

Xylella fastidiosa

Projet européen H2020 POnTE

Avancées et perspectives des travaux au LSV



Photo : Anses - LSV



16 septembre 2016

Françoise Poliakoff - Anses – Laboratoire de la santé des végétaux
Unité bactériologie, virologie, OGM - Angers

Projet européen POnTE

'Organismes nuisibles menaçant l'Europe'



Donato Boscia

CNR-Institut pour la protection durable des plantes, SS Bari

Horizon 2020

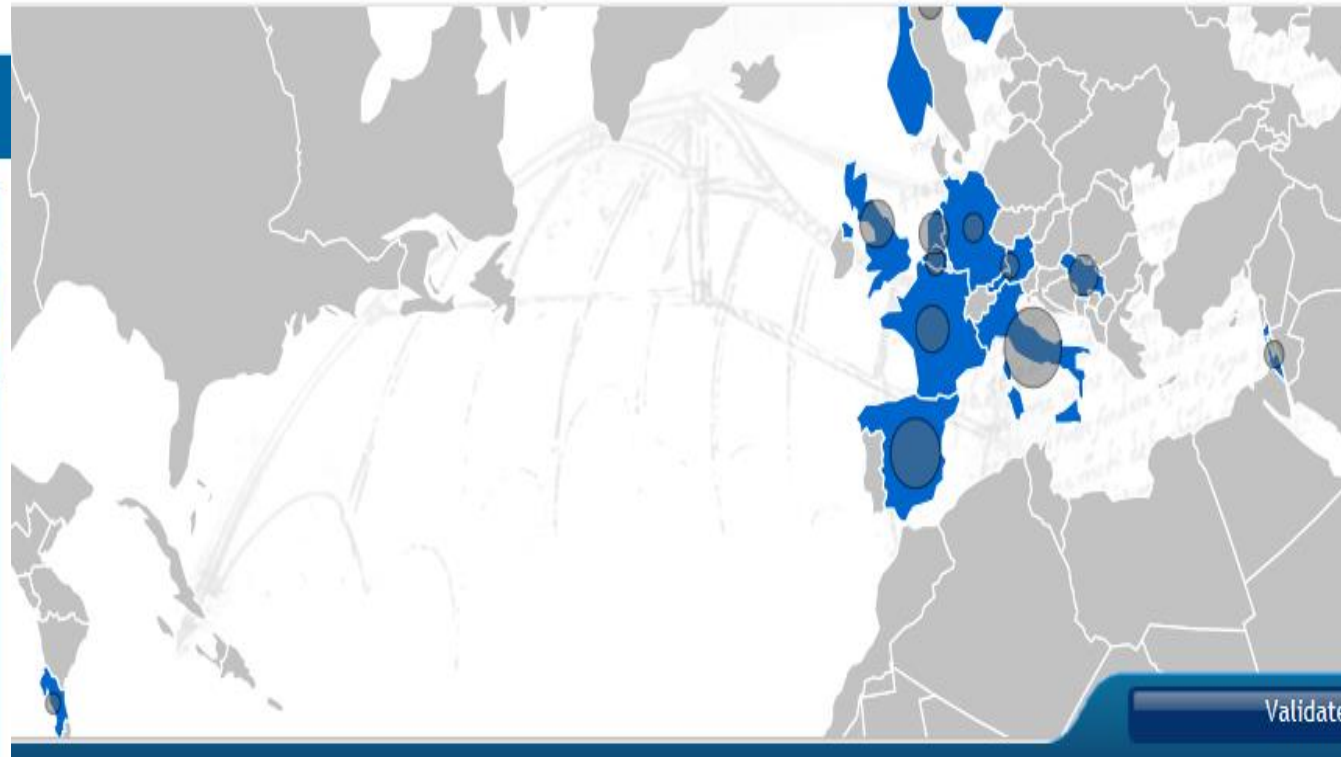
SFS-03a-2014: organismes natifs ou étrangers nuisibles pour l'agriculture ou la forêt



MY PROJECT

 **HORIZON 2020**

Call: H2020-SFS-2014-2
Type of Action: RIA
Acronym: POnTE
Current Phase: Grant preparation
Number: 635646
Duration: 48 months
Start Date:
Estimated Project Cost:
€6,918,365.25
Requested EU Contribution:
€6,850,000.00



Durée: **4 ans** (Nov. 2015-Nov. 2019)

Consortium du Projet



NIBIO
NORWEGIAN INSTITUTE OF
BIOECONOMY RESEARCH



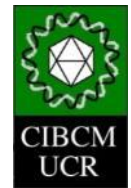
anses
French agency for food, environmental
and occupational health & safety



25 PARTICIPANTS 13 PAYS



120 CHERCHEURS





Budget du Projet

Pays de l'UE	BUDGET ET BENEFICIAIRES
ITALIE	1.760.200,00 CNR-IPSP, UNIBA-DISSPA, AGRITEST, ACLI RACALE
FRANCE	604.500,00 INRA, ANSES, VILMORIN
ESPAGNE	1.356.300,00 CSIC-ICA, CSIC-IAS, IVIA-AC, IVIA-PPBC, CITOLIVA, AGR VILLENA
BELGIQUE	199.500,00 AUREA IMAGING
PAYS-BAS	474.300,00 WU, CERTIS EUR
AUTRICHE	180.650,00 BFW
ROYAUME UNI	620.750,00 SG-SASA, FORESTRY RES AG, A L TOZER
ALLEMAGNE	293.300,00 LOEWE, PRC
FINLANDE	346.000,00 LUKE

Coordinateur du Consortium

Italian National Research Council
Institute for Sustainable Plant Protection
CNR-IPSP, Bari (Italy)

PAYS hors-UE	BUDGET AND BENEFICIAIRES
NORVEGE	300.000,00 NIBIO
COSTA RICA	117.500,00 UCR
ISRAËL	200.000,00 ARO VOLCANI
SERBIE	451.000,00 UB-FA



Pathosystèmes ciblés

- *Xylella fastidiosa* (Xf) et ses vecteurs hémiptères
- ‘*Candidatus Liberibacter solanacearum*’ et ses vecteurs psylles
- *Hymenoscyphus fraxineus* (anamorph. *Chalara fraxinea*) et les nouvelles espèces exotiques de *Phytophthora*



Objectifs

Pour chaque cible, les activités de recherche implémenteront l'état de l'art et fourniront de nouvelles bases scientifiques pour porter les **mesures de gestion durable de ces maladies.**

Les objectifs spécifiques des différents pathosystèmes reposent sur une approche de recherche multidisciplinaire ayant pour cible les besoins pratiques des parties prenantes et utilisateurs finaux.



Principaux livrables

- Identification de **biomolécules** pouvant être brevetées, produites, formulées et utilisées pour prévenir ou réduire la colonisation de l'hôte
- Identification de produits chimiques préventifs pour lutter contre l'acquisition de *Xf* par **les insectes vecteurs**, tels que le Cercope des prés et autres cicadelles
- Sélection de variétés cultivées **tolérantes ou résistantes**
- Identification de bactéries endophytes pouvant **protéger de *Xf***
- Développement de méthodes de **détection précoce** des agents pathogènes pouvant être utilisées pour les contrôles à l'importation dans les ports afin de se prémunir contre l'introduction des agents pathogènes et organismes nuisibles exotiques
- Identification d'un agent de **contrôle biologique des insectes vecteurs** de *Xf*
- Développement **de méthodes de gestion** permettant d'atténuer l'impact et de limiter la dispersion des maladies émergentes et organismes nuisibles étrangers

La grande équipe....





POnTE sur la toile



www.ponteproject.eu



info@ponteproject.eu



www.facebook.com/ponteprojecteu



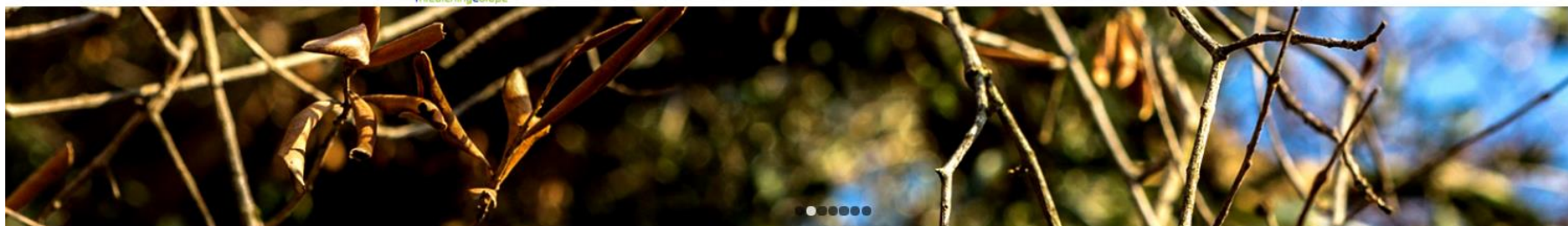
[@ponteprojecteu](https://twitter.com/ponteprojecteu)



[Ponte Project](https://www.youtube.com/channel/UC...)



[Ponte Project EU](https://plus.google.com/...)



 XYLELLA FASTIDIOSA

 Ca. LIBERIBACTER SOLANACEARUM

 EMERGING DISEASES OF FORESTS

LATEST NEWS



Live streaming of International Workshop on Xylella fastidiosa

18/04/2016 / in PONTE NEWS /

Will be held in Valenzano (Bari, Italy), from 19th to 22th April 2016, an International Workshop on

EVENTS



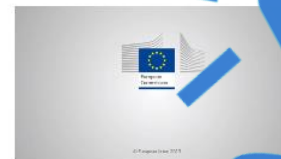
MEETINGS
Rome kick-off meeting

COMMUNICATION

GALLERY



PHOTO GALLERY
Rome kick-off meeting



EVÈNEMENTS PONTE



Horizon 2020
European Union funding
for Research & Innovation

PONTE
PestOrganisms
ThreateningEurope



Réunion de lancement à Rome (Italie) 27 Novembre, 2015

Diffusion



**Décembre 2015, Izmir (Turquie)
Projet POnTE présenté par
Maria Saponari, CNR-IPSP (Italie)**

Diffusion



Food and Agriculture Organization of the United Nations

International Plant Protection Convention
Protecting the world's plant resources from pests

CIHEAM
VAL DI BARI

FAO-IPPC-CIHEAM International Workshop
on

Xylella fastidiosa
&
the Olive Quick Decline Syndrome (OQDS)

19-22 April, 2016
CIHEAM/Istituto Agronomico Mediterraneo of Bari
Via Ceglie, 9 70010 Valenzano (BA)
ITALY

Avril 2016, CIHEAM-IAMB, Bari (Italie)

FAO-IPPC-CIHEAM workshop sur “*Xylella fastidiosa* et le syndrome du déclin rapide de l’olivier (OQDS)”. Projet PONTE présenté par Donato Boscia, CNR-IPSP (Bari)

Diffusion



http://www.ponteproject.eu/conferences/confer

A conference on challenges...

Reserved Area Newsletter Subscription Send Contribution f t g+ YouTube RSS

Home About Partners People Research Events Communication News Contacts Q

POnTE
PestOrganisms
ThreateningEurope

A conference on challenges for risk assessment of Xylella organized by ANSES in Paris

02/07/2016 / in CONFERENCES /

On March 10, 2016 a conference on “Challenges for Risk Assessment and Risk Management for crops and the environment?” was held in Paris, at Bâtiment Copernic–Maisons Alfort, organized by Dr. Charles Manceau, director of Plant Health sector at ANSES.

Xylella fastidiosa is a bacterium responsible for emerging diseases in France and Italy which constitute a threat to many agricultural sectors, green spaces and forests. The outbreak detected in Italy in 2013 is ravaging olive orchards in Puglia. Although the outbreaks in Corsica and Provence-Alps-Riviera are caused by a different strain that shows less virulent bacterial blight, this is nevertheless a major emergent pest problem.

The conference aimed at taking stock of the state of knowledge on these bacteria before the start of the growing season, to maximize the resources available for risk assessment monitoring and the fight

Popular Recent Comments

NATURE.COM | Gridlock over Italy's olive tree deaths starts...
20/05/2016 - 09:05

The Court of Justice of the European Union on the Xylella...
10/06/2016 - 19:45

Xylella fastidiosa chosen as a case study for the IPPC implementation...
11/06/2016 - 07:00

POnTE Project presented at the II TRAF00N Training Workshop...
12/06/2016 - 13:59

FR 17:36 12/09/2016


Conférence concernant *Xylella fastidiosa* organisée par l'Anses
Le 10 mars 2016 à Paris.

Diffusion



← → http://www.ponteproject.eu/conferences/a-conf ↻ "Xylella fastidiosa one year ..." ×

Reserved Area Newsletter Subscription Send Contribution f t g+ YouTube RSS


[Home](#) [About](#) [Partners](#) [People](#) [Research](#) [Events](#) [Communication](#) [News](#) [Contacts](#) 🔍

"Xylella fastidiosa one year after ?", a conference in Paris





13/09/2016 / in CONFERENCES /

On September 16, 2016, RMT VegDiag (Réseau mixte technologique "Diagnostic en santé végétale"), a French technological network associating all stakeholders interested in diagnostics in plant health, will organize a conference entitled: "*Xylella fastidiosa* one year after? Knowledge's and perspectives of research and development".

Several members of PONTE will participate. Dr. [Marie-Agnès Jacques](#) (INRA) and Dr. [Françoise Poliakoff](#) (Anses) will talk about "Diversity of strains of *Xylella fastidiosa* in France: how many introductions and which risk for agriculture?" and "EU PONTE Project: general main objectives, and tasks implemented by Anses", respectively. Prof. [Domenico Bosco](#) (UNITO-DISAFSA) will give information on the epidemic situation in Italy and the role of vectors and Dr. [Philippe](#)

<http://www.ponteproject.eu/press-review/nature-com-gridlock-italys-olive-tree-deaths-starts-ease/> the knowledge available on vectors

Popular Recent Comments

- 
NATURE.COM | Gridlock over Italy's olive tree deaths
 NATURE.COM | Gridlock over Italy's olive tree deaths starts to ease
 20/05/2016 - 09:05
- 
Xylella fastidiosa chosen as a case study for the IPPC implementation...
 11/06/2016 - 07:00
- 
PONTE Project presented at the II TRAF00N Training Workshop...
 12/06/2016 - 13:59
- 
GRANDES CULTIVOS.COM | Situación actual de Xylella fastidiosa...
 16/06/2016 - 09:33

FR 17:58 13/09/2016

POnTE et *Xylella fastidiosa*



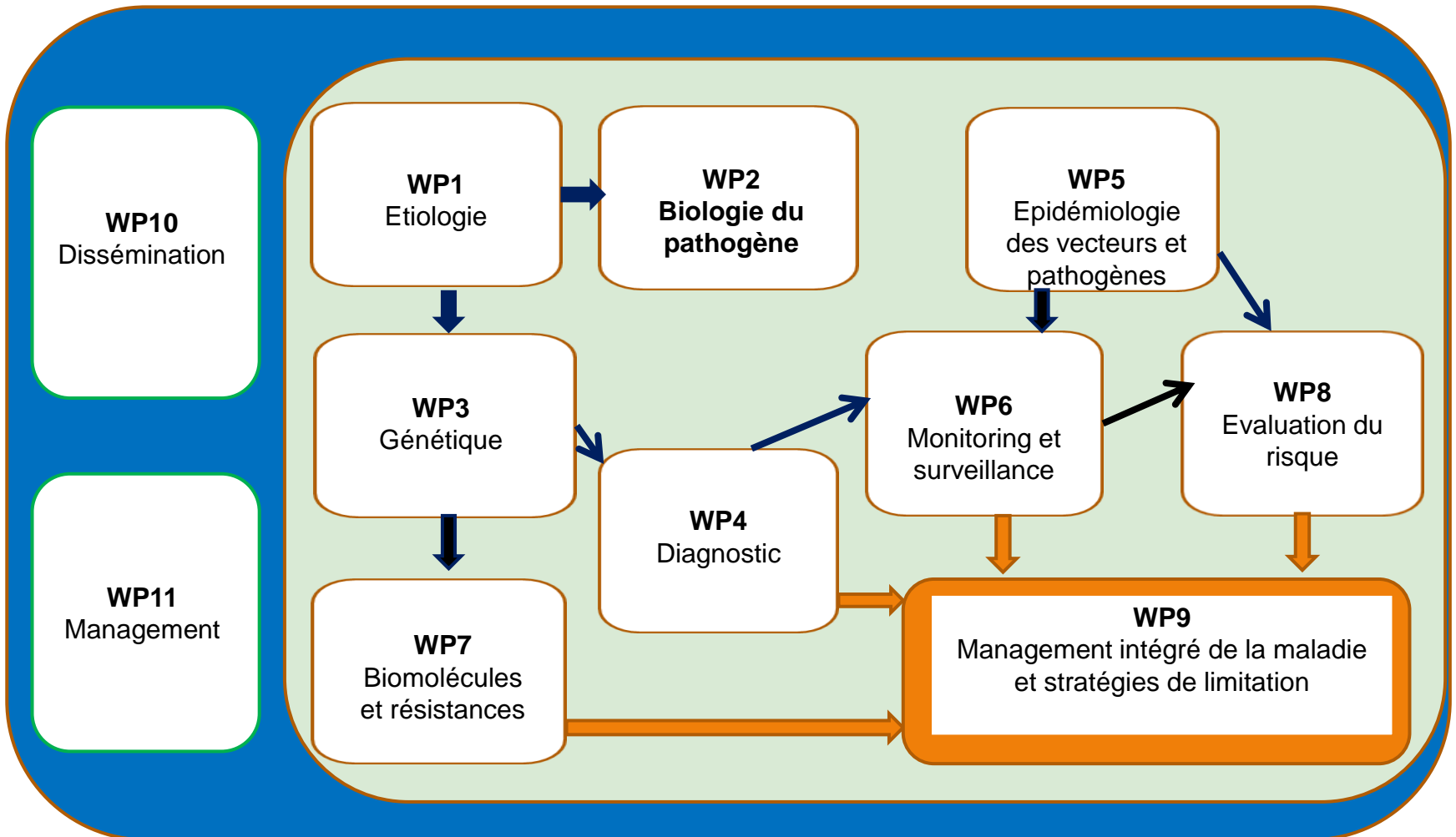
40%
DU BUDGET TOTAL

16
PARTENAIRES

9
PAYS



Plan de travail du projet



Anses : projet POnTE



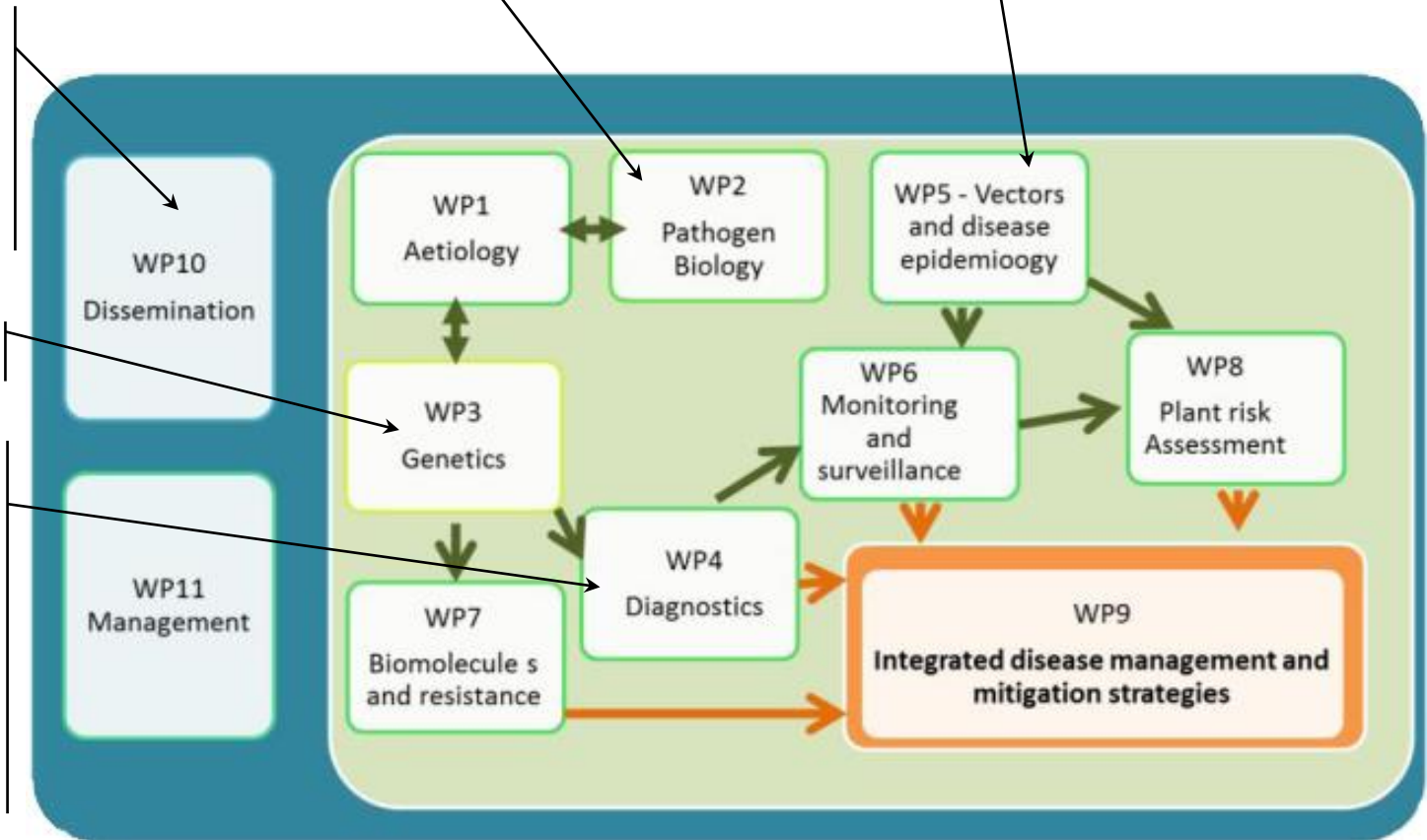
Collection de souches, pathogénicité sur Citrus – Caféier – Pervenche, Luzerne et plantes ornementales, étude de la colonisation des plantes hôtes

Identification des vecteurs effectifs et proposition de méthodes d'échantillonnage

Ateliers pour améliorer la capacité des partenaires à la détection précoce d'émergence de *Xylella fastidiosa*

Génétique de *Xylella*

Validation d'anticorps pour l'IF, technique d'extraction d'ADN par automate sur plantes et insectes, validation de PCR pour identification des souches (RT PCR, HRM)



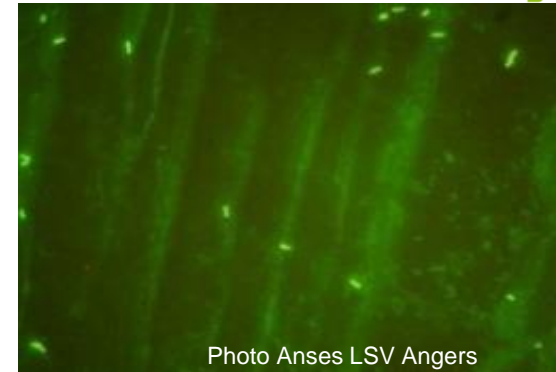
Avancées et perspectives des travaux au LSV

Partie des travaux réalisés en collaboration avec l'INRA - Emersys



Les avancées: résultat d'une anticipation

- **Depuis 2002:** tests pour la station de quarantaine (IF – ELISA) sur *Vitis* sp., *Citrus* sp., *Prunus* sp.
- **2010:** formation lors du workshop Bari (Italie)
- **2011- 2012:** analyse de risque phytosanitaire (Saisine N° 2012-SA-0121) - production d'antisérum pour IF
- **2012; 2014; 2015:** premières détections de *X. fastidiosa* sur caféiers interceptés et isolement de souches



Les avancées: résultat d'une anticipation

- **Depuis 2002:** tests pour la station de quarantaine (IF – ELISA) sur *Vitis* sp., *Citrus* sp., *Prunus* sp.
- **2010:** formation lors du workshop Bari (Italie)
- **2011- 2012:** analyse de risque phytosanitaire (Saisine N° 2012-SA-0121) - production d'antisérum pour IF
- **2012; 2014; 2015:** premières détections de *X. fastidiosa* sur caféiers interceptés et isolement de souches
- **2012-2014:** travaux méthodologiques intra-laboratoire d'évaluation de méthodes moléculaires
- **2014:** test inter-laboratoires de validation de méthode de détection (6 laboratoires; Italie, Pays-Bas, Nouvelle-Zélande, Royaume-Uni, France)



Photo Anses LSV Angers

Chloroses et brûlures foliaires sur caféier



Automate permettant l'extraction semi-automatisée de l'ADN

Les avancées: résultat d'une anticipation

Critères de performance (%)	Extraction ADN: QuickPick™ + KingFisher™ mL Amplification par PCR (Harper <i>et al.</i> , 2010- Erratum 2013)		
	Sur souches		
Inclusivité	100% (19 + 24 souches cibles testées pour les 4 sous-espèces)		
Exclusivité	100% (29 souches non-cibles testées)		
Matrice	Oranger	Vigne	Olivier
Sensibilité	100%*	94%*	67%*
Spécificité	100%	100%	100%
Répétabilité	100%	96%	100%
Reproductibilité	98%		
Limite de détection (avec une probabilité de détection de 100%)	≈ 10 ² bact./mL	≈ 10 ³ bact./mL	≈ 10 ⁵ bact./mL (Présence d'inhibiteurs)

Validation et publication
d'une méthode officielle



Détection de *Xylella fastidiosa* par PCR
Taqman en temps réel sur
plantes hôtes: **MA039
version1** (www.anses.fr)



Transfert à un réseau de
5 laboratoires agréés

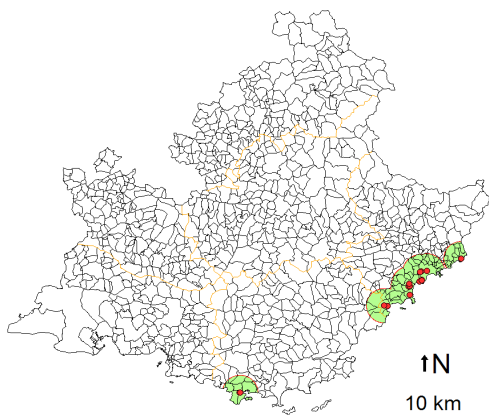
Les avancées: résultat d'une émergence

- **2015**: première détection de *X. fastidiosa* en Corse (**juillet**) , puis en PACA (**octobre**) sur polygale à feuille de myrte (*Polygala myrtifolia*)
- **2015**: Publication de la méthode officielle de détection de *X. fastidiosa* sur plante hôtes par PCR en temps réel
- **Septembre - octobre 2015**: Formation et contrôle de capacité par le LSV de laboratoires; publication de la MA039 et agrément de 5 laboratoires agréés par le Ministère en charge de l'agriculture
- **2016**: Optimisation, évaluation and validation de la méthode de détection de *X. fastidiosa* sur insecte.
- **Janvier-Février 2016**: participation à la rédaction du protocole OEPP pour le diagnostic de *X. fastidiosa*



PACA: Provence, Alpes, Côte d'azur 14 foyers

Zones tampons de 10 km autour des zones infectées par *Xylella fastidiosa*
Données entre le 21/07/2015 et le 06/09/2016



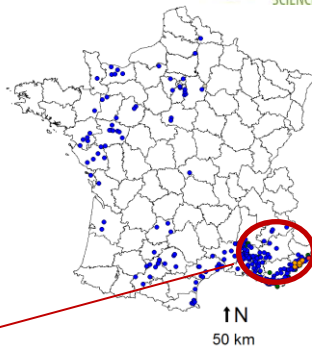
■ Zones délimitées
● positif, n=45

Détecté à partir de

- *Polygala myrtifolia* et *P. sp*
- *Spartium junceum*
- *Lavandula angustifolia*

Localisation de tous les végétaux prélevés
Données entre le 21/07/2015 et le 06/09/2016

Source I **INRA**
SCIENCE & IMPACT

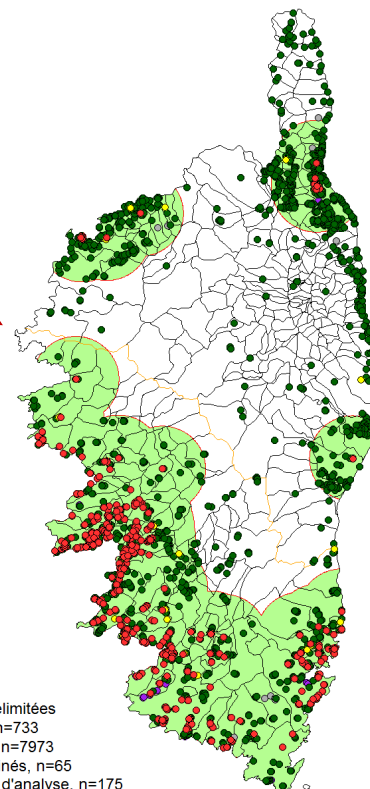


Caféiers interceptés:
21/147

Taux de contamination:
14,3%

Corse 282 foyers

Zones délimitées et localisation de tous les végétaux prélevés
Données entre le 21/07/2015 et le 06/09/2016



■ Zones délimitées
● positifs, n=733
● négatifs, n=7973
● indéterminés, n=65
● en cours d'analyse, n=175
○ pas de résultat, n=172

Zone tampon

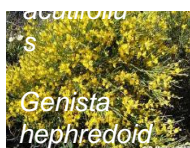
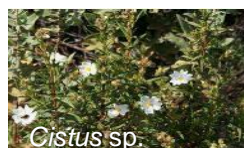
Détecté sur 28 espèces végétales

Espèces hôtes contaminées par *X. fastidiosa* (06/09/16)

anses
agence nationale de sécurité sanitaire



Source

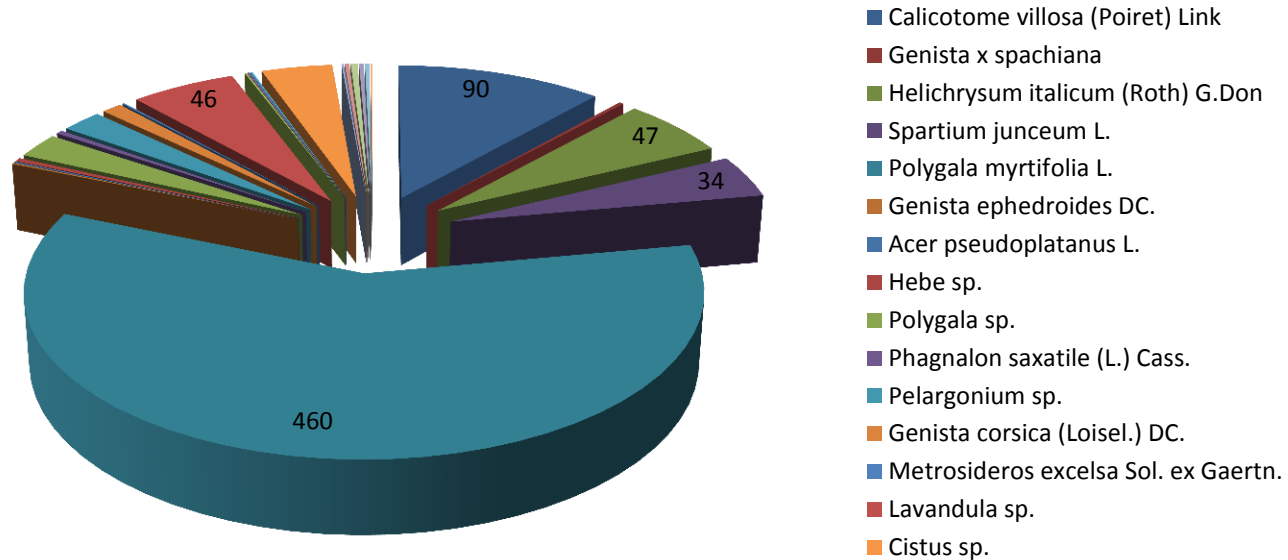


Espèces hôtes	Echantillons analysés	Nbre Positif	Nbre Négatif	Nbre Indéterminés	% de positifs
<i>Calicotome villosa</i> (Poiret) Link	273	90	164	8	33,0
<i>Genista x spachiana</i>	8	2	6	0	25,0
<i>Helichrysum italicum</i> (Roth)	206	47	146	2	22,8
<i>Spartium junceum</i> L.	158	34	115	0	21,5
<i>Polygala myrtifolia</i> L.	2202	460	1674	13	20,9
<i>Genista ephedroides</i> DC.	5	1	4	0	20,0
<i>Acer pseudoplatanus</i> L.	6	1	4	0	16,7
<i>Hebe sp.</i>	21	3	18	0	14,3
<i>Polygala sp.</i>	155	20	124	9	12,9
<i>Phagnalon saxatile</i> (L.) Cass.	24	3	21	0	12,5
<i>Pelargonium graveolens</i>	158	18	133	4	11,4
<i>Genista corsica</i> (Loisel.) DC.	80	9	70	1	11,3
<i>Metrosideros excelsa</i> .	11	1	8	0	9,1
<i>Lavandula sp.</i>	607	46	537	3	7,6
<i>Artemisia arborescens</i> (Vaill.) L.	14	1	12	0	7,1
<i>Cistus sp.</i>	27	466	412	4	5,8
<i>Rosa x floribunda</i>	19	1	17	0	5,3
<i>Prunus cerasifera</i> Ehrh.	20	1	19	0	5,0
<i>Coronilla valentina</i> L.	25	1	24	0	4,0
<i>Cytisus sp.</i>	208	4	193	1	2,0
<i>Asparagus acutifolius</i> L.	125	2	119	1	1,6
<i>Myrtus communis</i> L.	301	3	287	2	1,0
<i>Quercus suber</i> L.	270	2	262	3	0,7
<i>Rosmarinus officinalis</i> L.	663	2	645	0	0,3
<i>Quercus ilex</i> L.	449	1	428	4	0,2
TOTAL	6474	780	5442	56	12,0

Espèces contaminées par *X. fastidiosa*

(06/09/16)

Nombre d'échantillons positifs sur espèces hôtes



- Sur **12076 échantillons analysés** (1/3 symptomatiques, 1/3 asymptomatiques, 1/3 sans information)
- 12 % des plantes hôtes révélées contaminées** (60% *Polygala myrtifolia*)
- 6,5% du total des plantes prélevées révélées contaminées**
- Plus de 50% échantillons positifs identifiés subsp. *multiplex*** (autres= indéterminés ou en cours d'investigation)

Espèces non trouvées infectées jusqu'à présent en France



	Nombre échantillons
<i>Olea europaea</i>	1359
<i>Oleander spp.</i>	636
<i>Citrus sp.</i>	417
<i>Vitis spp.</i>	155





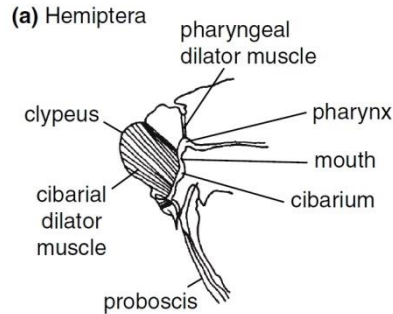
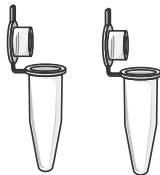
***Xylella fastidiosa*: bactérie du cibarium / pré-cibarium**

Analyse réalisée sur tête après ablation des yeux

1 tête



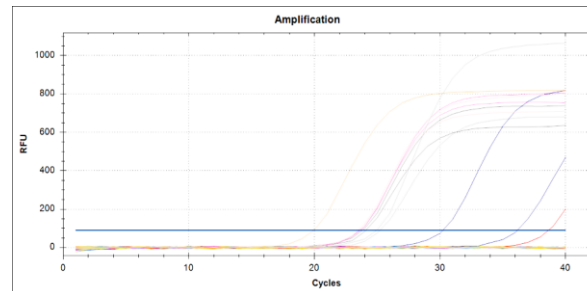
Broyage
au broyeur à billes



50 000 bactéries max (*Homalodisca vitripennis*)
(Almeida, com. pers.)



Kit QuickPick™ Plant DNA
(Bio-Nobile)
Automate KingFisher™ mL



PCR en temps réel Harper et al., 2010, Erratum 2013

Critères de performance	Amplification Harper <i>et al.</i> , 2010 (Erratum 2013)	
6 concentrations X 3 extractions X 2 PCR X 3 jours, soit 108 PCR par méthode	Sur broyats de <i>Philaenus spumarius</i> (conc. bact. 0 à 10 ⁵ bact./tête)	
Extraction ADN (après spiking <i>X. f. subsp. fastidiosa</i>)	QuickPick™ + KingFisher™ mL	Blood and Tissue KIT (Qiagen)
Sensibilité sur gamme	60% (indéterminés non inclus)	40% (indéterminés non inclus)
Limite de détection (avec probabilité de détection de 100%)	≈ 10 ³ bact./tête	≈ 10 ⁴ bact./tête
Répétabilité	91%	87%

Autres paramètres testés sans effet: dilutions, autres kits

Analyses sur insectes récoltés en 2015 en Corse

Lieu	<i>Philaenus spumarius</i> détectés			
	testés	positifs	Indéterminés	négatifs
Maquis 1	31	2	2	27
Maquis 2	40	6	1	33
Maquis 3	28	2	0	26
Pépinière	14	0	1	13
Jardin 1	18	1	2	15
Jardin 2	4	1	0	3
Espaces verts 1	21	3	1	17
Espaces verts 2	40	2	3	35
Total	196	17 (8,7%)	10 (5,1%)	169 (86,2%)

Autres insectes testés négatifs: 6 *Lepyronia coleoptrata*, 31 *Cicadellidae viridis*

Analyses sur *Philaenus spumarius*

(origine : les Pouilles – Italie 2016)

- *X. fastidiosa* détecté par la méthode de référence MA039 (Harper *et al.*, 2010)
- Taux de contamination estimé $\approx 10\%$ selon Maria Saponari (CNR)

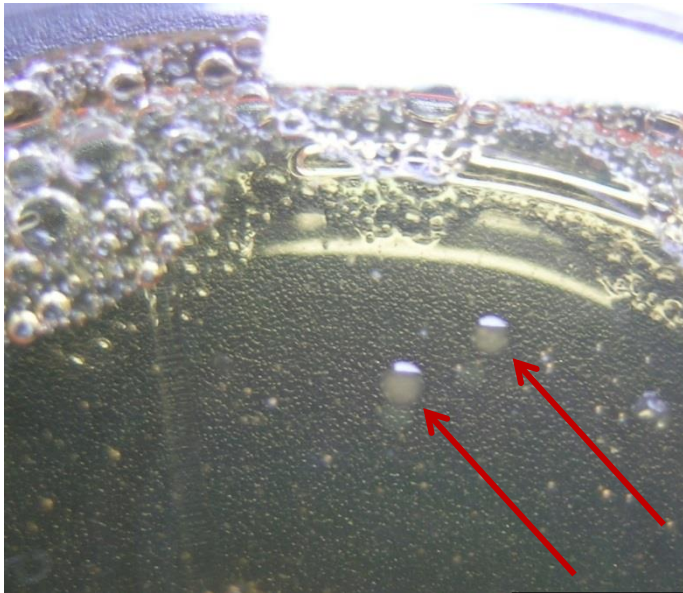
<i>P. spumarius</i> R16942	Ct 1	Ct 2	Resultats
1	∅	37,87	Ind.
2	∅	38,69	Ind
3	38,38	38,72	Ind
4	∅	∅	Neg.
5	39,7	∅	\approx Neg
6	38,86	∅	Ind
7	38,7	38,83	Ind
8	∅	∅	Neg.
9	∅	38,51	Ind
10	∅	∅	Neg.
11	∅	38,59	Ind
12	39,22	38,78	Ind
13	∅	∅	Neg.
14	31,59	31,51	Pos.
15	∅	∅	Neg.
16	∅	39,69	\approx Neg
17	∅	∅	Neg.
18	38,13	∅	Ind
19	∅	∅	Neg.
20	38,5	∅	Ind
21	38,45	∅	Ind
22	∅	38,86	Ind
23	∅	∅	Neg.
24	∅	∅	Neg.
25	∅	∅	Neg.

<i>P. spumarius</i> R16942	Ct 1	Ct 2	Resultats
26	38,6	∅	Ind
27	38,8	∅	Ind
28	39,56	∅	\approx Neg
29	38,72	∅	Ind
30	38,08	∅	Ind
31	38,01	37,44	Ind
32	∅	37,79	Ind
33	37,25	38,71	Ind
34	∅	39,63	U \approx Neg
35	38,88	37,14	Ind
36	37,27	39,54	Ind
37	38,63	38,66	Ind
38	29,14	29,22	Pos.
39	37,19	38,7	Ind
40	38,74	∅	Ind
41	32,74	32,64	Pos.
42	38,64	∅	Ind
43	35,89	35,19	Ind
44	38,15	38,31	Ind
45	37,83	∅	Ind
46	∅	∅	Neg.
47	36,89	∅	Ind
48	∅	38,17	Ind
49	∅	∅	Neg.
50	38,16	38,19	Ind



Les avancées : identification des souches de *Xylella fastidiosa*

Sur milieu PWG modifié
après 20 jours (*Coffea arabica*)



Source : Anses LSV

Diamètre des colonies
environ 2 mm



Isolement

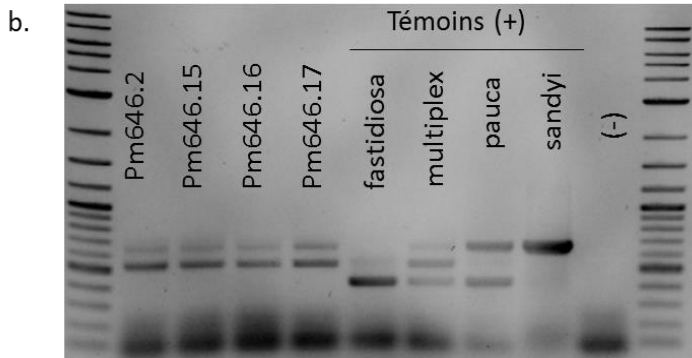
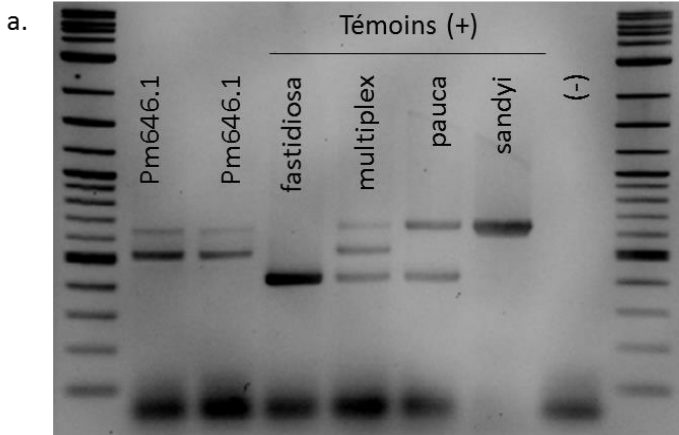
Sur milieu BCYE
après 10 jours (*Coffea arabica*)



Les avancées : identification des souches de *Xylella fastidiosa*

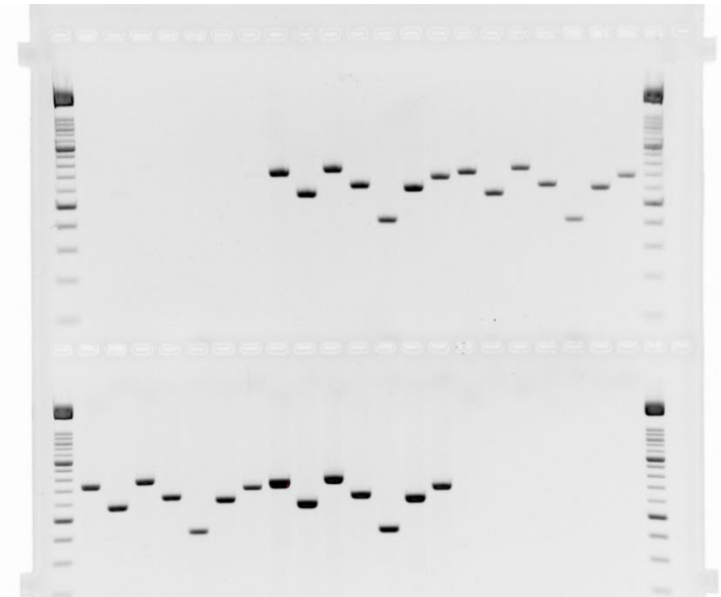
PCR multiplex

(Hernandez-Martinez *et al*, 2010)



MLSA/MLST

Séquences partielles de 7 gènes de ménage: <http://pubmlst.org/xfastidiosa/>
cysG, gltT, holC, leuA, malF, nuoL, petC



Analyses des séquences pour MLSA/MLST réalisées par l'INRA – Emersys.

Les avancées : identification des souches de *Xylella fastidiosa*

19 isolats de Corse (les 2 profils *multiplex*, diversité de plantes hôtes)

Ref.	Subsp.	Plante hôte	Année
LSV4677	<i>multiplex</i> ST7	<i>Polygala myrtifolia</i>	2015
LSV4678	<i>multiplex</i> ST6	<i>Spartium junceum</i>	2015
LSV4679	<i>multiplex</i> ST6	<i>Spartium junceum</i>	2015
LSV4706	<i>multiplex</i> ST7	<i>Polygala myrtifolia</i>	2015
LSV4707	<i>multiplex</i> ST6	<i>Polygala myrtifolia</i>	2015
LSV4708	<i>multiplex</i> ST7	<i>Polygala myrtifolia</i>	2015
LSV4710	<i>multiplex</i> ST6	<i>Lavandula</i> sp.	2015
LSV4713	<i>multiplex</i> ST6	<i>Prunus cerasifera</i>	2015
LSV4714	<i>multiplex</i> ST6	<i>Lavandula angustifolia</i>	2015
LSV4716	<i>multiplex</i> ST7	<i>Polygala myrtifolia</i>	2015
LSV4717	<i>multiplex</i> ST6	<i>Polygala myrtifolia</i>	2015
LSV4718	<i>multiplex</i> ST7	<i>Polygala myrtifolia</i>	2015
LSV4719	<i>multiplex</i> ST7	<i>Polygala myrtifolia</i>	2015
LSV4720	<i>multiplex</i> ST7	<i>Cistus monspeliensis</i>	2015
LSV4721	<i>multiplex</i> ST7	<i>Pelargonium</i> sp.	2015
LSV4722	<i>multiplex</i> ST7	<i>Polygala myrtifolia</i>	2015
LSV4723	<i>multiplex</i> ST6	<i>Coronilla valentina</i>	2015
LSV 47.60	<i>multiplex</i> ST6	<i>Helichrysum italicum</i>	2016
LSV 47.61	<i>multiplex</i> ST6	<i>Calicotome villosa</i>	2016



Caractères gras: génome complet séquencé - Analyses génome et MLSA/MLST par INRA - Emersys)

4 isolats de région PACA

Ref.	Subsp.	Plante hôte	Année
LSV4711	<i>multiplex</i> ST6	<i>Polygala myrtifolia</i>	2015
LSV4712	<i>multiplex</i> ST6	<i>Polygala myrtifolia</i>	2015
LSV4715	<i>multiplex</i> ST7	<i>Polygala myrtifolia</i>	2015
LSV 47.32	<i>multiplex</i> ST7	<i>Spartium junceum</i>	2016

8 isolats sur caféiers interceptés

Ref.	Subsp.	Plante hôte	Année
LSV4103	<i>pauca</i> ST74	<i>Coffea arabica</i>	2012
LSV4209	<i>fastidiosa /sandyi</i> ST75	<i>Coffea canephora</i>	2012
LSV4627	<i>sandyi</i> (atypical) ST72	<i>Coffea arabica</i>	2015
LSV4628	<i>sandyi</i>	<i>Coffea arabica</i>	2014
LSV4639	<i>sandyi</i>	<i>Coffea arabica</i>	2014
LSV4659	<i>sandyi</i>	<i>Coffea sp.</i>	2014
LSV4709	<i>pauca</i> ST53	<i>Coffea arabica</i>	2015
LSV 47.33	<i>pauca</i> ST53	<i>Coffea arabica</i>	2016



Milieu PWGm

Difficultés
d'isolement de
souches pures



Caractérisation et
identification de la
sous-espèce
**directement dans
extrait végétal**

Caractères gras: génome séquencé en collaboration avec l'INRA – Emersys.
MLS/MLST réalisées par l'INRA – Emersys.

- Jacques *et al.*, **New variants of coffee-infecting *Xylella fastidiosa* issued from homologous recombination**, Appl. Environ. Microbiol., December 2015.

Les avancées : identification des souches de *Xylella fastidiosa*



MLST : 2 STs identiques aux souches *multiplex* (US)
Analyses réalisés par l'INRA Emersys

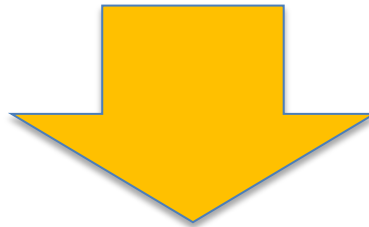
	ST	<i>cysG</i>	<i>gltT</i>	<i>holC</i>	<i>leuA</i>	<i>malF</i>	<i>nuoL</i>	<i>petC</i>
A	7	7	3	3	3	3	3	3
B	6	3	3	3	3	3	3	3

M12
(*Prunus dulcis*)

Griffin-1
(*Quercus rubra*)



Dixon



Application directe
sur végétal après
extraction d'ADN

Date	Pays	Echantillon	<i>cysG</i>	<i>gltT</i>	<i>holC</i>	<i>leuA</i>	<i>malF</i>	<i>nuoL</i>	<i>petC</i>	ST	subsp
		N°	7	3	3	3	3	3	3	7	<i>multiplex</i>
		ind	ind	3	3	ind	3	3	Ind	ind	Indéterminé

Plants inoculés:

- *Coffea arabica* (Projet Sap Alien)
- *Coffea canephora* (Projet Sap Alien)
- *Citrus sinensis* (POSEIDOM)



Souches utilisées pour l'inoculation:

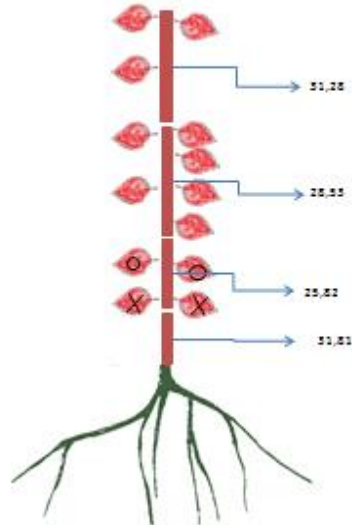
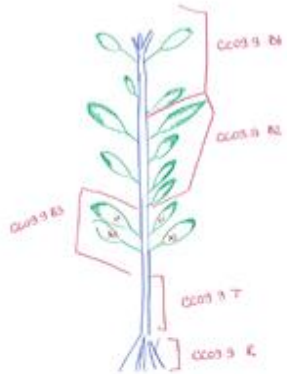
- *X. fastidiosa* subsp. *pauca* (LSV4103 origine Equateur *C. arabica*)
- *X. fastidiosa* subsp. *fastidiosa/sandyi* (LSV4209 origine Mexique *C. canephora*)

Résultats:

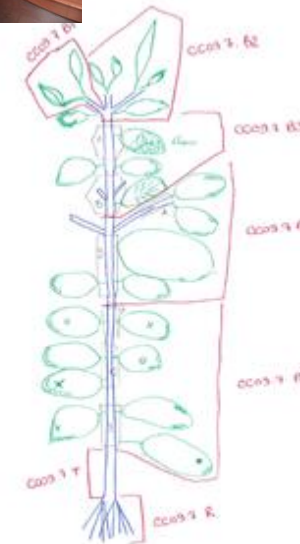
- Souches non pathogènes sur *Citrus sinensis*
- Symptômes légers sur *Coffea* mais développement et diffusion de la bactérie dans les vaisseaux de la plante (des racines à la tige supérieure) avec une distribution hétérogène (dans la plante et aux niveau des organes)
- Mise en évidence du pouvoir pathogène de la souche *X. fastidiosa* subsp. *fastidiosa/sandyi* (LSV4209) sur *C. canephora*.

Test de pouvoir pathogène

Plantes inoculées avec la souche *Xylella fastidiosa* CFBP 8073
proche de la sous-espece *fastidiosa* ST75



Coffea canephora souche LSV 42.09 plant N°9



Coffea canephora souche LSV 42.09 plant N°7



Projet Sap Alien

Evaluation du pouvoir pathogène: SapAlien

Optimisation de l'identification des sous-espèces de *Xylella* directement sur plante ou insectes: Interne?



Amélioration de milieux de culture: Futur ANR?

Optimisation et validation de la méthode de détection sur plantes et insectes; levées d'inhibition: Eupresco et PONTE

Pré-étude sur la contamination / transmission par la semence, échantillons composites: Interne?

Adaptation de nouvelles technologies type NGS à la détection de *Xylella fastidiosa* sur plante et insectes: CASDAR?

Bruno Legendre

Valérie Olivier

Sandrine Paillard

Christèle Dousset

Corinne Audusseau

Christelle Françoise

Sylvie Beaumont

Dimitri Molusson

Antoine Sainte-Luce

Virginie Juteau

Carène Rivoal

Amandine Cunty

Yannick Blanchard

Claire de Boisséson

Fabrice Touzaint

Pauline de Jerphanion



Projet Sap Alien

Projet POSEIDOM



Maria Saponari



Dominique

Crouzillat

Stelly Mississippi

Emmanuelle

Morel



Marie-Agnès Jacques

Nicolas Denancé

Martial Briand

Sophie Cesbron

Perrine Portier



Merci pour votre attention

