

SIAMOIS

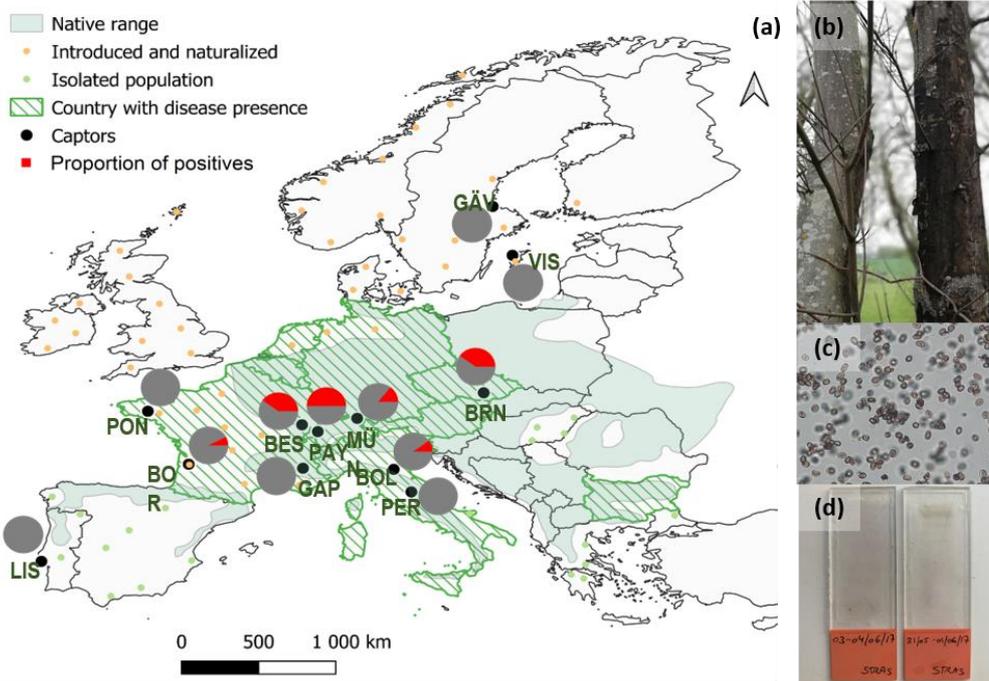


Figure 1. Proportion of positive aerobiological samples for *Cryptostroma corticale* (May to September 2018, $n = 10$) from different European captors following the natural distribution area of its host (*Acer pseudoplatanus*) and the disease distribution (a); diseases maple tree by *C. corticale* (b); spores of *C. corticale*; and microscopic slides from aerobiological samples (d).

Smart and Innovative monitoring of airborne fungal invaders by molecular methods

Responsable scientifique : Benoit Marçais, UMR Interactions Arbres/Micro-organismes (IAM)

Partenaires Labex : Jaime Aguayo (LSV, unité de mycologie, ANSES), Elodie Muller (CDD, recrutée pour ce projet), Mireia Gomez-Gallego (UMR-IAM), Renaud Ios (LSV, unité de mycologie, ANSES).

Collaborations : Partenaires du projet Européen [HOMED](#) (HOListic Management of Emerging forest pests and Diseases) : Milon Dvorak (Université Mendel de Brno, Tchéquie), Marie-Laure Desprez-Lousteau (UMR Biogeco INRAE, France), Duccio Migliorini et Alberto Santini (CNR, Italie), Karl Lunden et Jan Stenlid (SLU, Suède), Salomé Schneider et Daniel Rigling (WSL, Suisse), Ana Paula Ramos (Université de Lisbonne, Portugal).

Action thématique concernée : WP2

Contexte — Les maladies émergentes et envahissantes sont une menace en hausse pour les écosystèmes forestiers. D'un côté, les maladies peuvent émerger par l'introduction d'agents pathogènes exotiques dans de nouveaux environnements. De l'autre, les agents pathogènes peuvent s'étendre et changer sa distribution géographique par processus climatiques. Dans les deux cas, l'épidémiologie-surveillance est cruciale, car la gestion des maladies forestières compte principalement sur la prévention. Il y a un besoin d'améliorer la surveillance pour couvrir les grandes échelles spatiales et détecter les pathogènes précocement, avant les maladies atteignent de fortes sévérités. Nous proposons d'utiliser les réseaux aérobiologiques, qui sont mis en place pour surveiller la charge de pollen dans l'air de nombreuses villes européennes, pour surveiller des agents pathogènes forestiers et détecter les agents pathogènes de quarantaine.

Objectifs — Les objectifs sont : (i) explorer le potentiel des réseaux aérobiologiques pour surveiller la dynamique spatiale et temporelle de maladies forestières fortement présentes comme *Hymenoscyphus fraxineus*, *Cryptostroma corticale*, où les espèces d'*Heterobasidion annosum sensu lato*, en France et en Europe ; et (ii) évaluer la capacité de ces réseaux à détecter les pathogènes qui sont présents à des fréquences nettement plus faibles, comme *Melampsora medusae* ou *Phytophthora lateralis*.

Démarche — Le projet a utilisé des lames microscopiques utilisées par les réseaux aérobiologiques (Fig 1d). Après une extraction d'ADN et leur analyse par PCR en temps réel spécifiques (qPCR), la dynamique spatio-temporelle des pathogènes a été étudiée suivant deux approches (objectif i) : (a) une étude en France où les capteurs ont été sélectionnés suivant un gradient de présence de la maladie (données du Département de Santé de Forêts), et couvrant une période de deux à quatre ans. (b) Une étude en Europe, incluant 12 capteurs localisés dans des villes en Italie, Tchéquie, Suisse, Suède, France et Portugal. Cette étude avait pour but d'aligner les données aérobiologiques avec la présence-absence de chaque pathogène par pays. Finalement, pour évaluer la capacité de détecter des pathogènes avec un inoculum en faible quantité, nous avons sélectionné des capteurs proches aux mentions de ces pathogènes en France, et nous avons testé la digital PCR (ddPCR), technique décrite comme plus sensible que la qPCR.

Résultats marquants —

- Les spores de *H. fraxineus* ont été détectées dans tous les capteurs situés dans la zone affectée par la maladie. En dehors de cette aire, les spores ont été détectées à une distance d'environ 300 km à partir du front de la maladie. En Europe, la quantité de spores détectées diminue après 10 ans de présence de la maladie.
- L'aérobiologie de *C. corticale* suivait la distribution de la maladie en Europe, avec une forte détection dans l'est de la France, Suisse et en république tchèque, et une absence au Portugal et en Suède où elle n'est pas présente. En France, la charge de spore détectée diminue avec la distance au front de la maladie, avec des charge moyennes de 12 et 3 spores par lames (intervalles de confiance à 90% respectifs de 8-20 et 1-8) à 10 et 310 km, respectivement.
- *M. medusae* et *P. lateralis* n'ont pas été détectés dans les capteurs analysés. Ceci est probablement expliqué par une absence ou une quantité trop faible d'inoculum, pas détectable par qPCR, pour *M. medusae* ; ou par une courte distance de propagation pour *P. lateralis* (dispersion par splashing).
- La ddPCR n'a pas amélioré notre capacité de détection de *P. lateralis* ou des espèces du complexe *H. annosum sensus lato*.

Principales conclusions incluant des points-clés de discussion —

- Ce travail confirme le potentiel de la surveillance aérobiologique pour les pathogènes à dissémination aérienne, comme *H. fraxineus* ou *C. corticale*. Cette surveillance peut nous apprendre sur la dynamique temporelle des maladies envahissantes avec de pics de spores qui correspondent au pic de mortalité de l'hôte (chalarose du frêne).
- Les pathogènes envahissants peuvent être détectés en dehors de l'aire affecté par la maladie (environ 300 km depuis le front de la maladie, et avant le développement de symptômes) par l'aérobiologie, qui se révèle un outil de surveillance à grande échelle intéressant.
- Inadéquation des gènes monocopie pour la détection de parasites dans les échantillons aérobiologiques, alors que les tests qPCR basés sur la région ITS donnent de bons résultats. Cela limite l'intérêt de l'aérobiologie pour l'étude des complexes d'espèces mal résolues par l'ITS (*Heterobasidion spp.*).

Perspectives — L'ADN des échantillons est actuellement utilisé pour le développement d'une technique diagnostique sans *a priori* avec le séquenceur Minlon (travail en cours).

Valorisation — Deux articles scientifiques sont en préparation : l'un sur l'aérobiologie de *C. corticale*, qui sera soumis au journal *Neobiota* ; l'autre sur l'aérobiologie de *H. fraxineus*. D'autre part, le RNSA a montré de l'intérêt pour la détection de *C. corticale* dans les lames, ce champignon étant associé à l'induction de pneumopathies.

Effet levier du projet — Le projet SIAMOIS est lié au projet Européen [HOMED](#) et leurs résultats seront publiés ensemble. Une note pratique pour l'Union Européenne est en préparation pour promouvoir l'intérêt des réseaux aérobiologiques de surveillance de pollen comme outil dans la pathologie forestière.