

**AFPP – ONZIÈME CONFÉRENCE INTERNATIONALE SUR LES MALADIES DES PLANTES
TOURS – 7 AU 9 DÉCEMBRE 2015**

**LA SEPTORIOSE DU BLE DUR EN FRANCE : CARACTERISATION DU COMPLEXE D'ESPECES
RESPONSABLE DE LA MALADIE ET FOCUS SUR *PARASTAGONOSPORA NODORUM***

R. VALADE⁽¹⁾, T. CAPARROY⁽¹⁾, O. BEAUDOUIN⁽¹⁾ et L. GOUT⁽²⁾

⁽¹⁾ ARVALIS Institut du Végétal – Laboratoire de Pathologie végétale

Domaine AgroParisTech, Avenue Lucien Brétignières, Bâtiment INRA Bioger, 78850 Thiverval-Grignon, France. Mél : r.valade@arvalisinstitutduvegetal.fr

⁽²⁾ UMR BIOGER AGROPARISTECH

Domaine AgroParisTech, Avenue Lucien Brétignières, Bâtiment INRA Bioger, 78850 Thiverval-Grignon, France. Mél : lilian.gout@agroparistech.fr

RÉSUMÉ

La septoriose des céréales est une maladie fréquente en France causant des pertes allant jusqu'à 50 % du rendement. *Parastagonospora nodorum*, un des champignons du complexe d'espèces responsables de cette pathologie, est très peu étudié en France depuis 30 ans car *Zymoseptoria tritici* est considérée comme étant la principale espèce responsable de la septoriose en France. Connaître la distribution de *P. nodorum* sur le territoire et caractériser sa spécificité d'hôte est nécessaire afin d'optimiser la lutte contre la septoriose. L'étude de l'occurrence de *P. nodorum* en France révèle que cette espèce est finalement encore bien présente, principalement sur les cultures de blé dur. Elle est également associée à *Z. tritici* dans la plupart des échantillons analysés dans cette étude. *P. nodorum* est plus rarement identifié sur des cultures de blé tendre ou seul. La caractérisation de la sensibilité variétale a mis en évidence que les variétés de blé tendre, de triticales et d'orge ont des sensibilités différentes à une même souche et variables selon la souche inoculée. Au contraire, les variétés françaises de blé dur se sont révélées être très sensibles aux souches françaises de *P. nodorum* utilisées. Ces résultats montrent que la gestion de la lutte contre la septoriose nécessite de prendre en compte la présence de *P. nodorum* particulièrement sur blé dur.

Mots-clés : septoriose, *P. nodorum*, occurrence, blé dur, sensibilité.

ABSTRACT

SEPTORIA LEAF BLOTCH ON DURUM WHEAT IN FRANCE : CHARACTERISATION OF THE SPECIES COMPLEX RESPONSIBLE OF THE DISEASE AND FOCUS ON *PARASTAGONOSPORA NODORUM*

Leaf blotch disease is common in France and is responsible of great losses (up to 50% of yield losses). *Parastagonospora nodorum*, one of the fungi responsible of leaf (and glume) blotch, received very little attention in France in the last 30 years since it is not the main responsible of this disease. Only *Zymoseptoria tritici* is under study as it is the first responsible of the leaf blotch disease. A better knowledge of the spatial distribution of *P. nodorum* and of its host specificity will lead to a better management of the disease. We showed that *P. nodorum* was still present in many departments in France, although mainly on durum wheat and with *Z. tritici*. It was detected few times on bread wheat or alone. Bread wheat, triticales and barley susceptibility was more variety and isolate dependant. French durum wheat varieties were very sensitive to the French isolates we used in this study. These results show that control of septoria leaf blotch needs to take into account the presence of *P. nodorum* on durum wheat.

Keywords: septoria leaf blotch, *P. nodorum*, occurrence, durum wheat, susceptibility.

INTRODUCTION

La septoriose est une maladie majeure sur les cultures de blé dur et de blé tendre dans le monde (Oliver *et al.*, 2012 ; Iori *et al.*, 2014). Elle est due à un complexe d'espèces de champignons phytopathogènes regroupant *Parastagonospora nodorum* (Berk.) Quaedvlieg, Verkley et Crous (téléomorphe *Phaeosphaeria nodorum*), anciennement *Stagonospora nodorum* (Berk.) E. Castell et Germano (1977), *Zymoseptoria tritici* (Desm.) Quaedvlieg et Crous (2011), *Stagonospora avenae* f. sp. *tritici* Bissett (1982) et *Zymoseptoria passerinii* Quaedvlieg et Crous (2011).

Z. passerinii et *S. avenae* f. sp. *tritici* sont capables d'attaquer plusieurs hôtes dont le blé mais sont plus souvent impliqués dans la septoriose de l'orge et du seigle. Ce sont aussi les espèces les moins fréquentes. L'agent pathogène le plus souvent responsable de la maladie est *Z. tritici*. Mais cela n'a pas toujours été le cas. Jusqu'à dans les années 1970, c'est *P. nodorum* qui était le principal agent pathogène causant la septoriose (Oliver *et al.*, 2012).

Les raisons de ce changement dans la composition du complexe d'espèces ne sont pas encore clairement identifiées, mais plusieurs hypothèses sont soulevées. Des études menées en Angleterre révèlent une corrélation significative entre le taux de SO₂ atmosphérique (la sévérité de la maladie étant fonction de ce facteur (Friesen *et al.*, 2007)) et l'abondance relative de *P. nodorum* et *Z. tritici* (Solomon *et al.*, 2006). Une autre hypothèse avancée est l'utilisation massive de fongicides contre *P. nodorum* qui aurait permis l'installation de *Z. tritici* (Solomon *et al.*, 2006). En effet ce dernier aurait déjà développé des résistances aux produits phytopharmaceutiques. *P. nodorum* reste néanmoins détecté régulièrement dans les zones de cultures du blé (notamment en Italie, Iori *et al.*, 2014) et la maladie fait partie de celles causant le plus de pertes économiques (Oliver *et al.*, 2012). Ces deux agents pathogènes ne s'excluent pas mutuellement et leurs épidémies peuvent apparaître de façon combinée.

Il est difficile de relier symptômes et champignons car *P. nodorum* et *Z. tritici* génèrent des symptômes très similaires sur feuilles : lésions brunes et nécroses 2 à 3 semaines après l'infection, pycnides apparaissant dans les tissus foliaires nécrosés, production de cirrhes. *P. nodorum* infecte aussi les épis : des taches brunes y sont observables. Elles deviendront des nécroses sur la partie supérieure des glumes. Le mycélium peut rester dans l'enveloppe des grains infectés et les graines pourront transmettre la maladie une fois semée. 3 % de semences contaminées sont suffisants pour avoir un risque épidémiologique important.

Cette difficulté dans le diagnostic rend évidemment difficile tout jugement pour un traitement fongicide éventuel car les espèces n'ont pas les mêmes sensibilités aux fongicides. Seule une étude plus poussée (reconnaissance des spores notamment) permet d'être absolument certain qu'il s'agisse de l'un ou l'autre des agents pathogènes du complexe de la maladie. En effet, bien que les symptômes soient similaires, *Z. tritici* et *P. nodorum* ne sont pas si proches que ça d'un point de vue morphologique, phylogénétique et taxonomique (Solomon *et al.*, 2006).

Bien comprendre une maladie implique de bien cerner tous les agents pathogènes responsables de cette maladie. Le projet SeptoDUR financé par le Ministère de l'Agriculture et mené par Arvalis-Institut du végétal en collaboration avec le GIE Blé dur et l'INRA (UMR Bioger) a permis d'identifier et de caractériser le complexe d'espèces responsable de la septoriose sur le blé dur en France. L'étude a également permis d'évaluer la spécificité d'hôte de ces espèces, de caractériser la tolérance variétale du blé dur face à ces champignons et d'estimer les fréquences de résistance aux fongicides des populations de *Z. tritici*. Dans cet article, nous présentons les principaux résultats du projet autour d'un des agents responsables de la septoriose : *P. nodorum*.

P. nodorum est un champignon ascomycète et fait partie des Pléosporales, ordre appartenant à la classe des Dothidéomycètes. Il est capable de causer des pertes de rendements significatives en cas de saisons très humides. En Australie, c'est un agent pathogène extrêmement important : les pertes dues à ce champignon sont estimées à 108 millions de dollars australiens par an (Oliver *et al.*, 2012). Aux Etats-Unis, où la septoriose se trouve partout si les conditions sont favorables pendant la période de dispersion (fin mai début juin), les pertes de rendement sont de l'ordre de 20 à 30 % (Lipps *et al.*, 2002). Il est présent également en Afrique du Sud, Asie du Sud et Afrique du Nord (Oliver *et al.*, 2012). En France, la septoriose cause des pertes de rendement de l'ordre de 17q/ha en

moyenne, et jusqu'à 50 % dans les cas les plus sévères. Mais ces pertes sont le plus souvent imputées à *Z. tritici* sans réelle connaissance du champignon responsable.

P. nodorum se retrouve sur de multiples hôtes (Arseniuk et al., 1996 ; Beck, 1995 ; Solomon et al., 2006 ; Tian et al., 2005 ; McDonald et al., 2013), chacun ayant une place dans notre économie et dans l'alimentation (humaine ou animale) importante. En premier lieu, le blé dur (*Triticum turgidum* L.), cultivé pour son usage agroalimentaire (semoule, pâtes), et le blé tendre (*T. aestivum* L., aussi connu sous le nom de froment), cultivé pour son aptitude boulangère. *P. nodorum* est aussi capable d'attaquer le seigle (*Secale cereale* L.), présent à la fois dans l'alimentation humaine et animale. Le triticales (*xTriticosecale* Wittm. ex A. Camus) est aussi un hôte potentiel qui devient de plus en plus important (2 Mt produites en France en 2013 avec une production qui a doublé en 20 ans). Cette culture destinée au fourrage est aussi attaquée par la septoriose mais très peu de données concernant le développement de *P. nodorum* sur triticales ont été recueillies. L'orge (*Hordeum vulgare* L.) est une autre céréale attaquée. Elle est utilisée en alimentation humaine et animale. *P. nodorum* aurait deux biotypes, un spécifique au blé et l'autre de l'orge (Cunfer, 2000 ; Bennett et al., 2003 ; Solomon et al., 2006), ce qui ne les empêche pas de passer d'une espèce à l'autre. De plus, les nombreux diagnostics effectués par Arvalis montrent que, en France, la principale source de septoriose sur cette culture est *P. nodorum*. De nombreuses graminées sauvages sont aussi attaquées en tant qu'hôtes alternatifs (Solomon et al., 2006).

Le large spectre d'hôtes démontre la capacité d'adaptation de l'agent pathogène : le seigle est une céréale rustique qui résiste bien aux sols froids, le blé dur préfère les régions chaudes. Mais toutes ne subissent pas la maladie avec la même intensité. En 1991, Arseniuk et al. ont étudié les résistances du blé, du triticales et de l'épeautre à *P. nodorum*. En moyenne, ils sont sensibles, sauf le triticales de printemps et d'hiver, significativement plus résistants. Les variétés de blé d'hiver semblent plus résistantes et celles de blés de printemps plus sensibles.

Les stratégies de gestion dans le monde sont classiques: rotations des cultures (céréales une année sur trois), destruction des repousses spontanées de céréales et autres graminées pouvant servir d'hôtes secondaires avant le semis, choix de variétés résistantes, semences traitées, éviter une fertilisation azotée excessive pouvant favoriser l'apparition du champignon. L'utilisation de fongicides (principalement des triazoles) se révèle également efficace, et très peu de résistances sont apparues en Europe. L'incidence de la maladie peut également être limitée par un semis tardif.

Mais ces stratégies ont des limites : dans d'autres pays comme l'Australie, où le champignon est encore présent et où l'utilisation des fongicides est relativement élevée, des résistances apparaissent. Par exemple en Scandinavie, il est apparu une résistance à l'azoxystrobine (produit encore en vigueur en France) (Oliver et al., 2012).

La septoriose est très souvent résumée à *Z. tritici* en France. L'ensemble des études concernant la septoriose effectuées ces dernières années ont été faites sur blé tendre et révèlent que *Z. tritici* est bien l'espèce responsable de la maladie. Mais aucune étude n'a été menée sur blé dur. Or les activités de diagnostics menées par Arvalis et les premiers résultats d'isolements obtenus récemment dans le cadre du projet Septodur indiquent que *P. nodorum* est encore présent sur le territoire. L'étude de *P. nodorum* que nous proposons a pour but d'améliorer les connaissances de cet agent pathogène afin de mieux appréhender la maladie et développer de meilleures stratégies de gestion s'il s'avère que *P. nodorum* est encore bien présent. Dans un premier temps, nous avons étudié l'occurrence réelle du champignon par rapport à *Z. tritici*: où est-il détecté ? à quelle fréquence ? Puis nous nous pencherons sur son agressivité sur différentes espèces de céréales à paille : blé tendre, blé dur, triticales, orge, seigle et avoine, qui sont des espèces cultivées en France et sensibles à la septoriose.

MATERIEL ET MÉTHODE

Etude de l'occurrence de *P. nodorum* et *Z. tritici*

Afin d'avoir une vision globale de la maladie en France de 2013 à aujourd'hui, des analyses qPCR ont été réalisées sur des échantillons prélevés en 2013, 2014 et 2015 par Arvalis et le réseau des

obtenteurs (GIE Blé Dur). L'échantillonnage a concerné quatre bassins de production de blé : Picardie (blé tendre), Centre (blé tendre, blé dur), Sud-Ouest (blé tendre, blé dur) et Sud-Est (blé dur). L'échantillonnage a été fait comme suit : 30 à 40 feuilles de blé (variétés Apache, Arezzo, Miradoux et Sculptur) présentant des symptômes de septoriose ont été prélevées dans des parcelles non inoculées et non traitées de préférence. Les feuilles ont été séchées pendant 24 à 48 heures à l'air libre avant d'être envoyées.

Quinze feuilles ont été broyées au broyeur à bille Retsch[®] MM400 (2 minutes à 30 sec⁻¹) ou dans un broyeur à rotor Fritsch Pulverisette 14. Entre 42 et 50 mg de broyat ont été récupérés pour l'extraction d'ADN. L'ADN est extrait grâce à un kit d'extraction Quiagen[®] (Ref Cat. N°69106).

La qPCR a été faite soit sur un appareil ABI 1900HT[™] ou un appareil BioRad CFX96[™] selon disponibilité en suivant la programmation suivante : 50 °C pendant 2 minutes, 95 °C pendant 10 minutes et 40 cycles à 95 °C pendant 15 secondes et 60 °C pendant 1 minute, avec les solutions d'ADN diluées à 30 ng.µl⁻¹. Pour *P. nodorum* et *Z. tritici*, la sonde et les amorces employées ont ciblé le gène de la mannitol-déshydrogénase (gène nucléaire monocopie). La limite de détection a été fixée à 35 Ct. Un résultat supérieur a été considéré comme nul. Les qPCR ont été développées et validées par ARVALIS.

Etude de la sensibilité variétale à *P. nodorum*

Identification et isolation des souches de *P. nodorum*

L'ensemble des souches utilisées (tableau I) provient d'analyses de flore et de diagnostics effectués par ARVALIS et l'INRA BIOGER au cours des dernières années. Les souches ont été isolées selon le protocole suivant : chaque échantillon végétal présentant des symptômes a été placé en chambre humide pendant 24 h pour laisser le champignon se développer. Après son identification à la loupe binoculaire, les fructifications (cirrhes) ont été récoltées avec une aiguille, placées sur milieu PDA (Potato Dextrose Agar, gélose dextrosée à la pomme de terre) contenant de la streptomycine (afin de limiter le développement de bactéries) et incubées pendant 2 à 3 semaines pour que le mycélium se développe.

Tableau I : Détail des souches de *P. nodorum* étudiées
(*P. nodorum* strains used)

Code souche	Propriété	Année d'isolation	Origine (département)	Espèce (hôte)	Variété (hôte)
BD-13001	ARVALIS	2013	04	Blé dur	Isildur
BD-15001	ARVALIS	2013	36	Blé dur	Miradoux
BD-15008	ARVALIS	2015	36	Blé dur	Miradoux
BD-15011	ARVALIS	2015	36	Blé dur	Sculptur
BD-15015	ARVALIS	2015	28	Blé dur	Miradoux
BD-15022	ARVALIS	2015	28	Blé dur	Sculptur
BT-13004	ARVALIS	2013	58	Blé tendre	Euclide
T-13024	ARVALIS	2013	03	Triticale	Tribeca
T-14005	ARVALIS	2014	46	Triticale	Non renseignée

Isolement monospore des souches de *P. nodorum* et conservation

Une fois les souches isolées et développées sous forme de mycélium, un plug de mycélium a été placé sur V8-PDA en chambre de culture (20°C, photopériode de 16h avec lumière blanche et ultra-violets [UV], 70 % d'humidité relative [HR]) pendant 2 à 3 semaines. Après apparition des pycnides, les spores ont été récoltées et diluées au 100^e et au 1000^e. Des volumes de 500 µL de chaque solution ont été étalés sur des boîtes de PDA placées en chambre de culture pendant 48 h (mêmes conditions que précédemment). A l'aide d'une aiguille, une spore germée et isolée a été prélevée de l'une des deux boîtes de Petri et déposée sur une nouvelle boîte contenant un milieu PDA pour

production de mycélium. Des plugs de mycélium ont finalement été découpés et stockés dans de l'huile minérale à -80 °C. Pour gagner du temps par la suite un plug a été remis en culture sur V8-PDA pour produire des spores qui ont été récoltés au bout de 3 semaines dans 1 mL d'eau osmosée. La solution de spores a été stockée à -80 °C.

Production d'inoculum de *P. nodorum*

Les souches d'intérêt (tableau I) ont été mises en culture à partir de suspensions de spores congelées. Pour une production massive de spores, 200 µl d'une suspension ont été prélevés puis étalés à l'aide d'un enseigneur sur un milieu V8-PDA. La boîte a été placée pendant une dizaine de jours en chambre de culture. Après 10 à 12 jours, les pycnides sont bien visibles (points noirs sur le milieu). La surface de la boîte de Petri a été recouverte par 4 ml d'eau osmosée stérile. Les spores, agglomérées dans des cirrhes, ont été récoltées en grattant la surface du milieu. Si besoin, la suspension a été filtrée sur un tamis de 200 µm pour éviter de recueillir du mycélium. Les spores ont ensuite été comptées sur cellule de Malassez afin de préparer 30 ml d'inoculum à 10^6 spores.ml⁻¹. Le volume prélevé a été conservé à -20 °C dans un même volume de lait glycérolé à 25 %. Le jour de l'inoculation, le volume d'eau gélifiée à 0,5 % (gélatine Sigma ® type B référence G-9382, pour éviter les amas de spores) nécessaire pour avoir le volume d'inoculum prévu a été ajouté.

Espèces et variétés étudiées

Plusieurs espèces de céréales à pailles décrites comme sensibles à la septoriose (et plus particulièrement à *P. nodorum*) ont été étudiées, en prenant une à plusieurs variétés pour chacune d'entre elles (tableau II).

Tableau II : Liste des espèces de céréales à pailles et variétés étudiées
(Varieties of each cereals species studied)

Blé dur	Blé tendre	Triticale	Avoine	Seigle	Orge
Miradoux	Apache	Tribeca	Charmoise	Palazzo	Kws irina
Sculptur	Arezzo	Triskell		Brasetto	Odyssey
Pharaon	Premio	Vuka		Drubin	Rgt planet
Fabulis	Taichung 29	Orval		Guttino	Explorer
Lloyd	Soissons				
Cando					

Culture des plantes et inoculation

Les graines ont été semées à environ 1 cm de profondeur dans du terreau. Les pots ont été placés en chambre climatique pendant deux semaines. Selon la disponibilité, deux chambres aux conditions identiques ont été utilisées :

➔ 22 °C le jour, 18 °C la nuit, photopériode de 16 h, 90 % HR le jour, 80 % HR la nuit

Après deux semaines de culture et lorsque la première vraie feuille est bien développée, un intervalle de 7 cm a été marqué sur cette dernière à l'aide d'un marqueur fin indélébile. L'opération a été faite avec la plus grande délicatesse pour ne pas endommager le tissu foliaire. L'inoculation (et donc la notation) a été faite sur ce segment de 7 cm. A l'aide d'un pinceau brosse synthétique, l'inoculum a été réparti en faisant trois allers et retours. L'ensemble des plantes inoculées a été remis en chambre climatique pendant une semaine dans des sacs plastiques transparents (pour favoriser l'apparition des symptômes) qui ont été retirés au bout de trois jours.

Notation des symptômes

Le développement de la septoriose a été noté en fonction du pourcentage de feuille verte visible sur les 7 cm inoculés. Par conséquent 0 % correspond au maximum de la maladie, 100 % au minimum.

Dispositif expérimentale

Un dispositif en split plot a été utilisé. Les sous blocs ont été définis par le facteur « souche » et les parcelles élémentaires par le facteur « variété ». Chaque souche a donc été inoculée sur l'ensemble des plateaux contenant chacun un pot de chaque variété. Un témoin eau + gélatine 0,5 % a été ajouté. Pour chaque variété cinq feuilles ont été inoculées. cinq tests pathologiques ont été conduits, et chaque souche a été inoculée au moins trois fois sur l'ensemble des variétés étudiées.

Analyse statistique

L'ensemble des données a été traité sous R avec une Anova de type III. Le dispositif expérimental impose le modèle mixte suivant :

$$Y_{ijk m} = \mu + \alpha_i + \beta_j + \gamma_{k|j} + \delta_{ik|j} + \epsilon_{ij} + T_m + S_{im} + E_{jm} + I_{mij} + \varepsilon_{ijk m}$$

$Y_{ijk m}$ est la variable réponse, ici ϵ_{ij} est l'interaction souche : espèce

$$\arcsin\left(\sqrt{\frac{\text{surfaces vertes}}{100}}\right)$$

μ est l'effet général du modèle

T_m est la variable test ($1 < m < 5$)

α_i est l'effet de la variable souche ($1 < i < 9$)

S_{im} est son interaction avec la variable souche

β_j est l'effet de la variable espèce ($1 < j < 6$)

E_{jm} est son interaction avec la variable espèce

$\gamma_{k|j}$ est l'effet de la variable variété subordonné à l'effet de la variable espèce ($1 < k < 24$)

I_{mij} est son interaction avec les variables souches et espèces

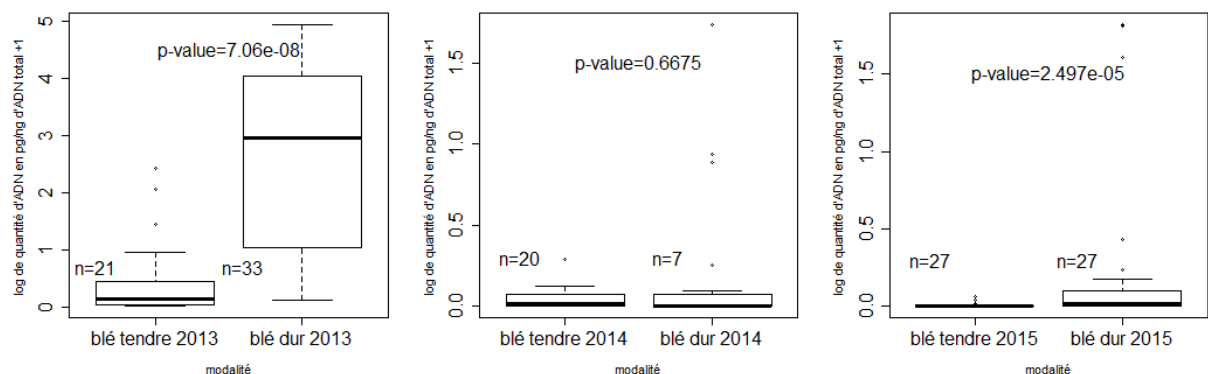
$\delta_{ik|j}$ est l'interaction souche x variété subordonné à l'effet de l'espèce

$\varepsilon_{ijk m}$ la variance résiduelle

Les notes des cinq feuilles ont été moyennées pour chaque combinaison variété x souche x test. Les moyennes de chaque variété ont été ajustées de l'effet souche. Deux seuils ont été placés.

Figure 1 : Biomasse fongique de *P. nodorum* exprimée en log (pg d'ADN/μg d'ADN total +1) en fonction de l'espèce, entre 2013 et 2015.

(*P. nodorum* biomass expressed in log (pg DNA/μg total DNA +1) obtained from two cereals species between 2013 and 2015).



RESULTATS

Occurrence des espèces responsables de la septoriose en France

P. nodorum a été détecté sur 135 des 169 échantillons analysés par qPCR. 80 % de ces échantillons sont des feuilles de blé dur. *P. nodorum* se trouve significativement plus sur blé dur que sur blé tendre en 2013 (54 échantillons) et 2015 (54 échantillons) (figure 1). En 2014 la situation est différente : *P. nodorum* se trouve autant sur blé dur que sur blé tendre mais avec des valeurs faibles. De plus, seuls 27 échantillons étaient disponibles en 2014, ce qui pourrait expliquer cette différence. Même si les moyennes ne sont pas significativement différentes en 2014, les valeurs les plus élevées de biomasse fongique sont également sur blé dur. En termes de biomasse fongique, *P. nodorum* est autant présent que *Z. tritici* sur blé dur.

P. nodorum est moins abondant dans les échantillons de 2015. Sur l'ensemble des échantillons, il est détecté moins d'une fois sur deux (contre 2 fois sur 3 en 2013 et 2014). *Z. tritici* se trouve autant sur blé dur que tendre (50/50). Quand *Z. tritici* est détecté seul, c'est dans 80 % des cas sur blé tendre. Les cartes issues des résultats d'analyses qPCR nous montrent que *P. nodorum* est présent dans presque toutes les régions où ont eu lieu les prélèvements (figures 2, 3 et 4). Quand *P. nodorum* est présent, il est très souvent détecté en association avec *Z. tritici* (65 % des échantillons en 2013, 60 % des échantillons en 2014 et 44 % des échantillons en 2015), ce qui signifie que les deux agents pathogènes sont présents sur la même parcelle au même moment. Mais en 2014 et 2015, on retrouve *P. nodorum* seul sur quelques parcelles de blé dur dans le sud de la France. *P. nodorum* n'est pas présent dans la région Nord, contrairement à *Z. tritici* quelle que soit l'année. A l'inverse, *P. nodorum* est le principal responsable de la maladie dans la région Sud-Est en 2013 et 2014.

Figure 2 : Carte d'occurrence de *P. nodorum* et *Z. tritici* en 2013.
(Occurrence map of *P. nodorum* and *Z. tritici* in 2013)

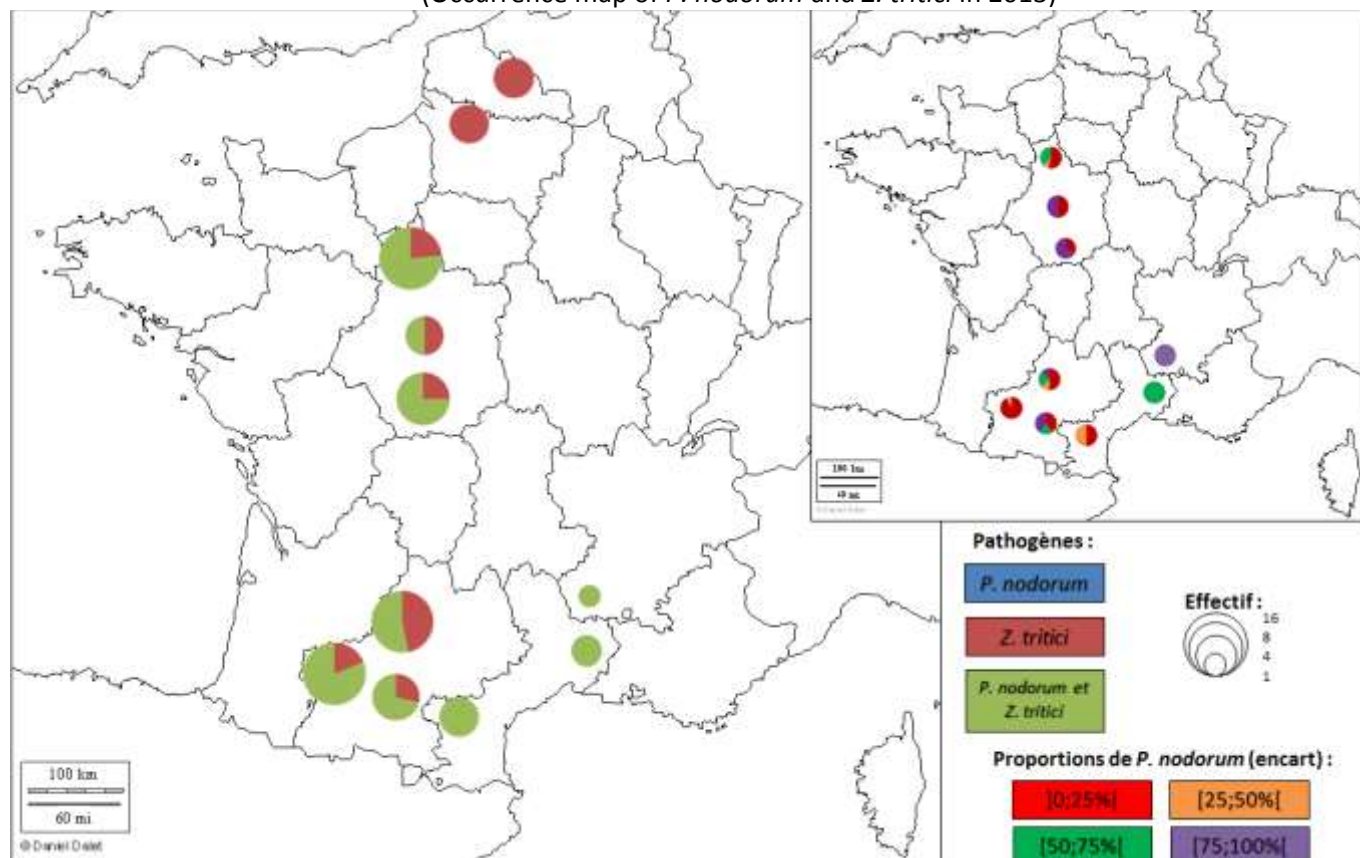


Figure 3 : Carte d'occurrence de *P. nodorum* et *Z. tritici* en 2014.
(Occurrence map of *P. nodorum* and *Z. tritici* in 2014)

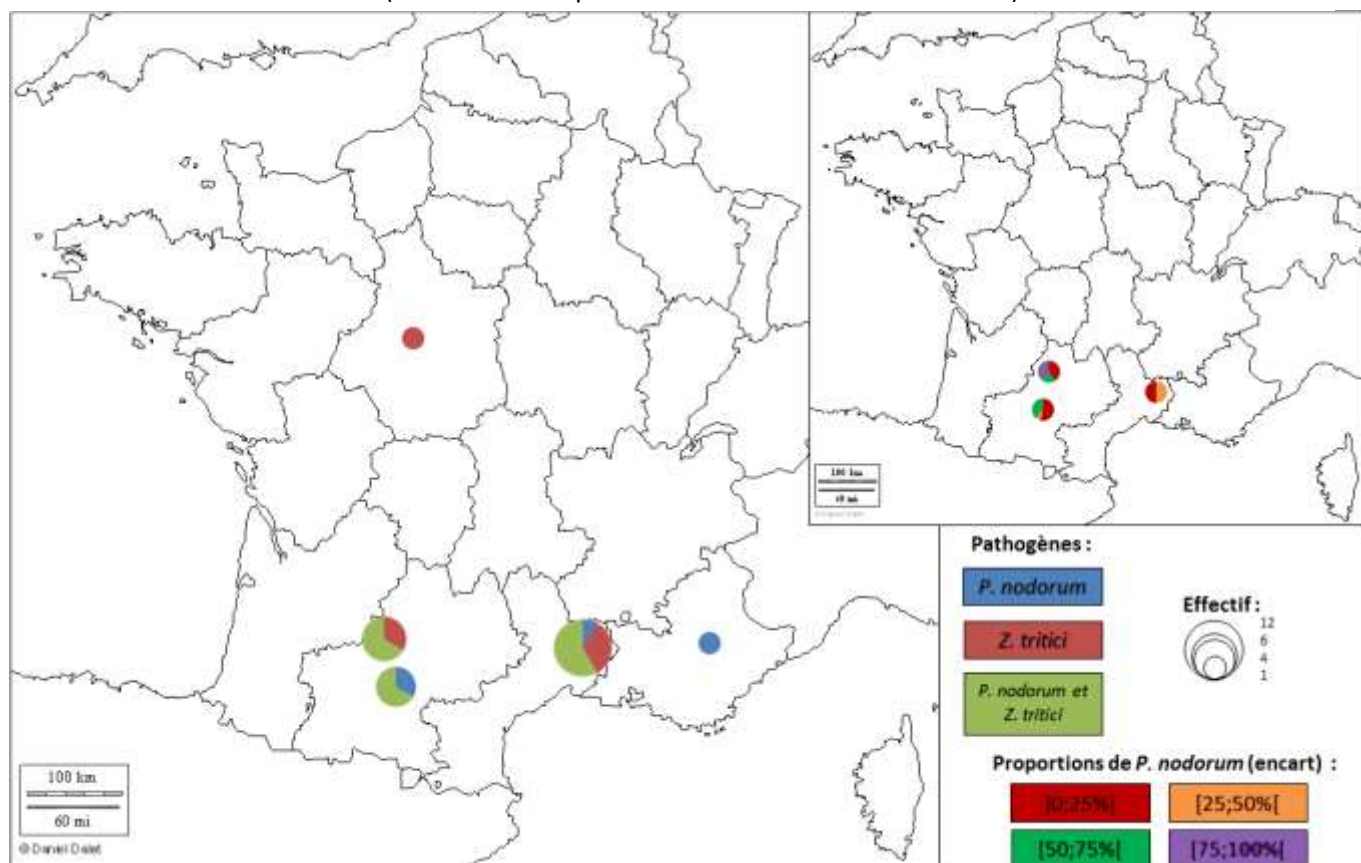
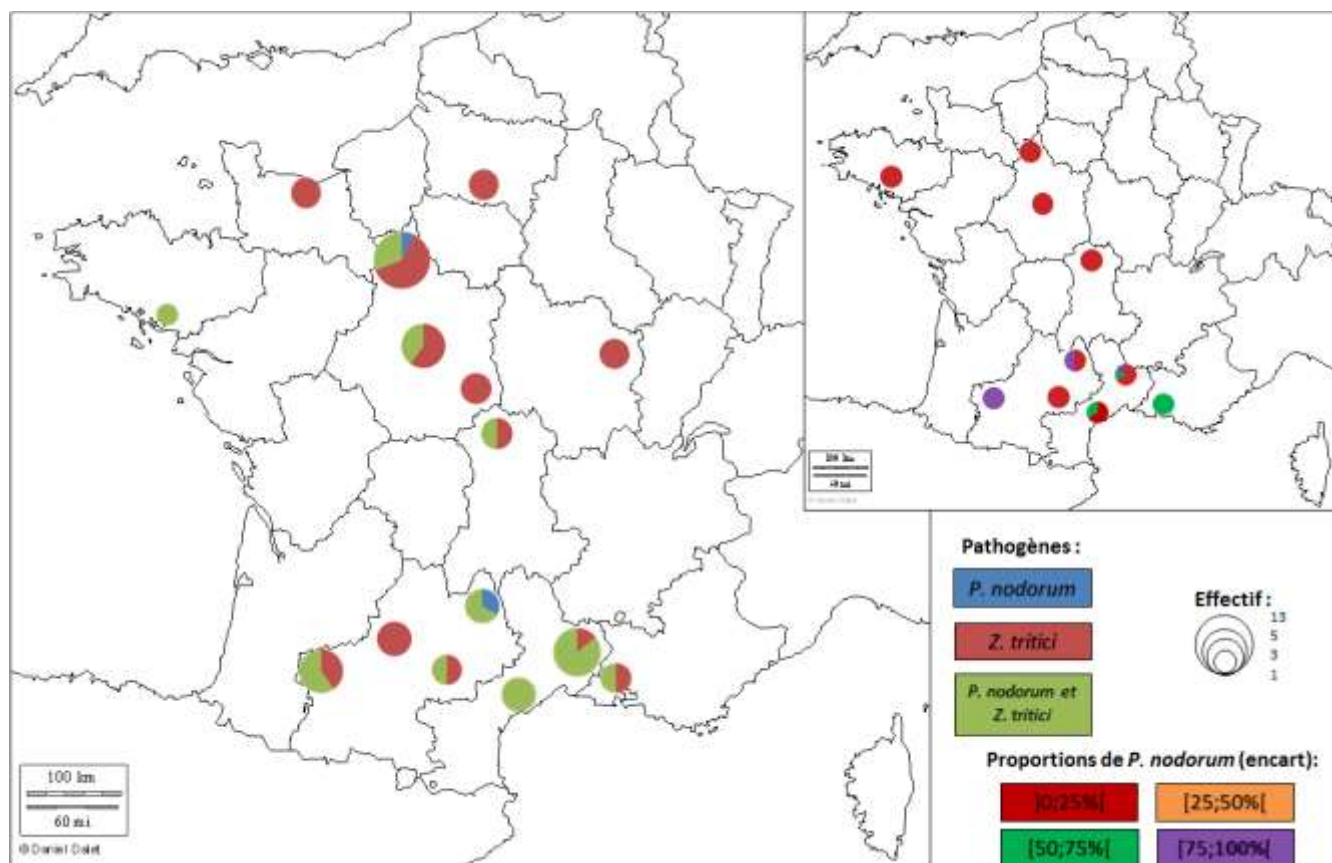


Figure 4 : Carte d'occurrence de *P. nodorum* et *Z. tritici* en 2015.
(Occurrence map of *P. nodorum* and *Z. tritici* in 2015)



Etude de la sensibilité variétale à *P. nodorum*

Les interactions souche x variété, souche x espèce et espèce x variété sont significatives au seuil $\alpha = 0,05$. Les moyennes ajustées ont permis de classer les espèces selon leurs sensibilités respectives. Si l'on considère les moyennes transformées ajustées toutes souches confondues (tableau 3), l'avoine et le seigle apparaissent comme les espèces les moins sensibles aux souches étudiées. Les moyennes sont plus significativement différentes une fois l'avoine et le seigle retirés du jeu de données : le blé dur et le triticale deviennent significativement plus sensibles que le blé tendre. Le blé dur est significativement plus sensible que le triticale et le blé tendre à la souche T-14005, le triticale devient l'espèce la plus sensible à la souche BT-13024, et le blé dur et le triticale sont significativement plus sensibles à la souche BD-15015 que l'orge et le blé tendre (données par souche non montrées). Des valeurs seuils de surface verte ont été définies pour analyser qualitativement les interactions souche x variété. Elles ont été déterminées sur la base des observations faites pendant les notations. Les feuilles ayant une note supérieure ou égale à 95 % de surface verte présentaient généralement un début de chlorose ou des zones nécrosées très petites et localisées. Ces feuilles ont été classées comme correspondant à des interactions de type « résistance ». En dessous de 95 % les feuilles avaient toutes des surfaces nécrosées plus importantes et plus proches des symptômes de la maladie. Les interactions correspondantes ont été classées comme « sensibles » (surface verte entre 50 et 95 %) ou « très sensibles » (surface verte inférieure à 50 %).

Tableau III : Moyennes ajustées de $\arcsin\left(\sqrt{\frac{\text{surface verte}}{100}}\right)$ toutes souches confondues
(Adjusted means of $\arcsin\left(\sqrt{\frac{\text{surface verte}}{100}}\right)$ all strains pooled)

espèce	toutes souches confondues					
	Blé dur	Blé tendre	Triticale	Orge	Seigle	Avoine
moy. ajustée*	0,996	1,210	1,054	1,361	1,461	1,511
groupe**	a	abc	ab	bc	c	c
groupe***	a	b	a	ab		

* Moyennes de $\arcsin(\text{racine}(\text{note}/100))$ par espèce ajustée de l'effet souche

** Des lettres différentes indiquent des moyennes significativement différentes au seuil $\alpha = 0,05$

*** Groupes recalculés sur la base des données sans l'avoine et le seigle

Le tableau 4 présente les interactions souche-variété (basée sur les seuils définis à 95 % de surface verte et 50 % de surface verte). Au sein d'une espèce, pour une souche donnée, il peut y avoir des sensibilités différentes entre variétés. Par exemple pour le blé tendre, Apache est résistant à la souche T-14005, Taichung 29 y est sensible. De même une variété peut avoir des sensibilités différentes selon la souche : Apache est sensible à BD-15015 et résistant à BD-13001.

L'avoine et l'ensemble des variétés de seigle étudiées sont résistants à toutes les souches étudiées. La sensibilité de l'orge et du blé tendre est plus dépendante de la variété. Apache présente quatre interactions résistantes, Soissons aucune. De la même façon, KWS Irina est sensible à plus de souches qu'Odyssey. Le blé dur et le triticale sont les espèces ayant les variétés les plus sensibles aux souches étudiées. Les souches BD-15008 et BD-5015 sont particulièrement agressives sur les variétés de ces espèces.

Les espèces peuvent être classées en deux groupes : d'un côté l'avoine, le seigle et l'orge présentent des sensibilités à *P. nodorum* faibles (voire nulles) et peu variables d'une variété à une autre. D'un autre côté, le blé tendre, le blé dur et le triticale présentent des sensibilités plus élevées et plus variables selon les variétés et les souches.

Tableau IV : Sensibilité des variétés aux nine souches de *P. nodorum* testés
(Susceptibility of varieties against nine *P. nodorum* strains tested)

Espèce	Variété	Souche								
		BD-13001	BD-15001	BD-15008	BD-15011	BD-15015	BD-15022	BT-13004	T-13024	T-14005
Blé dur	Miradoux	S	S	S+	S	S+	S	S	S	R
	Sculptur	S	S	S+	S	S+	S	S	S	S
	Pharaon	S	S	S+	S	S+	S	S	S	S
	Fabulis	S	S	S+	S	S+	S	S	S	R
	Lloyd	R	S	S	S	S+	S	S	S	S
	Cando	S	S	S	S	S+	S	S	S	R
Blé tendre	Apache	R	R	S	R	S	S	S	S	R
	Arezzo	R	R	S	S	S	S	S	S	S
	Premio	R	R	R	R	S	R	S	S	S
	Taichung 29	R	S	S	R	S	S	S	S	S
	Soisson	S	S	S	S	S	S	S+	S	S
Triticale	Tribeca	R	S	S+	S	S+	S	S	S+	R
	Triskell	S	S	S+	S	S	S	S	S	S
	Vuka	R	R	S+	S	S	S	S	S	S
	Orval	R	R	S+	S	S	S	S	S	S
Orge	KWS Irina	R	S	S	S	S	R	R	S	R
	Odyssey	R	R	R	R	S	R	R	R	R
	RGT Planet	R	S	R	R	S	R	R	R	R
	Explorer	R	S	S	R	S	R	R	S	R
Seigle	Palazzo	R	R	R	R	R	R	R	R	R
	Brasetto	R	R	R	R	R	R	R	R	R
	Drubin	R	R	R	R	R	R	R	R	R
	Guttino	R	R	R	R	R	R	R	R	R
Avoine	Charmoise	R	R	R	R	R	R	R	R	R

R : Résistant (≥95% de feuille verte) -- S : Sensible (entre 50 et 95% de feuille verte) -- S+ : Très sensible (<50% de feuille verte)

DISCUSSION

Occurrence des espèces responsables de la septoriose en France sur blé dur

Les résultats de qPCR des échantillons de 2013 ainsi que ceux effectués sur les échantillons de 2014 et 2015 montrent que *P. nodorum* est bien présent et qu'il se trouve préférentiellement sur blé dur. Les résultats obtenus en 2014 peuvent être liés au faible nombre d'échantillons reçus cette année-là, ou simplement à un effet année. Quelle que soit la raison, les valeurs les plus élevées de biomasse fongique se trouvent sur blé dur en 2014. Le fait que *P. nodorum* soit toujours présent sur les cultures de blé dur pose un problème dans la gestion de la septoriose. L'ensemble des modèles de prévision se basent sur le développement de *Z. tritici*. Or la pression de septoriose sur blé dur est autant due à *P. nodorum* qu'à *Z. tritici*. En chambre climatique nous avons pu observer que *P. nodorum* se développe plus vite que *Z. tritici* (apparition des symptômes au bout de 1 semaine contre 10 à 14 jours pour *Z. tritici*). Si *P. nodorum* se développe également plus rapidement que *Z. tritici* en champs, les OAD seraient à modifier pour prendre en compte la présence de *P. nodorum*.

Même si *P. nodorum* a pu être détecté entre 2013 et 2015, il semble qu'il y ait un effet année sur sa présence (plus présent en 2013 qu'en 2014 et 2015). Les facteurs abiotiques ont aussi un rôle important dans le développement de la maladie et peuvent être la cause de la présence moins marquée de *P. nodorum* en 2014 et 2015 par rapport à 2013. Notamment, l'inoculum primaire est favorisé par des températures basses et des précipitations en hiver. L'hiver 2012-2013 a été plus frais que l'hiver 2013-2014, et l'hiver 2014-2015 plus sec que 2013-2014. Le printemps 2013 a été particulièrement humide par rapport à 2014 et 2015 qui étaient plus chauds mais plus secs. Il est possible que *P. nodorum* se soit moins développé en 2014 et 2015 du fait d'un inoculum primaire plus limité et d'un développement moins favorisé par les conditions climatiques.

La répartition nord – sud de *P. nodorum* peut s'expliquer par le climat et/ou la culture. Les premières analyses indiquent que *P. nodorum* se développe préférentiellement sur blé dur, culture que l'on retrouve dans les bassins Sud-Est, Sud-Ouest et Centre. De plus *P. nodorum* est un champignon qui apprécie les températures élevée et l'humidité, conditions que l'on retrouve dans le sud, où *P.*

nodorum est le principal responsable de la maladie. Le nord, potentiellement plus froid, est aussi le bassin de production du blé tendre. La région Centre représenterait un agroécosystème intermédiaire pour le champignon, à la fois en termes de culture et de climat. Cela pourrait expliquer que *P. nodorum* y soit moins détecté.

P. nodorum est relativement absent dans les cultures de blé tendre par rapport à *Z. tritici*. Cela ne semble pas être un problème de niche écologique puisque les deux agents pathogènes sont très souvent détectés conjointement dans les cultures de blé dur. La sensibilité plus importante des variétés de blé dur étudiées par rapport à celles de blé tendre pourrait être une des hypothèses expliquant la très faible présence de *P. nodorum* sur blé tendre. Mais d'autres hypothèses pourraient expliquer ce résultat comme la pression fongicide, la présence de gènes de sensibilité différents dans les plantes ou d'effecteurs nécrotrophiques dans les populations du champignon.

Etude de la sensibilité variétale à *P. nodorum*

Cette première étude met en évidence une spécificité d'hôte éventuelle de la part de *P. nodorum*.

L'avoine et le seigle n'ayant pas été infectés par les différentes souches, nous pouvons supposer que ce sont les espèces les moins sensibles à *P. nodorum*. En effet, Cunfer (2000) rapporte que la septoriose sur avoine est principalement due à *Parastagonospora avenae* f. sp. *avenae*. Des études menées par Weber (1922) et Ueng *et al.* (1995) ont montré que cet agent pathogène n'était pas capable d'infecter le blé, et que *P. nodorum* n'était pas capable d'infecter l'avoine. De la même façon, Cunfer (2000) rapporte que la septoriose sur seigle est principalement due à *P. avenae* f. sp. *tritici*. La sensibilité de l'orge est très dépendante de la variété. L'existence d'un biotype sur orge de *P. nodorum* peut expliquer la résistance de la majorité des variétés. En effet le biotype blé de *P. nodorum* est décrit comme ayant des difficultés à pénétrer les cellules d'orge (Cunfer, 2000). Ici aussi la notion de biotype suggère que des populations de *P. nodorum* sont spécialisées à une céréale en particulier.

La très grande sensibilité du blé dur et celle, moins prononcée, des variétés de blé tendre rejoignent les résultats de l'étude de l'occurrence d'hôte. *P. nodorum* se retrouverait plus sur blé dur du fait de sa sensibilité au champignon.

La grande sensibilité des variétés de blé dur aux souches issues de blé dur ainsi que la sensibilité du triticales aux souches issues du triticales suggèrent que l'origine de l'isolat de *P. nodorum* ait une importance. Skajennikoff et Rapilly (1983) suggèrent que la céréale d'origine impose une pression de sélection aux différentes populations de champignons présentes. Les auteurs proposent également que cette pression de sélection soit différente en fonction de l'organe. Ainsi l'épi imposerait une pression de sélection moins forte que le limbe foliaire.

Lors de cette étude, tous les tests pathologiques visant à déterminer une sensibilité se sont faits par inoculation de champignons pathogènes et culture en conditions contrôlées. Cela nous donne un aperçu global de la réponse de la plante à la maladie, via le pourcentage de feuille non nécrosée. Mais il existe des méthodes qui permettent d'avoir une vision plus précise des mécanismes entrant en jeu, notamment l'utilisation directe des toxines produites par le champignon sur la plante. L'avantage principal est de pouvoir déterminer si une plante est sensible et si oui, à quelle toxine et donc à quel génotype. Une autre limite de notre expérimentation est la faible diversité de souches employées. Ainsi, de nouvelles expériences avec des souches provenant d'autres bassins de production que le centre et isolées sur un plus grand nombre d'espèces seront réalisées afin de confirmer les résultats obtenus.

CONCLUSION

La septoriose est une maladie des céréales courante en France et dans le monde. Il y a de multiples espèces d'agents pathogènes en cause, et parmi eux, *Zymoseptoria tritici* et *Parastagonospora nodorum*. Ces deux champignons causent la même maladie, avec des symptômes très similaires mais sont différents d'un point de vue morphologique, taxonomique et phylogénétique.

En France, *Z. tritici* est actuellement le principal agent pathogène responsable de la septoriose, mais *P. nodorum* n'a pas complètement disparu. Notre étude montre qu'il peut être présent fréquemment sur blé dur et plus rarement sur blé tendre. Entre 2013 et 2015, *P. nodorum* est resté

bien présent sur le territoire, et s'il était la plupart du temps accompagné de *Z. tritici*, il a pu être détecté seul, encore une fois sur blé dur. Les variétés de cette céréale ont montré une plus grande sensibilité aux souches étudiées par rapport aux variétés de blé tendre, ce qui pourrait expliquer pourquoi *P. nodorum* se retrouve principalement sur cette espèce.

P. nodorum est aussi capable d'attaquer d'autres céréales comme le triticale ou l'orge. Il reste donc une menace potentielle pour ces céréales. L'avoine et le seigle ne sont pas attaqués par cet agent pathogène et sont donc a priori moins menacés en France. Le champignon semble être relativement spécialisé à la plante dont il est issu. Cela peut également expliquer pourquoi, bien que toujours présent, il reste détecté principalement sur blé dur.

Les différences de sensibilité entre variétés d'une même espèce montrent qu'un travail de sélection est possible et serait très utile dans le cas du blé dur. Cette différence de sensibilité peut et doit être exploitée pour la lutte génétique. Cette première étude nous permet donc d'avoir une vision plus précise du rôle de *P. nodorum* dans le développement épidémique de la septoriose sur les cultures de céréales en France. C'est aussi un premier pas vers une caractérisation de la sensibilité variétale des espèces hôtes. Des études sur les effecteurs nécrotrophiques de *P. nodorum* devraient également être envisagées, notamment afin de caractériser les interactions avec les gènes de sensibilité de la variété hôte. Des études complémentaires sur son comportement face aux fongicides employés sont à envisager pour mieux appréhender la septoriose.

REMERCIEMENTS

Nous remercions l'ensemble des partenaires impliqués dans le projet SeptoDUR (GIE Blé dur, INRA UMR BIOGER, Arvalis-Institut du végétal) qui ont permis d'obtenir les résultats présentés. Nous remercions également le ministère de l'agriculture pour le financement de ce projet.

BIBLIOGRAPHIE

- Arseniuk E., Fried P.M., Winzeler H., Czembor H.J., 1995 - Comparison of resistance of triticale, wheat and spelt to septoria nodorum blotch at the seedling and adult plant stages. *Euphytica*, 55, 43–48.
- Beck J., 1995 - Polymerase chain reaction assays for the detection of *Stagonospora nodorum* and *Septoria tritici* in wheat. *Phytopathology*, 85, 319.
- Bennett R.S., Yun S.H., Lee T.Y., Turgeon B.G., Arseniuk E., Cunfer B.M., Bergstrom G.C., 2003 - Identity and conservation of mating type genes in geographically diverse isolates of *Phaeosphaeria nodorum*. *Fungal Genetics and Biology* 40, 25–37.
- Cunfer B.M., 2000 - *Stagonospora* and septoria diseases of barley, oat, and rye. *Canadian Journal of Plant Pathology*, 22, 332–348.
- Friesen T.L., Meinhardt S.W., Faris J.D., 2007 - The *Stagonospora nodorum*-wheat pathosystem involves multiple proteinaceous host-selective toxins and corresponding host sensitivity genes that interact in an inverse gene-for-gene manner. *The Plant Journal*, 51, 681–692.
- Iori, A. et al., 2014 - Hyperspectral and molecular analysis of *Stagonospora nodorum* blotch disease in durum wheat. *European Journal of Plant Pathology*, 141, 689–702.
- Lipps P.E., Mills D., 2002 - *Septoria tritici* blotch and *Stagonospora nodorum* blotch. OSU Extension Fact Sheet.
- McDonald M.C., Oliver R.P., Friesen T.L., Brunner P.C., McDonald B.A., 2013 - Global diversity and distribution of three necrotrophic effectors in *Phaeosphaeria nodorum* and related species. *New Phytologist*, 199, 241–251.
- Oliver R.P., Friesen T.L., Faris J.D., Solomon P.S., 2012 - *Stagonospora nodorum*: From pathology to genomics and host resistance. *Annual Review of Phytopathology*, 50, 23–43.
- Quaedvlieg, W. et al., 2011 - *Zymoseptoria* gen. nov.: a new genus to accommodate Septoria-like species occurring on graminicolous hosts. *Persoonia - Molecular Phylogeny and Evolution of Fungi*, 26, 57–69.

Skajennikoff M., Rapilly F., 1983 - Etudes sur l'agressivité de *Septoria nodorum* Berk. : Effets des hôtes (triticale et blé) et des organes attaqués. *Agronomie*, 3, 131–140.

Skajennikoff M., Rapilly F., 1989 - Variabilité du pouvoir pathogène chez *Septoria nodorum* Berk. (*Leptosphaeria nodorum* Müll.). *Agronomie*, 9, 693–702.

Solomon P.S., Lowe R.G.T., Tan K.-C., Waters O.D.C., Oliver R.P., 2006 - *Stagonospora nodorum*: cause of *Stagonospora nodorum* blotch of wheat. *Molecular Plant Pathology*, 7, 147–156.

Tian S., Wolf G. A., Weinert J., 2005 - Accurate assessment of wheat and triticale cultivar resistance to *Septoria tritici* and *Stagonospora nodorum* Infection by Biotin/Avidin ELISA. *Plant Disease*, 89, 1229–1234.

Ueng P.P., Cunfer B.M., Alano A.S., Youman J.D., Chen, W., 1995 - Correlation between molecular and biological characters in identifying the wheat and barley biotypes of *Stagonospora nodorum*. *Phytopathology*, 85, 44–52.

Weber G.F., 1922 - Septoria diseases of wheat. *Phytopathology*, 12, 537–585.