

## Offre de stage Master 2 ou École d'ingénieur - 6 mois

Multiplication et migration du nématode du pin et de son espèce sœur, selon l'origine géographique et les communautés fongiques associées

**Type de stage :** Master 2, césure ou dernière année d'école d'ingénieur

**Dates de stage :** 1<sup>er</sup> février au 31 juillet 2025

**Durée du stage :** 6 mois

**Encadrante :** Méline Saubin, Chargée de recherche, UMR BIOGECO, Équipe GEMFOR

**Lieu de stage :** INRAE, UMR BIOGECO, 69 route d'Arcachon, Cestas Pierroton. Une navette fait l'aller-retour depuis la gare de Cestas Gazinet deux fois par jour. Restauration subventionnée sur place.

**Indemnités de stage :** ~ 600 € /mois

**Pour plus de renseignements :** meline.saubin@inrae.fr

**Candidature :** CV + lettre de motivation à meline.saubin@inrae.fr

**Profil recherché :** Étudiant-e en Master 2 Biodiversité, Écologie, Évolution ou en école d'ingénieur agronome. Intérêt fort pour les concepts d'écologie, le travail de terrain, le travail de laboratoire (metabarcoding, biologie moléculaire). Bases solides de statistiques. Le ou la stagiaire doit être prêt-e et motivé-e à se déplacer deux semaines (accompagné-e) pour un échantillonnage de nématode du pin au Portugal.

**Type de travail :** Terrain, Laboratoire (Biologie moléculaire, Microscopie, Métabarcoding), Bio-informatique, Analyses statistiques

### Contexte biologique et problématique :

Le nématode du pin *Bursaphelenchus xylophilus* (Bx) est un nématode phytopathogène responsable de la maladie du flétrissement du pin. Lorsqu'il se multiplie dans un arbre infecté sensible, Bx altère le fonctionnement hydrique de l'hôte et diminue la conduction hydraulique, ce qui provoque le flétrissement puis dépérissement de l'arbre, et parfois sa mort.

Originaire d'Amérique du Nord, Bx a été introduit en Asie et en 1999 au Portugal, où il s'est établi avec succès et a provoqué de nombreux dépérissements. La maladie du flétrissement du pin n'a pas été encore signalée en France, mais le nématode a été introduit en Espagne où plusieurs foyers de maladie sont décrits et en cours d'éradication. S'il est introduit en France, Bx impactera fortement les massifs forestiers de pins en Nouvelle-Aquitaine (0,8 million d'ha). *B. mucronatus* (Bm) est un espèce indigène européenne, et notamment très présente dans les massifs forestiers de pins en Nouvelle Aquitaine. Cette espèce est très proche de Bx, en termes de positions taxonomiques, cycles de vie, hôtes et insecte vecteur. Le pouvoir pathogène de Bm est cependant considéré comme étant beaucoup plus faible que celui de Bx.

Bx et Bm sont donc deux espèces sœurs, véhiculées en Europe par un même insecte vecteur, *Monochamus galloprovincialis*, largement présent en France. Les nématodes sont transmis à des arbres sains lors des repas de maturation de l'insecte, repas qui se font au détriment des pousses de l'année, au niveau du houppier. Une fois à l'intérieur du nouvel hôte, le nématode est capable de se nourrir des cellules du parenchyme des pins vivants, de migrer et se multiplier dans les tissus du xylème. Cependant, il persiste une forte incertitude sur la distance et la vitesse de migration de Bx et

Bm, du houppier vers la base de l'arbre, qui dépendent en particulier de la sensibilité de l'arbre. Suivant la sensibilité de l'arbre hôte et les conditions climatiques, la migration de Bx dans les tissus vasculaires provoque, plus ou moins rapidement, le flétrissement des pousses puis un dépérissement généralisé et la mort. Dans les arbres dépérissant ou morts, Bx se nourrit des champignons colonisant les tissus vasculaires.

Plusieurs résultats ont montré l'effet crucial des champignons colonisant le bois sur i) la phase mycophage de Bx (certaines espèces ont une activité de type antagoniste, d'autres favorisent la multiplication du nématode), ii) l'efficacité de la transmission par le vecteur (le nombre de nématode transmis aux pins dépend du nombre de nématodes acquis par les jeunes adultes immatures, lui-même dépendant des champignons présents) et iii) l'expression des symptômes de flétrissement dans les arbres infestés.

Bx est un organisme de quarantaine prioritaire qui ne peut être manipulé en France que dans des structures agréées présentant un haut niveau de confinement. La plateforme EMERGREEN, portée par les laboratoires INRAE BIOGECO et BFP, est constituée de serres et de laboratoires confinés de niveau de sécurité biologique 2 et 3. Le dossier de construction de laboratoires et de serres confinés de niveau de sécurité biologique 2+ adaptés à la manipulation de Bx en l'absence de son vecteur a été initié en 2014, avec une livraison qui n'a été réceptionnée que très récemment (juillet 2023) et un dossier d'agrément pour la manipulation de Bx qui a été déposé en février 2024. La manipulation de Bx dans cette infrastructure très attendue ouvre de larges possibilités d'observation et d'expérimentations novatrices *in vivo* de cet agent pathogène.

### **Objectifs et méthodologie :**

Ce projet vise à caractériser les phases de multiplication et migration de Bx et Bm dans des arbres adultes, et à comparer les communautés fongiques présentes dans ces arbres et pouvant les impacter.

Pour répondre à ces questions :

- Des copeaux de bois seront prélevés sur des pins maritimes adultes à différentes hauteurs d'arbres, lors de deux échantillonnages hiérarchiques sur le terrain : au sein de parcelles en France (zone contenant Bm uniquement) et au Portugal (zone infectée par Bx et Bm).
- Les nématodes seront extraits des échantillons en laboratoire et leur densité sera mesurée afin de déterminer si la quantité de nématodes extraits dépend de la hauteur de prélèvement. Cette étape sera réalisée au sein de la plateforme confinée EMERGREEN.
- Des analyses de métabarcoding seront réalisées sur les échantillons récoltés pour caractériser et comparer les communautés fongiques associées aux infections par Bx et Bm, selon les densités des populations et leur origine géographique.

Si l'avancée des travaux le permet, la ou le stagiaire pourra également être amené-e à participer à l'optimisation de méthodes de détection de Bx (extraction d'ADN et amplification) sur le terrain, pour répondre aux besoins d'épidémiologie de l'arrivée de Bx dans les forêts françaises.