

# Détection de rickettsioïdes xylemiques dans la verge d'or au Québec<sup>1</sup>

J.-G. Parent, S. Desjardins et J.D. Brisson

Des rickettsioïdes associés au xylème ont été détectés par microscopie électronique à transmission dans des tissus de verge d'or (*Solidago canadensis* L.). La plante était porteuse de galles apicales déformantes causées par une cécidomyie jamais rapportée au Canada, *Rhopalomyia solidaginis*. Les rickettsioïdes observés, en plus d'avoir les caractéristiques morphologiques typiques de petite taille (0.5-1.0 µm) et de paroi ondulée, contenaient des corps sphériques de nature probablement lipidique. Cet article mentionne pour la première fois la présence de rickettsioïdes xylemiques au Canada. Nous discutons aussi des effets possibles de ces organismes sur les cultures commerciales.

Can. Plant Dis. Surv. 66:2, 55-57, 1986.

Xylem-associated rickettsia-like bacteria, were detected by transmission electron microscopy in tissue from goldenrod (*Solidago canadensis* L.). Plants also bore apical galls caused by a cecidomyiid insect unrecorded in Canada, *Rhopalomyia solidaginis*. In addition to the characteristic small size (0.5-1.0 µm) and rippled cell wall, the observed rickettsia-like bacteria possessed spheric bodies, probably with a lipidic content. This publication is the first report of a xylem-associated rickettsia-like bacterium in Canada. The possible impact of these organisms on commercial crop production is also discussed.

## Introduction

Les rickettsioïdes possèdent une ultrastructure de petites bactéries gram-négatives. En nature, ils sont généralement transmis par des insectes vecteurs, surtout des cicadelles. Dans les plantes hôtes, la plupart des rickettsioïdes sont associés aux tissus vasculaires, soit le xylème ou le phloème. Les rickettsioïdes xylemiques ont été observés presque exclusivement dans des régions tempérées comme le sud des États-Unis (Hopkins 1977). En Amérique du Nord, la distribution de la maladie de Pierce, la plus importante maladie causée par des rickettsioïdes xylemiques, est limitée au nord par les basses températures hivernales (Purcell 1979). Cette maladie, qui affecte principalement la vigne et la luzerne, n'a pas été détectée dans le nord-est des États-Unis malgré la présence de vecteurs reconnus. La découverte des rickettsioïdes comme procaryotes phytopathogènes est relativement récente (Davis et Whitcomb 1971; Giannotti *et al.* 1970; Hopkins et Mollenhauer 1973), ce qui peut expliquer qu'il n'y ait que deux cas de rapports au Canada (Benhamou et Sinha 1981; Benhamou *et al.* 1983). Alors que ces deux mentions faisaient état de rickettsioïdes associés au phloème, nous rapportons, pour la première fois au Canada, la présence de rickettsioïdes xylemiques.

## Matériel et méthodes

Durant l'été de 1984, nous avons découvert, à Sainte-Foy, Québec, 11 plants de verge d'or porteurs d'une excroissance apicale déformante semblable à des symptômes de phyllodie (Fig. 1). La dissection des spécimens nous a permis de trouver des larves de l'insecte gallicole *Rhopalomyia solidaginis* Lw. (Diptera, Cecidomyiidae) (Felt 1918) dans des loges à l'apex des tiges (Fig. 2). Certaines des larves étaient parasitées par

*Torymus solidaginis* (Huber) Conn. (Hymenoptera, Torymidae). À notre connaissance, ces deux insectes n'ont jamais été rapportés au Canada (Benoit 1985).

Des portions de tiges et de pétioles de 2 plants porteurs de galles ont été prélevées et fixées à la paraformaldéhyde à 2% et à la glutaraldéhyde à 2% dans un tampon cacodylate 0.05 M, pH 7.0 pour 2 heures à 4°C. puis au tétroxyde d'osmium à 1% dans le même tampon pour 1 heure. Les tissus ont ensuite été déshydratés à l'éthanol, enrobés avec le «Epon» et sectionnés au couteau à diamant. Des coupes ultra-fines (50 nm) du matériel inclus ont été examinées au microscope électronique à transmission Siemens 101. Des portions d'un plant sain, traitées de façon identique, nous ont servi de matériel témoin.

Les autres plants parasites ont été examinés par microscopie en fluorescence, pour la présence de rickettsioïdes en utilisant le colorant DAPI (diamidino-4',6-phényl-2-indole), spécifique à l'ADN, sur des coupes épaisses de tiges après une fixation à la glutaraldéhyde à 5% (Schaper et Converse 1985).

## Résultats et discussion

Par étude ultramicroscopique de plants porteurs de galles, nous avons décelé des organismes de type rickettsioïde dans les cellules de xylème et du parenchyme associé au xylème (Fig. 3). Seulement trois ou quatre de ces cellules, par coupe observée, contenaient des rickettsioïdes alors qu'aucune cellule du plant témoin n'en possédait. Dans les cellules végétales envahies, les rickettsioïdes étaient nombreux et répartis uniformément, sans tendance à l'agglomération. Un diamètre d'environ 0.5 µm et une longueur variant de 0.5 à 1.0 µm donnaient aux rickettsioïdes une apparence arrondie ou bacilliforme. L'ultrastructure (Fig. 4) était typique des rickettsioïdes avec une paroi ondulée caractéristique (Fig. 5), dite de peptidoglycane (Benhamou *et al.* 1979), limitée par des membranes interne et externe. Les 2 membranes étaient doubles, constituées d'une zone translucide aux électrons entre 2 couches opaques. Des coupes tangentielles (Fig. 6) montraient que la paroi était

<sup>1</sup> Contribution no. 356. Service de recherche en phytotechnie de Québec, Ministère de l'Agriculture, des Pêcheries et de l'Alimentation du Québec, Complexe scientifique, 2 700 rue Einstein, Sainte-Foy, Québec, G1P 3W8.

Accepté pour publication le 10 avril 1986

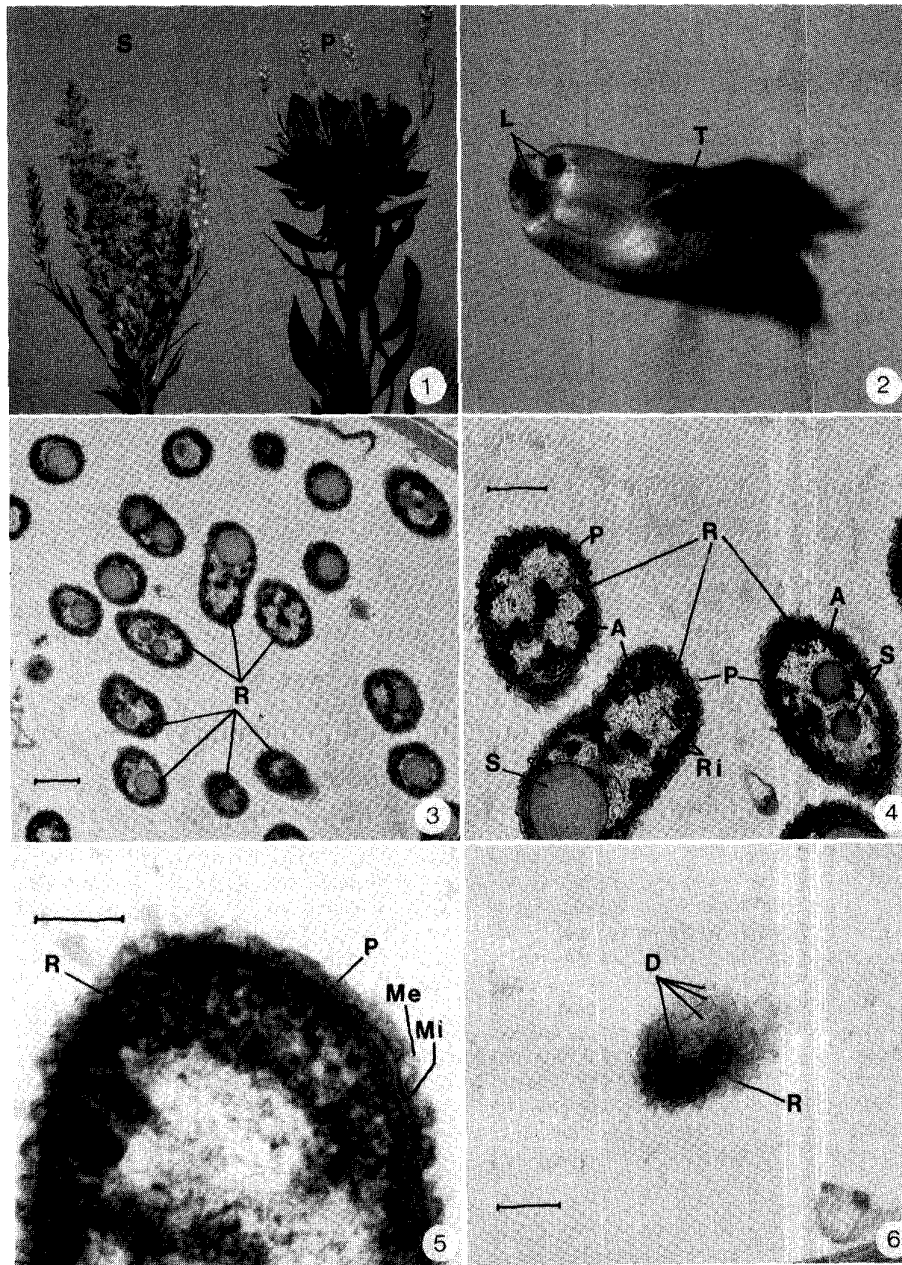


Figure 1. Comparaison des organes floraux de verge d'or saine (gauche) et parasité par des cécidomyies *Rhopalomyia solidaginis* (droite).

Figure 2. Coupe d'une galle de *Rhopalomyia solidaginis* sur la verge d'or montrant 3 loges (L) et un trou (T) par lequel un insecte devenu adulte s'est échappé.

Figure 3. Groupe de rickettsioïdes (R) dans une cellule du parenchyme associé au xylème. La barre représente 500 nm.

Figure 4. Ultrastructure des rickettsioïdes xylémiques (R). Les structures visibles sont la paroi ondulée (P), le treillis d'ADN (A), les ribosomes (Ri) et des corps sphériques (S) probablement lipidiques. La barre représente 250 nm.

Figure 5. Ultrastructure détaillée de la paroi d'un rickettsioïde xylémique (R). La paroi (P) est bordée par deux membranes doubles, à l'extérieur (Me) et à l'intérieur (Mi). La barre représente 100 nm.

Figure 6. Coupe tangentielle de la paroi d'un rickettsioïde (R) montrant des dépôts superposés (D) en forme de plaquettes. La barre représente 200 nm.

formée de dépôts superposés en forme de plaquettes. Le cytoplasme était divisé en zones opaques en bordure de la paroi et en zones centrales claires dans lesquelles on distinguait un treillis filamenteux, l'ADN chromosomique, et des granules, les ribosomes. Le cytoplasme pouvait aussi contenir jusqu'à 4 gros corps sphériques (0.1 à 0.4  $\mu\text{m}$  de diamètre) bordés par une membrane simple. Ces corps, de nature probablement lipidique, n'ont jamais été observés dans des rickettsioïdes auparavant.

L'examen de coupes de tissus par microscopie en fluorescence, après coloration au DAPI, nous a permis de localiser des cellules à contenu cytoplasmique fluorescent dans le xylème de plusieurs plants porteurs de galles. Ce résultat suppose la présence de rickettsioïdes dans la plupart des plants infectés par les cecidomyies. Les plants témoins observés ne contenaient pas de cellules fluorescentes au DAPI.

Nos données ne nous permettent pas de conclure sur la relation entre les rickettsioïdes et les cecidomyies. L'insecte peut être vecteur ou encore leur présence simultanée peut être favorisée dans les plants observés. L'infection par les cecidomyies pourrait aussi affaiblir la plante et la rendre plus sensible à une infection par des rickettsioïdes transportés par un autre vecteur. Des relevés dans la zone où les plants porteurs de galles ont été trouvés nous ont permis d'identifier des populations d'insectes potentiellement vecteurs: *Philaenus spumarius* (Fall.) (*Hemiptera, Cercopidae*), *Clastoptera obtusa* (Say) (*Hemiptera, Cercopidae*) et *Acutalis semicrema* Say (*Hemiptera, Membracidae*).

Ce travail montre qu'il existe des rickettsioïdes xylemiques au Canada malgré les basses températures hivernales. Les plantes indigènes comme la verge d'or peuvent servir de réservoirs pour ces procaryotes dont le potentiel phytopathogène pourrait s'exprimer dans les cultures commerciales si des hôtes ou des vecteurs convenables devenaient disponibles. Des études sur la gamme d'hôtes de ces rickettsioïdes nous permettraient d'en évaluer le risque. Les rickettsioïdes peuvent être aussi utilisés comme agents de contrôle biologique des mauvaises herbes. Même si l'insecte par la galle produite, constitue un moyen d'empêcher la reproduction sexuée de la verge d'or, comme suggéré pour d'autres galles de fleurs (Shorthouse 1980), le contrôle est incomplet vu l'importance de la reproduction végétative par le rhizome. Toutefois, les rhizomes des plants parasites étaient plus courts et portaient moins de racines adventives que ceux des plants sains. Nos tentatives de culture en serre de plants porteurs de galles, après que les insectes devenus adultes se soient échappés ou après avoir enlevé les galles, ont échoué. Nous soupçonnons l'affaiblissement des organes souterrains comme responsable du manque de vigueur et de la mort des plants parasites au cours de mois suivant la mise en culture. Des plants témoins, presument sains, ont pu être conservés dans les mêmes conditions. L'hypothèse d'une diminution de la capacité de

survie à l'hiver de la verge d'or, suite à l'infection par des rickettsioïdes, reste à vérifier par des expériences dans des conditions naturelles.

## Conclusion

Cette première mention, au Canada, de rickettsioïdes xylemiques, doit nous amener à porter attention à leur présence dans les cultures commerciales. Les cas de dépérissements rapides devraient particulièrement être considérés comme abritant des rickettsioïdes jusqu'à présent insoupçonnés.

## Remerciements

Nous remercions madame Cécile Piché du Service d'entomologie et de pathologie du ministère de l'Énergie et des Ressources du Québec pour l'identification des insectes et madame Line Pelletier pour la dactylographie du manuscrit.

## Références bibliographiques

1. Benhamou, N., C. Louis et J. Giannotti. 1979. Etude par cytochimie ultrastructurale des rickettsioïdes et des cellules phloémiques de trèfles dépérissants. *Ann. Phytopathol.* 11:1-16.
2. Benhamou, N., G.B. Ouellette et F. Paupé. 1983. Mise en évidence d'infections à procaryotes (rickettsioïdes et mycoplasmes) chez le *Trifolium repens* au Québec. *Phytoprotection* 64:53-59.
3. Benhamou, N. et R.C. Sinha. 1981. Association of a rickettsia-like organism with a disease of white clover. *Can. J. Plant Pathol.* 3:191-196.
4. Benoit, P. 1985. Nomenclatura insectorum canadensium. Service canadien des forêts, Bd. 299 pp.
5. Davis, R.E. et R.F. Whitcomb. 1971. Mycoplasmas, rickettsiae and chlamydiae: possible relation to yellow diseases and other disorders of plants and insects. *Ann. Rev. Phytopathol.* 9:119-154.
6. Felt, E.P. 1918. Key to American insect galls. N.Y. State Mus. Bull. 200, 310 pp.
7. Giannotti, J., C. Vago, G. Devauchelle et J.L. Duthoit. 1970. Infections de plantes par un type inhabituel de microorganismes intracellulaires. C.R. Hebd. Séances Acad. Sci. Sér. D 271:2118-2119.
8. Hopkins, D.L. 1977. Diseases caused by leafhopper-borne rickettsia-like bacteria. *Ann. Rev. Phytopathol.* 17:277-294.
9. Hopkins, D.L. et H.H. Mollenhauer. 1973. Rickettsia-like bacterium associated with Pierce's disease of grapes. *Science* 179:298-300.
10. Purcell, A.H. 1979. Leafhopper vectors of xylem-borne plant pathogens. Pages 603-625 dans K. Maramorosch et K.F. Harris. Bd. Leafhopper vectors as plant disease agents. Academic Press, New York, San Francisco et Londres.
11. Schaper, V. et R.H. Converse. 1985. Detection of mycoplasma like organisms in infected blueberry cultivars by the DAPI technique. *Plant Dis.* 69:193-196.
12. Shorthouse, J.D. 1980. Modification of the flower heads of *Sonchus arvensis* (family Compositae) by the gall former *Tephritis dilacerata* (order Diptera, family Tephritidae). *Can. J. Bot.* 58:1534-1540.

