

Sensibilité du pin d'Alep et du pin sylvestre à l'infection de *Diplodia sapinea* déclenchée par la sécheresse

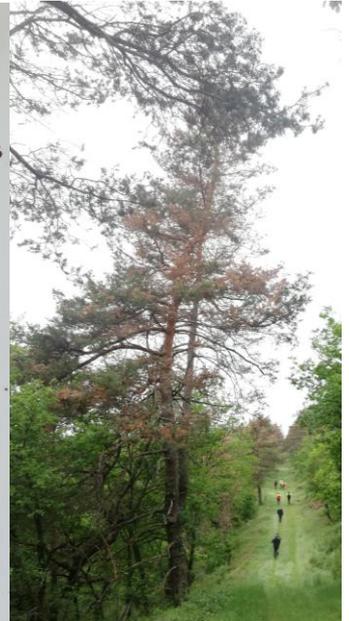
Mireia Gómez-Gallego avec:

Méline Poch, Marie-Béatrice Bogeat-Triboulot, Benoit Marçais, Anaïs Gillet, Cyril Bure, Jérémy Petrowski, Christophe Bailly, Bastien Gerard



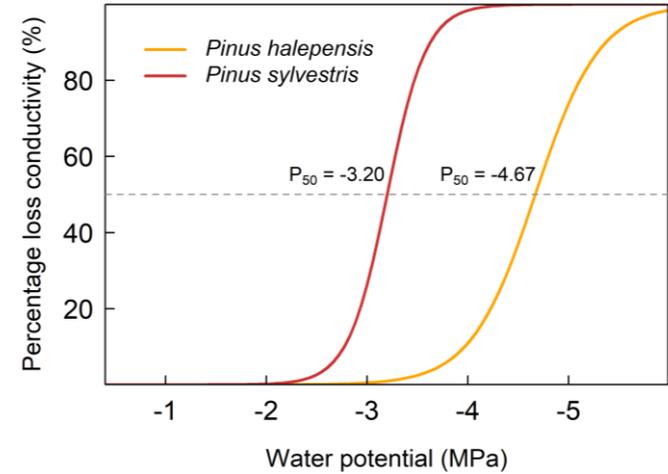
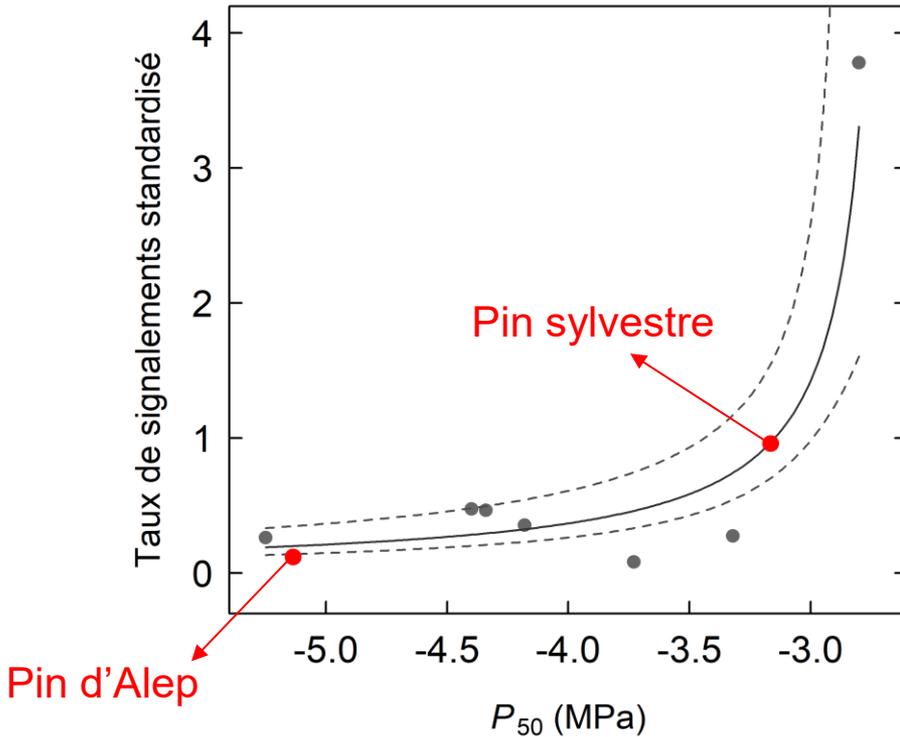
Sphaeropsis des pins, une maladie émergente en Europe

- ***Diplodia sapinea*, un agent pathogène des résineux connu en France depuis le XIXème siècle. Il est présent dans le monde entier**
- Le champignon est présent de façon **asymptomatique dans les tissus de l'hôte**
- Les **épidémies** suivent le **stress abiotique** (sécheresse, grêle) ou **biotique**
- **Des dépérissements sévères liés à *Diplodia sapinea* ont été reportés dans les années 1990s chez *Pinus nigra* et *P. sylvestris***



Lien entre la tolérance à la sécheresse et à *D. sapinea*

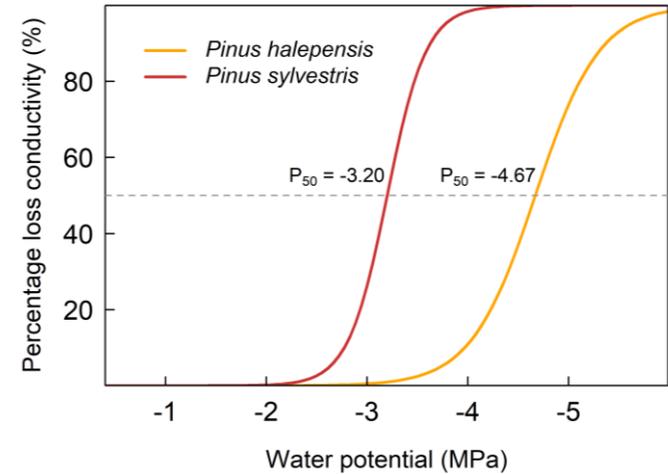
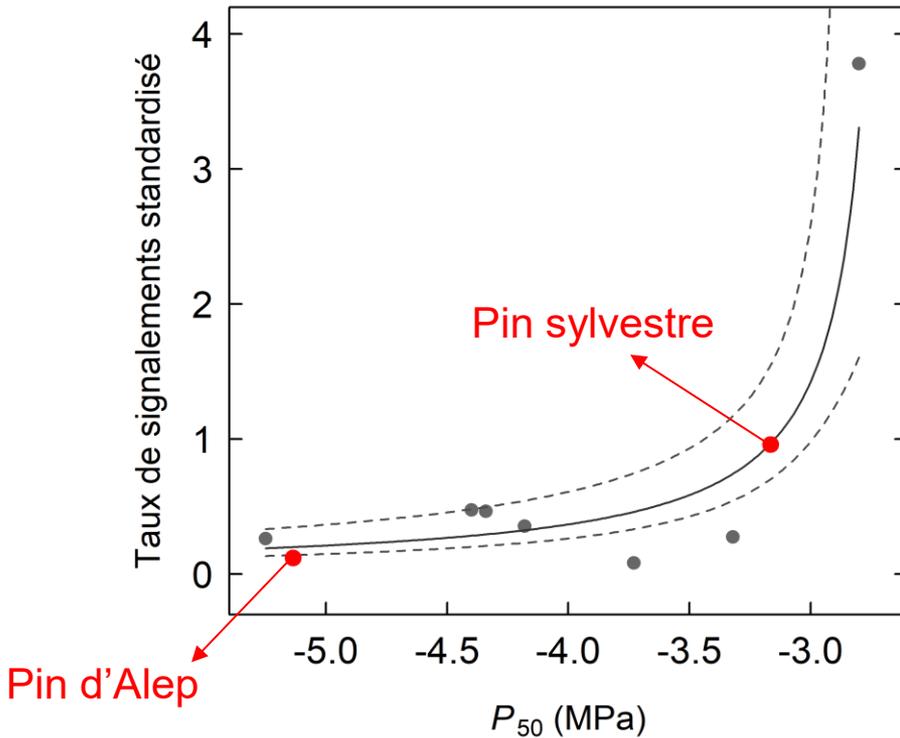
Relation entre l'un des traits de réponse à la sécheresse (P_{50}) et les taux de signalements de *D. sapinea* standardisés en France



	<i>P. sylvestris</i>	<i>P. halepensis</i>
Prévalence of <i>D. sapinea</i>	+	+
Sensibilité à la sécheresse	+	+

Lien entre la tolérance à la sécheresse et à *D. sapinea*

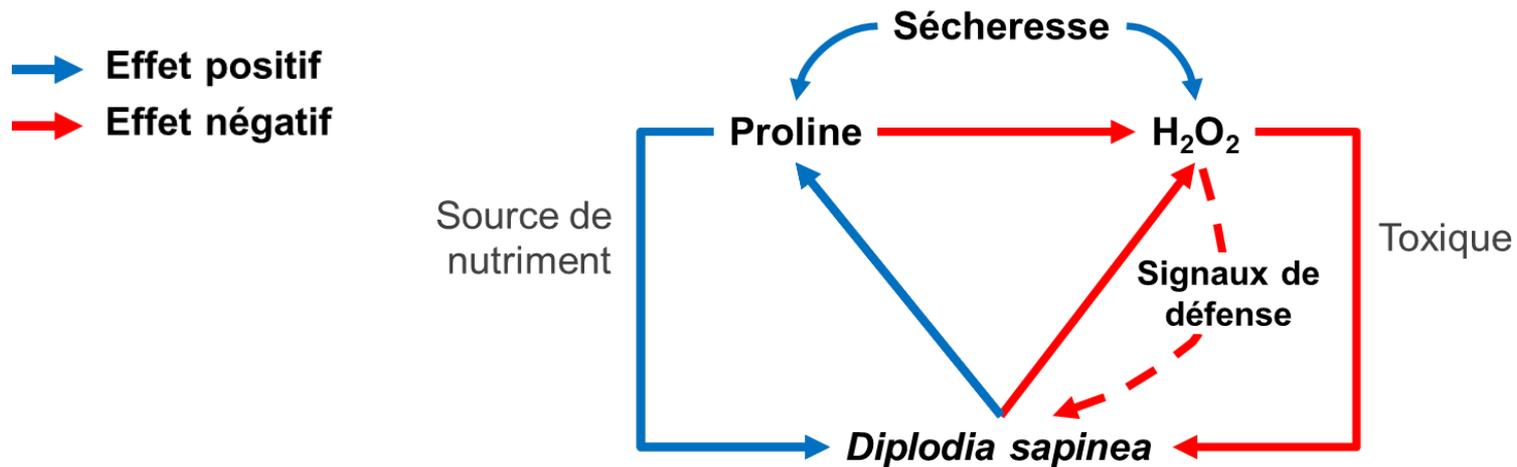
Relation entre l'un des traits de réponse à la sécheresse (P_{50}) et les taux de signalements de *D. sapinea* standardisés en France



	<i>P. sylvestris</i>	<i>P. halepensis</i>
Prévalence of <i>D. sapinea</i>	+	+
Sensibilité à la sécheresse	+	+

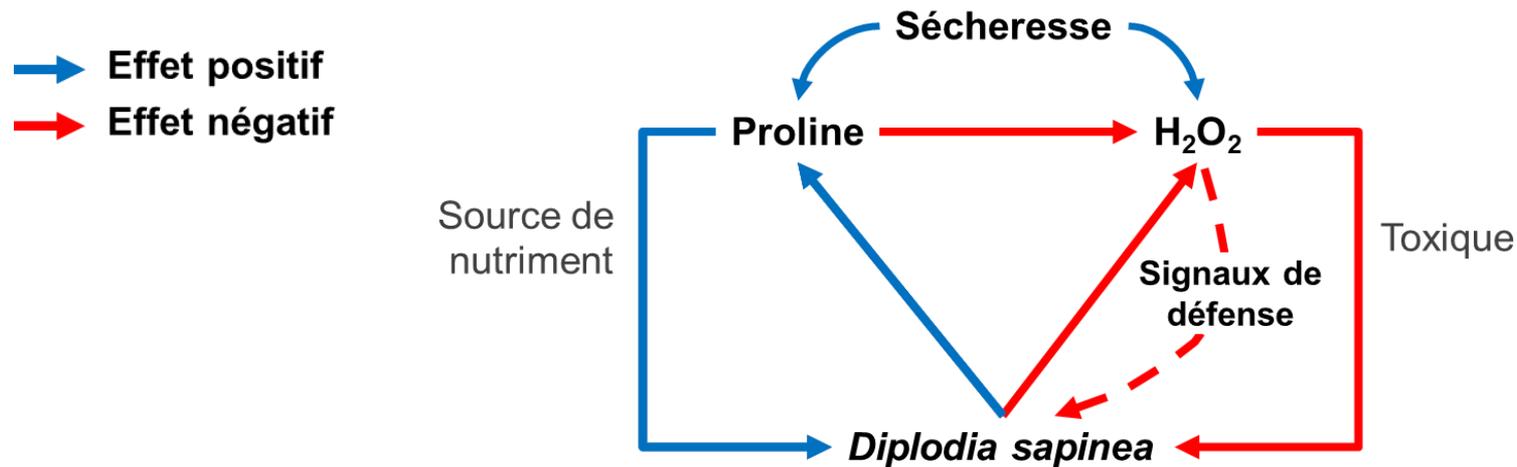
Quels sont les **traits de réponse à la sécheresse** des hôtes qui sont **liés à l'expression de la maladie** ?

Le rôle de la sécheresse : la proline



- La **sécheresse** induit l'accumulation de **proline** et **H₂O₂**
- **H₂O₂** est toxique pour ***D. sapinea***
- La **proline** neutralise **H₂O₂**
- La **proline** est une **source de nutriment** pour ***D. sapinea***

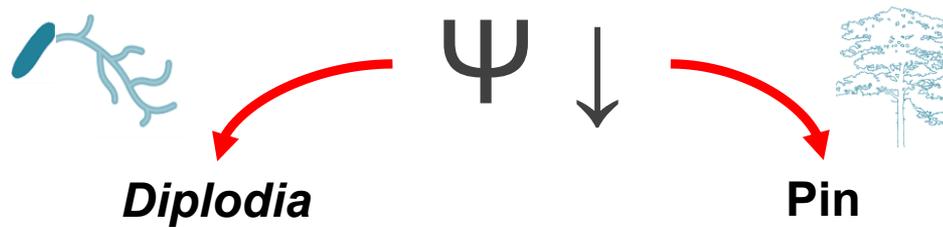
Le rôle de la sécheresse : la proline



- La **sécheresse** induit l'accumulation de **proline** et H_2O_2
- H_2O_2 est toxique pour *D. sapinea*
- La **proline** neutralise H_2O_2
- La **proline** est une **source de nutriment** pour *D. sapinea*

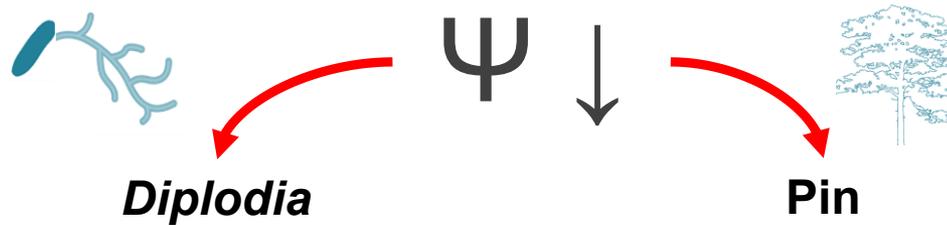
Est-ce que c'est l'**accumulation de proline** ce qui fait la différence entre espèces ?

Le rôle de la sécheresse : le potentiel hydrique



- Les valeurs de **potentiel hydrique** (Ψ_{pd}) qui déclenchent des **lésions** varie selon l'espèce:
 - ***P. nigra*, *P. sylvestris*, *P. thunbergiana***
-1.2 à -1.5 MPa
 - ***P. resinosa***
-1.9 MPa
 - ***P. radiata***
-2.5 MPa
 - ***Cupressus sempervirens***
-4.5 à -5.5 MPa

Le rôle de la sécheresse : le potentiel hydrique



- Les valeurs de **potentiel hydrique** (Ψ_{pd}) qui déclenchent des **lésions** varie selon l'espèce:
 - ***P. nigra*, *P. sylvestris*, *P. thunbergiana***
-1.2 à -1.5 MPa
 - ***P. resinosa***
-1.9 MPa
 - ***P. radiata***
-2.5 MPa
 - ***Cupressus sempervirens***
-4.5 à -5.5 MPa

Quel est l'impact du potentiel hydrique sur l'accumulation de proline chez les différentes espèces de pin ?

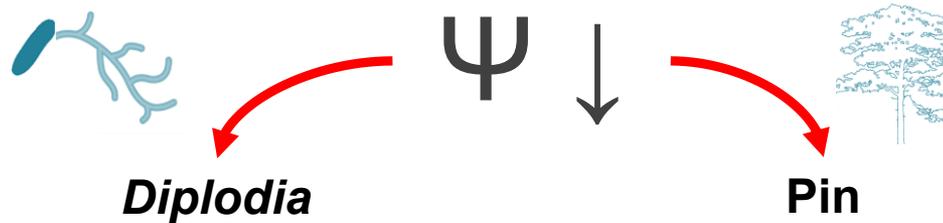
Le rôle de la sécheresse : le potentiel hydrique



- *D. sapinea* se développe à des valeurs moins négatifs de potentiel hydrique que *D. scrobiculata*
- *D. sapinea f.sp. cupressi* cause des lésions entre -4.5 et -5.5 MPa en plante
- Les valeurs de **potentiel hydrique** (Ψ_{pd}) qui déclenchent des **lésions** varie selon l'espèce:
 - *P. nigra*, *P. sylvestris*, *P. thunbergiana*
-1.2 à -1.5 MPa
 - *P. resinosa*
-1.9 MPa
 - *P. radiata*
-2.5 MPa
 - *Cupressus sempervirens*
-4.5 à -5.5 MPa

Quel est l'impact du potentiel hydrique sur l'accumulation de proline chez les différentes espèces de pin ?

Le rôle de la sécheresse : le potentiel hydrique



- *D. sapinea* se développe à des valeurs moins négatifs de potentiel hydrique que *D. scrobiculata*
- *D. sapinea f.sp. cupressi* cause des lésions entre -4.5 et -5.5 MPa en plante

- Les valeurs de **potentiel hydrique** (Ψ_{pd}) qui déclenchent des **lésions** varie selon l'espèce:
 - *P. nigra*, *P. sylvestris*, *P. thunbergiana*
-1.2 à -1.5 MPa
 - *P. resinosa*
-1.9 MPa
 - *P. radiata*
-2.5 MPa
 - *Cupressus sempervirens*
-4.5 à -5.5 MPa

Quel est l'impact du potentiel hydrique sur la croissance de *D. sapinea* ?

Il y a-t-il des différences entre les populations de *D. sapinea* associés à des différentes espèces de pin ?

Quel est l'impact du potentiel hydrique sur l'accumulation de proline chez les différentes espèces de pin ?

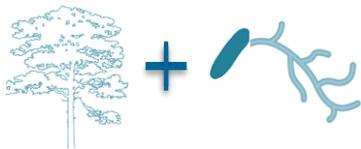
Objectifs

1. **Tester les différences en croissance** entre isolats provenant de *P. sylvestris* et de *P. halepensis*



sous différentes source d'azote, dont la proline, et sous un gradient de potentiels hydriques

2. **Étudier l'accumulation de proline** chez le *P. sylvestris* et le *P. halepensis* pour différentes **intensités de sécheresse**



3. **Étudier le développement de *D. sapinea*** chez le **pin sylvestre** et le **pin d'Alep** à de **différentes intensités de sécheresse**

Étude *in vitro* des isolats de *D. sapinea*

Échantillonnage de cônes de *Pinus sylvestris* et *P. halepensis* dans la région **Méditerranéenne** hivers de 2023 et 2024

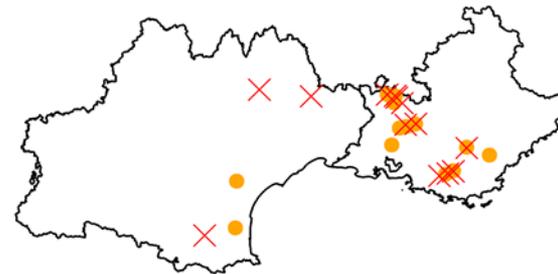
Régions d'**Occitanie** et
**Provence-Alpes-Côte
d'Azur**



13 placettes de *P. sylvestris* et **14 *P. halepensis***



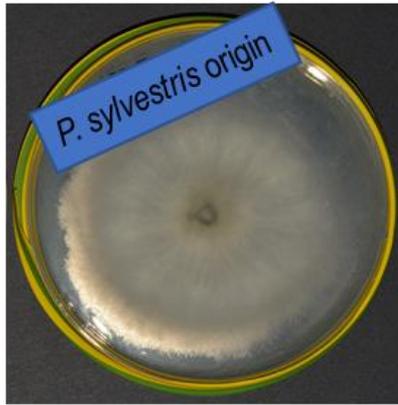
- *Pinus halepensis*
- × *Pinus sylvestris*



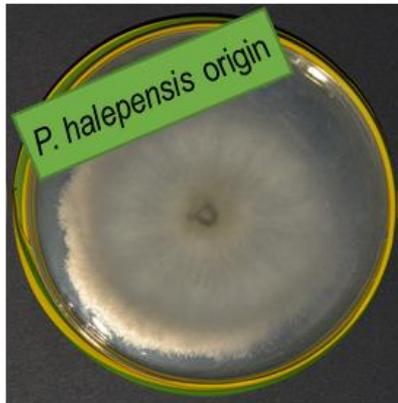
Le pôle sud-est nous a envoyé **166 cônes** en **2023** et **139 cônes** en **2024** de **27 placettes**

On a obtenu **13 isolats** en **2023** et **24 isolats** en **2024**

Étude *in vitro* des isolats de *D. sapinea* : WATER POTENTIAL



8 isolates



5 isolates

13 isolates

Water potential treatments

-0.2 MPa

-1 MPa

-2 MPa

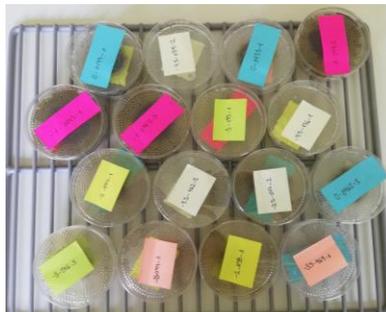
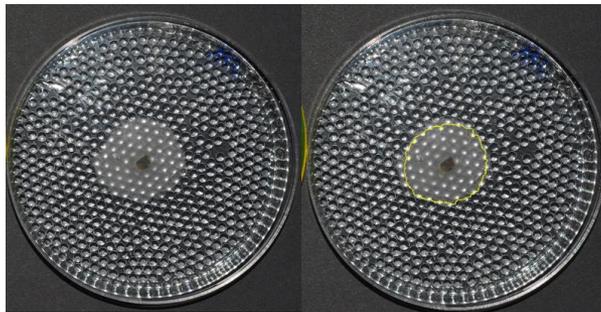
-2.5 MPa

-3 MPa

-3.5 MPa

-4.5 MPa

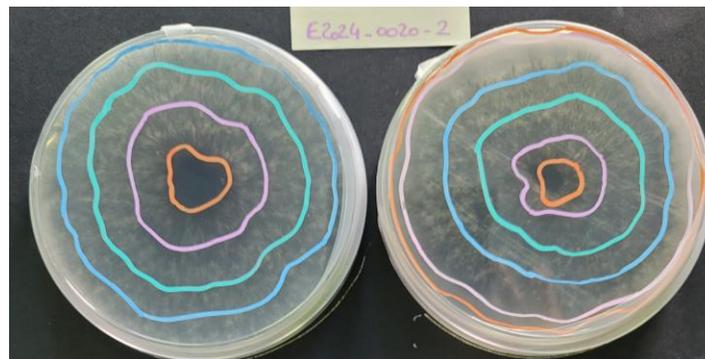
- Simulation d'un gradient de potentiel hydrique par le rajout de PEG au milieu PDB (Aujla et al 2017)
- Suivi de croissance pendant deux semaines à 25 °C



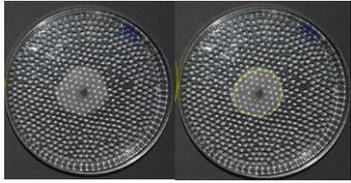
Étude *in vitro* des isolats de *D. sapinea* : PROLINE

Culture media	N concentration
MM (Minimal Medium)	No N (0 mM)
MM + 7.5 mM de NH_4NO_3	Concentration basse (15 mM)
MM + 15 mM de L-proline	Concentration basse (15 mM)
MM + 15 mM de NH_4NO_3	Concentration élevée (30 mM)
MM + 30 mM de L-proline	Concentration élevée (30 mM)

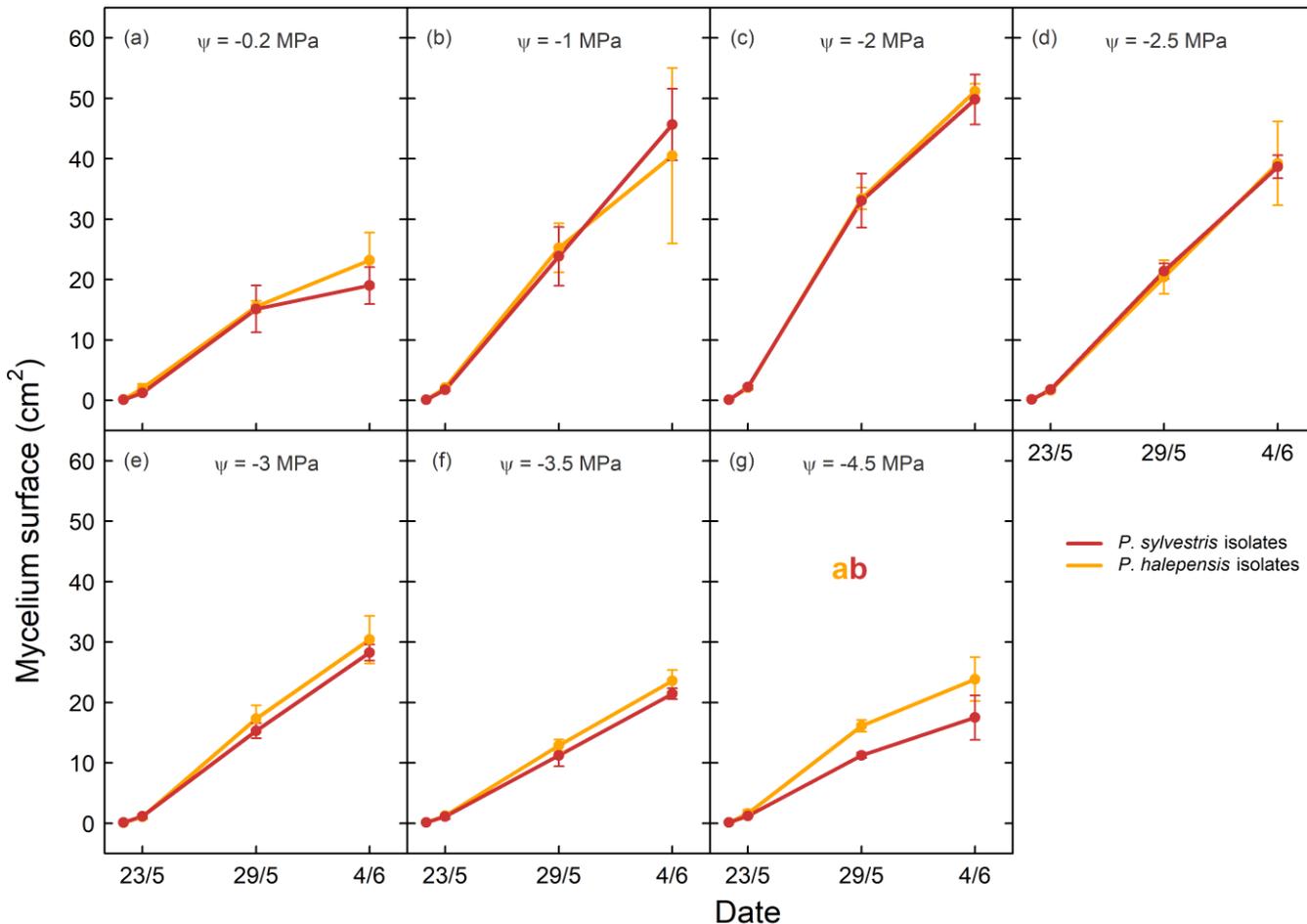
- **Test de la préférence de proline comme source d'azote** à deux concentrations de **22 isolats de *D. sapinea*** provenant des deux hôtes
- **Suivi de croissance pendant 8 jours à 25 °C**



Différences phénotypiques entre *D. sapinea* isolats



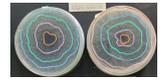
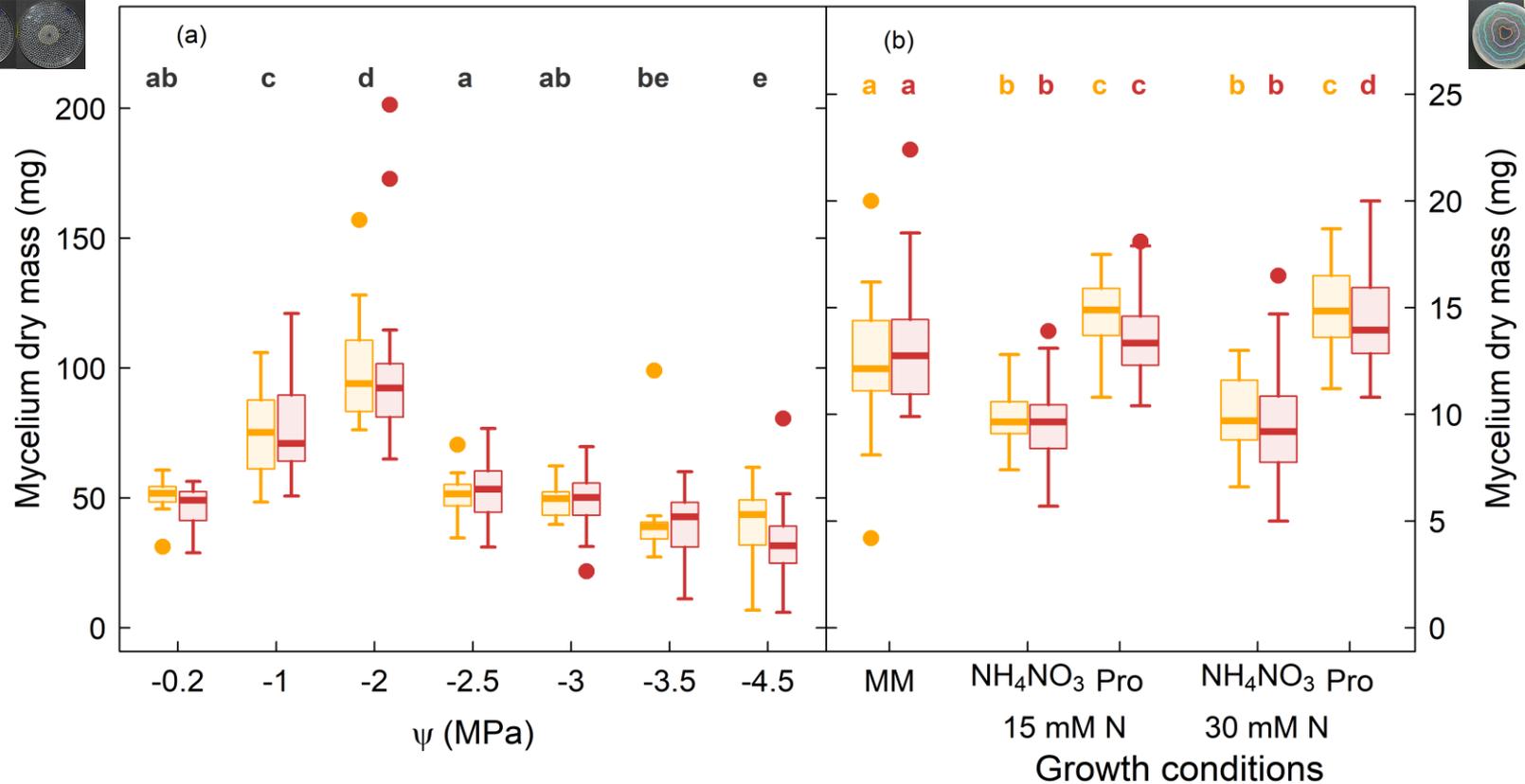
Courbes de croissance sous chaque valeur de potentiel hydrique



- Pente plus élevée à -2 MPa
- Les isolats provenant de pin d'Alep poussent plus vite que ceux de pin sylvestre à -4.5 MPa ($p = 0.002$)

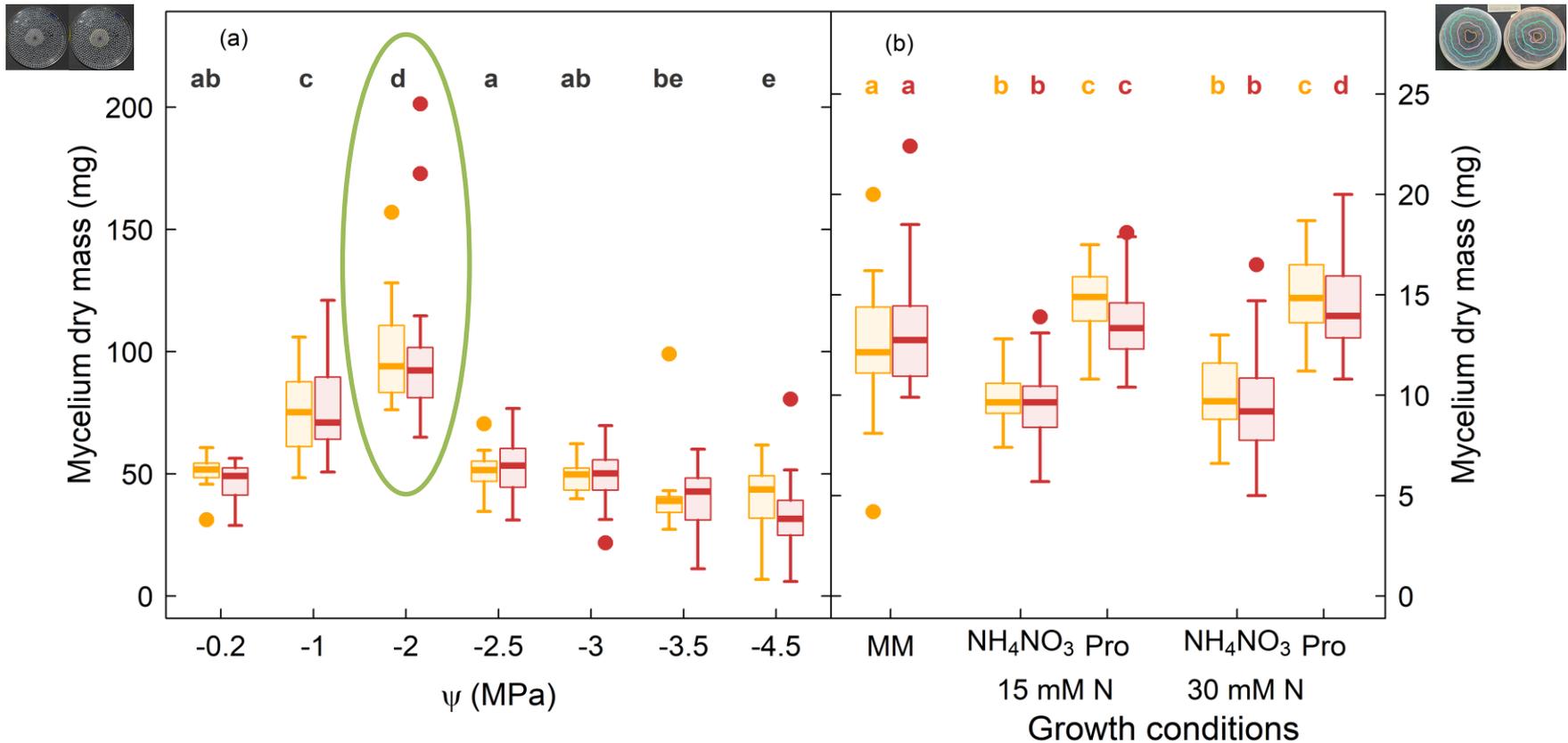
Différences phénotypiques entre *D. sapinea* isolats

Biomasse final de mycélium sous un gradient de potentiel hydrique et différents sources de N



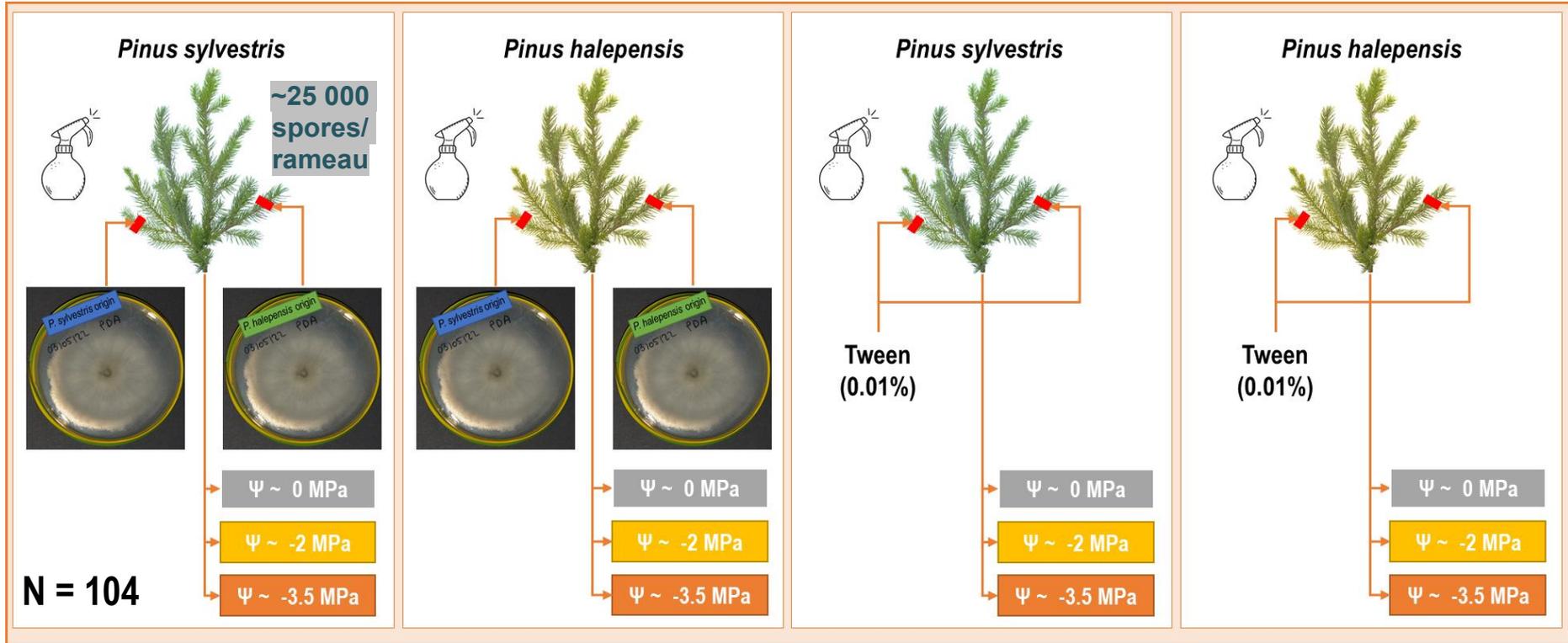
Différences phénotypiques entre *D. sapinea* isolats

Biomasse final de mycélium sous un gradient de potentiel hydrique et différents sources de N



- **Pas de différences en biomasse** entre les isolats provenant de **pin d'Alep** et **pin sylvestre** par niveau de potentiel hydrique, ni en **préférence de proline**
- Le **potentiel hydrique optimal** pour la **croissance de *D. sapinea*** est de **-2 MPa**
- ***D. sapinea*** préfère la **proline** comme **source de N** ($p < 0.0001$)

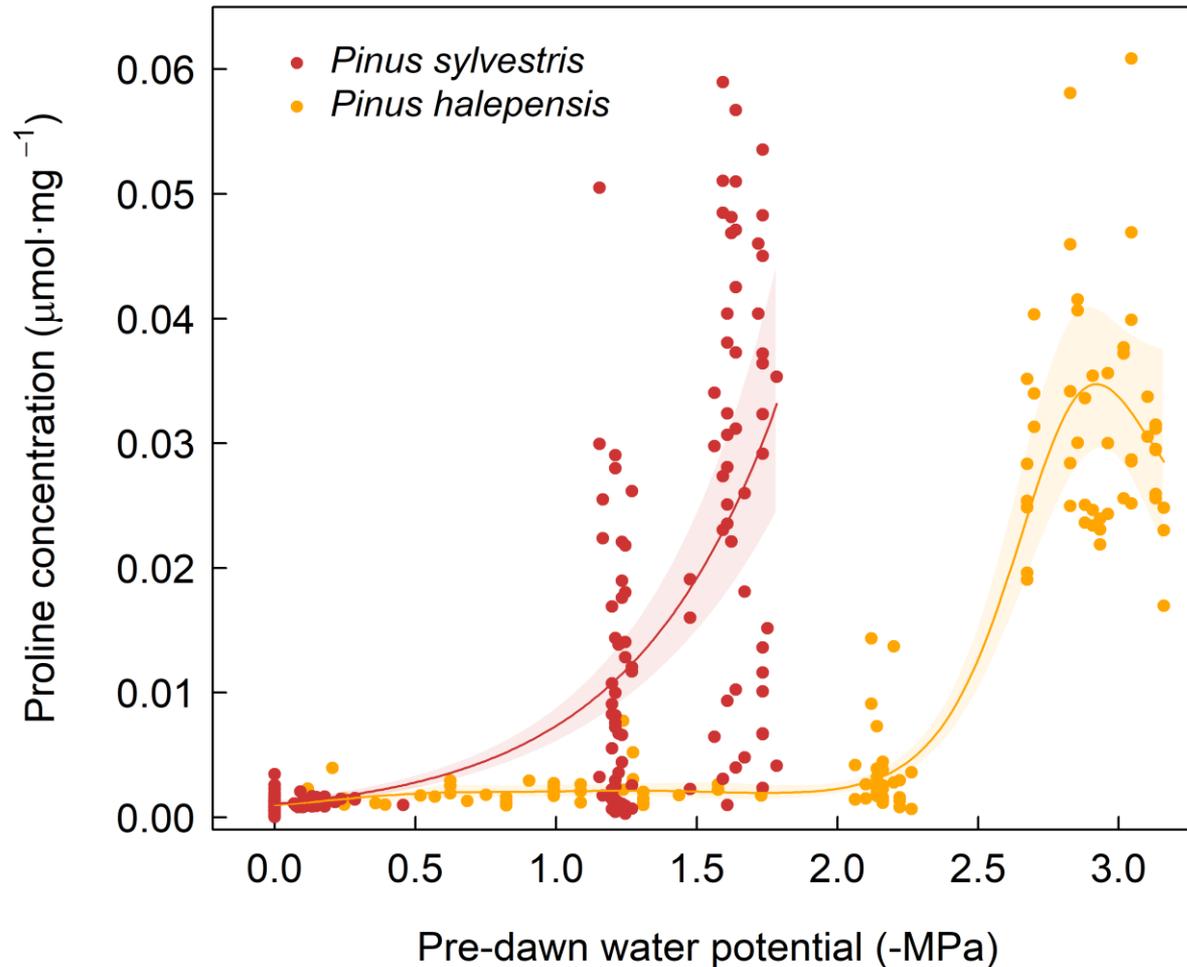
Étude *in planta* de infection par *D. sapinea* des deux pins



**Inoculations croisées
sous deux niveaux de
potentiel hydrique**
avec le suivi du
potentiel hydrique, la
proline et les lésions

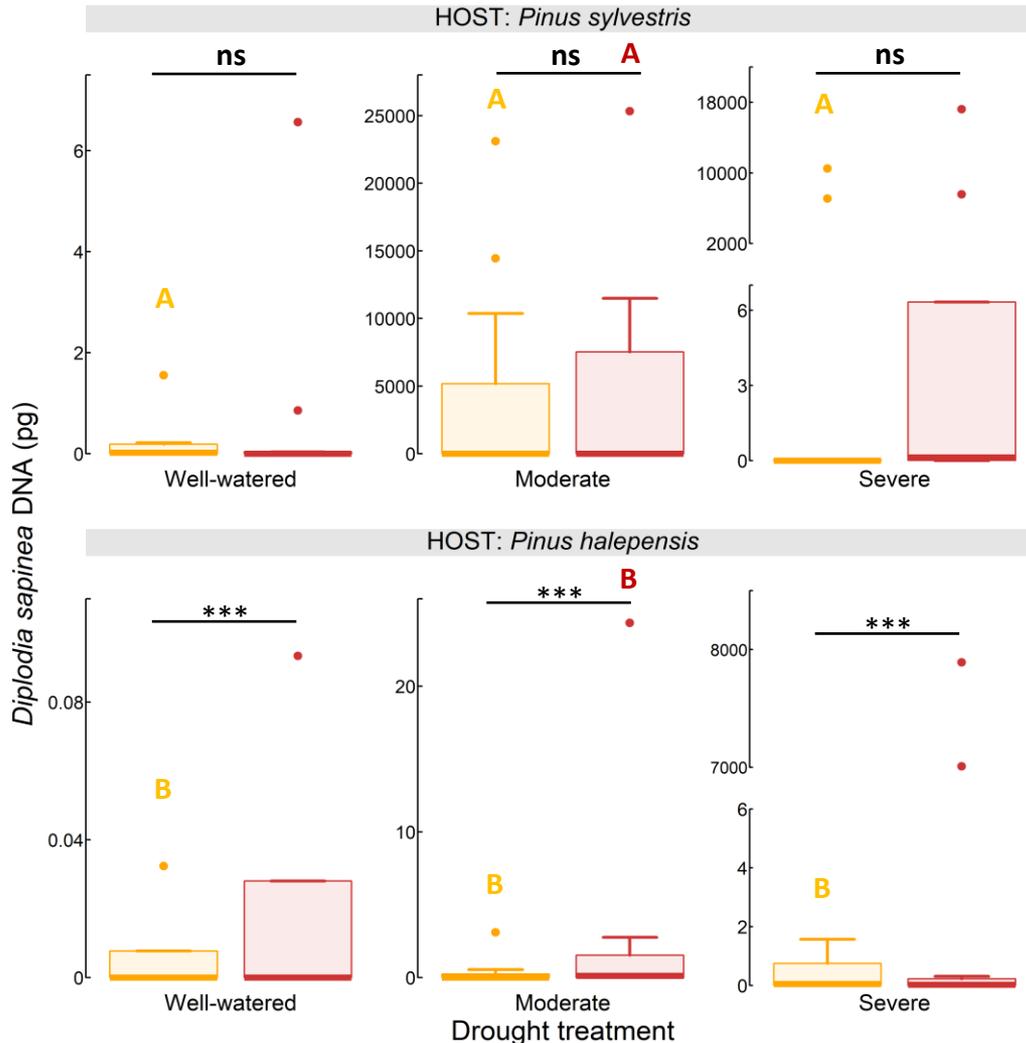
Étude *in planta* : accumulation de proline

L'accumulation de proline accumulation par espèce de pin en fonction de la intensité de la sécheresse (Ψ_{pd}) en absence de *D. sapinea* infection



Étude *in planta* : provenance des isolats de *D. sapinea*

Colonisation par *D. sapinea* de chaque espèce de pin en fonction de la provenance l'isolat

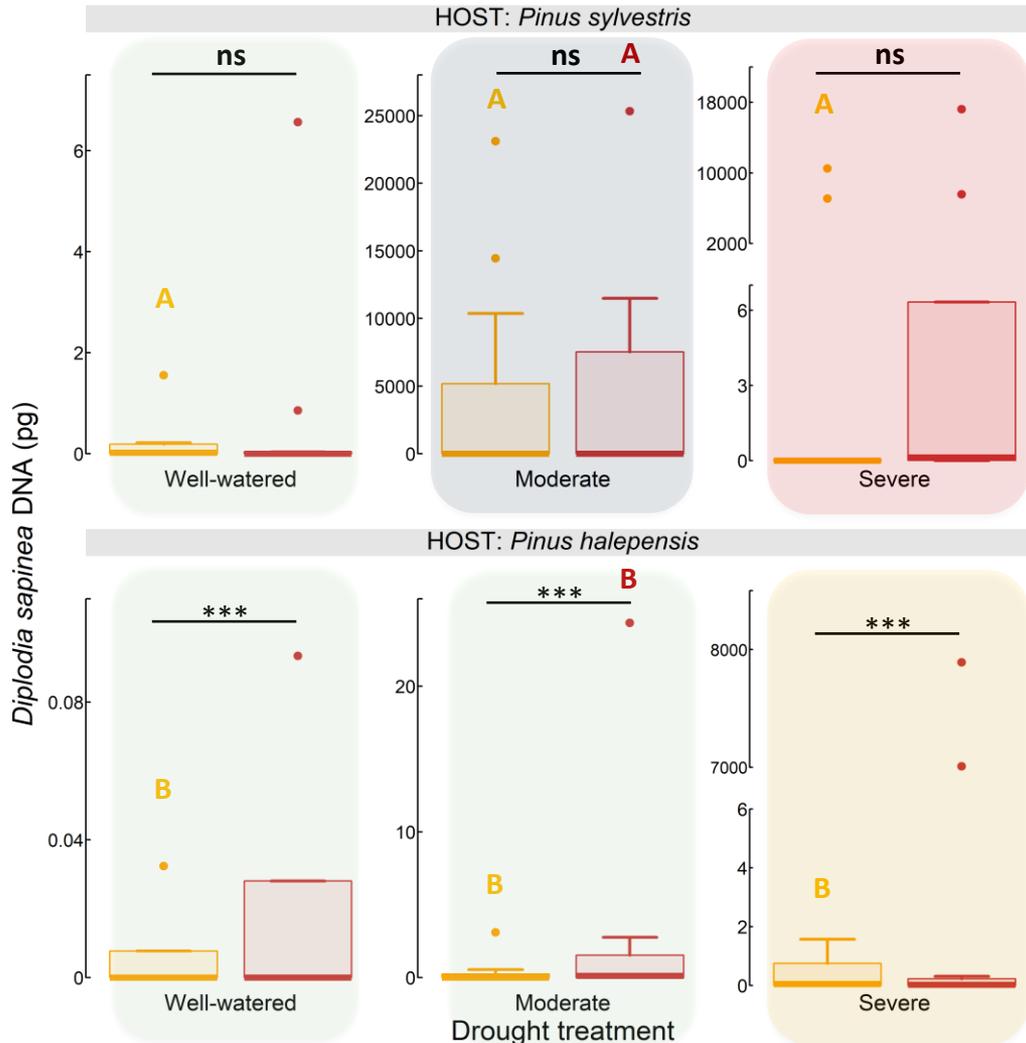


- Chez le *P. sylvestris* les deux isolats se développent également bien
- L'isolat provenant de *P. sylvestris* pousse mieux que celui de *P. halepensis* chez le pin d'Alep
- L'isolat provenant du pin d'Alep se développe toujours mieux chez le pin sylvestre

L'isolat de pin sylvestre est plus capable de pousser dans de conditions moins favorables (ex. pin d'Alep)

Étude *in planta* : provenance des isolats de *D. sapinea*

Colonisation par *D. sapinea* de chaque espèce de pin en fonction de la provenance l'isolat

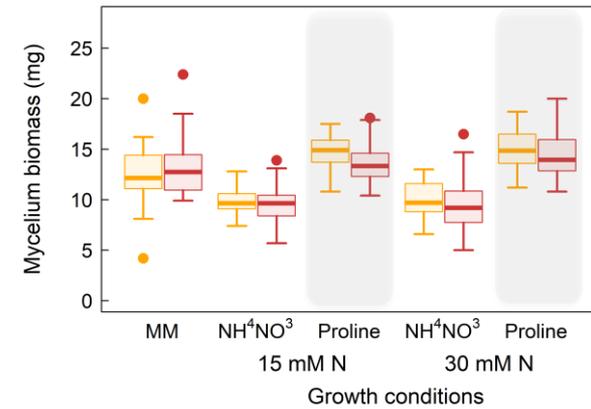
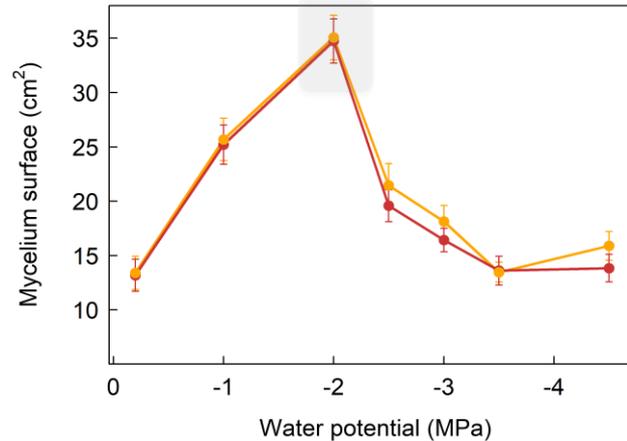
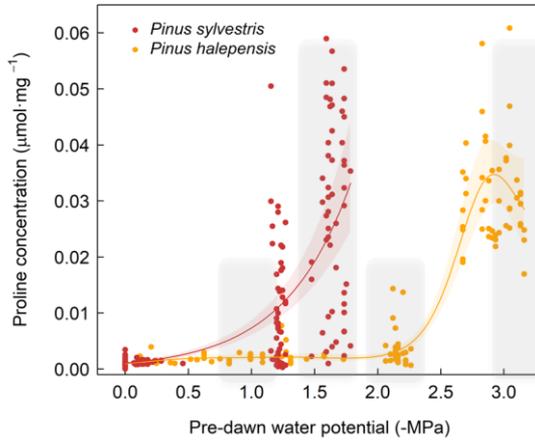


- Chez le *P. sylvestris* les deux isolats se développent également bien
- L'isolat provenant de *P. sylvestris* pousse mieux que celui de *P. halepensis* chez le pin d'Alep
- L'isolat provenant du pin d'Alep se développe toujours mieux chez le pin sylvestre

L'isolat de pin sylvestre est plus capable de pousser dans de conditions moins favorables (ex. pin d'Alep)

La sécheresse modérée favorise *D. sapinea* chez le pin sylvestre ; et chez le pin d'Alep il faut une sécheresse sévère

Effet des paramètres ecophysiologicals sur *D. sapinea*



	<i>P. sylvestris</i>	<i>P. halepensis</i>
Prevalence of <i>D. sapinea</i>	⊕ ⊕	⊕
Susceptibility to drought	⊕ ⊕	⊕



P. sylvestris

Modérée

Sévère

Potentiel hydrique

(-1.2 MPa)
Non contraignant

(-1.6 MPa)
Optimal

Proline

(0.01 µmol·mg⁻¹)
Impact positif

(0.03 µmol·mg⁻¹)
Impact positif

Infection par *D. sapinea*



P. halepensis

Modérée

Sévère

Potentiel hydrique

(-2.1 MPa)
Optimal

(-3 MPa)
Contraignant

Proline

(0.003 µmol·mg⁻¹)
Contraignant

(0.03 µmol·mg⁻¹)
Impact positif

Infection par *D. sapinea*



Conclusion final

La combinaison de :

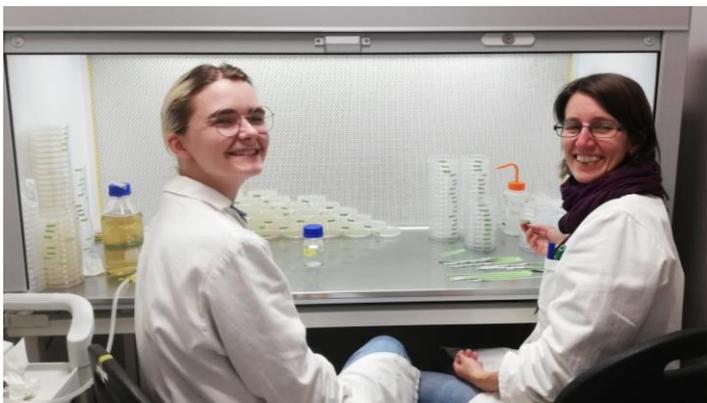
- L'**accumulation de proline chez l'hôte** comme réponse à la sécheresse, et
- La **capacité de *D. sapinea*** à pousser sous des **potentiels hydriques négatifs** et des **concentrations de proline croissantes**,

sont impliqués dans les **différences en sensibilité à *D. sapinea*** des deux espèces de pin

MAIS cela n'exclut pas **d'autres traits à explorer** :
embolie et variations en carbohydrates

Remerciements

Co-authors



Méline Poch
Marie-Béatrice Bogeat
Anaïs Gillet
Cyril Bure
Jérémy Petrowski
Benoit Marçais
Christophe Bailly
Bastien Gerard

Support on the greenhouse and the lab (IAM)

Antonine Colin
Axelle Andrieux
Fabien Halkett
Bénédicte Fabre
Sarah Villaume



Data collection:



Funding:



ADDITion ADaptation of the pathogen *Diplodia sapinea* to pine hosts with contrasting Tolerance to drought



Merci pour votre attention