



Agriculture and  
Agri-Food Canada

Agriculture et  
Agroalimentaire Canada



# Les maladies à phytoplasmes au Canada

**Chrystel Olivier**  
(AAC/Saskatoon, SK)

23 janvier 2012, Complexe scientifique du Québec, 2700 Einstein,  
Ste-Foy, Qc. G1P 3W8

Canada 

## Phytoplasmes.

Biologie, classification

Symptômes

Transmissions et effets sur insectes et plantes

Méthodes de détection et de lutte

## Épidémiologie des maladies à phytoplasmes

Sur colza (prairies).

Sur vigne (CB, ON, QC)



Quebec

## Définition des phytoplasmes

**Les phytoplasmes** sont des bactéries sans paroi (Mollicutes) qui parasitent de façon obligatoire les insectes vecteurs et le phloème des plantes.

### Morphologie:

- Pléomorphique, diam: 200-800nm.
- Génome de petite taille: 580 - 2220 kb.

### Habitat:

- Partout dans le monde
- 4% des maladies des plantes
- Infectent 1000+ espèces de plantes

### Reproduction

- bourgeonnement ?





## Classification des phytoplasmes

### Genre: 'phytoplasma'.

- Virus (<1967)
- Mycoplasma-like-organisms (1967 – 1992)
- Phytoplasmes (1992 - 1995)
  - Pas de culture *in vitro*. Pas de classification selon les normes de la bactériologie.

*Candidatus* Phytoplasma asteris

- Classification basée sur
  - ~~• Les symptômes~~
  - ~~• Les hôtes (plantes, vecteurs)~~
  - le séquençage du génome et sur les caractéristiques biologiques et écologiques du phytoplasme (hôtes, géographie, ...).



# Classification des phytoplasmes

## Les phytoplasmes et leurs génomes

- 1 chromosome linéaire ou circulaire. Présence de plasmides (gènes extra-chromosomiques)
- Peu de gènes pour les fonctions métaboliques, mais nombreux gènes pour des pompes / transporteurs
- Nombreuses copies de gènes (favorable aux recombinaisons génétiques)

➔ Grande adaptation à leurs environnements





## Classification des phytoplasmes

### **16SrI (Aster Yellow) (11)**

-*Ca. Phytoplasma asteris*

### **16SrII (Peanut witches'-broom) (12)**

-*Ca. Phytoplasma aurantifolia*

-*Ca. Phytoplasma australasiae*

### **16SrIII (X-disease group) (19)**

-*Ca. Phytoplasma pruni*

### **16SrIV (Coconut lethal yellows)**

-*Ca. Phytoplasma palmae*

### **16SrV (Elm yellows) (6)**

-*Ca. Phytoplasma ziziphi*

-*Ca. Phytoplasma vitis*

-*Ca. Phytoplasma ulmi*

### **16SrVI (Clover proliferation) (8)**

-*Ca. Phytoplasma trifolii*

### **16SrVII (Ash yellows) (3)**

-*Ca. Phytoplasma fraxini*

### **16SrVIII (Luffa witches'-broom) (1)**

-*Ca. Phytoplasma luffae*

### **16SrIX (Pigeon pea witches'-broom) (4)**

-*Ca. Phytoplasma phoenicium*

### **16SrX (Apple proliferation) (5)**

-*Ca. Phytoplasma mali*

-*Ca. Phytoplasma pyri (pear decline)*

-*Ca. Phytoplasma prunorum*

-*Ca. Phytoplasma spartii*

### **16SrXI (Rice yellow dwarf) (3)**

-*Ca. Phytoplasma oryzae*

### **16SrXII (Stolbur) (7)**

-*Ca. Phytoplasma solani (Bois noir)*

-*Ca. Phytoplasma australiense*

-*Ca. Phytoplasma japonicum*

-*Ca. Phytoplasma fragariae*

### **16SrXIII (Mex. periwinkle virescence)**

- Espèce à déterminer

### **16SrXIV (Bermuda white leaf)**

- *Ca. Phytoplasma cynodontis*

### **16SrXV (Hibiscus witches'-broom)**

- *Ca. Phytoplasma brasiliense*

### **16SrXVI (Sugar cane yellow leaf)**

- *Ca. Phytoplasma graminis*

### **16SrXVII (Papaya bunchy top)**

- *Ca. Phytoplasma caricae*

### **16SrXVIII (Potato purple top)**

- *Ca. Phytoplasma americanum*

### **16SrXIX (Japanese chesnut witches broom)**

- *Ca. Phytoplasma castaneae*

### **16SrXX (Buckthorn witch's broom)**

-*Ca. Phytoplasma rhamni*

### **16SrXXI (Pine shoot proliferation)**

- *Ca. Phytoplasma pini*

### **16SrXXII (Nigerian coconut lethal decline)**

-*Ca. Phytoplasma cocosnigeriae*

### **16SrXXIII (Buckland Valley grapevine yellows)**

### **16SrXXIV (Sorghum bunchy shoot)**

### **16SrXXV (Weeping tea tree witches' broom)**

### **16SrXXVI (Mauritius sugar cane yellows 1)**

### **16SrXXVII (Mauritius sugar cane yellows 2)**

### **16SrXXVIII (Havana derbid phytoplasma)**

### **16SrXXIX (Cassia witches'-broom)**

-*Ca. Phytoplasma omanense*

### **16SrXXX (Salt cedar witches'-broom )**

-*Ca. Phytoplasma tamaricis*



## Classification des phytoplasmes

### 16SrI (Aster Yellow) (4/11)

-*Ca. Phytoplasma asteris*

### 16SrII (Peanut witches'-broom) (1/12)

-*Ca. Phytoplasma aurantifolia*

-*Ca. Phytoplasma australasiae*

### 16SrIII (X-disease group) (2/19)

-*Ca. Phytoplasma pruni*

### 16SrIV (Coconut lethal yellows)

-*Ca. Phytoplasma palmae*

### 16SrV (Elm yellows) (1/6)

-*Ca. Phytoplasma ziziphi*

-*Ca. Phytoplasma vitis*

-*Ca. Phytoplasma ulmi*

### 16SrVI (Clover proliferation) (1/8)

-*Ca. Phytoplasma trifolii*

### 16SrVII (Ash yellows) (2/3)

-*Ca. Phytoplasma fraxini*

### 16SrVIII (Luffa witches'-broom)

-*Ca. Phytoplasma luffae*

### 16SrIX (Pigeon pea witches'-broom)

-*Ca. Phytoplasma phoenicium*

### 16SrX (Apple proliferation) (1/5)

-*Ca. Phytoplasma mali*

-*Ca. Phytoplasma pyri* (pear decline)

-*Ca. Phytoplasma prunorum*

-*Ca. Phytoplasma spartii*

### 16SrXI (Rice yellow dwarf)

-*Ca. Phytoplasma oryzae*

### 16SrXII (Stolbur) (1/7)

-*Ca. Phytoplasma solani* (Bois noir)

-*Ca. Phytoplasma australiense*

-*Ca. Phytoplasma japonicum*

-*Ca. Phytoplasma fragariae*

### 16SrXIII (Mex. periwinkle virescence)

- Espèce à déterminer

### 16SrXIV (Bermuda white leaf)

- *Ca. Phytoplasma cynodontis*

### 16SrXV (Hibiscus witches'-broom)

- *Ca. Phytoplasma brasiliense*

### 16SrXVI (Sugar cane yellow leaf)

- *Ca. Phytoplasma graminis*

### 16SrXVII (Papaya bunchy top)

- *Ca. Phytoplasma caricae*

### 16SrXVIII (Potato purple top)

- *Ca. Phytoplasma americanum*

### 16SrXIX (Japanese chesnut witches broom)

- *Ca. Phytoplasma castaneae*

### 16SrXX (Buckthorn witch's broom)

-*Ca. Phytoplasma rhamni*

### 16SrXXI (Pine shoot proliferation)

- *Ca. Phytoplasma pini*

### 16SrXXII (Nigerian coconut lethal decline)

-*Ca. Phytoplasma cocosnigeriae*

### 16SrXXIII (Buckland Valley grapevine yellows)

### 16SrXXIV (Sorghum bunchy shoot)

### 16SrXXV (Weeping tea tree witches' broom)

### 16SrXXVI (Mauritius sugar cane yellows 1)

### 16SrXXVII (Mauritius sugar cane yellows 2)

### 16SrXXVIII (Havana derbid phytoplasma)

### 16SrXXIX (Cassia witches'-broom)

-*Ca. Phytoplasma omanense*

### 16SrXXX (Salt cedar witches'-broom)

-*Ca. Phytoplasma tamaricis*



# Symptômes sur plantes infectées

## Chlorose et enroulement

### Balai de sorcières

Citronnier



Bové, INRA-Bordeaux

Cerisier de Virginie



Stobbs, AAFC-Vineland

Pêcher



Framboisier





## Symptômes sur plantes infectées

Fraisier



P. Fisher, OMAFRA

Echinacea

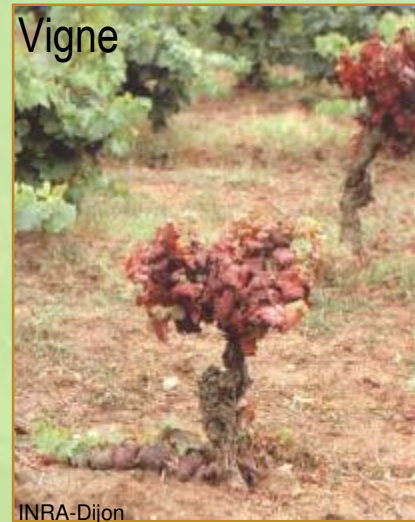
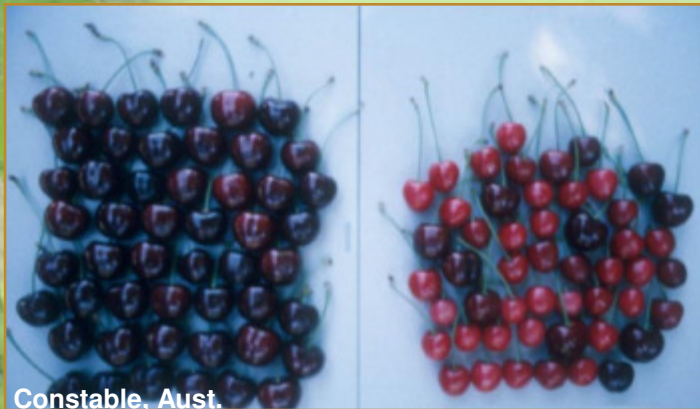


Coriandre

Nanisme, déclin et phyllodie

# Symptômes sur plantes infectées

Perte de production



Mort rapide ou sur plusieurs années



## Symptômes sur plantes infectées

### Symptômes:

- Balais de sorcières, nanisme, chlorose, dessèchement des fruits, déclin général, etc.
- Expression des symptômes après une période de latence (de plusieurs mois à plusieurs années)
- Pas d'expression de symptômes chez certaines plantes infectées, qui agissent comme réservoir

### Plantes infectées sans symptômes:

- Certains porte-greffes de vigne, pommier, poirier, etc.
- Certaines espèces de prunier (*Prunus domestica*, *P. japonica*), épinette, pins, frêne, etc.
- Oléagineux (colza, Caméline, etc.)
- Mauvaises herbes: ortie, amarante, graminées, pissenlit, etc.

Souvent, seulement une partie de la plante montre des symptômes



# Symptômes sur plantes infectées

## Facteurs impliqués dans l'expression des symptômes?

### Concentration des phytoplasmes

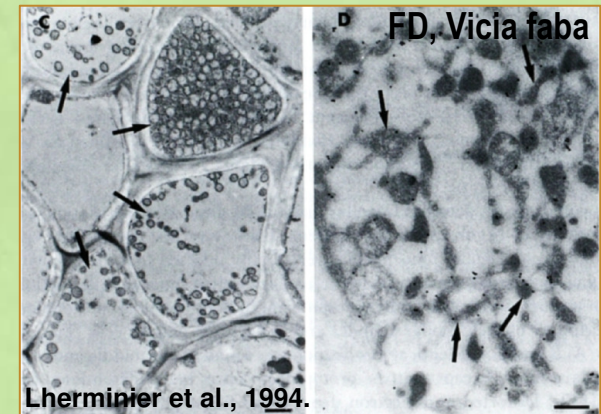
- Importante (herbacées): Pervenche, 16Srl-B, plusieurs années
- Très faible (arbres): jaunissement mortel du cocotier et dattier, 4 mois

Causes des symptômes?



### Localisation des phytoplasmes

- Fraise: 16Srl-C nb dans pédicelle & réceptacle, peu dans fleur & feuille, rien dans racine
- Pervenche: 16Srl-B nb dans tige & feuille, peu dans racine
- Chrysanthème: 16Srl-B nb dans racine, peu dans tige & feuille
- Arbres: Phytoplasmes dans les racines...à vie.





## Symptômes sur plantes infectées

### Facteurs impliqués (?) dans l'expression des symptômes

Forte variation dans la virulence des phytoplasmes (AshY, OY).

(OY, nb de copies des gènes produisant des enzymes glycolitiques)

### Infections multiples

- Compétition entre les souches (la + virulente domine)
- Expression des symptômes (1!, les 2, l'une après l'autre)
- Infections phytoplasma / virus



### Toxines produites / induites par les phytoplasmes

- Production à distance
- Suggéré chez la jaunisse de l'orme, maladie X du pêcher, etc.
- Agressines: basé sur l'analyse génomique: hémolysines, transporteur, métalloprotéases (ATP), nucléases

## Symptômes sur plantes infectées

Facteurs impliqués (?) dans l'expression des symptômes  
Adhérence des phytoplasmes aux parois cellulaires?



Instabilité hormonale

- Production d'hormones par les phytoplasmes ?
- Dérégulation du au blocage du phloème

Changement dans l'expression des gènes

- Impliqués dans le développement floral
- Impliqués au niveau des hormones

Sujet mal compris: nombreuses recherches en cours



## Transmission des phytoplasmes

- Alimentation par les insectes
- Oeufs des insectes
- Greffe
- Cuscute (plante parasite)
- Culture *in vitro*
- Semences



# Transmission des phytoplasmes

## Par insectes vecteurs

- Transmission de plante à plante par prise de nourriture:
  - 65 jaunisses transmises par cicadelles (75%),
  - 9 par fulgores,
  - 7 par psylles
  - 4 par punaises (Asie).



*Scaphoideus titanus*



*Cacopsylla pyricola*



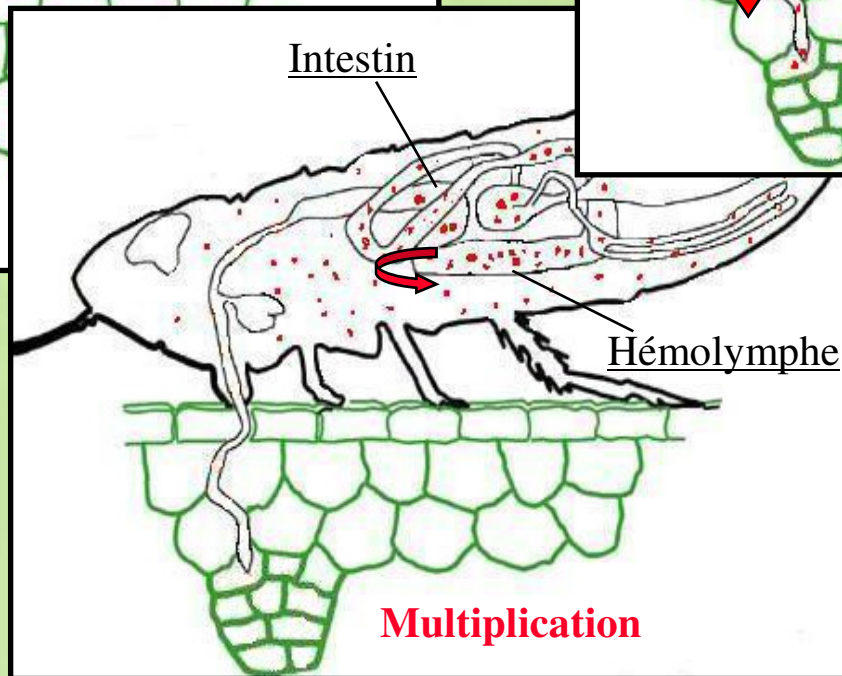
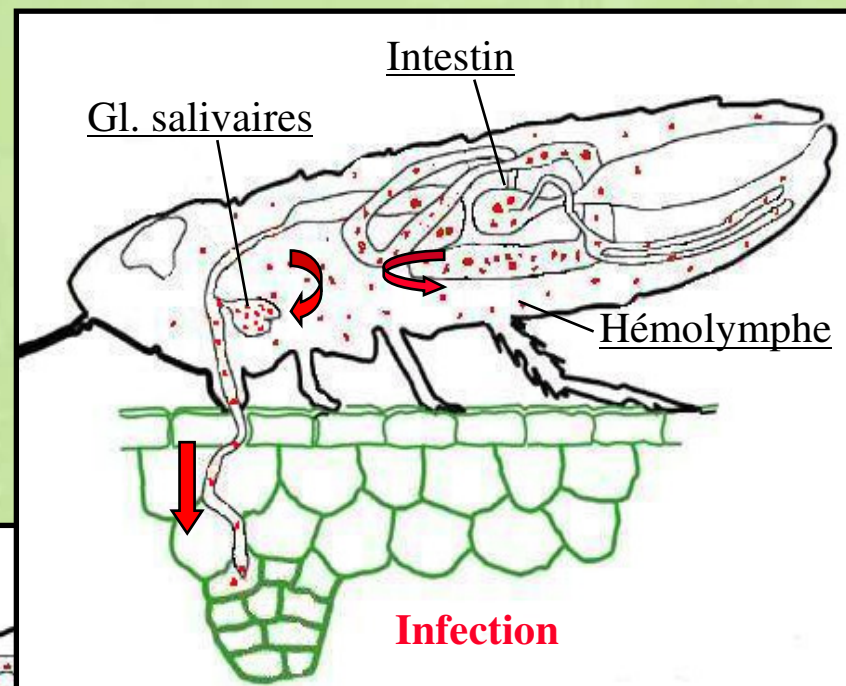
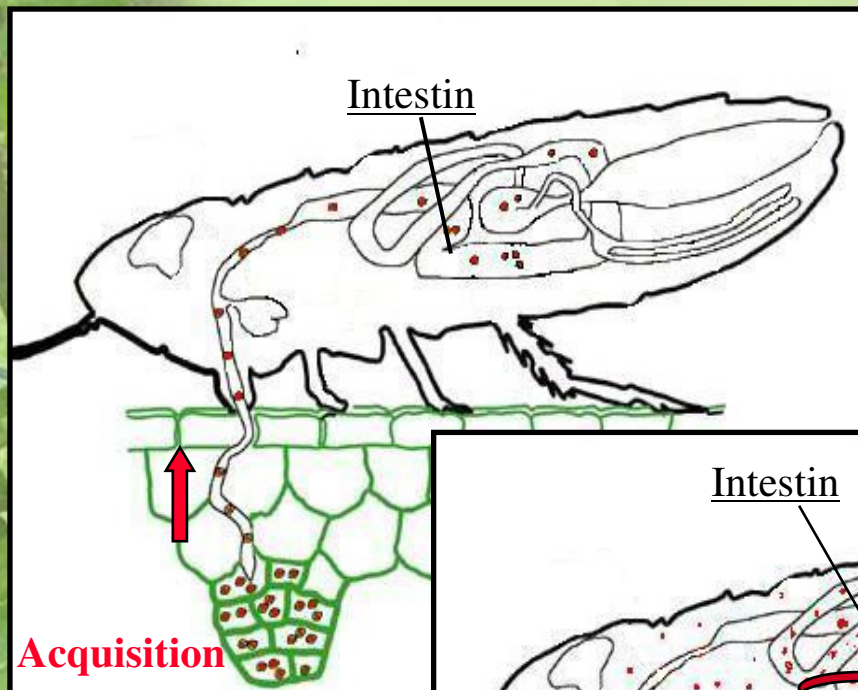
*Hyalesthes obsoletus*



*Halyomorpha haly*



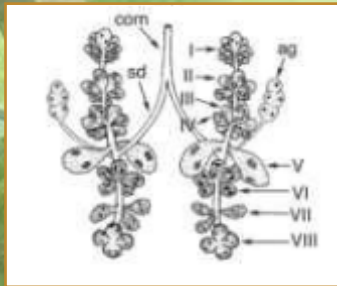
# Transmission des phytoplasmes



# Transmission des phytoplasmes

## Par prise de nourriture

- Vecteur / infecté (porteur)
- Insecte vecteur quand les phytoplasmes :
  - passent la paroi intestinale
    - Interaction actine et myosine intestinal
    - ORF3, gène de plasmide
  - passent la paroi des glandes salivaires
    - Présence dans certaines glandes
  - sont en fortes concentrations dans la salive
- Spécificité phytoplasme / vecteur
  - Grande variation
  - Forte: FD / *S. titanus* sur vigne  
*C. pyricola* / déclin de la poire
  - Faible: AY / 35 espèces de cicadelles  
*M. quadrilineatus* / 12 souches



Espèces de cicadelles	Total
<i>Amplicaphalus inimicus</i> (Say)	4/235
<i>Aphrodes bicinctus</i> (Schrank)	1/5
<i>Ceratagalia humilis</i> (Oman)	8/116
<i>Ceratagalia inconspicua</i> (Baker)	1/33
<i>Colladonus germinatus</i> (Van Duz.)	9/97
<i>Colladonus torneellus</i> (Zettersdedt)	10/34
<i>Deltocephalus grex</i> (Oman)	3/75
<i>Draeculacephala</i> sp	1/25
<i>Edwardsiana rosae</i> (Linnaeus)	1/24
<i>Empoasca</i> sp.	1/330
<i>Empoasca fabae</i> (Harris)	9/1303
<i>Erythroneura</i> sp.	4/363
<i>Erythroneura comes</i> (Say)	5/1111
<i>Erythroneura tricincta</i> (Fitch)	2/726
<i>Erythroneura vitifex</i> (Fitch)	3/474
<i>Erythroneura vitis</i> (Harris)	4/872
<i>Erythroneura vulnerata</i> (Fitch)	3/208
<i>Erythroneura zizac</i> (Walsh)	5/768
<i>Eupteryx melissae</i> (Curtis)	1/1
<i>Euscelis maculipennis</i> (DeLong)	1/44
<i>Exitianus exitiosus</i> (Uhler)	15/218
<i>Graminella nigrifons</i> (Forbes)	6/566
<i>Gyponana hasta</i> (DeLong)	1/12
<i>Hecalus</i> sp	1/6
<i>Hecalus viridis</i> (Uhler)	3/5
<i>Helochora communis</i> (Fitch)	2/35
<i>Lalatus</i> sp	1/3
<i>Macrosteles quadrilineatus</i> (Stal)	72/2235
<i>Neokolla confluens</i> (Uhler)	22/335
<i>Paraphlesius irroratus</i> (Say)	4/77
<i>Psammotettix alienus</i> (Dahlb.)	1/30
<i>Psammotettix lividellus</i> (Zetterssted)	15/180
<i>Scaphoideus titanus</i> (Ball)	8/166
<i>Scaphytopius acutus</i> (Say)	3/7
<i>Scaphytopius diabolus</i> (Van Duzee)	1/8
<i>Sorhoanus ulheri</i> (Oman)	1/3
<i>Streptanus aemulans</i> (Kirsch.)	1/5

Suzuki et al., 2006. P. Natl. Acad. Sci. USA. 103: 4252  
 Nishigawa et al., 2002. Gene: 298: 195.  
 Lefol et al., 1993. an. Apl. Biol. 123: 611.  
 McCoy et al., 1989. The phytoplasma Vol5. p 545.



# Transmission des phytoplasmes

## Autres facteurs

- Santé et âge de la plante hôte (plante saine = gd chance d'infection)
- Saison (Israël: *Orosius albicinctus* ne transmet pas en automne)
- Temps passé sur la plante / Nombre de cicadelles infectées sur la plante
- Conditions climatiques
  - Forte température (>30) négative pour les phytoplasmes
  - Vents (cicadelles migratrices)
- Nombre et infectivité des cicadelles
- Présence de plantes hôtes
  - *M. quadrilineatus* : 191 espèces de plantes
  - *S. titanus* : sur vigne

## Transmission des phytoplasmes

### Transmission trans-ovarienne

- *Scaphoideus titanus* (FD + AY / vigne)
- *Hishimonoides sellatiformis* (Asie)
- *Matsumuratettix hiroglyphicus* (Asie)
- *Cacopsylla pruni* & *C. malaneura* (Europe)
- *M. quadrilineatus* & *Euscelidius incisus* (?)

Scaphoideus titanus



Macrosteles quadrilineatus



Alma et al., 1997. In. Mol. Pathol, 6: 115  
Kawakita et al., 2000. Phytopathol, 90: 909  
Hanboonsong et al. 2002. In. Mol. Patho  
Tedeschi et al. 2006. Plant patol. 59: 18



## Transmission des phytoplasmes

Effets de l'infection sur les vecteurs.

– Positifs:

- *M. quadrilineatus* infecté par AY vivent plus longtemps
- *Dalbulus maidis* infecté par AY peut se nourrir sur plantes non-hôtes

– Négatifs:

- *S. titanus* infecté par FD vivent moins longtemps et a une fécondité plus faible
- *Paraphlesius irroratus* infecté par X-disease survivent moins bien quand les températures descendent en dessous de +25C

→ **Phytoplasmes / vecteurs évoluent**

# Transmission des phytoplasmes

## Par greffe



M. Olmstead, U of Florida

### **Dissémination longue distance:**

- Porte-greffes sans symptômes.
- Symptômes sur greffons: >1 an

### **Aster Yellow, FD, X-disease:**

Transmission de porte-greffes à plantes et de greffons à plantes. FD et AY détectés dans des parcelles mères de porte greffes et greffons. *X-disease?*

### **Bois Noir:**

Transmission de greffon à plantes mais pas de porte-greffes à plantes. BN détecté dans des parcelles mères de greffons, mais pas de porte-greffes.



## Transmission des phytoplasmes

Par cuscute et culture *in vitro*



## Transmission des phytoplasmes

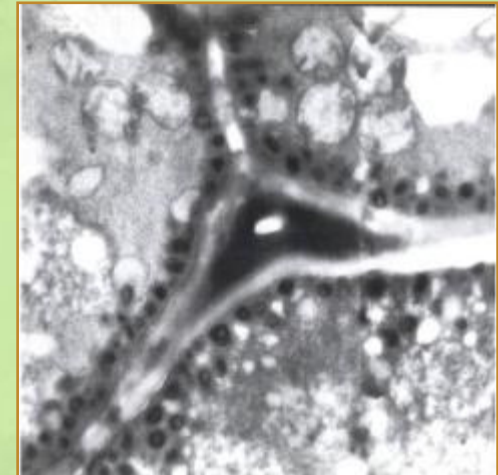
### Par graines?

Détection d'ADN de phytoplasmes dans des germes/plantules de graines ramassées sur plantes infectées :

- Colza (*Brassica napus* et *B. rapa*).
- Noix de coco.
- Murier
- Luzerne, maïs, tomate

### Transmission par graines?

### Preuves de multiplication des phytoplasmes?



Nipah et al. , 2007. Bull. Insect. 60: 385  
Olivier et al.,2010. Can. J. Plant pathol, 32: 230  
Calari et al., 2011. Bull. Insect. 64: 157.  
Khan et al., 2002. IOMC proc. 148



# Transmission des phytoplasmes

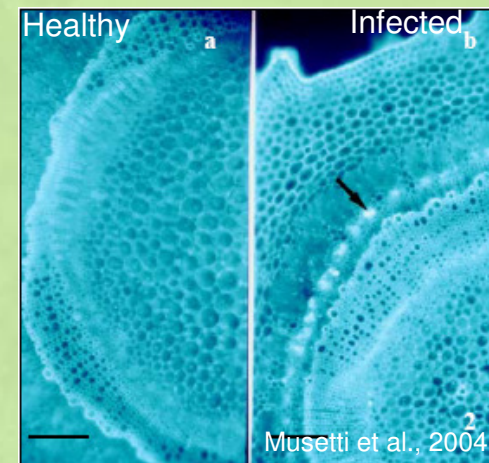
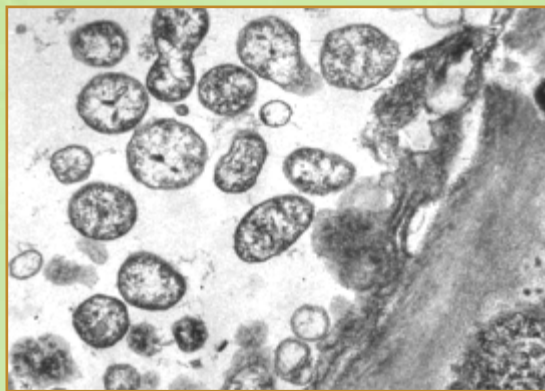
## Phytoplasmes

- Pathogènes mal connus, en pleine expansion (?)
- “Manipulent” le génome des plantes: plantes + vertes donc plus attirante pour les cicadelles
- « Manipulent » les insectes: avantage pour certains vecteurs.

➔ Dissémination des phytoplasmes

## Détection des phytoplasmes

- Tests d'infectivité
- Microscopie (EM, LM)
- Immunologie
  - ELISA
  - Immunomarquage
- Techniques moléculaires
  - PCR, DRT-PCR
  - Séquençage d'ADN



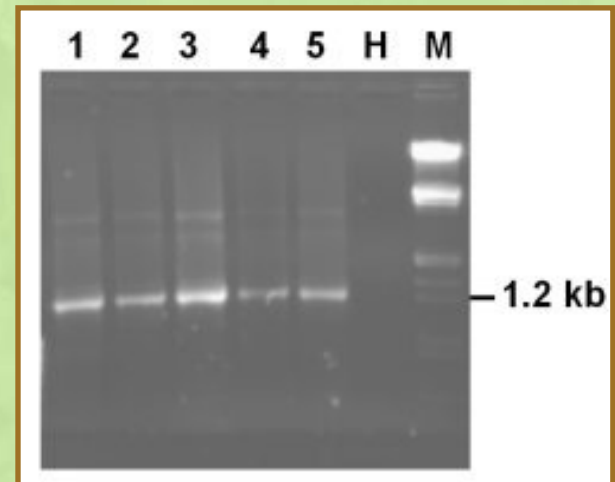


# Détection des phytoplasmes

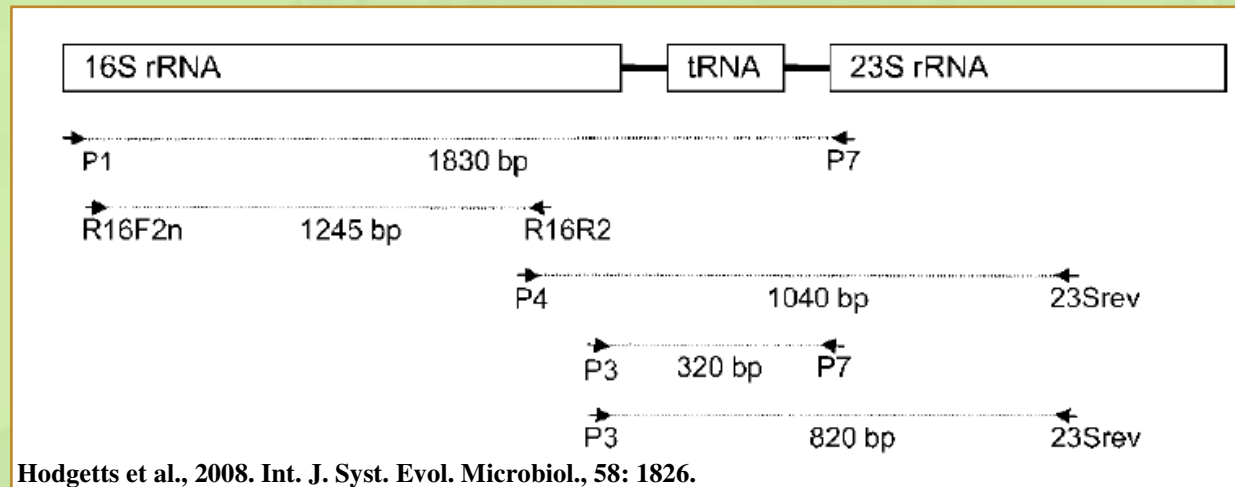
## Techniques moléculaires

PCR (Amplification en chaîne par polymérase): Copier en grand nombre une séquences connues d'ADN à partir d'une faible quantité d'ADN, en utilisant des amorces (brin d'ADN qui s'accroche sur l'ADN à tester).

- Plusieurs types de PCRs (Nested PCR, DRT-PCR, Q-PCR)
- RFLP (polymorphisme de longueur des fragments de restriction).
- Séquençage d'ADN et
  - comparaison avec les banques de gènes.
  - RFLP virtuel



# Classification des phytoplasmes



## Gène 16Sr très conservé



- Faux positifs (bactéries),
- Hétérogénéité entre les deux copies du 16S,
- Séquences similaires pour des phytoplasmes différents.



- Gènes autres que 16S (*23S*, *secY*, *secA*, *GroEL*, *tuf*, *fus*).



## Classification des phytoplasmes

Basée sur 16Sr & RFLPs (manuels): 16SrI – 16SrXIX

Basée sur 16Sr & RFLPs (virtuels): 16SrI – 16SrXXX

Basée sur autres gènes

- Similaire au 16Sr
- Quelques différences au niveau des sous-groupes
  - Sous-groupes des 16SrI: 11 (16Sr) et 7 (*tuf*)
- Détection de certains groupes
  - *fus* et 16SrII, V, VIII



Écologie, épidémiologie  
Géographie

Vers une détection basée sur l'utilisation de plusieurs gènes.

## Mesures de lutte contre les phytoplasmes

### Mesures de lutte contre les phytoplasmes

- Phytoplasmes sensibles aux antibiotiques
- Phytoplasmes sensibles à la chaleur
- Eliminer les plantes infectées (arrachage)

### Mesures de lutte contre les insectes vecteurs

- Insecticides, lutte biologique (chimique, mécanique)  
Pb: vecteurs non connus, mobiles ou migrants

### Autres mesures de lutte en développement

- Utilisation des symbiotes
- Identification de plantes résistantes



## Détection des phytoplasmes

Techniques moléculaires permettent :

- Identification des phytoplasmes plus précise et rapide
- Etudes épidémiologiques plus précises
- Recherche de moyens de lutte et de plantes résistantes.

Mais....

- 70 vecteurs connus / 700 maladies
- Génomes de 3 phytoplasmes connus
- Reproduction et culture des phytoplasmes?
- Effets des phytoplasmes sur les plantes, insectes?
- Mesures de lutte contre les phytoplasmes?



Encore beaucoup à faire ....

Aster Yellow (AY) sur colza:

-Projet 2001-2008

-Commencé en 2001, après l'épidémie de 2000

- Financement: AAFC Base-A, ADF





## Symptômes d'Aster Yellow (jaunisse de l'aster)



- Siliques=vésicules stériles
- Phyllodie
- Prolifération de branches
- Chlorose



## Symptômes d'Aster Yellow

Vésicules stériles





## Incidence AY sur colza

**Questions:** Vecteurs? AY Incidence?

**Échantillonnage** sur 25-30 champs  
**Plantes**

- 100 plantes /champ.
- Tests RPC sur feuille, tige, racine, fleur et graine.

**Insectes**

- 20 passages de filets à 0m, 5, 10, 20 50 et 100m/champ.
- Tests PCR sur insectes: vecteurs ou porteurs de phytoplasmes testés individuellement.



## Symptômes d'Aster Yellow



- 30-70% de graines difformes
- Germination: 0% pour les graines difformes; 50-90% pour graines normales

1% de plants infectés → perte de production de 0.3 à 0.7%



## Incidence AY sur colza

	% plantes infectées	
	Visuel	PCR
2001	0-1	ND
2002	2-5	8.1
2003	0-5	1.2
2004	<1	7.1
2005	0-1	1.8
2006	0-1	2
2007	1-5	11.2
2008	<1	2.5



→ Réduction: 3,5% - 7,8%

Souches de phytoplasmes identifiées par séquençage dans les plantes et les insectes : **16Srl-A, -B, -C**

## Descendance des graines infectées normales

Devenir des graines normales dans les plantes infectées?

- ADN de phytoplasme détecté dans les parois des graines, les embryons et les jeunes plantules. Pas de symptômes chez les plantules.
- Phytoplasmes (?) intacts observés par ME dans les parois des graines.
- 30-45% de la descendance de ces graines sont difformes (nb trichomes, pas de point de croissance, fleurs condensées, délai de croissance très important, ..).





## Descendance des graines infectées normales

Descendance difforme à 45% en F1 et 100% en F4.



## Vecteurs de l'AY chez le colza

### Nombre de cicadelles attrapées par année

	<i>Macrosteles quadrilineatus</i>	<i>Endria inimica</i>	<i>Ceratagalia humilis</i>	<i>Diplocolenus configuratus</i>
2001	3,625	50	61	3
2002	1,752	61	282	27
2003	2,228	99	335	16
2004	946	80	39	29
2005	374	37	22	13
2006	2,686	85	2	22
2007	2,491	40	3	0
2008	190	11	0	0
	<b>14,291</b>	<b>463</b>	<b>744</b>	<b>110</b>



## Vecteurs de l'AY chez le colza

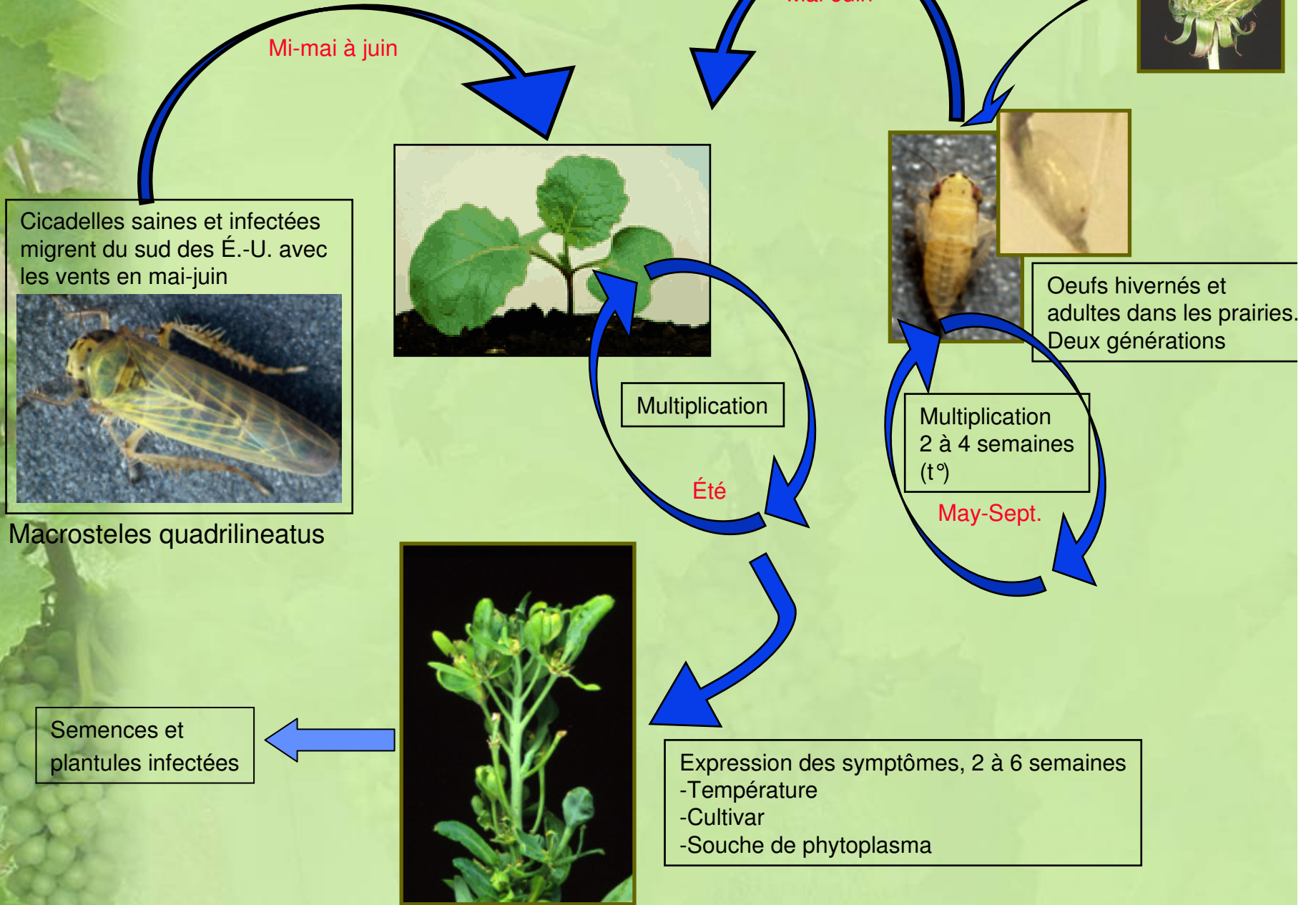
Épidémie d'AY 2000

Épidémie d'AY en 2007

Espèces de cicadelles	% insectes infectés								
	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008	
<i>M. quadrilineatus</i>	8.4	4.4	1.9	3.6	1.5	0.3	7.4	4.2	<b>3.9</b>
<i>C. humilis</i>	9.8	0.3	1.8	0	0	0	<0.1	0	<b>1.5</b>
<i>E. inimica</i>	4.0	1.6	1.0	6.1	0	1.1	<0.1	0	<b>1.7</b>
Others	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	0	2.4	0.2	<0.1	<b>~0.3</b>

**Autres:** *Euscelis maculipennis*, *Diplocolenus configuratus*, *Gyponana* sp, *Neokolla hieroglyphyca*, *Psammotettix* sp, *Scaphytopius acutus*, *Sorhoanus ulheri*, *Balclutha* sp, membracids, cercopids and fulgorids.

# AY : cycle sur le canola





## Conclusion

- AY du colza est associé avec 16Srl-A, B, C.
- *Macrosteles fascifrons* est le principal vecteur de l'AY.
  - Populations migratoires et locales.
  - Plantes favorites: céréales.
- Présence de vecteurs secondaires et de plantes hôtes réservoirs.
- Incidence de l'AY sous-estimée.
- Présence d'ADN de phytoplasmes dans les graines et plantules issues de plantes infectées et descendance malformée.

**Future recherches: Transmission de phytoplasmes par graines**

## Les phytoplasmoses de la vigne

### Projet: phytoplasmes dans les vignes canadiennes

- Collaboration entre les stations AAC de Saskatoon (SK), Vineland (ON), Summerland (CB) et Saint-Jean-sur-Richelieu (QC), ainsi que CFIA-Sydney.
- Surveillance phytosanitaire des vignobles.
- Échantillonnage des vignes, des mauvaises herbes et des insectes présents dans (et autour) des vignobles.
- Détection des phytoplasmes par tests RPC.
- Identification des phytoplasmes, séquençage d'ADN & RFLP.





## Les phytoplasmes de la vigne dans le monde

Phytoplasmoses	Souches de phytoplasmes	Localisations géographiques
Flavescence dorée	16SrV(-C, -D) (4 génomes FD)	France, Italie, Allemagne, Espagne, Serbie, Suisse, Hongrie, Portugal
Jaunisse de la vigne	16SrV 16SrV-A	Sud de la Floride, État de New York Italie
Jaunisse de la vigne (région Palatine)	16SrV: 3 souches	Allemagne
Bois Noir	16SrXII-A	Slovénie, Hongrie, Israël, Liban, Espagne, Autriche, Croatie, Grèce, Chili, France, Allemagne, Suisse, Italie, Canada (CB)
Jaunisse de la vigne australienne	16SrXII-B, 16SrII, 16SrXXIII & 16SrI	Australie
Jaunisse de la vigne	16SrI 16SrI-A 16SrI-B, 16SrI-C	Slovénie, Croatie, Pennsylvanie, France, Israël, Canada (ON) Virginie, Chili Italie, Chili
Jaunisse de la vigne	16SrIII 16SrIII-I	Italie, Pennsylvanie, Israël NY, Virginie
Jaunisse de la vigne	16SrVII	Chili
Jaunisse de la vigne	16SrX 16SrX-B	Italie Hongrie, Serbie



## Symptômes de Flavescence Dorée sur cépage rouge



**Chlorose, rougissement et enroulement foliaire sur cépage Negrette, Photo INRA**



**Dessèchement des raisins sur cépage Cabernet Sauvignon, Photo INRA.**



## Symptômes de jaunisse sur cépage blanc

Cultivar Seyval blanc  
Ridge, Québec





## Les phytoplasmoses de la vigne

### Pourquoi faire une étude des phytoplasmoses dans les vignobles canadiens?

- AY, Western -X et jaunisse du frêne présents dans les vignobles américains.
- 2 millions de vignes importées au Canada chaque année de France et d'Allemagne ou sévissent 2 jaunisses, la FD et le BN.
  - Impacts économiques de FD et BN catastrophiques (millions d'€ en insecticide, en surveillance phytosanitaire et pertes de production).
  - Extension inaperçue de FD et BN dans les années 70-85, due à la méconnaissance des maladies.
  - Poursuite de l'extension de FD et BN malgré la lutte obligatoire (nouvelles souches, nouveaux vecteurs, expansion des vecteurs?).
  - Détection de BN en CB et ON: arrachage de 15,000 vignes.

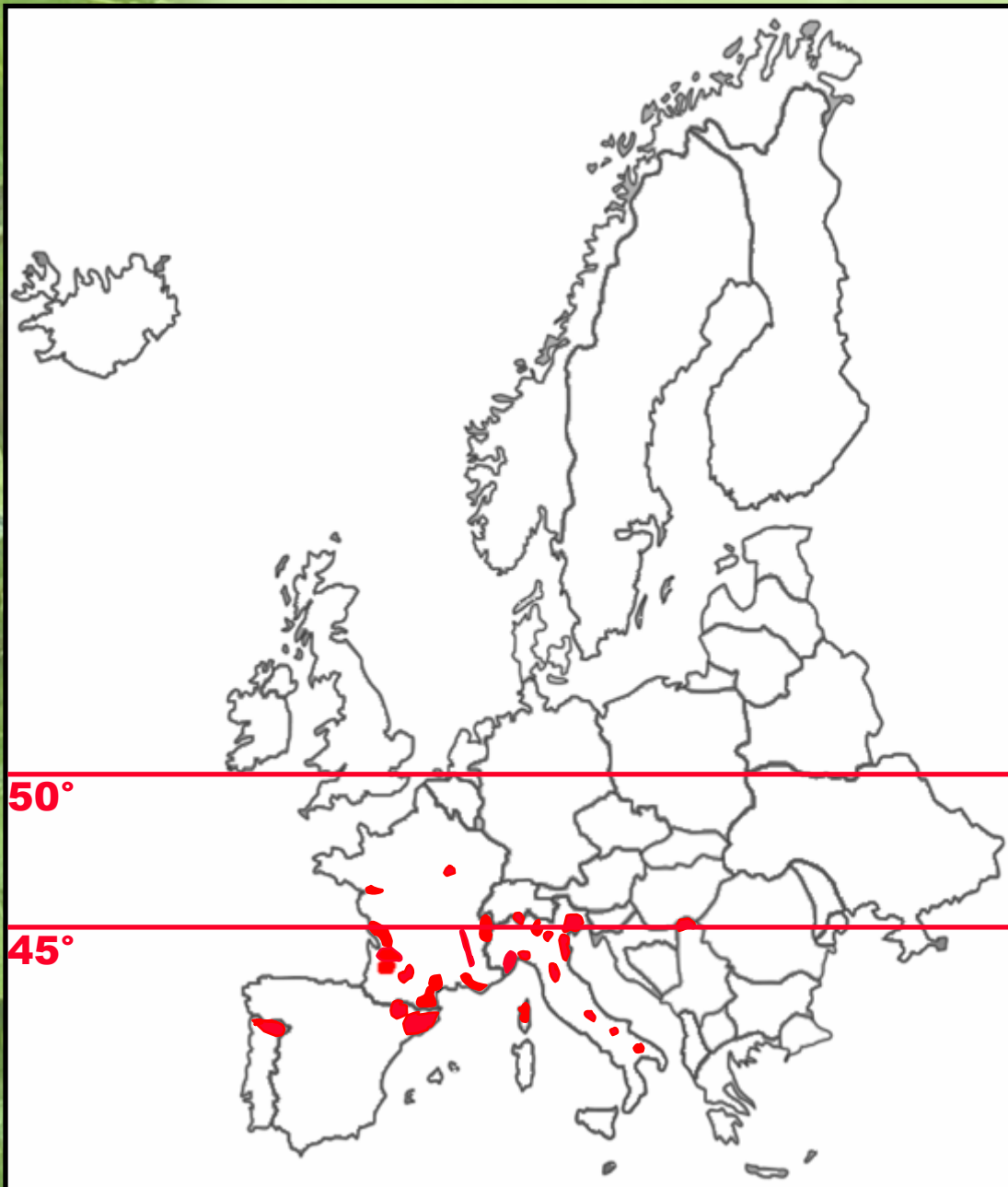
#### Questions:

- Identité des phytoplasmes et des insectes vecteurs.
- Distribution et incidence des phytoplasmoses

## Exemple de l'expansion de la FD en France

- Armagnac en 1954
- Italie du Nord en 1973
- Aude en 1982
- Corse, Provence, Poitou, Loire, Midi-pyrénées en 1989
- Nord de l'Italie & Espagne, 1997
- Extension en Italie, en France et en Serbie en 2000
- Nord du Portugal, Sud de l'Italie et Suisse. Extension des zones infectées dans les années précédentes, 2005

**Origine FD incertaine,  
*Scaphoideus* NY**






## Mesures de contrôle pour la FD en Europe



Appareil de traitement à l'eau chaude pour les vignes  
Institut de virologie végétale, Grugliasco, Italie



Recommandations de ACIA:  
Eau chaude, 50 °C, 35min.



## Les phytoplasmoses de la vigne

### Échantillonnages

ON, CB: 20 vignobles en 2006-2008

QC: 5 vignobles en 2007 & 2008

- **Plantes**

- CB, ON, Qc: 5 feuilles/vigne, 10 vignes/site, 5 sites/vignoble.

- Tests RPC sur deux poinçons par feuille.

- **Insectes**

- ON: 20 passages de filet/site, 5 sites/vignoble (+ 3 sites autour).

- CB: 2 X 25 passages de filet par vignoble.

- QC: Méthode du frappage.

- Tests PCR sur insectes: vecteurs ou porteurs de phytoplasmes testés individuellement.





## Les phytoplasmoses de la vigne

		% de plantes infectées par des phytoplasmes
2006	Ontario	2.5%
	Colombie britannique	1.1%
2007	Ontario	2.5%
	British Columbia	0%
	Québec	2.8%
2008	Ontario	2%
	British Columbia	1,2%
	Québec	5.6%

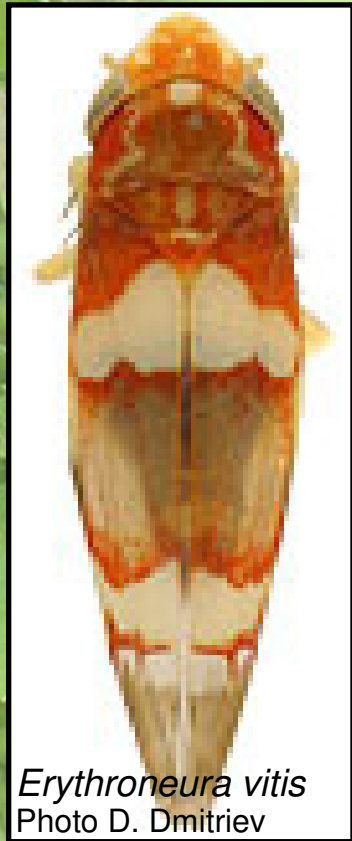
- Phytoplasmes généralement détectés au mois d'août.
- Plantes infectées généralement en groupe (ON).
- Pas d'observations de plantes avec des symptômes typiques de phytoplasmoses, excepté au Québec.
- Souche de phytoplasme : AY 16Srl-A & -B, X-disease.

## Les phytoplasmoses de la vigne

	Souches	% insectes inf.
<i>*Erythroneura vitis</i>		1.9%
<i>*Erythroneura tricincta</i>		0.8%
<i>*Empoasca fabae</i>		4.1%
<i>*Erythroneura vulnerata</i>		6.2%
<i>*Erythroneura comes</i>		4.2%
<i>*Erythroneura vitifex</i>		8%
<b>*Colladonus geminatus</b>	<b>AY &amp; X-disease</b>	5,1%
<b>*Macrosteles quadrilineatus</b>	<b>AY</b>	12,6%
<b>*Neokolla confluens</b>	<b>X-disease</b>	7.8%
<b>*Endria inimica</b>	<b>AY</b>	11,8%
<i>Erythroneura ziczac</i>		5.4%
<i>Colladonus torneellus</i>		5.7%
<b>Aphrodes bicinctus</b>	<b>AY, X-disease &amp; BN</b>	3.5%
<b>Scaphytopius acutus</b>	<b>AY &amp; X-disease</b>	3/5
<b>Scaphoideus titanus</b>	<b>AY and FD</b>	2.5%
<b>Exitianus exitiosus</b>	<b>AY</b>	16%
<i>Psammotettix lividellus</i>		14.1%



## Quelques vecteurs potentiels



*Erythroneura vitis*  
Photo D. Dmitriev



*Erythroneura vitifex*



*Erythroneura tricincta*



## Les phytoplasmoses de la vigne

### Conclusion

- Présence de plantes et d'insectes infectés par des phytoplasmes.
- Peu de symptômes typiques des phytoplasmoses.
- Phytoplasmes retrouvées au Canada: Aster Yellow et X-disease.
- Présence d'insectes vecteurs

### Questions

- Conséquences de l'infection des phytoplasmes sur la production et la survie des plantes et sur la qualité du vin?
- Confirmation des insectes vecteurs (test de transmission).
- Identité des plantes réservoirs?
- Contrôle des phytoplasmes?



## Les phytoplasmoses de la vigne

### Projets de recherche

#### En cours

- Electro Penetro Graphie (EPG), (AAFC-QC & P. Giordanengo-Amiens). Sur *Erythroneura* & *Macrosteles*.
- Identification des symbiontes chez les vecteurs (AAFC-SK, AB & Israël).
- Études phylogénétiques des phytoplasmes au Canada.

#### Projets de recherche en attente de financement.


- Continuer la surveillance des phytoplasmes dans les vignobles.
- Identifier les insectes vecteurs (tests de transmission).
- Conséquences des traitements à l'eau chaude sur les vignes plantées en climat froid (AAFC-ON, BC & Australia).

## Remerciements

- **Financement Agriculture et Agro-alimentaire Canada (programme de Base A et PPI en co-financement avec plusieurs vignobles).**
- **Programme « Formation et Emploi » financé par l'Office Franco-Québécois de la Jeunesse pour J. Saguez, qui a effectué les prélèvements au Québec (AAC-St Jean sur Richelieu).**
- **L'ensemble des viticulteurs de BC, ON et QC.**
- **L. Bittner et T. Vickers (AAFC-Vineland) et B. Galka (AAC-Saskatoon) qui ont activement participé à la collecte du matériel végétal et d'insectes.**





A large, white, anvil-shaped cumulonimbus cloud dominates the sky, stretching across the horizon. Below the cloud, a two-lane asphalt road with white dashed lane markings and a white solid shoulder line recedes into the distance. The landscape is flat with green grass and some utility poles. The sky is a clear, deep blue.

**Merci de votre attention**  
**Questions?**