



ARVALIS  
Institut du végétal

# Activités du laboratoire de pathologie végétale et

## focus sur le projet SEPTODUR



**ARVALIS**  
Institut du végétal

GIE Blé Dur



R. VALADE  
08/04/2015



# Le laboratoire de Pathologie végétale

- Installation au sein de l'INRA UMR Bioger en octobre 2010

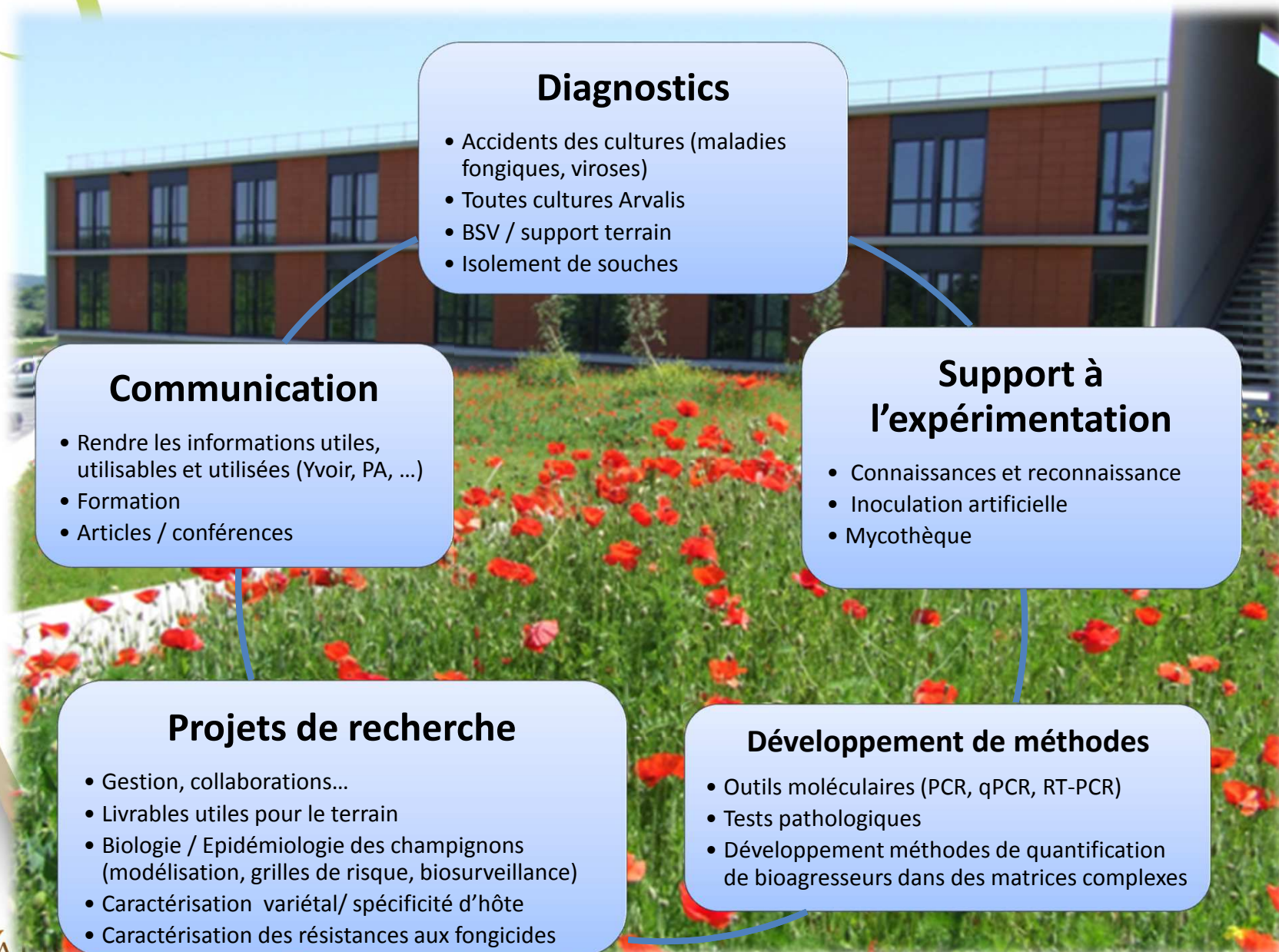
- **Equipe :**

- 3 permanents :
  - Romain Valade (responsable)
  - Delphine Paumier (technicienne)
  - Cindy Vitry (technicienne)
- 4 temporaires par an (stagiaires et CDD)



- **Domaines d'activité :** Maladies des céréales à paille, maïs, sorgho, fourrages, pommes de terre, lin et tabac. Biologie, Epidémiologie, Adaptation à l'hôte, Génétique des populations, Phénotypage....

# Activités du LPV







MINISTÈRE  
DE L'AGRICULTURE  
DE L'AGROALIMENTAIRE  
ET DE LA FORÊT

*avec la contribution financière du  
compte d'affectation spéciale  
«Développement agricole et rural»*

# le projet SEPTODUR

**Contribution à la durabilité de la lutte génétique et chimique  
contre la septoriose du blé dur par la caractérisation des  
populations du complexe d'espèces responsable de cette  
maladie**



**ARVALIS**  
Institut du végétal

**GIE Blé Dur**

**AgroParisTech**  
INSTITUT DES SCIENCES ET INDUSTRIES DU VIVANT ET DE L'ENVIRONNEMENT  
PARIS INSTITUTE OF TECHNOLOGY FOR LIFE, FOOD AND ENVIRONMENTAL SCIENCES



## Le blé dur

- **Surfaces de culture en augmentation**

430 000 - 450 000 Ha prévus pour 2011-2012 contre 413 645 ha en 2010-2011.

*Mais gel d'une partie des surfaces (~ 40 000 Ha)*

- **Rendement en hausse**

2.5 Mt en 2011

Rendement moyen de 50-51 qx / ha

### GIE Blé Dur regroupe tous les sélectionneurs de Blé Dur en France

Florimond-Desprez, Limagrain Europe, Syngenta, RAGT



Surfaces de blé dur en France semées en 2011 (Arvalis)



**!**  
**MAIS**

- **Une culture sensible aux maladies** (Nuisibilité par Ha : Septoriose 15-20qx, Rouille Brune 30-35 qx, Fusarioses 5-10qx pour *F. graminearum*, 20qx pour *Microdochium* spp.)



# Septoriose du blé dur

***Zymoseptoria tritici*** : présente sur blé tendre et blé dur

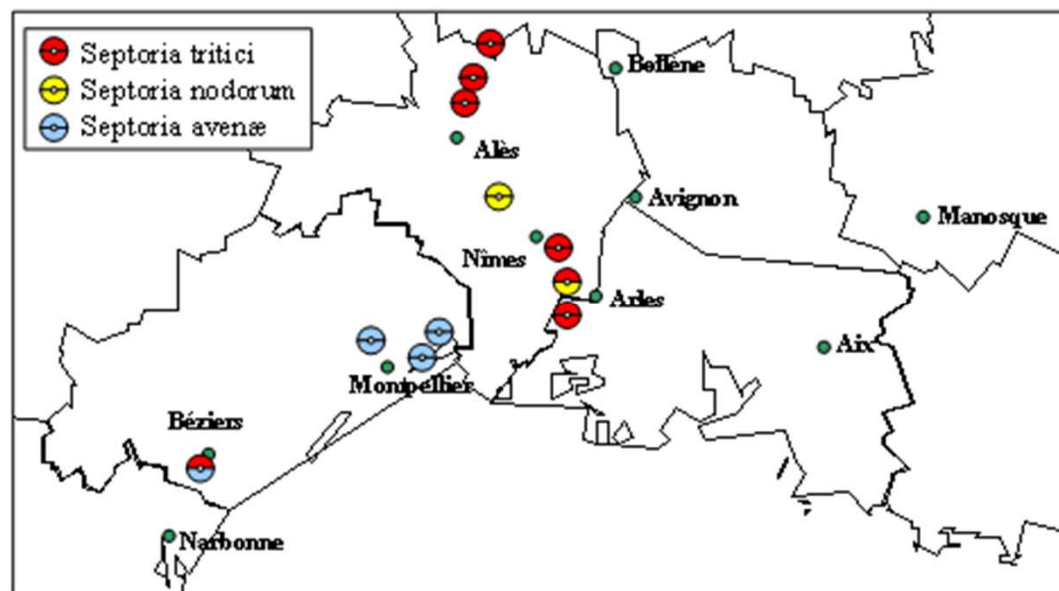
**Observatoire réalisé en 2011** sur le blé dur dans le bassin sud-est :

- Présence non-négligeable de deux autres espèces : ***Stagonospora nodorum*** et ***Stagonospora avenae* f. sp. tritici**



Septoriose sur le blé dur

Septorioses : espèces identifiées sur blé dur en 2011



Laboratoire ARVALIS – Julie TOUSSAINT



# Septoriose du blé dur

## ***Stagonospora nodorum* :**

- Anciennement le champignon responsable de la septoriose sur le blé tendre
- Aujourd'hui totalement remplacé par *Z. tritici* sur le blé tendre
- Pourquoi est-il encore présent sur le blé dur, dans le bassin sud-est ? Est-ce lié à une culture historique du blé dur : Isolement « géographique » et « d'hôte » (peu de blé tendre) ?

## ***Stagonospora avenae f. sp. tritici* :**

- Espèce « émergente » ? Connue aux USA pour être un agent responsable de la septoriose sur les blés, mais peu de données scientifiques...
- Pourquoi une présence sur le blé dur en France ? Spécificité d'hôte des populations ?



**Des champignons appartenant au même genre  
Des symptômes proches inféodées en France au blé dur ?**



*S. nodorum*



*S. avenae f. sp. tritici*



# Actions du projet

**I. Plan d'échantillonnage** commun aux différents objectifs du projet



**II. Etude du complexe d'espèces** responsable de la Septoriose sur le blé dur :  
répartition, proportions, taxonomie, phylogénie...



*Zymoseptoria tritici*  
*Stagonospora nodorum*  
*Stagonospora avenae* f. sp. *tritici*



*Zymoseptoria tritici*



**IV. Spécificité  
d'hôte BT / BD**



**III. Structure des  
populations  
entre BT / BD**



**V. Adaptation  
aux fongicides**



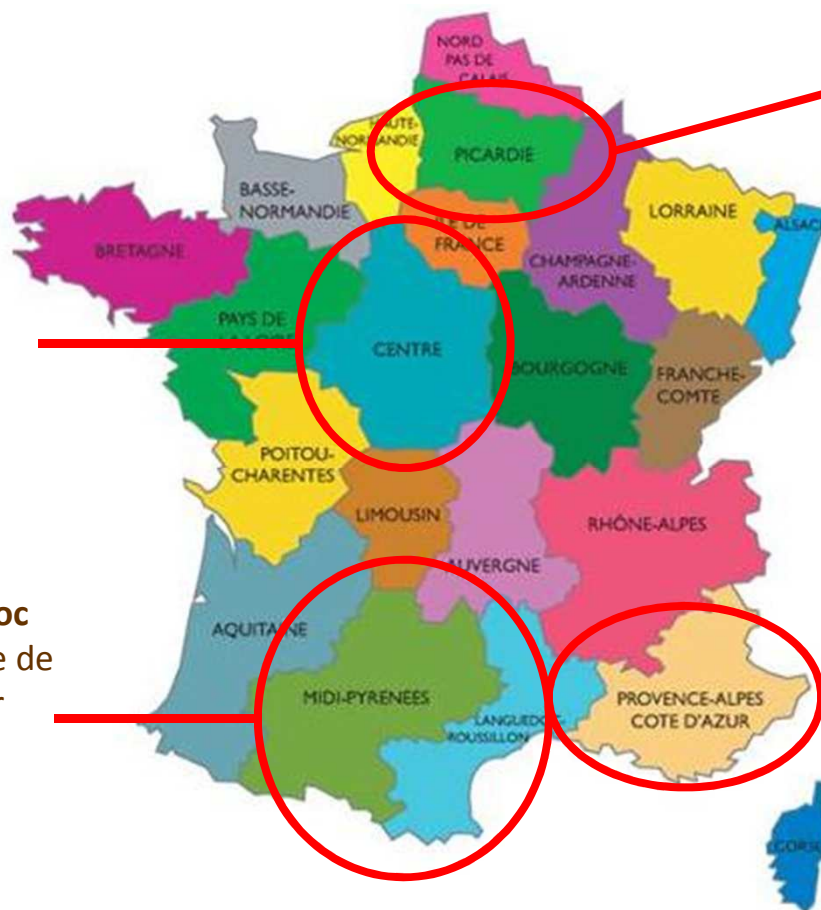
# WP1. Echantillonnage des isolats

4 variétés (T et NT):

- Apache
- Arezzo
- Miradoux
- Sculptur

**Centre** : bassin récent de  
coculture Blé tendre / dur

**Midi-Pyrénées et Languedoc  
Roussillon** : bassin historique de  
coculture Blé tendre / dur

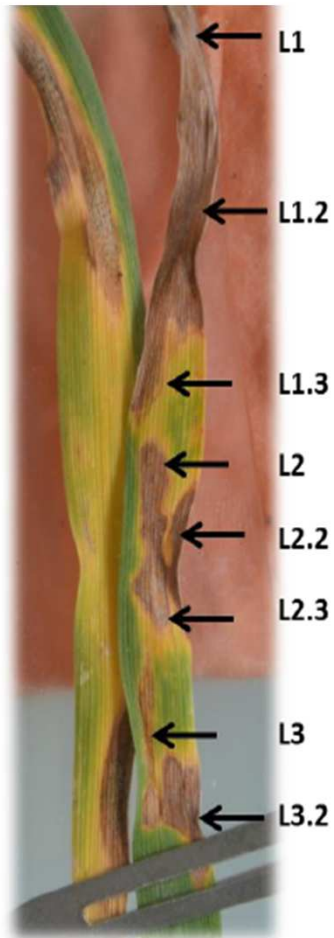


**Picardie** : Bassin de  
référence Blé tendre

**PACA** : Bassin de référence  
Blé dur



## WP1. Echantillonnage des isolats



**Objectif :** Pour une variété sur un site, population > 30 souches purifiées

1 feuille = 8 cirrhés prélevés

- **2 souches monosporées (MS)** de lésions différentes  
= **Population d'étude + Collection**
- 4 souches non monosporées (non MS) = Stock de secours si besoin





## WP1. Souches isolées dans le Sud-Ouest

Bassin	Sud-Ouest	Sud-Ouest	Sud-Ouest	Sud-Ouest	Sud-Ouest	Sud-Ouest
Sites	Deyme 31	Deyme 31	Montesquieu 31	Montesquieu 31	Montesquieu 31	Montesquieu 31
Variétés	Apache	Arezzo	Apache	Arezzo	Miradoux	Sculptur
Souches Monosporées	<b>20 *2 MS</b>	<b>20 *2 MS</b>	<b>30</b>	<b>31</b>	<b>31</b>	<b>29</b>
Souches non MS	32	29	26	20	31	17

Bassin	Sud-Ouest	Sud-Ouest	Sud-Ouest	Sud-Ouest
Sites	Pauilhac 32	Pauilhac 32	Pauilhac 32	Pauilhac 32
Variétés	Apache	Arezzo	Miradoux	Sculptur
Souches Monosporées	<b>32</b>	<b>31</b>	<b>32</b>	<b>30</b>
Souches non MS	59	37	47	47

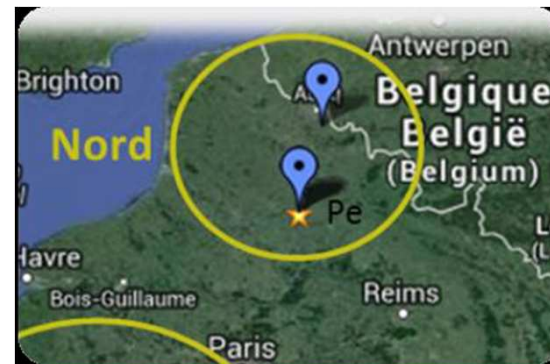


→ 100% de *Z. tritici* sur blé tendre et blé dur





## WP1. Souches isolées dans le Sud-Est et le Nord



Bassin	Sud-Est	Sud-Est	Sud-Est	Nord	Nord
Sites	Barjac 30	Barjac 30	Brillanne 07	Péronne 80	Péronne 80
Variétés	Miradoux	Sculptur	Miradoux	Apache	Arezzo
Souches Monosporées	35	36	36	40	42
Souches non MS	66	54	41	59	49

→ 100% de *Z. tritici* sur blé tendre et blé dur



## WP1. Souches isolées dans le centre

Bassin	Centre	Centre	Centre	Centre	Centre	Centre
Sites	Binas 41	Binas 41	Binas 41	Binas 41	Louville la Chenard 28	Louville la Chenard 28
Variétés	Apache	Arezzo	Miradoux	Sculptur	Miradoux	Sculptur
Souches Monosporées	30	30	30	32	<i>Stagonospora</i>	
Souches non MS	47	46	50	40		

Bassin	Centre	Centre	Centre	Centre	Centre	Centre
Sites	Thizay 36	Thizay 36	Thizay 36	Thizay 36	Fresnaye 28	Fresnaye 28
Variétés	Miradoux	Sculptur	Apache	Arezzo	Miradoux	Sculptur
Souches Monosporées	<i>Stagonospora</i>		39	38	36	<i>Stagonospora</i>
Souches non MS			57	59	~40	

→ 100% de *Z. tritici* sur blé tendre

→ *Stagonospora nodorum* isolés dans 3 sites seulement sur blé dur



## WP2. Développement de méthodes de qPCR spécifiques à *Stagonospora avenae* f. sp. *tritici* et *S. nodorum*

Objectif : appréhender la composition du complexe responsable de la septoriose sur le blé dur en France, ainsi que la répartition (géographique, proportions...) de ces espèces.



ARVALIS  
Institut du végétal

Séquençage  
de gènes clefs  
pour la  
taxonomie

Composition,  
Répartition,  
Phylogénie

Méthodes de  
quantification  
par PCR en  
temps réel

*S. nodorum*

*S. avenae* f. sp.  
*tritici*

*S. tritici*



## WP2. Etat des travaux de développement de la qPCR.

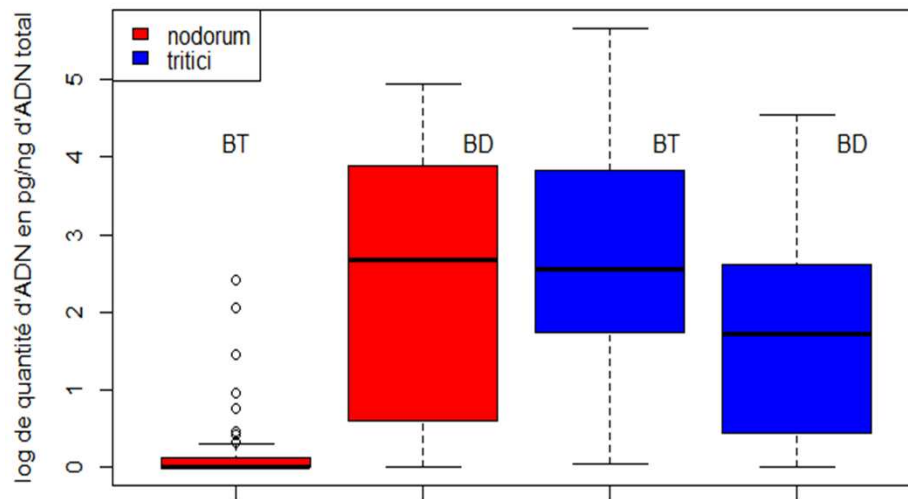
- **Développement de la méthode qPCR pour *Stagonospora nodorum* validée.**
  - LD/LQ identifiée
  - Spécificité validée
  - Reproductibilité et répétabilité validées
  - Vérification du polymorphisme intra-spécifique sur le gène utilisé en cours

→ Méthode utilisable pour les essais au champ, les tests pathologiques et pour faire des enquêtes d'occurrence.
- **Méthode qPCR pour *S. avenae* f. sp. *tritici*:**
  - Difficulté à quantifier séparément les deux sous-espèces
  - Peu d'isolats de cette espèce pour étudier le polymorphisme intra-spécifique
  - Test de spécificité assez encourageant
  - Mise au point des conditions qPCR afin d'être dans les normes attendues. En « stand-by ».



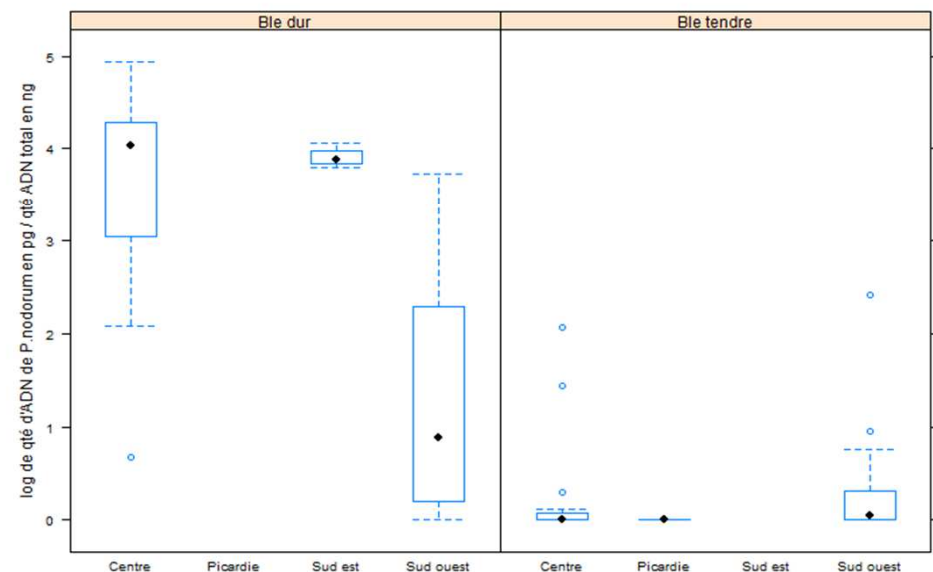


# Comparaisons qPCR et isolements microbiologiques



- Quantité de *Z. tritici* plus faible sur blé dur que blé tendre (non significatif)
- Rare présence de *S. nodorum* sur blé tendre
- Quantité de *S. nodorum* sur BD non significativement différente de celle de *Z. tritici* sur BT

- *S. nodorum* présent dans les trois bassins de production BD!
  - Quantité de *S. nodorum* dans le centre non significativement différente de celle dans le Sud-est et « non négligeable » dans le sud-ouest
- Limites des méthodes d'isolement classique et intérêt de la qPCR





## WP3. Structure des populations de *Z. tritici*

### Materials and methods

#### Sampling of *M. graminicola* populations

Sampling of 738 strains in 2013

-2 cultivars BW (Apache, Arezzo)

-2 cultivars DW (Sculptur, Miradoux)

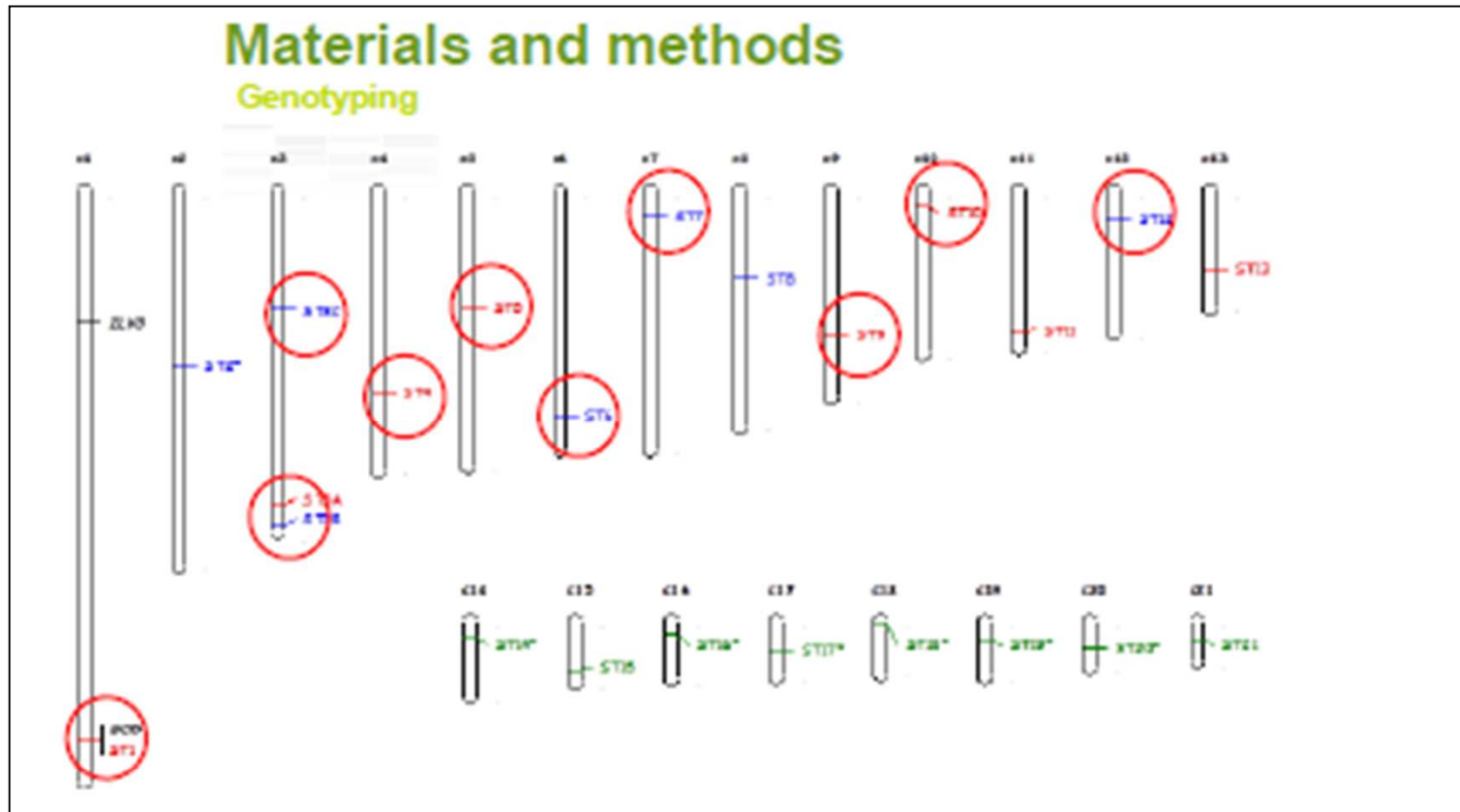


#### Genotyping / Number of isolates per population

	Centre	North	South-East	South-West	Total
<b>BW Apache</b>	65	39	-	53	<b>157</b>
<b>BW Arezzo</b>	66	40	-	58	<b>164</b>
<b>DW Miradoux</b>	62	-	71	41	<b>174</b>
<b>DW Sculptur</b>	27	-	33	54	<b>114</b>
<b>Total</b>	<b>220</b>	<b>79</b>	<b>104</b>	<b>206</b>	<b>609</b>



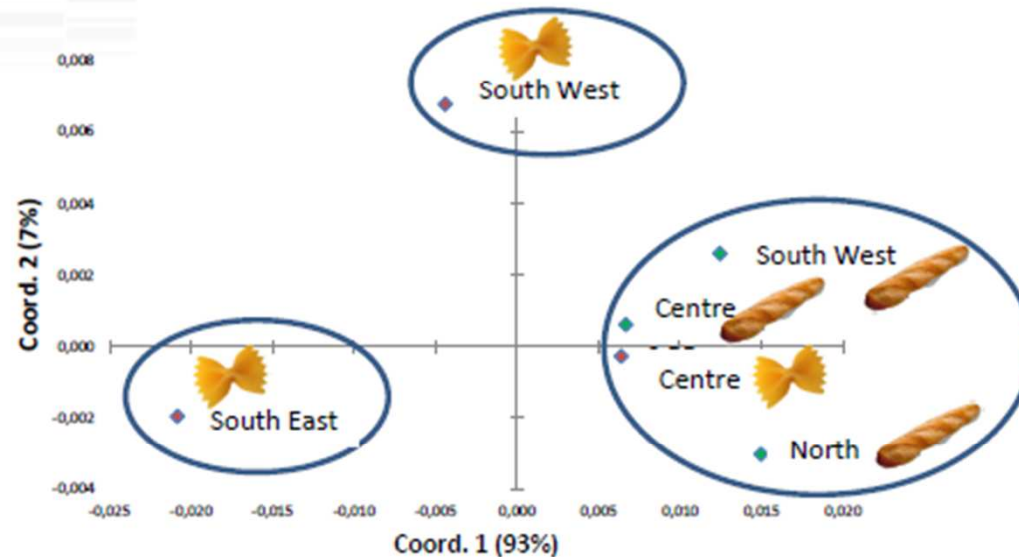
## WP3. Structure des populations de *Z. tritici*



- 10 marqueurs microsatellites répartis sur 9 chromosomes
- Génotypage de 609 isolats de *Z. tritici*



## WP3. Structure des populations de *Z. tritici*

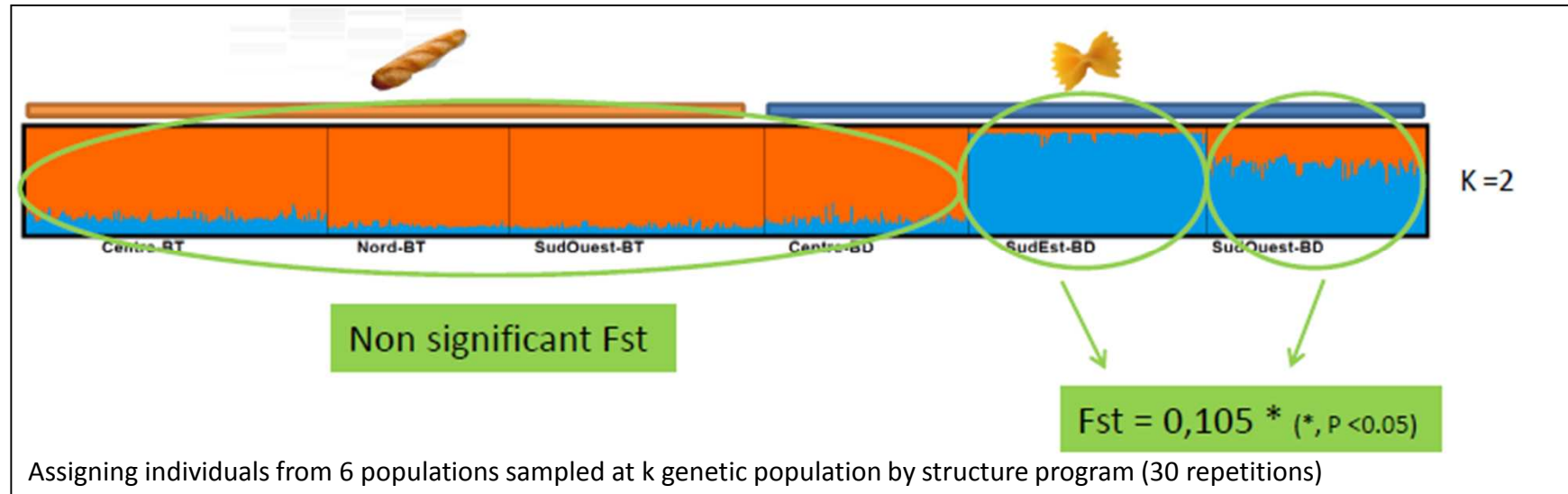


- Populations « blé tendre » sont dans le même groupe
- Populations « blé dur » sont dans trois groupes différents
- La population « blé dur » du centre se regroupe avec les populations « blé tendre »





## WP3. Structure des populations de *Z. tritici*



- ✓ 3 groupes d'isolats:
  - ✓ Orange: toutes les populations blé tendre et la population blé dur du Centre
    - **Changement d'hôte récent ?**
  - ✓ Bleu: la population blé dur du Sud-Est
    - **Très différenciée des autres populations (effet hôte ou géographique?)**
  - ✓ Orange et bleu: « mélange génétique », hybride? Pourquoi seulement sur blé dur?
- ✓ Plus grande différence génétique entre la population nord « blé tendre » et la population sud-est « blé dur »



## WP3. Structure des populations de *Z. tritici*

→ Effet hôte important sur la structure des populations de *Z. tritici*

Questions:

- Est-ce que les souches du nord (blé tendre) et du sud est (Blé dur) sont spécialistes?
- Est-ce que les souches du centre sont généralistes?
- Qu'en est-il des souches du sud-ouest?



# WP4. Spécificité d'hôte de *Z. tritici*

Critères de sélection des souches :

- 2 cultivars d'origine (Apache, Sculptur)
- Combinaisons alléliques différentes

Centre :  
2 populations BT  
2 populations BD

Midi-Pyrénées et Languedoc  
Roussillon :  
2 populations BT  
2 populations BD



	Apache	Sculptur	total
Centre	6	6	12
Nord	4		4
Sud-Est		5	5
Sud-Ouest	6	5	11
total	16	16	32

Nombre d'isolats phénotypés par région et espèce  
1 à 4 répétitions par souches (analyses toujours en cours)

## Matériels et méthodes

### Conditions de cultures et notations

Evaluation quantitative visuelle des  
surfaces nécrosées et pycnidiées à  
21 jai



6 cultivars :

Blé tendre :

Apache  
Arezzo  
Taichung 29

Blé dur :

Sculptur  
Miradoux  
Pharaon





## WP4. Spécificité d'hôte de *Z. tritici*

cultivar d'origine	région	apache	arezzo	taichung	pharaon	Miradoux	sculptur
Apache	Nord	62	0	99	0	0	0
		88	0	94	0	0	0
		36	67	77	0	0	0
	Sud-Ouest	36	68	53	2	0	0
		12	0	49	0	0	0
		36	0	87	0	0	0
		7	75	73	0	0	0
		0	6	92	1	0	0
		36	0	60	0	0	0
	Centre	33	70	62	1	1	0
		52	84	93	4	1	0
		25		84	0	0	0
		65	88	90	0	0	0
		54	63	65	0	2	0
		32	0	86	0	0	0
Sculptur	Centre	0		53	51	27	0
		0	0	19	12	9	0
		0	0	61	4	0	0
		1	0	66	21	6	1
		0	0	24	3	5	0
		0	0	71	44	19	0
	Sud-Ouest	0	0	0	69	22	5
		0	0	66	38	31	30
		0	0	0	69	5	31
		0	0	8	76	7	59
		0	0	0	91	27	45
	Sud-Est	0	0	0	88	15	29
		0	0	0	96	5	87
		0	0	0	28	6	20
		0	0	0	0	1	21
		0	0	2	64	36	45

➤ 3 groupes de souches identifiées par les inoculations croisées sur les deux espèces de blé:

- les « spécialistes » blé tendre
- Les « généralistes » taichung + blé dur
- Les spécialistes blé dur

➤ Différences par rapport aux groupes génétiques observées:

- souches du centre d'origine blé dur sont différentes avec les souches blé tendre en tests pathologiques
- Souches sud-ouest comparables aux souches sud-est



# WP4. Caractérisation variétale blé dur

## Cultivars de blé dur (n=75):

1	Taichung-29	INRA-BIOGER
2	CGN 06575	INRA-BIOGER
3	Synthetic-W-7976 (M3)	INRA-BIOGER
4	Volcani 447	INRA-BIOGER
5	Zenati Bouteille	INRA-BIOGER
6	Ainzen.I	INRA-BIOGER
7	AUS-1	INRA-BIOGER
8	Joyau	INRA-BIOGER
9	Prodigal	INRA-BIOGER
10	Acalou	INRA-BIOGER
11	Brennur	INRA-BIOGER
12	Byblos	INRA-BIOGER
13	Nautilur	INRA-BIOGER
na	Lemur	INRA-BIOGER
na	Liberdur	INRA-BIOGER
14	Agili-39	INRA-BIOGER
na	Salim	INRA-BIOGER
na	Nasr	INRA-BIOGER
na	Maqli	INRA-BIOGER
na	Karim	INRA-BIOGER
15	Cando	ARVALIS
16	Lloyd	ARVALIS
17	CD11_SEPT_01	CIMMYT
18	CD11_SEPT_02	CIMMYT
19	CD11_SEPT_03	CIMMYT
20	CD11_SEPT_04	CIMMYT
21	CD11_SEPT_05	CIMMYT
22	CD11_SEPT_06	CIMMYT
23	CD11_SEPT_07	CIMMYT
24	CD11_SEPT_08	CIMMYT
25	CD11_SEPT_09	CIMMYT
26	CD11_SEPT_10	CIMMYT
27	CD11_SEPT_11	CIMMYT
29	Alexis	Limagrain Europe
30	Athoris	Limagrain Europe
31	Auris	Limagrain Europe
32	Fabulis	Limagrain Europe
33	Nefer	Limagrain Europe
34	Orlu	Limagrain Europe
35	Pharaon	Limagrain Europe
36	Sachem	Limagrain Europe
37	Floridou	Florimond Desprez
38	Ginseng	Florimond Desprez
39	Kanakis	Florimond Desprez
40	Loukoum	Florimond Desprez
41	Lylou	Florimond Desprez
42	Marakas	Florimond Desprez
43	Miradoux	Florimond Desprez
44	Pescadou	Florimond Desprez
45	Prospero	Florimond Desprez
46	Qualidou	Florimond Desprez
47	Reglisse	Florimond Desprez
48	Actisur	R2n
49	Anvergur	R2n
50	Atoudur	R2n
51	Augur	R2n
52	Cessur	R2n
53	Coussur	R2n
54	Isildur	R2n
55	Karur	R2n
56	Luminur	R2n
57	Pastiflur	R2n
58	Pictur	R2n
59	Plussur	R2n
60	Portodur	R2n
61	Ramirez	R2n
62	Sculptur	R2n
63	Tablur	R2n
64	Relief	Syngenta
65	Babylone	Syngenta
66	SY Carma	Syngenta
67	SY Banco	Syngenta
68	SY Cysco	Syngenta
69	SY Enzo	Syngenta
70	Orobel	Syngenta
71	Obelix	Syngenta
72	SY Gibraltar	Syngenta
73	Murano	Syngenta
74	Bakardi	Syngenta
75	Asterix	Syngenta

## Isolats de *Z. tritici* (n=4):

IPO-95052 (Algérie, 1995) → genome

LG-0595 (FR-41, 2013, Sculptur)

LG-0702 (FR-32, 2013, Sculptur)

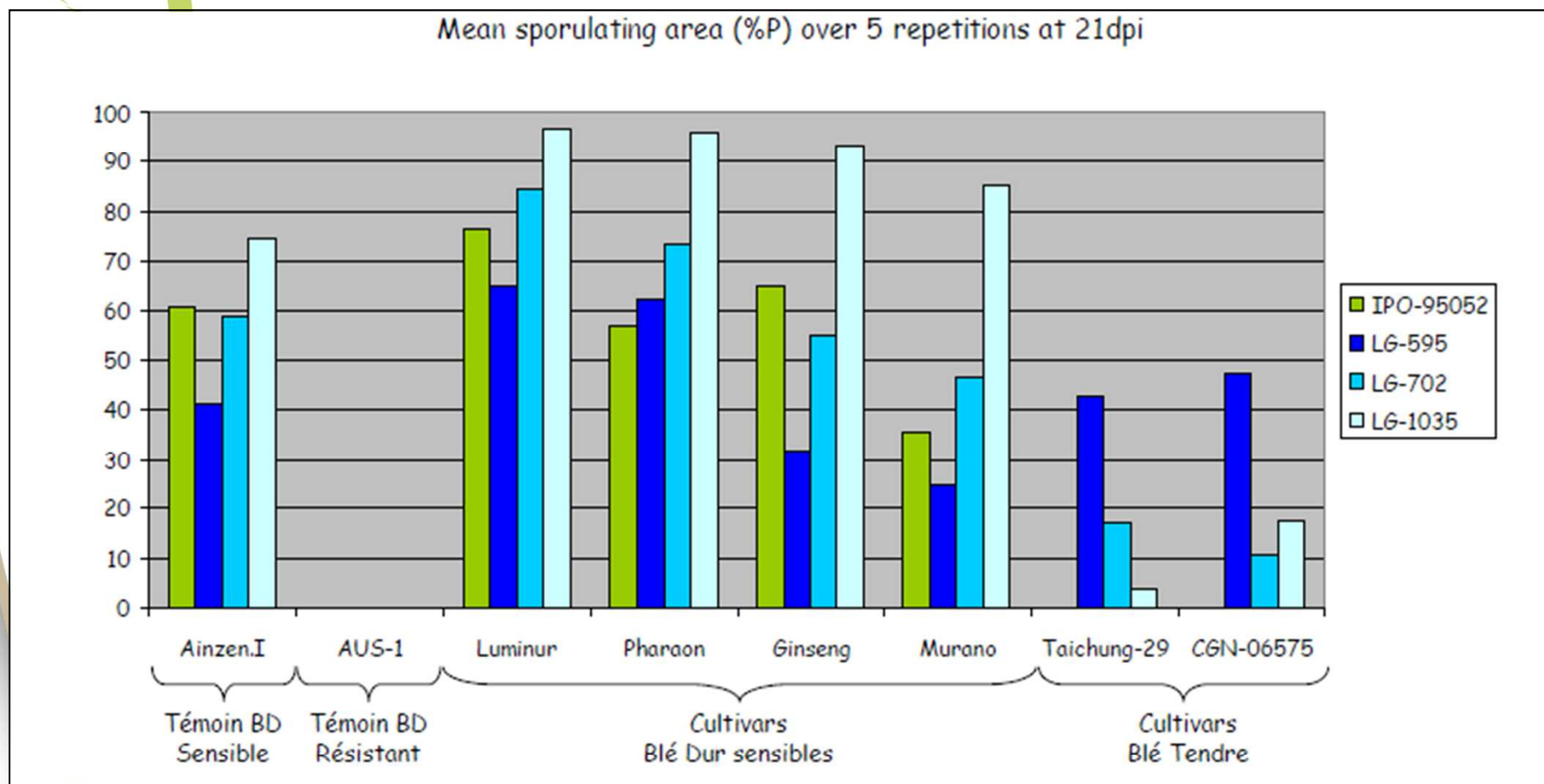
LG-1035 (FR-30, 2013, Sculptur)

→ cinq REPETITIONS

→ OBSERVATIONS A 13, 21 ET 28 JAI



## WP4. Caractérisation variétale blé dur



- Différences d'agressivité entre les souches sur blé dur
- Isolat du Sud-Est > Isolat du Sud-Ouest > Isolat du Centre
- Inversement de l'agressivité sur les témoins blé tendre



## WP4. Caractérisation variétale blé dur

**1**

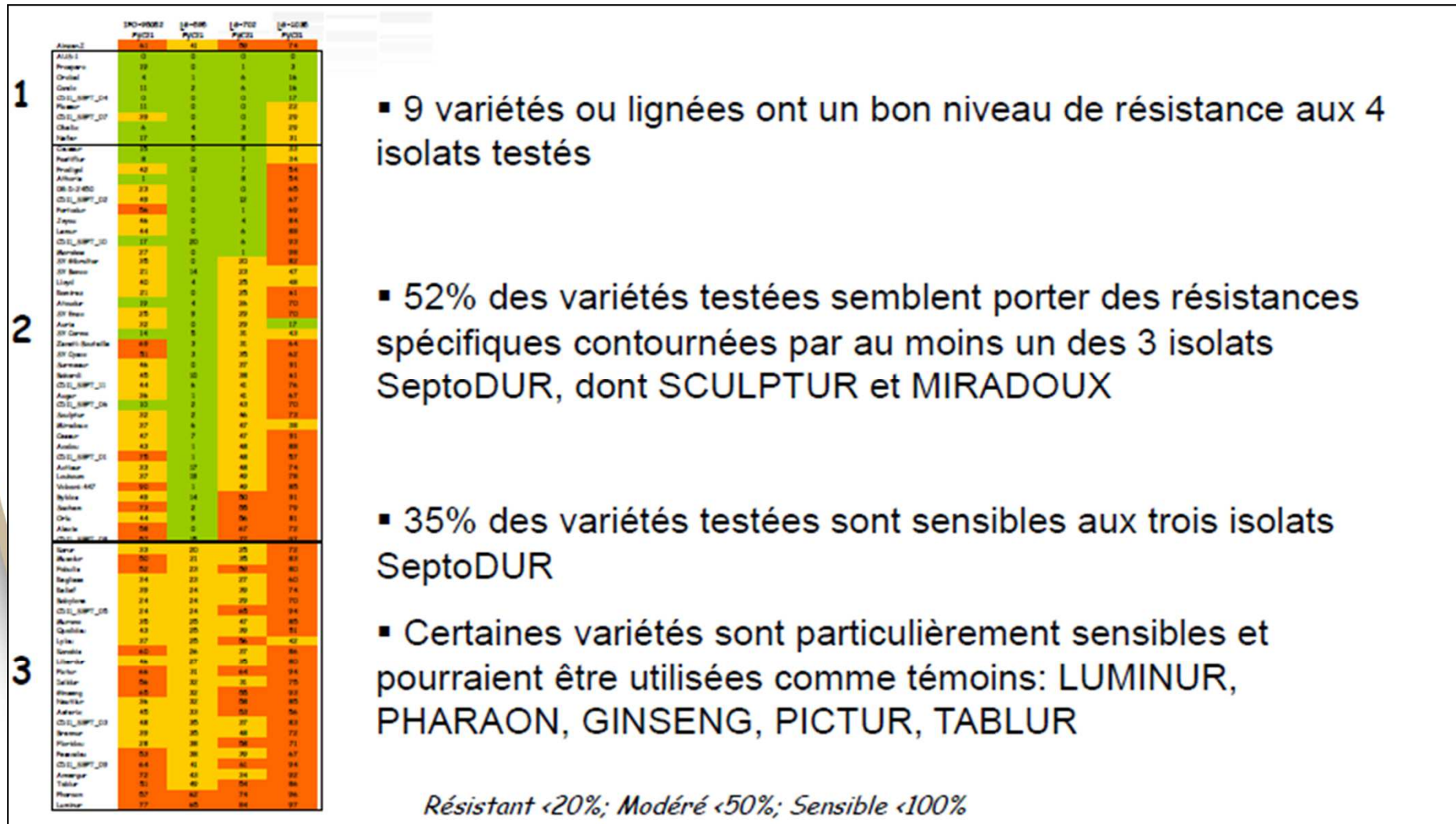
	IPO-95052 PYC21	LG-595 PYC21	LG-702 PYC21	LG-1035 PYC21	
Ainzen.I	61	41	59	74	- Témoin S
AUS-1	0	0	0	0	- Témoin R
Prospero	19	0	1	3	
Orobel	4	1	6	16	
Cando	11	2	6	16	
CD11_SEPT_04	0	0	0	17	
Plussur	11	0	0	22	
CD11_SEPT_07	39	0	0	29	
Obelix	6	4	3	29	
Nefer	17	5	8	31	
Sculptur	32	2	46	73	- SCULPTUR

■ 9 variétés ou lignées ont un bon niveau de résistance aux 4 isolats testés

*Résistant <20%; Modéré <50%; Sensible <100%*



## WP4. Caractérisation variétale blé dur





## Conclusions et perspectives

- *S. nodorum* seulement isolée dans le centre mais les analyses moléculaires indiquent sa présence dans tous les bassins de production. Présence asymptomatique? Biais de la méthode d'isolement? Compétition interspécifique? Nouveaux prélèvements en 2015 Structuration génétique des populations de *Z. tritici* sur blé dur. Réel effet plante hôte ou effet géographique? Isoler des populations sur Blé tendre dans le Sud-est.
- Etudes sur la spécificité d'hôte de *Z. tritici* semblent confirmer des différences d'agressivité selon les plantes hôtes et les bassins de production. Poursuite des études avec un plus grand nombre d'isolats. En cours d'analyses. Valider la structuration génétique observée.
- Etudes de la spécificité d'hôte de *S. nodorum*. Premiers tests concluants (FSOV WEAB) sur la méthodologie à mettre en œuvre. Stage M2 en cours. Essais au champ prévus avec *S. nodorum*.





# Merci de votre attention



Lilian Gout  
Valérie Laval  
Thierry Marcel  
Anne-Sophie Walker  
Johann Confais

## GIE Blé Dur

Jean-paul Legoff  
Marie-Claire Tardin  
Carine André  
Franck Lacoudre  
Mickael Cochard  
Thierry lefevre



Cindy Vitry  
Marie Massot  
Gwilherm Gazeau  
Thomas Caparroy  
Et tous les collègues  
impliqués dans le projet



RÉPUBLIQUE FRANÇAISE

MINISTÈRE  
DE L'AGRICULTURE  
DE L'AGROALIMENTAIRE  
ET DE LA FORÊT

*avec la contribution financière du  
compte d'affectation spéciale  
«Développement agricole et rural»*

ARVALIS  
Institut du végétal

