

LIN OLÉAGINEUX

## VERS UN DIAGNOSTIC

des maladies de plus en plus précis



Apparition de taches brunes de septoriose, plus ou moins arrondies, avec pycnides sur les feuilles supérieures.

**Dans le cadre de ses activités de diagnostic et de surveillance des bio-agresseurs, le CETIOM utilise depuis deux ans des méthodes moléculaires de détection des maladies, complémentaires aux méthodes classiques d'identification des pathogènes.**

Un nombre conséquent d'échantillons de lin a été traité en 2013 en vue de confirmer les symptômes observés par les équipes en charge de l'expérimentation et du Bulletin de Santé du Végétal (BSV). Le recours aux méthodes classiques de diagnostic, ainsi que la mise au point de méthodes moléculaires de détection pour les principaux pathogènes du lin oléagineux, offrent aujourd'hui un panel d'outils de diagnostic rapide pouvant conduire à remettre en cause les descriptions

des symptômes effectuées ces dernières années. De nouveaux travaux de recherche, notamment sur la septoriose dans le cadre du projet SEPTOLIN, sont aussi rendus possibles (encadré).

#### Nouveaux réseaux de surveillance

Les surfaces de lin oléagineux, principalement implantées en lin d'hiver, sont actuellement situées sur un grand quart nord-ouest de la France (environ 85 % des surfaces) et dans le Sud-Ouest. Un plan d'accompagnement de cette culture a été engagé depuis deux ans par le CETIOM et ARVALIS - Institut du végétal. Des réseaux inter-régionaux d'épidémiologie pour le lin oléagineux ont été déployés en mars 2013 dans l'ouest (Bretagne, Centre, Pays de la Loire, Poitou-Charentes, Normandie) et le sud-ouest de la France (Midi-Pyrénées).

Les demandes de diagnostics des maladies sur cette culture s'inscrivent dans le cadre du déploiement du BSV et de la réalisation au champ d'essais fongicides - régulation. Une vingtaine de diagnostics a été adressée au laboratoire entre fin mars et

#### En savoir plus

Consulter le guide « *Maladies et ravageurs du lin oléagineux* » disponible sur [www.cetiom.fr](http://www.cetiom.fr), rubrique Lin puis Publications « Petits guides pratiques ».

début juillet 2013 afin d'assurer le suivi de l'évolution des maladies présentes au cours de la campagne.

### Forte pression maladies en 2012-2013

Les mois d'octobre et de décembre 2012 ont été très arrosés avec des précipitations très supérieures aux moyennes saisonnières. La fin de l'hiver a été marquée par des températures très fraîches pour la période entraînant une reprise lente et tardive de la végétation en sortie d'hiver. Les mois de mai et juin se sont caractérisés par des températures inférieures aux normales, des conditions humides et un ensoleillement faible. Du fait de ces conditions climatiques, le lin n'a donc pu exprimer le potentiel mis en place avant floraison lors de la campagne 2012-2013. Les rendements ont été parfois décevants en raison de la verse et des avortements de capsules causés par une forte pression maladies.

### MALADIES : des attaques successives

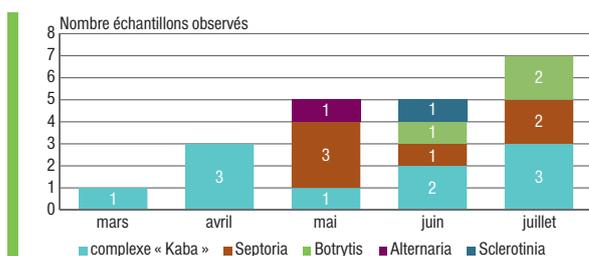


Figure 1 : Évolution des pathogènes diagnostiqués sur lin oléagineux d'hiver au cours de la campagne 2013.

### La septoriose très présente à la floraison

En mars et avril, le diagnostic a porté uniquement sur des symptômes de courbure en bas de tiges s'accompagnant de crevasses, suggérant la présence de kabatiellose. Les premiers symptômes de septoriose ont été observés courant mai. La septoriose est apparue en bas des tiges, se manifestant sous forme de brunissement de la tige accompagné d'une défoliation basale très marquée. Sur les feuilles supérieures, l'apparition de taches brunes plus ou moins arrondies avec présence de pycnides (organes sous forme de points noirs renfermant les spores) a été constatée, ainsi que la présence d'alternaria.

### Botrytis et septoriose en fin de cycle

À partir de juin, le botrytis s'est manifesté sur des lins fragilisés par des attaques importantes de septoriose et de kabatiellose (symptôme de brunissement de la tige en fin de cycle). Une tige dres-

sée attaquée par du sclérotinia a par ailleurs été observée. Début juillet, sur les lins provenant de l'Indre, la septoriose est fortement détectée en bas de tige mais aussi sur les tiges présentant quelques zébrures caractéristiques. En remontant sur la tige, les taches brunes de septoriose s'effacent au profit d'un complexe « Kaba ». Sur des lins de l'Eure, le botrytis a davantage été détecté sur les tiges que le complexe « Kaba ». La septoriose a touché quelques capsules, causant un brunissement caractéristique des sépales entourant une capsule encore verte et sur lesquels pointent déjà quelques pycnides.



### L'examen visuel, 1<sup>re</sup> étape du diagnostic

L'observation visuelle constitue la première étape orientant le choix des méthodes d'investigation pour déterminer l'agent causal des symptômes. Tous les échantillons reçus ont fait l'objet d'un examen visuel systématique.

Loupe et microscope sont des moyens rapides d'approfondissement de l'examen visuel. Ainsi, l'observation sur les symptômes d'organes de reproduction ou de conservation (pycnides, périthèces, microsclérotés, sclérotés...) peut suffire au diagnostic d'un agent pathogène. Pour la septoriose, rien n'est plus simple que de s'aider d'une loupe pour observer la présence de pycnides. Mieux encore, la mise en chambre humide, qui consiste à placer quelques organes malades dans une bouteille plastique juste égouttée pendant 24 heures, assure le gonflement des pycnides qui émettent alors un ruban de spores (cirrhe) bien visible sous la loupe.

Le recours à un ruban adhésif pour piéger des spores à la surface des symptômes et son examen au microscope constitue également une méthode simple, rapide et peu onéreuse pour identifier

des agents pathogènes dont les spores sont très caractéristiques, comme celles d'*Alternaria* ou de *Septoria*.

### Isolement des pathogènes du lin oléagineux

L'isolement sur milieu de culture est une technique plus longue et délicate. Elle a été tentée lorsque les premières méthodes d'analyses n'ont pas abouti à un résultat, mais également lorsqu'il était nécessaire de collecter des souches destinées à produire de l'inoculum pour reproduire des symptômes ou développer de nouvelles techniques de détection. Un isolement a ainsi été réalisé dans près d'un cas sur deux. Malgré tout, aucune souche de *Kabatiella lini* n'a pu être détectée : c'est un champignon réputé difficile à isoler car sa croissance est très lente et, de ce fait, il est peu compétitif par rapport aux saprophytes indésirables qui eux poussent très rapidement. Par contre, les souches de *Septoria linicola* sont aisément isolées à partir de cirrhes exsudés des pycnides.

### Des outils de plus en plus développés

La mise au point d'outils moléculaires, initialement conçus pour les principales maladies du colza et du tournesol, a été étendue au lin et a conduit à la définition de marqueurs spécifiques de PCR quantitative (qPCR) pour les deux principales maladies du lin oléagineux d'hiver que sont la courbure et la septoriose. Dessiner de tels marqueurs est un préalable à une détection par qPCR qu'il convient ensuite de valider sur plusieurs souches pour en garantir la fiabilité.

« La mise au point d'outils moléculaires, initialement conçus pour les principales maladies du colza et du tournesol, a été étendue au lin. »

## Mieux lutter contre la septoriose grâce à la biologie moléculaire

Le projet SEPTOLIN, accepté dans le cadre de l'appel à projet CASDAR CTPS 2014 et coordonné par ARVALIS – Institut du végétal en partenariat avec le CETIOM, le GEVES, l'INRA, LINEA et TERRE DE LIN, a pour objectifs de constituer une mycothèque représentative de la diversité génétique et phénotypique de l'espèce *Septoria linicola*, réaliser le séquençage du génome d'une souche de référence, mettre au point des tests pathologiques sur plante et développer un outil moléculaire d'aide au phénotypage. Il s'agit ainsi d'apporter des connaissances nouvelles sur l'épidémiologie et la biologie de l'agent pathogène, *S. linicola*, et de caractériser les variétés pour leur sensibilité à la septoriose au champ par la mise au point d'une méthode de notation et la maîtrise de la pression maladie (inoculation artificielle).



Observation à la loupe des pycnides de *Septoria linicola*.

Le système *Septoria* a pu être validé sur un isolat de *S. linicola* purifié obtenu à partir d'un échantillon, sur une souche fournie par ARVALIS - Institut du végétal ainsi que sur plusieurs échantillons porteurs de pycnides.

Le système kabatiellose s'est révélé plus complexe, avec implication possible de deux champignons cibles du genre *Kabatiella sp.* et *Aureobasidium sp.* Ce système n'a en revanche pas encore pu être validé sur des souches pures par manque d'isolats disponibles. Sur les échantillons suspectés atteints de kabatiellose, le système a détecté *Kabatiella* dans un seul cas alors qu'*Aureobasidium* a davantage été décelé. Ce dernier serait-il vraiment pathogène ?

Pour répondre à la question, il est indispensable de parvenir à isoler les suspects et de reproduire les symptômes.

Pour les autres pathogènes du lin oléagineux, comme botrytis, sclerotinia ou verticillium, la détection de la présence du pathogène ciblé est possible grâce aux amorces déjà définies pour le colza ou le tournesol. Les amorces de *Alternaria sp.*, sans distinction de l'espèce, ont également abouti à la détection d'un *Alternaria* qui, après séquençage de son ADN, s'est avéré être *Alternaria infectoria*, espèce la moins pathogène des trois espèces connues, mais néanmoins capable de produire des lésions sur le lin.

Annette Penaud - penaud@cetiom.fr  
Mathieu Godet - godet@cetiom.fr  
CETIOM