



Rapport annuel d'activité, année 2021

Laboratoire National de Référence

Autres champignons sur toutes matrices

Nom du responsable du LNR

Renaud IOOS

Nom du laboratoire où l'activité du LNR est mise en œuvre

Laboratoire de la santé des végétaux — station de Malzéville (près de Nancy)

Nom de l'unité où l'activité du LNR est mise en œuvre

Unité de mycologie

Nom du ou des laboratoires ayant collaboré avec le LNR dans le cadre de son mandat sur l'exercice considéré

sans objet

Nom des unités ayant collaboré avec le LNR dans le cadre de son mandat sur l'exercice considéré

sans objet

Dangers sanitaires de catégories 1 et 2 couverts par le mandat

Organismes de Quarantaine (OQ, Règlement d'Exécution (UE) 2019/2072 de la Commission du 28 novembre 2019)

- Annexe II, Partie A, Organismes nuisibles dont la présence n'est pas connue sur le territoire de l'Union :

Anisogramma anomala (Peck) E. Müller [CRSPAN]

Apiosporina morbosus (Schwein.) Arx [DIBOMO]

Atropellis spp. [1ATRPG]

Botryosphaeria kuwatsukai (Hara) G.Y. Sun & E. Tanaka [PHYOPI]

Bretziella fagacearum (Bretz) Z.W. de Beer, T.A. Duong & M.J. Wingfield, comb. nov. [CERAFSA]

Chrysomyxa arctostaphyli Dietel [CHMYAR]

Cronartium spp. [1CRONG], à l'exception de *Cronartium gentianeum*, de *Cronartium pini* (Willdenow) Jørstad [ENDCPI] et de *Cronartium ribicola* Fischer [CRONRI].

Davidsoniella virescens (R.W. Davidson) Z.W. de Beer, T.A. Duong & M.J. Wingfield [CERAVI]

Elsinoë australis Bitanc. & Jenkins [ELSIAU]

Elsinoë citricola X.L. Fan, R.W. Barreto & Crous [ELSICI]

Elsinoë fawcettii Bitanc. & Jenkins [ELSIFA]

Fusarium oxysporum f. sp. *albedinis* (Kill. & Maire) W.L. Gordon [FUSAAL]

Guignardia loricata (Sawada) W. Yamam. & Kaz. Itô [GUIGLA]

Gymnosporangium spp. [1GYMNG], à l'exception de:

Gymnosporangium amelanchieris E. Fisch. ex F. Kern, *Gymnosporangium atlanticum* Guyot & Malenc. ßon, *Gymnosporangium clavariiforme* (Wulfen) DC [GYMNCF], *Gymnosporangium confusum* Plowr. [GYMNCO], *Gymnosporangium cornutum* Arthur ex F. Kern [GYMNCR], *Gymnosporangium fusiforme* E. Fisch., *Gymnosporangium gaeumannii* H. Zogg, *Gymnosporangium gracile* Pat., *Gymnosporangium minus* Crowell, *Gymnosporangium orientale* P. Syd. & Syd., *Gymnosporangium sabiniae* (Dicks.) G. Winter [GYMNFU], *Gymnosporangium torminali-juniperini* E. Fisch. et *Gymnosporangium tremelloides* R. Hartig [GYMNTR]

Coniferiporia sulphurascens (Pilát) L.W. Zhou & Y.C. Dai [PHELSU]

Coniferiporia weirii (Murrill) L.W. Zhou & Y.C. Dai [INONWE]

Melampsora farlowii (Arthur) Davis [MELMFA]

Melampsora medusae f. sp. *tremuloidis* Shain [MELMMT]

Mycodiella loricis-leptolepidis (Kaz. Itô, K. Satô & M. Ota) Crous [MYCOLL]

Phoma andina Turkensteen [PHOMAN]

Phyllosticta citricarpa (McAlpine) Van der Aa [GUIGCI]

Phyllosticta solitaria Ellis & Everhart [PHYSSL]

Phymatotrichopsis omnivora (Duggar) Hennebert [PHMPOM]

Phytophthora ramorum (isolats de pays tiers) Werres, De Cock & Man in 't Veld [PHYTRA]

Pseudocercospora angolensis (T. Carvalho & O. Mendes) Crous & U. Braun [CERCAN]

Pseudocercospora pini-densiflorae (Hori & Nambu) Deighton [CERSPD]

Puccinia pittieriana Hennings [PUCCPT]

Septoria malagutii E.T. Cline [SEPTLM]

Sphaerulina musiva (Peck) Quaedvl. Verkley & Crous. [MYCOPP]

Stegophora ulmea (Fr.) Syd. & P. Syd. [GNOMUL]

Thecaphora solani (Thirumulachar & O'Brien) Mordue [THPHSO]

Tilletia indica Mitra [NEOVIN]

Venturia nashicola S. Tanaka & S. Yamamoto [VENTNA]

- Annexe II, Partie B, Organismes nuisibles dont la présence est connue sur le territoire de l'Union :

Ceratocystis platani (J. M. Walter) Engelbr. & T. C. Harr [CERAFP]

Fusarium circinatum Nirenberg & O'Donnell [GIBBCI]

Geosmithia morbida Kolarík, Freeland, Utley & Tisserat [GEOHMO]

Synchytrium endobioticum (Schilb.) Percival [SYNCEN]

Les faits marquants de l'année

L'année 2021 a vu l'aboutissement d'une partie du projet CASDAR CREATIVE mené en collaboration avec l'INRAE, le CTIFL, et la FREDON AURA, avec la publication des résultats dans une très bonne revue internationale. Notre étude visait à déterminer les champignons responsables d'un récent problème de défoliation massive dans les vergers de pommiers en France.

L'année 2021 est la première année de pleine activité du nouveau LNR « Champignons réglementés non de quarantaine sur semences vraies, plants de fraisiers, griffes d'asperge et bulbes du genre *Allium* » (GEVES), sans que cela n'affecte le nombre d'analyses réalisées par notre LNR « autres Champignons sur toutes matrices ».

Enfin, l'activité méthodologique du LNR s'est concrétisée par l'addition d'une nouvelle méthode d'analyse à notre portée flexible d'accréditation. Cette méthode concerne la détection des souches tropicales de *Fusarium oxysporum* f. sp. *ubense* race 4 (Foc TR4) par PCR en temps réel.

1. Méthodes développées ou révisées

Nombre de méthodes développées ou révisées, prêtes à être mises en œuvre

0 méthode(s)

Informations complémentaires

-MIAM018 Détection de *Pyricularia oryzae* lignée *Triticum* par PCR en temps réel.

L'objet de cette méthode est de détecter la présence de la lignée *Triticum* de *Pyricularia oryzae* sur grains de blé. Cette lignée est responsable de la maladie du « wheat blast ». La présence de l'agent pathogène est mise en évidence par une combinaison de deux tests de détection par PCR en temps réel utilisant chacun deux amorces et une sonde d'hydrolyse. Cette méthode est pour l'instant interne, ce champignon n'étant pas encore réglementé, mais représente une menace émergente en Amérique du Sud et en Asie (Pakistan, Bangladesh).

-MA055 Détection des souches tropicales de *Fusarium oxysporum* f. sp. *ubense* race 4 (Foc TR4) par PCR en temps réel, Version 2.

Cette évolution majeure de la méthode a proposé plusieurs changements notables, dont certains ont dû faire l'objet d'un travail de validation par le LNR :

- Précisions apportées dans l'introduction sur les souches de *Fusarium oxysporum* f.sp. *ubense* ciblées par ce test.
- Mise à jour du mode opératoire, section « Préparation des échantillons pour analyse »
- Mise à jour du mode opératoire, section « Broyage des prises d'essai et extraction de l'ADN total »
- Précision sur la durée de conservation des échantillons après prélèvement.

La version 1 de cette méthode est utilisée pour des analyses officielles, ce parasite étant un parasite de quarantaine pour plusieurs DROM. La version 2 présentée ici est en encore dans sa phase de consultation publique et aura vocation à remplacer la V1 comme méthode officielle.

Nombre total de méthodes transférées par le LNR à son réseau dans l'année

0 méthode(s)

2. Matériels biologiques ou chimiques, échantillons et souches d'intérêt

Information disponible auprès du LNR.

3. Activités d'analyse

3.1 Analyses officielles de première intention

Nombre d'analyses officielles de première intention réalisées dans l'année (de biotypage, sérotypage, caractérisation moléculaire...)

1478 analyse(s)

Détail par type d'analyse de première intention

Un total de 1478 analyses de première intention a été réalisé en 2021.

Les principales analyses de première intention concernent le diagnostic mycologique spécialisé avec respectivement 471 analyses par observation microscopique après incubation en chambre humide et 457 analyses par observation microscopique après isolement mycologique. Vient ensuite l'identification de taxon par analyse de séquence de code-barres génétiques avec un total de 188 analyses.

Le nouveau règlement européen en matière d'organismes de quarantaine comporte plus de 40 espèces de champignons et oomycètes réglementés. Un total de treize champignons phytopathogènes réglementés ont fait l'objet de multiples demandes de recherche spécifique (189 analyses au total), tandis que 159 analyses étaient consacrées à la recherche spécifique d'autres champignons (analyses de certification à l'export, parasites réglementés moins fréquents).

A noter en 2021 une demande constante d'analyses (26) de recherche des isolats de la race tropicale 4 de *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense* (Foc TR4) sur bananiers en provenance des DROM (SALIM), suite à la progression inquiétante de cette maladie en Amérique du Sud, et à la découverte de nouveaux foyers de l'agent pathogène sur l'île de Mayotte. Le nombre de demandes de recherche et d'identification d'espèces du genre *Heterobasidion* (pourridiés des conifères) reste élevé (60 analyses), suite au développement d'une nouvelle méthode d'identification par PCR en temps réel par l'unité.

En termes de tendance, l'activité d'analyse de première intention est dans la moyenne des 5 dernières années, avec un retour à la normale après une année 2020 marquée par les confinements successifs. Restent toujours dans le giron du LNR les analyses spécialisées (diagnostic mycologique pour le département Santé des Forêt DGAI-BSSV), les analyses officielles pour certification à l'export, ainsi que les analyses de détection de première intention non transférables.

3.2 Analyses officielles de confirmation

Nombre d'analyses officielles de seconde intention réalisées dans l'année (de biotypage, sérotypage, caractérisation moléculaire...)

26 analyse(s)

Détail par type d'analyse de confirmation

Un total de 26 analyses de confirmation (positives ou négatives) a été réalisé en 2020, ce qui est un total stable par rapport aux années précédentes. Le décompte est comme suit (n résultats confirmés/n échantillons pour confirmation reçus ou examinés) :

- *Tilletia* spp. (11/11)
- *Ceratocystis platani* (12/12)
- *Dothistroma* spp. et *Lecanosticta acicola* (3/3)

3.3 Autres analyses

Nombre estimé d'autres analyses (non officielles) réalisées dans l'année en lien avec le mandat de LNR

3000 analyse(s)

Détail par type d'autres analyses

Plus de 3000 analyses ont été réalisées dans le cadre des études méthodologiques (développement, optimisation, caractérisation de méthodes), ou dans le cadre de projets de recherche (CREATIVE [*Alternaria* et *Venturia*], *Phyllosticta* EURL, CRONARTIUM, EUPHRESCO Phytophthoras, LabEx SIAMOIS), mais ne sont pas comptabilisées par le LIMS utilisé par le laboratoire. Le nombre de ces analyses non officielles en lien avec le mandat LNR est considéré comme stable par rapport aux dernières années.

3.4 Essais interlaboratoires d'aptitude auxquels le LNR a participé dans l'année

Détail des essais interlaboratoires d'aptitude (EILA) auxquels le LNR a participé dans l'année, dans le cadre : National; UE (en particulier les EILA organisés par le LRUE); International

- National : 0
- UE (en particulier les EILA organisés par le LRUE) : 1
- International : 0

4. Activités de production et de contrôle de matériaux de référence et de réactifs biologiques

Le LNR produit des réactifs à usage du LNR uniquement

Non

Le LNR produit des réactifs à usage du LNR et du réseau

Non

Le LNR produit des matériaux de référence à usage du LNR uniquement

Non

Le LNR produit des matériaux de référence à usage du LNR et du réseau

Oui

Types de matériaux de référence produits et fournis (MRE, MRI, contrôle positif ou négatif, autre)

Contrôle réactionnel positif (test PCR), souches pures de champignon ou d'oomycète.

Format (sérum, souche, produit chimique, autre) de ces matériaux de référence

Solution purifiée de plasmides, culture pure de souche (explants sous huile stérile)

Nombre de lots produits dans l'année

1

Nombre d'unités distribuées au plan national

1 souche de champignon, 1 contrôle plasmidique

Analyse de l'évolution (augmentation, diminution) des tendances en termes d'activité sur les 5 dernières années

Les sollicitations du réseau animé par le LNR en matière de fourniture de matériel de référence restent peu fréquentes, comme pour les années précédentes.

Le LNR réalise des contrôles de réactifs commerciaux

Non

5. Activités d'appui scientifique et technique

5.1 Demandes d'appui scientifique et technique (AST) des ministères (de l'agriculture, de la santé, etc...) ou d'instances européennes ou internationales qui concernent le domaine de compétence du LNR

Nombre de demandes d'AST reçues dans l'année

0 demande(s)

Nombre de rapports d'AST rendus dans l'année, issus de demandes de l'année ou de l'année précédente

1 rapport(s)

5.2 Autres expertises

Les membres de l'équipe du LNR peuvent avoir des activités d'expertise (internes: CES, GT ou externe: EFSA...) ou des activités auprès de commissions de normalisation (Afnor...).

Le laboratoire participe, en tant que membre de la Commission d'accréditation Biologie Agro-alimentaire du COFRAC (6 jours), du panel OEPP sur les maladies fongiques (2 jours).

5.3 Dossiers de demande d'agrément

Nombre de dossiers de demande d'agrément étudiés dans l'année

0 dossier(s)

5.4 Activités d'appui ou de conseil aux autorités ou aux professionnels

Le LNR n'exerce pas d'activité de conseil aux professionnels

En 2021, l'unité (2 agents habilités) a examiné 1 dossier de demande de renouvellement d'agrément selon le règlement 2016/2031 pour le compte de la DGAI (1 jour)

Suite à la création du nouveau LNR « Champignons réglementés non de quarantaine sur semences vraies, plants de fraisiers, griffes d'asperge et bulbes du genre *Allium* » (GEVES, nous avons transféré à ce nouveau LNR la méthode MA032 de détection de *Plasmopara halstedii* (réunions d'information et de conseils, transfert de panels d'EILA pour évaluation interne, fourniture de contrôles positifs).

6. Animation du réseau de laboratoires agréés ou reconnus

6.1 Description du réseau

Animation d'un réseau de laboratoires agréés

Oui

Nombre de laboratoires agréés dans le réseau

5 laboratoires

Animation d'un réseau de laboratoires reconnus

Non

6.2 Essais interlaboratoires d'aptitude

6.2.1 Organisation d'essais interlaboratoires d'aptitude

Nombre d'EILA organisés par le LNR au cours de l'année

0

6.2.2 Exploitation de résultats d'essais interlaboratoires d'aptitude organisé par un tiers

Le LNR exploite les résultats d'EILA organisé(s) par un (des) tiers (LRUE, autre...)

Non

6.3 Autres actions visant à vérifier l'aptitude des laboratoires

Actions mises en œuvre

- Analyses en doublon pour *Ceratocystis platani* (MOA015) (confirmation par analyse d'images)
- Analyses en doublon pour *Tilletia* spp. (MOA017) (confirmation par analyses d'images)
- Analyses en doublon pour *Hymenoscyphus fraxineus* (MA 003) (confirmation par analyse des reliquats d'analyse)
- Analyses en doublon pour *Phytophthora ramorum* (MOA 018) (confirmation par analyse des reliquats d'analyse)
- Analyses en doublon pour *Dothistroma pini*, *D. septosporum* et *Lecanosticta acicola* (MA002) (confirmation par analyse des reliquats d'analyse)

6.4 Formation, organisation d'ateliers

Nombre de journées d'échange et de restitution rassemblant les laboratoires agréés du réseau, organisées dans l'année

1 journée(s)

Détail de ces activités et nombre de participants par journée

Journée commune d'échange des LNR en santé des végétaux / laboratoires agréés (42 participants)

Nombre de sessions de formation des personnels des laboratoires agréés aux méthodes utilisées pour les contrôles officiels, organisées dans l'année

0 session(s) de formation

Autres formations dans le cadre des activités du LNR

sans objet

6.5 Organisation d'autres essais interlaboratoires (EIL)

Nombre d'EIL de validation (EILV) organisés par le LNR au cours de l'année

0 EILV

Nombre d'EIL de transfert (EILT) organisés par le LNR au cours de l'année
0 EILT

7. Surveillance, alertes

7.1 Surveillance programmée par l'autorité sanitaire, notamment PS/PC et prophylaxie officielle en santé animale

L'autorité sanitaire a mis en œuvre dans l'année une surveillance programmée dans le champ du LNR

Non

7.2 Autres activités de surveillance

Le LNR est impliqué dans des activités de surveillance autres que celle programmée par l'autorité sanitaire

Oui

Cadre de ces activités

Surveillance renforcée dans les DROM vis-à-vis des races tropicales 4 de *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense* (Foc TR4). (Hors dispositif SORE)

Activités dans lesquelles le LNR a été impliqué dans ce cadre

Réalisation d'analyses de première intention ; Réalisation d'analyses de confirmation ; Appui scientifique et technique (analyses de données, etc...)

7.3 Fiches d'alerte ou de signal

Le LNR a émis dans l'année des fiches d'alerte ou de signal dans Salsa (système d'alerte sanitaire de l'Anses)

Oui

Nombre de fiches émises dans Salsa dans l'année:

2 fiche(s)

8. Activités de recherche en lien avec l'activité de référence

| Acronyme | Titre | Statut |
|---|---|----------|
| CREATIVE | Développement d'outils de Caractérisation et de détection des champignons présentant des Risques Emergents sur fruitiers à pépins : <i>Alternaria</i> spp. et <i>Venturia</i> spp. | en cours |
| EFSA citricarpa | Reduce risk assessment uncertainty: suitability of Mediterranean citrus production areas for <i>Phyllosticta citricarpa</i> | en cours |
| Thèse CIRAD ANSES | Epidémiosurveillance dans les Antilles de génotypes impliqués dans l'adaptation à des résistances variétales chez le champignon <i>Pseudocercospora fijiensis</i> causant la maladie des raies noires du bananier | terminé |
| EUPHRESO Soil 2019-A-324 | Reliable detection of plant pathogens in soil | en cours |
| EUPHRESO Phytophthora 2019-A-316 | Early detection of Phytophthoras in nurseries and traded plants | en cours |
| EUPHRESO Phyllosticta CBS Detect 2019-A-318 | Sampling and analysis of asymptomatic Citrus fruits and leaf litter to detect the infection of <i>Phyllosticta citricarpa</i> . | en cours |
| SIAMOIS (LabEx ARBRE) | Smart and Innovative monitoring of airborne fungal invaders by molecular methods | en cours |
| CRONARTIUM | Génétique des populations de <i>Cronartium pini</i> responsable de résurgence de la maladie de la rouille vésiculeuse des pins dans la forêt des Landes | en cours |
| Phylo-Phyllo | Validation of a detection assay targeting <i>Phyllosticta citricarpa</i> , and the phylogenomics of this fungus | en cours |

9. Relations avec le CNR

Existence d'un CNR dont le mandat recouvre au moins en partie celui du LNR

Non

10. Relations avec le LRUE

Détention d'un mandat LRUE qui recouvre au moins en partie celui du LNR

Oui

Intitulé du mandat de LRUE

EURL for Pests on plants - on Fungi and oomycetes

11. Détention d'autres mandats de référence au niveau international

Autres mandats détenus par le LNR dans le même domaine de compétences

Aucun

Annexes

Liste des publications et communications 2021 dans le cadre du mandat de LNR Champignons et oomycètes

Les noms des auteurs appartenant au LNR sont soulignés. Les publications de cette liste sont sous presse ou publiées.

Publications scientifiques nationales et internationales ('journal article', classement « RCL »)

Aguayo, J., C. Husson, E. Chancerel, O. Fabreguettes, A. Chandelier, C. Fourier-Jeandel, N. Dupuy, C. Dutech, R. loos, C. Robin, M. Thibaudon, B. Marçais et M.-L. Desprez-Loustau. 2021. "Combining permanent aerobiological networks and molecular analyses for large-scale surveillance of forest fungal pathogens: A proof-of-concept." *Plant Pathology* 70 (1): 181-194. <https://doi.org/https://doi.org/10.1111/ppa.13265>.

Fontaine, K., C. Fourier-Jeandel, A. D. Armitage, A.-L. Boutigny, M. Crépet, V. Caffier, D. C. Gnide, J. Shiller, B. Le Cam, M. Giraud, R. loos et J. Aguayo. 2021. "Identification and pathogenicity of *Alternaria* species associated with leaf blotch disease and premature defoliation in French apple orchards." *PeerJ* 9: e12496. <https://doi.org/10.7717/peerj.12496>.

Puértolas-Cerdà, A., P. J. M. Bonants, E. Boa et S. Woodward. 2021. "Application of Real-Time PCR for the Detection and Quantification of Oomycetes in Ornamental Nursery Stock." *Journal of Fungi* 7 (2): 87.

Communications nationales ('conference proceedings ou 'conference paper')

loos, R., C. Jeandel, N. Schenck, C. Saurat, V. Bastid, G. Uhmang et J. Aguayo. 2021. "Etude des populations de *Cronartium pini* sur les sites de Herm, Léon et Castets, forêt des Landes." Oral Journées d'information sur les résultats de la recherche et développement en santé des forêts, Cestas, France, 10/12/2021.

Communications internationales ('conference proceedings ou 'conference paper')

Aguayo, J., I. Cerf-Wendling, A.B. Folscher, C. Fourier-Jeandel, R. loos, M.C. Mathews, D. Mostert, C. Renault, V. Wilson et A. Viljoen. 2021. "First report of *Fusarium oxysporum* f.sp. cubense, tropical race 4 in Mayotte Island." Oral European Mycological Network 23rd Annual meeting On line., 19-21 April.

Aguayo, J., C. Fourier-Jeandel, X. Capdevielle, F. Vétillard, D. Piou, E. Iturrutxa et C. Robin. 2021. "Assessment of molecular detection of *Fusarium circinatum* in insects and passive spore traps in *Pinus radiata* plantations " Oral European Mycological Network 23rd Annual meeting On line., 19-21 April.

loos, R., P. Chrétien, J. Perrault, C. Jeandel, C. Dutech, P. Gonthier, F. Sillo, A.M. Hietala, H. Solheim et J. Hubert. 2021. "Development of molecular tools to detect and identify European Heterobasidion species in forests " oral European Mycological Network 23rd Annual meeting On line., 19-21 April.

Autres (thèses, rapports de projets, d'expertise, et documents d'appui scientifique et technique)

Dumartinet, T. 2021. « Etude de l'adaptation aux résistances variétales chez le champignon *Pseudocercospora fijiensis*, agent causal de la maladie des raies noires du bananier ». Doctorat, Université de Montpellier. Thèse d'université.160 p