

# JÉR 2024



Journées d'Échanges sur les Résistances aux produits de protection des plantes

# Etats des lieux des résistances chez *Cercospora beticola* vis-à-vis des Strobilurines et des Triazoles

# *Cercospora beticola*



Agent de la cercosporiose de la betterave

Lésions nécrotiques au niveau foliaire

Forts impacts sur les rendements

Développement favorisé pas un climat chaud et humide

Cycles répétés de contamination et dissémination

Gamme d'hôtes chénopodiacées (autres familles...)



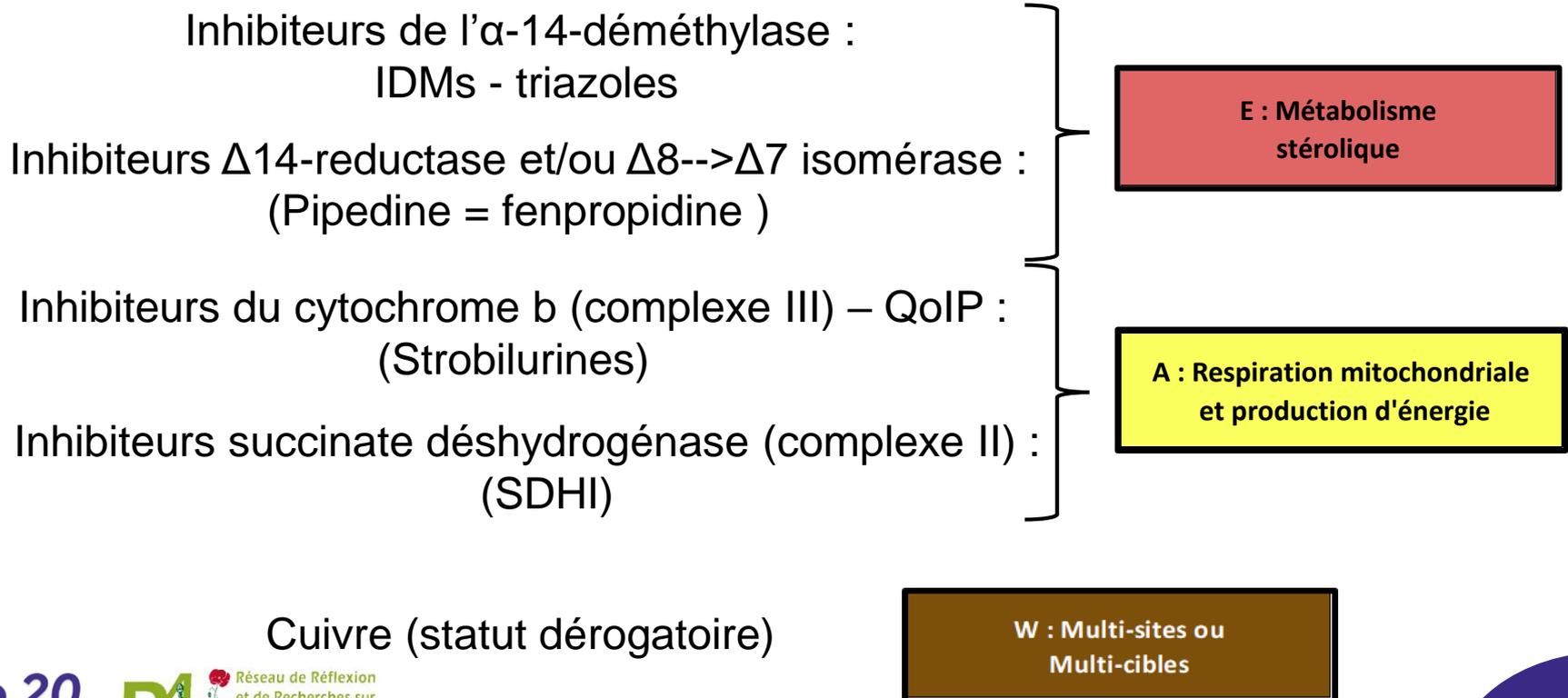
Source : ITB

# Contexte

**Baisse d'efficacité des Strobilurines** dans les parcelles dès 2014-2015

**Forte pression** de la cercosporiose depuis 2017

**Nombre de substances actives & modes d'action disponibles réduit**



# I-Statut des résistances vis-à-vis des Triazoles et des Strobilurines en France

*Approches par tests biologiques*

# statut des résistances en France

Vis-à-vis des **Strobilurines (QoI-P)** et des **Triazoles (IDMs)**  
2 campagnes de prélèvements réalisées par l'ITB 2019 et 2020

Départements	% prélèvements
AISNE	17%
ALLIER	1%
ARDENNES	3%
AUBE	6%
BAS-RHIN	1%
ESSONNE	1%
EURE	3%
EURE-ET-LOIR	1%
LOIRET	8%
MARNE	10%
NORD	2%
OISE	11%
PAS-DE-CALAIS	8%
PUY-DE-DOME	1%
SEINE-ET-MARNE	10%
SEINE-MARITIME	3%
SOMME	10%
VAL-D'OISE	1%
YONNE	3%



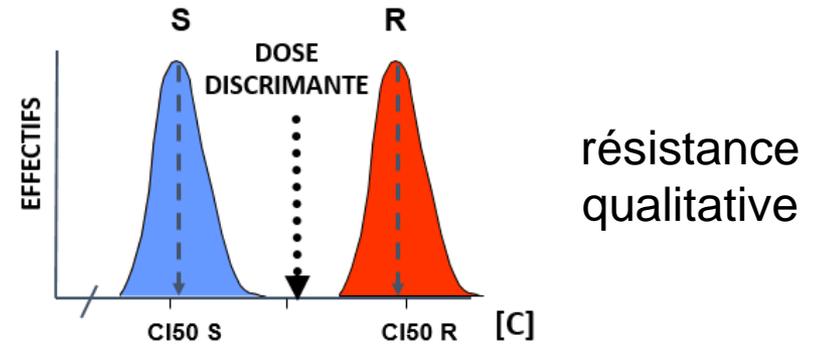
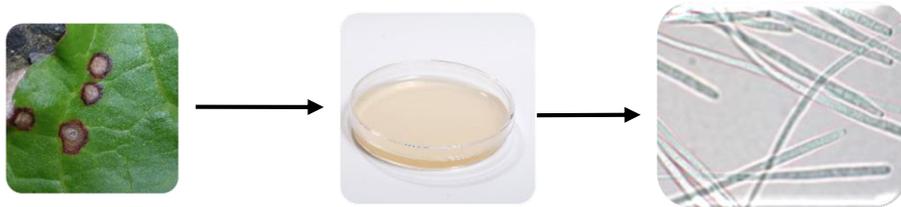
144 populations

# statut des résistances vis-à-vis des strobilurines

## Tests biologiques en population

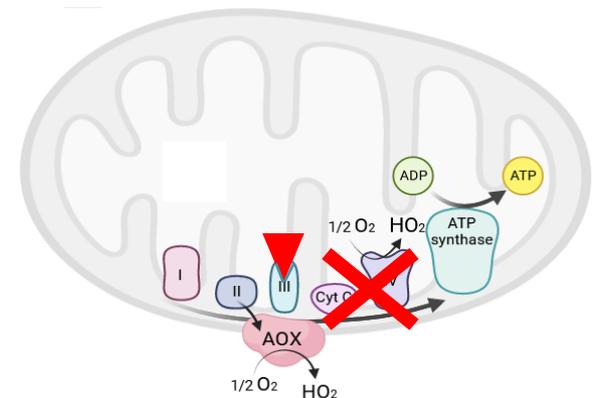
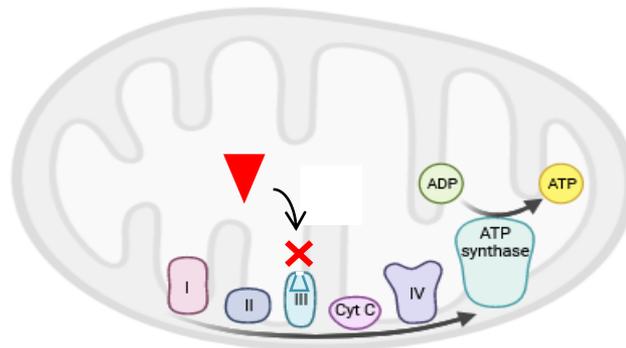
A : Respiration mitochondriale et production d'énergie

- Test en dose discriminante (DD) sur populations de spores azoxystrobine (5 mg/l)



- 2 modalités azoxystrobine +/- SHAM : Résistance liée à la cible et non liée à la cible (AOX)

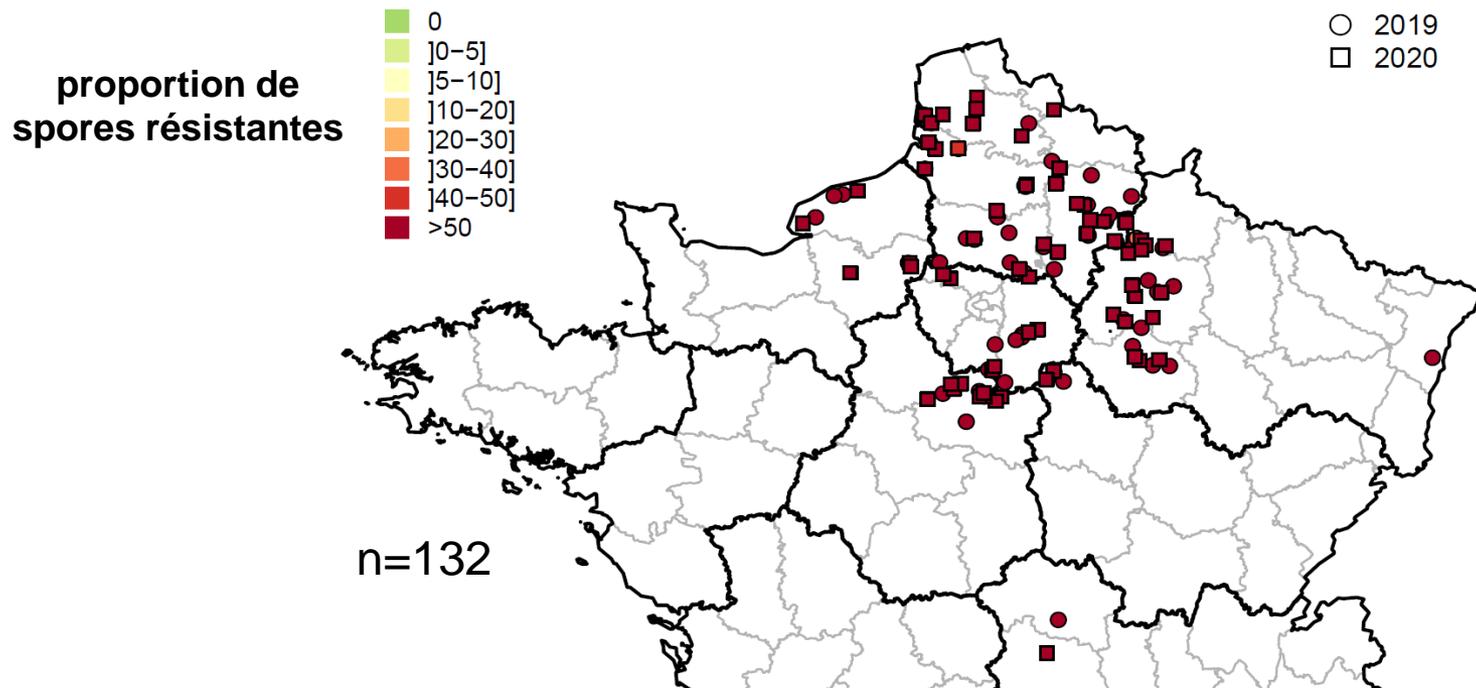
▼ Strobilurines



# statut des résistances vis-à-vis des strobilurines

## Azoxystrobine (5 mg/l) + SHAM : RLC

A : Respiration mitochondriale et production d'énergie



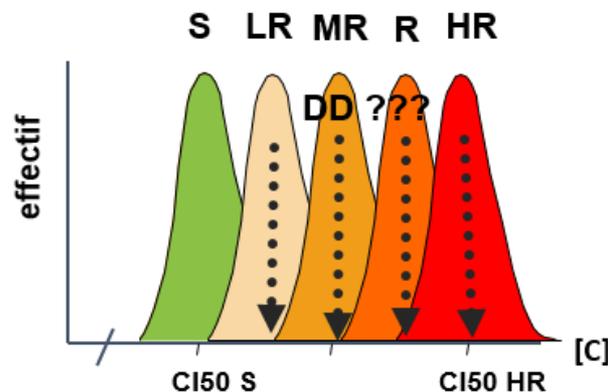
RLC généralisée

Confirmée par la recherche de G143A chez 79 souches isolées en 2019 et 2020 :  
100% mutées

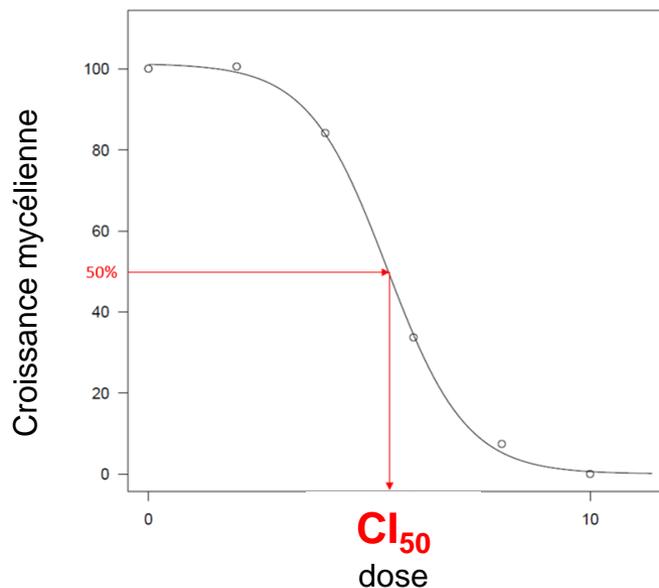
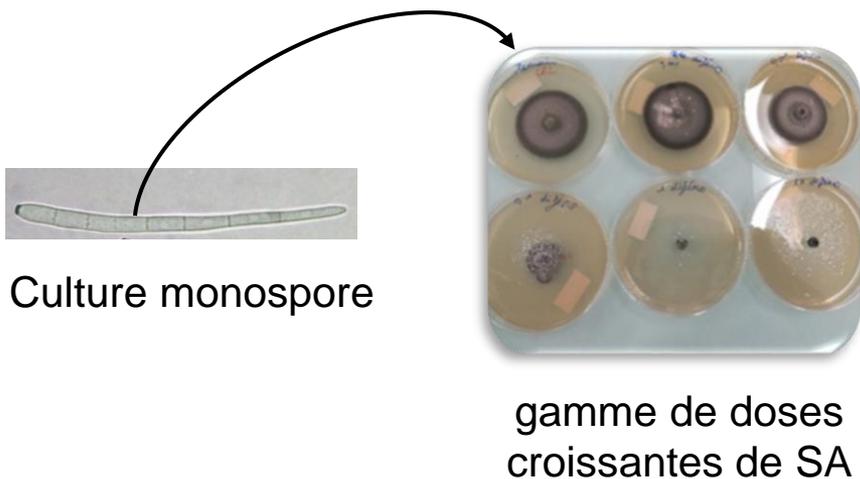
# Statut des résistances vis-à-vis des Triazoles

E : Métabolisme stéroïdique

Résistance aux Triazoles est quantitative



Test en croissance mycélienne : établir des courbes dose-réponse et estimation des  $CI_{50}$  d'un panel de souches



# Statut des résistances vis-à-vis des Triazoles

Sensibilité d'un panel de souches vis-à-vis de 10 Triazoles

E : Métabolisme  
stéroïdique

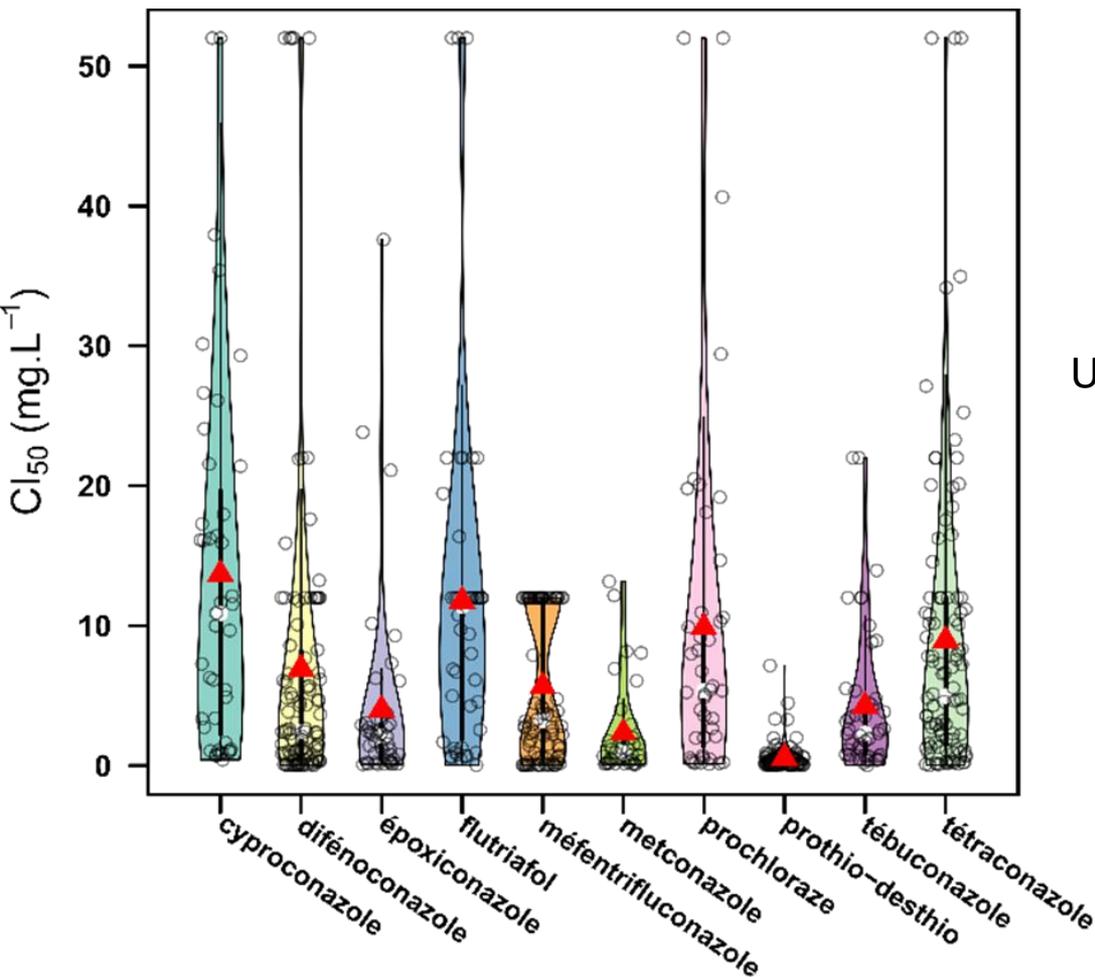
Substances actives	Nombre de souches testées en croissance mycélienne
CYPROCONAZOLE	43
DIFENOCONAZOLE	101
EPOXICONAZOLE	43
FLUTRIAFOL	46
MEFENTRIFLUCONAZOLE	90
METCONAZOLE	35
PROCHLORAZE	43
PROTHIOCONAZOLE-DESTHIO	101
TEBUCONAZOLE	46
TETRACONAZOLE	100
10 substance actives	668 estimations de $CI_{50}$ sur 103 souches différentes



# Statut des résistances vis-à-vis des Triazoles

Sensibilité d'un panel de souches vis-à-vis de 10 IDM

E : Métabolisme stéroïdique

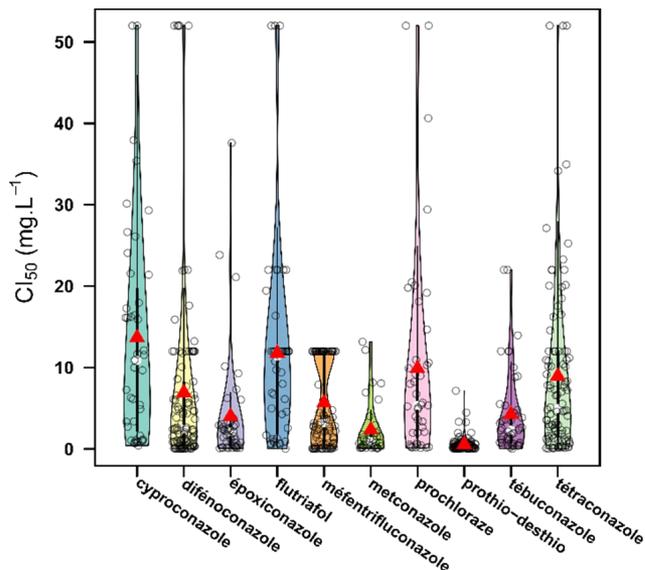


Une variation continue de la sensibilité pour l'ensemble des substances actives & Corrélation positive entre les Cl<sub>50</sub> des différentes substances actives : **résistance croisée entre les triazoles**

# Statut des résistances vis-à-vis des Triazoles

## Sensibilité d'un panel de souches vis-à-vis de 10 IDM

E : Métabolisme stéroïdique



Une variation continue de la sensibilité pour l'ensemble des substances actives

Choix de **2 DD** pour chaque SA pour tests en population de spores

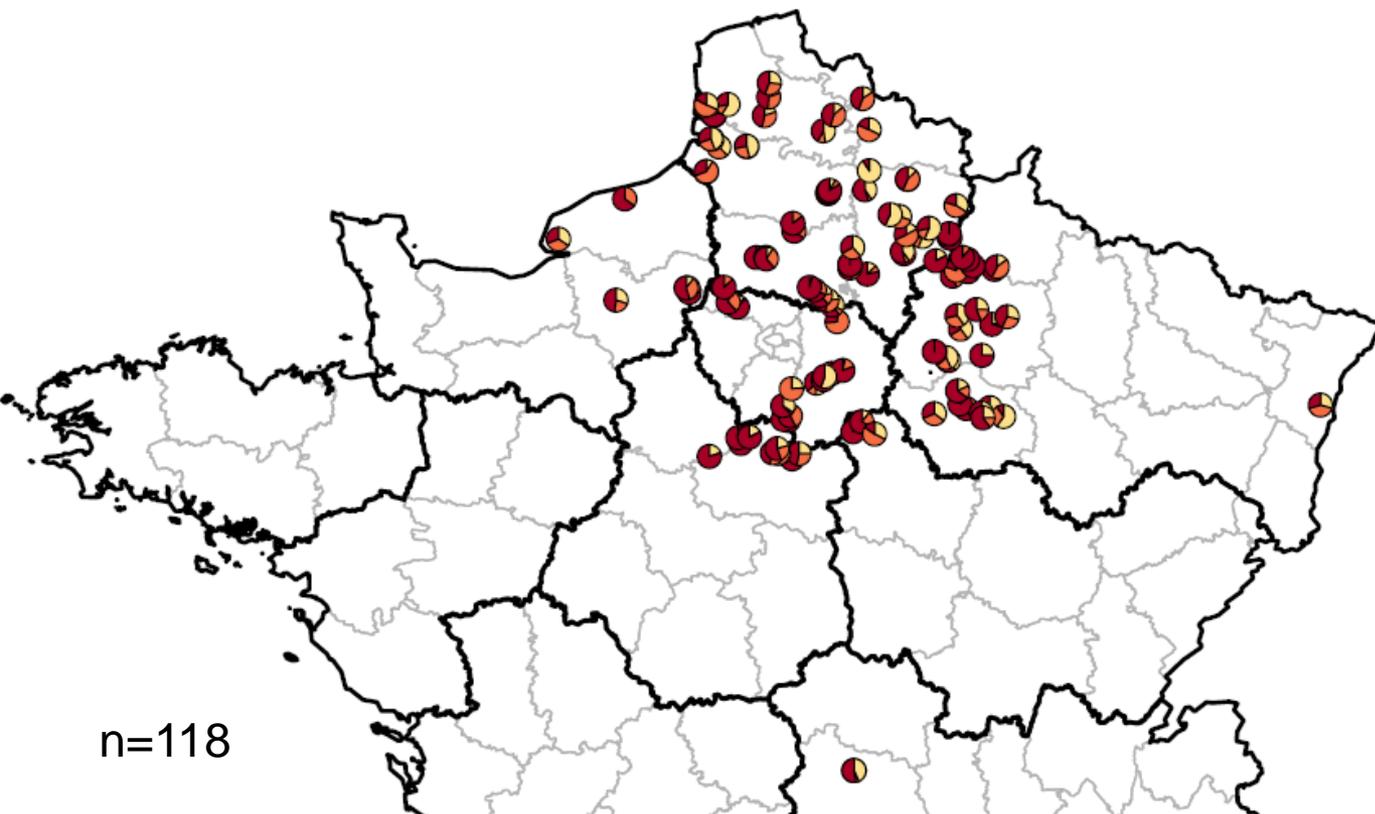
2 DD - 3 classes de FR

Facteurs de Résistance		FR < 30	FR 30 - 100	FR > 100
Doses mg/l	Méfentrifluconazole	1.3	1.3 à 5	5
	Difénoconazole	2	2 à 6	6
	Tétraconazole	5	5 à 18	18
	Prothio-Desthio	1.51	1.51 à 5	5

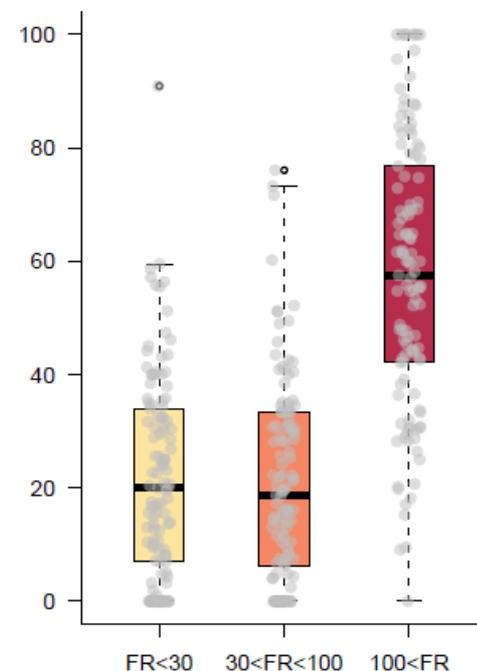
# Statut des résistances vis-à-vis des Triazoles

## MEFENTRIFLUCONAZOLE

E : Métabolisme stéroïdique



Distribution des fréquences

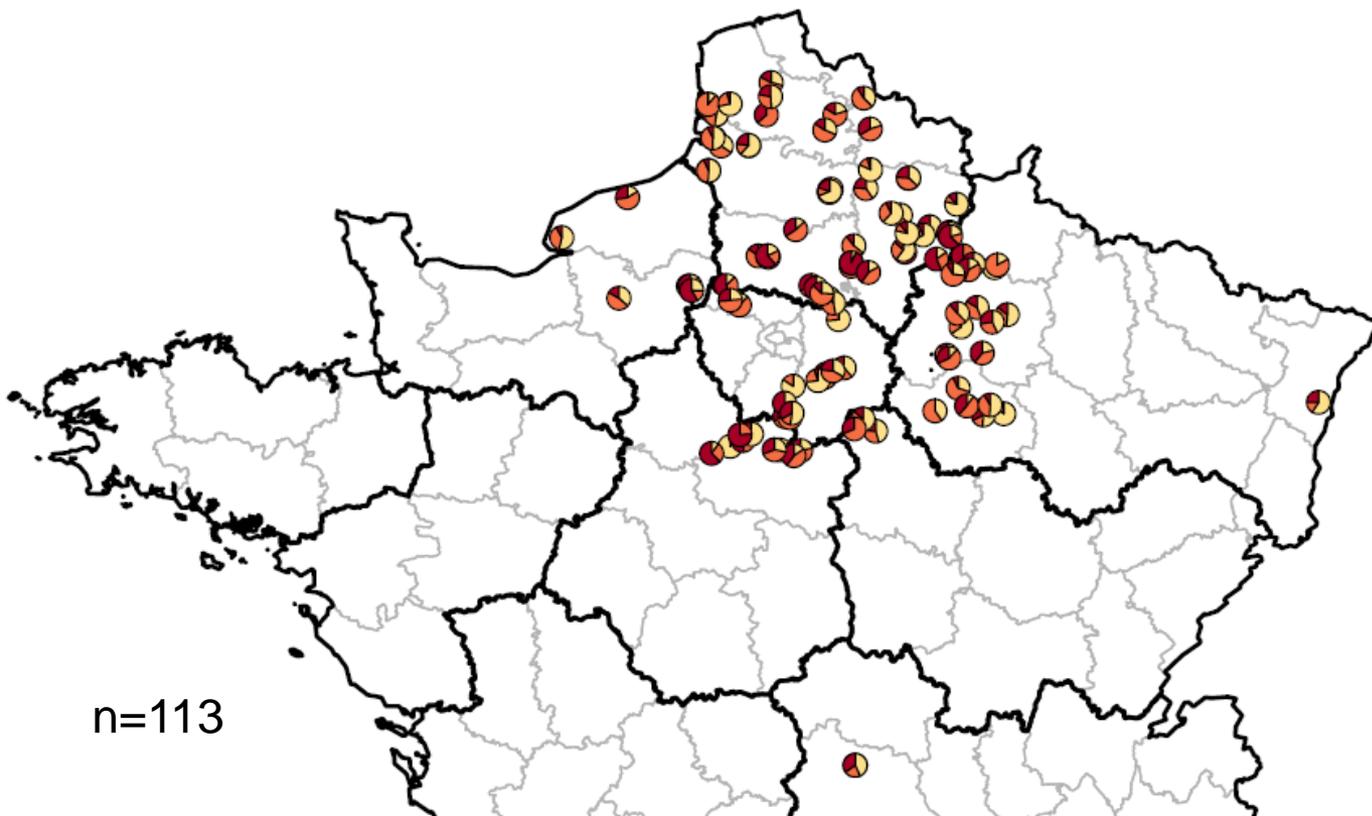


Doses mg/l	< 1.3	1.3 à 5	> 5
FR équivalent	FR < 30	FR 30 - 100	FR > 100

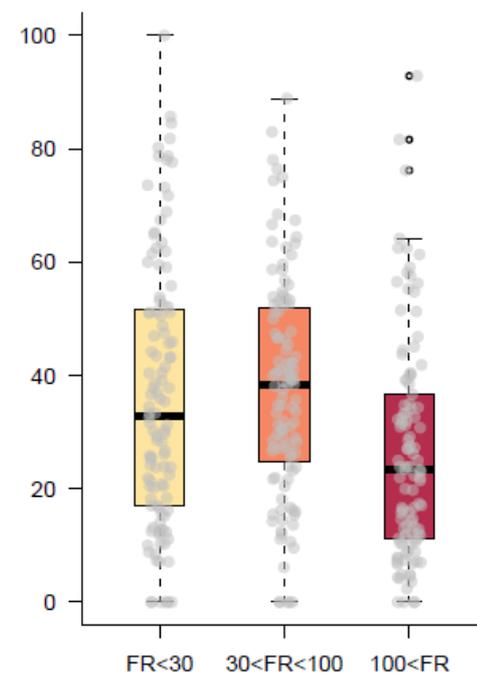
# Statut des résistances vis-à-vis des Triazoles

## DIFENOCONAZOLE

E : Métabolisme stéroïdique



Distribution des fréquences

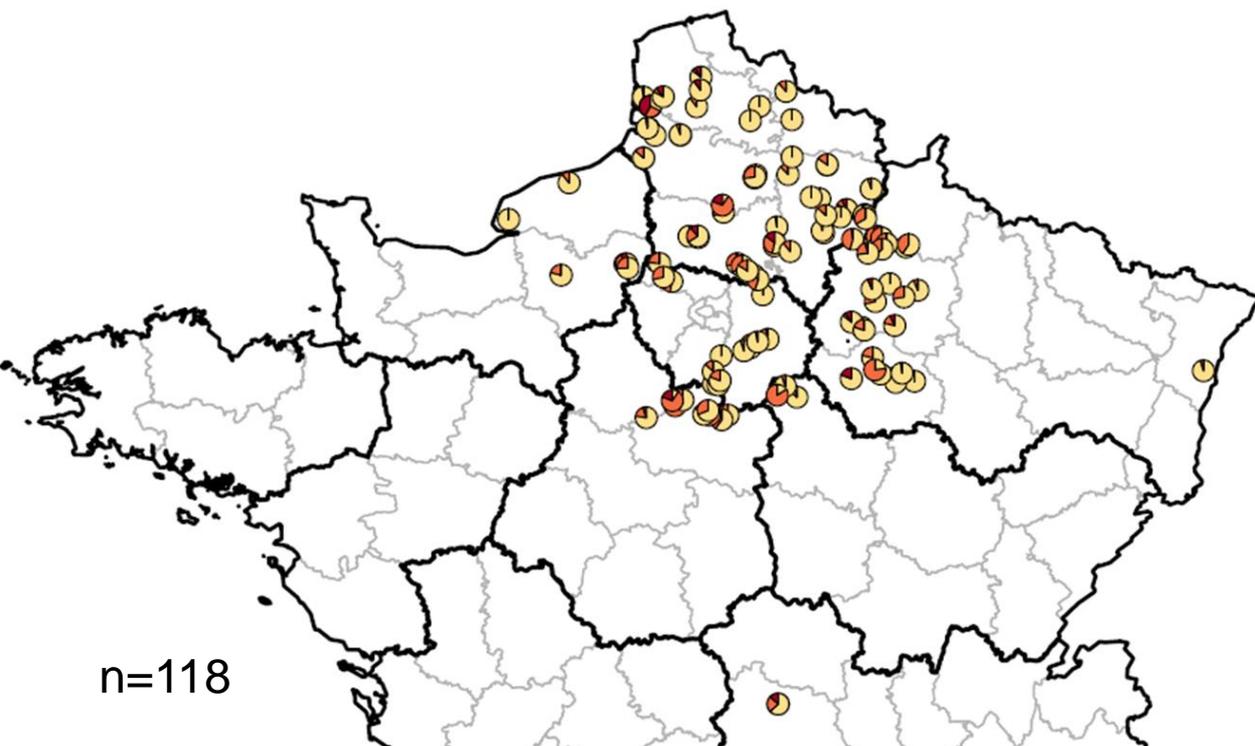


Doses mg/l	< 2	2 à 6	> 6
FR	FR < 30	FR 30 - 100	FR > 100
équivalent			

# Statut des résistances vis-à-vis des Triazoles

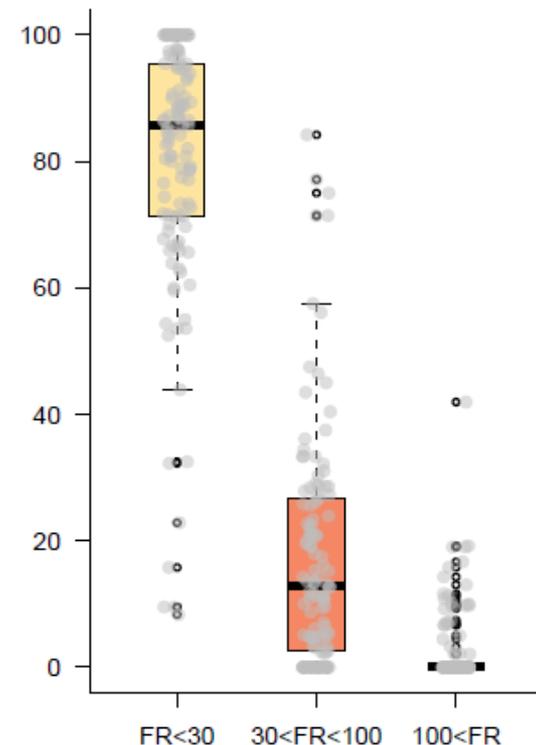
## PROTHIO-DESTHIO

E : Métabolisme stéroïdique



n=118

### Distribution des fréquences



Doses mg/l	< 1.51	1.51 à 5	> 5
FR équivalent	FR < 30	FR 30 - 100	FR > 100

# II-Mécanismes de résistance aux Triazoles

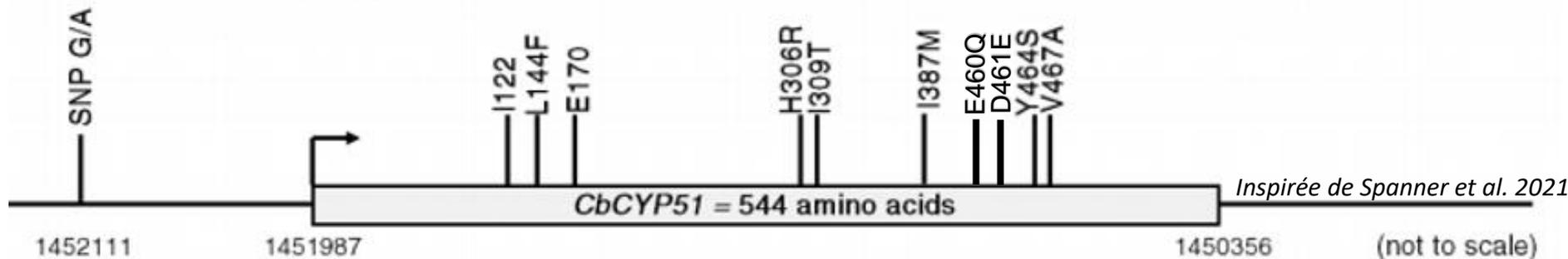
# Mécanismes de résistance vis-à-vis des Triazoles

## Modification de la cible

Séquençage du gène *Cyp51* codant pour la cible des triazoles l' $\alpha$ -14-déméthylase chez souches isolées

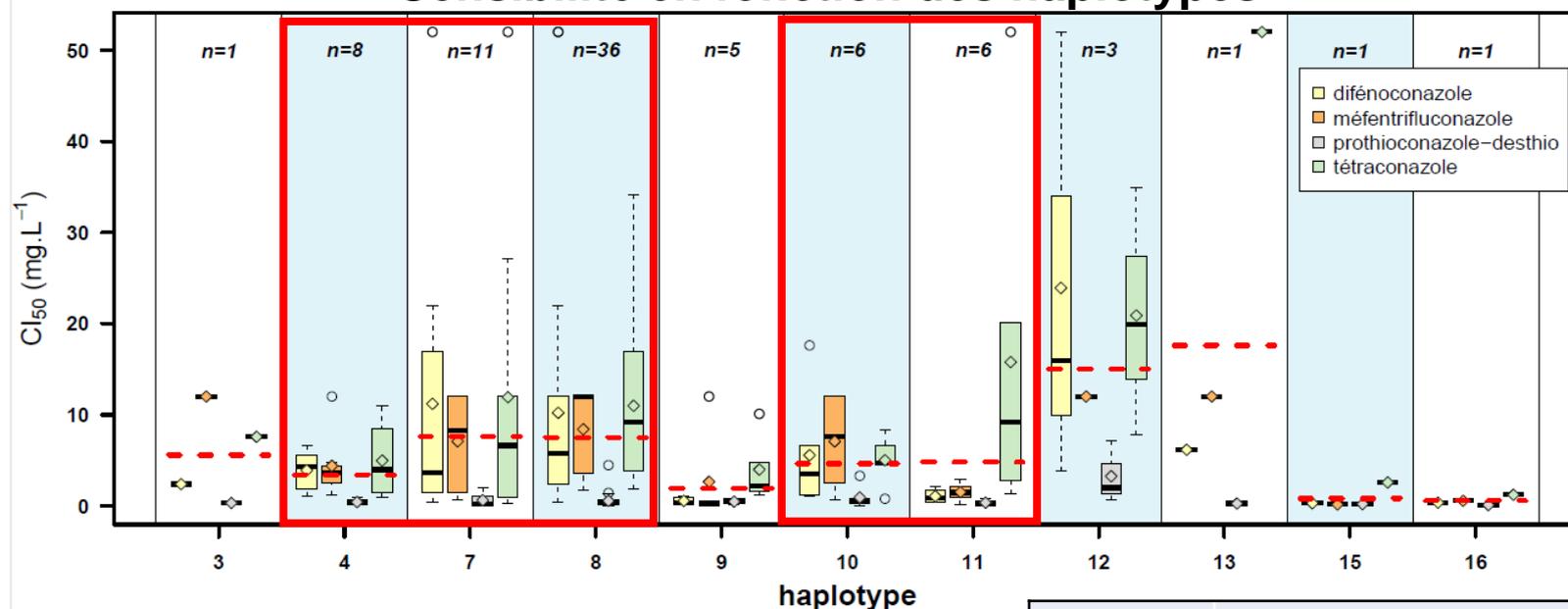
Sur  $\approx$  100 souches :

- 8 mutations non sens  $\neq$  identifiées + nombreuses mutations sens
- 19 haplotypes  $\neq$



# Mécanismes de résistance vis-à-vis des Triazoles

## Sensibilité en fonction des haplotypes



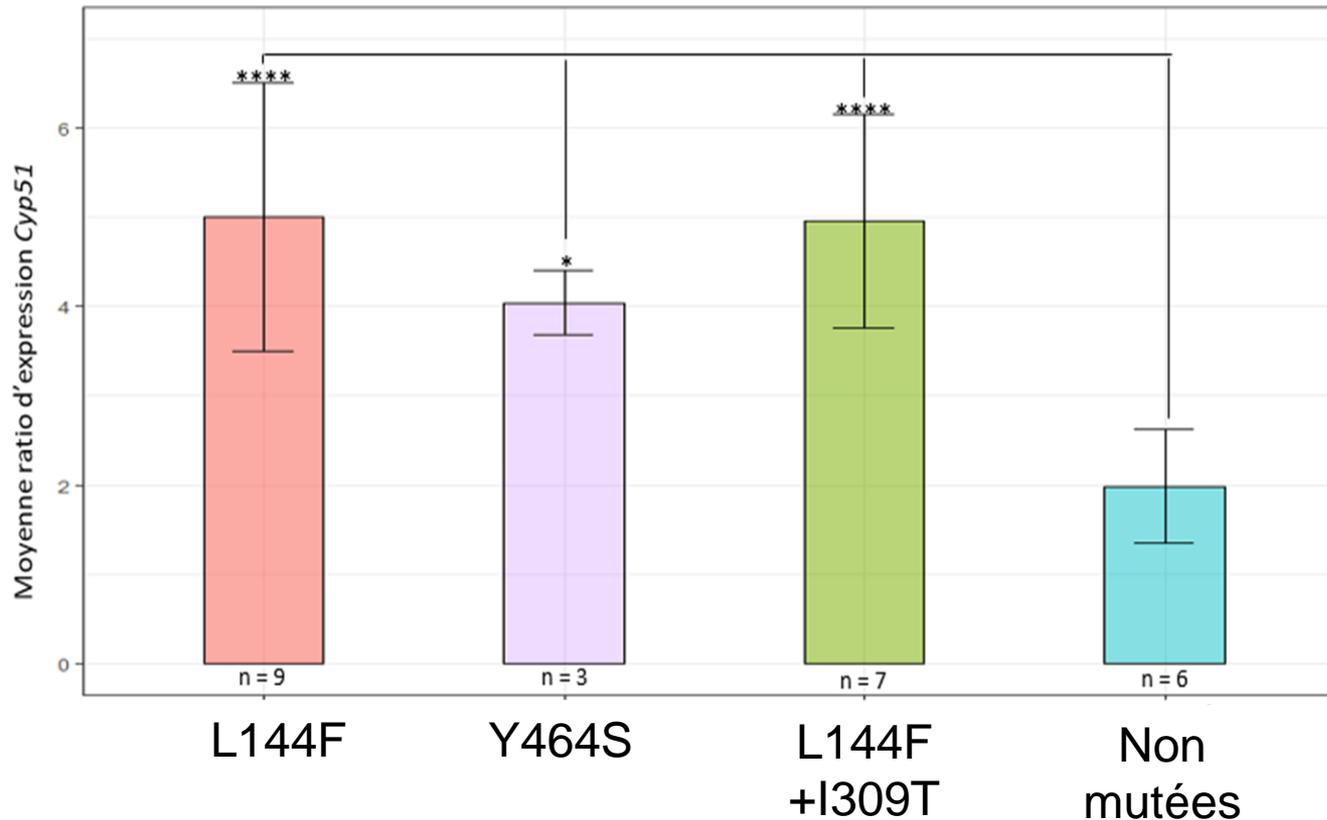
**Grande variabilité phénotypique** au sein des souches porteuses d'une même mutation et au sein des haplotypes

Autres mécanismes de résistance en jeu :  
**surexpression de la cible ?**  
 (mécanisme déjà rapporté dans littérature)

haplotypes	Description
3	Allèle sauvage 2
4	L144F (T)
7	L144F (C) + E170 (silencieux)
8	L144F (C) + E170 (silencieux) + I309T
9	I387M
10	L144F (C)
11	Y464S
12	L144F (T) + E460Q
13	L144F (C) + E170 + D461E
15	S28 + A184P
16	Allèle sauvage 1 (T-124C)

# Mécanismes de résistance vis-à-vis des Triazoles

## Niveaux d'expression de *Cyp51*



- L144F,  
- L144F + I309T,  
- Y464S  
Surexpression significative  
au groupe **non muté**.

Pas de différences  
significatives *intra*-groupe

Surexpression *Cyp51* présente chez des souches résistantes et avec mutations

**N'explique pas la variabilité phénotypique au sein des souches porteuses d'une même mutation**

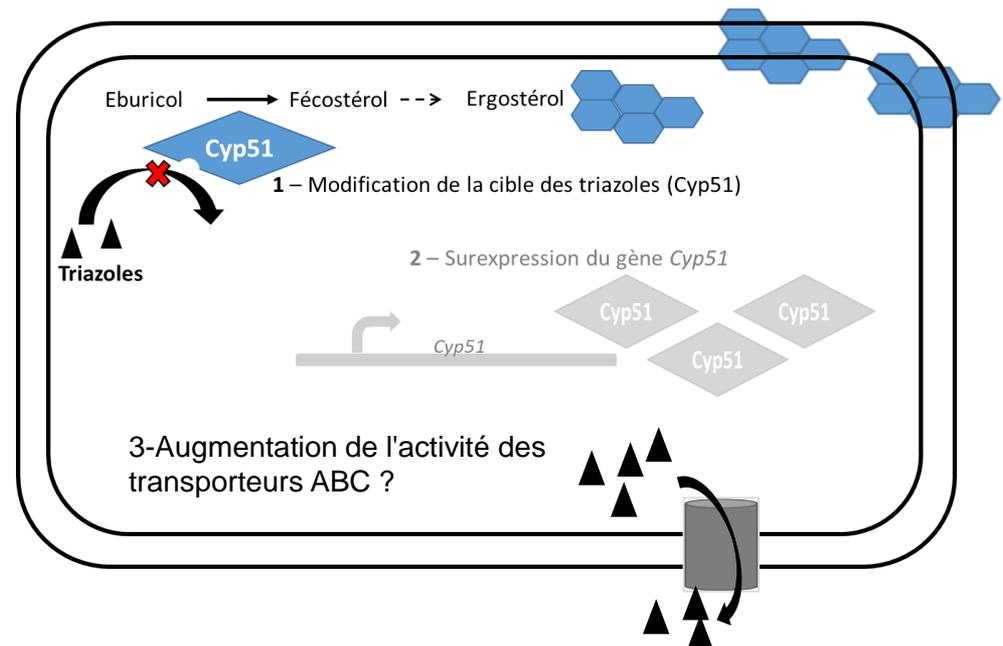
# Mécanismes de résistance vis-à-vis des Triazoles

Modification de la cible généralement associée à une perte de sensibilité vis-à-vis des triazoles

Grande diversité des mutations et de leur association

Surexpression de la cible faible - rôle dans la réduction de sensibilité ?

Autres mécanismes ?



# Mécanismes de résistance vis-à-vis des Triazoles

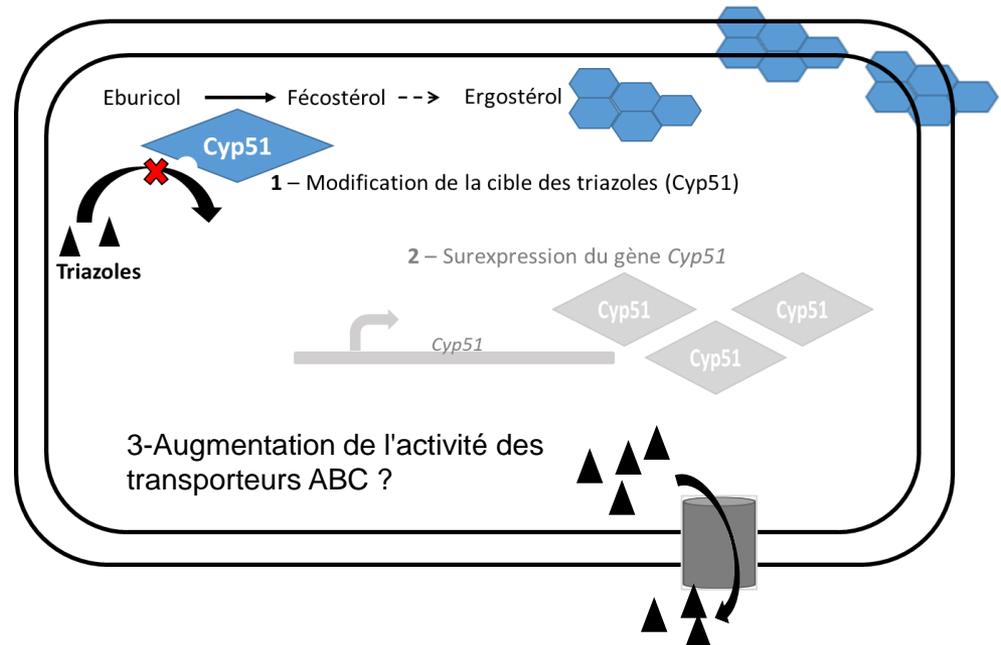
Modification de la cible généralement associée à une perte de sensibilité vis-à-vis des triazoles

Grande diversité des mutations et de leur association

Développement d'un outil de séquençage haut débit avec une approche populationnelle

Surexpression de la cible faible - rôle dans la réduction de sensibilité ?

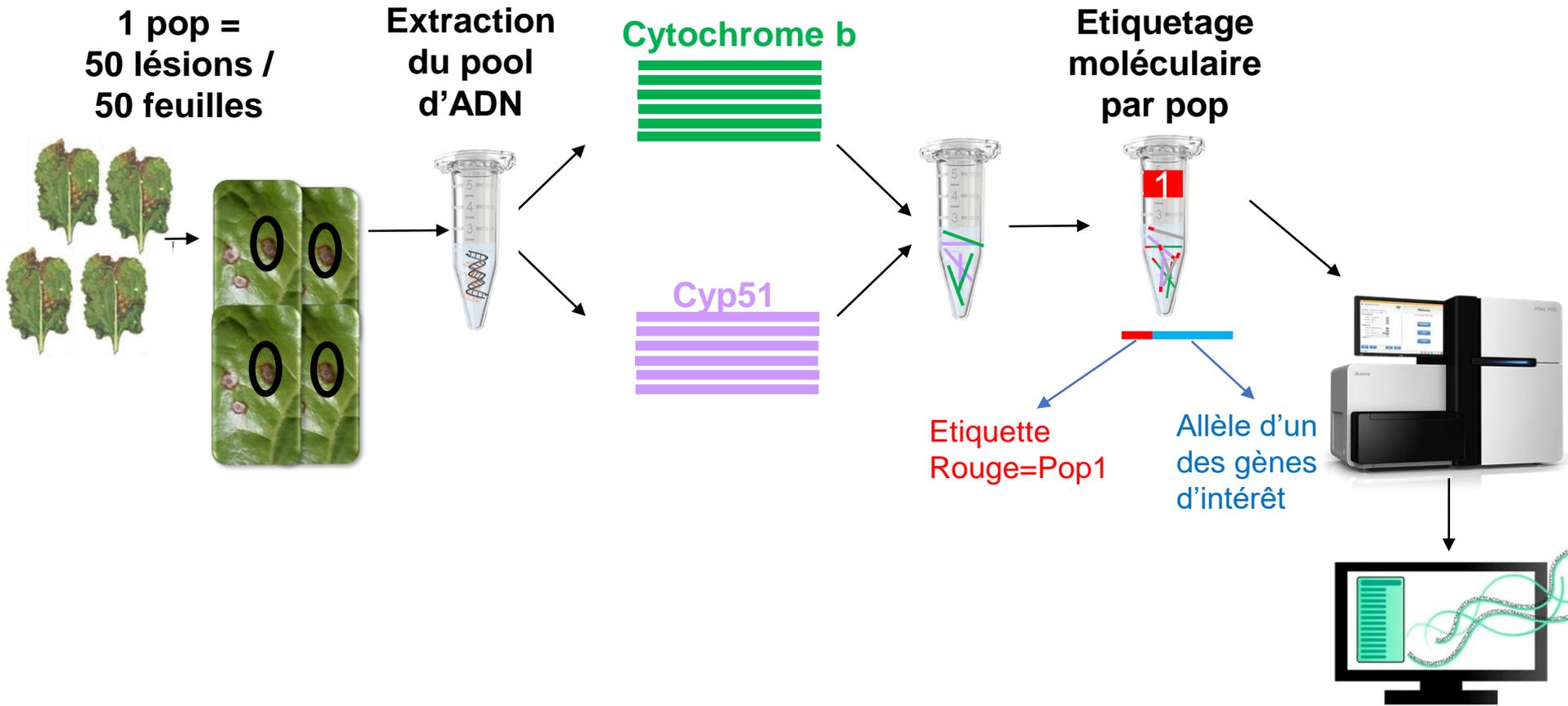
Autres mécanismes ?



# III-Développement d'un outil d'analyse haut débit

*Détection et quantification d'allèles de résistance aux  
Triazoles et aux Strobilurines*

# Détection et quantification d'allèles de résistance aux Triazoles et aux Strobilurines



➔ Information à la fois qualitative et quantitative (quelle(s) mutation(s) à quelle fréquence) pour toutes les positions (loci) pour 2 gènes pour toutes les populations

# Détection et quantification d'allèles de résistance aux Triazoles et aux strobilurines



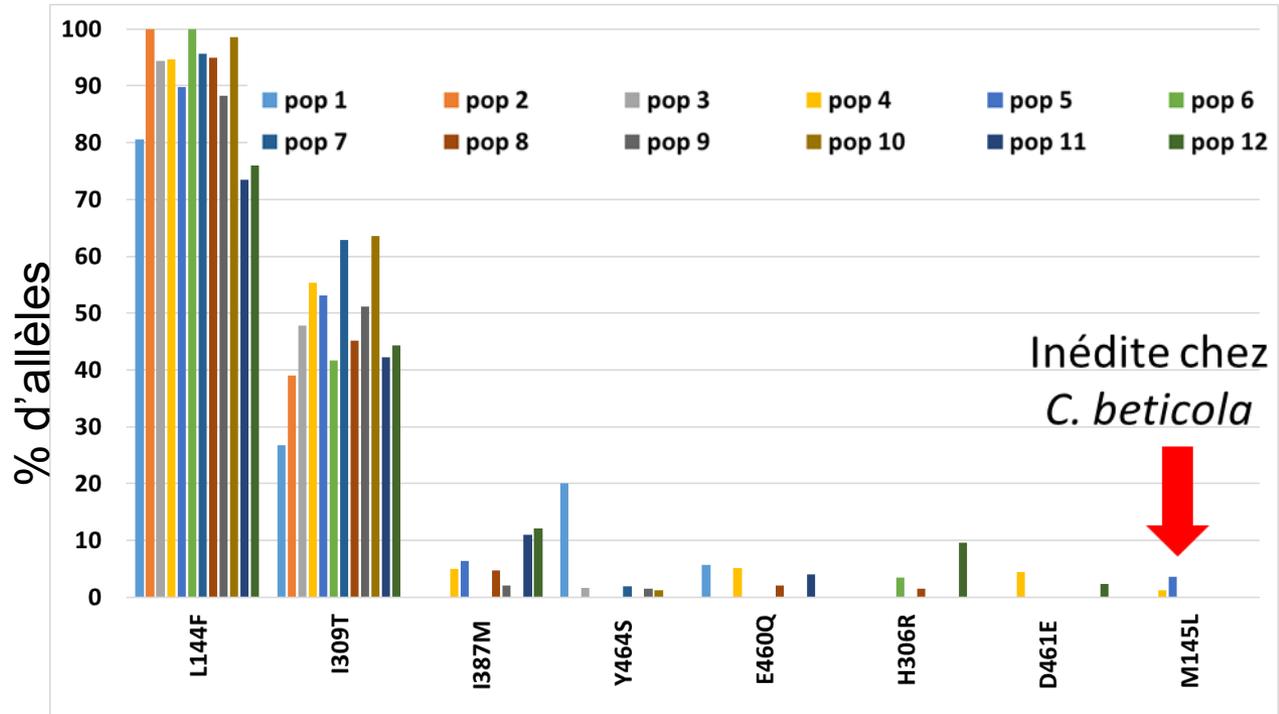
## Résistance aux Strobilurines

% moyenne cytb-G143A =  
97,3 % +/- 4,31  
pas d'autre mutation  
détectée

# Détection et quantification d'allèles de résistance aux Triazoles et aux strobilurines



## Résultats populations du terrain pour le gène *Cyp51*



**Résistance aux Strobilurines**  
 % moyenne cytb-G143A  
 =  
 97,3 % +/- 4,31  
 pas d'autre mutations détectées

Multiplexage gènes, nouveaux variants, sensibilité,  
 ↓ coûts, suivi + large

# Conclusions

# Conclusions

---

- ✓ **Strobilurines (QoI-P)**

Résistance généralisée avec *quasi* disparition de l'allèle sensible dans les populations

- ✓ **Triazoles (IDMs)**

Résistance présente dans les populations – variable selon la pop et la SA

Déterminants génétiques identifiés au moins en partie avec de nombreux allèles de résistance (RLC)

- ✓ **Outils d'analyses**

Approches populationnelles fonctionnelles en tests biologiques et moléculaires

- ✓ **Outils séquençage haut débit :**

Suivi de l'évolution des allèles en fonction des SA



# JÉR 2024



*Journées d'Échanges sur les Résistances aux produits de protection des plantes*

## Merci pour votre attention !

### PROJET RECIFE

**ITB**

Fabienne Maupas - Cédric Royer

les préleveurs

**INRAE**

Anne-Sophie Walker - Lucile Blouquy

**Anses**

Benoit Barrès



**MINISTÈRE  
DE L'AGRICULTURE  
ET DE LA SOUVERAINETÉ  
ALIMENTAIRE**

*Liberté  
Égalité  
Fraternité*

# INRAE

### PROJET QUANTALL

**Anses**

Benoit Barrès - Laetitia Caddoux - Christophe Plantamp

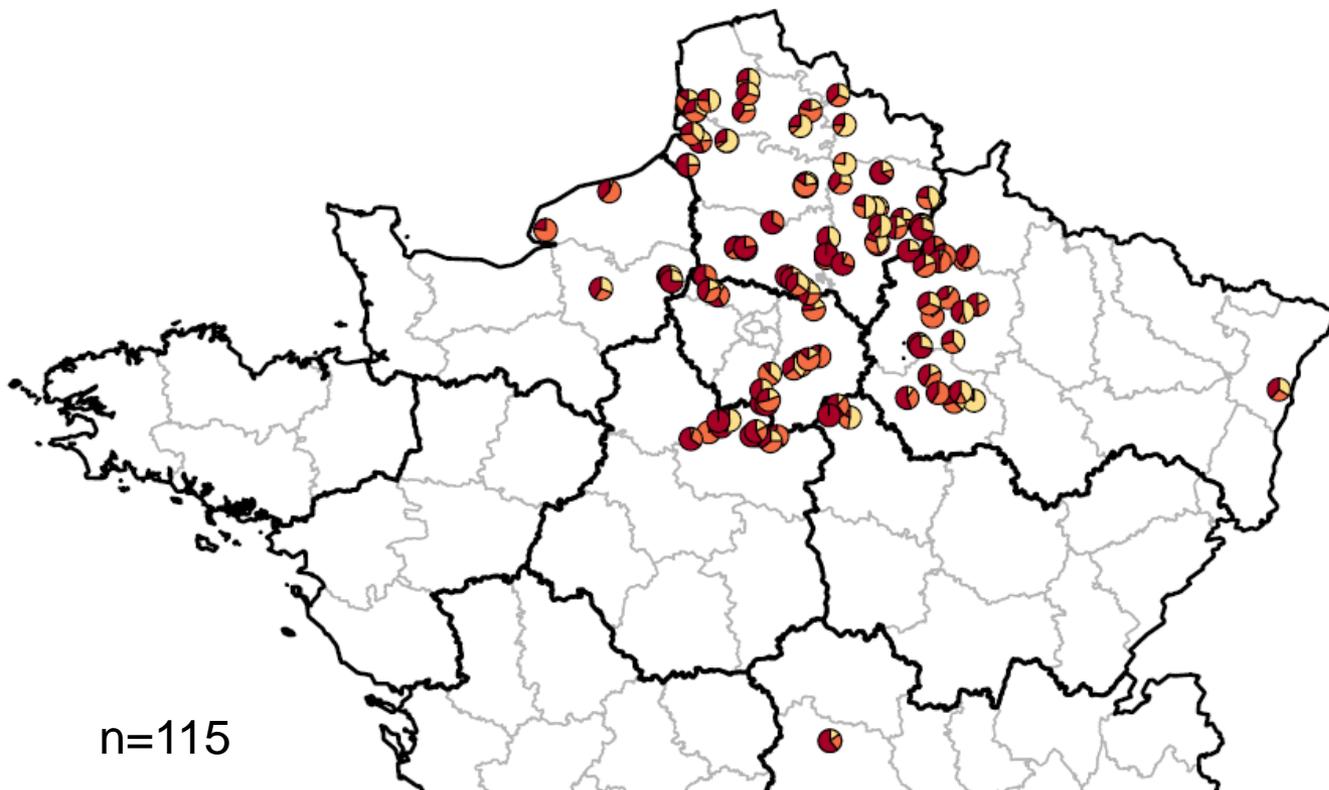


# anses

# Statut des résistances vis-à-vis des Triazoles

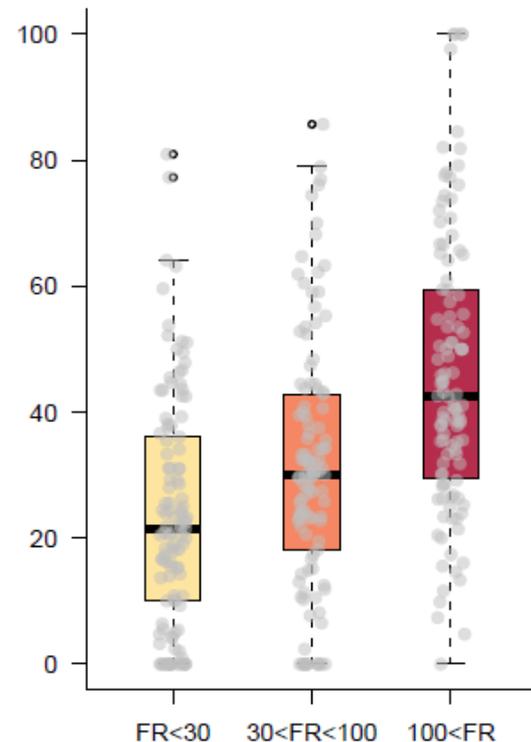
## TETRACONAZOLE

E : Métabolisme stéroïdique



n=115

### Distribution des fréquences



Doses mg/l	< 5	5 à 18	> 18
FR équivalent	FR < 30	FR 30 - 100	FR > 100