
**ÉVALUATION DES STRATÉGIES DE GESTION DES RÉSISTANCES AUX
FONGICIDES PAR UNE APPROCHE D'ÉVOLUTION EXPÉRIMENTALE : LE CAS
DE ZYMOSEPTORIA TRITICI, AGENT CAUSAL DE LA SEPTORIOSE**

***Evaluating fungicide resistance management strategies by means of
experimental evolution: the case of Zymoseptoria tritici, the causal agent of
Septoria leaf blotch***

Thèse de Agathe **BALLU** ¹

Analysée par Marc **BARDIN** ²

Directrice de thèse : Anne-Sophie **WALKER**, IR, INRAE, UMR BIOGER, Université Paris-Saclay

Co-encadrante de thèse : Florence **CARPENTIER**, Maîtresse de conférences, AgroParisTech

Co-encadrante de thèse : Anne **DEREDEC**, Chargée de recherche, INRAE, UMR BIOGER, Université Paris Saclay

Objectif

Les pesticides restent un levier important de la protection des plantes contre les agents phytopathogènes et les ravageurs. Outre les problèmes liés à leur impact sur l'environnement et la santé humaine, leur efficacité peut être réduite du fait de l'apparition de résistances. Ainsi la plupart des champignons phytopathogènes sont capables de développer des résistances aux fongicides chimiques de synthèse. Différentes stratégies de gestion des fongicides sont généralement proposées pour retarder l'émergence et la sélection de la résistance dans les populations naturelles, notamment en combinant des substances actives de modes d'action différents. Ces stratégies anti-résistance sont basées sur des données empiriques d'évolution de la résistance, généralement obtenue par des campagnes de détection et de suivi en parcelles, et elles sont toujours discutées au sein de la communauté scientifique.

L'objectif de la thèse d'Agathe Ballu est d'évaluer la durabilité de stratégies de gestion des résistances aux fongicides chez le champignon phytopathogène *Zymoseptoria tritici*, par une approche d'évolution expérimentale. Les travaux ont consisté à étudier l'alternance et la sélection de la résistance *in vitro* de *Z. tritici* à trois fongicides dont les modes d'action sont

¹ Thèse préparée au sein de l'École doctorale 567 Sciences du Végétal : du gène à l'écosystème (SEVE), Spécialité Sciences agronomiques, Université Paris-Saclay, dans le cadre d'une bourse CIFRE, gérée et subventionnée par l'Association Nationale de la Recherche et de la Technologie (ANRT), soutenue le 17 septembre 2021.

² Membre correspondant de l'Académie d'agriculture de France, section 6 « Sciences de la vie ».

différents, contrastés pour leur risque intrinsèque de résistance. Au cours de cette thèse, deux questions ont été abordées : (i) Comment améliorer la performance des stratégies anti-résistance et quels sont les facteurs permettant leur optimisation ? (ii) Comment le statut initial de la résistance dans les populations module-t-il la performance des stratégies ?

Démarche

En prenant pour modèle le champignon phytopathogène *Z. tritici*, agent causal de la principale maladie du blé et résistant à la plupart des fongicides en Europe, une approche d'évolution expérimentale a été mise en place. Cette approche consiste à cultiver en laboratoire, dans des conditions contrôlées, une population donnée durant plusieurs générations successives et à étudier l'effet d'un facteur spécifique (ici l'ajout de fongicides) sur le processus évolutif. Ce type d'approche est déjà utilisé pour améliorer notre compréhension des principes de l'évolution des bactéries, afin de résoudre des questions de santé humaine, comme par exemple la résistance des bactéries aux antibiotiques. Elle est plus rarement utilisée dans le domaine de la santé végétale pour évaluer et comprendre l'évolution de champignons phytopathogènes face à des méthodes de protection des plantes. Dans le cas qui nous intéresse, cette approche permet d'accélérer, en conditions contrôlées de laboratoire, le processus de résistance aux fongicides, habituellement observée au champ.

Des schémas de sélection alternée ont été comparés à des schémas de sélection continue pendant douze cycles successifs du champignon. Les schémas de sélection différaient sur trois points : le type de substances actives (fongicides), utilisées en alternance (avec un risque de résistance faible, moyen ou élevé), le rythme de l'alternance (de 1 à 3 cycles) et le nombre de substances actives utilisées dans l'alternance (1 à 3). Un modèle linéaire a été utilisé pour expliquer la variation de la croissance relative moyenne dans chaque lignée, en fonction des composantes de l'alternance.

Principaux résultats

Les principaux résultats suggèrent que :

- L'alternance des substances actives, par rapport à une utilisation continue, était une stratégie bénéfique (ou neutre) pour limiter l'évolution de la résistance du champignon.
- Le mélange de substances actives peut retarder l'évolution de la résistance d'une population sensible. Cependant, selon les composants du mélange, des résistances généralistes ou multiples ont pu être favorisées. Dans certains cas, la réduction de la dose entraîne la sélection de souches très résistantes.
- En alternance ou en mélange, l'augmentation du nombre de substances actives et la variation des modes d'action permet de retarder la sélection de résistance. Cependant lorsqu'une résistance multiple est présente dans les populations, rien n'atténue l'évolution de la résistance.

L'approche par évolution expérimentale proposée dans cette thèse permet d'apporter des informations nouvelles sur les stratégies d'utilisation des fongicides. Les résultats suggèrent

que des stratégies permettant de prévenir l'émergence de résistances seraient plus durables que des stratégies cherchant à limiter la sélection.

Les travaux de cette thèse ont abouti à la rédaction de trois articles dans des revues scientifiques à comités de lecture :

- Ballu A, Dérédec A, Walker AS, Carpentier F (2021). Are efficient-dose mixtures a solution to reduce fungicide load and delay evolution of resistance? An experimental evolutionary approach. *Microorganisms* 9(11): 2324.
- Ballu A, Despréaux P, Duplaix C, Dérédec A, Carpentier F, Walker AS (2023). Antifungal alternation can be beneficial for durability but at the cost of generalist resistance. *Communications Biology* 6(1): 180.
- Ballu A, Ugazio C, Duplaix C, Noly A, Wüllschleger J, Torriani S, Dérédec A, Carpentier F, Walker AS (2023). Preventing multiple resistance above all: new insights for managing fungal adaptation. *BioRxiv* <https://doi.org/10.1101/2022.12.17.520869>

Avis

Le manuscrit de thèse, entièrement rédigé en anglais, est bien structuré. Il se compose de six parties : une introduction bibliographique, une description du développement des méthodes expérimentales, trois chapitres de résultats (les deux premiers présentés comme des manuscrits scientifiques) et une discussion générale. L'iconographie est soignée. Cette étude aborde des questions fondamentales et appliquées pertinentes sur l'évolution et la gestion de la résistance aux fongicides chez un agent phytopathogène cryptogamique d'importance économique, par une approche d'évolution expérimentale. La méthodologie utilisée est appropriée et l'analyse et la présentation des données sont bonnes. Dans l'ensemble, la discussion et l'interprétation des résultats sont également bien rédigées. Les résultats obtenus dans cette thèse apportent donc un éclairage nouveau à des questions essentiellement abordées jusque-là par des approches théoriques et empiriques. Ainsi, les concepts liés à l'apparition de résistance aux fongicides chez les champignons sont abordés d'un point de vue évolutif, biologique et mécanistique et les conséquences en termes de gestion durable des fongicides sont discutées.

Les résultats novateurs de cette thèse entrent pleinement dans le champ d'intérêt de l'Académie d'agriculture de France et justifient que cette analyse figure sur le site de l'Académie, à titre de valorisation de ces travaux.