



anses

# **LABORATOIRE DE LA SANTÉ DES VÉGÉTAUX**

## **Rapport d'activité 2021**

# PRÉSENTATION

Le Laboratoire de la santé des végétaux identifie et évalue tous les types de risques biologiques, détecte des organismes génétiquement modifiés, étudie les insectes auxiliaires ou vecteurs de maladies, et assure la quarantaine de végétaux importés sous dérogation. Il est implanté sur six sites :

- Angers, en charge des bactéries, des virus et des OGM, de la coordination de la référence et de l'expertise ;
- Clermont-Ferrand, qui abrite la mission de quarantaine ;
- Saint-Pierre-de-La-Réunion, spécialisé sur les ravageurs et agents pathogènes tropicaux ;
- Montpellier, compétent sur les insectes et les plantes invasives et adventices ;
- Nancy, chargé des champignons et des oomycètes ;
- Rennes, mobilisé sur les nématodes.

Le Laboratoire de la santé des végétaux est laboratoire national de référence pour tous les organismes nuisibles pour les plantes. Trois de ses unités sont laboratoires de référence de l'Union européenne : pour les champignons et oomycètes, les insectes et acariens, et les nématodes. Le Laboratoire participe au développement de méthodes au niveau international, à de nombreux projets de recherche collaboratifs nationaux et internationaux et à la formation doctorale.

## CHIFFRES CLÉS

**5** thèses en cours

**1** thèse soutenue et

**1** Projet H2020 coordonné et finalisé

**5** avis rendus et

**3** saisines initiées

**22** projets scientifiques collaboratifs sous convention



L'année 2021 a été marquée par une nette augmentation du nombre de crises ou de situation préoccupantes au niveau sanitaire : bactérie *Xylella fastidiosa*, nématode du pin, maladie du Hunglongbing sur agrumes, virus émergent de la tomate ToBRFV, jaunissement léthal du palmier dûs à un phytoplasme en Guadeloupe, maladie de Panama provoqués par le champignons FocTR4 à Mayotte et mouche orientale des fruits sur le territoire métropolitain.

Cette année a également permis la finalisation du projet H2020 VALITEST, avec au bilan notamment la production de webinaires et formations accessibles en ligne, de publications scientifiques et de protocoles de diagnostic internationaux;

Enfin, au niveau européen, les LRUE en santé des végétaux ont pu confirmer le bénéfice de leurs missions auprès de la communauté des laboratoires de l'Union en terme d'ateliers et de *workshops*. Par ailleurs, le dimensionnement européen de nos projets collaboratifs s'est enraciné via des projets H2020 (European Virus Archive - Global) ou financés par l'EFSA (Horizon Scanning), nous avons poursuivi notre implication dans la formation doctorale et dans les travaux de la plateforme nationale d'épidémiosurveillance.

# TRAVAUX RÉALISÉS

## CRISES SANITAIRES ET SIGNAUX PRÉOCCUPANTS EN NOMBRE CROISSANT SUR LE TERRITOIRE

Dans un contexte globalement défavorable pour la santé des végétaux du fait de l'action conjuguée de l'augmentation des échanges de végétaux, des évolutions climatiques et de l'évolution de certaines pratiques culturales, le nombre de sujets à très fort niveau de préoccupation subit une augmentation rapide qui s'illustre dans tous nos domaines de compétences :

- un nouveau foyer de la bactérie *Xylella fastidiosa* a été mise en évidence dans le département du Gard en région Occitanie ;
- cinq échantillons de matériaux de bois ont été trouvés positifs au nématode du pin ;
- des premières signaux de détections de la maladie du Hunglongbing sur agrumes sont à confirmer en Guyane ;
- un nouveau foyer du virus émergent de la tomate ToBRFV a été localisé en région Nouvelle-Aquitaine ;
- deux foyers du jaunissement léthal du palmier dûs à un phytoplasme sont apparus en Guadeloupe ;
- la maladie de Panama provoquée par le champignons FocTR4 a fait l'objet de huit détections positives ;
- et la mouche orientale des fruits a été interceptée à l'import et capturée sur le territoire plusieurs dizaines de fois.

## LA FINALISATION DU PROJET H2020 VALITEST

### Validation de tests de diagnostic dans le domaine de la santé des végétaux

#### **Caractérisation de performance de tests de laboratoire pour le diagnostic d'organismes nuisibles aux végétaux et amélioration du processus de validation de méthodes d'analyse.**

Dans un contexte récent d'intensification des échanges commerciaux et d'impacts notables sur les productions agricoles, la détection précoce des organismes nuisibles aux végétaux est un défi important pour sécuriser l'alimentation humaine. Toutefois cette détection doit être fiable et elle passe par une connaissance détaillée des performances des méthodes d'analyse.

- Le projet VALITEST, financé par l'Union européenne, a permis de caractériser les performances de 80 tests de laboratoire (ELISA, PCR, Immunofluorescence...) qui ont concerné 11 organismes nuisibles (4 bactéries, 4 virus, 2 champignons et un nématode phytoparasite). Cette caractérisation de performance s'est appuyée sur des travaux collaboratifs incluant près de 111 participants, issus de 20 pays. Les données obtenues sont accessibles au public via la base de données dédiée de l'OEPP [https://dc.eppo.int/validation\\_data/validationlist](https://dc.eppo.int/validation_data/validationlist).
- Le projet VALITEST a aussi permis d'améliorer les procédures de validation de méthodes en santé des végétaux, en incluant une analyse statistique de résultats ainsi que des recommandations pour la production de matériel de référence. Le projet a aussi permis l'élaboration de recommandations quant à l'utilisation de nouvelles technologies (High Throughput Sequencing) ou encore l'organisation de suivi de compétences au travers d'essais interlaboratoires d'aptitude.
- Enfin, VALITEST a contribué à la construction d'une association des producteurs européens de réactifs de diagnostic en santé des végétaux, assortie d'une charte qualité de production. Plus d'informations sur <https://www.epdia.eu/>.

Au terme du projet VALITEST, de nombreuses ressources sont disponibles en ligne, en particulier des webinaires sur les travaux réalisés au cours du projet ([www.valitest.eu](http://www.valitest.eu)), ainsi qu'un ouvrage dédié à l'organisation d'essais interlaboratoires s'appuyant sur l'expérience du projet (<https://link.springer.com/book/10.1007/978-3-030-99811-0>).

## TROIS WORKSHOPS ORGANISÉS PAR LES LABORATOIRES EUROPÉENS DE RÉFÉRENCE

Cette année le 3<sup>e</sup> atelier annuel du LRUE nématodes phytoparasites s'est tenu exclusivement en présentiel à Juan-les-Pins en marge du 7<sup>th</sup> International Congress of Nematology (ICN) 2022. Il a permis de réunir 16 pays. Cette stratégie visait à profiter de l'émulation scientifique proposée par ce congrès pour le développer les connaissances du réseau des LNR-LRUE dans la discipline. Les thèmes abordés lors de l'atelier de cette année étaient l'accréditation des laboratoires réalisant des analyses officielles en santé des plantes et la validation des méthodes en abordant les défis, les problèmes et les solutions possibles pour ces enjeux.

- Le 3<sup>e</sup> workshop LRUE champignons et oomycètes a été pour la première fois organisé en présentiel au mois de mai dans les locaux de l'unité de mycologie. Grâce au format hybride, en plus des 18 représentants des LNR européens qui ont apprécié la visite du laboratoire, plus de 70 autres participants ont pu assister en ligne aux présentations et discussions. Le programme a entre autres abordé les résultats de l'essai interlaboratoires concernant *Phytophthora ramorum* et le projet de validation de protocole pour la détection de ce dernier. L'INRAE Nancy a présenté ses travaux de recherche sur les rouilles des pins et peupliers, dont de nombreuses espèces sont réglementées.
- Le second workshop du LRUE sur les insectes et acariens a enregistré 104 participants de 28 pays. Le programme a inclus 16 présentations dédiées soit à la méthodologie et aux stratégies (objectifs de l'UE, projets EPPO, nouveaux outils d'identification, présentation des LNR d'Allemagne et de Grèce...), soit au suivi d'insectes de quarantaine en expansion (*Bactrocera dorsalis*, *Popilia japonica* ou *Agrilus planipennis*).

### ❖ Analyse du pathobiome dans les denrées alimentaires végétales

Projet AMI Trans sur les microorganismes potentiellement nuisibles pour les végétaux présents sur les denrées alimentaires

Ce projet, démarré en 2020, mobilise six unités de trois des laboratoires de l'Agence et vise le diagnostic, à l'aide des méthodes de métagénomique et du métabarcoding, d'une large gamme d'organismes nuisibles ON (bactéries, virus, champignons) sur deux matrices végétales salade et tomate (réalisation de 8 séquençages HTS MinION).

### Évaluation probabilité de transfert d'ON à partir de matrices végétales ;

Les denrées végétales, outre les agents pathogènes pour la santé humaine, peuvent porter des organismes nuisibles (ON) pour la santé des végétaux. L'unité ERB du LSV a donc été mobilisée pour évaluer la probabilité de transfert de ces ON vers l'environnement en prenant en compte plusieurs facteurs dont les mécanismes de dissémination des ON et ceux susceptibles de favoriser leur établissement.

Quinze organismes nuisibles (7 virus, 5 champignons, 2 bactéries, 1 insecte – pris comme contrôle positif de l'analyse en tant qu'organisme réglementé) absents de France et décrits comme étant pathogènes pour la tomate ont été analysés via une analyse multicritère (AMC) selon huit critères. Cette AMC a permis de (i) montrer que parmi les 15 ON étudiés, 1 bactérie et 4 virus avaient relativement la probabilité de transfert la plus élevée, (ii) identifier des ON pour la santé des végétaux qui sont également décrits dans la littérature comme pathogènes pour la santé humaine.

❖ **Étude de l'adaptation aux résistances variétales chez le champignon *Pseudocercospora fijiensis*, agent causal de la maladie de raies noires du bananier**

Thèse Anses-Cirad de Thomas Dumartinet

Suite à l'augmentation de l'incidence de la maladie des raies noirs causée par le champignon *Pseudocercospora fijiensis*, un contournement ou érosion des résistances variétales quantitatives du bananier dans le Nord des Caraïbes a été suspecté. Ce projet de thèse avait pour objectif de mieux comprendre ces érosions et de mettre en évidence l'adaptation des populations de *P. fijiensis* à cette résistance quantitative, d'identifier l'architecture adaptative sous-jacente et de rechercher si des génotypes adaptés ont pu émerger et se diffuser dans les Antilles françaises.

Les travaux ont démontré l'existence d'une adaptation locale à des résistances quantitatives chez des populations de *P. fijiensis* de Cuba et de République Dominicaine grâce à des inoculations *in vitro*. Des analyses de génomique des populations et de génétique quantitative ont permis d'identifier 25 régions génomiques potentiellement impliquées dans ces résistances. L'annotation des gènes détectés et des données biologiques ont conforté l'hypothèse que certains entre eux puissent avoir un rôle dans l'expression de la pathogénicité. Ces résultats suggèrent une architecture adaptative complexe de nature polygénique. Enfin, une analyse de génétique des populations de la région Amérique Latine - Caraïbes a permis de renforcer l'hypothèse d'une introduction en Guadeloupe des génotypes pré-adaptés à des résistances depuis les Caraïbes du Nord, notamment de Cuba, qui pourraient expliquer la forte prévalence de maladie récemment observés sur des géniteurs résistants.

## RÉSULTATS DE L'EXPERTISE SHARKA : DEMANDE D'AVIS CONCERNANT L'EFFICACITÉ DES MÉTHODES VISANT À LA DESTRUCTION DE VÉGÉTAUX CONTAMINÉS PAR LE VIRUS DE LA SHARKA EN VERGER DE PRUNUS

La réglementation prévoit une surveillance des espèces de *Prunus* sensibles au virus de la sharka (abricotiers, pêchers, pruniers). Lorsqu'un arbre est détecté contaminé, la réglementation impose une destruction de l'arbre par arrachage sous 10 jours ou en procédant d'abord par une coupe associée à une dévitalisation, puis par l'arrachage de la souche. Cependant, l'arrachage ou la coupe/dévitalisation ne montrent pas une efficacité totale sur le terrain : des repousses, qui représentent de potentiels réservoirs du virus, sont observées.

L'expertise a consisté à évaluer l'efficacité ces différentes mesures d'assainissement et à interroger les arboriculteurs sur leurs pratiques. Les données bibliographiques sur ce sujet étant lacunaires, des auditions et des enquêtes (auprès des arboriculteurs et des inspecteurs) ont permis de collecter des données qui étaient cependant insuffisantes pour réaliser une évaluation comparative des méthodes d'assainissement en termes d'efficacité.

En premier analyse, il apparaît que la mesure de coupe/dévitalisation conduit à davantage de repousses par rapport à l'arrachage pour lequel les repousses sont quasi inexistantes. L'analyse ne permet d'établir clairement si ces repousses sont liées à l'inefficacité de la première méthode ou à la manière dont elle a été mise en œuvre.

## DEMANDE D'AVIS SUR LES CAHIERS DES CHARGES RELATIFS AUX OBLIGATIONS INCOMBANT AUX ÉTABLISSEMENTS PRODUCTEURS DE VITROPLANTS DE BANANIER À DESTINATION DES DROM, ET AUX CONDITIONS DE LEUR ACCLIMATATION SUR CES TERRITOIRES

La réglementation encadrant les conditions d'entrée par dérogation du matériel végétal de bananiers dans les DROM, définit ces conditions d'entrée au moyen de cahiers des charges pour les conditions d'acclimatation des VP de bananier dans les DROM et les obligations incombant aux établissements producteurs de VP de bananier à destination des territoires ultramarins.

Les recommandations concernant la liste des organismes nuisibles (ON) à contrôler aux différentes étapes des dispositifs mis en œuvre dans les établissements producteurs et acclimateurs de VP, résultent d'une catégorisation simplifiée des organismes nuisibles susceptibles d'être associés à des VP ou de les contaminer durant la phase d'acclimatation, basée en particulier sur la biologie et la distribution géographique des différents ON.

L'Anses recommande qu'une approche prévoyant d'autoriser, au cas par cas, des matériels pouvant présenter un intérêt agronomique ou phytosanitaire (avec l'introduction de bananiers résistants à *Fusarium oxysporum* Foc TR4, un champignon pathogène pour la variété de bananier Cavendish ou à la cercosporiose noire). L'Agence souligne la nécessité de mettre à jour la liste des ON à contrôler en s'appuyant sur les résultats de la veille sanitaire et bibliographique.

### ❖ PROJET COLLABORATIF NATIONAL SHARKSECURE

L'Unité de Quarantaine du LSV participe au projet **SharkSecure** financé par FranceAgriMer et impliquant également INRAE, AREFE, VEREXAL, FREDON et DRAAF Grand-Est. Ce projet vise la sécurisation de la production de mirabelles et de quetsches vis-à-vis de la sharka. Notre unité développe un protocole de diagnostic précoce du *Plum pox virus* (PPV) ciblant le système racinaire de porte-greffes. La méthode ANSES/LSV/MA043 de détection par RT-PCR temps réel a été optimisée pour l'analyse de racines de *Prunus spp.* Une comparaison de cette méthode est en cours avec une méthode par amplification isotherme (*recombinase polymerase amplification*). Des expériences d'inoculation artificielle de porte-greffes ont été conduites en chambre climatique confinée permettant de mimer les saisons. Les premiers résultats montrent que la nouvelle méthode RT-PCR temps réel permet une détection efficace et précoce du PPV dans les racines. Ces résultats pourraient être exploités pour détecter ce virus réglementé en pépinières.

### ❖ PROJET COLLABORATIF INTERNATIONAL HVCA

Cette même unité de quarantaine est partenaire du projet **HVCA**<sup>1</sup> financé par AFALULA<sup>2</sup>, en support de la Commission Royale pour AIUla et impliquant CIRAD, INRAE et deux partenaires privés dont un partenaire marocain. Ce projet de grande ampleur vise le développement d'une filière agrumicole durable et à haute valeur ajoutée à AIUla, une région d'Arabie Saoudite dont le développement a fait l'objet d'un accord intergouvernemental entre la France et l'Arabie Saoudite. Notre unité réalise le diagnostic sanitaire de plus de 265 plants d'agrumes de différentes espèces, symptomatiques ou non, répartis dans près de 80 vergers, 7 microclimats et 2 modes culturels. Nous recherchons 8 virus, 3 viroïdes, 8 bactéries et 1 champignon, par des méthodes moléculaires de type PCR. Nous participons également au choix de plants mère initiaux via la mise en culture de 12 échantillons d'agrumes dans nos installations confinées. Enfin, nous initions des analyses par séquençage à haut-débit sur ces différentes catégories d'échantillons.

<sup>1</sup>HVCA : High-Value Citrus for AIUla

<sup>2</sup>AFALULA : l'Agence Française pour le développement d'AIUla.



# PERSPECTIVES ET PROJETS ENGAGÉS

L'année 2022 sera fortement marquée par la consolidation de notre dynamique de formation doctorale, avec notamment 3 thèses en cours et 3 nouvelles thèses qui vont démarrer. Les financements correspondants sont variés et mobilisent l'Agence, les régions (Occitanie), nos partenaires académiques (INRAE, CIRAD), Ecophyto et une convention CIFRE dans le cadre d'un partenariat public-privé.

Par ailleurs, l'unité Bactériologie-virologie-OGM sera impliquée sur deux projets collaboratifs internationaux : le projet H2020 EVAg : European virus archive GLOBAL, et le projet ANR Phytovirus.

Enfin, nous participerons de façon particulièrement active à la transversalité en interne, puisque trois projets AMI Trans nous permettront d'investiguer les apports de la PCR digitale pour le diagnostic en santé de façon transversale « one health », l'identification de nématodes par spectrométrie de masse MALDI-TOF, ou encore de participer à la détection des virus des nématodes parasites de plantes.

<sup>5</sup>Projet AMI : projet transversal interne à l'Anses auquel participe des unités de directions différentes.

<sup>6</sup>CNRS : Centre national de la recherche scientifique

# PRINCIPALES PUBLICATIONS

Aguayo, Jaime, Claude Husson, Emilie Chancerel, Olivier Fabreguettes, Anne Chandelier, Céline Fourrier-Jeandel, Nadine Dupuy, Cyril Dutech, Renaud Ios, Cécile Robin, Michel Thibaudon, Benoit Marçais et Marie-Laure 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>.

Bopp, M. C., E. Kazakou, A. Metay et G. Fried. 2021. "Relative importance of region, seasonality and weed management practices effects on the functional structure of weed communities in French vineyards." *Agriculture, Ecosystems & Environment*. doi: 10.1016/j.agee.2022.107892

Branco, Sofia, Massimo Faccoli, Eckehard G. Brockerhoff, Géraldine Roux, Hervé Jactel, Nicolas Desneux, Emmanuel Gachet, Raphaëlle Mouttet, Jean-Claude Streito et Manuela Branco. 2021. "Preventing invasions of Asian longhorn beetle and citrus longhorn beetle: are we on the right track?" *Journal of Pest Science*: 1-26.

Deberdt, P., G. Cellier, R. Coranson-Beaudu, M. Delmonteil-Girerd, J. Canguio et B. Rhino. 2021. "First Report of Bacterial Wilt Caused by *Ralstonia solanacearum* on *Plectranthus amboinicus* in Martinique." *Plant Disease*. <https://doi.org/10.1094/PDIS-12-20-2622-PDN>

Fontaine, Kévin, Céline Fourrier-Jeandel, Andrew D. Armitage, Anne-Laure Boutigny, Manuela Crépet, Valérie Caffier, Dossi Carine Gnide, Jason Shiller, Bruno Le Cam, Michel Giraud, Renaud Ios et Jaime 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>.

Fried, Guillaume, Laura Armengot, Jonathan Storkey, Bénére Bourgeois, Sabrina Gaba, Cyrille Violle et François Munoz. 2021. "Do ecological specialization and functional traits explain the abundance–frequency relationship? Arable weeds as a case study." *Journal of Biogeography* 48 (1): 37-50. <https://doi.org/https://doi.org/10.1111/jbi.13980>.

Kazakou, Elena, Guillaume Fried, Pierre-Olivier Cheptou et Olivier Gimenez. 2021. "Does seed mass drive interspecies variation in the effect of management practices on weed demography?" *Ecology and Evolution* 11 (19): 13166-13174. <https://doi.org/https://doi.org/10.1002/ece3.8038>.

## CHRONOLOGIE



*Soutenance de thèse  
Anses-Cirad de  
Thomas Dumartinet*



*3<sup>e</sup> workshop du LRUE  
champignons et  
oomycètes*



Kutnjak, D., L. Tamisier, I. Adams, N. Boonham, T. Candresse, M. Chiumenti, K. De Jonghe, J. F. Kreuze, M. Lefebvre, G. Silva, M. Malapi-Wight, P. Margaria, I. Mavric Plesko, S. McGreig, L. Miozzi, B. Remenant, J. S. Reynard, J. Rollin, M. Rott, O. Schumpp, S. Massart et A. Haegeman. 2021. "A Primer on the Analysis of High-Throughput Sequencing Data for Detection of Plant Viruses." *Microorganisms* 9 (4). <https://doi.org/10.3390/microorganisms9040841>

Massé, D., N. Cassam, B. Hostachy, M. L. Iskra-Caruana, M. Darnaudery, P. Lefevvre et J. M. Lett. 2021. "First Report of Three Pineapple Mealybug Wilt-Associated Viruses in Queen Victoria Pineapples in Reunion Island." *Plant Disease*. <https://doi.org/10.1094/pdis-05-20-1068-pdn>.

Tavoillot, Johannes, Thierry Mateille, Nadine Ali, Anne-Marie Chappe et Jean-François Martin. 2021. "Early Detection of the Root-Knot Nematode *Meloidogyne* hapla Through Developing a Robust Quantitative PCR Approach Compliant With the Minimum Information for Publication of Quantitative Real-Time PCR Experiments Guidelines." *Plant Disease* 105 (10): PDIS11202408RE. <https://doi.org/10.1094/PDIS-11-20-2408-RE>

Tayeh, C., D. Guinehut, A. Lê Van, X. Deguercy, X. Tassus, E. Gachet et C. Manceau. 2021. "BiOR<sup>2</sup>: when pest risk assessment meets computer-based multicriteria analysis for plant pest ranking and management." *Biological Invasions* 23: 919-934. <https://doi.org/https://doi.org/10.1007/s10530-020-02411-5>.

Thevenoux, Romain, Van Linh Le, Heloïse Villessèche, Alain Buisson, Marie Beurton-Aimar, Eric Grenier, Laurent Folcher et Nicolas Parisey. 2021. "Image based species identification of *Globodera* quarantine nematodes using computer vision and deep learning." *Computers and Electronics in Agriculture* 186. <https://doi.org/10.1016/j.compag.2021.106058>



2<sup>e</sup> workshop du LRUE insectes et acariens



3<sup>e</sup> workshop du LRUE nématodes phytoparasites





# anses

AGENCE NATIONALE DE SÉCURITÉ SANITAIRE  
de l'alimentation, de l'environnement du travail

**Laboratoire de la santé des végétaux**

7, rue Jean Dixméras  
49044 Angers

[www.anses.fr](http://www.anses.fr) @Anses\_fr

**Connaître, évaluer, protéger**