

RESIPATH

Response of European Forests and Society to Invasive Pathogens

Contract - BR/132/A1/RESIPATH-BE

Résumé

Dans le projet RESIPATH, nous avons étudié comment les communautés forestières européennes ont été affectées par les pathogènes fongiques invasifs, et comment elles y ont répondu. Ce rapport concerne les contributions des partenaires belges, impliqués dans deux groupes de travail.

Le premier groupe de travail concernait les *Phytophthora* hybrides. Nous avons étudié la prévalence de *Phytophthora* hybrides dans différents environnements (forêts, rivières, pépinières) et dans diverses régions climatiques, car nous avons émis l'hypothèse d'une augmentation de leur nombre et du taux d'invasion dans ces environnements, notamment en raison de l'accroissement du commerce international de plants de pépinière. Ces plants peuvent être infectés de façon latente, créant ainsi une voie d'introduction et une possibilité de croisement entre espèces de *Phytophthora* qui étaient jusque-là isolées géographiquement. Les hybrides peuvent avoir une pathogénicité accrue, et une gamme d'hôte élargie en combinant des caractéristiques génétiques des parents, ce qui peut conduire à un comportement invasif. Le principal objectif était de développer des méthodes sensibles pour détecter des *Phytophthora* hybrides and d'appliquer ces méthodes à une collection d'isolats provenant de divers environnements et origines géographiques. Nous avons optimisé, validé et utilisé deux méthodes, la méthode GBS (Génotypage Par Séquençage) et la méthode de cytométrie de flux, sur une collection de 836 espèces de *Phytophthora*. La méthode GBS a montré une sensibilité jamais atteinte et s'est révélée rentable. Nous avons identifié un nombre considérable d'hybrides, dans certains cas pour la première fois. Nous pouvions souvent déterminer quelles espèces parentales étaient reliées à l'hybride observé dans notre base de données. Dans d'autres cas, il était clair qu'une des espèces parent n'avait pas encore été décrite. La cytométrie de flux a permis l'identification et la caractérisation d'hybrides allopolyploïdes. Bien que les analyses soient encore en cours, il apparaît que les hybrides se retrouvent spécifiquement dans des clades spécifiques de *Phytophthora*, dans des environnements où ces clades sont endémiques. A ce jour, nous n'avons pas trouvé d'éléments qui permettent d'étayer notre hypothèse concernant une plus grande prévalence d'hybrides dans les pépinières.

Le second groupe de travail dans lequel les partenaires belges étaient impliqués concernait la détection précoce de spores à dispersion aérienne de pathogènes forestiers potentiellement invasifs. En utilisant la PCR temps réel et des protocoles optimisés d'extraction de l'ADN, nous avons tout d'abord comparé trois types de capteurs de spores (papier filtre, échantillonneur volumétrique de type Burkard et capteur à bras rotatif (semblable au Rotorod)) pour leur efficacité de détection de trois pathogènes forestiers ayant des tailles de spore différentes, et appartenant à différents taxa. Nous avons ensuite combiné le meilleur capteur (Rotorod) pour la collecte de spores en forêt avec un protocole de séquençage haut débit (NGS) et un nouveau pipeline bioinformatique permettant une identification jusqu'à l'espèce. Le système a été validé sur des communautés artificielles de champignons. Nous avons ensuite appliqué ce protocole à des ADN extraits des capteurs Rotorod placés dans différents peuplements forestiers et comparé les résultats avec ceux obtenus avec la méthode de PCR en temps réel pour les 3 pathogènes forestiers utilisés

comme marqueurs fongiques. La méthode NGS s'est révélée moins sensible que la PCR temps réel, mais elle a permis la détection de nombreux autres champignons, parmi lesquels des pathogènes forestiers.

Notre contribution dans les deux groupes de travail a amélioré notre capacité à détecter des pathogènes fongiques invasifs, ce qui devrait nous permettre à l'avenir de réagir plus rapidement et de façon plus appropriée à leur invasion, et de limiter leur impact.

Mots clefs: Cytométrie de flux, Génotypage par séquençage, Séquençage haut débit, pathogènes fongiques invasifs, *Phytophthora* hybrids, capture de spores.