

Application de l'aérobiologie et des techniques moléculaires pour la détection et la surveillance de champignons pathogènes exotiques (ou émergents)

Marie-Laure Desprez-Loustau
Renaud Ios



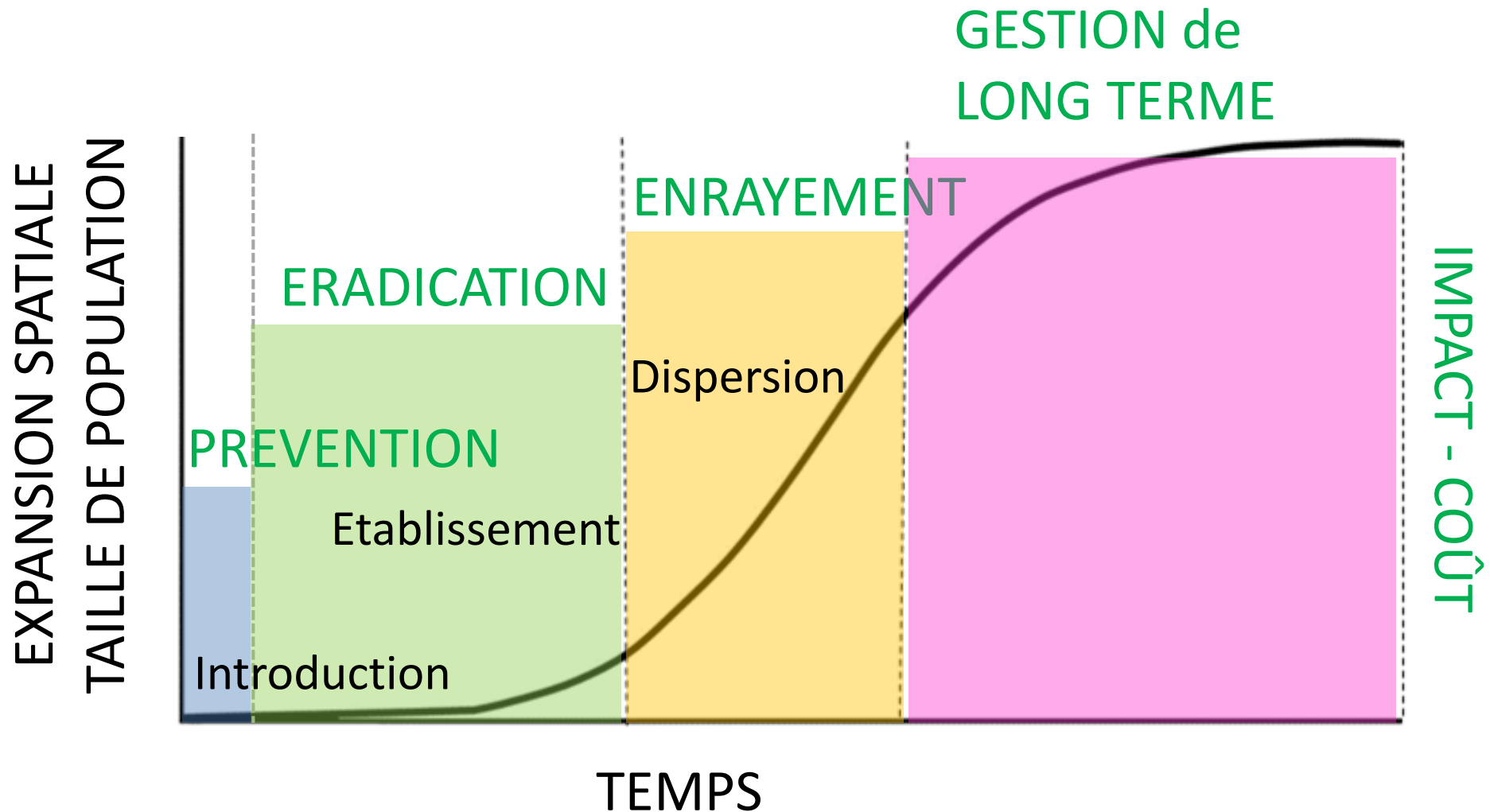


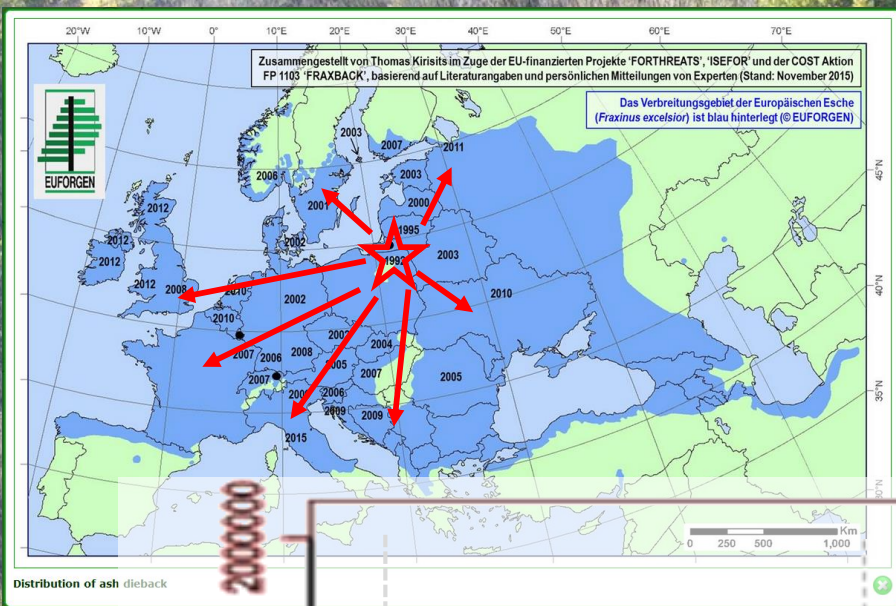
**Une gestion efficace des maladies (émergentes)
nécessite de disposer de données de
surveillance performantes**

Identification des pathogènes / arbres malades

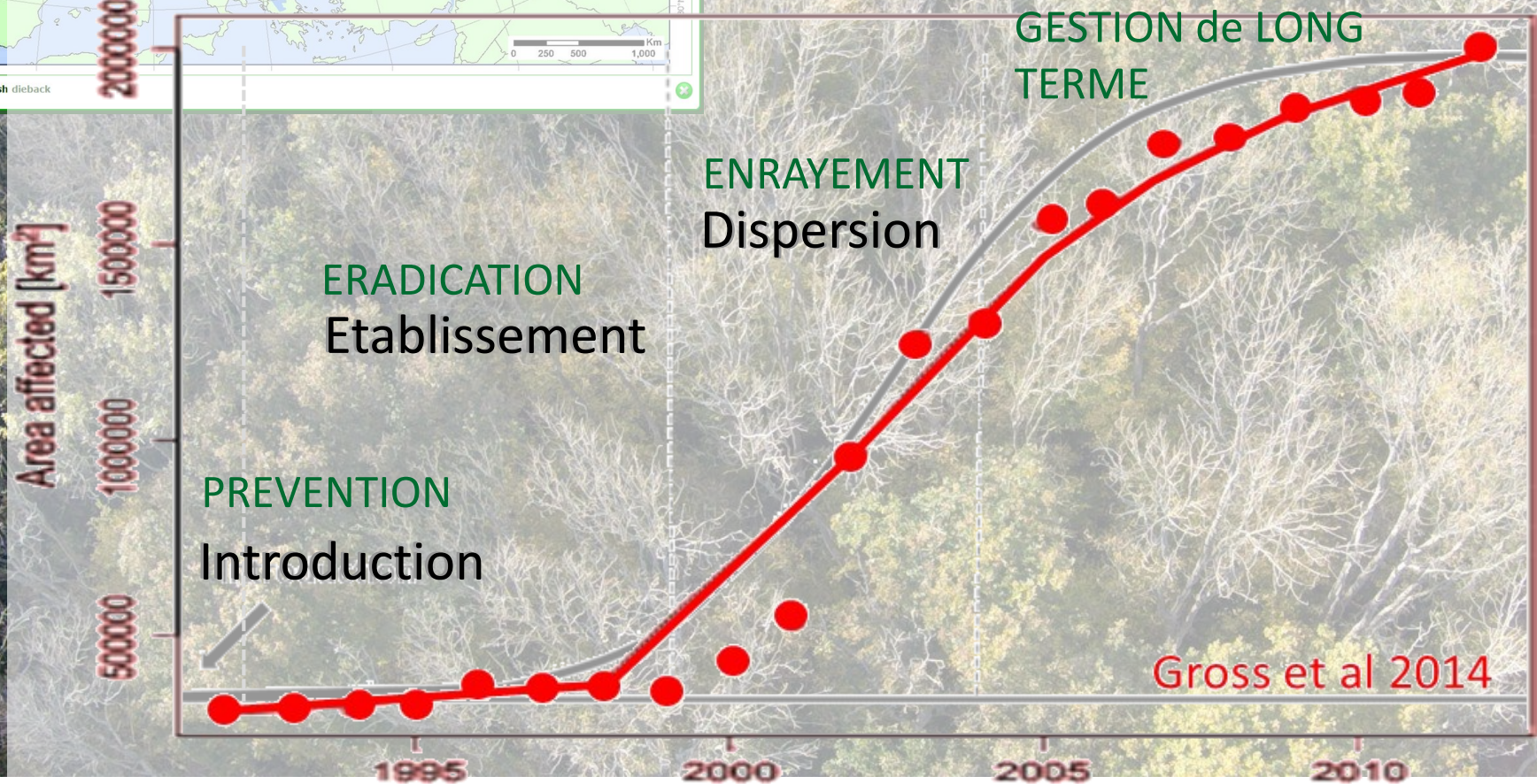
**Collecte continue, systématique, analysée,
interprétée, archivée**

Courbe d'invasion et types de réponse





Identification de la nouvelle espèce
Hymenoscyphus pseudo-albidus
 (Queloz et al 2011)
 = *Lambertella albida* Hosoya 1993
 (Zhao 2012)



2008



Département de la santé des forêts

2009



Département de la santé des forêts

2010



Département de la santé des forêts

2011



Département de la santé des forêts

2012



Département de la santé des forêts

2013



Département de la santé des forêts

2014

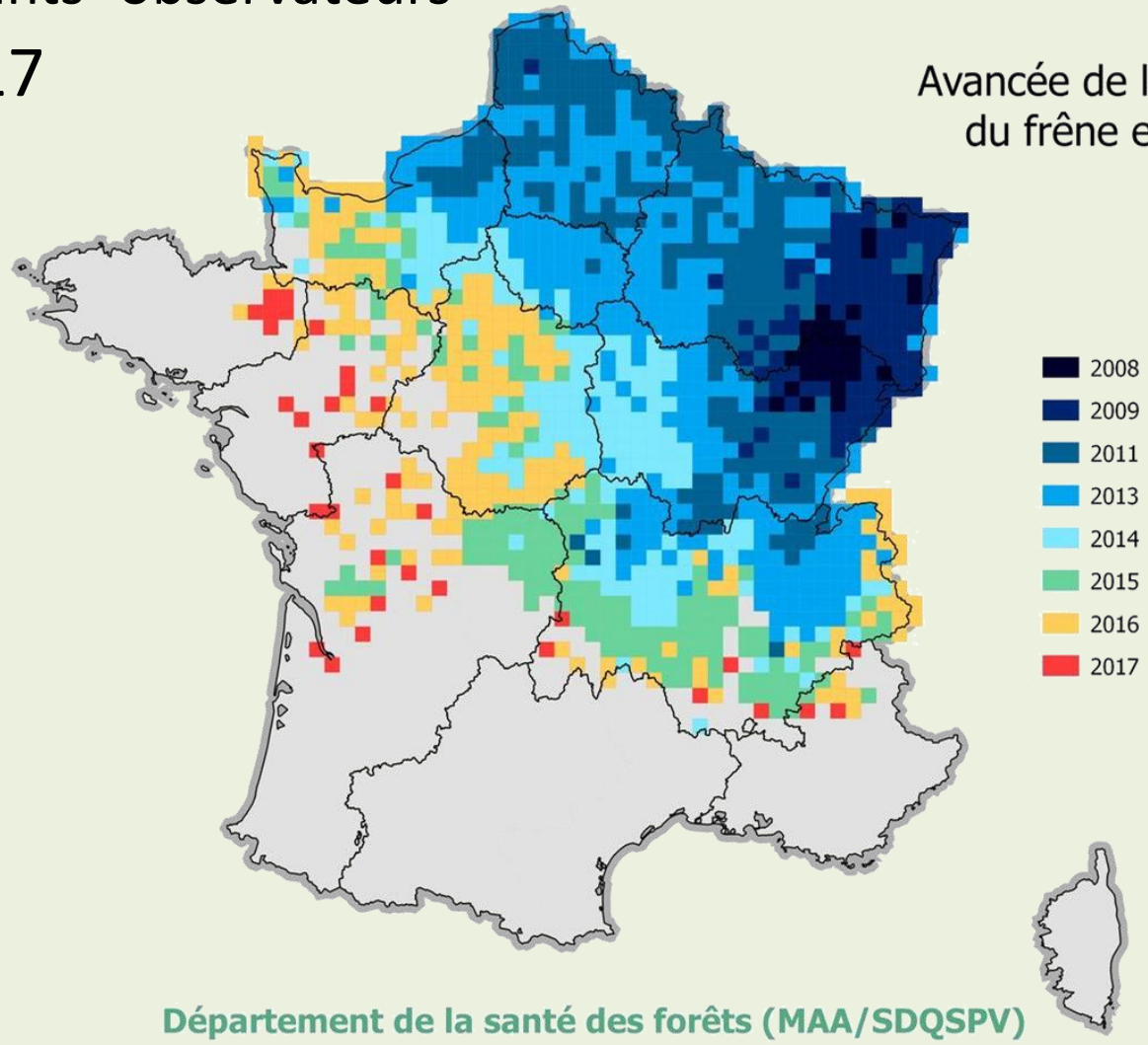


Département de la santé des forêts

Une surveillance performante en forêt basée sur un réseau de correspondants- observateurs

2017

Avancée de la chalarose du frêne en France



Département de la santé des forêts (MAA/SDQSPV)

Une nouvelle approche basée sur la surveillance aérobiologique

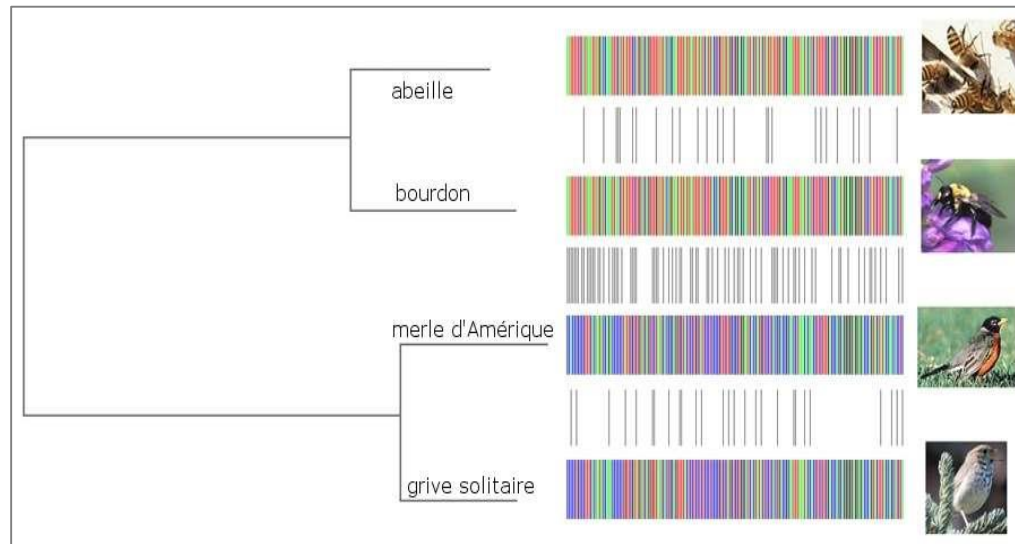


Une nouvelle approche basée sur la surveillance aérobiologique et des méthodes d'analyses moléculaires

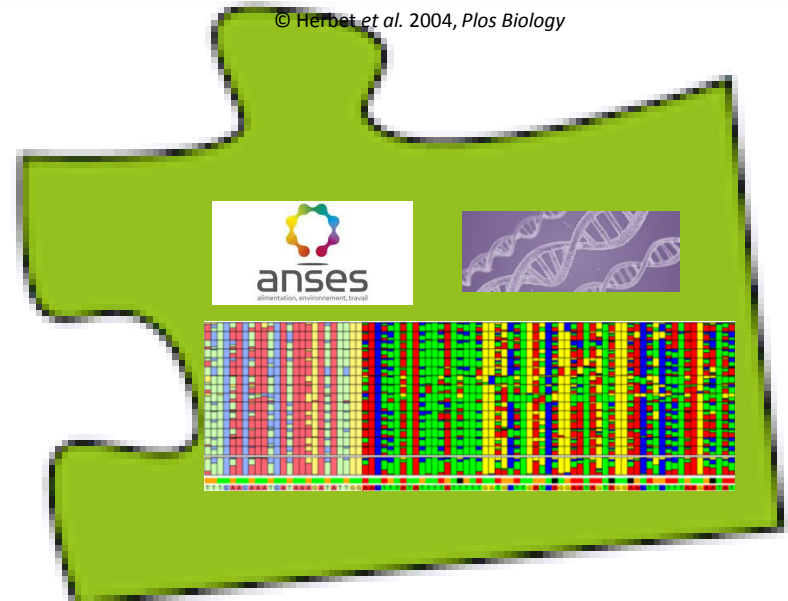
Amplification
de l'ADN

Spécificité

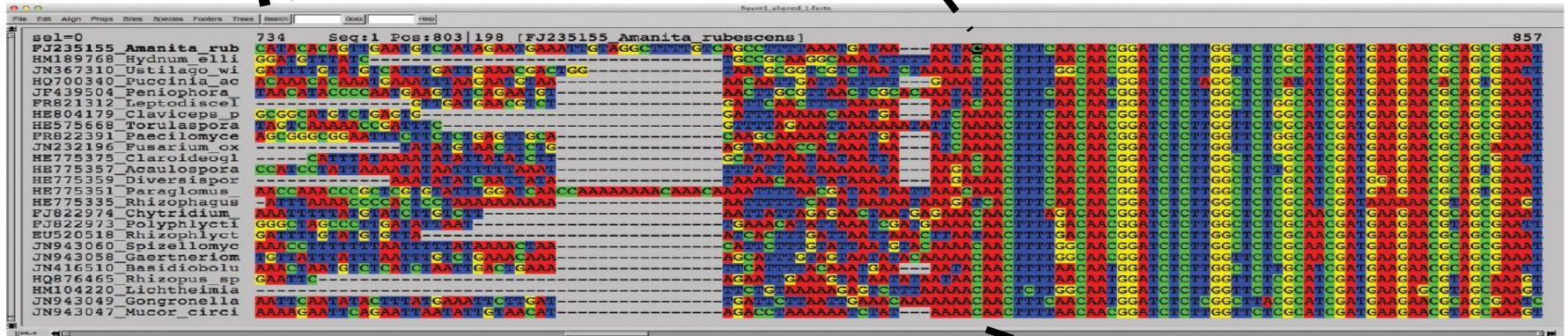
Sensibilité



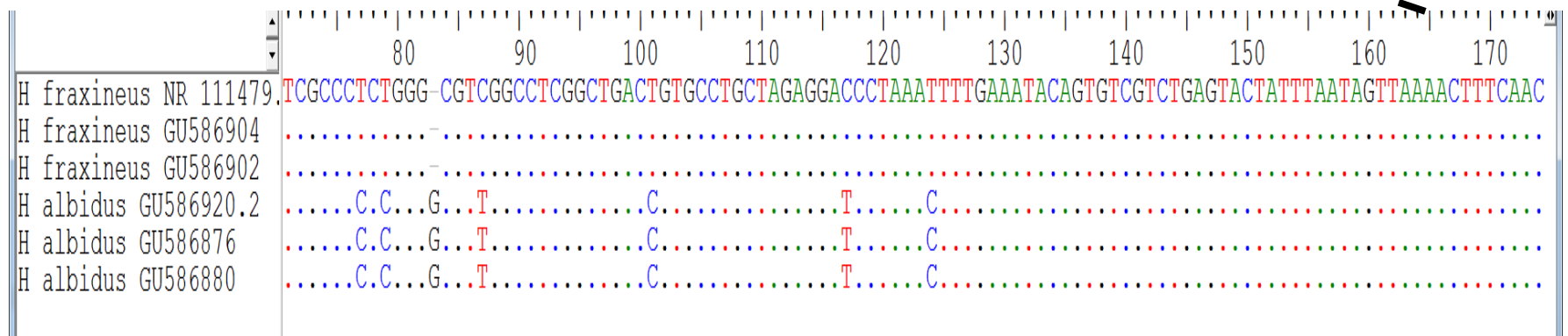
© Herbet et al. 2004, Plos Biology



Un barcode universel pour les champignons : l'ITS = Internal Transcribed Spacer de l'ADN ribosomique (Schoch et al 2012)



ITS1 Nilsson et al 2012

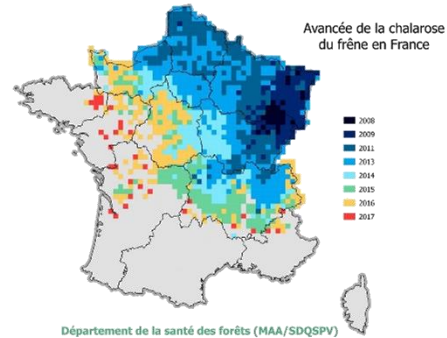


Données Queloz et al 2011

Concept et objectifs



A-Détection d'espèces ciblées
qPCR (amorces spécifiques)

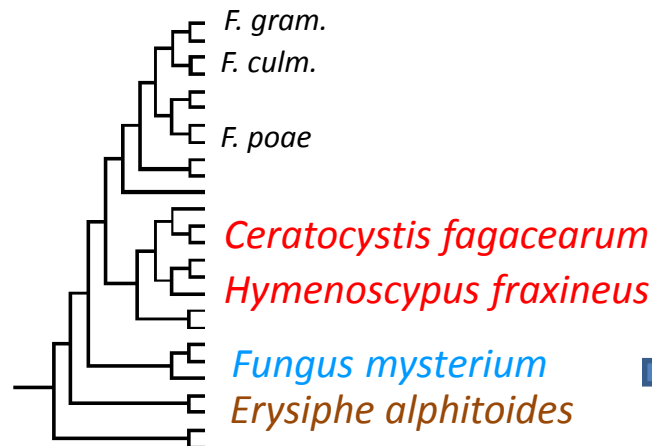


Anticiper??



Extrait d'ADN

B- Metabarcoding NGS (~inventaire)
(amorces généralistes champignons)

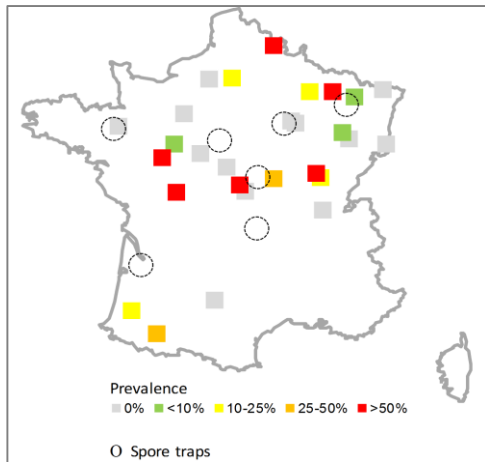
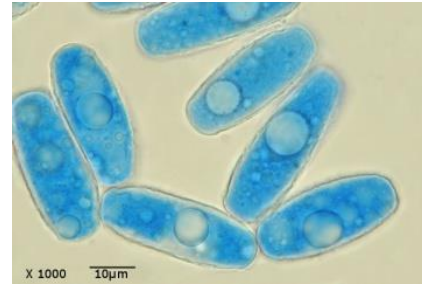


Détecter l'inconnu??

A) Evaluation des capteurs pour la détection ciblée

Espèce pathogène	Gène ciblé	Simple/ Multiple Copie	Spécificité	Référence (protocole standard de diagnostic OEPP)
<i>Armillaria spp</i>	EF1	SC	genre (à confirmer)	Baumgartner et al 2010
<i>Cryphonectria parasitica</i>	ITS	MC	espèce	Etude en cours CRA-W/INRA
<i>Erysiphe spp</i> (<i>E. alphitoides</i> et <i>E. quercicola</i>)	ITS	MC	espèce	Etude en cours CRA-W/INRA
<i>Hymenoschyphus fraxineus</i>	ITS	MC	espèce	Ioos et al., 2009 (PM 7/117)
<i>Heterobasidion spp</i>	GST1 pour <i>H. annosum</i> et RPB2 pour <i>H. abietinum</i>	SC	espèce	Test multiplex en cours de développement à l' ANSES
<i>Melampsora larici- populina</i>	ITS	MC	espèce (à confirmer)	Test INRA non publié

Ex. 1 : *Erysiphe alphitoides*, agent de l'oïdium des chênes



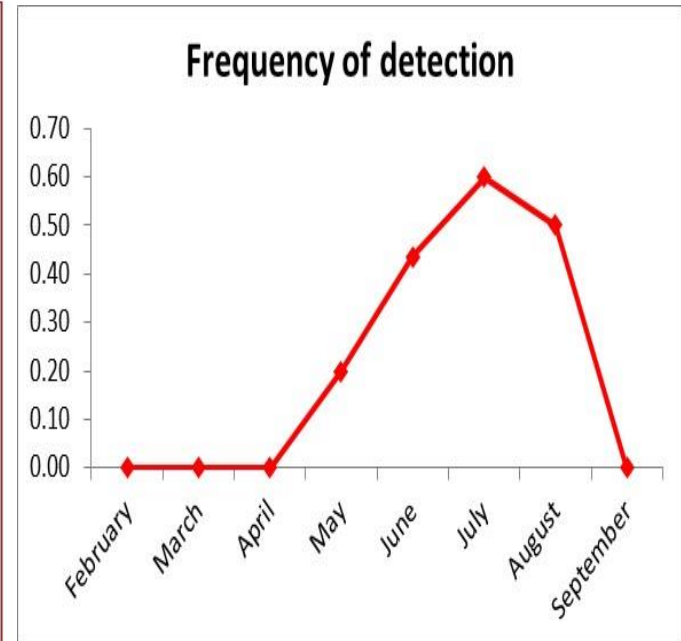
Département de la santé des forêts

(2016)

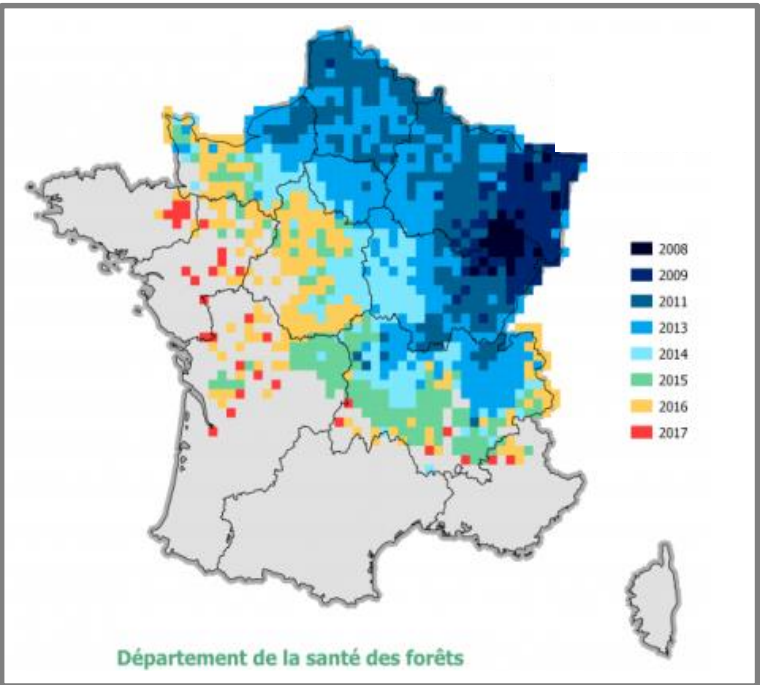
29/100 lames positives



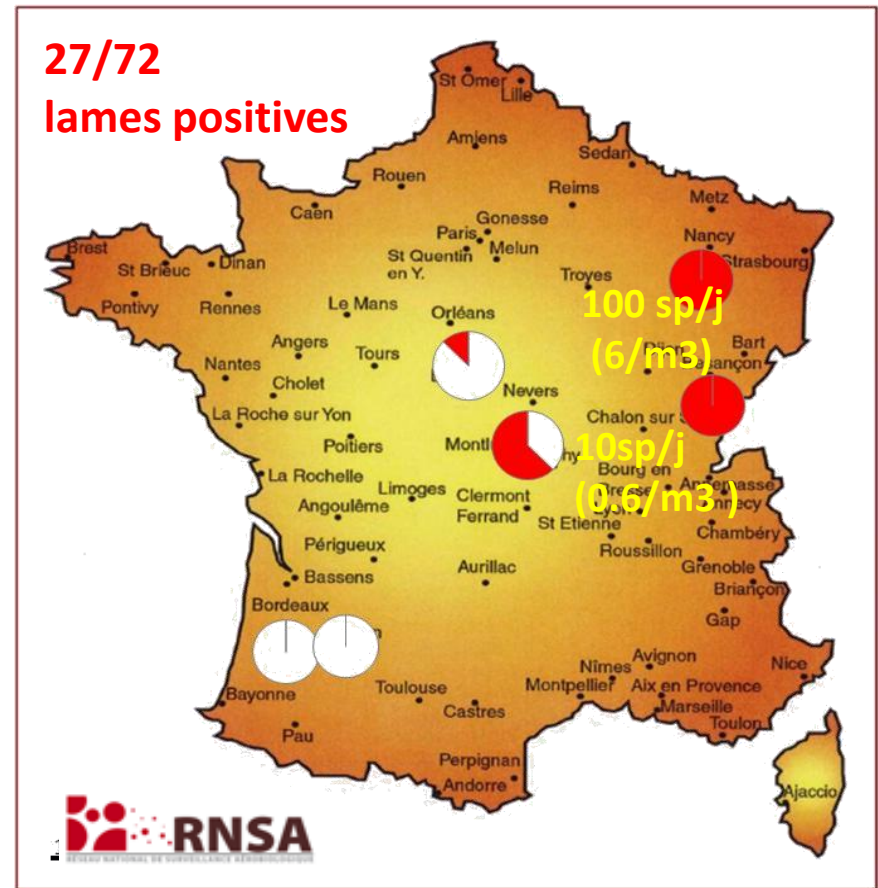
(2016)



Ex. 2 : *Hymenoscyphus fraxineus*, agent de la chalarose des frênes

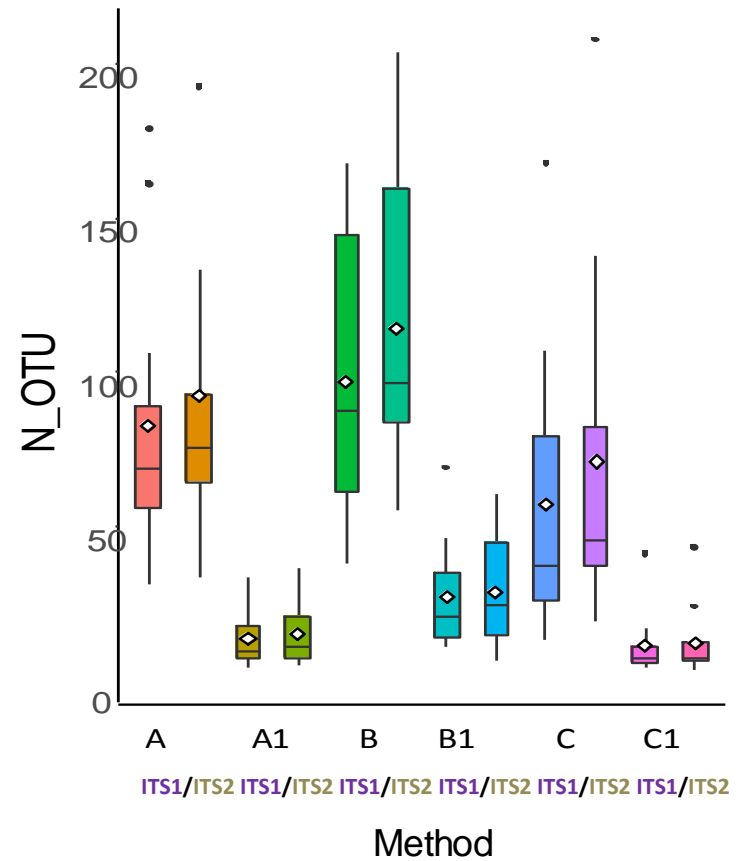
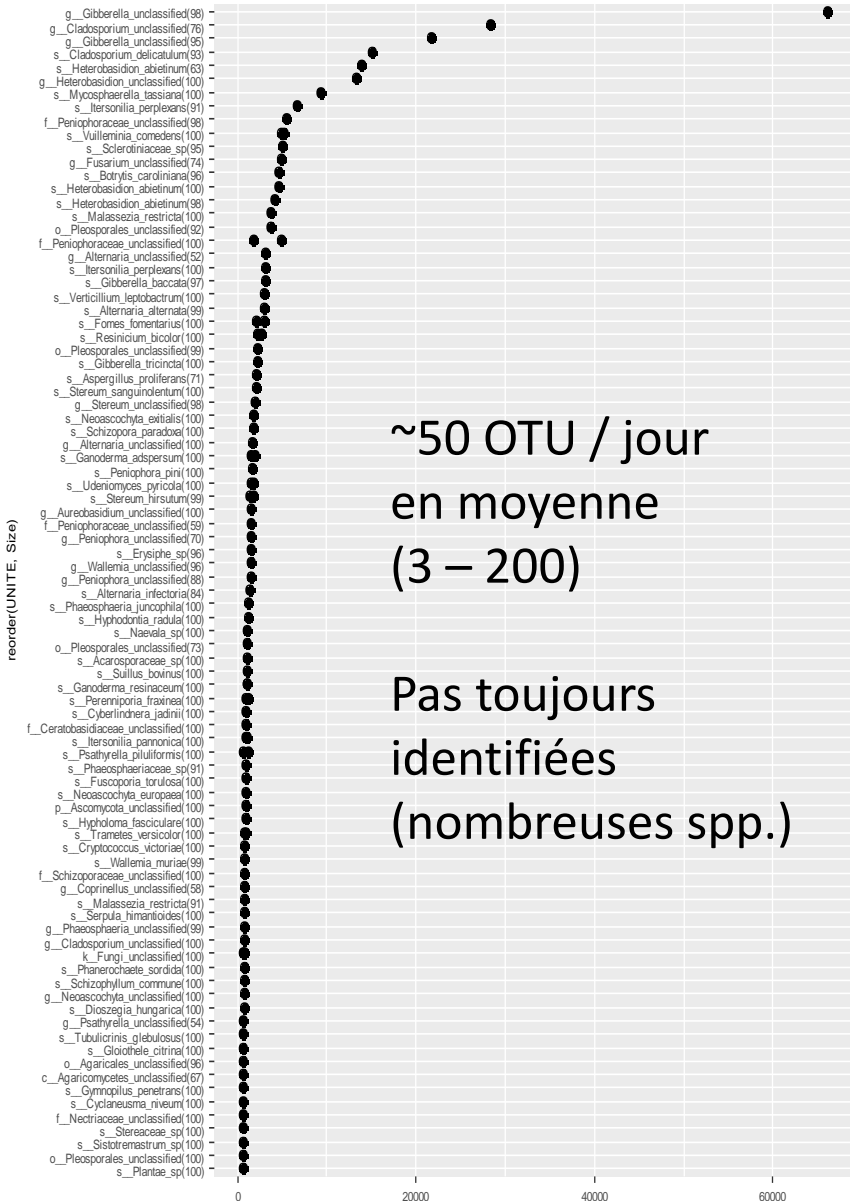


(2016)



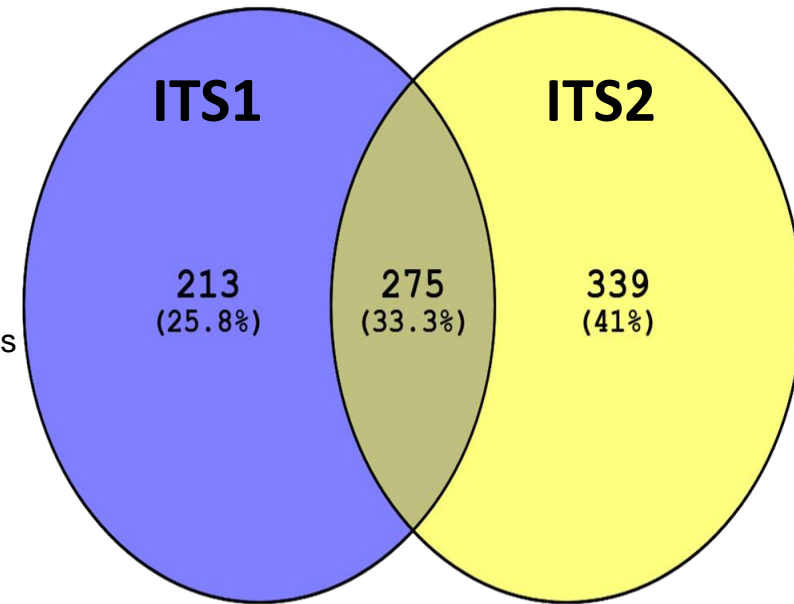
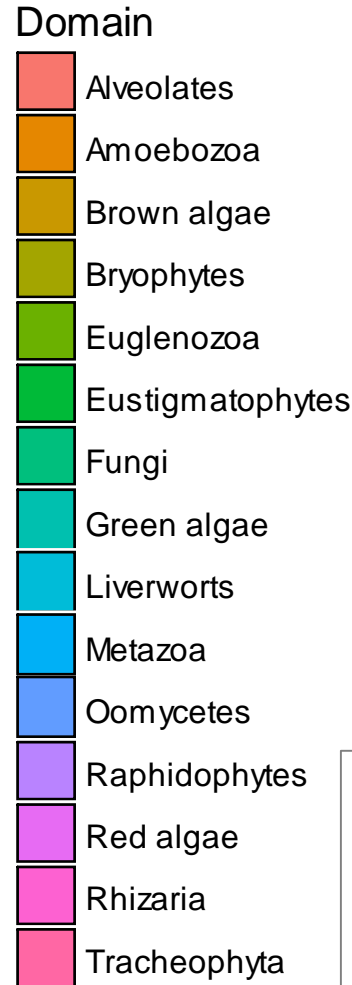
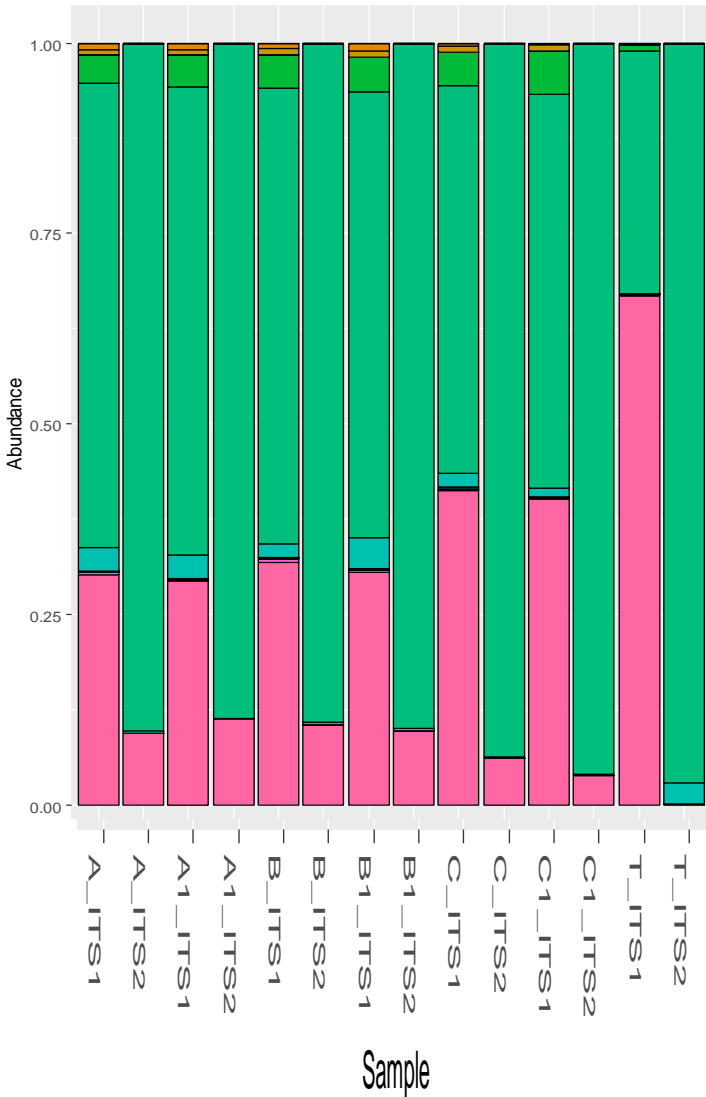
(2016)

Résultats Metabarcoding



OTU = Operational Taxonomic Unit (~~espèce)

Comparaison des deux marqueurs ITS1 et ITS2 pour la détection des taxons



AMERICAN SOCIETY FOR MICROBIOLOGY Applied and Environmental Microbiology®

METHODS

Check for updates

Assessment of Passive Traps Combined with High-Throughput Sequencing To Study Airborne Fungal Communities

Jalme Aguayo,^a Céline Fourier-Jeandel,^a Claude Husson,^b Renaud Ioss^a

^aANSES, Laboratoire de la Santé des Végétaux-LSV, Unité de Mycologie, Domaine de Fixèrecourt, Malzéville, France

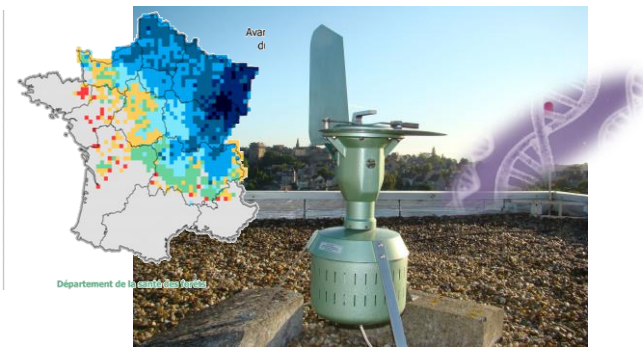
^bUMR IAM, INRA, Université de Lorraine, Nancy, France

Conclusions

- Premiers éléments d'une « **Preuve de concept** » de l'utilisation d'un réseau aérobiologique couplée à des analyses moléculaires pour la fourniture de données de surveillance de certains champignons pathogènes forestiers (à dissémination aérienne)

Extension à l'échelle européenne et validation *a posteriori* sur *Hymenoscyphus fraxineus* prévues

- Approche metabarcoding intéressante mais développements méthodologiques nécessaires (sensibilité, choix du marqueur) – progression rapide des méthodes de séquençage (long reads, temps réel)
- Possibilité de combiner la sensibilité de la détection par une qPCR générique à l'analyse de séquences de l'amplicon pour identifier sans *a priori* l'espèce (e.g. *Phytophthora spp*)



MERCI DE VOTRE ATTENTION

INRA Bordeaux BIOGECO

Emilie Chancerel, Marie-Laure Desprez-Loustau, Cyril Dutech, Olivier Fabreguettes, Cécile Robin

INRA Nancy IAM

Claude Husson (maintenant DSF), Benoit Marçais

ANSES

Jaime Aguayo, Renaud Ioos, Céline Jeandel

RNSA

Michel Thibaudon, Nadine Dupuy

