

L'agriculture et la recherche face aux maladies émergentes des plantes

Avant-propos

En santé végétale comme en santé humaine ou animale, on assiste à l'arrivée de maladies nouvelles, dites émergentes. Ces maladies peuvent être nouvelles selon différents critères: maladie totalement inconnue, maladie déjà connue dans une autre région et dont la manifestation chez nous était jugée improbable, ou encore développement grave d'une maladie endémique tolérée jusqu'alors pour ses faibles conséquences sanitaire ou économique. Dans ce dernier cas en effet, l'agriculture est habituée à composer avec un taux faible d'accidents sanitaires qui détruisent quelques individus mais qui ne mettent pas en danger la rentabilité ni la pérennité de la culture. C'est lorsque les accidents se généralisent que le problème surgit.

La manifestation de ces nouvelles maladies peut être attribuée à l'irruption de conditions favorables au développement et à la dissémination d'un organisme pathogène déjà présent (indigène) ou d'un organisme exotique introduit volontairement ou non, dans l'espace agricole. Ces conditions favorables peuvent se décliner en termes de réservoirs, transmission, climat, façons culturales, introduction de nouvelles cultures, etc. C'est la connaissance de ces facteurs qui peut en retour donner des pistes pour le développement de méthodes de lutte raisonnée.

Deux exemples étudiés à l'INRA de Dijon

Deux maladies représentatives.

L'équipe de recherche "*Biologie et écologie des bactéries du phloème*" de l'UMR Plante Microbe Environnement (UMR INRA 1088/CNRS 5184/Université de Bourgogne) a acquis une certaine renommée par ses travaux sur deux familles de maladies apparues en France à des temps et des lieux différents sur des cultures différentes : les jaunisses de la vigne à phytoplasmes (JV) dont la plus célèbre est la Flavescence dorée (FD), et le Syndrome des basses richesses de la betterave sucrière (SBR). Dans les deux cas, nous avons affaire à une maladie à trois partenaires : une plante, un micro-organisme bactérien phytopathogène, et un insecte phytophage nécessaire à la transmission de l'agent pathogène à la plante, appelé "insecte vecteur" ou "vecteur". La bactérie phytopathogène est un phytoplasme dans le cas des JV et une protéobactérie dans celui du SBR. Nous les appellerons tous deux "bactérie" dans la suite de ce chapitre.

Des bactéries parasites stricts, non cultivables.

Contrairement aux bactéries "classiques" que l'on sait cultiver sur des milieux synthétiques, ces deux "bactéries" ont en commun d'avoir jusqu'à présent résisté aux tentatives de mise en culture. Ceci n'est pas anodin, car les micro-organismes cultivables peuvent se prêter à des études concernant leur physiologie, leur sensibilité à des antibiotiques ou des bactériostatiques, leur génétique (classification, diversité, virulence des isolats) et leur génomique (présence, organisation et fonctionnement de leurs gènes principaux). Les "bactéries" dont il est question ici ne peuvent pas être obtenues hors de l'un de leur hôte plante ou insecte et ne se prêtent donc pas à ces études. Ce n'est que par des voies détournées, grâce aux technologies bio-moléculaires, que l'on peut envisager depuis peu de temps d'aborder partiellement leur génomique.

Un mode de diffusion très spécialisé.

Un autre point commun à nos deux "bactéries" est leur habitat dans la plante et l'insecte vecteur. Ce dernier est dans les deux cas un hémiptère se nourrissant de la sève élaborée, qui perce les tissus superficiels de la plante à l'aide de son stylet, et qui atteint ainsi les vaisseaux du phloème dans lesquels il excrète d'abord sa salive puis dont il aspire le contenu. C'est au cours de ces repas (parfois de simples tentatives inachevées) qu'un insecte contenant la "bactérie" dans ses glandes salivaires (alors dit "infectieux"), inocule la plante. Ces "bactéries" n'occupent ainsi dans la plante que le phloème (d'où leur dénomination triviale de "bactéries du phloème") où elles se multiplient. La plante infectée est dite "réservoir" car la "bactérie" peut être acquise par l'insecte pendant un repas. Il faut ajouter à cela que l'insecte ne fonctionne pas comme une simple seringue, mais que la "bactérie" effectue, dans son corps, un trajet long et complexe qui la dirige depuis le bol alimentaire jusqu'à l'intérieur des glandes salivaires. Enfin, un insecte demeure infectieux toute sa vie, la transmission est dite "persistante". Ceci permet de voir que la vection d'une bactérie du phloème reflète une association très spécifique entre cette "bactérie" et l'insecte vecteur. On a moins d'indications sur la spécificité plante-bactérie.

Efficacité de diffusion.

On voit que la diffusion au champ de la maladie dépend de la présence simultanée de la "bactérie" et du vecteur. Lorsque les deux sont présents, le taux de diffusion de la maladie dépend tout d'abord de la pression d'inoculum (abondance de la "bactérie" dans les réservoirs et accessibilité de ces réservoirs aux insectes vecteurs) et de l'abondance des populations d'insecte vecteur. Mais d'autres facteurs concourent à la vitesse d'extension des foyers: de façon directe, ce sont l'étendue et la disposition dans le paysage agricole de la culture concernée, l'efficacité d'inoculation du vecteur et la sensibilité des espèces ou cultivars; de façon indirecte ce sont des facteurs environnementaux comme la présence d'autres espèces végétales réservoirs potentiels de la "bactérie" ou plantes-hôtes alternatives de l'insecte vecteur, les opérations culturales ou micro-climats favorables à l'insecte vecteur, etc.

Des maladies incurables et difficiles à éradiquer.

La "bactérie" affecte tout le système vasculaire de la plante qui ne peut être guérie par des interventions externes (traitements, opération de taille...). Les plantes sensibles présentent des symptômes caractéristiques qui reflètent des déséquilibres hormonaux (anomalies des feuilles, fleurs, fruits, tiges, masse racinaire) et affectent la récolte. Dépendant de la variété, des situations de guérison (rétablissement) sont connues mais mal comprises, dont ni le praticien ni le chercheur n'ont actuellement la maîtrise.

La prévention doit donc être recherchée par tous les moyens. Pour prévenir l'épidémie ou limiter son extension et sa durée, il faut agir sur les populations du vecteur et sur les réservoirs d'inoculum. La première voie n'est pas immédiate: on verra plus loin que les vecteurs qui ne sont pas des ravageurs directs peuvent pulluler sans attirer l'attention des praticiens; il est par ailleurs illusoire, peut-être risqué, de songer à éradiquer une espèce; il faudra se contenter d'en réduire les populations, encore les moyens sont-ils à connaître. En ce qui concerne la deuxième voie, nous verrons que le problème des réservoirs se pose de façon différente dans les deux cas illustrés.

Les missions du chercheur et les conditions de son travail.

Lorsque le praticien constate une nouvelle maladie et interpelle le chercheur, ce dernier doit en identifier la symptomatologie, en rechercher la cause (étiologie), développer une méthode de diagnostic, puis identifier les principaux facteurs de l'épidémie qui, une fois connus, permettent d'expérimenter des méthodes de lutte.

Le chercheur a besoin du questionnement de la profession et de la société. Réciproquement, la société doit comprendre qu'une recherche amont, même si elle semble déconnectée du terrain, est essentielle pour comprendre à l'échelle cellulaire ou moléculaire, les interactions entre les trois partenaires de la maladie, mais aussi de chacun d'entre eux avec d'autres organismes peuplant leur niche écologique. Outre l'avancement des connaissances qu'elles génèrent en amont dans des domaines nouveaux, ces questions contribuent à démêler l'origine de la maladie et à identifier la genèse des foyers primaires et les mécanismes d'émergence.

La Flavescence dorée de la vigne - FD

Les systèmes élémentaires constitutifs et les épidémies de FD.

La "bactérie" de la FD (un phytoplasme) est transmise de la vigne à la vigne (vigne cultivée *Vitis vinifera*, porte greffes ou hybrides du genre *Vitis*). Le phytoplasme de la FD est bien caractérisé. Il existe exclusivement dans la vigne; ses isolats très proches entre eux se regroupent en trois types. Des phytoplasmes apparentés mais plus distants, infectent en Europe l'aulne, l'orme et la ronce.

Le vecteur est une cicadelle (*Scaphoideus titanus*), insecte hémiptère "spécialiste" sur les *Vitis*. Il y accomplit tout son cycle biologique et a pour eux une préférence alimentaire marquée en conditions naturelles.

Les réservoirs de la FD où la cicadelle puise l'inoculum pendant l'épidémie sont donc les vignes infectées.

La cicadelle de la FD a été introduite au début du XX^e siècle depuis l'Amérique du nord vers le sud-ouest de la France, par l'importation de bois "américains" contenant des œufs de l'espèce. Elle a trouvé en Europe méditerranéenne des conditions de développement très favorables, sans la compétition d'autres espèces proches ni la rencontre d'ennemis naturels, et elle atteint dans les vignobles où elle s'installe, des populations incomparablement plus nombreuses que dans sa zone américaine d'origine. On considère qu'elle s'est dispersée en Europe depuis la région d'introduction initiale, véhiculée par le commerce des bois et plants. Elle est très commune de l'Atlantique à la Serbie et de la vallée de la Loire au Centre de l'Italie, Nord du Portugal et de l'Espagne. En France, seuls les vignobles de Champagne et d'Alsace en sont réputés exempts.

Cette cicadelle qui accomplit une génération par an, vit du printemps (éclosions début mai) à l'automne (mort des derniers adultes fin septembre). Ses œufs demeurent dans les bois de la vigne pendant l'hiver et ne véhiculent pas le phytoplasme. Chaque génération naît "saine" par rapport au phytoplasme qui ne subsiste pendant l'hiver que dans les vignes infectées "réservoirs". Après l'éclosion, les 5 stades larvaires précédant le stade adulte, vivent sur le feuillage de la vigne et sont tous capables d'acquérir le phytoplasme de la FD sur des vignes malades.

Un foyer primaire de FD est constitué par une vigne infectée. Ce peut être, à faible distance d'un autre foyer, une vigne inoculée par une cicadelle infectieuse migrante. A grande distance, il s'agit toujours d'un plant porteur du phytoplasme, généré par l'utilisation au moment du greffage, d'une bouture de porte-greffe ou d'une bouture de greffon en incubation de FD, prélevées l'une ou l'autre sur les bois d'une vigne-mère porteuse. A partir d'un tel plant porteur mis en place sans symptômes dans un vignoble où vit *S. titanus*, la diffusion se fait d'abord de manière sournoise pour des observateurs non avertis, et ne devient évidente qu'après quelques années, surtout lorsque que la maladie affecte des vignes âgées en production. La propagation peut alors être fulgurante.

C'est par ces mécanismes que la FD, d'abord circonscrite dans les années 1950-1960 au sud de l'Aquitaine est constatée en Corse (années 1970), Languedoc (années 1980-1990), Espagne (Catalogne, 1992), Bordelais et Charente (1993), Italie (Vénétie, 1993), Savoie (2000), Vaucluse et Drôme (2003), Tessin helvétique (2005). Heureusement, en Bourgogne où *S. titanus* est présent, les organismes de surveillance ont déjoué la FD en éliminant de jeunes plants malades décelés en 2004 (Saône et Loire) et en 2005-2006 (Côte d'Or). La Champagne qui a éliminé une introduction en 2006, est à l'abri de la diffusion puisque cette cicadelle n'y est pas encore présente.

Les méthodes de lutte et de prévention

La lutte combinant insecticides chimiques et arrachage systématique des ceps malades, est rendue obligatoire par décret ministériel car la FD est décrétée maladie de quarantaine. Pour éviter d'en arriver là, les impératifs d'une démarche de prévention doivent être de limiter les effectifs des populations de la cicadelle, s'assurer de l'état sanitaire des plants, connaître et détecter précocement les symptômes. Nous ne parlerons que pour la citer, de la méthode de thérapie des bois de multiplication et des plants de pépinière, qui assure que le matériel traité est indemne de phytoplasme.

Et la suite ?

Bien des voies de recherche sont en cours ou à ouvrir, sur la biologie, le comportement, les ennemis naturels de la cicadelle, l'effet de l'infection par le phytoplasme sur sa longévité et ses performances biologiques; mais aussi sur le comportement des cépages infectés, l'activité de la cicadelle sur l'un ou l'autre cépage infecté en fonction de sa sensibilité à la FD et de son degré de maladie... Des outils de prévision des risques et de calcul de seuils d'intervention en vignobles malades de FD, devraient voir le jour pour remplacer les mesures drastiques réglementaires dans les vignobles où la FD est passée, a été combattue et subsiste à l'état endémique.

Autres modes d'émergence de la FD ?

Si nous savons que la propagation rapide de la FD au cours des 50 dernières années, est due à l'installation de la cicadelle vectrice, puis à la plantation de plants porteurs, nous pouvons nous poser la question de "l'œuf et la poule" : comment cela a-t-il commencé, sachant que la cicadelle est d'origine américaine ? Le phytoplasme est-il lui aussi américain ? Comment est-il entré dans la vigne la "première fois" ?

Des études d'épidémiologie moléculaire, basées sur la comparaison des distances génétiques entre les isolats de FD et des phytoplasmes proches non viticoles, permettent de formuler l'hypothèse suivante: le phytoplasme de la FD serait d'origine européenne, introduit dans la vigne depuis des aulnes porteurs, par des inoculations erratiques de cicadelles de l'aulne. Une fois dans la vigne, la cicadelle *S. titanus* l'aurait acquis et serait devenue compétente pour sa transmission (ceci pouvant impliquer des processus d'adaptation dit de co-évolution). Des études qui montrent néanmoins que l'interaction phytoplasme-cicadelle se fait au détriment des performances de la cicadelle (longévité et fécondité réduites), peuvent être invoquées pour supposer que cette association est "récente" à l'échelle de l'évolution, et soutenir l'hypothèse. En Italie, un isolat de FD serait originaire, non pas de l'aulne, mais de la clématite.

Si cette hypothèse est la bonne, la première émergence de la Flavescence dorée a été initiée par la rencontre fortuite dans la vigne d'un phytoplasme européen et d'une cicadelle américaine. Le résultat explosif de cette rencontre a été le départ d'une des plus graves maladies de la vigne connue en Europe.

Une telle hypothèse doit nous inciter à une attitude nouvelle envers *Scaphoideus titanus*. Actuellement toléré ou négligé en vignobles indemnes de FD, pullulant dans les vignobles non traités chimiquement, la recherche de méthodes de réduction de ses populations autres que la lutte chimique, devrait être réactivée.

Le Syndrome des basses richesses de la betterave sucrière - SBR

Les systèmes élémentaires constitutifs et le cycle du SBR.

La principale conséquence du SBR est une perte de sucre importante chez les betteraves atteintes. C'est pourquoi la gravité de l'attaque est mesurée en taux de betteraves malades dans une même parcelle.

La "bactérie" du SBR (une protéobactérie que nous appellerons SBRp) n'a été identifiée que dans les betteraves malades des champs contaminés et dans les insectes vecteurs infectieux. Ceci pose d'emblée une question sur les réservoirs de l'inoculum entre la récolte des betteraves (octobre) et le semis suivant (avril). Les bactéries apparentées à la SBRp sont pour la plupart des bactéries connues exclusivement pour habiter de façon symbiotique les organes d'insectes hémiptères. Ces endosymbiontes sont souvent dits "secondaires", c'est à dire qu'ils ne sont pas présents dans l'insecte à tout moment de son cycle ni chez tous les individus de l'espèce. A ce jour, une seule autre bactérie du phloème, l'agent pathogène de la Chlorose marginale du fraisier (CMF) étudiée à l'INRA de Bordeaux, appartient au même groupe phylogénétique que la SBRp et ces endosymbiontes.

Le vecteur du SBR est un cixiide (insecte hémiptère), *Pentastiridius leporinus*. Il atteint des effectifs énormes dans les champs de la région concernée par le SBR, mais n'a pas été trouvé à ce jour dans les autres régions de culture betteravière en France. Ses plantes-hôtes naturelles sont mal connues, mais son cycle biologique en zone de culture betteravière est maintenant bien compris. Les œufs pondus au début de l'été au collet des betteraves, éclosent rapidement et donnent naissance à des larves qui se nourrissent sur les racines ou des débris végétaux du sol. Cinq stades larvaires se succèdent jusqu'au printemps suivant; le dernier stade larvaire se transforme en adultes ailés à partir de la fin de mai. Après les copulations, les femelles gravides pondent au sol, puis les adultes meurent et disparaissent à la fin de juillet.

Les larves pondues dans la parcelle de betterave, subsistent en grand nombre après l'arrachage et poursuivent leur développement dans le sol. Les adultes émergent au printemps suivant dans les céréales qui succèdent aux betteraves dans l'assolement (blé d'hiver, orge de printemps). C'est en juin, lorsque les céréales mûrissent, que les adultes ailés recherchent un nouvel abri et de la nourriture fraîche. Ils les trouvent dans de jeunes parcelles de betteraves, toujours proches du fait de la rotation triennale de l'assolement. Ainsi, sans que nous puissions invoquer pour *P. leporinus*, à l'instar de la cicadelle de la FD, une spécialisation alimentaire, ces populations s'installent et prolifèrent en zone betteravière et l'espèce s'est adaptée remarquablement à ce système cultural. Les migrations vers la betterave concernent chaque année des milliers de spécimens adultes de l'espèce.

Une proportion souvent très élevée (de 40 à 100%) de ces adultes peut être infectée et vectrice de la SBRp. En outre, l'efficacité de transmission est redoutable : un insecte peut inoculer une betterave en une heure de contact.

Contrairement aux phytoplasmes, la SBRp est transmise par les femelles infectées à une partie de leur descendance (transmission maternelle ou "verticale"). Une certaine proportion de larves, estimée à 30 % dans quelques situations étudiées, naît porteuse de la SBRp. Quant aux individus nés sains, ils peuvent aisément acquérir la bactérie, car les betteraves inoculées par les adultes au début de l'été, constituent rapidement du fait de l'invasion de leur système vasculaire par la SBRp qui s'y multiplie, un réservoir d'inoculum accessible aux larves de la nouvelle génération qui naissent sur ces plantes.

Il apparaît donc clairement que le taux d'infectivité d'une population d'adultes en année N+1, résulte de la combinaison du taux de transmission verticale aux larves par les femelles de la génération N et du taux d'acquisition par prise de nourriture par ces mêmes larves sur les betteraves et débris racinaires infectés. Cette dernière est d'autant plus probable que la population migrante N est nombreuse avec un taux d'infectivité élevé, résultant en une probabilité élevée d'inoculation des betteraves et donc en une probabilité élevée que les larves N+1 naissent et (ou) se nourrissent sur une betterave infectée. Nous sommes donc dans un système d'auto - enrichissement du taux d'infection des générations successives, qui peut conduire à la présence de la SBRp dans 100% des spécimens d'une population d'adultes au moment de leur migration sur une nouvelle parcelle de betterave.

On voit que les phénomènes d'acquisition "horizontale" sur la betterave réservoir et de la transmission verticale par l'œuf, jouent des parts complémentaires dans la gravité des épidémies.

L'origine des épidémies de SBR

L'origine initiale du SBR n'est pas comprise à ce jour. La SBRp est hébergée de façon intracellulaire dans tous les organes de spécimens de *P. leporinus* infectieux. Est-elle d'origine endogène, bactérie symbiotique échappée de l'insecte par les glandes salivaires, capable de se multiplier chez les plantes, et récupérée par prise de nourriture, nécessaire à certaines fonctions métaboliques ou physiologiques ? Ou est-elle exogène, échappée d'un autre

hémiptère, acquise par des *P. leporinus* chez qui elle s'est installée sans y avoir un statut de symbionte et, par le mécanisme d'enrichissement décrit ci-dessus, devenue l'agent d'une maladie épidémique d'une plante cultivée ? Quelle que soit la réponse à ces deux hypothèses, l'origine des épidémies peut être décrite sans erreur selon le scénario suivant: une population de *P. leporinus* arrive par hasard sur une culture de betterave sur laquelle l'espèce se plaît et grâce à la rotation culturale rapide qui facilite chaque année son accès à la betterave, prolifère aisément. Même si la population initiale ne comporte que quelques individus infectés par l'une des voies évoquées, ces conditions de pullulation permettront un enrichissement progressif en infectivité selon le processus exposé, et produiront, sans doute seulement au bout de plusieurs années si le taux initial d'infection est très bas, une pression d'inoculation et un taux de plantes malades visible et économiquement inacceptable.

Depuis les premières épidémies de SBR au début des années 1990, nous avons assisté à des déplacements du SBR à l'intérieur du bassin sucrier du Centre-est et noté des intensités variables de la maladie. Nous ne connaissons pas les facteurs de ces déplacements, mais la justesse de nos observations d'épidémiologie a été confortée par les résultats des premiers essais de lutte raisonnée, unissant lutte insecticide et lutte agronomique.

Les méthodes de lutte

Il est clair que toute méthode réduisant la pullulation de *P. leporinus* suffisamment tôt en année N, concourt non seulement à limiter l'attaque sur les betteraves de l'année N, mais aussi à diminuer le taux d'infectivité des populations de l'année N+1; enfin, cumulant les années successives, à baisser la pression d'inoculum de façon significative ainsi que le taux de betteraves atteintes de SBR qui rejoindra finalement un seuil tolérable. Différents moyens de réduire les populations sont étudiés. Outre la lutte insecticide ciblée, au printemps, soit dans des céréales qui ont succédé à des betteraves infestées par le SBR, soit lors de la migration des adultes sur les jeunes parcelles de betterave, nous avons élaboré une lutte agronomique basée sur l'observation que l'assolement betterave-orge de printemps est beaucoup moins favorable au développement des larves de *P. leporinus* que l'assolement betterave-blé d'hiver. D'autres essais de lutte agronomique sont en cours.

Et la suite ?

Outre la poursuite d'expérimentations de la lutte au champ contre le SBR, les travaux nous orientent vers les interactions entre les cixiides et les bactéries voisines de la SBRp. A l'heure où la betterave sucrière disparaît de nos champs en Centre-Est, il serait possible que les *P. leporinus* recherchant leur nourriture en juin en sortie des céréales, se rabattent sur une autre culture, générant peut-être une nouvelle maladie...

Le cixiide vecteur en sud-ouest de la France, de la bactérie de la CMF évoquée plus haut, a été trouvé en faibles effectifs en zone betteravière, et des spécimens étaient porteurs de la SBRp et vecteurs à la betterave, et non pas de la bactérie de la CMF. Ceci pourrait indiquer une origine exogène de la bactérie du phloème par rapport à son vecteur. Le trajet après acquisition horizontale, de la SBRp dans le corps de l'insecte, et les conséquences, négatives ou bénéfiques, de l'infection par la SBRp sur les performances biologiques des insectes porteurs, devraient être étudiés.

Les cixiides sont aussi vecteurs de phytoplasmes. Diverses bactéries endosymbiotiques ou phytopathogènes peuvent ainsi se rencontrer dans les organes de ces insectes et peut-être s'y trouver en compétition trophique. L'étude de leurs interactions dans l'insecte pourrait être la voie d'une nouvelle génération de méthodes de lutte.

Pour conclure

Les maladies des plantes associées à des bactéries du phloème sont de plus en plus fréquentes et considérées comme des maladies en émergence. Nos deux exemples illustrent la complexité des systèmes qui président à leur irruption ou leur diffusion, et indiquent les nombreux champs de recherche à ré-ouvrir.

Ils soulignent que chaque situation appelle une approche particulière, mais que la démarche reste identique, tendant à l'identification soignée des facteurs de tous ordres, prépondérants dans la diffusion de la maladie.

Ils mettent en évidence l'importance des facteurs anthropiques et donc appellent à la prudence dans les introductions, échanges commerciaux ainsi que dans les modifications de pratiques culturales. Cette prudence est d'autant plus nécessaire que l'on voit que, dans les deux cas illustrés, les épidémies ont un délai d'incubation. Le facteur temps ne doit donc pas être négligé dans toute expérimentation de nouvelles pratiques agronomiques.

Enfin ces exemples montrent les interactions nécessaires entre les études de terrain et les recherches génériques, entre les professionnels et instituts techniques d'une part, et d'autre part les chercheurs "sans terre".