

## **Rapport final**

No projet : IA214151

**Élaboration d'une méthode de détection du phytoplasme de la jaunisse de l'Aster  
(*Candidatus phytoplasma asteris*) dans la vigne.**

Responsable scientifique :

Dr. Caroline Provost et Dr. François Dumont

Établissement :



31 mai 2016

**Section 1 - Chercheurs impliqués et responsable autorisé de l'établissement** (ces personnes doivent également faire parvenir un courriel pour attester qu'ils ont lu et approuvent le rapport.)

Responsable autorisé : Dr. Caroline Provost, directrice, chercheure

Chercheur : Dr. Caroline Provost, directrice, chercheure

**Chercheur : Dr Caroline Provost PhD Science biologique**

Dr Provost mène des études dans différentes cultures fruitières et maraîchères depuis plusieurs années. Elle travaille depuis plus de 10 ans sur des problématiques retrouvées en horticultures. Le rôle de madame Provost dans le cadre du projet a été de chapeauter tout l'aspect scientifique (développement du protocole, analyse et interprétation des résultats, rédaction, etc.), la gestion des ressources humaines (Embauche, répartition et évaluation du personnel, etc.) et la gestion des budgets (feuilles de temps, comptes de dépenses, paiement des factures, etc.).

**Professionnel de recherche : François Dumont, Ph.D. biologie**

Dr. Dumont travaille en phytoprotection en cultures fruitières depuis 5 ans. Depuis 2010, il a mené des projets de recherche en biologie autant en laboratoire que sur le terrain. Il était responsable du projet, de l'analyse des résultats, de la rédaction des rapports et de la diffusion des résultats.

**Section 2 – Partenaires**

Évelyne Barriault. Conseillère en pomiculture et viticulture au MAPAQ, auteur de plusieurs documents sur la vigne et ayant à son actif plusieurs projets de recherche de réalisés. Elle participera à l'élaboration du protocole et apportera l'expertise nécessaire au bon déroulement des essais. Elle révisera les rapports techniques.

Gaëlle Dubé, Jean-François Péloquin, Raphaël Fonclara, Henri Drocourt et Émilie Turcotte. Agronomes. Ils ont été impliqués directement dans le projet, ils ont établi le lien avec le producteur, ont collecté les échantillons et ont apporté leurs connaissances techniques au projet.

## **Section 3 – Fiche de transfert**

### **Mais où se cache les phytoplasmes?**

**François Dumont et Caroline Provost**

**No de projet : IA214151**

**Durée : 05/2014 – 05/2016**

#### **FAITS SAILLANTS**

Les échantillons testés en 2014 et en 2015 se sont tous révélés négatifs. Aucune présence de phytoplasme n'a été détectée sur des plants qui étaient pourtant infectés en 2013. L'absence de signe de phytoplasmes dans des vignes reconnues infestées pourrait indiquer que les phytoplasmes ne s'expriment pas à toutes les années. L'expression de la maladie pourrait dépendre de variables météorologiques telle la température et le niveau de pluviométrie. Cette hypothèse a été explorée en analysant les données historiques du MAPAQ (nombre de cas positif observé de 2010 à 2015) en fonction des données météorologiques. Cette analyse descriptive n'a pas permis de déceler une tendance importante dans les variations annuelles dans la prévalence des phytoplasmes. Il faut cependant noter que peu de cas positifs de phytoplasmes ont été observé au Québec en 2014 et 2015, alors que 2013 était marqué par plusieurs cas d'infection aux phytoplasmes.

#### **OBJECTIF(S) ET MÉTHODOLOGIE**

Initialement, l'objectif principal du projet était d'élaborer une méthode de détection efficace des phytoplasmes en vignoble. Les objectifs spécifiques étaient les suivants: 1) déterminer le meilleur stade de développement pour collecter les échantillons; et 2) identifier la partie de la vigne la plus fiable ou représentative pour détecter ce ravageur dans la plante. La fiabilité des mesures prise à différentes périodes de détection (débourrement, floraison, nouaison, véraison, récolte) et dans différentes parties de la vigne (feuille, fleur, tige et racine) a été comparée. Les échantillons prélevés en 2014 et 2015 dans cinq vignobles de régions québécoises différentes ont été traités par le laboratoire d'écologie microbienne de IRDA. La présence de phytoplasmes a été évaluée par une méthode PCR standard. Les vignobles échantillonnés ont des antécédents de phytoplasmes (confirmation du laboratoire de diagnostic du MAPAQ pour la saison 2013). Les vignes échantillonnées avaient des symptômes de maladies à phytoplasmes apparents pour la saison 2013. Dans chaque vignoble, trois échantillons ont été pris à chacune des périodes établies (stades de développement) et pour chacune des parties de la plante.

#### **RÉSULTATS SIGNIFICATIFS POUR L'INDUSTRIE**

Les résultats des échantillons récoltés dans les cinq vignobles ayant eu un historique de maladies à phytoplasmes démontrent que la maladie n'est pas exprimée en 2014 et 2015. De plus, l'analyse descriptive des données historiques du MAPAQ et des données météorologiques ne révèle aucune tendance pouvant expliquer les variations annuelles. Nos résultats suggèrent donc que les cépages cultivés au Québec ont un potentiel intéressant de rémission aux maladies à phytoplasme. À la lumière de ces résultats, il est suggéré de mener de futures recherches sur l'acquisition de connaissances concernant le potentiel de rémission des cépages cultivés au Québec.

## **APPLICATIONS POSSIBLES POUR L'INDUSTRIE ET/OU SUIVI À DONNER**

Nos résultats ont démontré que les vignes infectées par les phytoplasmes peuvent se remettre de cette infection l'année suivante et ne présenter aucun symptôme ni trace de l'agent pathogène détectable. Arracher les plants afin de limiter la propagation de la maladie pourrait donc s'avérer plus néfaste que la maladie elle-même. Une meilleure compréhension des facteurs permettant à la vigne de guérir est cependant nécessaire avant d'entreprendre des actions irréversibles dans le vignoble.

## **POINT DE CONTACT POUR INFORMATION**

Nom du responsable du projet : Dr. Caroline Provost

Téléphone : 450-434-8150 #5744

Télécopieur : 450-258-4197

Courriel : [cprovost@cram-mirabel.com](mailto:cprovost@cram-mirabel.com)

## **REMERCIEMENTS AUX PARTENAIRES FINANCIERS**

Ces travaux ont été réalisés grâce à une aide financière du Programme de soutien à l'innovation en agroalimentaire, un programme issu de l'accord du cadre Cultivons l'avenir conclu entre le ministère de l'Agriculture, des Pêcheries et de l'Alimentation et Agriculture et Agroalimentaire Canada.

**Section 4 - Activité de transfert et de diffusion scientifique** (joindre en annexe la documentation en appui)

La possibilité de rédiger un article scientifique est évaluée et il est probable qu'un article scientifique soit élaboré et soumis à une revue scientifique prochainement.

**Section 5 - Activités de diffusion et de transfert aux utilisateurs** (joindre en annexe la documentation en appui)

Le projet a été présenté et discuté avec divers intervenants, tels que des producteurs, agronomes, œnologues, conseillers, dans le cadre de la Journée portes ouvertes du vignoble expérimental du Centre de recherche agroalimentaire de Mirabel. Les journées ont eu lieu le 11 septembre 2014 et le 15 septembre 2015. Environ 75 personnes étaient présentes en 2014 et une centaine en 2015 (annexe 3).

Le projet a été présenté et discuté avec les agronomes lors des rencontres du réseau d'avertissement phytosanitaire (RAP vigne), dont le CRAM fait partie. Le projet a été discuté lors des rencontres de début et de fin de saison, il y a eu 4 rencontres en 2014 et 2015.

Les résultats du projet ont été présentés dans le cadre d'une journée spécifiquement pour les agronomes et intervenants dans la vigne au Québec, soit les séances d'échanges sur la recherche en viticulture et œnologie, tenue le 28 avril 2016 à Ste-Hyacinthe.

La fiche de transfert sera déposée sur le site Agriréseau section vigne et vin.

Le rapport final sera déposé sur le site internet du CRAM et sera envoyé aux associations en viticulture. Ces associations pourront transférer le rapport à leurs membres respectifs.

## Section 6 – Grille de transfert des connaissances

<p style="text-align: center;"><b>1. Résultats</b></p> <p style="text-align: center;">Présentez les faits saillants (maximum de 3) des principaux résultats de votre projet.</p>	<p style="text-align: center;"><b>2. Utilisateurs</b></p> <p style="text-align: center;">Pour les résultats identifiés, ciblez les utilisateurs qui bénéficieront des connaissances ou des produits provenant de votre recherche.</p>	<p style="text-align: center;"><b>3. Message</b></p> <p style="text-align: center;">Concrètement, quel est le message qui devrait être retenu pour chacune des catégories d'utilisateurs identifiées? Présentez un message concret et vulgarisé. Quels sont les gains possibles en productivité, en rendement, en argent, etc.?</p>	<p style="text-align: center;"><b>4. Cheminement des connaissances</b></p> <p>a) Une fois le projet terminé, outre les publications scientifiques, quelles sont les activités de transfert les mieux adaptées aux utilisateurs ciblés? (conférences, publications écrites, journées thématiques, formation, etc.)</p> <p>b) Selon vous, quelles pourraient être les étapes à privilégier en vue de maximiser l'adoption des résultats par les utilisateurs.</p>
<p>Malgré une détection de phytoplasme dans les plants en 2013, aucun plant échantillonné n'a été testé positif aux phytoplasmes en 2014 et 2015, et ce avec un total de 291 échantillons.</p>	<p>Agronomes et chercheurs</p>	<p>Deux hypothèses peuvent expliquer la présence de résultats négatifs pour tous les échantillons : 1) soit les plants ont une bonne capacité de rémission à ce pathogène; ou 2) il y a une période de latence des phytoplasmes dans la plante de façon à attendre les conditions propices d'expression.</p>	<p>Rapport sur le site internet du CRAM Fiche de transfert sur le site AgriRéseau</p> <p>La diffusion de l'information permettra une réflexion par les divers intervenants concernant les maladies à phytoplasmes. Il faut toutefois approfondir les connaissances spécifiquement les phytoplasmes de façon à mieux comprendre le cycle de vie, l'expression, et les processus de rémission des plants.</p>
<p>L'analyse des données météorologiques n'a pas permis d'identifier des liens entre les conditions météo et l'expression des phytoplasmes.</p>	<p>Agronomes et chercheurs</p>	<p>Suite à l'analyse des résultats, une hypothèse concernant l'effet des conditions météo dans l'expression des phytoplasmes a été émise. Toutefois, actuellement, il n'est pas possible d'établir compte-tenu du peu de données disponibles pour le Québec.</p>	<p>Rapport sur le site internet du CRAM Fiche de transfert sur le site AgriRéseau</p> <p>Il faut approfondir les connaissances spécifiquement aux conditions d'expression des phytoplasmes de façon à mieux comprendre le cycle de vie.</p>

## **Section 7 - Contribution et participation de l'industrie réalisées**

L'Association des vignerons du Québec et les Vignerons indépendants du Québec appuient le projet et apportent un support à la réalisation des essais en procurant des informations sur l'industrie viticole et vinicole du Québec. Elles ont aussi impliqué au niveau de la diffusion des connaissances auprès de leurs membres. Le rapport leur sera envoyé et elles pourront l'acheminer à leurs membres. Une contribution nature en main d'œuvre est donc apportée par les associations.

Gaëlle Dubé, Jean-François Péloquin, Raphaël Fonclara, Henri Drocourt et Émilie Turcotte. Agronomes. Ils ont été impliqués directement dans le projet, ils ont établi le lien avec le producteur, ont collecté les échantillons et ont apporté leurs connaissances techniques au projet.



## Section 8 - Rapport scientifique et/ou technique

### Résumé

Les phytoplasmes causent des maladies de la vigne connues entre autres sous le nom de Bois noir, Flavescence dorée et Jaunisse de l'Aster. Cette dernière est observée au Québec, tandis que les deux autres sévissent surtout en Europe. Les vignes infectées subissent d'importants dommages soit l'enroulement et la chlorose des feuilles, l'avortement des fleurs, l'absence d'aoûtement, le flétrissement des baies et le dépérissement du plant. Conséquemment, les phytoplasmes engendrent une baisse de productivité et de la qualité des fruits. Au Québec, il n'existe aucun protocole standardisé de dépistage des phytoplasmes et de prélèvement des échantillons. Ainsi, les agronomes disposent de peu de moyen pour suivre cette maladie. Ce projet vise à élaborer une méthode de détection efficace des phytoplasmes en vignoble québécois en déterminant le meilleur stade de développement pour observer la maladie et en identifiant la partie de la vigne à échantillonner la plus fiable. Des échantillons ont été récoltés dans cinq vignobles de différentes régions du Québec. Dans chaque vignoble, des échantillons ont été prélevés sur trois vignes infectées en 2013. Quatre parties du plant étaient échantillonnées (i.e. feuille, fleur, tige et racine) à cinq stades de développement (i.e. floraison, nouaison, stade petit pois, véraison et récolte). En 2014 et en 2015, aucun symptôme de phytoplasme n'a été retrouvé dans les 5 vignobles ayant des plants qui étaient pourtant infectées par les phytoplasmes à la fin de la saison 2013. Dans les 291 échantillons recueillis sur les 15 vignes sur quatre parties du plant et aux cinq stades de développement, aucune présence de phytoplasme n'a été détectée. De plus, une analyse descriptive des données historiques du MAPAQ et des données météorologiques n'a pas permis de relever un lien possible entre ces variables. Notre expérience témoigne de la difficulté à détecter, prévenir et gérer la jaunisse de l'Aster et les autres maladies dues aux phytoplasmes. Néanmoins, nos résultats suggèrent donc que la rémission des vignes est possible et/ou que l'expression des phytoplasmes dépend de facteurs environnementaux jusqu'ici non identifiés. Le potentiel de guérison des cépages québécois et de l'effet de la météo sur l'expression des phytoplasmes a été discuté. Diverses avenues de recherche sont aussi proposées.

### Introduction

Depuis 2006, les phytoplasmes ont été identifiés comme pathogènes dans les vignobles canadiens (Rott et al. 2007, Olivier et al. 2009). Les phytoplasmes sont des parasites obligatoires de la classe des Mollicutes qui vivent et se reproduisent dans le phloème des plantes et qui sont transmis d'une plante à l'autre par les insectes piqueurs suceurs (Weintraub et Jones 2010). Ces bactéries sans paroi causent d'importants dommages à la vigne, dont l'enroulement et la chlorose des feuilles, l'avortement des fleurs, l'absence d'aoûtement, le flétrissement des

baies et le dépérissement du plant. Les symptômes engendrent souvent des pertes importantes de productivité et une baisse de la qualité des fruits (Garau et al. 2007; Rusjan et al. 2012; Zahavi et al. 2013; Endeshaw et al. 2014).

Au Canada, les phytoplasmes sont l'objet d'une surveillance par une équipe de chercheurs d'AAC et de l'ACIA depuis 2006 (Olivier et al. 2008, 2009a, 2009b, 2010; Rott et al. 2007). Ces études ont permis d'identifier les phytoplasmes présents dans les vignobles canadiens. Le Bois noir a été détecté en Colombie Britannique (CB) et en Ontario (ON) (Rott et al. 2007) et la jaunisse de l'Aster (Aster yellows, AY) en CB, ON et au Québec (Olivier et al. 2008, 2009b). La présence de l'ADN de AY a été détecté tant dans des plants présentant des symptômes que des plants asymptomatiques (Olivier et al. 2008, 2009b, 2010). La prévalence de l'AY était variable selon les années d'échantillonnage, la province et les cultivars. Cette équipe a aussi grandement étudié les insectes vecteurs de phytoplasmes dans les vignobles. Plusieurs espèces de cicadelles ont été identifiées et la présence de phytoplasmes a été détecté dans celles-ci (Olivier et al. 2008, 2009a, 2010). Les espèces les plus communes sont *Macrostelus quadilineatus* et les espèces du genre *Erythroneura*. Ces espèces sont reconnues pour être vectrices de phytoplasmes, dont AY. Ce phytoplasme peut donc être transmis d'une plante à l'autre par un insecte vecteur, principalement les cicadelles (Olivier et al. 2009b), mais aussi par le bouturage (Mannini 2007).

La distribution des phytoplasmes dans les différentes parties de la plante est variable et dépend de plusieurs facteurs, comme la variété, l'âge de l'infection et la date d'échantillonnage (Berges et al. 2000; Christensen et al. 2004; Del Serrone et Barba 1996; Siddique et al. 1998). Il est reconnu que la concentration des phytoplasmes peut être très faible dans les plantes ligneuses comme les arbres à fruits et la vigne (Daire 1994; Kartte et Seemüller 1991). De plus, la concentration de phytoplasme dans la plante peut varier durant la saison (Constable et al. 2003; Del Serrone et Barba 1996). Plus spécifiquement, l'étude de Del Serrone et Barba (1996) a observé différentes parties de la vigne et comparé différents stades de développement pour la détection de la jaunisse de l'Aster européenne (European aster yellow). Les résultats ont démontré que tant les feuilles que les tiges peuvent être utilisées pour la détection du phytoplasme et que plus la saison avance, plus le phytoplasme est détectable (en plus grande concentration et s'exprime plus). Enfin, il a été démontré que le stade de développement de la plante joue un rôle dans l'intensité du signal mais aussi dans le pourcentage de plants qui résultent en des réponses positives. Plusieurs techniques utilisant le PCR ont été développées afin de détecter rapidement et de façon fiable les phytoplasmes dans les plantes et spécifiquement pour la vigne (ex: Boudon-Padieu et al. 2003; Christensen et al. 2004; Galetto et Marzachi 2010).

Le cycle de vie du phytoplasme parasite les insectes vecteurs (notamment les cicadelles) qui le transmettent aux plantes en se nourrissant de celle-ci (Olivier et al. 2010). Le pathogène se retrouve dans le phloème des vignes et, ainsi, peut se retrouver dans toutes les parties de la plante. La prévalence des infections aux phytoplasmes varie d'une année à l'autre, en fonction des cépages et des régions (Olivier et al. 2010). Les plants infectés par les phytoplasmes peuvent aussi se remettre de la maladie et ne montrer aucun signe d'infection pendant plusieurs années (Musetti et al. 2004; Maixner et al. 2011). Néanmoins, le pathogène peut persister dans les plants, notamment dans les racines (Musetti et al. 2004). L'infection peut avoir une période de latence de quelques mois à quelques années, période pendant laquelle la maladie peut être transmise (Mannini 2007). Ainsi, les phytoplasmes sont très difficiles à détecter et le suivi de la maladie est fastidieux.

Actuellement, aucune méthode de dépistage de la maladie et de prélèvement des échantillons n'est élaborée pour les cépages cultivés au Québec. Les agronomes envoient des échantillons au laboratoire de diagnostic pour des plants présentant des symptômes douteux. Les résultats obtenus ne concordent pas toujours avec les observations sur le terrain: des résultats négatifs peuvent être obtenus pour des plants présentant des symptômes évidents, tandis que des phytoplasmes peuvent être détectés dans des plants asymptomatiques. Les résultats pourraient varier selon le stade de développement de la vigne et la partie du plant échantillonnée. Dans le cépage Chardonnay, Del Serrone et Barba (1996) ont observé que de l'acide désoxyribonucléique (ADN) de phytoplasmes est détectable dans les feuilles et les racines des vignes infectées dès le débourrement des feuilles. Elles notent que la quantité d'ADN de phytoplasmes atteint son maximum dans les tissus des feuilles durant la période de maturation des raisins (Del Serrone et Barba 1996). Ainsi, il est important de déterminer les procédures précises pour le dépistage des phytoplasmes afin de faciliter le travail des agronomes sur le terrain.

## **Objectifs**

L'objectif principal de ce projet était d'élaborer une méthode de détection efficace des phytoplasmes en vignoble.

Les objectifs spécifiques étaient les suivants:

- 1) déterminer le meilleur stade de développement (floraison 50 %, nouaison, stade petit pois, véraison et récolte);
- 2) identifier la partie de la vigne (feuille, fleur, tige, racine) la plus fiable ou représentative pour détecter les phytoplasmes;

Ce projet est en lien avec des actions établies (en viticulture), plus spécifiquement pour améliorer les connaissances sur les ravageurs en vignoble, dans le plan directeur du comité vigne et vin (CRAAQ 2013).

## **Méthodologie**

### ***Vignobles et cépages***

L'échantillonnage a été effectué dans 5 vignobles répartis dans les différentes régions du Québec. Les vignobles ont des antécédents de phytoplasmes, avec une confirmation du laboratoire de diagnostic du MAPAQ pour la saison 2013. Les vignes échantillonnées avaient des symptômes de maladies à phytoplasmes apparents pour la saison 2013.

### ***Protocole expérimental***

Dans chaque vignoble, trois échantillons (sur trois plants) ont été prélevés à chacune des périodes établies (i.e. à la floraison, nouaison, stade petit pois, véraison et à la récolte) et pour quatre des parties de la plante (i.e. feuille, tige, fleur et racine). Donc, pour un stade donné, il y avait trois feuilles, fleurs, tiges et racine qui ont été envoyés au laboratoire de diagnostic pour analyse (total de 9 échantillons pour le vignoble). Les échantillons étaient récoltés sur les trois mêmes plants dans chaque vignoble pendant les deux années d'échantillonnage. Ainsi, 15 plants infectés en 2013 ont été suivis pendant les saisons 2014 et 2015. Les échantillons étaient expédiés au laboratoire d'écologie microbienne de l'IRDA peu de temps après leur récolte afin de permettre une détection de la présence de phytoplasme. Un protocole précis de collecte d'échantillon était suivi pour la récolte et l'envoi de celui-ci. La présence de phytoplasmes a été évaluée par une méthode PCR standard (Berges et al. 2000; Boudon-Padieu et al. 2003; Margaria et al. 2007; Weintraub et Jones 2010; Galetto et Marzachi 2010).

Lors de la collecte de l'échantillon, les symptômes sur les plants échantillonnés ont été notés à chacun des échantillonnages et classifiés selon les cotes suivantes: 1: absence de symptôme; 2: symptômes légers (5-20%); 3: symptômes importants (20-50%); et 4: symptômes très importants (50-100%).

### ***Paramètres mesurés***

Les paramètres mesurés étaient la cote de sévérité des symptômes et la présence-absence d'ADN de phytoplasme dans les échantillons récoltés. Les variables explicatives étaient la période de récolte (stade de développement) et la partie du plant. De plus, des données historiques de détection de la maladie provenant

du MAPAQ (nombre de cas d'infection par année) et des données météorologiques ont été compilées. Les données météorologiques consistaient en la température maximale, température minimale et la quantité de précipitation observée pour la période hivernale (du 1 novembre jusqu'au 30 avril précédent une année de production) et estivale (du 1er mai au 31 octobre) pour la région de Montréal. Montréal se trouve au centre des principales régions productrices de vignes au Québec (ex. Estrie, Montérégie, Laurentides, Lanaudière), et offre donc une estimation des conditions météorologiques générales pour la production de vigne.

### *Analyse statistique*

Pour la saison 2014, un total de 148 échantillons a été testé par le laboratoire de l'IRDA. Pour 2015, ce fût 143 échantillons testés. L'absence de phytoplasme dans ces échantillons et de symptômes sur les plants échantillonnés a contraint de limiter les analyses statistiques à des analyses descriptives. Des analyses descriptives ont aussi été utilisées pour établir un rapprochement entre les données historiques du MAPAQ et les données météorologiques.

### **Résultats et discussion**

#### *Symptômes et présence de phytoplasmes*

Lors des échantillonnages, aucun symptôme de phytoplasme n'a été noté sur tous les plants échantillonnés, malgré le fait que tous ont été testés positifs au phytoplasme en fin de saison 2013. Les analyses en PCR n'ont détecté aucune présence de phytoplasmes dans aucun des 291 échantillons récoltés en 2014 et 2015 (Tableau 1-3).

Tableau 1 : Effort d'échantillonnage pour la saison 2014

Vignoble	Date de prélèvement										
	Floraison 10-20 juin	Éch Flo	Nouaison 15-30 juin	Éch Nou	Petit pois 5-20 juillet	Éch Pois	Véraison 5-20 août	Éch Vér	Récolte sept-oct	Éch Réc	
Vignoble 1 (bre)	2014-06-10	6	2014-06-26	8	2014-07-16	6	2014-08-18	6	2014-09-24	6	
Vignoble 2 (gag)	2014-06-18	9	2014-07-01	6	2014-07-16	6	2014-08-18	6	2014-09-24	6	
Vignoble 3 (met)	2014-06-23	9	2014-07-01	6	2014-07-12	6	2014-08-27	6	2014-09-24	5	
Vignoble 4 (estrie)	2014-06-25	9	2014-07-09	6	2014-07-22	6	2014-08-20	6	2014-10-08	9	
Vignoble 5 (cha)		0		0	2014-07-23	6	2014-08-29	6	2014-10-10	3	
Sous-total échantillons par stade =		33		26		30		30		29	148,00

Tableau 2 : Effort d'échantillonnage pour la saison 2015

Vignoble	Date de prélèvement									
	Floraison	Éch Flo	Nouaison	Éch Nou	Petit pois	Éch Pois	Véraison	Éch Vér	Récolte	Éch Réc
	10-20 juin		15-30 juin		5-20 juillet		5-20 août		sept-oct	
Vignoble 1	01-06-2015	8		0	02-07-2015	6	13-08-2015	6	17-09-2015	6
Vignoble 2		0		0	02-07-2015	6	13-08-2015	6	17-09-2015	6
Vignoble 3	23-06-2015	9		0	20-07-2015	6	28-08-2015	6	23-10-2015	9
Vignoble 4	23-06-2015	7	08-07-2015	6	23-07-2015	6	26-08-2015	6	08-10-2015	9
Vignoble 5	18-06-2015	8	24-06-2015	6	08-07-2015	6	17-08-2015	6	08-09-2015	9
<b>Sous-total échantillons par stade</b>		<b>32</b>		<b>12</b>		<b>30</b>		<b>30</b>		<b>39</b>
										<b>143,00</b>

Tableau 3 : Observations et résultats des tests PCR pour un vignoble, saison 2014.

No échantillon CRAM	No IRDA	date prélèvement	1er PCR MLO-1	nested PCR MLO-2	date nested PCR	PCR COX	date PCR COX	cote symptôme	date extraction	Note
2014 estrie abc 11	E11a	2014-06-25	neg	neg	2014-09-05	pos	2014-09-03	1	2014-07-03	Phytoplasme présent en 2013, identifié 2 fois, Frontenac rouge
2014 estrie abc 12	E12a	2014-06-25	neg	neg	2014-09-05	pos	2014-09-03	1	2014-07-03	
2014 estrie abc 13	E13a	2014-06-25	neg	neg	2014-09-05	pos	2014-09-03	1	2014-07-03	
2014 estrie abc 11	E11b	2014-06-25	neg	neg	2014-09-05	pos	2014-09-03	1	2014-07-09	
2014 estrie abc 12	E12b	2014-06-25	neg	neg	2014-09-05	pos	2014-09-03	1	2014-07-09	
2014 estrie abc 13	E13b	2014-06-25	neg	neg	2014-09-05	pos	2014-09-03	1	2014-07-09	
2014 estrie abc 11	E11c	2014-06-25	neg	neg	2014-09-05	pos	2014-09-03	1	2014-08-18	
2014 estrie abc 12	E12c	2014-06-25	neg	neg	2014-09-05	pos	2014-09-03	1	2014-08-18	
2014 estrie abc 13	E13c	2014-06-25	neg	neg	2014-09-05	pos	2014-09-03	1	2014-08-18	
2014 estrie ab 21	E21a	2014-07-09	neg	neg	2014-09-05			1	2014-08-18	
2014 estrie ab 22	E22a	2014-07-09	neg	neg	2014-09-05			1	2014-08-18	
2014 estrie ab 23	E23a	2014-07-09	neg	neg	2014-09-05			1	2014-08-18	
2014 estrie ab 21	E21b	2014-07-09	neg	neg	2014-09-05			1	2014-07-15	
2014 estrie ab 22	E22b	2014-07-09	neg	neg	2014-09-05			1	2014-07-15	
2014 estrie ab 23	E23b	2014-07-09	neg	neg	2014-09-05			1	2014-07-15	
2014 estrie ab 31	E31a	2014-07-22	neg	neg	2014-09-05			1	2014-08-25	
2014 estrie ab 32	E32a	2014-07-22	neg	neg	2014-09-05			1	2014-08-25	
2014 estrie ab 33	E33a	2014-07-22	neg	neg	2014-09-05			1	2014-08-25	
2014 estrie ab 31	E31b	2014-07-22	neg	neg	2014-09-22			1	2014-08-29	
2014 estrie ab 32	E32b	2014-07-22	neg	neg	2014-09-22			1	2014-08-29	
2014 estrie ab 33	E33b	2014-07-22	neg	neg	2014-09-22			1	2014-08-29	
2014 estrie ab 41	E41a	2014-08-20	neg	neg	2014-09-22			1	2014-09-10	
2014 estrie ab 42	E42a	2014-08-20	neg	neg	2014-09-22			1	2014-09-10	
2014 estrie ab 43	E43a	2014-08-20	neg	neg	2014-09-22			1	2014-09-10	
2014 estrie ab 41	E41b	2014-08-20	neg	neg	2014-09-22			1	2014-09-10	
2014 estrie ab 42	E42b	2014-08-20	neg	neg	2014-09-22			1	2014-09-10	
2014 estrie ab 43	E43b	2014-08-20	neg	neg	2014-09-22			1	2014-09-10	
2014 estrie abd 51	E51a	2014-10-08	neg	neg	2014-10-27			1	2014-10-17	
2014 estrie abd 52	E52a	2014-10-08	neg	neg	2014-10-27			1	2014-10-17	
2014 estrie abd 53	E53a	2014-10-08	neg	neg	2014-10-27			1	2014-10-17	
2014 estrie abd 51	E51b	2014-10-08	neg	neg	2014-10-27			1	2014-10-17	
2014 estrie abd 52	E52b	2014-10-08	neg	neg	2014-10-27			1	2014-10-17	
2014 estrie abd 53	E53b	2014-10-08	neg	neg	2014-10-27			1	2014-10-17	
2014 estrie abd 51	E51d	2014-10-08	neg	neg	2014-10-27			1	2014-10-17	
2014 estrie abd 52	E52d	2014-10-08	neg	neg	2014-10-27			1	2014-10-17	
2014 estrie abd 53	E53d	2014-10-08	neg	neg	2014-10-27			1	2014-10-17	
	a = feuille									
	b = tige									
	c = fleur									
	d = racine									

Ainsi, les plants qui étaient infectés en 2013 se sont remis de l'infection ou ont conservé dans une partie de la plante le phytoplasme en état de latence, et conservé cet état sur au moins deux étés complets. Deux hypothèses ont été émises pour expliquer cette absence de symptômes et d'ADN de phytoplasme : 1) les vignes ont guéri après l'infection, et 2) l'expression des phytoplasmes demande des conditions météorologiques particulières. Tout comme dans notre étude, Musetti et al. (2007) n'ont détecté aucune trace de phytoplasmes dans les feuilles de vignes remises de la maladie. Dans d'autres études sur les pommiers

infectés aux phytoplasmes, Musetti et al. (2004) et Carraro et al. (2004) ont révélé que des traces de phytoplasmes au niveau des racines dans les arbres remis de la maladie. Ainsi, les phytoplasmes pourraient avoir une période de latence ou d'inactivité dans les racines de leurs hôtes. Cependant, notre étude indique que ça pourrait ne pas être le cas dans la vigne car nous n'avons détecté aucune trace de phytoplasmes dans les racines de vignes avec un historique d'infection.

Le processus de rémission des plants de vigne suite à une infection au phytoplasme est commun et documenté pour les maladies à phytoplasme les plus communes en Europe, soit le Bois noir et la Flavescence dorée (Maixner et al. 2011). Cette capacité à se défendre contre le pathogène engendre des changements au niveau physiologiques dans les vignes (Albertazzi et al. 2009; Landi et Romanazzi 2011). Albertazzi et al. (2009) ont observé que l'expression de quelques centaines de gènes est modifiée dans les vignes infectées par le phytoplasme, ce qui suggère que le mécanisme de défense est complexe et implique plusieurs voies métaboliques. La rémission des vignes pourrait notamment résulter en une hausse du peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ) retrouvé dans le phloème et dans les feuilles (Musetti et al. 2007; Gambino et al. 2013). De plus, la rémission pourrait impliquer des changements dans le transport des sucres, alors que l'activité métabolique reliée aux sucres serait accrue au niveau des feuilles (Santi et al. 2013). Ainsi, des changements physiologiques pourrait avoir une incidence sur la qualité des vignes et, ultimement, du vin. Les vignes infectées par les phytoplasmes subissent des changements aux niveaux des composés phénoliques dans les baies (Rusjan et al. 2012). De plus, les vignes (Cabernet sauvignon, Chardonnay et Vermentino) remises d'une infection aux phytoplasmes retrouvent en deux ans le même rendement que les vignes saines (Garau et al. 2007; Zahavi et al. 2013). Le rendement l'année suivant l'infection serait légèrement inférieure au rendement des vignes saines (Garau et al. 2007; Zahavi et al. 2013). Il y aurait donc un coût physiologique à la défense immunitaire contre le pathogène. Toutefois, Romanazzi et al. (2013) n'ont observé aucune différence qualitative ou quantitative dans les raisins des vignes saines ou remises (rémission naturelle ou induite artificiellement) pour le cépage Chardonnay. Le coût physiologique de la rémission pourrait donc varier en fonction de certains facteurs toujours inconnus. Il n'est cependant pas connu si les vignes remises, notamment les cépages cultivés au Québec, connaissent de pareils changements.

La capacité des vignes à se remettre d'une infection aux phytoplasmes peut varier d'un cépage à l'autre. Par exemple, Maixner et al. (2011) rapportent que le cépage Riesling a un taux de rémission de 38 %, alors qu'il est de 59 % pour le Pinot noir. La durée moyenne de rémission est de 3,3 ans pour le Riesling et de 6,6 ans pour le Pinot noir (Maixner et al. 2011). Le potentiel de rémission aux infections aux phytoplasmes et la durée de la rémission des cépages cultivés au Québec ne sont pas connus. Nos résultats suggèrent cependant que les cépages cultivés au Québec ont un fort potentiel de rémission et/ou que la rudesse de l'hiver

québécois favorise la rémission des vignes. De futures études permettraient de mieux comprendre ce phénomène sous nos conditions et pour nos cépages. De telles informations permettraient d'améliorer la gestion de la maladie.

Dans une culture pérenne comme la vigne, le remplacement des plants infectés peut s'avérer en fait plus préjudiciable que la maladie elle-même (Pavan et al. 2012). Des inducteurs de résistance, tel le benzothiadiazole et le 2-glutathione-plus-oligosaccharine (Romanazzi et al. 2013), peuvent réduire les risques d'infection aux phytoplasmes sans compromettent la qualité des raisins. L'utilisation d'auxine peut aussi favoriser la rémission des plants infectés (Perica 2008). Cette « vaccination » des vignes prend la forme de pulvérisation de la canopée. Cette approche pratique pourrait être une avenue alternative intéressante dans la gestion des phytoplasmes dans la vigne. Maixner et al. (2011) notent que les vignes qui se sont remises d'une infection aux phytoplasmes sont moins susceptibles de développer à nouveau la maladie que les vignes saines, ce qui suggère qu'une forme d'immunité pourrait s'instaurer après une première infection. Les inducteurs de résistance et les traitements à l'auxine pourraient donc s'avérer efficace à long terme. Cette hypothèse reste cependant à être vérifiée.

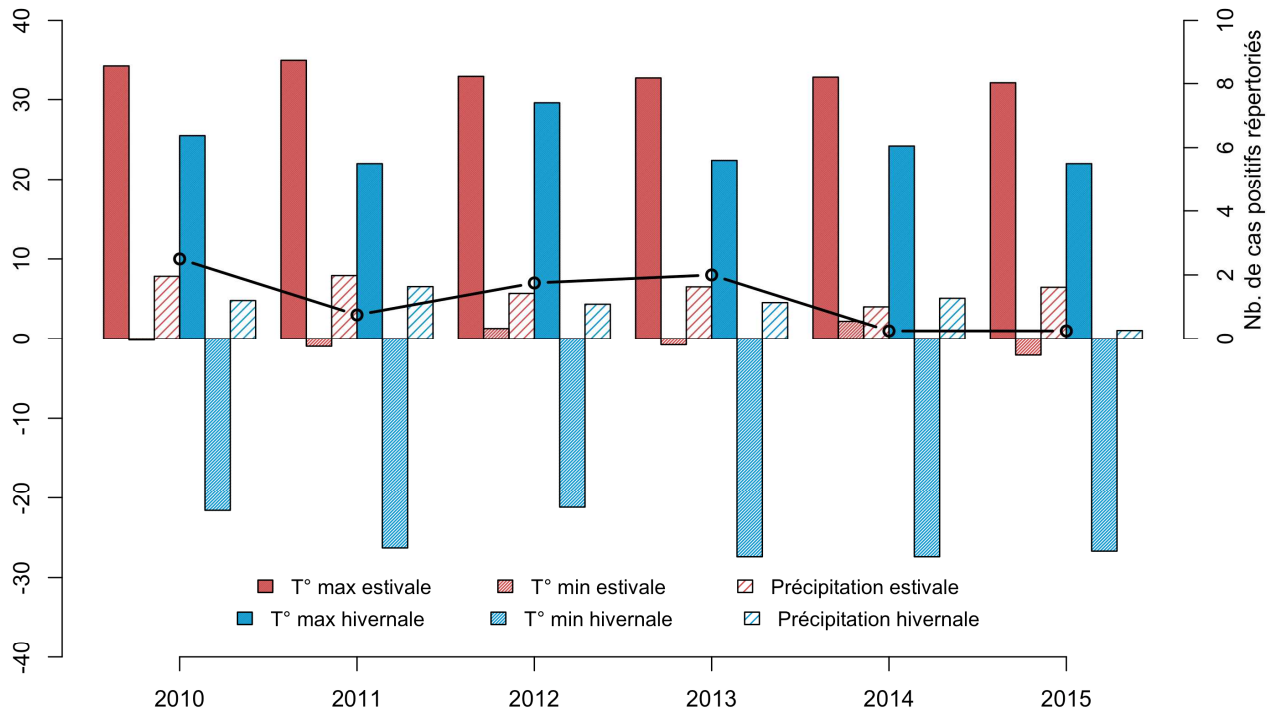
#### *Lien entre les données historiques et météorologiques*

L'analyse descriptive du lien entre les données historiques du MAPAQ et les données météorologiques ne montre aucune tendance qui pourrait appuyer l'hypothèse que l'expression des phytoplasmes demande des conditions météorologiques particulières (Figure 1). Le nombre maximal de cas positifs de jaunisse de l'aster dans la vigne a été rapporté en 2010 (10 cas), tandis qu'il y a eu seulement un cas par année en 2014 et 2015. En 2012 et en 2013, il y avait respectivement 7 et 8 cas d'infection aux phytoplasmes dans les vignobles québécois. La seule tendance qui pourrait être soulignée est que les années de fort écart entre la température maximale enregistrée et la température minimale semblent être moins favorables aux phytoplasmes. Les années où moins de cinq cas positifs de phytoplasmes ont été observé (2011, 2014 et 2015), il y avait un écart de température moyen de 60,07 °C, tandis que cet écart était de 56,7 °C pour les années plus marquées par les infections aux phytoplasmes (2010, 2012 et 2013) (Figure 2). Cette tendance devrait être vérifiée sur une plus longue période pour être confirmée ou infirmée par un test statistique.

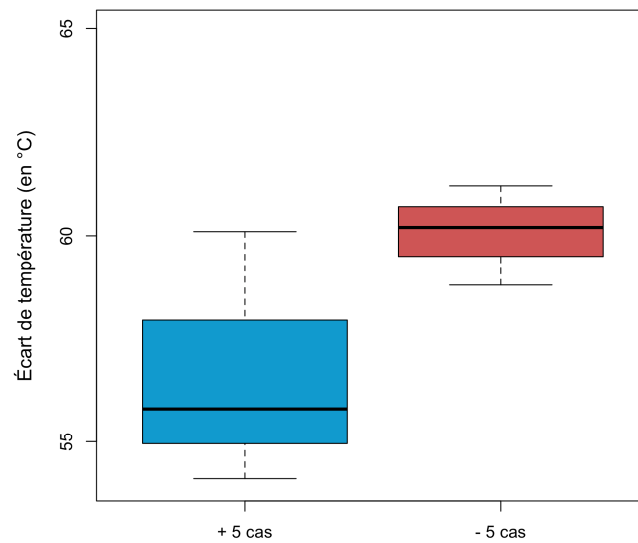
Dans une autre étude, Olivier et al. (2010) observent une forte variation de la prévalence de phytoplasmes d'une année à l'autre (de 2006 à 2010). Ces variations importantes sont confirmées par les données historiques du MAPAQ (de 2010 à 2015). De plus, Olivier et al. (2010) notent que la susceptibilité de certains cépages au Canada diffère de celle rapportée ailleurs dans le monde. Ils proposent que cette différence soit due à divers facteurs tels que le climat, le type de porte-greffes, les souches de phytoplasmes



et les pratiques culturales. Ces hypothèses devraient cependant être testées pour vraiment identifier le rôle de ses facteurs dans la prévalence d'infection aux phytoplasmes.



**Figure 1:** Variation du nombre cas positifs de jaunisse de l'aster dans la vigne selon les données du MAPAQ de 2010 à 2015, et données météorologiques présent dans la grande région de Montréal durant cette période. Les barres en rouges représentent les mesures de températures et de précipitations estivales (du 1er mai au 31 octobre), tandis que les barres bleues représentent les mesures hivernales (du 1er novembre au 30 avril avant la saison de production). L'axe des ordonnées représente à la fois la température (en °C) et le niveau de précipitation (en dm).



**Figure 2.** Écart de température entre les températures maximales et minimales enregistrées durant l'été de production (du 1er mai au 31 octobre) et durant l'hiver avant la saison de production (du 1er novembre au 30 avril) en fonction des années à fort incidence de phytoplasmes (plus de 5 cas observés) et de faible incidence (moins de 5 cas).

L'effet de la météo sur l'occurrence d'infection aux phytoplasmes dans la vigne n'est que peu connu aussi bien chez nous qu'ailleurs dans le monde. La relation entre les conditions climatiques et la présence des insectes vecteurs de la maladie est aussi peu documentée (Murrall et al. 1996; Panassiti et al. 2013). Murrall et al. (1996) notent que les insectes vecteurs sont plus infectieux à des températures variant entre 25 et 30 °C. En Allemagne, l'incidence de la fulgore du stolbur *Hyalesthes obsoletus* Signoret (Hemiptera: Cixiidae) dépend de facteurs environnementaux du sol et de l'air, particulièrement du taux de précipitation annuel (Panassiti et al. 2013). De telles relations entre les facteurs environnementaux et l'incidence des vecteurs de phytoplasmes au Québec restent à être étudiées sous nos conditions.

## Conclusion

Notre expérience propose que les vignes québécoises ont un potentiel de rémission élevé aux infections aux phytoplasmes. Aucune des vignes étudiées n'a été testée positif aux phytoplasmes en 2014 et 2015 malgré l'échantillonnage de diverses parties de la plante à plusieurs stades de développement. Ces vignes étaient pourtant infectées par la maladie en 2013. De plus amples recherches devraient être menées sur la capacité

des vignes québécoises à se remettre d'une infection, le potentiel des inducteurs de résistance comme approche de prévention et les facteurs météorologiques pouvant influencer la prévalence de phytoplasmes et expliquer les variations annuelles.

## **Remerciement**

Les auteurs tiennent à remercier les agronomes qui ont activement participé au projet par la collecte et l'envoi d'échantillons, soit Gaëlle Dubé, Jean-François Péloquin, Raphaël Fonclara, Henri Drocourt et Émilie Turcotte. Ces travaux ont été réalisés grâce à une aide financière du Programme de soutien à l'innovation en agroalimentaire, un programme issu de l'accord du cadre Cultivons l'avenir conclu entre le ministère de l'Agriculture, des Pêcheries et de l'Alimentation et Agriculture et Agroalimentaire Canada.

## **Références**

- Albertazzi, G., Milc, J., Caffagni, A., Francia, E., Roncaglia, E., Ferrari, F., ... & Pecchioni, N. (2009). Gene expression in grapevine cultivars in response to Bois Noir phytoplasma infection. *Plant Science*, 176(6), 792-804.
- Berges, R., Rott, M., & Seemüller, E. (2000). Range of phytoplasma concentrations in various plant hosts as determined by competitive polymerase chain reaction. *Phytopathology*, 90(10), 1145-1152.
- Boudon-Padieu, E., Béjat, A., Clair, D., Larrue, J., Borgo, M., Bertotto, L., & Angelini, E. (2003). Grapevine yellows: Comparison of different procedures for DNA extraction and amplification with PCR for routine diagnosis of phytoplasmas in grapevine. *VITIS-Journal of Grapevine Research*, 42(3), 141.
- Carraro, L., Ermacora, P., Loi, N., & Osler, R. (2004). The recovery phenomenon in apple proliferation-infected apple trees. *Journal of Plant Pathology*, 141-146.
- Christensen, N.M., M. Nicolaisen, M. Hansen et A. Schulz. 2004. Distribution of Phytoplasmas in infected plants as revealed by real-time PCR and bioimaging. *Molecular Plant-microbe Interactions* 17:1175-1174.
- Constable, F.E., K.S. Gibb, R.H. Symons. 2003. Phytoplasmas and their interactions with hosts. *Trands in Plant Science* 10: 526-535.

Daire, X.. 1994. Détection et différenciation de mucoplasma-like-organism (MLO) associés aux maladies de la vigne de type jaunisse. Thèse Doctorat, Univ. Bourgogne.

Del Serrone, P., & Barba, M. (2015). Importance of the vegetative stage for phytoplasma detection in yellow-diseased grapevines. *VITIS-Journal of Grapevine Research*, 35(2), 101.

Endeshaw, S. T., Sabbatini, P., Romanazzi, G., Schilder, A. C., & Neri, D. (2014). Effects of grapevine leafroll associated virus 3 infection on growth, leaf gas exchange, yield and basic fruit chemistry of *Vitis vinifera* L. cv. Cabernet Franc. *Scientia Horticulturae*, 170, 228-236.

Galetto, L., Marzachi, C., Weintraub, P. G., & Jones, P. (2009). 1 Real-time PCR Diagnosis and Quantification of Phytoplasmas. *Phytoplasmas: genomes, plant hosts and vectors*, 1-18.

Gambino, G., Boccacci, P., Margaria, P., Palmano, S., & Gribaudo, I. (2013). Hydrogen peroxide accumulation and transcriptional changes in grapevines recovered from flavescence doree disease. *Phytopathology*, 103(8), 776-784.

Garau, R., Sechi, A., Prota, V. A., & Moro, G. (2007). Productive parameters in Chardonnay and Vermentino grapevines infected with "bois noir" and recovered in Sardinia. *Bulletin of insectology*, 60(2), 233.

Kartte, S. et E. Seemüller. 1991. Susceptibility of grafts of *Malus taxa* and hybrids to apple proliferation disease. *Journal of Phytopathology* 131: 137-148.

Landi, L., & Romanazzi, G. (2011). Seasonal variation of defense-related gene expression in leaves from Bois noir affected and recovered grapevines. *Journal of Agricultural and Food chemistry*, 59(12), 6628-6637.

Maixner, M., Kroehner, D., & Kappel, Y. (2011, January). Symptom remission and recovery in 'bois noir' infected grapevines. In *Bulletin of Insectology* (Vol. 64, No. Supplement, pp. S175-S176). Department of Agroenvironmental Sciences and Technologies.

Mannini, F. (2007). Hot water treatment and field coverage of mother plant vineyards to prevent propagation material from phytoplasma infections. *Bulletin of Insectology*, 60(2), 311.

Margaria, P., Rosa, C., Marzachi, C., Turina, M., & Palmano, S. (2007). Detection of Flavescence doree phytoplasma in grapevine by reverse-transcription PCR. *Plant Disease*, 91(11), 1496-1501.

Murrall, D. J., Nault, L. R., Hoy, C. W., Madden, L. V., & Miller, S. A. (1996). Effects of temperature and vector age on transmission of two Ohio strains of aster yellows phytoplasma by the aster leafhopper (Homoptera: Cicadellidae). *Journal of Economic Entomology*, 89(5), 1223-1232.

Musetti, R., di Toppi, L. S., Ermacora, P., & Favali, M. A. (2004). Recovery in apple trees infected with the apple proliferation phytoplasma: an ultrastructural and biochemical study. *Phytopathology*, 94(2), 203-208.

Olivier, C., B. Galka, J. Saguez, C. Vincent, T. Lowery, L. Stobbs, K. Whybourne, L. Bittner et C. Xiansheng. 2010. Les jaunisses à phytoplasmes dans les vignobles canadiens. Passés, présents et futurs projets de recherche. *Entomologie faunistique* 63: 87-90.

Olivier, C., D.T., Lowery, C. Vincent, L.M. Stobbs, J. Saguez, B. Galka et L. Bittner. 2008. o.46-Phytoplasma diseases in Canadian vineyards. ENDURE International Conference, 12-15 Octobre 2008, France p1-3.

Olivier, C., D.T., Lowery et L.M. Stobbs. 2009a. Phytoplasma diseases and their relationships with insect and plant hosts in Canadian horticultural and field crops. *Canadian Entomologist* 141: 425-462.

Olivier, C., D.T., Lowery, L.M. Stobbs, C. Vincent, B. Galka, J. Saguez, L. Bittner, R Johnson, M. Rott, C. Masters et M. Green. 2009b. First report of Aster Yellow phytoplasma ('Candidatus Phytoplasma asteris') in Canadian grapevines. *Plant Disease* 93: 669.

Panassiti, B., Breuer, M., Marquardt, S., & Biedermann, R. (2013). Influence of environment and climate on occurrence of the cicadid planthopper *Hyalesthes obsoletus*, the vector of the grapevine disease 'bois noir'. *Bulletin of entomological research*, 103(06), 621-633.

Pavan, F., Nicola, M. O. R. I., Bressan, S., & Mutton, P. (2012). Control strategies for grapevine phytoplasma diseases: factors influencing the profitability of replacing symptomatic plants. *Phytopathologia Mediterranea*, 51(1), 11-22.

Perica, M. (2008). Auxin-treatment induces recovery of phytoplasma-infected periwinkle. *Journal of applied microbiology*, 105(6), 1826-1834.

Romanazzi, G., D'Ascenzo, D., & Murolo, S. (2009). Field treatment with resistance inducers for the control of grapevine Bois noir. *Journal of Plant Pathology*, 677-682.

Rott, M., Johnson, R., Masters, C., & Green, M. (2007). First report of bois noir phytoplasma in grapevine in Canada. *Plant disease*, 91(12), 1682-1682.

Rusjan, D., Veberič, R., & Mikulič-Petkovšek, M. (2012). The response of phenolic compounds in grapes of the variety 'Chardonnay' (*Vitis vinifera* L.) to the infection by phytoplasma Bois noir. *European journal of plant pathology*, 133(4), 965-974.

Santi, S., De Marco, F., Polizzotto, R., Grisan, S., & Musetti, R. (2013). Recovery from stolbur disease in grapevine involves changes in sugar transport and metabolism. *Front. Plant Sci*, 4(171), 10-3389.

Siddique, A.B.M, J.N. Guthrie, K.B. Walsh, D.T. White et P.T. Scott. Histopathology and within-plant distribution of the Phytoplasma associated with Australian Papaya dieback. *Plant Disease* 82: 1112-1120.

Weintraub, P.G., Jones, P. 2010. *Phytoplasmas: Genomes, plant hosts and vectors*. CABI, Preston, United Kingdom.

Zahavi, T., Sharon, R., Sapir, G., Mawassi, M., Dafny-Yelin, M., & Naor, V. (2013). The long-term effect of Stolbur phytoplasma on grapevines in the Golan Heights. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 19(2), 277-284.