

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

**LE DIAGNOSTIC EN PATHOLOGIE VÉGÉTALE,
DE LA LOUPE BINOCULAIRE A LA LOUPE MOLECULAIRE**

R. IOOS ⁽¹⁾

⁽¹⁾ ANSES, Laboratoire de la Santé des Végétaux, Unité de mycologie, Domaine de Pixérécourt, 54220
Malzéville, France. Renaud.ioos@anses.fr

RÉSUMÉ

Le diagnostic d'une maladie sur une plante commence par déterminer en tout premier lieu si les symptômes observés sont causés par un agent pathogène ou un facteur environnemental. Pour certains symptômes typiques et pour des plantes bien étudiées, il est parfois possible pour un pathologiste expérimentée de savoir s'il s'agit d'une attaque parasitaire ou un problème lié à un facteur abiotique, voire d'identifier directement l'agent causal. Néanmoins, en l'absence d'expert de terrain, ou dans les cas où des symptômes atypiques sont observés, des méthodes d'investigation adaptées devront être mises en œuvre.

En effet, dans le cas de maladies infectieuses, le diagnostic est complexe à plusieurs niveaux. Les symptômes causés par un même agent pathogène diffèrent en fonction de l'état physiologique de la plante, de son environnement, de son âge, de sa variété, etc. De même, une multitude d'agents pathogènes, comme de facteurs abiotiques, peuvent provoquer le même type de symptômes sur une plante donnée. Il est donc nécessaire de mettre en œuvre des techniques d'investigations appropriées pour identifier avec rigueur la cause de la maladie.

Dans cet exposé, nous nous limiterons au diagnostic des maladies causées par des agents pathogènes, avec des exemples pris dans le domaine de la mycologie. Les champignons et oomycètes sont historiquement les premières causes décrites de maladies des plantes, et représentent toujours actuellement la plus grande part des agents de maladies des plantes.

Le diagnostic en pathologie végétale est devenu aujourd'hui une discipline plus exigeante et plus complexe qu'il y a plusieurs décades. Identifier l'agent causal d'une maladie est plus difficile car la diversité des agents pathogènes a très significativement évolué. D'une part, la taxonomie vit une révolution à l'heure des technologies ciblant les acides nucléiques, avec une augmentation exponentielle du nombre d'espèces décrites, et une révolution nomenclaturale ('one fungus, one name', fin de la dualité noms forme sexuée / forme asexuée). D'autre part, la globalisation du commerce, l'augmentation et l'accélération des flux d'échange de matériel végétal participe à l'introduction de très nombreux microorganismes dans de nouveaux écosystèmes. Ces agents pathogènes exotiques sont parfois responsables de maladies nouvelles, ou à l'agressivité exacerbée, d'autres vont simplement coexister ou entrer en compétition, voire remplacer certains agents pathogènes indigènes.

Le résultat d'un diagnostic est primordial pour définir une méthode appropriée de lutte ou de gestion de la maladie. Sa fiabilité est nécessaire à plusieurs titres. Il est donc impératif d'identifier correctement le taxon en cause dans une maladie. Une mauvaise identification peut avoir des conséquences importantes au niveau environnemental (introduction d'un nouveau parasite, d'une espèce envahissante), comme au niveau économique (utilisation d'un programme de traitement

phytosanitaire inapproprié, destruction d'une culture ou d'une récolte, refus d'importation, etc.). Par ailleurs, le diagnostic ne se limitera pas à l'identification d'un ou de plusieurs microorganismes, puisque la plus-value consistera véritablement à associer un ou plusieurs de ces derniers aux symptômes observés. Si la pathogénicité de certains parasites vis-à-vis de certaines plantes hôtes est largement décrite et ne nécessitera pas d'investigation supplémentaire, l'identification de nouveau taxa sur une plante ou d'un taxon sur un nouvel hôte nécessitera la vérification du pouvoir pathogène par la réalisation de ce que l'on appelle communément le « postulat de Koch ».

De nombreuses techniques d'identification peuvent être utilisées par un laboratoire, avec des niveaux de complexité variés. Un laboratoire « généraliste » utilisera les techniques basées sur l'observation de structures macro- et microscopiques du microorganisme. Elles consisteront à l'observation in situ ou après piégeage ou isolement en culture pure des microorganismes présents sur les échantillons symptomatiques. Ces techniques sont relativement simples à mettre en œuvre et peu coûteuses, mais nécessitent une expertise minimale en matière d'identification morphologique, ainsi que la disposition d'ouvrages spécialisés de taxonomie. Pour l'identification, un couple loupe binoculaire et un microscope optique de bonne qualité seront des équipements suffisants. Néanmoins, la complexification de la taxonomie, la multiplicité des genres, espèces, et autres rangs taxonomiques inférieurs, et la prolifération d'espèces exotiques introduites ou profitant du réchauffement climatique pour s'installer dans de nouveaux écosystèmes rendent de plus en plus ardue la tâche d'identification par la simple voie morphologique.

De nouvelles techniques basées sur le matériel génétique sont aujourd'hui disponibles dans des laboratoires plus 'spécialistes'. Les techniques moléculaires dites d'analyse de code barre génétique, ou 'barcoding' sont aujourd'hui utilisées en routine pour participer à l'identification d'un taxon isolé en culture pure. Leur utilisation requiert un matériel plus sophistiqué, mais le traitement des données et l'interprétation des résultats nécessitent néanmoins une expertise en phytopathologie et en taxonomie.

Aujourd'hui, à l'ère du développement des technologies de séquençage à haut débit (« Next Generation sequencing »), les approches dites de méta barcoding permettent d'obtenir une vision de plus en plus exhaustive de l'ensemble du cortège microbien présent dans un échantillon environnemental. Les coûts baissant et la robustesse des technologies s'améliorant de mois en mois, le metabarcoding ou plus généralement la métagénomique pourraient constituer des outils puissants dans le cadre du diagnostic, surtout pour la détection de microorganismes rares, difficiles ou impossible à cultiver. Toutefois l'énorme quantité de données générées par ces nouvelles technologies nécessite encore beaucoup de travail de traitement d'information, et d'interprétation. Le rôle du phytopathologiste reste et restera incontournable, malgré l'émergence de ces technologies prometteuses.

Mots-clés : techniques, microscopie, code barre génétique, identification.