

**AFPP- 9<sup>ème</sup> CONFÉRENCE INTERNATIONALE SUR LES MALADIES DES PLANTES  
TOURS-8 ET 9 DÉCEMBRE 2009**

**LA RESISTANCE AUX FONGICIDES DE TYPE MDR (MULTIDRUG RESISTANCE) CHEZ  
LES CHAMPIGNONS PHYTOPATHOGENES : MYTHE OU REALITE ?**

P. LEROUX et A.-S. WALKER\*

INRA UMR BIOGER-CPP, Avenue Lucien Bretignières, F78850 Thiverval-Grignon

\* walker@versailles.inra.fr

**RESUME**

La plupart des cas de résistance des champignons phytopathogènes aux fongicides résulte d'une modification qualitative de leurs cibles. Ce phénomène concerne généralement une classe de substance active de même mode d'action (ex : phénylamides, benzimidazoles, Qols). A côté de ces résistances « spécifiques », il existe également des résistances multiples de type MDR (**M**ulti**D**rug **R**esistance) qui résultent de la surproduction de transporteurs membranaires qui excrètent des molécules toxiques variées. Ce phénomène bien connu pour les antifongiques médicaux est moins fréquent chez les champignons phytopathogènes. Toutefois, il a été identifié en France chez la pourriture grise de la vigne ainsi que chez deux maladies des céréales : la septoriose et le piétin-verse.

Mots-clés : résistance, MDR, fongicides, champignon phytopathogène

**SUMMARY**

**MULTIDRUG RESISTANCE TO FUNGICIDES IN PHYTOPATHOGENIC FUNGI**

In phytopathogenic fungi, resistance to fungicides is often determined by a qualitative modification of their target sites. This specific resistance generally concerns a single class of active ingredients with a similar mode of action (eg: phenylamides, benzimidazoles, Qols). Another less frequent phenomenon is referred to as multidrug resistance (MDR) and concerns a wide range of toxicants. It is determined by the overexpression of membrane-spanning efflux pumps. The characteristics of MDR field strains and their distribution in France will be presented for *Botrytis cinerea*, the causal agent of grey mold on grapevine and two pathogens of wheat: *Oculimacula yallundae* and *Mycosphaerella graminicola*.

Keywords: resistance, MDR, fungicides, phytopathogenic fungus

## 1-INTRODUCTION

La lutte chimique contre les champignons phytopathogènes est pratiquée depuis deux siècles et elle s'est particulièrement développée après la seconde guerre mondiale avec l'avènement des fongicides organiques de synthèse. La première génération constituée de molécules multisites (ex : phtalimides, dithiocarbamates) a pris le relai de préparations minérales à base de cuivre et de soufre. A la fin des années 1960, de nouvelles matières actives performantes et systémiques sont apparues (ex : benzimidazoles, carboxamides). Cette nouvelle génération de fongicides agricoles, comme d'ailleurs tous ceux développés depuis (ex : phénylamides, IDMs, Qols) sont des molécules unisites qui ont la propriété de se lier à une protéine impliquée dans un processus métabolique majeur (ex : respiration, division cellulaire, biosynthèse des stérols). Avec un tel mode d'action, les champignons traités par un fongicide (ou une classe de fongicides) va pouvoir d'adapter par l'intermédiaire d'une ou plusieurs mutations du gène codant pour sa protéine cible. Ce phénomène entraînant le changement d'un (ex : G143A sur le cytochrome b, la cible des Qols) ou plusieurs acides aminés (ex : chez CYP51, la cible des IDMs) induit une réduction d'affinité du fongicide pour sa cible. Dans ces conditions, il y aura souvent résistance croisée entre toutes les molécules ayant le même mode d'action biochimique.

Parmi les autres mécanismes de résistance, il y a d'une part la détoxification accrue des fongicides, et d'autre part, une pénétration intracellulaire réduite. Le premier mécanisme, peu fréquent chez cette classe de pesticides, se rencontre par contre fréquemment pour les herbicides et surtout les insecticides. Parmi ces derniers, via notamment des monooxygénases à cytochrome P450, il peut y avoir résistance croisée entre des matières actives de mode d'action différents (ex : carpocapse du pommier). Le second mécanisme, qui est corrélé à une moindre concentration intracellulaire des fongicides, résulte notamment de la production accrue de transporteurs membranaires capables d'excréter une grande variété de molécules toxiques. Cette résistance simultanée à plusieurs inhibiteurs est généralement dénommée MDR (MultiDrug Resistance) et dans le cas de la levure, elle est qualifiée de PDR (Pleiotropic Drug Resistance). Ce phénomène a été décrit pour la première fois pour des antitumoraux chez les mammifères. Il est également observé dans le domaine médical, en conditions pratiques d'emploi pour des antibactériens et antifongiques. Deux types de transporteurs membranaires peuvent être impliqués : il s'agit de transporteurs à ABC (ATP-Binding Cassette) qui utilisent l'énergie libérée lors de l'hydrolyse de l'ATP, et des transporteurs MFS (Major Facilitator Superfamily) fonctionnant grâce au gradient électrochimique existant au niveau de la membrane cytoplasmique (de Waard, Andrade et al. 2006; Gulshan and Moye-Rowley 2007). Chez la levure *Saccharomyces cerevisiae* et *Candida albicans*, un pathogène fongique humain, la production des transporteurs est sous la dépendance de facteurs de transcription qui se lient à la partie promotrice des gènes codant ces transporteurs. Chez les souches résistantes, la surproduction résulte soit de mutations dans le facteur de transcription, soit de modifications des promoteurs des gènes codant les transporteurs. Par ailleurs, il a été montré récemment que les molécules fongitoxiques concernées par la MDR étaient capables de se fixer sur les facteurs de transcription (Thakur, Arthanari et al. 2008).

Sur un plan pratique, dans le domaine médical, la résistance MDR s'observe chez différents pathogènes fongiques appartenant aux genres *Candida* et *Aspergillus* et concerne particulièrement des triazoles de type IDMs (Gulshan and Moye-Rowley 2007). Dans le domaine agricole, de nombreux travaux menés par M. De Waard de l'université de Wageningen aux Pays Bas sur *Botrytis cinerea* et *Mycosphaerella graminicola*, chez des mutants de laboratoire ont montré que cette résistance MDR pouvait concerner les IDM mais aussi d'autres classes de fongicides (ex : phénylpyrroles, Qols)(de Waard, Andrade et al. 2006). Quant aux investigations au champ, elles n'ont pu démontrer l'existence de ce phénomène que dans un nombre limité de cas. Trois d'entre eux chez *B. cinerea*, *M. graminicola* et *Oculimacula yallundae* ont été détectés en France ; un dernier cas concernant

*Penicillium italicum* et impliquant un transporteur à ABC a été signalé au Japon. L'objectif de cet article est de faire le point sur la résistance de type MDR rencontrée en France chez la pourriture grise de la vigne, le piétin-verse et la septoriose du blé.

## 2-MATERIEL ET METHODE

### 2-1 Souches fongiques

Les souches d'*O. yallundae* isolées à partir de la base de tiges de blé et présentant des symptômes caractéristiques du piétin-verse sont issus d'essais conduits en France. Elles sont maintenues sur un milieu à base de farine de maïs, à 15°C ; la sporulation est induite sous-éclairage en lumière noire.

Les souches de *B. cinerea* ont été collectées principalement dans le vignoble champenois au moment des vendanges, à partir de baies atteintes de pourriture grise. Elles sont maintenues sur un milieu à base de malt et d'extrait de levure, à 19°C ; la sporulation est induite sous éclairage en lumière blanche.

Les souches de *M. graminicola* isolées à partir de feuilles de blé portant des pycnides sont issues d'essais conduits en France. Elles sont maintenues sur un milieu à base de malt et d'extrait de levure, à 19°C et à l'obscurité.

Pour *P. yallundae* et *M. graminicola*, la nomenclature et les caractéristiques des divers phénotypes TriR résistants aux IDMs sont précisés dans la littérature (Leroux, Gredt et al. 2006; Leroux, Albertini et al. 2007).

### 2-2 Essais fongicides

L'effet des fongicides sur la croissance mycélienne de *B. cinerea* et *O. yallundae* est étudiée après dépôt d'implants mycéliens calibrés sur un milieu de culture gélosé à base de glucose, de sels minéraux et d'extrait de levure et comportant diverses concentrations des molécules testées. Des mesures journalières (*B. cinerea*) ou hebdomadaires (*O. yallundae*) des diamètres des colonies mycéliennes permettent d'estimer la vitesse de croissance pour chaque condition expérimentale puis la concentration inhibant de 50% la vitesse de croissance mycélienne (CI<sub>50</sub> « mycélium »).

L'effet des fongicides sur l'élongation des filaments des trois champignons est étudié après dépôt d'une suspension de spores à la surface d'une eau gélosée (*O. yallundae*) ou d'un milieu gélosé à base de sucre et de phosphates (*B. cinerea* et *M. graminicola*). Après incubation de 1 ou 2 jours (19°C, obscurité), la longueur moyenne des tubes germinatifs est évaluée sous microscope à l'aide d'un micromètre oculaire. Pour chaque matière active, les essais conduits sur une gamme de concentration permettent d'estimer la concentration inhibant de 50% l'élongation des tubes germinatifs (CI<sub>50</sub> « tubes germinatifs »).

Pour *B. cinerea* et *M. graminicola*, sur la base des essais sur spores, l'utilisation d'un milieu de culture à base de malt et d'extrait de levure et une incubation de 5 à 7 jours permettent d'évaluer les concentrations minimales inhibitrices (CMI) du développement fongique.

Pour tous les essais *in-vivo*, les niveaux de résistance sont obtenus en calculant les rapports CI<sub>50</sub> ou CMI « souches résistantes » / CI<sub>50</sub> ou CMI « souches sensibles ».

### 2-3 Analyses de populations fongiques

Au niveau populationnel, des prélèvements portant sur 15 à 30 organes végétaux malades par parcelle sont analysés après isolement (*O. yallundae*) ou non (*B. cinerea*, *M. graminicola*) des souches. Celles-ci sont caractérisées par des tests sur spores en utilisant des doses discriminantes de fongicides de modes d'action différents.

### 3-RESULTATS ET DISCUSSION

#### 3-1 Pourriture grise de la vigne

Au moment de l'introduction des anilopyrimidines (ex : pyriméthanil, cyprodinil) et des phénylpyrroles (ex : fludioxonil) au début des années 1990s, nous avons constaté la présence de souches de *B. cinerea* faiblement résistantes à ces deux anti-*Botrytis* (Leroux, Chapeland et al. 1999). Ce phénomène concerne en fait la plupart des fongicides utilisés contre la pourriture grise, ainsi que des inhibiteurs stéroliques comme les IDM ou le tolnaftate (cette molécule à usage médical affecte la squalène-époxydase). En outre, cette multi-résistance exprimée lors d'essais conduits sur spores l'est peu ou pas du niveau du mycélium (tableau I)(Leroux, Chapeland et al. 1999). Dans une première phase, nous avons, en fonction de leurs spectres de résistance croisée, identifié deux phénotypes MDR1 (peu sensible au fluazinam et au fludioxonil) et MDR2 (peu sensible au fenhexamid, aux DMIs et au boscalid). Pour chacun d'entre eux, la résistance est déterminée par un gène chromosomique et les souches MDR3 récemment détectées au vignoble et présentant le spectre de résistance croisée le plus étendu sont des double mutants (tableau I).

Les recherches conduites en collaboration avec l'équipe de M. Hahn de l'université de Kaiserslautern en Allemagne ont permis de caractériser le mécanisme moléculaire de cette multirésistance de type MDR. Les souches MDR1 surexpriment l'ABC transporteur *BcatrB*, identifié antérieurement chez des mutants sélectionnés sur du fludioxonil (de Waard, Andrade et al. 2006; Kretschmer, Walker et al. 2008; Kretschmer, Leroch et al. 2009). En fait, ce phénomène résulterait de mutations dans un gène codant un facteur de transcription qui se lie au promoteur du gène *BcatrB*. Un mécanisme similaire est observé en milieu médical chez des souches de *C. albicans* résistantes aux IDMs (Gulshan and Moye-Rowley 2007). Concernant les souches MDR2, un transporteur à MFS est surexprimé suite à des changements dans le promoteur du gène codant ce transporteur. Les deux mécanismes décrits précédemment sont impliqués pour les isolats multirésistants MDR3 (Kretschmer, Leroch et al. 2009).

Cette multirésistance de type MDR est décelée dans de nombreux vignobles européens mais elle est très fortement implantée en Champagne depuis quelques années (Leroux, Gredt et al. 2006). Ainsi, globalement, elle concerne la moitié des populations champenoises de *B. cinerea* avec actuellement une répartition à peu près équivalente des trois phénotypes (figure 1). Ces souches MDR sont sélectionnées par les programmes anti-*Botrytis* et il semble qu'elles présentent une fitness un peu moindre que les souches non MDR. L'impact pratique sur l'efficacité de la lutte chimique dans le vignoble champenois apparaît réduit. Il convient enfin de noter que la plupart de ces souches MDR ne présentent pas de résistance spécifique vis-à-vis des anti-*Botrytis* récents (ex : anilopyrimidines, fenhexamid, carboxamides).

#### 3-2 Piétin-verse des céréales

La lutte chimique contre le piétin-verse a été initiée dans les années 1970 avec l'utilisation des benzimidazoles et des thiophanates. Puis la généralisation de la résistance vis-à-vis de ces antimicrotubules a entraîné leur remplacement par des IDM du groupe des triazoles (ex : époxyconazole, flusilazole) ou des imidazoles (ex : prochloraze). Des résistances ont également touché ces inhibiteurs stéroliques et le cyprodinil (une anilopyrimidine affectant la biosynthèse d'acides aminés soufrés) a pu remplacer les IDMs dans les régions particulièrement concernées. Au début des années 2000, trois nouveaux fongicides anti piétin-verse ont vu le jour. Il s'agit de la métrafénone, du boscalid et du prothioconazole. Ces deux dernières molécules, du fait de leur forte fongitotoxicité *in vitro* ont retenu notre attention. Le boscalid est une carboxamide inhibitrice de la succinate deshydrogénase (SDHI) alors que le prothioconazole est un IDM proche des triazoles mais comportant un groupement triazolínethione. A noter que chez *Oculimacula sp.*, cet inhibiteur stérolique ne présente pas de résistance croisée avec les triazoles ou le prochloraze (Leroux, Gredt et al. 2006).

A partir du début des années 2000, la surveillance des populations françaises d'*Oculimacula* sp. nous a permis de détecter des souches présentant une résistance simultanée au boscalid et au prothioconazole. Ce phénomène est plus prononcé dans le cas d'essais conduits sur spores que sur mycélium et il concerne également d'autres inhibiteurs stéroliques comme le tolnaftate, le fenhexamid et probablement le prochloraze ainsi que le cyprodinil. Pour l'instant, cette résistance de type MDR n'a pas été observée chez *O. aciformis* et au vu de l'effet de certains triazoles (ex : triadiménon), elle s'est probablement développée chez *O. yallundae* au sein du type TriR1 (tableau II) (Leroux, Gredt et al. 2006). En fait, ces souches MDR d'*O. yallundae* présentent un spectre de résistance proche des souches MDR2 de *B. cinerea* qui, comme précisé plus haut, impliquent la surexpression d'un transporteur à MFS.

Ces souches MDR d'*O. yallundae* ont été détectées dans plusieurs régions françaises et dans la plupart des cas, à des fréquences faibles. Les quelques échantillons présentant plus de 25% de MDR venaient de sites d'essais pluriannuels traités au boscalid (nous ne disposons pas de telles modalités avec le prothioconazole). A noter que globalement, la situation est assez similaire pour la résistance spécifique aux anilinopyrimidines (AniR1) et, les quelques échantillons présentant plus de 25% de souches AniR1 étaient issues de parcelles traitées au cyprodinil (tableau III) (Leroux, Gredt et al. 2006).

### 3-3 Septoriose du blé

Pour la septoriose du blé, les investigations conduites en laboratoire montrent qu'au moins 5 ABC transporteurs (MgAtr1-MgAtr5) pourraient moduler la toxicité des IDMs. Toutefois, pour des isolats collectés au champ, aucune corrélation n'a été observée entre les réponses biologiques (niveaux de résistance), l'accumulation intracellulaire de fongicides et l'expression des ABC transporteurs (Stergiopoulos, van Nistelrooy et al. 2003; Cools, Fraaije et al. 2005). Très récemment, l'implication d'un transporteur à MFS (MgMFS1) susceptible de moduler l'activité des IDMs, des strobilurines et de molécules naturelles a également été démontrée en laboratoire. Les études réalisées sur des souches collectées au champ montrent que la plupart présentant une résistance spécifique aux strobilurines (avec changement G143A du cytochrome b) ont un niveau d'expression du MgMFS1 supérieur à celui des souches sensibles. Il convient de noter qu'aucune différence n'existe entre des souches fortement et très fortement résistantes aux strobilurines et que par ailleurs, certaines souches très fortement résistantes ont un profil d'expression identique à des souches sensibles (Roohparvar, De Waard et al. 2007). Au vu de l'ensemble de ces résultats, il n'y a aucune démonstration formelle indiquant que chez *M. graminicola* la résistance aux IDMs et/ou aux Qols serait polygénique chez des isolats collectés au champ.

Or, en 2008 puis en 2009, nous avons détecté dans plusieurs régions céréalières françaises des souches de *M. graminicola* présentant un profil de résistance MDR. A noter que tout d'abord elles possèdent des résistances spécifiques aux Qols et aux IDMs déterminées par des mutations dans les cibles respectives de ces deux fongicides. Une de leur première caractéristique, identique à celle observée chez *B. cinerea* et *O. yallundae*, est leur résistance au tolnaftate. Il convient de noter également pour ces trois parasites une sensibilité réduite vis-à-vis du boscalid mais pas de la carboxine (SDHIs). Concernant les strobilurines et les IDMs, la résistance est augmentée d'un facteur de 2 à 10 par rapport aux souches présentant une résistance de cible de type TriR6 (tableau IV) (Leroux, Albertini et al. 2007). Des travaux sont en cours pour déterminer les bases moléculaires de cette MDR. En 2008 et 2009, ces souches ont été décelées respectivement dans 3% et 13% des échantillons analysés dans notre laboratoire, indiquant une légère progression du phénomène. Toutefois, dans la majorité des cas, les fréquences de ces souches sont inférieures à 10% et en 2009, sur un total de 1065 échantillons analysables, 21 présentaient des fréquences supérieures ou égales à 10% et seul un échantillon dépassait 25%. Ces souches MDR ont été décelées principalement dans les régions du Nord de la Loire (région Centre incluse) (tableau V).

## CONCLUSION

Grace à une caractérisation phénotypique adaptée, basée principalement sur l'effet de divers fongicides sur l'élongation des filaments germinatifs émis par les spores, nous avons démontré l'existence de résistances MDR en conditions naturelles chez l'agent de la pourriture grise de la vigne, ainsi que ceux responsables du piétin-verse et de la septoriose du blé. Chez *B. cinerea*, les bases moléculaires de cette MDR ont été caractérisées et impliquent la surexpression d'un transporteur de type ABC et/ou MFS ; ceux intervenant chez les pathogènes du blé ne sont pas connus. En pratique, au vu de la situation dans le vignoble champenois, il semble que ces résistances MDR seules aient un impact limité sur l'efficacité des fongicides anti-*Botrytis*. Par contre, dans le cas de *M. graminicola*, il conviendra de déterminer pour les IDMs (et peut-être un jour pour les SDHIs) l'impact d'une sélection de souches combinant une résistance spécifique de cible et d'une MDR (situation de résistance polygénique). Enfin, des essais préliminaires réalisés au laboratoire sur *B. cinerea* et *M. graminicola* ont montré que certaines substances rétablissaient l'activité des fongicides. De tels modulateurs, dont certains sont développés dans le domaine médical, pourraient également être associés à des fongicides agricoles (Roohparvar, Huser et al. 2007) et se comportent comme les synergistes utilisés dans la lutte insecticide et qui sont des inhibiteurs d'enzymes de détoxification à P450. Une autre approche pourrait consister à empêcher la fixation des fongicides sur les facteurs de transcription à l'origine de la surproduction des transporteurs. A noter que dans le domaine animal, cette approche pourrait également permettre de diminuer la pénétration intracellulaire et la détoxification des xénobiotiques car certains facteurs de transcription sont impliqués dans la régulation de gènes codant des transporteurs et des enzymes à P450 (Thakur, Arthanari et al. 2008).

## BIBLIOGRAPHIE

- Cools, H. J., B. A. Fraaije, et al. (2005). Molecular examination of *Septoria tritici* isolates with reduced sensitivities to triazoles. *Modern Fungicides and Antifungal Compounds IV*. Rheinhardtbrunn, Germany: 103-113.
- de Waard, M., A. C. Andrade, et al. (2006). "Impact of fungal drug transporters on fungicide sensitivity, multidrug resistance and virulence." *Pest Management Science* **62**(3): 195-207.
- Gulshan, K. and W. S. Moye-Rowley (2007). "Multidrug resistance in fungi." *Eukaryotic Cell* **6**(11): 1933-1942.
- Kretschmer, M., M. Leroux, et al. (2009). "Fungicide-driven evolution and molecular basis of multidrug resistance in field populations of the grey mold fungus *Botrytis cinerea*." *Plos Pathogens*, Accepted.
- Kretschmer, M., A. Walker, et al. (2008). "Overexpression of efflux transporters leads to multidrug resistance in *Botrytis cinerea* field strains." *Journal of Plant Pathology* **90**(2, Supplement): 465.
- Leroux, P., C. Albertini, et al. (2007). "Mutations in the CYP51 gene correlated with changes in sensitivity to sterol 14 alpha-demethylation inhibitors in field isolates of *Mycosphaerella graminicola*." *Pest Management Science* **63**(7): 688-698.
- Leroux, P., F. Chapeland, et al. (1999). "Patterns of cross-resistance to fungicides in *Botryotinia fuckeliana* (*Botrytis cinerea*) isolates from French vineyards." *Crop Protection* **18**(10): 687-697.
- Leroux, P., M. Gredt, et al. (2006). Caractéristiques et distribution des souches résistantes aux fongicides chez les agents responsables du piétin-verse du blé en France. 8ème conférence internationale sur les maladies des plantes. AFPP. Tours, France.
- Leroux, P., M. Gredt, et al. (2006). "*Botrytis* de la vigne et neuf sortes de fongicides : distribution des souches résistantes en Champagne." *Phytoma - La Défense des Végétaux* **599**: 22-27.
- Roohparvar, R., M. A. De Waard, et al. (2007). "MgMfs1, a major facilitator superfamily transporter from the fungal wheat pathogen *Mycosphaerella graminicola*, is a strong

protectant against natural toxic compounds and fungicides." *Fungal Genetics and Biology* **44**(5): 378-388.

Roohparvar, R., A. Huser, et al. (2007). "Control of *Mycosphaerella graminicola* on wheat seedlings by medical drugs known to modulate the activity of ATP-binding cassette transporters." *Applied and Environmental Microbiology* **73**(15): 5011-5019.

Stergiopoulos, I., J. G. M. van Nistelrooy, et al. (2003). "Multiple mechanisms account for variation in base-line sensitivity to azole fungicides in field isolates of *Mycosphaerella graminicola*." *Pest Management Science* **59**(12): 1333-1343.

Thakur, J. K., H. Arthanari, et al. (2008). "A nuclear receptor-like pathway regulating multidrug resistance in fungi." *Nature* **452**(7187): 604-U4.

Tableau I: Niveaux de résistance à divers fongicides chez des phénotypes MDR de *Botrytis cinerea*<sup>a</sup>

Table I: Resistance factors towards various fungicides in MDR phenotypes of *Botrytis cinerea*

Fongicides	Elongation des filaments germinatifs (24h)			Développement fongique (5jours)		Croissance mycélienne (7 jours)	
	MDR1	MDR2	MDR3	MDR1	MDR2	MDR1	MDR2
Pyrifénox	2	13	20	1	3	1	1
Prochloraze	2	10	16	1	3	1	1
Epoxiconazole	1	10	15	-	-	1	1
Tebuconazole	1.5	9	15	1	6	1	1
Prothioconazole	1	4	5	-	-	-	-
Tolnaftate	>50	>50	>50	-	-	3	1.5
Fenhexamid	1.5	8	12	1	3	1	1.5
Cyprodinil	10	3	32	75	3	3	3
Pyriméthanil	6	5	15	15	4	1.5	2
Carboxine	1	2	3	-	-	-	-
Boscalid	1	6	13	-	-	-	-
Chlorothalonil	1	1	1.5	-	-	-	-
Azoxystrobine	1.5	2	7	-	-	-	-
Pyraclostrobine	7	14	15	-	-	-	-
Trifloxystrobine	3	2	16	-	-	-	-
Fludioxonil	14	2	25	13	3	3	1
Iprodione	3	4	6	-	-	1	1

<sup>a</sup> niveaux de résistance :  $CI_{50}$  MDR /  $CI_{50}$  souches sensibles pour élongation des filaments germinatifs et croissance mycélienne ou CMI MDR / CMI souches sensibles pour développement fongique (voir matériels et méthodes)

Tableau II : Niveaux de résistance à divers fongicides chez des phénotypes résistants aux IDM (TriR) ou MDR de *Oculimacula yallundae*<sup>a</sup>

Table II: Resistance factors towards various fungicides in DMI-resistant or MDR phenotypes of *Oculimacula yallundae*

Fongicides	Elongation des filaments germinatifs (48h)			Croissance mycélienne (3 semaines)		
	TriR1	TriR2	MDR	TriR1	TriR2	MDR
Prochloraze	2	400	100 (x50) <sup>b</sup>	1.5	38	3 (x2) <sup>b</sup>
Epoxiconazole	30	50	150 (x5)	3.5	3.5	7 (x2)
Tébuconazole	100	100	270 (x2.7)	20	30	25 (x1.2)
Triadiméno	>60	>60	>60 (x ?)	>25	>25	>25 (x ?)
Prothioconazole	1.5	1.5	45 (x30)	3	2	5 (x1.3)
Tolnaftate	1	1	>25 (x >25)	-	-	-
Fenhexamid	1	1	30 (x30)	1.5	1	3 (x2)
Cyprodinil	1	1	4 (x4)	-	-	-
Carboxine	1	1	1 (x1)	1	1	1 (x1)
Boscalid	1	1	15 (x15)	1	1	8 (x8)

<sup>a</sup> niveaux de résistance :  $CI_{50}$  TriR ou MDR /  $CI_{50}$  souches sensibles

<sup>b</sup> entre parenthèses :  $CI_{50}$  MDR /  $CI_{50}$  TriR1



Tableau III : Distribution de la multirésistance MDR dans les populations françaises d'*Oculimacula yallundae*

Table III : Distribution of multidrug resistance in French populations of *Oculimacula yallundae*

Année	Nombre total d'échantillons	% échantillons avec MDR	Nombre d'échantillons avec		Départements concernés
			>10% MDR	>25% MDR	
2001	25	8	0	0	27, 62
2002	52	8	1	0	08, 51, 62
2003	50	18	2	0	17, 21, 27, 62, 91
2004	54	6	0	0	51, 76, 78
2005	37	8	0	0	78, 80
2006	28	10	0	2	76, 62
2007	57	25	1	1	14, 62, 76, 77, 80
2008	73	18	4	2	21, 51, 62, 76, 78, 80, 91

Tableau IV : Niveaux de résistance à divers fongicides chez des phénotypes résistants aux IDM (TriR) ou MDR chez *Mycosphaerella graminicola*<sup>a</sup>

Table IV: Resistance factors towards various fungicides in DMI-resistant or MDR phenotypes of *Mycosphaerella graminicola*<sup>a</sup>

Fongicides	Elongation des filaments germinatifs (24h)				Développement fongique (5 jours)			
	TriR4	TriR6	TriR7-R8	MDR	TriR4	TriR6	TriR7-R8	MDR
Pyrifénox	27	36	37	180 (x5)	25	25	25	50 (x2) <sup>c</sup>
Prochloraz	4	7	1	70 (x10)	3	13	3	66 (x5)
Époxiconazole	6	26	20	200 (x8)	15	100	100	500 (x5)
Metconazole	10	15	16	100 (x7)	10	15	20	50 (x3)
Tébuconazole	21	75	82	330 (x4)	40	80	80	>200 (>x2.5)
Prothioconazole	4	8	7	20 (x2.5)	1	4	8	16 (x4)
Tolnaftate	1	1	1	30 (x30)	1	1	1	>10 (>x10)
Cyprodinil	1	1	1	1.5 (x1.5)	-	-	-	-
Carboxine	1	1	1	1 (x1)	1	1	1	1 (x1)
Boscalid	1	1	1	6 (x6)	1	1	1	4 (x4)
Chlorothalonil	1	1	1	1 (x1)	1	1	1	1.5 (x1.5)
Azoxystrobine	-	[250] <sup>b</sup>	-	[>1000] (>x4)	-	-	-	-
Pyraclostrobin	-	[2000]	-	[>8000] (>x4)	-	-	-	-
Trifloxystrobine	-	[2000]	-	[>20000] (>x10)	-	-	-	-

<sup>a</sup> niveau de résistance  $CI_{50}$  TriR ou MDR /  $CI_{50}$  souches sensibles pour élongation des filaments germinatifs ou CMI TriR ou MDR / CMI souches sensibles pour développement mycélien (voir Matériel et Méthodes).

<sup>b</sup> entre crochets, niveau de résistance  $CI_{50}$  souches résistantes aux strobilurines /  $CI_{50}$  souches sensibles

<sup>c</sup> entre parenthèses, niveaux de résistance  $CI_{50}$  ou CMI MDR /  $CI_{50}$  ou CMI TriR6

Tableau V : Distribution de la multirésistance MDR dans les populations françaises de *Mycosphaerella graminicola*  
 Table V: Distribution of multidrug resistance in French populations of *Mycosphaerella graminicola*

Année	Nombre total d'échantillons	% échantillons avec MDR	Nombre d'isolats avec		Départements concernés
			> 10% MDR	> 25% MDR	
2008	1260	3.4	0	0	02, 14, 18, 22, 35, 45, 51, 52, 54, 55, 59, 62, 76, 78, 80, 89, 95
2009	1065	13	21	1	01, 02, 08, 14, 18, 21, 22, 28, 35, 39, 41, 44, 45, 49, 50, 51, 53, 54, 55, 56, 59, 60, 62, 71, 76, 77, 78, 80, 89, 91

Figure 1 : Evolution de la multidrug resistance MDR chez *Botrytis cinerea* dans le vignoble champenois  
 Figure 1: Evolution of multidrug resistance in *Botrytis cinerea* on grapevine in Champagne

