations used to evaluate winter oilseed rape varieties for resistance to *Leptosphaeriamoaculans* have been characterized again, based on a sampling of 80 *L. maculans* isolates recovered from a non-selective cultivar. Virulence profiles were determined using molecular markers and cotyledon tests. Results were compared to those obtained 10 years before on the same locations and analyzed with respects to the evolution of the use of the corresponding resistance genes over the same time scale. A population evolution is detected and a breakdown of the resistance *Rlm7* is expected in a near future.

AFPP – 10<sup>e</sup> CONFÉRENCE INTERNATIONALE SUR LES MALADIES DES PLANTES  
TOURS – 3, 4 et 5 DÉCEMBRE 2012

ETAT DES LIEUX DE LA RESISTANCE AUX FONGICIDES CHEZ *MICRODOCHIUM*  
*MAJUS ET NIVALE* ET CONSEQUENCES PRATIQUES

A.-S. WALKER <sup>(1)</sup>, J.-Y. MAUFRAS <sup>(2)</sup>, C. MAUMENE <sup>(3)</sup>

<sup>(1)</sup>INRA, UMR BIOGER-CPP, Avenue Lucien Bretignières, F78850 Thiverval-Grignon

<sup>(2)</sup>Arvalis – Institut du Végétal, F31450 Baziège,

<sup>(3)</sup>Arvalis – Institut du Végétal, F91720 Boigneville

[walker@versailles.inra.fr](mailto:walker@versailles.inra.fr),  
[jy.maufras@arvalisinstitutduvegetal.fr](mailto:jy.maufras@arvalisinstitutduvegetal.fr),  
[c.maumene@arvalisinstitutduvegetal.fr](mailto:c.maumene@arvalisinstitutduvegetal.fr)

**RÉSUMÉ**

*Microdochium majus* et *M. nivale* font partie du complexe des maladies des épis des céréales et peuvent attaquer les gaines, les feuilles et les épis du blé tendre et du blé dur. Si la résistance de *Microdochium spp.* aux benzimidazoles est connue et généralisée depuis longtemps, la résistance aux strobilurines est décrite depuis ces dernières années seulement. Elle semble déjà très bien implantée en France. Ce travail présente la caractérisation de la résistance à ces agents pathogènes et leur répartition spatiale. Des résultats d'essais fongicides de la période 2001-2011 sont examinés dans une perspective historique pour estimer l'impact de ces résistances sur l'efficacité et le rendement. Les résultats des essais sur le terrain permettent aussi de faire la relation entre l'efficacité au champ obtenue avec un fongicide et la qualité sanitaire finale de la récolte, en particulier la teneur en DON.

Mots-clés : *Microdochium*, fongicides, résistance, teneur en DON.

**SUMMARY**

STATE OF *MICRODOCHIUM MAJUS* AND *M. NIVALE* RESISTANCE TO FUNGICIDES AND PRACTICAL CONSEQUENCES

*Microdochium majus* and *M. nivale* are part of the *Fusarium* complex and can attack the sheaths, the leaves and the ears of soft and durum wheat. If the resistance of *Microdochium spp.* to benzimidazoles is known and generalized since a long time, resistance to strobilurins is only described since the last few years and seems already well established in France. This work presents the characterization of the resistance in France of these pathogens and their spatial distribution. Fungicide trial results from the period 2001-2011 are examined from an historical perspective to estimate the impact of these resistances on the efficacy and yield. Results of field trials allow also to make the relationship between field efficacy obtained due to fungicide the final sanitary quality of the harvest, in particular on DON content.

Key words: *Microdochium*, fungicide, resistance, DON content.

AFFP- 10<sup>e</sup> CONFÉRENCE INTERNATIONALE SUR LES MALADIES DES PLANTES  
TOURS- 3, 4 et 5 DÉCEMBRE 2012

**CARACTERISATION DU MECANISME MDR (MULTIDRUG RESISTANCE) CHEZ LES  
SOUCHES DE *MYCOSPHAERELLA GRAMINICOLA* FORTEMENT RESISTANTES AUX  
FONGICIDES IDM**

S. OMRANE, S. FILLINGER et A.-S. WALKER\*

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

**RESUME**

Des souches de *M. graminicola* très résistantes aux IDMs sont détectées depuis 2008 en France. Elles possèdent un mécanisme de résistance original, la MDR (MultiDrug Resistance) lié à un efflux accru des fongicides hors de la cellule du champignon. Dans cet article, nous démontrons ce mécanisme d'efflux par suivi de l'accumulation de prochloraze (IDM) radiomarqué chez les différents phénotypes de *M. graminicola*. Nous concluons que la MDR est monogénique et qu'au moins un transporteur commun aux deux isolats testés est surexprimé, causant l'efflux accru. Enfin, nous présentons les derniers travaux de transcriptomique et de séquençage qui permettront à terme d'identifier le ou les transporteurs membranaires surexprimés responsables de l'efflux et de localiser dans le génome du champignon la mutation déterminant la surexpression de ces transporteurs.

Mots-clés : *Mycosphaerella graminicola*, septoriose, multidrug resistance, inhibiteurs de la déméthylation des stérols, efflux.

**SUMMARY:**

**CARACTERISATION OF THE MDR (MULTIDRUG RESISTANCE) MECANISM IN STRAINS OF *MYCOSPHAERELLA GRAMINICOLA* HIGHLY RESISTANT TO DMI FUGNCIDES**

*M. graminicola* strains highly resistant to DMIs are detected in French populations since 2008. They harbour an original resistance mechanism, called MDR (MultiDrug Resistance), characterized by an increased efflux of fungicides outside the fungal cell. In this paper, we demonstrate this efflux mechanism by following the accumulation of C<sup>14</sup> radiolabelled prochloraz in several *M. graminicola* phenotypes. We revealed through crossing MDR strains to sensitive ones that the MDR phenotype has a monogenic inheritance and that at least one transporter gene is overexpressed in both isolates tested, causing the increased efflux. At last, we present the last transcriptomics and sequencing projects that will allow identifying the overexpressed transporters responsible for the efflux and its location in the fungal genome the mutations determining the transporters overexpression.

Keywords: *Mycosphaerella graminicola*, septoria leaf blotch, multidrug resistance, sterol demethylation inhibitors, efflux.

AFPP –10° CONFÉRENCE INTERNATIONALE SUR LES MALADIES DES PLANTES  
TOURS – 3, 4 et 5 DÉCEMBRE 2012

RESULTATS DU RESEAU D'ESSAI DE SUIVI DES RESISTANCES DU PIETIN VERSE  
AUX FONGICIDES (AFPP) ET DYNAMIQUE DES EPIDEMIES

T. DURAND<sup>1</sup>, A. MICOUD<sup>2</sup>, F. REMUSON<sup>2</sup>, A.-S. WALKER<sup>3</sup> ET M. DELOS<sup>4</sup>

<sup>1</sup> SRAI-DRAAF "Bourgogne"- 4 bis rue Hoche- BP 87865 21078 DIJON

<sup>2</sup> Anses Lyon - Unité Résistance aux produits phytosanitaires- 31 avenue Tony Garnier 69364 LYON  
Cedex 07

<sup>3</sup> INRA, UMR 1290 BIOGER - CPP Bât 13 Avenue Lucien Brétignières BP01-78850 Thiverval-Grignon

<sup>4</sup> SRAI-DRAAF-"Midi-Pyrénées" – Bât. E – Bd Armand Duportal- 31074 TOULOUSE

[marc.delos@agriculture.gouv.fr](mailto:marc.delos@agriculture.gouv.fr)

## RESUME

Un réseau de surveillance des pertes d'efficacité des fongicides sur les principales maladies des céréales à pailles a été mis en place en France sous l'égide de l'Association Française de Protection des Plantes à partir de 1997. Ce réseau d'essais de comparaison de spécialités fongicides mono substance active mesure l'efficacité de fongicides représentatifs des modes d'action disponibles sur maladies des céréales. Une série d'essais permet de suivre le piétin verse du blé due à *Oculimacula yallundae* (type rapide) et *Oculimacula acuformis* (type lent). Les efficacités sont mesurées au champ et une caractérisation de la sensibilité des populations des champignons est réalisée au laboratoire lorsqu'elle est possible. Le réseau AFPP de suivi de l'érosion a permis de constater, entre autres, la perte d'efficacité de la plupart des IDM mais pas du prothioconazole. Une description des épidémies de piétin verse est faite pour les dernières années d'expérimentation. Les pertes d'efficacité sont expliquées principalement par la date de traitement.

**Mots-clés :** *Oculimacula yallundae*, *Oculimacula acuformis*, résistance aux fongicides, imidazoles, anilinoypyrimidines.

## SUMMARY

AFPP – 10<sup>e</sup> CONFÉRENCE INTERNATIONALE SUR LES MALADIES DES PLANTES  
TOURS – 3, 4 et 5 DÉCEMBRE 2012

DU PIÉGEAGE À LA QUANTIFICATION DE SPORES DE *FUSARIUM GRAMINEARUM* :  
ÉTUDE PRÉLIMINAIRE

F. BRYONE (1)\* et H. BATINA (2)\*, V. LAVAL (2), A. LECLÈRE (3),  
J. TOUSSAINT-FERREYROLLE (1)

(1) ARVALIS Institut du Végétal – Laboratoire de Pathologie végétale

(2) INRA BIOGER-CPP – Equipe Bioger-Syst

Domaine AgroParisTech, Avenue Lucien Brétignières, Bâtiment INRA Bioger-CPP, 78850  
Thiverval-Grignon, France

Email : f.bryone@arvalisinstitutduvegetal.fr

(3) ARVALIS Institut du Végétal, Station Expérimentale, 91720 Boigneville, France

\* Les deux premiers auteurs ont contribué de manière équivalente à cette étude

**RÉSUMÉ**

*Fusarium graminearum* est responsable de la fusariose de l'épi sur céréales à paille. Déterminer les périodes d'émission de spores permettrait d'affiner les outils de prévision du risque de la maladie. Pour cela, le piégeage au champ de l'inoculum aérien couplé à la quantification de l'ADN des spores par PCR en temps réel représente une voie intéressante. Il faut cependant valider la faisabilité d'une telle méthode. Cet article présente une étude préliminaire de la méthodologie. Le piégeage au champ a permis de ne collecter que des ascospores de *F. graminearum* mais à ce stade, aucune corrélation n'a été trouvée entre le dénombrement visuel et les quantités d'ADN estimées par PCR en temps réel. Les spores capturées germent sur les bandes de piégeage sauf si elles sont conservées à -20 °C. L'introduction d'un biais dans la quantification, dû à la germination des spores, n'a pas pu être clairement mise en évidence. Enfin, un début d'équivalence entre le nombre de spores et la quantité d'ADN mycélien a été obtenu mais des améliorations techniques doivent être apportées pour le dosage des petites quantités.

**Mots-clés** : *Fusarium graminearum*, inoculum aérien, piège à spores, quantification, PCR en temps réel.

**SUMMARY**

*Fusarium graminearum* causes Fusarium head blight on cereals. Identifying spore release periods could enable to improve disease risk prediction systems. To identify these periods, field trapping of airborne inoculum was combined with spore DNA quantification by real-time PCR. Nevertheless, the feasibility of such a method has to be evaluated. This article presents a preliminary methodological study. Trapping in field conditions allowed to catch only *F. graminearum* ascospores but no correlation has been found yet between visual counting of spores and DNA amount assessment by real-time PCR. Spores can germinate on trapping tapes except when stored at -20 °C. Bias in quantification, caused by spore germination, has not been clearly shown. Finally, a first equivalence between spore numbers and mycelium DNA amounts was obtained; technical improvements are still required for quantity small amounts, however.

**Key words**: *Fusarium graminearum*, airborne inoculum, spore trap, quantification, real-time PCR.