

RAPPORT D'ACTIVITÉ 2019

Laboratoire de la santé des végétaux



Présentation

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

- Angers, en charge des bactéries, virus et 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 (ravageurs ou vecteurs) et plantes invasives ;
- 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 des plantes. Trois de ses unités sont laboratoires de référence de l'Union européenne, pour les champignons et oomycètes, insectes et acariens, et nématodes. Le Laboratoire co-anime le Réseau français de la santé des végétaux et participe à de nombreux projets collaboratifs de recherche et de développement de méthodes au niveau international.

CHIFFRES-CLÉS

9 thèses en cours

2 Habilitations à diriger des recherches obtenues

12 projets scientifiques collaboratifs sous convention

6 avis rendus et 4 saisines initiées

16 fiches d'alerte ou signal émises

« Le Laboratoire est laboratoire national de référence pour tous les organismes nuisibles des plantes. »

Contexte

L'année 2019 a été celle de la finalisation du nouveau règlement européen (UE) 2016/2031 sur la santé des végétaux, qui est entré en vigueur le 14 décembre 2019, impactant de fait le périmètre de nos activités. Parallèlement, la presque totalité des unités s'est adaptée à la nouvelle version de la norme ISO/CEI 17025 pour les analyses et les essais. L'année 2019, a également été la première année d'essais interlaboratoires sous accréditation ISO/CEI 17043. Enfin, la responsabilité du Laboratoire dans sa mission de quarantaine des végétaux importés sous dérogation a été confortée.

Dans le même temps, les activités de formation doctorale et d'obtention de l'habilitation à diriger des recherches du laboratoire ont continué de croître (deux habilitations soutenues et neuf thèses en cours).

Le Laboratoire s'est fortement investi pour accompagner la montée en puissance de la plateforme nationale d'épidémiosurveillance notamment en participant à cinq groupes de travail : *Xylella fastidiosa*, nématode du pin, maladie du dépérissement de la vigne, bulletin sanitaire et surveillance officielle. Le Laboratoire a également été actif dans la veille sanitaire internationale, pour des maladies comme le dragon jaune des agrumes, la maladie de Panama du bananier ou le complexe d'espèces bactérien CeRs.

Nos activités de recherche s'inscrivent désormais dans le cadre de structurations visibles avec nos partenaires historiques. Ainsi, l'unité de nématologie à Rennes consolide sa proximité avec l'équipe de nématologie de l'unité mixte de recherche IGEPP

de l'Inrae, AgroCampus Ouest et l'Université de Rennes 1, à travers la construction commune du pôle scientifique NemAlliance, facilitant ainsi une meilleure visibilité de l'expertise sur les nématodes et des échanges désormais quotidiens entre les équipes aux compétences complémentaires. Cette proximité s'exprime également à travers le déploiement des nouvelles techniques de séquençage, y compris celle de 3^e génération (MinION).

Cette année a aussi été une année à forte vocation européenne avec le démarrage en août de nos trois mandats de référence européens (nématodes phytoparasites, insectes et acariens, champignons et oomycètes). Nos activités européennes ont donc monté en puissance, y compris dans le cadre de deux projets H2020 (Valitest, coordonné par le Laboratoire, et POnTE) et de celui financé par l'EFSA (*Horizon scanning*, sur la veille scientifique et médiatique).

« Nos activités de recherche s'inscrivent désormais dans le cadre de structurations visibles avec nos partenaires historiques. »

Travaux réalisés et faits marquants ↙

CRÉATION DES LABORATOIRES DE RÉFÉRENCE POUR L'UNION EUROPÉENNE EN SANTÉ DES VÉGÉTAUX

Les trois laboratoires de référence ont officiellement débuté leurs activités le 1^{er} août. Ils se sont notamment attachés à la mise en application du nouveau règlement (UE) 2016/2031 en identifiant le réseau européen des laboratoires nationaux de référence travaillant sur les organismes nuisibles couverts par leurs mandats respectifs et en organisant les premiers essais interlaboratoires d'aptitude (EILA) portant sur la détection et l'identification de ces organismes nuisibles.

Une première évaluation des laboratoires nationaux de référence au sein de l'Union européenne a été engagée, de même que la construction des collections de souches ou de spécimens de référence et la création des sites internet dédiés (<https://eurl-nematodes.anses.fr/en/minisite/plant-parasitic-nematodes/eurl-plant-parasitic-nematodes> ; <https://eurl-insects-mites.anses.fr/> ; <https://eurl-fungi.anses.fr/>)

OBTENTION DE L'ACCRÉDITATION ISO/CEI 17043

Depuis 2015, le Laboratoire a développé un système de management transversal de la qualité pour l'organisation de ses EILA, répondant au plus près aux exigences de la norme ISO/CEI 17043. L'accréditation par l'organisme qui accrédite les résultats d'analyse (le Comité français d'accréditation, Cofrac) a été obtenue en avril 2019 et

inclut onze types d'EILA différents dans les quatre disciplines scientifiques que sont la bactériologie, la virologie, la mycologie et la nématologie. Cette accréditation constitue un atout pour l'exercice des mandats de référence européens portés par le Laboratoire.

SECONDE CONFÉRENCE EUROPÉENNE SUR LA BACTÉRIE *XYLELLA FASTIDIOSA* EN CORSE ET FIN DU PROJET H2020 POnTE

Le Laboratoire s'est largement impliqué dans la conférence européenne sur le thème *Xylella fastidiosa* : *How research can support solutions* (« *Xylella fastidiosa* : Comment la recherche peut contribuer à des solutions »). Co-organisée en octobre avec l'Autorité européenne de sécurité des aliments (EFSA) et l'Inrae, la conférence a réuni plus de 350 participants.

Le Laboratoire a ainsi contribué à déterminer le programme de la conférence, a animé la session dédiée à la surveillance et a présenté trois communications orales sur le projet Horizon 2020 POnTE (organismes nuisibles menaçant l'Europe) relatifs au

développement et à la validation de méthodes de détection de *Xylella fastidiosa* sur les plantes et sur les insectes vecteurs, sur le cercope des prés (*Philaenus spumarius*), et sur la thèse en cours (Anses/Inrae) amenant à proposer de nouvelles méthodes PCR pour l'identification rapide des sous-espèces de *Xylella fastidiosa*.

Par ailleurs, trois posters ont permis de compléter ces contributions, relatifs aux méthodes de détection et d'identification de *Xylella fastidiosa*, à la PCR digitale pour la détection de cette bactérie, et à l'inventaire de ses vecteurs potentiels présents en France.

La veille de la conférence avait été consacrée aux résultats finaux du projet H2020 POnTE dédiés à *Candidatus Liberibacter solanacearum* et aux agents pathogènes émergents des forêts. L'unité Bactérie, Virus, OGM, en partenariat avec la Finlande, y a synthétisé les avancées concernant la bactérie. Elle est également intervenue pour une étude épidémiologique relative à cette bactérie en France et sur le questionnement sur la transmission de celle-ci par les semences.

DEUX HABILITATIONS SOUTENUES DANS LA MÊME ANNÉE

En janvier et en décembre 2019, deux habilitations à diriger des recherches ont été obtenues, l'une au sein de l'unité Entomologie et plantes invasives à Montpellier sur l'utilisation de traits fonctionnels

pour caractériser les plantes, et l'autre au sein de l'unité de nématologie à Rennes sur la pathogénie et de la résilience des populations de nématodes phytoparasites.



LE DÉMARRAGE DES ACTIVITÉS DU PÔLE NEMALLIANCE

Fruit du rapprochement entre l'Inrae et l'Anses pour la constitution d'un groupe de recherche de taille significative en nématologie végétale, le pôle NemAlliance a débuté ses activités. Cette

association, pionnière en France, permet de déployer des travaux de recherche sur un groupe biologique d'importance majeure dans la biologie des sols, des activités sur l'évaluation et sur la gestion

des risques correspondants en lien avec le monde agricole et de contribuer à la formation et l'alerte face à l'émergence de nouveaux problèmes phytosanitaires liés aux nématodes.

« Cette association, pionnière en France, permet de déployer des travaux de recherche sur un groupe biologique d'importance majeure. »

UNE ACTIVITÉ D'EXPERTISE ET DE VEILLE MOBILISÉE

Après la capture à proximité du marché d'intérêt national de Rungis de spécimens de la mouche orientale des fruits (*Bactrocera dorsalis*), un premier groupe d'expertise collective d'urgence en santé des végétaux a été constitué et coordonné par l'unité Expertise sur les risques biologiques du Laboratoire afin d'évaluer les risques d'infestation des fruits sains transitant par le marché, des déchets à proximité du marché. À cette occasion, le Laboratoire a communiqué des recommandations de mise en place d'un plan de surveillance et d'étude approfondie de la probabilité d'établissement de la mouche.

Le Laboratoire s'est par ailleurs autosaisi et a procédé à une évaluation du risque simplifiée sur le *Tomato brown rugose fruit virus* pour la France métropolitaine. Le risque étant jugé inacceptable pour les cultures de tomates et de poivrons/piments au regard de la forte probabilité d'introduction et de dissémination en plus des impacts économiques potentiels, le laboratoire a émis des recommandations de deux types :

- exigences supplémentaires sur les importations de fruits pour prévenir l'entrée du virus ;
- application d'une stratégie d'éradication en cas d'établissement ou de détection d'un foyer.

« Le Laboratoire a communiqué des recommandations de mise en place d'un plan de surveillance et d'étude approfondie de la probabilité d'établissement de la mouche orientale des fruits »

Perspectives et projets engagés ↙

L'année 2020 a été déclarée par l'ONU *Année internationale de la santé des végétaux*. Le Laboratoire a été de fait très impliqué dès avril 2019 dans la communication sur ces enjeux environnementaux et économiques majeurs, en particulier dans la préparation du stand que l'Anses réalise chaque année à l'occasion du Salon international de l'agriculture à Paris, en février 2020.

LA STRUCTURATION PARTENARIALE DE LA RECHERCHE VA SE POURSUIVRE :

→ Reconnaissance de l'unité de mycologie à Nancy en tant qu'unité sous contrat du département Structure, fonctionnement et évolution des écosystèmes continentaux faiblement anthropisés de l'Inrae, relevant du centre Inrae Grand-Est. Elle sanctionne les nombreux projets et publications communes avec les unités mixtes de recherche Interactions Arbres/Microorganismes et Biodiversité, gènes et communautés dans le domaine des maladies fongiques des essences forestières.

→ Rapprochement de l'unité Ravageurs et agents pathogènes tropicaux et de l'unité mixte de recherche Peuplements végétaux et bioagresseurs en milieu tropical Cirad-Université de la Réunion. Cela permet ainsi d'augmenter l'attractivité du Pôle de protection des plantes de Saint-Pierre-de-la-Réunion et de développer les activités d'outre-mer de la plateforme d'épidémiologie en santé végétale.

Trois projets dans le cadre des projets « AMI TRANS » soutenus par la Direction de la stratégie et des programmes de l'Anses seront concernés :

deux projets en cours, sur le complexe viral du Wilt de l'ananas et sur l'utilisation de la technologie de séquençage MinION ; et un projet qui devrait démarrer prochainement, sur la caractérisation du pathobiome concernant la sécurité des aliments et la santé des végétaux.

Enfin, deux projets collaboratifs internationaux seront initiés, qui illustrent la reconnaissance et la visibilité du Laboratoire dans la recherche orientée vers l'épidémiologie et le diagnostic.

→ ANR Phytovirus : ce projet international de recherche piloté par le Cirad de Montpellier pour quatre ans (2020-2024) vise à mieux comprendre au niveau viral les interactions entre les écosystèmes naturels ou gérés et les espèces cultivées.

→ EVA-GLOBAL : ce projet INFRAIA européen, qui réunit trente-huit partenaires du monde entier, est piloté par l'université de Marseille et vise à proposer à la communauté scientifique et industrielle l'accès à des collections de souches virales humaines, animales ou végétales.

LA SOUCHE FOCTR4 DE LA FUSARIOSE DU BANANIER

→ La fusariose du bananier est une maladie mortelle du bananier dont la souche dite « Tropical Race 4 » (FOC TR4), apparue dans les années 90 dans le sud-est asiatique, est particulièrement agressive sur la variété Cavendish qui est cultivée pour la production de banane dessert. FOC TR4 représente une menace très importante pour la filière banane au niveau mondial. La maladie est en forte extension au niveau mondial, avec un dernier signalement récent à Mayotte en 2019. Dès 2015, le Laboratoire avait anticipé cette crise en développant une méthode de détection en temps réel, la PCR et en participant en octobre 2019 à la détection de FOC TR4 à Mayotte. La méthode de confirmation basée sur la caractérisation du groupe de compatibilité végétative a été mise en place au Laboratoire à la suite de travaux menés en collaboration avec une équipe d'Afrique du Sud (Université de Stellenbosch). À Mayotte, une enquête portant sur la répartition de la maladie est en cours avec des analyses prises en charge par l'unité de mycologie de Nancy. À la Réunion, la Direction de l'agriculture, de l'alimentation et de la forêt a programmé une enquête épidémiologique qui est confiée à un Organisme de veille sanitaire dont les techniciens de terrain ont préalablement reçu une formation à la reconnaissance des symptômes et au prélèvement, dispensée par le Laboratoire. Parallèlement, la plateforme nationale d'épidémiosurveillance en santé végétale a été mise à contribution pour assurer l'édition d'un bulletin de veille largement diffusé auprès d'un public de techniciens impliqués dans la filière banane des DROM.

LES LIENS ENTRE LA MISSION DE QUARANTAINE ET LA RECHERCHE

→ L'unité de quarantaine assume la mission originale de prise en charge sur le territoire de végétaux qui entrent de façon dérogatoire pour des besoins de recherche ou d'amélioration variétale. Elle développe par ailleurs des recherches centrées sur la caractérisation et la validation de méthodes de détection de virus végétaux en lien avec cette mission :

- méthodes de détection « classiques » avec la participation au projet international Euphresco « POVIRDET » concernant la détection de quatre virus de la pomme de terre et la participation au projet national *SharkSecure* (Sécurisation de la production de mirabelles et de quetsches vis-à-vis de la sharka), concernant la validation d'une méthode de détection précoce du *Plum pox virus* ;
- méthodes de détection « terrain » avec la participation au Projet H2020 VALITEST en organisant un essai interlaboratoire de validation de méthodes pour la détection du *Plum pox virus* ;
- méthodes innovantes telles que les séquençages à haut débit (HTS) via sa participation au projet national VirValid (Évaluation comparative de la technique de séquençage haut débit pour la détection des maladies virales en sélection variétale fruitière) et au projet international Euphresco *NGS Best practices* en comparant différentes approches HTS. Un projet de thèse pour développer l'application concrète des techniques HTS à la quarantaine végétale post-entrée est en cours de rédaction.

L'IMPLICATION DU LABORATOIRE DANS L'APPEL À MANIFESTATION D'INTÉRÊT *TRANSVERSALITÉ* MInION (2019-2020)

→ L'utilisation de la technologie de séquençage MinION revêt de nombreux avantages pour l'identification d'organismes nuisibles via leur séquençage. Peu onéreuse, elle peut être utilisée par les laboratoires, ce qui leur permet de maîtriser l'ensemble des étapes du processus. De plus, les séquences brutes obtenues étant particulièrement longues, l'assemblage des séquences est facilité et des applications originales peuvent être envisagées.

Le Laboratoire a été fortement impliqué dans les travaux financés par l'appel à manifestation d'intérêt *Transversalité* dédié à l'acquisition de compétences concernant cette technologie :

→ préparation des échantillons : des travaux ont été menés de manière à améliorer la qualité et limiter la fragmentation des acides nucléiques afin de bénéficier pleinement des apports de la technologie ;

→ séquençage de génomes complets : un génome complet de la bactérie *Xylella fastidiosa* a été obtenu en collaboration avec les laboratoires de santé animale et de sécurité alimentaire. Les génomes de sept nouvelles souches seront bientôt séquencés ;

→ détection : un protocole de détection de génomes viraux sur tissus végétaux a été développé. Testé sur quatre échantillons, il a permis l'identification de dix génomes viraux ;

→ séquençage ciblé : un protocole a été développé de manière à séquencer le transgène d'organismes génétiquement modifiés non décrits. Un second volet concernant l'étude du taux de mutation dans des séquences pré-identifiées est en cours.

Le projet transversal a également permis d'identifier les limites de la technologie et a mis en évidence le besoin croissant de ressources en bio-informatiques.



25 JANVIER

→ Obtention de l'habilitation à diriger des recherches de Guillaume Fried

AVRIL

→ Obtention de l'accréditation ISO/CEI 17043

1^{ER} AOÛT

→ Démarrage officiel des activités de mandats européens en santé des végétaux

PRINCIPALES PUBLICATIONS

→ BALMÈS V, MOUTTET R. The drosophilid risk on imports. Bulletin OEPP/EPPO bulletin. 2019;49(1):122-6.

→ BEN HALIMA KAMEL M, MDELLEL L, ZOUARI S, GERMAIN JF. New Pseudococcidae species on Cupressus macrocarpa in Tunisia: First report of Planococcus vovae Bulletin OEPP/EPPO Bulletin. 2019;49(2):338-9.

→ BOUTIGNY AL, BARRANGER A, DE BOISSÉSON C, BLANCHARD Y, ROLLAND M. Targeted Next Generation Sequencing to study insert stability in genetically modified plants. Scientific Reports. 2019;9(1).

→ DELGADO S, NAVARRO B, SERRA P, GENTIT P, CAMBRA M-Á, CHIUMENTI M, et al. How sequence variants of a plastid-replicating viroid with one single nucleotide change initiate disease in its natural host. RNA biology. 2019;16(7):906-17.

→ DUPAS E, LEGENDRE B, OLIVIER V, POLIAKOFF F, MANCEAU C, CUNTY A. Comparison of real-time PCR and droplet digital PCR for the detection of Xylella fastidiosa in plants. Journal of microbiological methods. 2019;162:86-95.

→ ELVIRA-RECUENCO M, CACCIOLA SO, SANZ-ROS AV, GARBELOTTO M, AGUAYO J, SOLLA A, et al. Potential Interactions Between Invasive Fusarium circinatum and Other Pine Pathogens in Europe. Forests. 2019;11(1):7.

→ FRIED G, CARBONI M, MAHAUT L, VIOLLE C. Functional traits modulate plant community responses to alien plant invasion. Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics. 2019;37:53-63.

→ FRIED G, CORDEAU S, METAY A, KAZAKOU E. Relative importance of environmental factors and farming practices in shaping weed communities structure and composition in French vineyards. Agriculture, Ecosystems & Environment. 2019;275:1-13.

→ GIOVANI B, ANTHOINE G, BLÜMEL S, CRUZ ML, DE LA PEÑA AI, MAES M, et al. Transnational European research collaboration to tackle plant health threats: Euphresco and its contribution to the new EU Plant Health Regulation. EPPO Bulletin. 2019;49(1):87-91.

28 - 31 OCTOBRE

→ Seconde conférence européenne sur la bactérie *Xylella fastidiosa* en Corse et fin du projet H2020 PonTE

→ GIOVANI B, CELLIER G, MC MULLEN M, SAPONARI M, STEFANI E, PETTER F. From transnational research collaboration to regional standards. *Biotechnology, Agronomy, Society and Environment*. 2019;23(1).

→ HAJRI A, COUSSEAU-SUHARD P, GENTIT P, LOISEAU M. New Insights into the Genetic Diversity of the Bacterial Plant Pathogen 'Candidatus Liberibacter solanacearum' as Revealed by a New Multilocus Sequence Analysis Scheme. *bioRxiv*. 2019:623405.

→ HAOUAS D, MDELLEL L, MRAIHI I, HAFSI C, BALMES V. *Pollinia pollini* (Costa, 1857) (Hemiptera, Asterolecaniidae) infesting olive trees: a first record in Tunisia. *Bulletin OEPP/EPPO bulletin*. 2019:1-2.

→ HUBERT J, JEANDEL C, COSTET L, HOSTACHY B, DUPUIS AS, CODDEVILLE A, et al. First Report of Orange Rust Caused by *Puccinia kuehnii* on Sugarcane on the Island of Reunion. *Plant Disease*. 2019;103(11):2962.

→ IOOS R, CHRÉTIEN P, PERRAULT J, JEANDEL C, DUTECH C, GONTHIER P, et al. Multiplex real-time PCR assays for the detection and identification of Heterobasidion species attacking conifers in Europe. *Plant Pathology*. 2019;68(8):1493-507.

→ LEGRAND P. Phytosanitary management of Citrus germplasm in France. *Bulletin OEPP/EPPO Bulletin*. 2019;49(1):83-6.

→ LOISEAU M, PLAIRE M, RENAUDIN I, TAYLOR R, FUJIKAWA T, GRIFFIN R, et al. Detecting *Spiroplasma citri*: a comparison of PCR methods to be used for quarantine diagnostics. *European Journal of Plant Pathology*. 2019.

→ MAHAUT L, GABA S, FRIED G. A functional diversity approach of crop sequences reveals that weed diversity and abundance show different responses to environmental variability. *Journal of Applied Ecology*. 2019;56(6):1400-9.

4 DÉCEMBRE

→ Obtention de l'habilitation à diriger des recherches de Laurent Folcher

→ MIRMAJLESSI SM, SJÖLUND MJ, MÄND M, LOISEAU M, ILARDI V, HAESAERT G, et al. PCR-based diagnostic methods for 'Candidatus Liberibacter solanacearum' – Review. *Plant Protection Science*. 2019;55(4):229-42.

→ POLIAKOFF F, LEGENDRE B, C D, PAILLARD S, MOLUSSON D, A S-L, et al. How early detection of *Xylella fastidiosa* can contribute to strategies of control of the bacterium? Status of France. *Journal of Plant Pathology*. 2019;101(4):849-83.

→ RENVOISÉ JP, CHAMBON F, GLEIZE M, PRADEILLES N, GARNIER S, ROLLAND M. Selection, optimization and characterization of molecular tests for the detection of Tobacco ringspot virus (TRSV). *Bulletin OEPP/EPPO Bulletin*. 2019;49(1):111-21.

→ RIEUX A, HOSTACHY B, DE LAPEYRE DE BELLAIRE L, MARTIN Y, MARATCHIA G, DUPUIS A, et al. First report of black Sigatoka disease in banana caused by *Mycosphaerella fijiensis* on Reunion Island. *New Disease Reports*. 2019;39:12.

→ ROBINET C, CASTAGNONE-SERENO P, MOTA M, ROUX G, SARNIGUET C, TASSUS X, et al. Effectiveness of clear-cuttings in non-fragmented pine forests in relation with EU regulations for the eradication of the pine wood nematode. *Journal of Applied Ecology*. 2019.

→ THEVENOUX R, FOLCHER L, ESQUIBET M, FOUVILLE D, MONTARRY J, GRENIER E. The hidden diversity of the potato cyst nematode *Globodera pallida* in the south of Peru. *Evolutionary Applications*. 2019.

→ THIERRY M, GLADIEUX P, FOURNIER E, THARREAU D, IOOS R. A genomic approach to develop a new qPCR test enabling detection of the *Pyricularia oryzae* lineage causing wheat blast. *Plant Disease*. 2019;104(1):10.



Connaître, évaluer, protéger

**Agence nationale de sécurité
sanitaire de l'alimentation,
de l'environnement et du travail**

Laboratoire de la santé des végétaux
7, rue Jean Dixméras
49044 Angers Cedex 01

www.anses.fr

[@Anses_fr](https://twitter.com/Anses_fr)