



Le nématode du pin : Tolérance des pins et Diagnostic

Luc Harvengt & Marion Mercadal

www.fcba.fr

Journée d'information sur les résultats de la R&D en santé des forêts - 07/12/2018



Avec le soutien de





Contexte, projets et autres actions relatifs au NEMATODE du PIN

Partie 1: introduction – contexte biologique

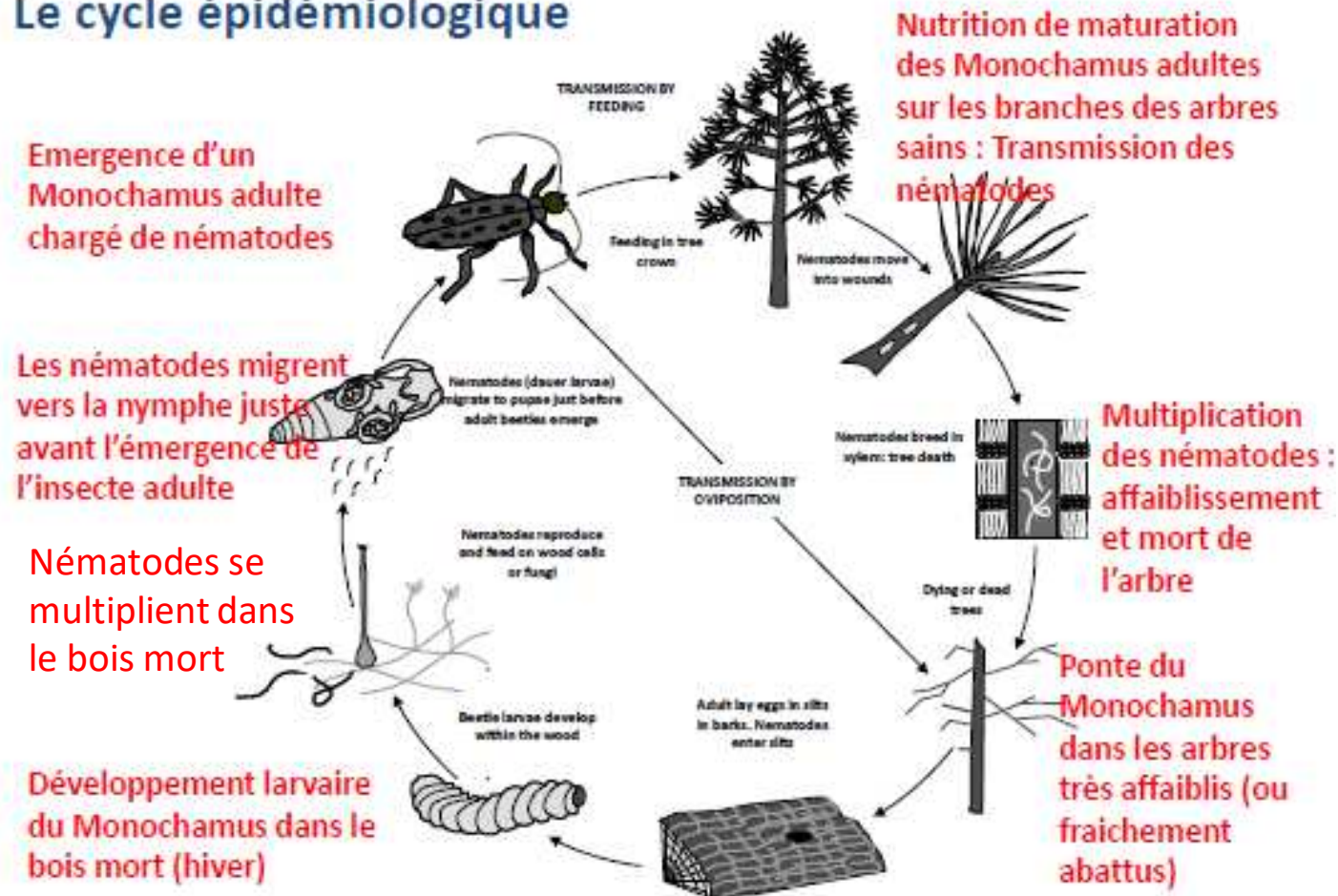
Le NEMATODE

- *Bursaphelenchus xylophilus*
- Ver microscopique agent de la maladie « du flétrissement du pin »
- Mortalité des conifères sensibles (essentiellement côte Est USA et beaucoup de conifères européens)
- Origine Amérique du Nord
- Disséminé à longue distance par le commerce international :
 - Entré en Asie par Japon (arrivé 1905 - détecté 1971)
 - Entré en EU par le Portugal (détecté en 1999)
 - Dissémination progressive vers reste EU
- Un arbre contaminé non résistant peut rester asymptomatique pendant 1 à 2 ans



PROPAGATION → par à-coups suite au comportement du vecteur

Le cycle épidémiologique



Les interactions biologiques du nématode du pin

- ✓ A un cycle de vie complexe (nombreux stades larvaires)
- ✓ Transporté par un capricorne (*Monochamus* sp.)
- ✓ Se nourrit de champignons présents dans les tissus du pin vivant ou mort
- ✓ Plus tard dans son cycle se nourrit des tissus du pin avec des effets secondaires sur la production + circulation résine et eau
- ✓ Favorisé par des bactéries qui détoxifient la résine du pin (certaines néfastes pour l'arbre)
- ✓ Outre la lutte compliquée contre le capricorne, il y a quelques pistes de lutte biologique lourdes à valider (ea champignon *Esteya vermicola*)
- ✓ Effets de masquage/faible attractivité de certains pins pour l'insecte (peu clair), aurait une part génétique x environnement (terpènes)



Effet arbre et génétique (éléments bibliographiques)

- ✓ Une variabilité génétique pour la Résistance (mort du nématode) existe chez le pin
M = capacité à bloquer rapidement le nématode à son entrée dans les tissus du pin
+ indices de masquage terpénique vis-à-vis du vecteur *Monochamus*
- ✓ Entre provenances : Corrélations négatives résistance avec la croissance (H et V)
→ Landes et Corse : moins sensibles que prov. ibériques vigoureuses
- ✓ Evaluation la plus courante : inoculation artificielle mais ne tient pas compte des effets impliquant le vecteur
- ✓ Hybride P pinaster x alep. en Espagne...
- ✓ Sélection var résistantes au Japon : long et avec forte intensité (sévérité) !

DIAGNOSTIC

- ✓ Encore majoritairement un diagnostic visuel (mucron)
- ✓ L'illusion d'une différenciation morphologique s'évanouit (souches virulentes de *X. mucronatus* et présence de nématodes hybrides)
- ✓ Japon et Portugal ont mis au point et diffusé des outils ADN



Détection du nématode par analyse ADN

www.fcba.fr



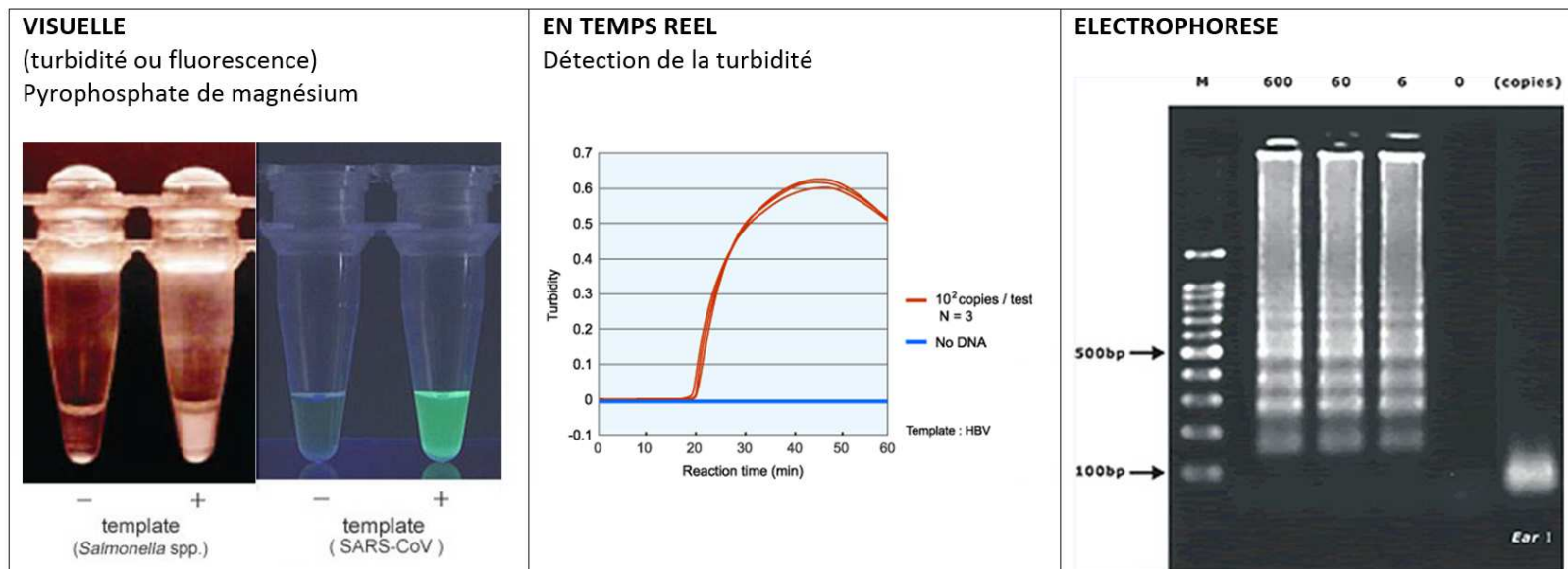
Projet DIAGNOSTIC rapide – Objectifs et contours

- ✓ Réaliser un diagnostic simplifié de première ligne pour trier à moindre coût les cas suspects
- ✓ Permet un pré-traitement rapide des cas individuels
- ✓ Sans valeur officielle mais avec un renvoi à un labo agréé d'un double des échantillons suspects (signalement légalement obligatoire)
- ✓ **FINANCEMENT** : FBF – section spécialisée pin maritime, porteur = Caisse Phyto
- ✓ **Timing** : 3 ans à partir de 2018
- ✓ **Base** = outils ADN mis au point par Japon et Portugal
- ✓ **Démarche simplifiée** :
 - Prêt à une future Détection directe sur bois/écorce
 - Outil rapide, verdict visuel : amplification LAMP, sur 2 cibles ADN distinctes



Méthode LAMP

- ✓ **Loop-mediated isothermal amplification (réaction chimique isotherme sur l'ADN)**
 - **Equipement simplifié (pas de variation de température pendant la réaction)**
 - **Permet d'amplifier de façon spécifique**
 - ADN ou l'ARN => nématode mort ou vivant (distinction)
 - ADN dégradé et/ou en faibles quantités → extrême sensibilité et sur échantillons difficiles (tannins etc.)
 - **Rapide (30 min) , avec précautions contre faux positifs / pollutions entre échantillons**
 - **Détection des produits d'amplification LAMP :**



Méthode LAMP – démarrage du projet (2018)

- ✓ Obtention d'ADN de référence de nématode auprès de laboratoires agréés
- ✓ Echanges avec laboratoires / experts hématologistes EU (Portugal, ...)
- ✓ Tests d'inhibition / analyses à partir d'ADN chargés en écorce, résine, terre
- ✓ Comité de pilotage début 2019 :
 - Définition des contours d'une « situation type » comme cible des mises au point et essais sur échantillons artificiels en 2019
 - Validation opérationnelle en 2020 sur échantillons portugais
 - Contacts avec DSF / LDA33 / ANSES





Plantations expérimentales au Portugal

www.fcba.fr



Avec le soutien de



Objectif

Le « massif landais » est-il tolérant au nématode du pin ?
Existe-t-il une variabilité génétique ?

- ✓ Installation de 3 essais expérimentaux en zone infestée au nématode
- ✓ Visites d'essais avec mesures de croissance & observation de l'état sanitaire
- ✓ Financement : Gis GPMF + FBF – Section Spécialisée Pin Maritime, Porteur = Alliance Forêts Bois
- ✓ Timing : 2017-2020
- ✓ Base = Matériel végétal + Recherche de parcelles au Portugal

Protocole : 1^{er} essai

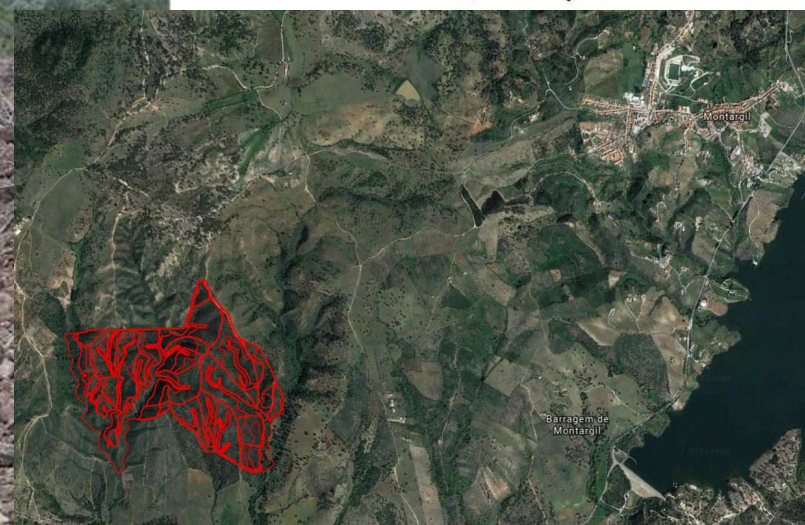
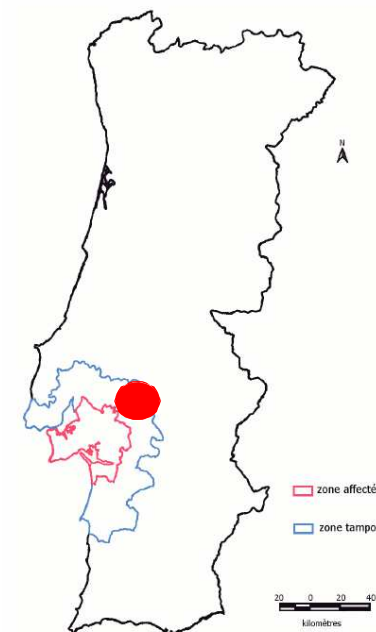
- ✓ **Installation d'un 1^{er} essai expérimental en zone infestée au nématode**
 - Localisation : Portugal - Montargil (proche de Lisbonne) – Partenaire Navigator/RAIZ
- ✓ **Dispositif expérimental**
 - Essai en blocs avec répétitions sur courbes de niveaux
 - Surface d'environ 2-3 ha
- ✓ **Modalités**
 - **Matériel végétal : diversité génétique** (semis 2017)
 - au niveau provenance (landaise, corse, marocaine, espagnole)
 - Et également pour les composantes génétiques des variétés améliorées landaises (VF3)



Plantation



- ✓ **Plantation tardive de l'essai : 1^{ère} semaine de juin 2018** par équipe de RAIZ-Navigator
 - Difficultés rencontrées : recherche de parcelles et attente pour plantation



Esquema de ensaio

Ensaio de Pinheiro

RPJ17006

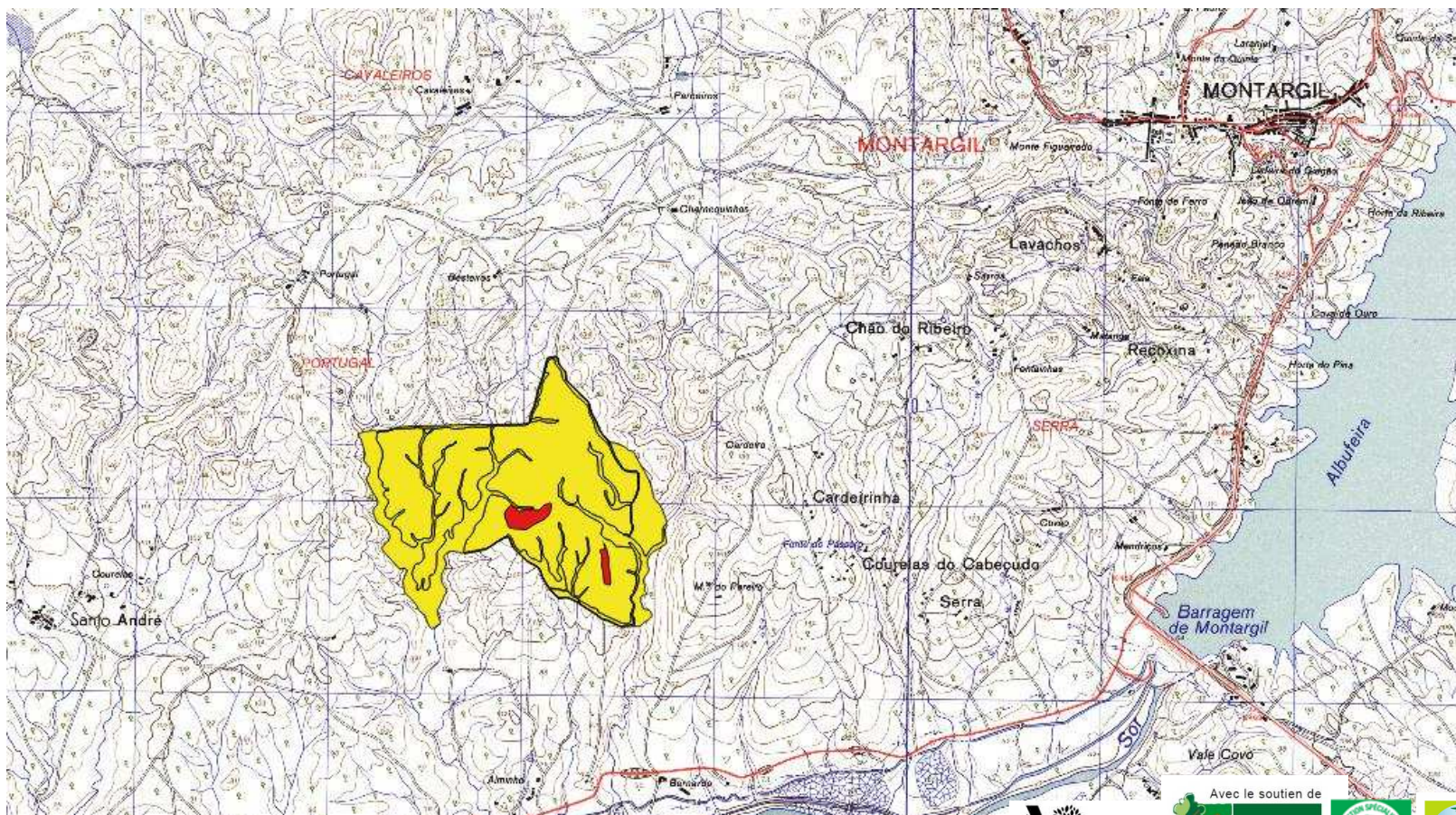
CodUG: 53117

Charnequinha

ZH- T001

Vários

ROT: 1



Esquema de ensaio

Ensaio de Pinheiro

RPJ17006

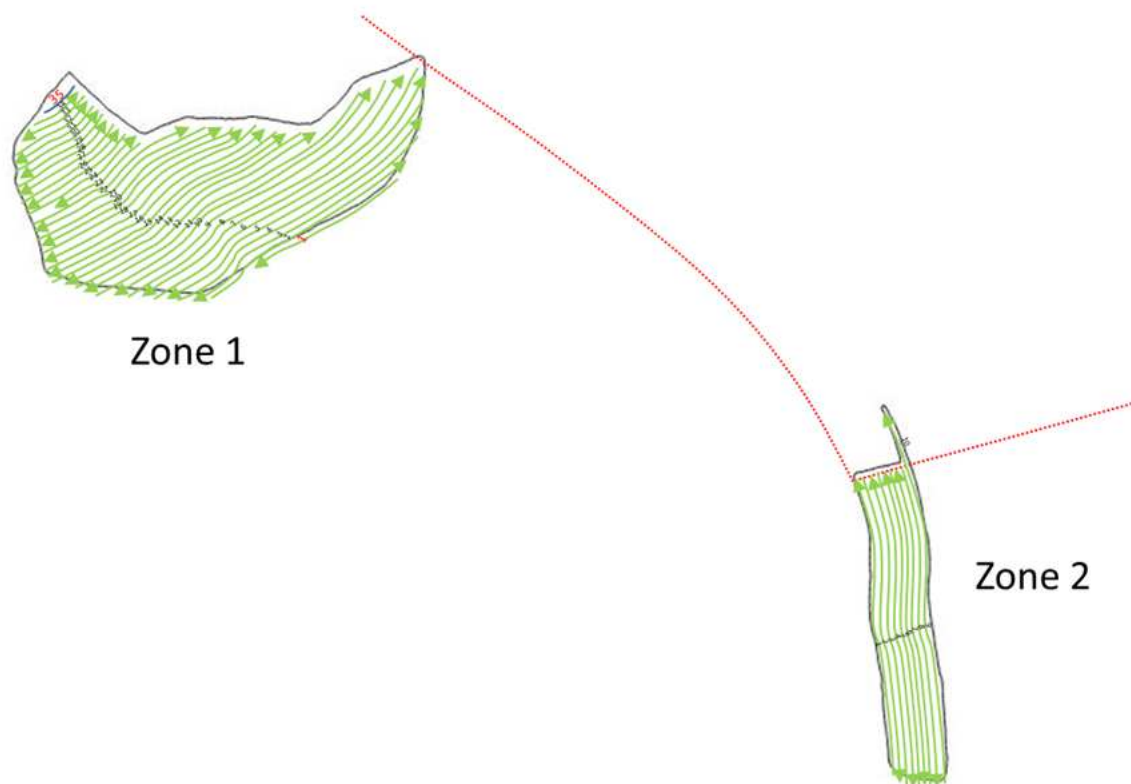
CodUG: 53117

Charnequinha

ZH- T001

Vários

ROT: 1



Zone 1

Zone 2

Suivi après plantation

✓ 1^{er} essai

- **Irrigation** : 3 irrigations pendant été 2018
- **Taux de survie** : 3 relevés : 70% en zone 1, 20% en zone 2
- **Suivi** : Programme de mesures (volume, forme) et de surveillance de l'état sanitaire des arbres sur plusieurs années

✓ Installation de 2 sites complémentaires au Portugal en 2018 & 2019

- 2^{ème} essai : recherche de parcelle en finalisation & plantation prévue avant Février 2019 avec matériel végétal en pépinière (semis 2018)
- Suivi des différents sites : programme de mesures & de surveillance





Merci de votre attention

www.fcba.fr



Avec le soutien de

