

Caractérisation des souches de *Pseudocercospora herpotrichoides*, agent du piétin-verse des céréales résistantes à des substances antimitotiques et à des inhibiteurs de la biosynthèse des stérols

Pierre LEROUX & Michel GREDT

I.N.R.A., Station de Phytopharmacie, route de St-Cyr, F 78026 Versailles Cedex

RÉSUMÉ

A partir des isolats de *P. herpotrichoides* collectés en France, sur blé d'hiver de 1984 à 1987, il a été possible de caractériser 3 types de souches en fonction de leur sensibilité à des inhibiteurs de la biosynthèse des stérols. Les différences s'observent notamment en présence de fenpropimorphe et d'inhibiteurs de la C14-déméthylation des stérols comportant l'hétérocycle triazole (cyproconazole, flusilazol, hexaconazole, penconazole, tebuconazole, triadiménol, ...). Quant au prochloraze, il inhibe fortement tous les isolats de *P. herpotrichoides*.

Vis-à-vis des fongicides « benzimidazoles » (bénomyl, carbendazime, thiabendazole, thiophanate-méthyl) et de pesticides phénylcarbamatés (diéthofencarbe, barbane, chlorprophame, ...) qui affectent le fonctionnement et/ou la formation du fuseau achromatique (effet antimitotique), les isolats de *P. herpotrichoides* peuvent se comporter de 8 manières différentes. Parmi eux, 7 phénotypes résistants aux fongicides benzimidazoles ont été caractérisés ; certains présentent une sensibilité accrue aux pesticides phénylcarbamatés. Ce phénomène de résistance croisée négative concerne également d'autres types de fongicides (biphényl, dicloran, édifenphos, étridiazole, isoprothiolane, o-phényl-phénol, tolclofos-méthyl).

Une méthode permettant une caractérisation des divers isolats de *P. herpotrichoides* en fonction de leur sensibilité à des inhibiteurs de la biosynthèse des stérols et à des produits antimitotiques est décrite.

Mots clés additionnels : *Composés antimicrotubules, carbendazime, fenpropimorphe, triadiménol, résistance croisée négative.*

SUMMARY

Characterization of strains of Pseudocercospora herpotrichoides, the causal agent of cereal eyespot, resistant to antimitotic compounds and to inhibitors of sterol biosynthesis.

The isolates of *P. herpotrichoides* collected in France on winter wheat between 1984 and 1987 presented three types of behaviour *in vitro* towards inhibitors of sterol biosynthesis. Differences in sensitivity were observed with fenpropimorph and inhibitors of sterol C14-demethylation containing the heterocycle triazole (cyproconazole, flusilazol, hexaconazole, penconazole, tebuconazole, triadimenol). Prochloraz, another type of sterol C14-demethylation inhibitor, affected all isolates similarly. Towards the antimitotic fungicides, belonging to the benzimidazole family (benomyl, carbendazim, thiabendazole and thiophanate-methyl), seven resistant phenotypes were characterized. Some presented an increased sensitivity to phenylcarbamate pesticides (diethofencarb, barban, chlorpropham, ...); this phenomenon also concerned several other types of fungicides (biphenyl, dicloran, edifenphos, etridiazol, isoprothiolan, o-phenyl-phenol, tolclofos-methyl). A method is described allowing the various isolates of *P. herpotrichoides* to be characterized in terms of their sensitivity towards inhibitors of sterol biosynthesis and antimitotic compounds.

Additional key words : *Antimicrotubular compounds, carbendazim, fenpropimorph, triadimenol, negative cross-resistance.*

I. INTRODUCTION

En France, sur céréales d'hiver et plus particulièrement sur blé, le piétin-verse demeure une maladie importante combattue grâce à des applications de fongicides. Les matières actives les plus performantes, pendant une dizaine d'années, ont été le carbendazime ou ses précurseurs : le bénomyl et le thiophanate-méthyl. Le carbendazime affecte la formation et/ou le fonctionnement des microtubules des cellules fongiques, notamment ceux du fuseau achromatique ; l'une des conséquences est une inhibition des mitoses. Un mode d'action similaire est également reconnu pour le diéthofencarbe et le M.D.P.C. 2 phénylcarbammates expérimentés comme fongicides et qui sont des analogues structuraux d'herbicides antimitotiques (barbane, chlorprophame, prophame, ...) (CORBETT *et al.*, 1984 ; DAVIDSE, 1986). Une seule intervention, courant montais, à l'aide du carbendazime ou d'un de ses précurseurs est normalement susceptible de fournir des efficacités égales ou supérieures à 70 p. 100. Mais, dans plusieurs pays dont la France, à partir de 1982, le développement de souches de *Pseudocercospora herpotrichoides* (Fron) Deighton résistantes à ces fongicides de la famille des « benzimidazoles » et (« thiophanates ») a entraîné de fortes réductions des efficacités pratiques (LEROUX & CAVELIER, 1983 ; CAVELIER *et al.*, 1985). Face à cette situation, il a fallu faire appel à d'autres fongicides et les seuls qui présentent une activité curative vis-à-vis de ce parasite sont actuellement des inhibiteurs de la biosynthèse des stérols. La première matière active développée en France a été le prochloraz qui comporte un hétérocycle « imidazole » ; quant au flusilazol, autorisé en France depuis 1985, il renferme un hétérocycle « triazole ». Ces 2 fongicides ont la même cible enzymatique au niveau de la biosynthèse des stérols : c'est la C14-déméthylase (LEROUX & BENVENISTE, 1985). Certains nouveaux « triazoles » comme le cyproconazole, l'hexaconazole ou le tebuconazole présentent également des activités anti-piétin-verse intéressantes.

Notre prospection réalisée depuis 1982, nous a montré que *P. herpotrichoides* présente une variabilité de sensibilité aux fongicides mentionnés précédemment. Dans cette publication, nous précisons les caractéristiques des divers phénotypes rencontrés en France sur blé d'hiver et présentons la méthodologie élaborée pour caractériser ceux présents chez une plante atteinte de piétin-verse.

II. CARACTÉRISTIQUES DES DIVERS PHÉNOTYPES DE *P. HERPOTRICHOIDES*

A. Matériel et méthodes

Les diverses souches étudiées, collectées sur blé d'hiver entre 1984 et 1987, sont maintenues, en absence de tout fongicide, sur des milieux gélosés (12,5 g agar-agar/l) à base de farine de maïs (40 g/l) ou de malt (cristomalt de DIFAL, 20 g/l).

Les structures chimiques des divers produits fongitoxiques expérimentés, *in vitro*, sur *P. herpotrichoides*

sont précisées dans les tableaux 1 et 2. Ils sont sous forme de produits techniques titrant au minimum 90 p. 100 de matière active.

Le milieu utilisé pour étudier la croissance mycélienne de *P. herpotrichoides* comporte pour 1 l d'eau désionisée : 2 g de KH_2PO_4 ; 1,5 g de K_2HPO_4 ; 1 g de $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$; 0,5 g de $\text{MgSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$; 2 g d'extrait de levure (Difco), 10 g de glucose et 12,5 g d'agar-agar. Après autoclavage, ce milieu maintenu en surfusion à 50 °C est distribué dans des boîtes de Petri de 10 cm de diamètre (20 ml/boîte). Après solidification, les boîtes sont inoculées à l'aide de disques de mycélium (5 mm de diamètre) prélevés à la périphérie de cultures âgées d'un mois environ. Les produits fongitoxiques étudiés sont incorporés dans le milieu gélosé en surfusion, sous forme de suspensions ou solutions éthanoliques. La concentration finale d'alcool dans le milieu est de 0,5 p. 100 et un témoin est réalisé dans ces mêmes conditions. Les essais sont conduits à 20 °C, à l'obscurité et les diamètres des plages mycéliennes mesurés tous les 7 jours pendant 3 à 4 semaines ; ces notations, réalisées sur 3 ou 4 répétitions par condition, permettent d'estimer les vitesses moyennes de croissance mycélienne. Pour chaque produit expérimenté, à partir d'au moins 4 concentrations, une courbe de réponse au fongicide est établie et conduit à la détermination d'une concentration inhibant la vitesse de croissance mycélienne de 50 p. 100 (CI50 « mycélium »).

Lorsque les études concernent la germination des spores de *P. herpotrichoides* et l'élongation des filaments germinatifs, le milieu retenu est de l'eau gélosée (12,5 g agar-agar/l) ; les produits fongitoxiques y sont incorporés comme précédemment. Le milieu, distribué dans des boîtes de Petri de 5,5 cm de diamètre (10 ml/boîte), est inoculé par étalement de 0,3 ml d'une suspension à 200 000 spores/ml. Les spores sont collectées chez des cultures d'une quinzaine de jours, conduites sur milieu à base de farine de maïs et soumises à un éclairage permanent en lumière noire (365 nm). Les pourcentages de spores germées et les longueurs des filaments germinatifs apicaux sont notés, après une incubation de 48 h à 20°, au microscope optique muni d'un micromètre oculaire (ces observations sont réalisées respectivement sur 100 et 25 spores par condition). Pour chaque produit expérimenté, à partir d'au moins 4 concentrations, il est possible d'établir une courbe de réponse et d'estimer les concentrations inhibant la germination des spores de 50 p. 100 (CI50 « germination ») et celles réduisant l'élongation des filaments germinatifs de 50 p. 100 (CI50 « filaments »). Lorsque les boîtes de Petri témoin sont conservées 5 à 7 jours à 20 °C, à la lumière du jour, une sporulation se produit chez la plupart des souches et des observations microscopiques sont effectuées afin de déterminer les conditions de formation des spores et leur forme.

B. Résultats

1. Résistance à des inhibiteurs de la biosynthèse des stérols

Au sein de l'espèce actuelle *P. herpotrichoides*, nous avons confirmé l'existence de différences morphologiques corrélées à des sensibilités variables avec des

inhibiteurs de la biosynthèse des stérols (LEROUX & GRETT, 1985). Nous avons distingué 2 types d'isolats qui présentent les caractéristiques suivantes :

Type I* : Ces souches présentent une vitesse de croissance mycélienne supérieure à 2 mm/j sur le milieu à base d'extrait de levure. Sur milieu à base de farine de maïs les colonies sont gris foncé à noir et au bout de 2 à 3 semaines le milieu présente une pigmentation vert foncé à noir. Sur eau gélosée, les spores produites sont généralement incurvées et chaque groupe a un point d'attache commun sur les hyphes.

Type II* : Ces souches présentent une vitesse de croissance mycélienne inférieure à 1,5 mm/j sur le milieu à base d'extrait de levure. Sur milieu à base de farine de maïs, les colonies sont gris clair et le milieu est peu ou pas pigmenté (gris ou brun clair). Sur eau gélosée, les spores produites sont rectilignes et chaque groupe présente plusieurs points d'attache sur les hyphes.

Les essais conduits avec la fenpropidine et le fenpropimorphe — 2 inhibiteurs de la $\Delta 14$ réduction et ou de la $\Delta 8 \rightarrow \Delta 7$ isomérisation des stérols — (LEROUX & BENVENISTE, 1985) permettent de distinguer les 2 types précédents. En effet, les souches de type II apparaissent toujours plus sensibles que celles de type I (tabl. 3). Le triadimorph, bien qu'ayant un mode d'action biochimique voisin des inhibiteurs précédents, présente un comportement inverse (ce sont les souches de type II qui apparaissent les moins sensibles) ; toutefois la détermination des CI50 est délicate avec le triadimorphe car les pentes des courbes de réponse sont faibles (fig. 1).

En utilisant plusieurs inhibiteurs de la C-14 déméthylation des stérols (LEROUX & BENVENISTE, 1985 ; LEROUX, 1987) nous avons prouvé que les souches à croissance rapide ne constituent pas un groupe homogène. Ainsi, dans nos conditions expérimentales, avec le triadiménol, les CI50 « mycélium » des souches de type I s'échelonnent de 0,5 mg/l à plus de 100 mg/l. La majorité des isolats décelés en France sont inhibés entre 0,5 et 2 mg/l ; regroupés au sein de la classe Ia, ils sont

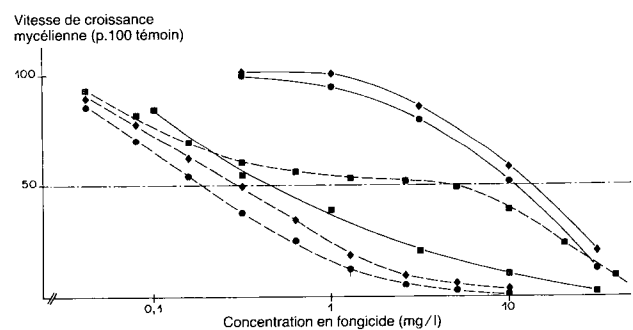


Figure 1

Effets du fenpropimorphe et du triadémorphe sur la croissance mycélienne de divers isolats de *P. herpotrichoides* (résultats obtenus avec 5 souches de chaque type).

Effects of fenpropimorph and triadimorph on the mycelial growth of various isolates of *P. herpotrichoides* (results obtained on five strains of each type).

● : type Ia ◆ : type Ib ■ : type II
 — fenpropimorphe - - - triadémorphe

*La nomenclature retenue dans cet article correspond à celle utilisée dans des publications antérieures par LEROUX & GRETT (1985, 1987).

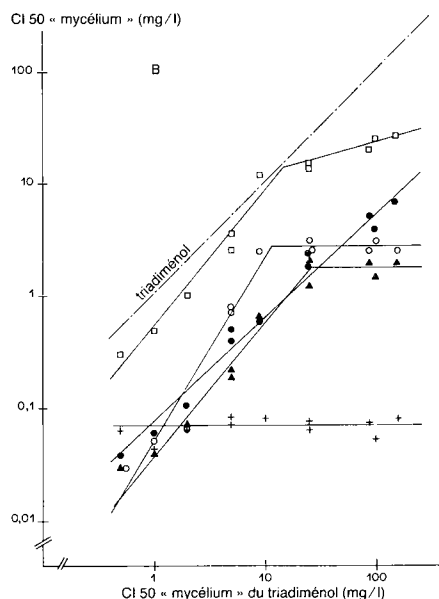
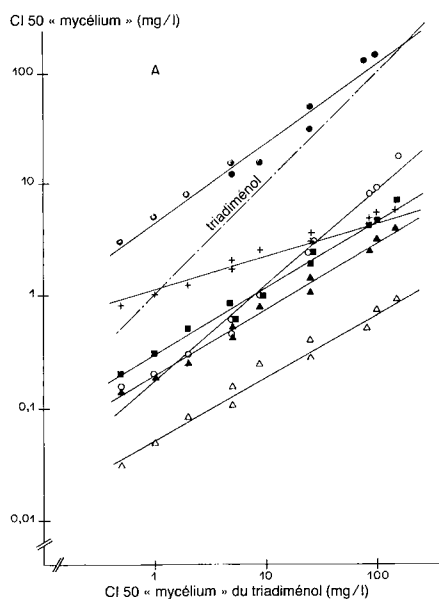


Figure 2

Relation entre la toxicité du triadiménol et celle d'autres inhibiteurs de la C-14 déméthylation des stérols sur onze souches de *P. herpotrichoides* à croissance rapide (type I).

Relation between the toxicity of triadimenol and that of other inhibitors of sterol C-14 demethylation on eleven fast-growing (type I) strains of *P. herpotrichoides*.

A : ● : triadiméfon + : dichlobutrazol ■ : tebuconazole
 ○ : cyproconazole ▲ : propiconazole △ : flusilazole
 B : □ : triflumizole ○ : pyrifénox ● : penconazole
 ▲ : hexaconazole + : prochloraze

considérés comme sensibles aux inhibiteurs de la C-14 déméthylation des stérols (tabl. 3). Les autres isolats sont inhibés à des concentrations en triadiménol supérieures à 5 mg/l ; elles sont qualifiées de résistantes et répertoriées Ib. Les courbes présentées dans la figure 2 illustrent la correspondance existant entre les CI50 « mycélium » obtenues avec le triadiménol et d'autres fongicides sur diverses souches de *P. herpotrichoides* à croissance rapide (Ia ou Ib). En échelles logarithmiques, on obtient des relations linéaires entre les réponses sur le

TABLEAU I

Structures des composés fongitoxiques susceptibles de présenter une activité antimétabolique chez P. herpotrichoides.
Structures of antifungal compounds which can present antimetabolic activity on P. herpotrichoides.

Nom commun (ou trivial)	Nomenclature chimique
1 — Fongicides « benzimidazoles » et thiophanates	
bénomyl	méthyl 1-(butylcarbamoyl)benzimidazol-2-ylcarbamate
carbendazime	méthyl benzimidazol-2-ylcarbamate
thiabendazole	2-(thiazol-4-yl) benzimidazole
thiophanate-méthyl	diméthyl 4,4-(o-phénylène)bis(3-thioallophanate)
2 — Pesticides N-phénylcarbamates	
barbane	4-chloro-2-ynyl 3-chlorocarbanilate
chlorprophame	isopropyl 3-chlorocarbanilate
diéthofencarbe	isopropyl 3,4-diéthoxycarbanilate
M.D.P.C.	méthyl 3,5-dichlorocarbanilate
3 — Autres composés	
biphényl	biphényl
dicloran	2,6-dichloro-4-nitroaniline
diphénylamine	—
édifenphos	O-éthyl S,S-diphényl phosphorodithioate
étridiazole	éthyl 3-trichlorométhyl-1,2,4-thiadiazol-5yl éther
fluorène	diphénylène-méthane
isoprothiolane	di-isopropyl 1,3-dithiolan-2-ylidène-malonate
o-phénylphénol	biphényl-2-ol
tolclofos-méthyl	O-2,6-dichloro-p-tolyl O,O-diméthyl phosphorothioate

triadiménol et celles sur la plupart des autres « triazoles » ; l'hexaconazole se singularise par une rupture de pente pour les souches les plus résistantes. Deux autres inhibiteurs de la C-14 déméthylation des stérols n'appartenant pas à la famille des triazoles se comportent comme l'hexaconazole ; ce sont le pyrifénox et le triflumizole (fig. 2). Enfin le prochloraze, comme d'ailleurs un autre « imidazole » le kétoconazole présentent une activité similaire sur toutes les souches à croissance rapide. En se basant sur les résultats présentés dans le tableau I, il s'avère que tous les isolats à croissance lente (type II) et ceux à croissance rapide fortement résistants au triadiménol (CI50 « mycélium » de l'ordre de 100 mg/l) ont des comportements similaires vis-à-vis des inhibiteurs de la C-14 déméthylation des stérols.

Les essais réalisés sur spores montrent que les inhibiteurs de la biosynthèse des stérols n'affectent pas la germination. Par contre, l'élongation des filaments germinatifs est plus ou moins fortement inhibée (les filaments sont ramifiés, trapus mais ne présentent jamais d'enroulements ou de crosses). Généralement, chez les souches de type Ia, les CI50 « filament » sont plus faibles que les CI50 « mycélium » (tabl. 3). Cependant, il se confirme que les isolats de type Ib et II présentent également une sensibilité réduite à bon nombre d'inhibiteurs de la C14 déméthylation des stérols au stade de l'élongation des filaments germinatifs. Il convient toutefois de souligner le comportement particulier du diclobutrazol pour lequel la résistance ne s'exprime pas à ce stade alors qu'elle est détectée au niveau du mycélium. Le paclobutrazol, un analogue structural de ce fongicide, développé comme régulateur de croissance, ne présente pas cette particularité (tabl. 3).

Pour des mutants induits en laboratoire (type Ic) la résistance s'exprime à la fois avec le prochloraze, et le triadiménol ainsi que vis-à-vis de la plupart des autres

inhibiteurs de la C14 déméthylation des stérols (tabl. 3). La résistance de ces mutants à ces fongicides, comme d'ailleurs celle des isolats naturels de type Ib et II, est un caractère stable puisqu'en culture pure, sans fongicide elle se maintient plusieurs années après de nombreux repiquages. Enfin, nous pouvons signaler que nous n'avons jamais pu induire (après mutagenèse ou non), à partir de souches à croissance rapide de type Ia des mutants résistants à des inhibiteurs de C14 déméthylation des stérols ayant un faciès identique au type II observé dans la nature.

2. Résistance aux fongicides « benzimidazoles »

Les 4 phénotypes B, C, D et E mentionnés dans les tableaux 4 et 5 se rencontrent couramment dans la nature ; en présence de carbendazime, ils se caractérisent par des CI50 « mycélium » et CI50 « filament » respectivement supérieures à 10 mg/l et à 1 mg/l. Deux autres phénotypes (F et G) moins résistants au carbendazime ont été caractérisés mais ils semblent rares en France (tabl. 4 et 5). La résistance croisée positive est toujours observée entre le carbendazime, le thiabendazole, le benomyl et le thiophanate-méthyl. Il convient d'observer que ces 2 derniers fongicides inhibent la germination des spores de toutes les souches de *P. herpotrichoides* à des concentrations similaires (tabl. 5).

Les phénotypes B et C présentent une sensibilité accrue, comparativement au phénotype A (sensible aux « benzimidazoles ») vis-à-vis du barbane, du chlorprophame, du diéthofencarbe et du M.D.P.C. (tabl. 4 et 5). Ce résultat confirme l'existence d'une résistance croisée négative entre ces composés « phénylcarbamates » et les fongicides « benzimidazoles » dont l'action primaire se situe au niveau des microtubules (DAVIDSE, 1986). Il

TABLEAU 2

Structures d'inhibiteurs de la biosynthèse des stérols.
Structures of inhibitors of sterol biosynthesis.

Nom commun	Nomenclature chimique
1 — Inhibiteurs de la C-14 déméthylation des stérols, comportant l'hétérocycle :	
11 — Imidazole	
imazalil	(RS)-allyl 1-(2,4-dichlorophényl)-2-imidazol-1-yléthyl éther
kétoconazole	(RS)- <i>cis</i> -1-acétyl-4-[4-[[2-(2,4-dichlorophényl)-2-(1H-imidazol-1-yl-méthyl)-1,3-dioxolan-4-yl]méthoxy]phényl]pipérazine
prochloraz	N-propyl-N-[2-(2,4,6-trichlorophénoxy)éthyl]imidazole-1-carboxamide
triflumizole	(E)-4-chloro- α,α,α -trifluoro-N-(1-imidazol-1-yl-2-propoxyéthylidène)-o-toluidine
12 — Pyridine	
buthiobate	butyl 4-tert-butylbenzyl N-(3-pyridyl)dithiocarbonimide
pyrifénox	2',4'-dichloro-2-(3-pyridyl)acétophénone O-méthylxime
13 — Pyrimidine	
fénarimol	(RS)-2,4'-dichloro- α -(pyrimidin-5-yl)benzhydryl alcool
nuarimol	(RS)-2-chloro-4'-fluoro- α -(pyrimidin-5-yl)benzhydryl alcool
14 — Triazole	
bitertanol	(RS)-1-(biphényl-4-yloxy)-3,3-diméthyl-1-(1H-1,2,4-triazol-1-yl)butan-2-ol
cyproconazole	(2RS,3RS)-2-(4-chlorophényl)-3-cyclopropyl-1-(1H-1,2,4-triazol-1-yl)butan-2-ol
diclobutrazol	(2RS,3RS)-1-(2,4-dichlorophényl)-4,4-diméthyl-2-(1H-1,2,4-triazol-1-yl)pentan-3-ol
dimiconazole	(E)-(RS)-1-(2,4-dichlorophényl)-4,4-diméthyl-2-(1H-1,2,4-triazol-1-yl)pent-1-en-3-ol
flusilazol	bis (4-fluorophényl)méthyl (1H-1,2,4-triazol-1-ylméthyl)silane
flutriafol	(RS)-2,4'-difluoro- α (1H-1,2,4-triazol-1-ylméthyl)benzhydryl alcool
hexaconazole	(RS)-2-(2,4-dichlorophényl)-1-(1H-1,2,4-triazol-1-yl)hexan-2-ol
myclobutanil	(RS)-2-p-chlorophényl-2-(1H-1,2,4-triazol-1-ylméthyl)hexanenitrile
paclobutrazol	(2RS,3RS)-1-(4-chlorophényl)-4,4-diméthyl-2-(1H-1,2,4-triazol-1-yl)pentan-3-ol
penconazole	(RS)-1-(2,4-dichloro- β -propylphényl)-1H-1,2,4-triazole
propiconazole	(RS)-1-[2-(2,4-dichlorophényl)-4-propyl-1,3-dioxolan-2-ylméthyl]-1H-1,2,4-triazole
tebuconazole	(RS)-1-(4-chlorophényl)-4,4-diméthyl-3-(1H-1,2,4-triazol-1-ylméthyl)pentan-3-ol
triadiméfon	(RS) 1-(4-chlorophénoxy)-3,3-diméthyl-1-(1H-1,2,4-triazol-1-yl)butanone
triadiménol	(RS) 1-(4-chlorophénoxy)-3,3-diméthyl-1-(1H-1,2,4-triazol-1-yl)butan-2-ol
2 — Inhibiteurs de la $\Delta 14$ réduction et/ou de la $\Delta 8 \rightarrow \Delta 7$ isomérisation des stérols	
fenpropidine	(RS)-1-[3-(4-tert-butylphényl)-2-méthylpropyl]pipéridine
fenpropimorphe	(RS)- <i>cis</i> -4-[3-(4-tert-butylphényl)-2-méthylpropyl]-2,6-diméthylmorpholine
tridémorphe	2,6-diméthyl-4-tridécyll morpholine

convient de signaler qu'au sein de la famille des phényl-carbamates les 2 herbicides étudiés (barbane et chlorprophame) ainsi que le fongicide expérimental M.D.P.C. présentent un spectre de résistance croisée plus large que celui du fongicide diéthofencarbe puisque seuls les 3 premiers pesticides mentionnés affectent fortement les phénotypes D et G (ce phénomène est exprimé particulièrement au niveau de l'élongation et de la morphologie des filaments germinatifs) (tabl. 5). La diphenylamine, utilisable contre l'échaudure des pommes et des poires, présente un comportement similaire à celui des herbicides précédents ; cette propriété (résistance croisée négative entre fongicides « benzimidazoles » et diphenylamine) a été initialement décrite chez *Penicillium expansum* (ROSENBERGER & MEYER, 1985).

Suite à une très large prospection au sein des diverses familles de fongicides à usages agricoles, nous avons constaté que certains d'entre eux affectaient des phénotypes de *P. herpotrichoides* résistants aux « benzimidazoles ». C'est ainsi que le biphényl, le dicloran, l'o-phénylphénol, le toclofos-méthyl et l'étridiazole inhibent fortement l'élongation des filaments germinatifs et provoquent des déformations caractéristiques (enroulements, crosses) chez les phénotypes B ; cette sensibilité accrue est parfois exprimée dans les essais sur

la croissance mycélienne. Le composé acromatique polycyclique : fluorène a le même comportement que les fongicides précédents (tabl. 4 et 5). Les fongicides dicarboximides (iprodione, procymidone, vinchlozoline) ou le quintozone bien qu'ayant des modes d'action voisins de ceux des produits précédents (LEROUX & FRITZ, 1984) ne possèdent pas cette propriété. Quant à l'édifénphos et à l'isoprothiolane, développés contre la pyriculariose du riz et connus comme inhibiteurs de la biosynthèse de phospholipides (CORBETT *et al.*, 1984), ils présentent en commun une fongitoxicité accrue au niveau des phénotypes B et G (surtout dans les essais sur spores).

Avant de clore ce chapitre sur la résistance aux fongicides « benzimidazoles », il convient d'indiquer que les déformations caractéristiques des filaments germinatifs (enroulements, crosses) (tabl. 5) sont probablement liées à des perturbations du fonctionnement ou de la fonction des microtubules cellulaires (DAVIDSE, 1986). Quant aux inhibitions de la germination des spores, observées à des doses généralement plus élevées que celles affectant les hyphes, elles sont conditionnées par une action secondaire sur les phénomènes respiratoires. Cet effet est sous la dépendance de la molécule initiale (dérivés « phénylcarbamates », o-phénylphénol, étridiazole, diphenylamine) ou de métabolites (bénomyl, thiophanate-méthyl) (CORBETT *et al.*, 1984).

TABLEAU 3

Effets d'inhibiteurs de la biosynthèse des stérols sur la croissance mycélienne et l'élongation des filaments germinatifs des spores de diverses souches de *P. herpotrichoides*. Chaque valeur correspond à une concentration, en mg/l, qui inhibe ces processus de 50 p. 100 : respectivement CI50 « mycélium » et CI50 « filament » (moyennes de 4 souches pour les types Ia, Ic et II et de 3 souches, parmi les plus résistantes au triadiménol, pour le type Ib).

Effects of inhibitors of sterol biosynthesis on mycelial growth rate and germ tube elongation of strains of *P. herpotrichoides*. Each value represents a concentration, in mg/l, which inhibits these processes by half : respectively CI50 « mycelium » and CI50 « filament » (the results are means of 4 strains or types Ia, Ic and II and of 3 strains among the more resistant ones toward triadimenol, for type Ib).

Famille chimique	Produits fongitocides	Souche à croissance rapide de type :						Souche à croissance lente : type II	
		Ia « filament »	Ia « mycélium »	Ib « filament »	Ib « mycélium »	Ic « filament »	Ic « mycélium »	CI50 « filament »	CI50 « mycélium »
1 — Inhibiteurs de la C-14 déméthylation des stérols									
« imidazoles »	imazalil	0,003	0,05	0,03	0,4	0,3	0,5	0,03	0,5
	kétoconazole	0,02	0,5	0,03	1,5	0,05	1,0	0,03	1,0
	prochlorazé	0,005	0,05	0,005	0,07	0,4	0,3	0,003	0,02
	triflumizole	0,07	0,4	8,0	20	5,0	3,2	4,0	40
« pyridines »	buthiobate	0,3	10	> 100	> 100	> 100	> 100	> 100	> 100
	pyrifénox	0,03	0,05	4,0	2,5	0,5	0,3	2,5	3,0
« pyrimidines »	fénarimol	0,2	0,6	3,0	3,5	4,2	6,5	1,5	4,0
	nuarimol	0,3	0,7	1,5	3,0	10	5,5	1,3	3,5
« triazoles »	bitertanol	0,1	0,5	2,5	4,0	0,5	2,2	1,0	5,0
	cyproconazole	0,05	0,2	2,5	9,0	7,0	4,0	2,5	8,0
	diclobutrazol	0,5	1,0	1,0	5,0	7,5	8,2	0,9	6,0
	dimiconazole	0,1	0,5	0,7	2,5	4,2	4,2	0,4	3,0
	flusilazol	0,01	0,05	0,2	0,7	2,5	1,0	0,2	0,6
	flutriafol	0,2	0,7	4,0	4,5	25	10	2,5	9,0
	hexaconazole	0,005	0,05	0,4	1,8	1,0	0,5	0,5	1,5
	myclobutanil	0,1	0,3	4,0	7,0	15	5,0	3,0	9,0
	paclobutrazol	0,6	0,7	12	8,0	20	4,8	6,0	9,0
	penconazole	0,01	0,05	2,0	5,0	2,0	1,2	1,0	10
	propiconazole	0,02	0,2	0,4	3,0	1,0	2,0	0,3	2,0
	tebuconazole	0,02	0,3	0,8	4,0	1,5	1,5	0,5	4,0
triadiméfon	1,5	4,5	25	> 100	40	20	25	> 100	
triadiménol	0,2	1,0	25	100	18	10	10	> 100	
2 — Inhibiteurs de la $\Delta 14$ réduction ou/et de la $\Delta 8 \rightarrow \Delta 7$ isomérisation des stérols									
	fenpropidine	0,5	25	0,5	25	0,5	25	0,2	7
	fenpropimorphe	0,06	14	0,08	12	0,2	12	0,02	0,8
	tridémorphe	0,04	0,3	0,06	0,6	0,7	0,6	0,7	3,0

III. DÉTECTION DES DIVERS PHÉNOTYPES DE *P. HERPOTRICHOIDES* AU NIVEAU DE PLANTES ATTEINTES DE PIÉTIN-VERSE

Au vu des résultats présentés dans le chapitre précédent, il s'avère que les populations de *P. herpotrichoides* au sein d'une parcelle de blé d'hiver risquent d'être très hétérogènes. En effet, en se basant sur les seuls critères de résistance aux fongicides « benzimidazoles » et aux inhibiteurs de la biosynthèse des stérols, il est possible de rencontrer au minimum 15 phénotypes [(A, B, C, D ou E) \times (Ia, Ib ou II)]; nous les avons effectivement tous détectés. Pour poursuivre nos investigations sur la distribution de ces divers phénotypes nous avons élaboré une méthode permettant, après les avoir isolés de plantes atteintes de piétin-verse, de les caractériser.

A. Détection rapide de la résistance aux inhibiteurs de la C-14 déméthylation des stérols et aux « benzimidazoles »

Sur un échantillon parcellaire représentatif, des fragments de tige (ou de pseudo-tige) de 2 à 4 cm de long et

portant des symptômes typiques de piétin-verse sont prélevés. Rincés abondamment à l'eau du robinet, séchés avec du papier filtre, ils subissent une désinfection à l'hypochlorite de sodium (solution à 2 p. 100 ; immersion pendant 3 min). Après 3 transferts dans de l'eau stérile, les fragments sont séchés avec du papier filtre stérile. Sur chaque fragment 6 à 9 cylindres de 1 à 2 mm de haut sont débités à l'aide d'un scalpel stérile au niveau des taches de piétin-verse. Ces cylindres sont déposés à la surface d'un milieu à base de farine de maïs (20 ml/boîte de Petri de 10 cm de diamètre) renfermant dans tous les cas de la streptomycine, de la pénicilline G et de l'iprodione (100 mg/l de ces divers produits) et qui comporte par ailleurs, soit du carbendazime (5 mg/l), soit du triadiménol (30 mg/l) ou aucune de ces 2 matières actives.

Ces divers composés sont incorporés dans le milieu en surfusion à 50 °C sous forme de solutions ou suspensions éthanoliques ; la concentration finale en alcool ne dépasse pas 0,5 p. 100. Les antibiotiques sont utilisés pour réduire le développement des bactéries ; quant à l'iprodione elle élimine *Rhizoctonia cerealis* et *Fusarium nivale* 2 parasites qui sont fréquemment rencontrés en

TABLEAU 4

Effets de divers composés sur la croissance mycélienne de souches de *P. herpotrichoides* sensibles ou résistantes aux fongicides « benzimidazoles » ; chaque valeur correspond à une concentration en mg/l qui inhibe ce processus de 50 p. 100 (CI50 « mycélium ») [moyennes de 3 souches à croissance rapide pour A, B, C, D, E et de 2 souches pour F et G].

Effects of various compounds on the mycelial growth rate of strains of *P. herpotrichoides* sensitive or resistant to « benzimidazole » fungicides. Each value represents a concentration in mg/l which inhibits this process by half (the results are means of either 3 strains for phenotypes A, B, C, D, E or 2 strains for phenotypes F, G).

Famille chimique	Produits fongitoxiques	Phénotypes de <i>P. herpotrichoides</i>						
		A	B	C	D	E	F	G
« benzimidazoles » (thiophanates)	bénomyl	0,05	20	> 100	50	5	2,0	0,5
	carbendazime	0,04	50	> 100	> 100	15	1,5	0,5
	thiabendazole	0,2	2,0	40	8,0	35	3,5	35
	thiophanate-méthyl	0,4	> 100	> 100	> 100	> 100	50	20
« phényl-carbamates »	barbane	20	0,4	2,5	15	20	20	10
	chlorprophame	45	5,0	15	5,0	45	45	35
	diéthofencarbe	100	0,07	0,2	> 100	> 100	> 100	> 100
	M.D.P.C.	13	0,2	0,3	0,8	11	12	4,0
« divers »	biphényl	> 100	20	> 100	> 100	> 100	> 100	> 100
	dicloran	50	10	50	50	50	50	50
	diphénylamine	20	5,0	10	7,0	20	20	15
	édifenphos	150	40	150	50	100	120	40
	étridiazole	70	15	70	70	70	70	70
	fluorène	> 100	5,0	> 100	> 100	> 100	> 100	> 100
	isoprothiolane	45	12	50	35	40	45	25
	o-phényl-phénol	25	7,0	25	20	20	20	20
	tolclofos-méthyl	> 100	> 100	> 100	> 100	> 100	> 100	> 100

TABLEAU 5

Effets de divers composés sur la germination des spores de souches de *P. herpotrichoides* sensibles ou résistantes aux fongicides « benzimidazoles ». Chaque valeur précédant le signe + ou - correspond à une concentration en mg/l qui inhibe l'élongation des tubes germinatifs de 50 p. 100 (CI50 « filaments ») ; les symboles - et + indiquent l'absence et la présence de déformations (enroulements, crosses) des apex des filaments germinatifs. Chaque valeur entre parenthèses représente une concentration inhibant la germination des spores de 50 p. 100 (CI50 « germination ») [moyennes de 3 souches à croissance rapide pour A, B, C, D, E et de 2 souches pour F et G].

Effects of various compounds on spore germination of strains of *P. herpotrichoides* sensitive or resistant to « benzimidazole » fungicides. Each value before the symbols + or - represents a concentration in mg/l which inhibits the germ tube elongation by half, the symbols - and + indicate respectively the absence and the presence of typical distortions of germ tubes. Each value in brackets represents a concentration in mg/l which inhibits spore germination by half (the results are means of either 3 strains for phenotypes A, B, C, D, E or 2 strains for phenotypes F, G).

Produits fongitoxiques	Phénotypes de <i>P. herpotrichoides</i>							
	A	B	C	D	E	F	G	
bénomyl	0,05+(15)	5,0+(20)	10-(25)	2,0+(15)	5,0+(25)	1,0+(15)	0,4+(15)	
carbendazime	0,03+(> 100)	25+(> 100)	100-(> 100)	27+(> 100)	4,0+(> 100)	0,5+(> 100)	0,2+(> 100)	
thiabendazole	0,2+(90)	1,5+(100)	30(> 100)	4+(> 100)	17-(> 100)	1,0+(100)	25-(> 100)	
thiophanate-méthyl	0,7+(15)	18-(20)	16-(20)	10+(15)	10+(15)	15-(20)	10+(15)	
barbane	3,0-(20)	0,05+(10)	0,2+(15)	1,0+(15)	2,5-(20)	2,5-(15)	1,5+(15)	
chlorprophame	20-(60)	3,0+(40)	6,0+(50)	2,0+(40)	20-(60)	20-(50)	7,5+(40)	
diéthofencarbe	> 50-(> 50)	0,03+(> 50)	0,2+(> 50)	> 50-(50)	> 50-(> 50)	> 50-(> 50)	> 50(> 50)	
M.D.P.C.	10-(40)	0,3+(25)	0,4+(30)	1,0+(30)	10-(35)	12-(30)	3,0+(50)	
biphényl	25+(> 100)	15+(> 100)	25-(> 100)	25-(> 100)	25-(> 100)	25-(> 100)	25-(> 100)	
dicloran	100-(> 100)	3,0+(> 100)	70+(> 100)	80-(> 100)	100-(> 100)	100-(> 100)	100-(> 100)	
diphénylamine	9,0-(30)	1,5+(20)	4,0+(25)	1,5+(15)	9,0-(30)	9,0-(25)	3,0+(15)	
édifenphos	25-(> 50)	10+(> 50)	25-(> 50)	10+(> 50)	20-(> 50)	25-(> 50)	5+(> 50)	
étridiazole	40-(50)	5,0+(40)	40-(60)	20+(50)	35-(50)	35-(60)	30-(50)	
fluorène	> 50-(> 50)	0,5+(> 50)	> 50(> 50)	> 50-(> 50)	> 50-(> 50)	> 50-(> 50)	> 50-(> 50)	
isoprothiolane	45-(> 50)	6,0+(> 50)	45-(> 50)	40-(> 50)	30-(> 50)	40-5> 50)	12+(> 50)	
o-phénylphénol	5,0-(15)	0,5+(10)	5,0-(12)	5,0-(15)	5,0-(10)	5,0-(12)	5,0-(10)	
tolclofos-méthyl	25-(> 50)	1,0+(> 50)	25-(> 50)	25-(> 50)	50-(> 50)	50-(> 50)	50-(> 50)	

même temps que *P. herpotrichoides*. Pour l'instant nous n'avons pas trouvé de solution satisfaisante pour supprimer *Fusarium roseum* (il est peu sensible à l'iprodione) qui peut connaître un développement important notamment au moment de l'épiaison. Pour ces isollements, la farine de maïs peut être remplacée par du malt (10 à 20 g/l); on peut également sans inconvénient majeur utiliser du P.D.A. (il faut toutefois savoir qu'une même souche donne des colonies dont les faciès sont différents selon les milieux).

Les colonies de *P. herpotrichoides* issues des divers cylindres (2 à 3 cylindres par condition) sont observées après une incubation de 10 à 20 jours à 20 °C, à l'obscurité. Pour les diverses conditions on note la présence, la couleur et la taille des colonies ainsi que la pigmentation des milieux de culture. Les informations ainsi recueillies nous fournissent une première indication sur les divers phénotypes présents au niveau de chaque tige (et également pour l'ensemble de l'échantillon parcellaire). Ainsi, sur le milieu sans carbendazime ni triadiménol, toutes les souches présentes au niveau d'un fragment végétal peuvent en principe se développer, mais en cas de mélange de plusieurs phénotypes nous avons constaté qu'il n'était pas toujours aisé de tous les isoler. Aussi, les isollements sur un milieu à base de triadiménol ont l'intérêt de totalement inhiber la majorité des souches à croissance rapide (type Ia) et permettre la détection de souches à croissance lente (type II) souvent masquées par les précédentes; dans ces conditions les souches de type Ib sont également révélées. L'utilisation du milieu à base de carbendazime, quant à lui, autorise la détection rapide des souches résistantes aux « benzimidazoles » les plus couramment rencontrées dans la nature à l'heure actuelle (phénotypes B, C, D, E) (tabl. 6).

B. Détermination du phénotype de chaque isolat

La caractérisation définitive des divers isolats est réalisée à partir d'essais sur spores dans les conditions suivantes. A la marge des diverses colonies obtenues lors des isollements précédents (en présence ou non de

carbendazime ou de triadiménol) des implants sont repiqués sur du milieu gélosé à base de farine de maïs renfermant uniquement de la streptomycine et de la pénicilline G (10 ml/boîte de Petri de 5,5 cm de diamètre). Après un séjour d'une semaine à 18-20 °C (obscurité ou lumière du jour) les cultures sont transférées à 15 °C et soumises à un éclairage permanent en lumière noire pendant 10 à 20 jours. Dans ces conditions, la quasi-totalité des souches de *P. herpotrichoides* produisent des spores caractéristiques qui permettent ainsi de les différencier des autres espèces fongiques dont les colonies mycéliennes présentent des similitudes. Par la suite, pour chaque isolat, une suspension conidienne est réalisée après immersion et agitation de fragments de colonies dans de l'eau stérile. Après comptage des spores à l'hématimètre (cellule de Malassez), des dilutions sont éventuellement réalisées de manière à obtenir une concentration de 100 000 à 300 000 spores/ml. L'effet de divers produits fongitoxiques sur l'élongation des filaments germinatifs est ensuite étudié selon la méthode décrite dans le chapitre précédent. La nature des produits fongitoxiques et leurs concentrations sont choisies de manière à être aisément discriminantes vis-à-vis des divers phénotypes (tabl. 7 et 8). Une observation rapide des filaments germinatifs (sans mesure précise au micromètre oculaire) permet de savoir si un produit entraîne une inhibition de leur élongation supérieure à 75 p. 100, comprise entre 50 et 75 p. 100 ou inférieure à 50 p. 100. La méthode ne nécessite pas de comptage de spores car généralement toutes celles issues d'un isolat sont du même phénotype. En cas de mélanges de plusieurs souches, le comptage de diverses « classes » de spores germées (en fonction de la longueur des filaments germinatifs), permet de déterminer la nature des phénotypes en mélange. Pour limiter les risques d'erreur, des recouplements sont réalisés (notamment à l'aide de produits ayant des structures différentes) et, en outre, tout essai comporte des souches dont le phénotype est connu.

La caractérisation des phénotypes A, B, C, D, E, F et G est possible en routine à l'aide de thiabendazole aux concentrations de 1 et 10 mg/l, de carbendazime

TABLEAU 6

Conditions de croissance des divers types de souches de *P. herpotrichoides* sur les milieux d'isolement à base de farine de maïs (les symboles – et + indiquent respectivement la présence ou l'absence d'une colonie après une incubation d'environ 2 semaines).

Growth conditions of various strains of *P. herpotrichoides* on corn meal agar media (the symbols – and + indicate respectively the presence or the absence of a fungal colony after an incubation time of about 2 weeks).

Conditions	Phénotypes/« benzimidazoles »							Phénotypes/inhibiteurs des stérols		
	A	B	C	D	E	F	G	Ia	Ib	II
témoin	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
carbendazime 5 mg/l	–	+	+	+	+	–	–	+/-	+/-	+/-
triadiménol 30 mg/l	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-	–	+	–

colonies foncées

colonies
claires

TABLEAU 7

Caractérisation des divers types de souches de *P. herpotrichoides* en fonction de leur sensibilité à des pesticides « benzimidazoles » et phénylcarbamates (dans les essais sur spores, les symboles ++, +, - signifient que les filaments germinatifs apicaux des spores ont subi de la part des produits testés des inhibitions respectivement supérieures à 75 p. 100, comprises entre 75 et 50 p. 100 et inférieures à 50 p. 100).

Characterization of strains of *P. herpotrichoides* in terms of their sensitivity towards « benzimidazole » or « phenylcarbamate » pesticides (in spore tests, the symbols ++, + and - represent respectively inhibition of apical germ tube elongation greater than 75 %, included between 50 and 75 % and lower than 50 %).

Conditions	Phénotypes de <i>P. herpotrichoides</i>						
	A	B	C	D	E	F	G
thiabendazole 1 mg/l	++	+/-	-	-	-	+/-	-
thiabendazole 10 mg/l	++	++	-	+	-	++	-
carbendazime 5 mg/l	++	-	-	-	+	++	++
diéthofencarbe 2 mg/l	-	++	++	-	-	-	-
chlorprophame 5 mg/l	-	+/-	+/-	++/++	-	-	-
diéthofencarbe 2 mg/l +	++	++	++	-	+	++	++
carbendazime 5 mg/l							

(5 mg/l), de diéthofencarbe (2 mg/l) et de chlorprophame (5 mg/l) (tabl. 7).

Pour les inhibiteurs de la biosynthèse des stérols, en utilisant le buthiobate (4 mg/l) et le triadiménol (1,5 mg/l) nous pouvons sans ambiguïté séparer les phénotypes Ia des Ib et II ; parmi les autres possibilités nous pouvons signaler le cyproconazole à 0,2 mg/l. En fait ces 3 produits (aux concentrations mentionnées) fournissent le même type de résultat (tabl. 8). Bien que le buthiobate soit totalement inefficace sur le piétin-verse, nous avons retenu cet inhibiteur de la C-14 déméthylation des stérols, en complément d'un « triazole » de par sa bonne valeur discriminante. C'est pour la raison inverse que nous n'avons pas retenu des « triazoles » comme le propiconazole ou le flusilazol.

Les essais, sur spores, réalisés avec des inhibiteurs de la C-14 déméthylase des stérols ne permettent pas de différencier les souches de types Ib et II. Cependant, une première information est disponible au vu de leur comportement sur le milieu d'isolement à base de farine de maïs (tabl. 6). L'examen de la sporulation sur eau gélosée (boîtes témoins des essais sur la germination des spores, conservées dans les conditions décrites au chapitre précédent) est susceptible d'apporter un élément complémentaire. Si un doute subsiste, des vérifications peuvent être réalisées en repiquant les souches sur un milieu à base d'extrait de levure (20 °C, obscurité) en présence ou en absence de fenpropimorphe (10 mg/l). Une observation du développement du champignon pendant 3 semaines permet une caractérisation définitive (Ib ou II) (tabl. 8). Dans le cas où nous avons affaire à une souche à croissance rapide résistante au triadiménol (type Ib), la détermination de la CI50 « mycélium » sur cet inhibiteur de la C14-déméthylation des stérols ou sur d'autres, nécessite des essais complémentaires.

La méthode que nous proposons peut être complétée par des essais avec le prochloraze afin de détecter les éventuelles souches résistantes à ce fongicide. Pour ce faire nous avons retenu dans les essais sur spores les concentrations de 0,01 et 0,05 mg/l ; nous avons fait ce choix en fonction du comportement des mutants induits en laboratoire (phénotype Ic) (tabl. 8).

IV. DISCUSSION

Chez *P. herpotrichoides*, comme chez de nombreux autres champignons phytopathogènes, il existe dans la nature, plusieurs phénotypes résistants aux fongicides « benzimidazoles ». Les plus fréquemment rencontrés sont fortement résistants au carbendazime (B, C, D, E). Leur caractérisation comme d'ailleurs celle des souches sensibles au carbendazime (A) ou faiblement résistantes (F, G) est aisément réalisable à l'aide d'une étude de germination des spores. La méthode proposée peut d'ailleurs être simplifiée si on se contente d'apprécier uniquement les fréquences des souches sensibles (phénotype A) et celles des souches résistantes les plus communes (phénotypes B, C, D, E). En effet, tant sur spores que sur mycélium, on peut se contenter d'étudier un seul produit : le carbendazime (la dose que nous avons retenue est de 5 mg/l mais celle de 2 mg/l choisie dans d'autres laboratoires fournit des résultats similaires). Cette simplification est d'autant plus justifiée que dans la nature le carbendazime ou ses précurseurs (bénomyl, thiophanate-méthyl) sont totalement inefficaces vis-à-vis des phénotypes B, C, D et E. Toutefois ces divers phénotypes peuvent être utilisés comme des marqueurs spécifiques, notamment dans le cadre d'études sur la dynamique des populations de *P. herpotrichoides*.

Suite aux prospections que nous avons réalisées ces 5 dernières années, nous proposons de distinguer 3 types de souches de *P. herpotrichoides* en fonction de leur comportement vis-à-vis d'inhibiteurs de la biosynthèse des stérols. Sur milieu à base d'extrait de levure (voir matériel et méthodes), leurs caractéristiques respectives sont :

+ type Ia : souches à croissance rapide, sensibles au triadiménol et peu sensible au fenpropimorphe.

+ type Ib : souches à croissance rapide plus ou moins résistantes au triadiménol et peu sensibles au fenpropimorphe.

+ type II : souches à croissance lente ; résistantes au triadiménol et sensibles au fenpropimorphe.

La principale différence, par rapport aux phénotypes déterminés à l'aide des fongicides « benzimidazoles »,

TABLEAU 8

Caractérisation des divers types de souches de *P. herpotrichoides*, en fonction de leur sensibilité à des inhibiteurs de la biosynthèse des stérols (les symboles ++, + et - pour les essais sur spores sont similaires à ceux du tableau 5 ; pour les essais sur mycélium ils indiquent respectivement une inhibition de la vitesse de croissance supérieure à 75 p. 100, comprise entre 50 et 75 p. 100 et inférieure à 50 p. 100).

Characterization of strains of *P. herpotrichoides* in terms of their sensitivity towards inhibitors of sterol biosynthesis (the symbols ++, + and - used for spore tests are the same as in table 5 ; for mycelium tests they represent respectively inhibitions of the mycelial growth rate greater than 75 %, included between 50 and 75 % and lower than 50 %).

Conditions	Souches de type :			
	Ia	Ib	Ic (mutants)	II
1 — Essais sur spores				
buthiobate 4 mg/l	++	-	-	-
cyproconazole 0,2 mg/l	++	-	-	-
triadiménol 1,5 mg/l	++	-	-	-
prochloraze 0,01 mg/l	++/+	++/+	-	++
prochloraze 0,05 mg/l	++	++	-	++
2 — Essais sur mycélium (milieu à base d'extrait de levure)				
témoin (sans fongicide)	> 2 mm/j	> 2 mm/j	> 2 mm/j	< 1,5 mm/j
fénpropimorphe 10 mg/l	-	-	-	++/+

réside dans le fait qu'au sein de chaque classe la réponse au triadiménol n'est pas uniforme. En fait, c'est essentiellement parmi les souches de type Ib que la variabilité est la plus importante vis-à-vis du triadiménol et de nombreux autres inhibiteurs de la C14-déméthylation des stérols. Cette situation présente une grande analogie avec celle rencontrée chez *Erysiphe graminis* (ANDRIVON *et al.*, 1987). Toutefois il existe une différence notable entre ces parasites du fait que chez les isolats naturels de *P. herpotrichoides* il n'y a pas résistance croisée positive entre le triadiménol et le prochloraze alors que ce phénomène est observé chez *Erysiphe graminis* (BUTTERS *et al.*, 1984).

Dans les essais *in vitro*, sur la croissance mycélienne de *P. herpotrichoides*, la résistance croisée positive s'observe entre tous les « triazoles » expérimentés ; toutefois les niveaux de résistance sont très variables (comme d'ailleurs les niveaux d'activité qui sont estimés par le biais des CI50 « mycélium » sur les souches de type Ia). CAVELIER *et al.*, (1987) ont réalisé de nombreux essais, où après contaminations artificielles de plants de blé avec divers types de souches de *P. herpotrichoides*, ils ont appliqué, par pulvérisations, divers « triazoles » (dont le cyproconazole, le tebuconazole et le flusilazole). Ils ont pu démontrer que la protection obtenue est meilleure contre des souches de type Ia que contre celles de type Ib (choisies parmi les plus résistantes) ou celles de type II ; dans les mêmes conditions le prochloraze assure une protection équivalente quelle que soit la souche inoculée.

La classification précédente ne tient pas uniquement compte de l'effet d'inhibiteurs de la biosynthèse des stérols puisque nous avons retenu des critères morphologiques qui d'ailleurs ont été utilisés antérieurement par d'autres auteurs pour subdiviser l'espèce *P. herpotrichoides*. Au vu des résultats publiés, il apparaît que tous les auteurs ont pu caractériser des isolats à croissance rapide et d'autres à croissance lente. SCOTT *et al.*, (1975), après avoir étudié le pouvoir pathogène de

ces divers isolats sur diverses céréales, ont proposé la nomenclature suivante : type W (wheat c'est-à-dire blé) pour les souches à croissance rapide et type R (Rye c'est-à-dire seigle) pour les souches à croissance rapide. Ils ont justifié ces appellations du fait que seules les souches à croissance lente sont fortement pathogènes sur seigle alors que les 2 types de souches attaquent le blé. Toutefois des études récentes réalisées simultanément en France et en Grande-Bretagne (CREIGHTON *et al.*, 1988), si elles confirment la plus forte pathogénicité des souches à croissance lente sur seigle que celles à croissance rapide, elles montrent que les différences ne sont pas très importantes. Au vu de ces résultats cette nomenclature peut être remise en cause d'autant que de nombreux auteurs l'utilisent en se basant sur le seul critère de l'aspect des colonies mycéliennes *in vitro*. Aussi, nous semblerait-il préférable de parler de souches à croissance lente ou à croissance rapide comme l'a fait initialement LANGE DE LA CAMP (1966). Sur ces mêmes critères et aussi sur la forme des spores, NIRENBERG (1981) a déterminé 2 variétés : *herpotrichoides* (croissance rapide, spores incurvées) et *acufomis* (croissance lente, spores droites). Toutefois, SCHREIBER & PRILLWITZ (1985) ont rapporté que des spores droites pouvaient exister chez des isolats à croissance rapide. Ces résultats impliquent que les subdivisions proposées actuellement au sein de l'espèce *P. herpotrichoides* sont sujettes à caution et donc qu'une harmonisation serait souhaitable. Celle-ci pourrait être obtenue en développant des méthodes nouvelles de caractérisation (génétique, biochimique, sérologique...). Il serait également essentiel de mieux connaître les conditions de développement des divers phénotypes de *P. herpotrichoides* sur des céréales majeures comme le blé ou l'orge d'hiver afin d'utiliser dans les meilleures conditions les fongicides et notamment les inhibiteurs de la biosynthèse des stérols.

Reçu le 24 février 1988.

Accepté le 20 juin 1988.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Andrivo D., Limpert E., Felsenstein F. G.**, 1987. Sensibilité au triadiménol et au fenpropimorphe de populations françaises d'*Erysiphe graminis* DC f. sp. *hordei* Marchal. *Agronomie*, **7**, 443-446.
- Butters J., Clark J., Hollomon D. W.**, 1984. Resistance to inhibitors of sterol biosynthesis in barley powdery mildew. *Meded. Fac. Landbouww et Rijkuniv. Gent*, **49**, 143-151.
- Cavelier N., Leroux P., Hanrion M., Curé B.**, 1985. Résistance de *Pseudocercospora herpotrichoides* aux benzimidazoles et thiophanates chez le blé d'hiver en France. *Bull. OEPP*, **85**, 495-502.
- Cavelier N., Rousseau M., Le Page D.**, 1987. Variabilité de *Pseudocercospora herpotrichoides*, agent du piétin-verse des céréales : comportement *in vivo* de 2 types d'isolats et d'une population en mélange. *Z. Pflanzenkr. Pflanzenschutz.*, **94**, 590-599.
- Corbett J. R., Wright K., Baillie A. C.**, 1984. *The biochemical mode of action of pesticides*. Acad. Press, London, 382 p.
- Creighton N. F., Cavelier N., Fitt B. D. L.**, 1988. Pathogenicity to wheat and rye of *Pseudocercospora herpotrichoides* isolates from France and the U. K. *Trans. Br. mycol. Soc.* (sous presse).
- Davidse L. C.**, 1986. Benzimidazole fungicides : mechanism of action and biological impact. *Annu. Rev. Phytopathol.*, **24**, 43-65.
- Lange de la Camp M.**, 1966. Die Wirkungsweise von *Cercospora herpotrichoides*. Fron, dem Erreger der Halmbruchkrankheit des Getreides. I. Feststellung der Krankheit, Beschaffenheit und Infektionsweise des Erregers. *Phytopathol. Z.*, **55**, 34-66.
- Leroux P.**, 1987. La résistance des champignons aux fongicides. *Phytoma*, **385**, 6-14.
- Leroux P., Benveniste P.**, 1985. Mode d'action des fongicides inhibiteurs des stérols. *Fungicides for Crop Protection*, B.C.P.C. monograph. n° 31, (Smith I. M., éd.), 67-78.
- Leroux P., Cavelier N.**, 1983. Phénomènes de résistance du piétin-verse aux benzimidazoles et aux thiophanates. *Phytoma*, **351**, 40-47.
- Leroux P., Fritz R.**, 1984. Antifungal activity of dicarboximides and aromatic hydrocarbons and resistance to these fungicides. *Mode of action of antifungal agents* (ed. Trinci A. P. J., Ryley J. F.) ; *Br. mycol. Soci.*, Symposium 9, 208-237.
- Leroux P., Gredt M.**, 1985. Variabilité de la sensibilité de *Pseudocercospora herpotrichoides*, agent du piétin-verse des céréales, à des inhibiteurs de la biosynthèse des stérols. *C. R. Acad. Sci. Paris sér. III*, **301**, 785-788.
- Leroux P., Gredt M.**, 1987. Caractéristiques des souches de *Pseudocercospora herpotrichoides*, agent du piétin-verse des céréales, résistantes au carbendazime et au thiabendazole. *C. R. Acad. Sci. Paris, sér. III*, **305**, 395-398.
- Nirenberg H. I.**, 1981. Differenzierung der Erreger der Halmbruchkrankheit I. Morphologie. *Z. Pflanzenkr. Pflanzenschutz.*, **88**, 242-248.
- Rosenberger D. A., Meyer F. N.**, 1985. Negatively correlated cross-resistance to diphenylamine in benomyl-resistant *Penicillium expansum*. *Phytopathology*, **75**, 74-79.
- Schreiber M. T., Prillwitz H. G.**, 1985. Vorkommen von *Pseudocercospora taxa* an Wintergetreide in Rheinland-Pfalz. *Nachrichtenbl. dtsh Pflanzenschutzdienstes (Braunschweig)*, **37**, 145-150.
- Scott P. R., Hollins T. W., Muir P.**, 1975. Pathogenicity of *Cercospora herpotrichoides* to wheat, barley, oats and rye. *Trans. Br. mycol. Soc.*, **65**, 529-538.