

Le directeur général

Maisons-Alfort, le 13 mai 2015

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

relatif à l'efficacité du traitement à l'eau chaude sur le matériel végétal vis-à-vis de *Xylella fastidiosa*

L'Anses met en œuvre une expertise scientifique indépendante et pluraliste.

L'Anses contribue principalement à assurer la sécurité sanitaire dans les domaines de l'environnement, du travail et de l'alimentation et à évaluer les risques sanitaires qu'ils peuvent comporter.

Elle contribue également à assurer d'une part la protection de la santé et du bien-être des animaux et de la santé des végétaux et d'autre part l'évaluation des propriétés nutritionnelles des aliments.

Elle fournit aux autorités compétentes toutes les informations sur ces risques ainsi que l'expertise et l'appui scientifique technique nécessaires à l'élaboration des dispositions législatives et réglementaires et à la mise en œuvre des mesures de gestion du risque (article L.1313-1 du code de la santé publique).

Ses avis sont rendus publics.

L'Anses a été saisie le 30 avril 2015 par le Ministère de l'agriculture, de l'agro-alimentaire et de la forêt pour la réalisation de l'expertise suivante : demande d'avis relatif à l'efficacité du traitement à l'eau chaude sur le matériel végétal vis-à-vis de *Xylella fastidiosa*

1. CONTEXTE ET OBJET DE LA SAISINE

La bactérie *Xylella fastidiosa* est un organisme à très large gamme d'hôtes qui peut affecter plus de 200 espèces végétales ; elle est classée en catégorie 1 par l'arrêté du 15 décembre 2014. Cette bactérie est présente sur les continents américains et en Asie. En Europe, elle a été détectée pour la première fois en Italie dans la province des Pouilles, fin 2013. Elle n'a pas été détectée en France. La commission européenne a adopté au cours de l'année 2014, des mesures européennes pour empêcher d'autres introductions de cette bactérie ainsi que sa propagation dans l'Union européenne.

Dans son avis du 6 janvier 2015, l'EFSA évoque la thermothérapie comme une solution possible pour lutter contre *X. fastidiosa* sur le matériel *Vitis*. Le traitement à l'eau chaude est déjà préconisé dans la directive 2000/29/CE afin de se prémunir de la flavescence dorée avec un couple temps / température de 45 minutes à 50°C.

Il est attendu de cette expertise :

- D'évaluer si les garanties sanitaires apportées par ce protocole sont suffisantes sur la base de la bibliographie ;

- Le cas échéant, de préciser les expérimentations qu'il conviendrait de mettre en place pour finaliser un protocole ;
- D'identifier si la thermothérapie pourrait être mobilisée sur d'autres végétaux.

Dans le même ordre d'idée, la fiche OEPP mentionne une possibilité de thérapie par le froid afin d'assainir le matériel végétal. La saisine mentionne l'intérêt de fournir des éléments sur la présence de protocoles dans la bibliographie et sur leur efficacité.

2. ORGANISATION DE L'EXPERTISE

L'expertise a été réalisée dans le respect de la norme NF X 50-110 « Qualité en expertise – Prescriptions générales de compétence pour une expertise (Mai 2003) ».

L'expertise a été conduite au sein de l'Unité Expertise – risques biologiques pour la santé des végétaux (ERB) sans conflit d'intérêt pour le sujet traité.

L'Anses analyse les liens d'intérêts déclarés par les experts avant leur nomination et tout au long des travaux, afin d'éviter les risques de conflits d'intérêts au regard des points traités dans le cadre de l'expertise.

Les déclarations d'intérêts des experts sont rendues publiques *via* le site internet de l'Anses (www.anses.fr).

L'expertise a été conduite en s'appuyant sur l'avis scientifique sur les risques pour la santé des plantes posés par *Xylella fastidiosa* publié par l'EFSA le 6 janvier 2015 et les données de la littérature scientifique en général.

3. CONCLUSIONS ET RECOMMANDATIONS DE L'AGENCE

La thermothérapie par le biais d'un traitement à l'eau chaude du matériel de propagation de la vigne est préconisée dans la directive 2000/29/CE afin de se prémunir de la flavescente dorée. Les paramètres du traitement mentionnés dans la directive sont une température de trempage de 50°C pendant 45 minutes dans un bain agité. Ces paramètres ont été déterminés à partir des travaux de Alain Caudwell à l'INRA de Dijon et de Serge Grenan à l'ENTAV (Caudwell *et al.*, 1990 ; Boudon Padiou & Grenan, 2002). L'efficacité du traitement a été démontrée pour dénaturer les phytoplasmes de la flavescente dorée et du bois noir. Le traitement s'est aussi révélé efficace pour éliminer les œufs de *Scaphoideus tinanus*, l'insecte vecteur de la flavescente dorée (Linder *et al.*, 2010).

- Evaluer si les garanties sanitaires apportées par ce protocole sont suffisantes sur la base de la bibliographie.

La thermothérapie a été expérimentée avec succès pour lutter contre d'autres maladies bactériennes de la vigne, causées par des bactéries avec paroi comme *Xylella fastidiosa* par exemple, au contraire des phytoplasmes. Par contre, il ne permet pas d'éliminer les champignons liés à l'esca, mais seulement de modifier la communauté fongique des plants de vigne (Casieri *et al.*, 2009). Un seul article rapporte les résultats de travaux sur l'efficacité de la thermothérapie à l'eau chaude contre *X. fastidiosa* sur vigne (Goheen *et al.*, 1973). Les conclusions de cet article sont ensuite reprises dans de nombreuses

revues dont une des plus récentes est effectuée par les spécialistes de la maladie de Pierce en Californie (Purcell *et al.*, 2013).

L'article de Goheen *et al.* (1973) apporte tous les éléments pour étayer les conclusions des expérimentations. Le traitement à l'eau chaude est efficace pour détruire *X. fastidiosa* à une température supérieure ou égale à 55°C quand elle est appliquée pendant une durée de 10 minutes ou une température plus basse si elle est appliquée plus longtemps (une température supérieure à 45 °C appliquée pendant une durée de 75 minutes, par exemple) (Figure 1). Les paramètres retenus pour le traitement contre la flavescence dorée (50°C pendant 45 minutes) sont compatibles avec les exigences liées à *X. fastidiosa* décrite dans cet article.

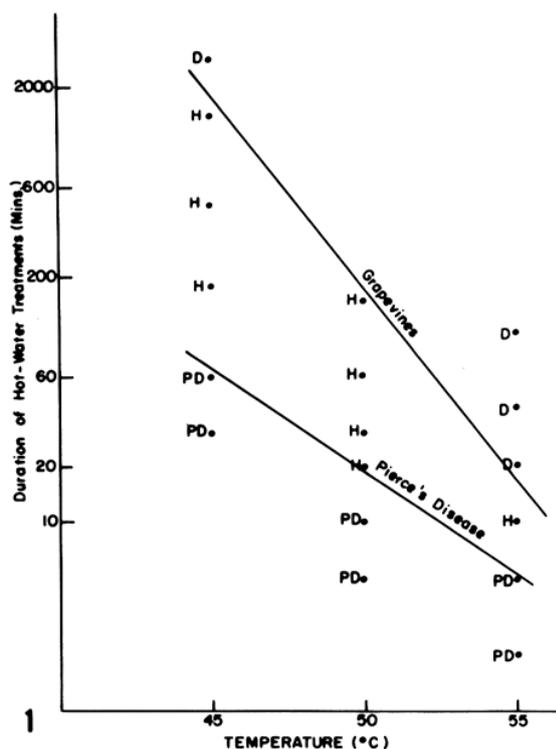


Fig. 1. 1) Thermal death time curves of grapevines and the agent of Pierce's disease of grapevines as determined by immersion of whole plants in hot water. PD = vines that survived but were still diseased; H = vines that survived and were freed of PD; D = vines that were killed by immersion in hot water.

Figure 1 : efficacité du traitement à l'eau chaude vis-à-vis de la maladie de Pierce de la vigne d'après Goheen *et al.* (1973)

Les auteurs ont travaillé sur deux cépages différents 'Ruby cabernet' et 'Carignane'. Ils ne mentionnent pas de différence d'efficacité du traitement entre les deux cépages ni de différence de tolérance à la chaleur des deux cépages.

La re-inoculation de certains plants après traitement à l'eau chaude a abouti au développement de la maladie alors que les plants non-re-inoculés ayant subi le même traitement n'ont pas développé la maladie. Ceci indique que l'absence de maladie observée n'est pas due à une mise en latence de la bactérie mais bien à une élimination

de l'agent pathogène des tissus. En effet, la plante après traitement a gardé la sensibilité à l'infection par *X. fastidiosa*. Ceci met aussi en lumière que les plants traités par thermothérapie sont toujours sensibles à la bactériose et doivent faire l'objet de conditions de culture post traitement qui préviennent d'une nouvelle infection.

Les autres bactéries pathogènes de la vigne qui ont fait l'objet d'expérimentation portant sur le traitement à l'eau chaude sont *Agrobacterium vitis* (*Agrobacterium tumefaciens* biovar 3) et *Xylophilus ampelinus*. Burr *et al.* (1989) ont montré qu'un traitement à l'eau chaude de boutures dormantes de vigne à 50°C pendant 30 minutes permettait de tuer les cellules d'*A. vitis*. Roberts (1993) rapporte les expérimentations montrant l'effet du traitement à l'eau chaude sur *X. ampelinus*, une bactérie qui colonise les vaisseaux de xylème comme *X. fastidiosa*. Un traitement à 50°C pendant 30 minutes rend *X. ampelinus* indétectable dans des boutures de vigne contaminées.

Bien que les sources bibliographiques soient relativement peu nombreuses, on peut conclure que le traitement proposé pour lutter contre la flavescence dorée est efficace aussi vis-à-vis de *X. fastidiosa* subspecies *fastidiosa*, l'agent causal de la maladie de Pierce sur vigne.

- Identifier si la thermothérapie pourrait être mobilisée sur d'autres végétaux.

La thermothérapie a été expérimentée pour lutter contre *X. fastidiosa* sur des scions de pecan (*Carya illinoensis*) par Sanderlin & Melanson (2008). Les scions ont servi de source de greffons pour la production de plants. Les paramètres du traitement testé étaient de 46°C pendant 30 minutes. Ils rapportent que le traitement effectué dans ces conditions avait permis de réduire le pourcentage de plants contaminés de 21,3 % de plants infectés dans le lot non traité à 0,7 % dans le lot traité. Ces conditions ne sont donc pas efficaces à 100%. Ces conditions de traitements ne permettent pas d'assainir les boutures de vigne d'après Goheen *et al.* (1973). Sanderlin & Melanson (2008) n'ont pas testé les conditions préconisées pour le traitement de la flavescence dorée par crainte d'une sensibilité de *Carya illinoensis* à la chaleur qui altérerait la reprise des greffons. On ne peut donc pas conclure sur la possibilité d'utiliser les conditions préconisées par la directive 2000/29/CE sur cette plante.

- Le cas échéant, de préciser les expérimentations qu'il conviendrait de mettre en place pour finaliser un protocole.

Les paramètres du protocole sont déjà fixés pour la lutte contre la flavescence dorée. Ceux-ci sont compatibles avec les paramètres qui sont à appliquer pour une efficacité sur *X. fastidiosa* et sur les autres bactéries qui colonisent le bois de vigne telle que qu'*A. vitis* (Burr *et al.*, 1989) et *X. ampelinus* (Roberts, 1993). On peut donc conclure que, même si *X. fastidiosa* est une espèce bactérienne très diverses, ces conditions de traitements doivent être efficaces quelle que soit la souche présente dans les plants à traiter avec une faible incertitude.

Peu de données sont disponibles sur le traitement à l'eau chaude sur d'autres espèces végétales hôtes de *X. fastidiosa*. Il conviendrait donc d'expérimenter les paramètres

recommandés dans la directive 2000/29/CE sur les espèces végétales d'intérêt. On peut citer, l'olivier, les agrumes, les pêchers, ...

- Possibilité de thérapie par le froid

La thérapie par exposition des plantes à des températures négatives n'a été expérimentée que sur la vigne vis-à-vis de la maladie de Pierce causée par *X. fastidiosa* subsp. *fastidiosa* (Purcell, 1977, Purcell, 1980, Feil, 2002 ; Meyer & Kirkpatrick, 2008). Ces travaux ont été engagés suite à la constatation que la maladie de Pierce n'a été observée que dans les régions de Californie où les températures hivernales sont rarement négatives.

L'effet du froid sur la maladie de Pierce a un impact sur le niveau de résistance de la vigne plus qu'un effet direct sur la viabilité des cellules de *X. fastidiosa*. Les traitements testés consistent à placer les plantes à des températures négatives (-8°C à -12°C) pendant la période de repos végétatif (hiver). L'effet du froid est plus marqué sur des cépages moins sensibles à la maladie de Pierce tels que 'Carbernet sauvignon' que sur des cépages particulièrement sensibles tels que 'Pinot noir'. De plus, l'efficacité du traitement est plus marquée quand le traitement est appliqué sur des plantes entières que sur des baguettes (Meyer & Kirkpatrick, 2008).

Les travaux effectués sur l'effet du froid sur *X. fastidiosa* ne permettent pas de conclure que cette approche puisse être utilisée pour assainir du matériel végétal vis-à-vis de *X. fastidiosa*. Certaines souches de *X. fastidiosa* sont capables de survivre à des températures hivernales négatives encore plus basses que celles étudiées dans le cas de maladie de Pierce de la vigne. Des souches de *X. fastidiosa* subsp. *multiplex* causent des dégâts sur des arbres au Canada jusqu'en Ontario et en Alberta sur orme et érable. Il existe donc une diversité de sensibilité à la température au sein de l'espèce *X. fastidiosa* qu'il serait nécessaire d'évaluer pour cerner les potentialités de cette approche.

En conclusion, les modalités de traitement à l'eau chaude recommandées pour se prévenir de la flavescence dorée sont applicables au traitement des bois de vigne vis-à-vis de *X. fastidiosa* responsable de la maladie de Pierce. Par contre, il n'existe pas de données suffisantes dans la bibliographie pour savoir si cette technique est transposable à d'autres espèces végétales. Les données disponibles ne permettent pas de conclure que le traitement au froid est une technique qui permette de détruire les cellules de *X. fastidiosa* dans les végétaux.

Marc Mortureux

Références bibliographiques

- Boudon-Padieu E. & Grenan S. 2002. Hot water treatment. <http://www.lcvg.ch/data/icvghotw.pdf>
- Burr T.J., Ophel K., Katz B.H. & Kerr A. 1989. Effect of hot water treatment on systematic *Agrobacterium tumefaciens* biovar 3 in dormant grape cuttings. *Plant disease*, **73**: 242-245.
- Casieri L., Hofstetter V., Viret O., Dubuis P.H. & Gindro K. 2009. Effet du traitement à l'eau chaude sur les champignons associés aux jeunes plants de vigne. *Revue suisse Viticulture, Arboriculture, Horticulture*, **41** : 219-224.
- Caudwell A., Larrue J., Valat C. & Grenan S. 1990. Les traitements à l'eau chaude des bois de vigne atteints de la flavescence dorée. *Progrès agricole et viticole*, **107** : 281-286.
- Feil H. 2002. Effect of sub-freezing temperature on the survival of *X. fastidiosa* in vitro and in plants. In Ph D. dissertation, University of California, Berkeley
- Goheen A.C., Nyland G. & Lowe S.K. 1973. Association of rickettialike organism with Pierce's disease of grapevines and alfalfa dwarf and heat therapy of the disease in grapevines. *Phytopathology*, **63**: 341-345.
- Linder C., Schaub L. & Klötzli-Estermann F. 2010. Efficacité du traitement à l'eau chaude contre les oeufs de *Scafoedeus titanus*, vecteur de la flavescence dorée. *Revue suisse Viticulture, Arboriculture, Horticulture*, **42** : 132-135.
- Meyer M.M. & Kirkpatrick B.C. 2008. Examining the effects of cold therapy on Pierce's disease- infected grapevines and the viability of *Xylella fastidiosa* cells *in vitro*. *Proceedings of the 2nd annual national viticulture research conference* . 9-11 july 2008. University of California, Davis.
- Purcell A. H. 1977. Cold therapy of Pierce's disease grapevines. *Plant Disease Reporter*, **61**: 514-518.
- Purcell A. H. 1980. Environmental therapy for Pierce's disease grapevines. *Plant disease*, **64**: 388-390.
- Purcell A.H., Kirkpatrick B.C., Almeida R., Varela L. G., Smith R.J., Weber E.A., Hashim J.M. & Gispert C. 2013. Pierce's disease in Grape Pest Management, 3rd edition, Larry Bettiga editor, pp. 75-82. University of California, Agriculture and Natural Resources. Publication 3343.
- Roberts W.P. 1993. Grapevine heat treatment – *Xanthomonas ampelina*. Final report to Grape and wine research & development corporation, <http://research.agwa.net.au/wp-content/uploads/2012/09/DPI-3V-Final-Report.pdf>.

Sanderlin R.S. & Melanson R.A. 2008. Reduction of *Xylella fastidiosa* transmission through pecan scion wood by hot water treatment. *Plant disease*, 92: 1124-112

MOTS-CLES

Xylella fastidiosa, thermothérapie, mesures de gestion.