

anses

agence nationale de sécurité sanitaire  
alimentation, environnement, travail



*Connaître, évaluer, protéger*

# Modification du couple temps-température du traitement à l'eau chaude de boutures et plants de vigne

Avis de l'Anses  
Rapport d'expertise collective

Octobre 2016

Édition scientifique

Avis et rapport révisés en janvier 2017





**anses**

agence nationale de sécurité sanitaire  
alimentation, environnement, travail



*Connaître, évaluer, protéger*

# Modification du couple temps-température du traitement à l'eau chaude de boutures et plants de vigne

Avis de l'Anses

Rapport d'expertise collective

Octobre 2016

Édition scientifique

Avis et rapport révisés en janvier 2017



Le directeur général

Maisons-Alfort, le 3 février 2017

## **AVIS du 26 octobre 2016 révisé le 11 janvier 2017<sup>1</sup>**

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

#### **relatif à « Modification du couple temps-température du traitement à l'eau chaude du matériel végétal »**

---

*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 (ou l'Afssa ou l'Afsset) a été saisie le 18 décembre 2015 par la DGAI pour la réalisation de l'expertise suivante : Demande d'avis relatif à la modification du couple temps-température du traitement à l'eau chaude du matériel végétal.

#### **1. CONTEXTE ET OBJET DE LA SAISINE**

La réglementation phytosanitaire relative à la flavescence dorée indique que le traitement à l'eau chaude (TEC) du matériel végétal de la vigne doit être réalisé avec un couple temps/température de 45 minutes à 50°C (Annexe IV, Partie B. Art 32 de la Directive 2000/29/EC). Par ailleurs, le traitement à l'eau chaude avec le couple temps/température de 45 minutes à 50°C a également été validé par EFSA afin d'assainir le matériel végétal vis-à-vis de *Xylella fastidiosa* (Xf). Il est repris dans la modification de la décision communautaire relative à *Xylella fastidiosa* adoptée le 23 novembre 2015.

Toutefois, selon certains professionnels, la réalisation de ce traitement à l'eau chaude génère des problèmes de reprise du matériel végétal et des retards de débourrements, néfastes à la filière viticole.

Face à ce constat, un programme d'étude de l'IFV a été cofinancé par FranceAgriMer et la Fédération Française de la Pépinière Viticole (FFPV). Cette étude démontre qu'un couple temps/température de 35 minutes à 50°C permettrait d'assainir le matériel végétal de la vigne vis-

---

<sup>1</sup> Le paragraphe « *Agrobacterium tumefaciens* et *Agrobacterium vitis* » (page 4) a été remplacé.

à-vis de la FD et ne présente pas les effets néfastes de problèmes de reprise ou de retard au débourrement.

Au regard de ces éléments, il est attendu de cette expertise de déterminer :

1- l'efficacité du traitement à l'eau chaude pour la flavescence dorée (FD) et *Xylella fastidiosa* (Xf) avec couple temps/température de 35 minutes à 50°C.

2- l'efficacité du traitement à l'eau chaude avec les couples temps/température de 35 minutes à 50°C et de 45 minutes à 50°C sur :

- les organismes responsables de jaunisses de manière générale,
- *Xylophilus ampelinus*,
- Phylloxera,
- *Agrobacterium tumefaciens* et *Agrobacterium vitis*,
- les nématodes vecteurs de virus,
- les insectes et plus particulièrement aux stades de développement œufs, larves, nymphes.

## **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 relève du domaine de compétences du comité(s) d'experts spécialisé(s) (CES) « Risques biologiques pour la santé des végétaux ». L'Anses a confié l'expertise au groupe de travail « Eau chaude ». Les travaux ont été présentés au CES tant sur les aspects méthodologiques que scientifiques entre le 19 janvier 2016 et le 12 septembre 2016. Ils ont été adoptés par le CES « Risques biologiques pour la santé des végétaux » réuni le 12 septembre 2016.

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](http://www.anses.fr)).

## **3. ANALYSE ET CONCLUSIONS DU CES**

- **Efficacité pour la Flavescence dorée (FD) et *Xylella fastidiosa* (Xf) avec le couple temps-température de 35 minutes à 50°C.**
  - **Comparaison de différents couples temps/température sur l'efficacité du traitement vis-à-vis de la flavescence dorée basée sur l'analyse des travaux de l'Institut français de la vigne et du vin (IFV).**

Il ressort des travaux de l'IFV qu'un traitement de 35 minutes à 50°C a été efficace pour éliminer la FD dans un premier essai réalisé en 2010 avec des plants fortement infectés. En absence de symptôme en 2ème année, des résultats allant dans le même sens ont été obtenus dans un essai indépendant réalisé en 2011, quoique avec une infection très faible révélée par les témoins non traités. L'absence de manifestation de la FD ayant été également obtenue avec des traitements à l'eau chaude (TEC) avec un temps moindre à 50°C et une température moindre (48°C) pendant 35 minutes, une marge de sécurité raisonnable peut-être associée à l'efficacité contre la FD du TEC de 35 minutes à 50°C au regard de ces résultats.

- **Comparaison de différents couples temps/température sur l'efficacité du traitement vis-à-vis Flavescence dorée et de *Xylella fastidiosa* basée sur l'analyse de la bibliographie.**

Les nombreux travaux réalisés par Caudwell et al. montrent la plage de TEC efficaces pour détruite la FD. Caudwell retient qu'une température de 50°C est particulièrement intéressante par son efficacité pour des temps moyens de 30 à 60 minutes. C'est à dire comprenant le TEC "35 minutes à 50°C" qui est l'objet de la présente saisine.

Les travaux de Goheen et al. donnent une plage d'efficacité des TEC contre la maladie de Pierce (Pierce's disease ou PD) causée par *X. fastidiosa*. Cette plage reprise par Caudwell est similaire à celle efficace pour la FD. Ces travaux indiquent que les deux agents pathogènes sont efficacement contrôlés par un TEC de 35 minutes à 50°C.

- **Efficacité du traitement à l'eau chaude avec les couples temps/température de 35 minutes à 50°C et de 45 minutes à 50°C sur les organismes suivants : jaunisses de manière générale, *Xylophilus ampelinus*, Phylloxera, *Agrobacterium tumefaciens* et *Agrobacterium vitis*, nématodes vecteurs de virus, insectes et plus particulièrement aux stades de développement œufs, larves, nymphe.**

- ***Jaunisses de la vigne en général***

Pour traiter les vignes contre les jaunisses signalées sur le territoire, des TEC de 35 et 45 min à 50°C sont efficaces contre la FD et vraisemblablement le *Palatinate grapevine yellows* mais inefficaces ou d'efficacité partielle car non soutenues par des essais concluants contre le Bois noir et l'*Aster yellows phytoplasma*.

- ***Xylophilus ampelinus***

Dans la mesure où un TEC de 50°C pendant 20 min permet d'assainir des boutures de vigne vis-à-vis de *X. ampelinus*, des TEC plus longs de 35 min ou 45 min à 50°C seront également efficaces pour éliminer la bactérie. Une incertitude sur l'efficacité de ces paramètres de traitement se situe au niveau de leur extrapolation à des boutures et des plants de vigne infecté par un processus naturel qui pourrait avoir pour conséquence une sensibilité des bactéries différente à la température par leur localisation ou leur physiologie. Cette incertitude est cependant de faible niveau.

- ***Phylloxera***

On peut extrapoler avec une incertitude de faible niveau que des TEC (35 et 45 min) et à température (50°C) sont efficaces contre le phylloxera et ceci vraisemblablement à tous les stades de développement de l'insecte.

- ***Agrobacterium tumefaciens* et *Agrobacterium vitis***<sup>2</sup>

*A. vitis* et *A. tumefaciens* biovar 1 présentent des biologies différentes et ne répondent pas de la même façon aux TEC. L'extrapolation des données expérimentales suggère avec une incertitude modérée qu'un TEC de 35 min et surtout de 45 min à 50°C pourrait être efficace pour assainir les plantes contre *A. vitis*. En revanche, même en absence de donnée expérimentale sur plants infectés, il est très peu probable qu'un TEC de 35 min à 50°C permette d'assainir des plants infectés par *A. tumefaciens* biovar 1. L'absence de données ne permet pas d'évaluer l'efficacité d'un TEC de 45 min à 50°C contre ce type d'agrobactérie.

- **Nématodes vecteurs de virus**

Les nématodes associés à la vigne sont rapidement détruits par des TEC à 50°C pour une durée de quelques minutes et donc, le couple température-temps (50°C et 35 ou 45 min) proposé dans la saisine ne devrait pas poser de problèmes pour éliminer ce type d'organismes s'il se trouvait être présent dans les plants de vigne. Les nématodes vecteurs de virus sont des ectoparasites qui ne sont pas transmis par les plants. Préconiser un TEC dans l'objectif de les éliminer est donc inutile.

- **Insectes aux stades œufs, larves et nymphes**

En ce qui concerne les insectes, le TEC a été expérimenté sur peu d'organismes. Un TEC à 50°C pendant 45 min n'est pas totalement efficace pour rendre non-viables la totalité des œufs de *Scaphoideus titanus*. Une réduction importante de la production de larves est cependant observée. Dans le cas de *Planococcus ficus*, l'extrapolation des essais de TEC suggère avec une incertitude de niveau modéré à faible que des TEC de 50°C pendant 35 min ou 45 min conduiraient à une mortalité complète des œufs de cochenille.

## ■ Conclusion du rapport

L'application de TEC sur des bois de vigne assainit de façon générale les organes traités vis-à-vis des bioagresseurs de la vigne. Cependant, les bioagresseurs ont des sensibilités différentes aux traitements.

Les différentes données bibliographiques et les essais récents de l'IFV montrent qu'un traitement des bois et plants de vigne à l'eau chaude pendant 35 minutes à 50°C est efficace pour détruire le phytoplasme de la FD. Les données bibliographiques indiquent qu'il en est de même pour Xf.

Cependant, aucune donnée bibliographique ne permet de s'assurer de l'efficacité totale d'un traitement qui, dans sa durée ou la température d'application, ne respecterait pas les conditions minimales de 35 minutes et 50°C. Dès lors, l'abaissement de la durée du traitement de 45 à 35 minutes ne peut s'envisager que si la température de consigne du traitement de 50°C est suffisamment maîtrisée pour que la température réelle ne descende jamais en-dessous de 49°C durant 35 minutes. En outre, pour maintenir une durée de traitement réellement

---

<sup>2</sup> Ce paragraphe remplace celui de l'avis du 26 octobre 2016 : *A. vitis* et *A. tumefaciens* biovar 1 présentent des biologies assez différentes et ne répondent pas de la même façon aux TEC. Il est très peu vraisemblable qu'un TEC (50°C/35 min.) soit efficace pour assainir la vigne contre *A. tumefaciens* et il reste une incertitude élevée sur l'efficacité d'un TEC (50°C/45 min.). Il apparaît ainsi qu'un TEC de 30 min. à 50°C permet de réduire les atteintes de Galle du collet mais pas l'assainissement complet de la vigne vis-à-vis d'*A. vitis*. Une température plus élevée étant plus efficace, on pourrait penser avec une incertitude modérée qu'une exposition plus longue, 35 min. et surtout 45 min. serait plus efficace mais nous n'avons pas connaissance d'essai portant sur l'efficacité de TEC de 35 min. ou 45 min. à 50°C contre *A. vitis*.



efficace, celle-ci doit être considérée quand le bain est à la température de consigne, c'est-à-dire après stabilisation de la température suite à l'immersion des plantes.

En ce qui concerne les jaunisses de la vigne, les données collectées dans la bibliographie et les résultats expérimentaux fournis par l'IFV montrent une diversité de réponses au traitement au sein des jaunisses qui se traduit par une tolérance à la température différente ; notamment entre la FD et le bois noir. Un traitement à 50°C pendant 35 min est inefficace pour éliminer le phytoplasme responsable du bois noir dans la vigne. Il n'y a pas de travaux suffisamment robustes pour montrer qu'une durée de traitement de 45 min serait plus efficace. En ce qui concerne les autres jaunisses, elles ne sont pas présentes sur vigne en France. La jaunisse du Palatinat est présente sur aulne. Du fait de sa proximité taxonomique avec la FD, on peut penser que sa sensibilité au TEC est similaire à celui de la FD avec une incertitude importante du fait du manque de données expérimentales. Pour le phytoplasme de l'Aster yellow, la littérature scientifique ne fournit pas de données permettant de montrer que ce TEC est efficace.

En ce qui concerne *Xylophilus ampelinus*, un TEC de 50°C pendant 35 min ou 45 min est efficace pour éliminer la bactérie. Une incertitude sur l'efficacité de ces paramètres de traitement se situe au niveau de leur extrapolation à des boutures et des plants de vigne infectés par un processus naturel qui pourrait avoir pour conséquence une sensibilité des bactéries différente à la température par leur localisation ou leur physiologie. Cette incertitude est cependant de faible niveau.

En ce qui concerne le Phylloxera, l'extrapolation des données de la littérature indique que des TEC à 50°C pendant 35 min. ou 45 min sont efficaces contre le phylloxera et ceci vraisemblablement à tous les stades de développement de l'insecte. Une incertitude modérée subsiste car les paramètres précis (50°C pendant 35 min ou 45 min) n'ont pas été testés.

En ce qui concerne les agrobactéries, *A. vitis* et *A. tumefaciens* biovar 1 présentent des biologies différentes et ne répondent pas de la même façon aux TEC. L'extrapolation des données expérimentales suggère avec une incertitude modérée qu'un TEC de 35 min et surtout de 45 min à 50°C pourrait être efficace pour assainir les plantes contre *A. vitis*. En revanche, même en absence de donnée expérimentale sur plants infectés, il est très peu probable qu'un TEC de 35 min à 50°C permette d'assainir des plants infectés par *A. tumefaciens* biovar 1. L'absence de données ne permet pas d'évaluer l'efficacité d'un TEC de 45 min à 50°C contre ce type d'agrobactérie.

En ce qui concerne les nématodes vecteurs de virus, ce sont des ectoparasites qui ne sont pas transmis par les plants sans substrat. Le TEC est donc inutile dans l'objectif de la saisine. Néanmoins, les nématodes vecteurs de virus associés à la vigne sont sensibles aux conditions des TEC proposés.

En ce qui concerne les insectes, le TEC a été expérimenté sur peu d'organismes. Un TEC à 50°C pendant 45 min n'est pas totalement efficace pour rendre non-viables la totalité des œufs de *Scaphoideus titanus*. Une réduction importante de la production de larves est cependant observée.

Dans le cas de *Planococcus ficus*, l'extrapolation des essais de TEC suggère avec une incertitude de niveau modérée à faible que des TEC de 50°C pendant 35 min ou 45 min conduiraient à une mortalité complète des œufs de cochenille.

#### **4. CONCLUSIONS ET RECOMMANDATIONS DE L'AGENCE**

L'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail adopte les conclusions du CES.

Roger GENET

#### **MOTS-CLÉS**

Eau chaude, bactéries, insectes, jaunisses de la vigne, nématodes, flavescence dorée, *Xylella fastidiosa*, *Agrobacterium*, *Xylophilus*, *Phylloxera*

---

# **Demande d'avis relatif à la modification du couple temps-température du traitement à l'eau chaude de boutures et plants de vigne.**

---

**Saisine « n° 2015-SA-0266 Eau chaude »**

**RAPPORT  
d'expertise collective  
du 26 octobre 2016 révisé le 11 janvier 2017<sup>1</sup>**

**Septembre 2016**

---

<sup>1</sup> Annule et remplace le rapport du 26 octobre 2016 [Le tableau 9 (page 26) a remplacé le précédent tableau 9 (annexe 4)].

## Mots clés

---

Eau chaude, bactéries, insectes, jaunisses de la vigne, nématodes, flavesence dorée, *Xylella fastidiosa*, *Agrobacterium*, *Xylophilus*, *Phylloxera*

## Présentation des intervenants

**PRÉAMBULE** : Les experts externes, membres de comités d'experts spécialisés, de groupes de travail ou désignés rapporteurs sont tous nommés à titre personnel, *intuitu personae*, et ne représentent pas leur organisme d'appartenance.

### GROUPE DE TRAVAIL

---

#### Président

M. Xavier NESME – Ingénieur de recherche, INRA de Lyon, UMR 1418 Écologie microbienne – *Spécialité : bactériologie, membre du CES RBSV.*

#### Membres

M. François VERHEGGEN – Enseignant-chercheur, Université de Liège - Faculté de Gembloux Agro-Bio Tech, Unité Entomologie fonctionnelle et évolutive – *Spécialité : entomologie et protection des végétaux, membre du CES RBSV.*

M. Abraham ESCOBAR-GUTIERREZ – Chargé de recherche, INRA de Lusignan, UR Pluridisciplinaire Prairies et Plantes Fourragères – *Spécialité : Modélisation en Agronomie, Bioclimatologie et Écophysiologie végétale, membre du CES RBSV.*

M. Stéphan STEYER – Attaché scientifique, Centre wallon de Recherches Agronomiques, Département Sciences du Vivant, Unité Biologie des nuisibles et biovigilance – *Spécialité : – Spécialité : virologie, membre du CES RBSV.*

M. Etienne HERRBACH – Chargé de recherche, INRA de Colmar, UMR Santé de la Vigne et Qualité du Vin – *Spécialité : entomologie, vecteurs de virus. Expert extérieur.*

### COMITE D'EXPERTS SPÉCIALISE

---

Les travaux, objets du présent rapport ont été suivis et adoptés par le CES « Risques Biologiques pour la Santé des Végétaux » :

#### Président

M. Philippe REIGNAULT – Professeur des universités, Université du Littoral Côte d'Opale, Unité de Chimie Environnementale et Interactions sur le Vivant

#### Membres

Mme. Marie-Hélène BALESSENT – Chargée de recherche, INRA de Versailles-Grignon, UMR BIOlogie et GEStion des Risques en agriculture

M. Philippe CASTAGNONE – Directeur de recherche, INRA PACA, Institut Sophia Agrobiotech

M. Bruno CHAUVEL – Chargé de recherche, INRA de Dijon, UMR Agroécologie

M. Nicolas DESNEUX – Chargé de recherche, INRA PACA, Institut Sophia Agrobiotech

Mme Marie-Laure DESPREZ-LOUSTAU – Directrice de recherche, INRA de Bordeaux, UMR Biodiversité, Gènes & Communautés

M. Abraham ESCOBAR-GUTIERREZ – Chargé de recherche, INRA de Lusignan, UR Pluridisciplinaire Prairies et Plantes Fourragères

M. Laurent GENTZBITTEL – Professeur des universités, École Nationale Supérieure Agronomique de Toulouse, Laboratoire Écologie Fonctionnelle et Environnement

M. Hervé JACTEL – Directeur de recherche, INRA de Bordeaux, UMR Biodiversité, Gènes & Communautés

M. Xavier NESME – Ingénieur de recherche, INRA, UMR 5557 Écologie microbienne

M. Stéphane STEYER – Attaché scientifique, Centre wallon de Recherches Agronomiques, Département Sciences du Vivant, Unité Biologie des nuisibles et biovigilance

M. Frédéric SUFFERT – Ingénieur de recherche, INRA de Versailles-Grignon, UMR BIOlogie et GEstion des Risques en agriculture

Mme Valérie VERDIER – Directrice de recherche, IRD, UMR Résistance des Plantes aux Bioagresseurs

M. Éric VERDIN – Ingénieur de recherche, INRA, Unité de pathologie végétale d'Avignon

M. François VERHEGGEN – Enseignant-chercheur, Université de Liège - Faculté de Gembloux Agro-Bio Tech, Unité Entomologie fonctionnelle et évolutive

M. Thierry WETZEL – Directeur du laboratoire de Virologie Végétale, RLP Agrosience, AIPlanta – Institute for Plant Research

## **PARTICIPATION ANSES**

---

### **Coordination scientifique**

Mr Charles MANCEAU

## **AUDITIONS DE PERSONNALITES EXTERIEURES**

---

Mr Pascal BLOY – directeur du pôle national 'Matériel végétal' de l'IFV

## SOMMAIRE

<b>Présentation des intervenants</b> .....	<b>3</b>
<b>Sigles et abréviations</b> .....	<b>7</b>
<b>Liste des tableaux</b> .....	<b>7</b>
<b>Liste des figures</b> .....	<b>7</b>
1 Contexte, objet et modalités de traitement de la saisine.....	8
1.1 Contexte.....	8
1.2 Objet de la saisine.....	8
1.3 Modalités de traitement : moyens mis en œuvre et organisation.....	8
1.4 Prévention des risques de conflits d'intérêts.....	9
2 Efficacité du traitement à l'eau chaude.....	10
2.1 Efficacité pour la Flavescence Dorée (FD) et <i>Xylella fastidiosa</i> (XF) avec couple temps/température de 35 minutes à 50°C.....	10
2.1.1 Comparaison de différents couples temps/température sur l'efficacité du traitement vis-à-vis de la FD.....	10
2.1.2 Autres données bibliographiques et comparaison de différents couples temps/température sur l'efficacité du traitement vis-à-vis FD et Xf.....	12
2.1.3 Conclusion sur la première partie de la saisine concernant FD et Xf.....	15
2.2 Efficacité du traitement à l'eau chaude avec les couples temps/température de 35 minutes à 50°C et de 45 minutes à 50°C sur les organismes suivants : jaunisses de manière générale, <i>Xylophilus ampelinus</i> , <i>Phylloxera</i> , <i>Agrobacterium tumefaciens</i> et <i>Agrobacterium vitis</i> , nématodes vecteurs de virus, insectes et plus particulièrement aux stades de développement œufs, larves, nymphes.....	15
2.2.1 Jaunisses de la vigne en général.....	15
2.2.2 <i>Xylophilus ampelinus</i> .....	18
2.2.3 <i>Phylloxera</i> .....	18
2.2.4 <i>Agrobacterium tumefaciens</i> et <i>Agrobacterium vitis</i> .....	19
2.2.5 Nématodes vecteurs de virus.....	20
2.2.6 Insectes aux stades œufs, larves, nymphes.....	22
2.2.7 Synthèse des données de la littérature scientifique sur l'efficacité des TEC vis-à-vis de divers bioagresseurs de la vigne.....	23
2.2.8 Conclusion sur la deuxième partie de la saisine concernant les autres bioagresseurs de la vigne.....	23
3 Conclusion générale.....	25
4 Bibliographie.....	28
4.1 Publications.....	28
4.2 Normes.....	30
4.3 Législation et réglementation.....	30

ANNEXES .....	31
<b>Annexe 1 : Lettre de saisine.....</b>	<b>32</b>
<b>Annexe 2 : Rapport technique fourni avec la saisine pour examen.....</b>	<b>34</b>
<b>Annexe 3 : Diaporama présenté au GT par Mr Pascal BLOY le 23 février 2016.....</b>	<b>57</b>
<b>Annexe 4 : Tableau 9 synthétique des conclusions sur l'efficacité des traitements à l'eau chaude sur les organismes nuisibles de la vigne initialement intégré au rapport contenant les erreurs d'interprétations pour le bois noir et <i>A. tumefaciens</i>...65</b>	



## Sigles et abréviations

EFSA : European Food Safety Authority / Autorité Européenne de la Sécurité Alimentaire

FD : Flavescence dorée

FFPV : Fédération Française de la Pépinière Viticole

IFV : Institut français de la vigne et du vin

RBSV : Risques biologiques pour la santé des végétaux

TEC : Traitement à l'eau chaude

Xf : *Xylella fastidiosa*

## Liste des tableaux

Tableau 1. Résultats des essais de TEC conduits en 2010	11
Tableau 2. Résultats des essais de TEC conduits en 2011	12
Tableau 3. Etat actuel de la caractérisation moléculaire, de biologique et des vecteurs de phytoplasmes responsables de jaunisses de la vigne (d'après Constable, 2010)	16
Tableau 4. Efficacité de TEC (à différentes combinaisons temps/température) sur des boutures de vigne contaminées par le BN (rapport IFV)	17
Tableau 5. Temps nécessaire pour tuer différentes souches d'Agrobacterium dans un bouillon nutritif (Burr et al., 1995)	20
Tableau 6. Virus de la vigne transmis par des nématodes (d'après Kreiter, 2008)	21
Tableau 7. Liste de triplets « température-temps » autorisés comme traitements à appliquer aux vignes importées au Canada pour éliminer les nématodes ainsi que le phylloxéra (Agence Canadienne d'Inspection des Aliments)	21
Tableau 8. Synthèse des données de la littérature scientifique sur les TEC analysées pour la rapport en réponse à la saisine 2015-SA-0266	23
Tableau 9. Synthèse des conclusions sur l'efficacité des traitements à l'eau chaude sur les organismes nuisibles de la vigne évalués dans le cadre de la saisine.	26

## Liste des figures

Figure 1. Plage de TEC efficaces pour détruire la FD (à gauche, Caudwell et al., 1990) et Xf (à droite, Goheen et al., 1973)	
Figure 2. Taux de croissance <i>in vitro</i> de Xf et autres bactéries à différentes températures (Feil & Purcell, 2001)	14
Figure 3. Compilation des résultats des essais de TEC avec différents couples temps/température chez FD et Xf	14
Figure 4. Pourcentage de mortalité des œufs de <i>Planococcus ficus</i> à différentes températures et différents temps d'immersion (Haviland et al., 2005)	22

# 1 Contexte, objet et modalités de traitement de la saisine

## 1.1 Contexte

La réglementation phytosanitaire relative à la flavescence dorée indique que le traitement à l'eau chaude (TEC) du matériel végétal de la vigne doit être réalisé avec un couple temps/température de 45 minutes à 50°C (Annexe IV, Partie B. Art 32 de la Directive 2000/29/EC). Par ailleurs, le traitement à l'eau chaude avec le couple temps/température de 45 minutes à 50°C a également été validé par EFSA afin d'assainir le matériel végétal vis-à-vis de *Xylella fastidiosa* (Xf). Il est repris dans la modification de la décision communautaire relative à *Xylella fastidiosa* adoptée le 23 novembre 2015.

Toutefois, selon certains professionnels, la réalisation de ce traitement à l'eau chaude génère des problèmes de reprise du matériel végétal et des retards de débourrements, néfastes à la filière viticole.

Face à ce constat, un programme d'étude de l'IFV a été cofinancé par FranceAgriMer et la Fédération Française de la Pépinière Viticole (FFPV). Cette étude démontre qu'un couple temps/température de 35 minutes à 50°C permettrait d'assainir le matériel végétal de la vigne vis-à-vis de la FD et ne présente pas les effets néfastes de problèmes de reprise ou de retard au débourrement.

## 1.2 Objet de la saisine

Au regard de ces éléments, il est attendu de cette expertise de déterminer :

1- l'efficacité du traitement à l'eau chaude pour la flavescence dorée (FD) et *Xylella fastidiosa* (Xf) avec couple temps/température de 35 minutes à 50°C.

2- l'efficacité du traitement à l'eau chaude avec les couples temps/température de 35 minutes à 50°C et de 45 minutes à 50°C sur :

- les organismes responsables de jaunisses de manière générale,
- *Xylophilus ampelinus*,
- Phylloxera,
- *Agrobacterium tumefaciens* et *Agrobacterium vitis*,
- les nématodes vecteurs de virus,
- les insectes et plus particulièrement aux stades de développement œufs, larves, nymphes.

## 1.3 Modalités de traitement : moyens mis en œuvre et organisation

L'Anses a confié au CES « Risques biologiques pour la santé des végétaux » (RBSV) l'instruction de cette saisine.

Les travaux d'expertise ont été soumis au CES. Le rapport produit par les rapporteurs tient compte des observations et éléments complémentaires transmis par les membres du CES.

La version finale du rapport a été présentée au CES pour discussion, tant sur les aspects méthodologiques que scientifiques.

## 1.4 Prévention des risques de conflits d'intérêts

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](http://www.anses.fr)).

## 2 Efficacité du traitement à l'eau chaude

### 2.1 Efficacité pour la Flavescence Dorée (FD) et *Xylella fastidiosa* (Xf) avec couple temps/température de 35 minutes à 50°C

Le groupe de travail (GT) a examiné les éléments bibliographiques et rapports en sa possession qui permettent de déterminer le niveau d'efficacité d'un traitement de 35 minutes à 50°C pour éliminer la flavescence dorée (FD) et *Xylella fastidiosa* (Xf). Dans la mesure où la saisine est relative à une question posée par la filière viticole, le GT s'est limité à analyser l'effet de traitements à l'eau chaude de la vigne sur la survie des agents pathogènes FD et Xf. En revanche, l'effet du traitement sur la reprise du matériel végétal viticole étant hors saisine, celui-ci n'a pas été analysé.

#### 2.1.1 Comparaison de différents couples temps/température sur l'efficacité du traitement vis-à-vis de la FD

**Analyse du rapport de l'IFV du programme FranceAgriMer.** Le rapport technique "Traitement à l'eau chaude des bois et plants de vigne" de l'IFV dans le cadre du programme FranceAgriMer 2011-2012 qui a motivé la saisine est donné en annexe de cette dernière. Le rapport étant assez succinct, l'ANSES a contacté l'IFV pour avoir un supplément d'informations sur les expérimentations présentées dans ce rapport. M. Pascal Bloy, auparavant directeur de l'ENTAV et actuellement directeur du pôle national "Matériel Végétal" de l'IFV a rencontré le GT le 15 mars 2016 dans les locaux de l'ANSES à Maisons-Alfort. M. Bloy – qui n'a pas réalisé les expérimentations et n'est pas l'auteur du rapport de l'IFV – a présenté au GT un diaporama concernant un ensemble d'essais menés par l'IFV en 2010-2012 qui avaient pour but de tester différents couples temps/température sur l'efficacité du traitement à l'eau chaude (TEC) (*i.e.* sur matériel végétal contaminé) et d'analyser l'effet des TEC sur la reprise des bois et plants de vigne (*i.e.* sur matériel végétal sain). Le diaporama présenté à cette occasion est en annexe du présent rapport. M. Bloy nous a fourni en particulier des éléments sur les effectifs de boutures testés qui ne figuraient pas dans le rapport.

Les essais de traitements effectués en 2011 et 2012 sont la suite d'une série d'essais de TEC conduits en 2000, 2001 et 2003 avec différents couples temps/température. De ces premiers essais, il ressortait que des TEC avec des temps inférieurs ou égaux à 25 minutes à une température inférieure ou égale à 50°C sont pratiquement toujours inefficaces, alors que les TEC de 35 et 40 minutes à 50°C étaient tous efficaces. Entre ces conditions, **un TEC de 30 minutes à 50°C conduit en 2003 avec un lot de 300 plants a montré la présence de 1% de plants contaminés après traitement**, démontrant l'existence d'un risque sanitaire d'un TEC dans ces conditions.

Les essais de l'IFV faisant l'objet du rapport ont été réalisés avec des boutures présumées infectées, prélevées sur des pieds-mères présentant des symptômes de FD à des degrés ou pourcentages variés. L'efficacité des TEC a été évaluée par le suivi des boutures plantées sous serre « insect-proof » pour suivre l'extériorisation des symptômes sur les feuilles et ultérieurement par la vérification de l'absence du phytoplasme par des tests de biologie moléculaire sur feuille ou racine.

Les premiers essais ont été conduits en 2010 (observation des effets en 2011 et 2012). A noter que **la maladie pouvant se manifester la deuxième année sur des plants témoins ne**

**présentant pas de symptôme la première année, l'efficacité des TEC a été évaluée par l'état sanitaire des plantes après deux années successives d'observation.** Ce point est important à considérer dans l'examen des données bibliographiques.

**Tableau 1. Résultats des essais de TEC conduits en 2010 (Rapport IFV)**

Année	Témoin non traité		48°– 35'	48° - 45'	50° - 30'	50° - 35'	50° - 45'
2011	15 FD	40 "saines"	/	/	/	/	/
2012	14 mortes 1 FD	5 FD	/	/	/	/	/

Le Tableau 1 (repris du rapport de l'IFV) montre qu'il y avait 55 boutures issues de 2010 et observables à partir de 2011 dans le lot témoin (= ayant repris). Chaque traitement a été conduit avec au moins 90 boutures, mais les données fournies tiennent compte à la fois du taux de reprise et de l'efficacité du traitement.

En résumé des discussions avec M. Bloy illustrées par le diaporama (annexe 3), nous avons noté que pour tous les TEC : (i) le taux de reprise était supérieur à 73,5% et aucun plant n'a été malade même après deux ans d'observation et (ii) que le taux de reprise était relativement faible (43%) sur les 90 boutures initiales (Diapositive 12). Le taux d'infestation des boutures témoins révélé après deux années d'observation, rapporté aux boutures ayant effectivement repris, était de 36% ( $(15+5)/55$ ). En ce qui concerne les différents TEC, seuls sont indiqués dans le tableau du rapport de l'IFV des "/" pour absence de symptôme après deux ans d'observation. Toutefois, il nous a été indiqué que le taux de reprise était supérieur à 75% pour tous les traitements, donc avec au moins 67 plantes (75% de 90) observées par traitement.

En prenant la loi de Poisson comme approximation raisonnable de la loi binomiale pour de faibles pourcentages, un symptôme aurait été détecté dans un lot de 67 plants si celui-ci provenait d'une population contaminée à 4,5% ou plus (test significatif au risque 5%). Le même raisonnement pouvant être fait avec tous les essais, il apparaît que tous les TEC testés ont conduit à abaisser le taux de maladie de 36% voire plus (si on suppose qu'une partie des non-reprises dans le lot témoin est associé à la FD puisque le taux de reprise est très inférieur à celui des plants traités) à un taux résiduel au maximum égal à 4,5%.

De nouveaux essais ont été conduits en 2011 avec des effectifs plus importants ("/" veut dire ici 0 sur un effectif maximal de 80 (pour 160 plants traités, la mortalité ayant atteint 50% des boutures cette année, Cf. Diaporama page 65) (Tableau 2). Cependant, afin de se placer dans des conditions plus proches de la pratique (où les boutures traitées à l'eau chaude sont prélevées dans des parcelles peu ou apparemment pas atteintes de FD), le taux de contamination des plants était très inférieur à celui de l'essai de 2010 (2% ici en première année contre 27% dans l'essai de 2010) rendant très peu fiable l'évaluation de l'efficacité des TEC car au seuil de 5%, un symptôme aurait été détecté avec certitude dans un lot de 80 plants si celui-ci provenait d'une population contaminée à au-moins 5%). L'efficacité de chaque TEC pris individuellement ne peut donc être validée statistiquement. La vérification de l'absence de symptôme après deux années n'était pas encore réalisée au moment de la rédaction du rapport, mais M. Bloy a indiqué au GT qu'aucune plante n'avait présenté des symptômes de FD deux ans après les TEC.

Tableau 2. Résultats des essais de TEC conduits en 2011 (rapport IFV)

Type phytoplasme	Témoin non traité	48°-30'	48°-35'	48°-45'	49°-30'	49°-35'	50°-30'	50°-35'	50°-45'
FD (160 bt/lot) 5variétés	2%	/	/	/	/	/	/	/	/

En conclusion, il ressort des travaux de l'IFV qu'un traitement de 35 minutes à 50°C a été efficace pour éliminer la FD dans un premier essai réalisé en 2010 avec des plants fortement infectés. En absence de symptôme en 2ème année, des résultats allant dans le même sens ont été obtenus dans un essai indépendant réalisé en 2011, quoique avec une infection très faible révélée par les témoins non traités. L'absence de manifestation de la FD ayant été également obtenue avec des TEC avec un temps moindre à 50°C et une température moindre (48°C) pendant 35 minutes, une marge de sécurité raisonnable peut-être associée à l'efficacité contre la FD du TEC de 35 minutes à 50°C au regard de ces résultats.

### 2.1.2 Autres données bibliographiques et comparaison de différents couples temps/température sur l'efficacité du traitement vis-à-vis FD et Xf

Les travaux de l'IFV confirment les nombreux travaux réalisés par Caudwell et al. (1990, 1997) résumés dans la Fig. 1 montrant la plage de TEC efficaces pour détruite la FD. Caudwell retient qu'une température de 50°C est particulièrement intéressante par son efficacité pour des temps moyens de 30 à 60 minutes. C'est à dire comprenant le TEC "35 minutes à 50°C" qui est l'objet de la présente saisine.

En outre, les travaux de Goheen et al. (1973) (Figure 1 à droite) donnent une plage d'efficacité des TEC contre la maladie de Pierce (Pierce's disease ou PD) causée par *X. fastidiosa*. Cette plage reprise par Caudwell dans la figure de gauche est similaire à celle efficace pour la FD. **Ainsi, les deux agents pathogènes sont efficacement contrôlés par un TEC de 35 minutes à 50°C.** De plus, des travaux sur la croissance de *X. fastidiosa* ont montré que la bactérie ne survit pas au-delà de trois jours à 37°C *in planta* et que sa croissance est nulle au-delà de 34°C *in vitro* (Figure 2) (Feil & Purcell, 2001).

Avec 35 minutes à 50°C, une marge de sécurité en temps d'exposition existe puisque les travaux de ces auteurs montrent qu'un contrôle efficace des deux agents pathogènes est également possible avec une exposition de 20 minutes. Cependant, avec 20 minutes, on est très proche du temps de traitement critique où le TEC n'est plus totalement efficace. Cette zone de TEC critique est donnée par les droites en bas des graphes. C'est sur la base de ces travaux, et en gardant une marge de sécurité, que la norme réglementaire pour le TEC de la vigne a été fixée à 30 minutes à 50°C en Australie (Department of Agriculture, Fisheries and Forestry, 2013) et à 35 minutes à 50°C au Canada (<http://www.inspection.gc.ca/vegetaux/phytoravageurs-especes-envahissantes/directives/date/d-94-34/fra/1321940472117/1321940825401>)

Cependant, la compilation des résultats des essais de TEC obtenus par Caudwell *et al.* et Goheen *et al.* et ceux conduits par l'IFV en se focalisant sur les conditions de TEC faisant l'objet de la saisine montre que **la condition 30 minutes à 50°C est dans une zone de fiabilité critique car elle s'est révélée inefficace contre la FD dans les essais de 2003 de l'IFV** (Figure 3). Cette figure montre en revanche qu'un TEC de 35 minutes à 50°C est dans la zone d'efficacité définie par les différents auteurs avec une marge de 5 minutes au-dessus du temps d'exposition critique à 50°C et de 1,5°C au-dessus de la température critique pour un temps d'exposition de 35 minutes.

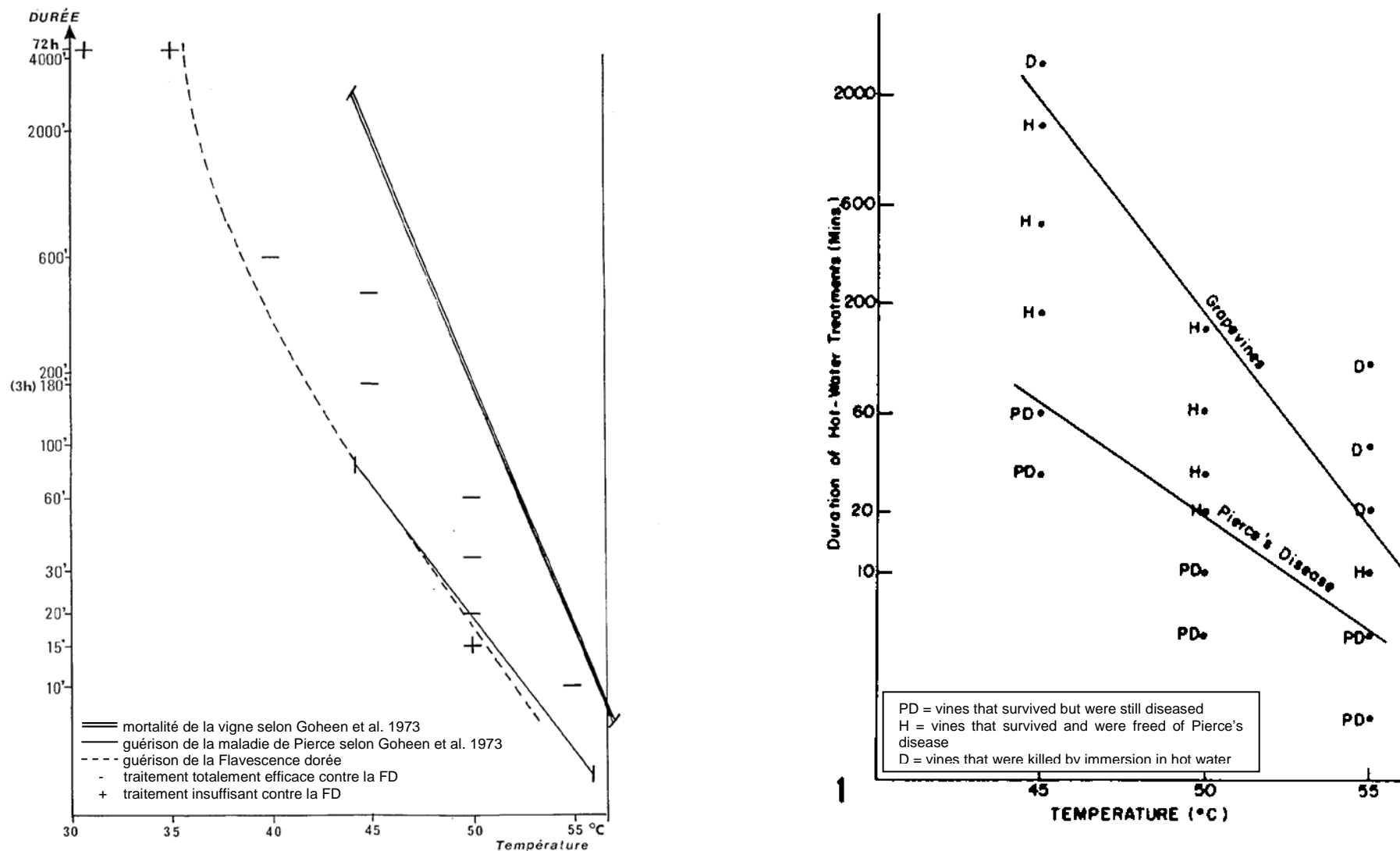


Figure 2. Plage de TEC efficaces pour détruire la FD (à gauche, Caudwell et al., 1990) et Xf (à droite, Goheen et al., 1973)

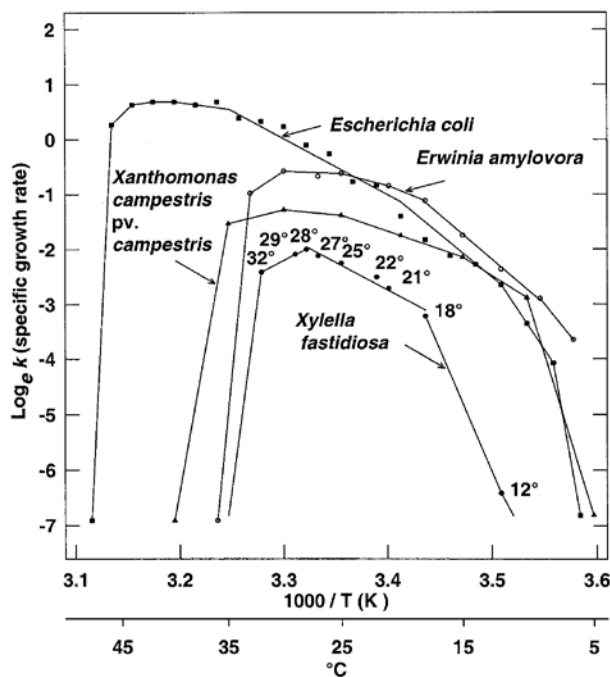


Figure 3. Taux de croissance *in vitro* de Xf et autres bactéries à différentes températures (Feil & Purcell, 2001)

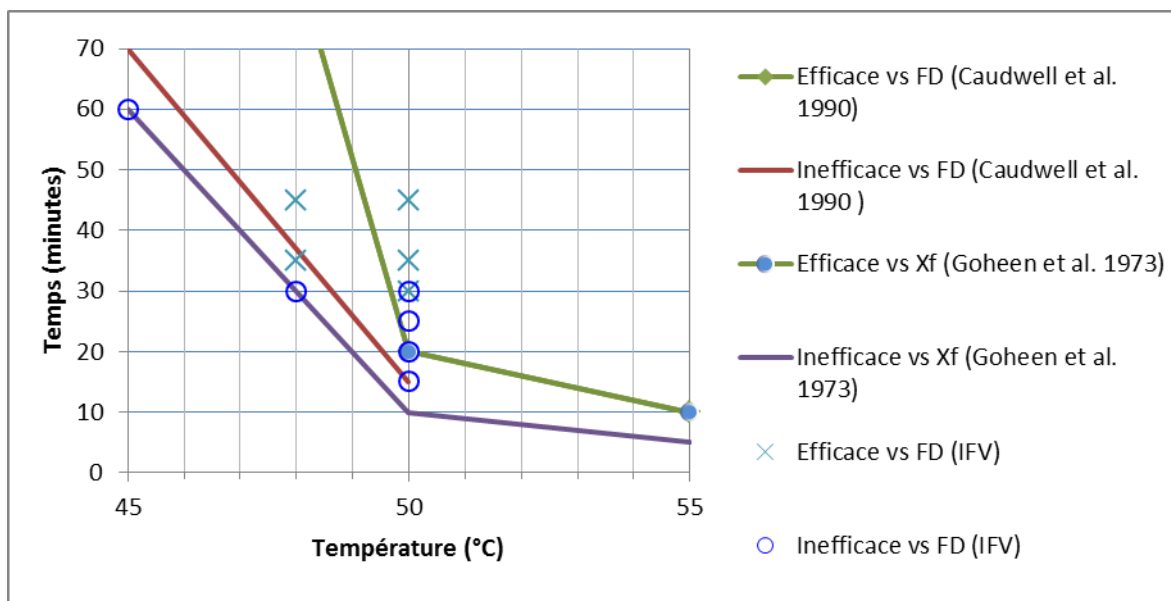


Figure 4. Compilation des résultats des essais de TEC avec différents couples temps/température chez FD et Xf

La courbe verte indique la zone de conditions au-dessus desquelles les TEC sont efficaces pour éliminer aussi bien le phytoplasme de la flavescence dorée (FD) que *X. fastidiosa* (Xf), alors que les courbes rouge et violette indiquent les zones de conditions au-dessous desquelles les TEC sont inefficaces pour éliminer respectivement FD et Xf d'après Goheen et al. (1973) et Caudwell et al., (1990). Les croix et les cercles indiquent respectivement les TEC qui ont été efficaces ou non dans les essais conduits par l'IFV en 2000, 2001, 2003 et 2010 (les essais de 2011 conduits avec des plants très faiblement contaminés et donc très peu significatifs quant à l'efficacité des TEC n'ont pas été considérés dans cette compilation).



### 2.1.3 Conclusion sur la première partie de la saisine concernant FD et Xf

Les différentes données bibliographiques et les essais récents de l'IFV montrent qu'un traitement des bois et plants de vigne à l'eau chaude pendant 35 minutes à 50°C est efficace pour détruire le phytoplasme de la flavescence dorée. Les données bibliographiques indiquent qu'il en est de même pour Xf.

Cependant, aucune donnée bibliographique ne permet d'assurer l'efficacité totale d'un traitement qui, dans sa durée ou la température d'application, ne respecterait pas les conditions minimales de 35 minutes et 50°C. Dès lors, l'abaissement de la durée du traitement de 45 à 35 minutes ne peut s'envisager que si la température de consigne du traitement de 50 °C est suffisamment maîtrisée pour que la température réelle ne descende jamais en-dessous de 49°C durant 35 minutes. En outre, pour maintenir une durée de traitement réellement efficace, celle-ci doit être considérée quand le bain est à la température de consigne, c'est-à-dire après stabilisation de la température suite à l'immersion des plantes.

## 2.2 Efficacité du traitement à l'eau chaude avec les couples temps/température de 35 minutes à 50°C et de 45 minutes à 50°C sur les organismes suivants : jaunisses de manière générale, *Xylophilus ampelinus*, Phylloxera, *Agrobacterium tumefaciens* et *Agrobacterium vitis*, nématodes vecteurs de virus, insectes et plus particulièrement aux stades de développement œufs, larves, nymphes

### 2.2.1 Jaunisses de la vigne en général

Le terme "jaunisses" décrit un syndrome de jaunissement des feuilles causé par divers phytoplasmes souvent difficiles à différencier en absence de méthodes moléculaires (Tableau 3).

Outre la FD, d'autres "jaunisses" à phytoplasmes sont connues sur la vigne au niveau mondial (<[https://fr.wikipedia.org/wiki/Jaunisse\\_de\\_la\\_vigne](https://fr.wikipedia.org/wiki/Jaunisse_de_la_vigne)>). La première classification des phytoplasmes, organismes non cultivables, est basée sur la séquence très conservée du gène de l'ARN 16S. Six groupes contiennent un ou plusieurs agents de jaunisses de la vigne dans le monde (Boudon-Padieu, 2005). Sont signalés en Europe : le **Bois noir** (*Ca. P. solani*, groupe 16SrXII-A), la **Jaunisse du Palatinat** (*Palatinate grapevine yellows* ou PGY, groupe 16SrV) (Maixner, 2006 ; Belli et al., 2010 ; Bertaccini, 2015), et l'**Aster yellows** (causé par le *aster yellows phytoplasma* ou AYP, groupe 16SrI) signalé sporadiquement en Italie et en Allemagne (Alma et al., 1996 ; Ipach et al., 2012).

**Tableau 3. Etat actuel de la caractérisation moléculaire, de la biologie et des vecteurs de phytoplasmes responsables de jaunisses de la vigne (d'après Constable, 2010)**

Grapevine disease	yellows	Phytoplasma name	Ribosomal group (subgroup)	Known insect vector to grapevine	Preferred host plants of vector	Occurrence
Flavescence dorée		FD	16SrV(-C, -D) or EY	<i>Scaphoideus titanus</i> Ball	<i>Vitis</i> sp.	Austria, Croatia, France, Italy, Hungary, Portugal, Spain, Serbia, Slovenia, Switzerland, Germany
Palatinate grapevine yellows		PGY	16SrV or EY	<i>Oncopsis alni</i> Schrank	<i>Alnus glutinosa</i> L.	Germany
Bois noir, Legno nero, Vergilbungskrankheit, Schwarzholzkrankheit		' <i>Candidatus phytoplasma solani</i> '	16SrXII-A or stolbur	<i>Hyalesthes obsoletus</i> Sign	<i>Convolvulus arvensis</i> L., <i>Urtica dioica</i> L., <i>Ranunculus</i> , <i>Solanum</i> , <i>Lavandula</i>	Europe, Lebanon
Australian yellows	grapevine	' <i>Candidatus Phytoplasma australiense</i> '	16SrXII-B	ND*	ND	Australia
Australian yellows	grapevine	Tomato Big bud (TBB)	16SrXII-D	ND	ND	Australia
Australian yellows	grapevine	' <i>Candidatus Phytoplasma australasia</i> '	16SrI (-B, -C) or AY	ND	ND	Australia
Buckland valley grapevine yellows (Aus)		BVGY	16SrI-related or AY-	ND	ND	Australia
Grapevine yellows		Aster yellows (AYP)	16SrI (-B, -C) or AY	ND	ND	Italy, Chile, Tunisia
North American grapevine yellows (NAGY)	grapevine yellows I (NAGY I)	Virginia grapevine yellows I (NAGY I)	16SrI-A or AY	ND	ND	Virginia (UA)
	Western X Virginia grapevine yellows III (NAGYIII)	Western X Virginia grapevine yellows III (NAGYIII)	16SrIII-I or WX	ND	ND	New York (USA) Virginia (USA)
Grapevine yellows		' <i>Candidatus Phytoplasma fraxini</i> ' X-disease	16SrVII	ND	ND	Chile
Grapevine yellows			16SrIII	ND	ND	Italy, Israel

\*ND : non déterminé

Contrairement à la FD, le **Bois noir** (BN) n'est pas une maladie à lutte obligatoire en France, sauf si l'arrêté préfectoral demande la lutte conjointe contre la FD et le BN par arrachage (Note de service DGAL/SDQP/2015-817 du 23/09/2015 ; Fiche pratique IFV Sud-Ouest) – car la distinction entre les deux maladies est très difficile à faire sur la base de la symptomatologie et nécessite des méthodes de laboratoire. Si le BN infecte de nombreux hôtes spontanés, il n'infecte cependant la vigne que par l'intermédiaire de vecteurs non ampélophages et ne s'y dissémine donc pas davantage (maladie non épidémique).

Le TEC contre le BN n'est pas obligatoire, mais la fiche pratique de l'IFV Sud Ouest précise : "Le traitement à l'eau chaude des bois et plants préconisé dans le cadre de la lutte contre la flavescence dorée est efficace sur le bois noir (50°C pendant 40 minutes)". Les données expérimentales qui ont conduit à cette préconisation ne sont cependant pas disponibles. En outre, le rapport de l'IFV annexé à la saisine dont est issu le Tableau 4 ci-dessous montre qu'un TEC de 30 minutes à 50°C n'a pas éliminé le BN. Il n'y a pas eu d'essai de TEC de 35 min à 50°C. Par contre, aucun symptôme de BN n'a été observé avec un TEC de 45 minutes à 50°C. Ce résultat est cependant à prendre avec précaution car les effectifs analysés sont petits (55 par lot).

L'intervalle de confiance d'un ratio de 0/55 est de 0 à 7% au seuil 5%, indiquant qu'un tel résultat, 0/55, aurait pu être observé dans 5% des cas avec un lot présentant jusqu'à 7% de plants malades ! Les autres travaux de TEC effectués sur le bois noir confirme cette observation (Tassart-Subirats et al., 2003 ; Borgo et al., 1999; Bianco et al., 2000; Bertaccini et al., 2001; Mannini & Marzachi, 2007). C'est pourquoi, en absence de données supplémentaires, il n'est pas possible de conclure sur l'efficacité du TEC 45 minutes à 50°C pour éliminer le phytoplasme du BN.

**Tableau 4. Efficacité de TEC (à différentes combinaisons temps/température) sur des boutures de vigne contaminées par le BN (rapport IFV)**

Type phytoplasme	Témoin non traité	48°-45'	50°-30'	50°-45'
BN (55 bt/lot) Chardonnay	7%	4%	2%	/

L'agent du BN apparaît donc moins sensible au TEC que celui de la FD et donc plus difficile à éliminer. Ce constat a été également rapporté en Italie (Mannini, 2007 ; Duduk et Mori, 2013). Toutefois, Tassart-Subirats et al. (2003) et Mannini et al. (2009) n'ont observé aucun plant contaminé par le BN après des TEC avec les couples 50°/30 min ou 45 min (contre 3,6-3,9 % témoins non traités infectés), et 52°/45 min (contre 9% témoins non traités infectés).

Comme la FD, le BN est justiciable de quarantaine au Canada (Agence canadienne de l'inspection des aliments) <http://www.inspection.gc.ca/vegetaux/phytoravageurs-especes-envahissantes/maladies/jaunisse-de-la-vigne/guide-d-identification/fra/1326143947606/1326144092300>.

Les paramètres de TEC préconisés par la réglementation canadienne sont donnés tableau 7.

La **jaunisse du Palatinat** (PGY) est une maladie non épidémique au vignoble et non réglementée (Maixner, 2006). Le phytoplasme en cause est très apparenté à celui de la FD et de la jaunisse de l'aulne (*Alder yellows*<sup>2</sup>) causée par le *Alder yellows phytoplasma* (AldYp) au point qu'ils appartiennent au même sous-groupe 16SrV-C (Arnaud et al., 2007). Toutefois, ils sont adaptés à des espèces de vecteurs différentes et non ampélophages – sauf pour le vecteur spécifique de la FD, *Scaphoideus titanus*. À notre connaissance, la littérature scientifique ne signale pas d'essais de TEC dirigés contre la jaunisse du Palatinat. Toutefois, en raison de leur très grande proximité génétique, on peut raisonnablement estimer que l'agent du PGY présente une sensibilité à l'eau chaude de niveau similaire à celui de la FD.

Pour l'**Aster yellow** (AYP), la seule mention de TEC provient de Bertaccini et al., 2001 qui indiquent que "*While the FD phytoplasma was never detected, BN and aster yellows (16SrXII-A and 16SrI-B) phytoplasmas resulted to be present in the treated materials*" mais sans indications précises de température et de durée, empêchant de conclure sur l'inefficacité des TEC faisant l'objet de la saisine.

<sup>2</sup> Attention, ne pas confondre *Alder yellow* et *Aster yellow* causés respectivement par AYP et AldYp qui appartiennent à des groupes différents.

En conclusion, pour traiter les vignes contre les jaunisses signalées sur le territoire, des TEC de 35 et 45 min à 50°C sont efficaces contre la FD et vraisemblablement le PYG mais inefficaces ou d'efficacité partielle car non soutenues par des essais concluants contre BN et AYP.

### 2.2.2 *Xylophilus ampelinus*

*Xylophilus ampelinus* est l'agent causal de la nécrose bactérienne de la vigne. Après contamination des jeunes organes, *X. ampelinus* se multiplie dans les vaisseaux de xylème et migre vers le cep et le porte greffe (Grall and Manceau, 2003). Les contaminations peuvent aboutir à des infections sans symptôme (Grall et al., 2005). L'inoculum primaire de l'agent pathogène est présent de façon latente dans le porte greffe, le greffon et dans les bourgeons dormants (Héritier, 1983). Les bactéries passent l'hiver dans les tissus vasculaires (Panagopoulos, 1987). Les boutures de porte greffe et de greffon constituent la source primaire d'inoculum et le mode de transmission pour une dissémination à longue distance (EPPO, 2009).

Peu de travaux ont été effectués pour mesurer l'efficacité de TEC pour assainir les bois de vigne vis-à-vis de *X. ampelinus*. Roberts (1993) rapporte les résultats de Psallidas et Argyropoulos qui montrent qu'un TEC de 50°C pendant 20 ou 30 min est efficace pour réduire les populations de *X.ampelinus* à un niveau inférieur au seuil de détection dans des boutures de vigne préalablement contaminées avec une suspension bactérienne ( $10^8$  cfu/ml). Les auteurs aboutissent aux mêmes conclusions en utilisant des boutures naturellement contaminées même si on doit prendre ces derniers résultats avec précaution dans la mesure où aucune bouture de plants témoins non traités à l'eau chaude ne s'est révélée malade à la fin de l'essai. Les effectifs des échantillons étant très faibles (3 boutures), le protocole expérimental était de fait incapable de révéler une différence significative. À plus basse température, par contre, avec un TEC de 20 min à 45°C, 2/13 plantes étaient encore contaminées (contre 11/13 des plantes témoins non traitées à l'eau chaude).

En conclusion, dans la mesure où un TEC de 50°C pendant 20 min permet d'assainir des boutures de vigne vis-à-vis de *X. ampelinus*, des TEC plus longs de 35 min ou 45 min à 50°C seront également efficaces pour éliminer la bactérie. Une incertitude sur l'efficacité de ces paramètres de traitement se situe au niveau de leur extrapolation à des boutures et des plants de vigne infecté par un processus naturel qui pourrait avoir pour conséquence une sensibilité des bactéries différente à la température par leur localisation ou leur physiologie. Cette incertitude est cependant de faible niveau.

### 2.2.3 *Phylloxera*

Le Phylloxera (*Vitaeus vitifoliae*, Homoptera: Phylloxeridae), ravageur majeur de la vigne, est un organisme de quarantaine dont la dissémination hors des zones endémiques requiert des mesures phytosanitaires strictes. Dans ce contexte, la fiche PM 10/16 de l'OEPP indique un TEC standardisé pour désinfecter des boutures racinées de vigne qui comprend une étape de préchauffage des racines par immersion des boutures racinées dormantes dans de l'eau à 43°C pendant 5 min immédiatement suivi par le traitement thermique par immersion dans de l'eau à 52°C pendant 5 min et éventuellement par un bain de refroidissement de 30 min. Ce TEC est efficace à tous les stades de développement de l'insecte (*V. vitifoliae*). Il est cependant basé sur une température de consigne (52°C) supérieure à celle faisant l'objet de la saisine (50°C). Sakai et al. (1985) ont par contre montré qu'un TEC de 20 min à 45°C était aussi efficace qu'une fumigation au bromure de méthyle ( $24 \text{ g.m}^{-3}$ ) pendant 3 heures pour protéger les porte-greffes de vigne contre le phylloxera. On peut extrapoler avec une incertitude de faible niveau que des TEC plus longs (35 et 45 min) et à température (50°C) sont efficaces contre le phylloxera et ceci vraisemblablement à tous les stades de développement de l'insecte.

## 2.2.4 *Agrobacterium tumefaciens* et *Agrobacterium vitis*

La maladie de la Galle du collet (*crown gall*) se traduit par la formation de tumeurs au collet, sur les racines et aux points de greffe chez de nombreux végétaux d'intérêt dont la vigne où la maladie est aussi appelée Broussin lorsqu'elle se manifeste le long des sarments. Galle du collet et Broussin sont préjudiciables à la fois en culture (lorsque les gelées tardives causent des micro-lésions sur les tiges nécessaires à l'induction de la maladie par les agrobactéries hébergées dans le xylème), et en pépinière (où les conditions culturales favorisent le développement de tumeurs aux points de greffe à partir d'agrobactéries du sol, du substrat ou hébergées par la plante). Le mode d'action de la Galle du collet implique le transfert et l'intégration dans le génome de la plante d'une partie d'un plasmide nommé plasmide Ti. Les plantes ainsi transformées génétiquement synthétisent des phytohormones en abondance provoquant le développement des tumeurs. À noter cependant que le plasmide Ti est accessoire et que la plupart des agrobactéries qui sont des hôtes naturels du sol et de la rhizosphère en sont dépourvus et ne sont donc pas pathogènes.

La maladie présente des particularités chez la vigne. Ainsi, contrairement à ce qui se passe chez la plupart des autres végétaux, les agrobactéries peuvent être systémiques chez la vigne, colonisant le xylème où elles peuvent se maintenir des années sans manifestation apparente de symptôme. Les vignes ainsi infestées et qui ne manifestent pas la maladie favorisent la diffusion de matériel contaminé et sont probablement à l'origine des problèmes de Galle du collet en pépinière viticole. Un groupe particulier d'agrobactérie nommé selon l'ancienneté des travaux *Agrobacterium tumefaciens* biovar 3, *Agrobacterium vitis* et maintenant *Allorhizobium vitis* (Moussavi et al., 2010) est inféodé à la vigne [nommé *A. vitis* dans ce document]. Cependant, des agrobactéries appartenant à d'autres groupes taxonomiques (et identiques à celles qui affectent les autres végétaux) peuvent également se trouver dans le xylème de la vigne, seules ou en mélange avec *A. vitis*. Ces agrobactéries qui sont également impliquées dans la Galle du collet chez la vigne ont été historiquement classées dans le biovar 1 d'*Agrobacterium tumefaciens* dont on sait maintenant qu'il s'agit d'un complexe d'espèces (Costchareyre et al., 2010) [nommé *A. tumefaciens* biovar 1 dans ce document].

*A. vitis* et *A. tumefaciens* biovar 1 présentent des biologies assez différentes et ne répondent pas de la même façon aux TEC.

Burr et al. (1989) ont étudié la survie de différentes souches d'*Agrobacterium* cultivées *in vitro* à différentes températures. Deux voire trois groupes se distinguent nettement : celui des souches survivant à 25 min à 50°C et celui des souches ne survivant pas à un tel traitement avec la situation intermédiaire de K84 (Tableau 5). Ces trois groupes correspondent en fait respectivement à des souches appartenant à *A. tumefaciens* biovar 1 (comme NCPPB 2437, autre nom de B6, souche-type du genre *Agrobacterium* et représentant typique du biovar 1), à *A. vitis* (comme K306) et au biovar 2 dans le cas de K84. De ces essais, il ressort en fait que la survie des souches d'*A. tumefaciens* biovar 1 n'est pas affectée par 30 min à 50°C *in vitro*. Il est donc peu vraisemblable qu'un tel TEC soit efficace pour assainir la vigne contre *A. tumefaciens* bien qu'à notre connaissance il n'y a pas d'essai de TEC visant spécifiquement l'assainissement de la vigne contre *A. tumefaciens* biovar 1. Au contraire, la sensibilité *in vitro* d'*A. vitis* à une exposition à 50°C suggère l'intérêt de la thermothérapie pour assainir la vigne de ce pathogène.

Au champ, Ophel et al. (1990) indiquent qu'un TEC de 30 minutes à 50 °C réduit le niveau d'*A. vitis* dans des scions et des porte-greffes naturellement infectés au-dessous du seuil de détection. Cependant, après greffage et une saison de culture quelques vignes (<2%) traitées ont montré des symptômes (ce taux pouvant atteindre 60% chez les témoins non traités). Après culture en pépinière, *A. vitis* a en outre été détecté de manière systématique dans les vignes traitées thermiquement et ce jusqu'à 16% suivant les combinaisons porte-greffe x cultivar (ce taux pouvant atteindre jusqu'à 60 % chez les témoins non traités). Des résultats très similaires ont été obtenus par Mahmoodzadeh et al. (2003) qui notent 1 plante atteinte dans un lot de 30, lot traité 30 min à

50°C contre 19/30 avec le témoin non traité. Ces auteurs ont également montré la présence de 15/30 plantes atteintes après un TEC de 60 min à 40°C et de 0/30 pour un TEC de 15 min à 60°C.

Il apparaît ainsi qu'un TEC de 30 min à 50°C permet de réduire les atteintes de Galle du collet mais pas l'assainissement complet de la vigne vis-à-vis d'*A. vitis*. Une température plus élevée étant plus efficace, on pourrait penser avec une incertitude modérée qu'une exposition plus longue, 35 min et surtout 45 min serait plus efficace mais nous n'avons pas connaissance d'essai portant sur l'efficacité de TEC de 35 ou 45 min à 50°C contre *A. vitis*.

**Tableau 5. Temps nécessaire pour tuer différentes souches d'*Agrobacterium* dans un bouillon nutritif (Burr et al., 1995)**

Strain	Biovar	Source <sup>a</sup>	No. colonies counted <sup>b</sup> according to treatment time (min) <sup>c</sup>				
			0	10	15	20	25
2437	1	NCPPB	+	+	+	+	+
CIRS	1	NCPPB	+	+	+	+	+
K188	1	Australia	+	+	+	+	+
K198	1	Australia	+	+	+	+	+
B1-4 <sup>d</sup>	1	Australia	+	+	+	+	+
K84	2	Australia	+	+	50	5	0
K306	3	Australia	+	50	3	0	0
LK402	3	Australia	+	25	0	0	0
Schw 2	3	Australia	+	15	7	0	0
CG-49	3	United States	+	10	0	0	0
CG-484	3	United States	+	200	40	0	0

<sup>a</sup> Strains were obtained from the National Collection of Plant Pathogenic Bacteria (NCPPB), Harpenden, England, or were isolated by authors in Australia or the United States.

<sup>b</sup> Number of colonies counted on medium 523 after 72 hr at 28 C. + = Solid lawn of bacterial growth.

<sup>c</sup> About 10<sup>4</sup> cfu of bacteria in yeast extract broth were plated following heat exposures.

<sup>d</sup> Strain from hot water treated K5140 cutting.

### 2.2.5 Nématodes vecteurs de virus

Des nématodes sont dommageables à la vigne en tant que vecteurs potentiels de viroses (Tableau 6). Ils appartiennent aux genres *Longidorus* et *Xiphinema*. Toutefois, nous n'avons pas trouvé de publications scientifiques traitant le sujet de l'efficacité des traitements à l'eau chaude pour éliminer des plantes de vigne des nématodes listés comme vecteurs de virus. Ceci est probablement dû au fait que les *Longidorus* et *Xiphinema* sont des ectoparasites qui ne colonisent pas les tissus de la vigne. Les seules données sur le TEC pour lutter contre des nématodes de la vigne concernent d'autres espèces de nématodes qui sont directement dommageables aux plantes. En Europe, sont cités comme nématodes ravageurs directs de la vigne : *Meloidogyne*, *Pratylenchus*, *Tylenchulus semipenetrans*, *Mesocriconema (=Criconemella) xenoplax* et *Rotylenchulus reniformis* (Kreiter, 2008).

Pour ce qui concerne la lutte contre des nématodes à galles, Suatmadji (1982) a montré que des TEC peuvent être aussi efficaces que les nématicides. Ainsi, un traitement court à l'eau chaude (51,7°C pendant 5 minutes) sur les plants de vigne en dormance est recommandé depuis les années 1960 pour éradiquer les nématodes à galles en sortie de pépinières (Meagher, 1960). Cependant, diverses études ultérieures (Suatmadji, 1982 ; Nicholas et al., 1994 et Walker, 1997) ont montré que cette durée très courte de TEC pouvait ne pas être complètement efficace et qu'un très petit nombre de nématodes pouvait survivre après le traitement.

**Tableau 6. Virus de la vigne transmis par des nématodes (d'après Kreiter, 2008)**

VIRUS	NEMATODE VECTEUR	DISTRIBUTION
<i>Artichoke italian latent virus</i> (AILV)	<i>Longidorus apulus</i>	Europe Est, IT
<i>Arabis mosaic virus</i> (ArMV)	<i>Xiphinema. index</i> , <i>X. diversicaudatum</i>	tous pays
<i>Blueberry leaf mottle virus</i> (BBLMV)		
<i>Cherry leafroll virus</i> (CLRV)		
<i>Grapevine Bulgarian latent virus</i> (GBLV)	vecteur inconnu	Europe centrale et Est
<i>Grapevine Anatolian ringspot virus</i> (GARSV)		
<i>Grapevine deformation virus</i> (GDefV)		
<i>Grapevine chrome mosaic virus</i> (GCMV)	vecteur inconnu	Europe centrale et Est
<i>Grapevine fanleaf virus</i> (GFLV)	<i>X. index</i> , <i>X. diversicaudatum</i>	tous vignobles
<i>Grapevine Tunisian ringspot virus</i> (GTRV)		
<i>Peach rosette mosaic virus</i> (PRMV)	<i>X. americanum s.l.</i>	US, CA
<i>Raspberry ringspot virus</i> (RpRSV)	<i>L. macrosoma</i> , <i>L. maximus</i>	DE, CH
<i>Strawberry latent ringspot virus</i> (SLRSV)	<i>X. index</i> , <i>X. diversicaudatum</i>	DE, IT, CZ, SK
<i>Tobacco ringspot virus</i> (TRSV)	<i>X. americanum s.l.</i>	US, CA
<i>Tomato ringspot virus</i> (ToRSV)	<i>X. americanum s.l.</i>	US, CA
<i>Tomato blackring virus</i> (TBRV)	<i>L. attenuatus</i> , <i>L. elongatus</i>	DE, IS, CA

Malgré son incapacité à éradiquer complètement les nématodes présents dans les tissus, le traitement à l'eau chaude est reconnu comme la méthode de désinfection potentiellement la plus efficace pour satisfaire les critères de quarantaine. Ainsi, au Canada, dans la directive D-94-34 'Exigences régissant l'importation de matériel de multiplication de vigne' (Agence canadienne d'Inspection des Aliments), l'annexe 4 prévoit les traitements autorisés, à appliquer pour les vignes exportées au Canada pour éliminer les nématodes (ainsi que le phylloxéra). Comme indiqué plus haut dans le cas du phylloxera, le TEC comporte une étape de préchauffage du matériel végétal qui est immergé dans un bain d'eau chaude à 43,3 ou 31,7°C pendant 5 min avant immersion dans un bain plus chaud (entre 47,8 et 52,7°C) pendant des périodes allant de 3 à 30 min, dépendant du couple de températures. Tous les traitements autorisés sont repris dans le Tableau 7.

**Tableau 7. Liste de triplets « température-temps » autorisés comme traitements à appliquer aux vignes importées au Canada pour éliminer les nématodes ainsi que le Phylloxéra (Agence Canadienne d'Inspection des Aliments)**

Immersion pendant 5 minutes à... °C	PUIS Immersion à... °C	Pendant ... minutes
43,3 °C (100 °F)	47,8 °C (118 °F)	30
43,3 °C (100 °F)	48,9 °C (120 °F)	20
43,3 °C (100 °F)	50,0 °C (122 °F)	10
43,3 °C (100 °F)	51,7 °C (125 °F)	5
43,3 °C (100 °F)	52,7 °C (127 °F)	3
31,7 °C (89 °F)	52,2 °C (126 °F)	5

En conclusion, les nématodes associés à la vigne sont rapidement détruits par des TEC à 50°C pour une durée de quelques minutes et donc, le couple température-temps (50°C et 35 ou 45 min) proposé dans la saisine ne devrait pas poser de problèmes pour éliminer ce type d'organismes s'il se trouvait être présent dans les plants de vigne.

Les nématodes vecteurs de virus sont des ectoparasites qui ne sont pas transmis par les plants. Préconiser un TEC dans l'objectif de les éliminer est donc inutile.

## 2.2.6 Insectes aux stades œufs, larves, nymphes

Caudwell et al. (1997) ont mesuré l'impact du TEC (50°C pendant 45 min) sur les œufs de *Scaphoideus titanus* et rapporté que ce traitement était efficace sur la FD comme sur son vecteur *S. titanus*. Une étude plus récente (Linder et al., 2010) a montré qu'un TEC (50°C pendant 45 min) n'est pas totalement efficace pour rendre non-viables la totalité des œufs *Scaphoideus titanus* quoiqu'une réduction importante de la production de larves ait été observée.

Chez la cochenille de la vigne, *Planococcus ficus*, l'étude de TEC de 43 à 58°C pendant 2 à 20 minutes par Haviland et al. (2005) montre qu'un TEC de 51°C pendant 10 ou 20 min tue 100 % des œufs mais que la mortalité n'est pas totale à 50°C (Figure 4). Cependant, l'augmentation rapide de la mortalité en fonction du temps d'exposition permet d'extrapoler avec une incertitude modérée à faible qu'un TEC de 50°C de 30 min et a fortiori de 45 min conduirait à une mortalité complète des œufs même si des essais à 50°C à de telles durées n'ont pas été testés.

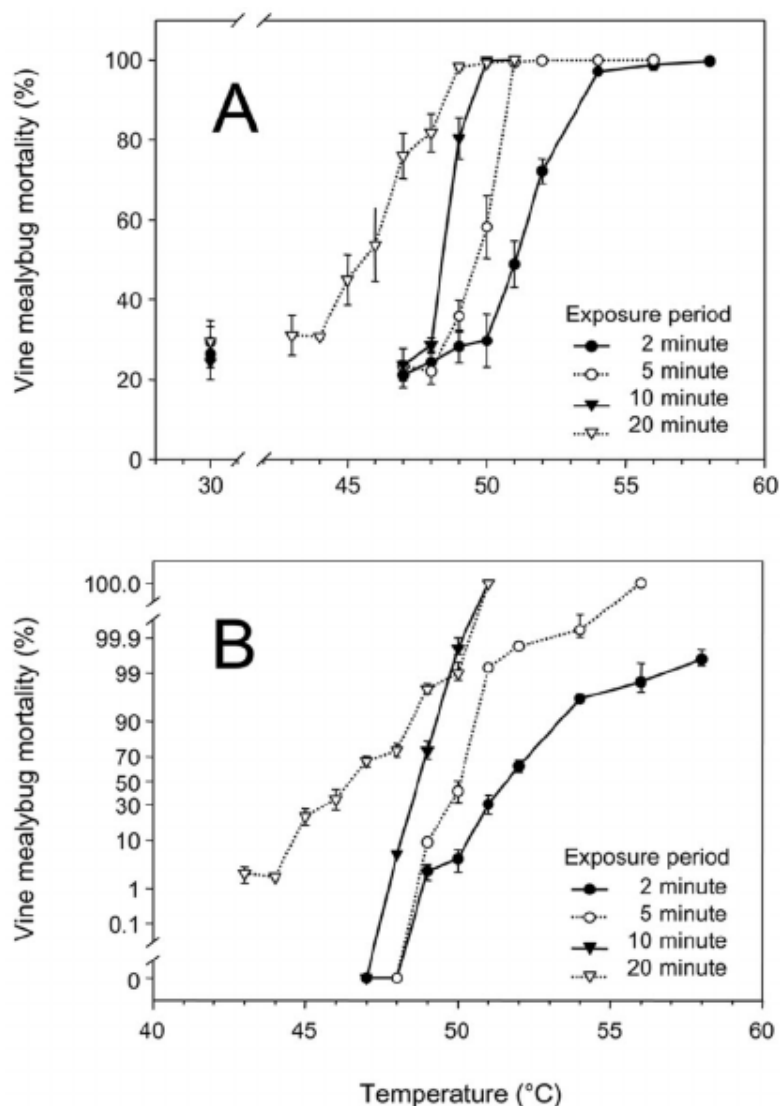


Figure 5. Pourcentage de mortalité des œufs de *Planococcus ficus* à différentes températures et différents temps d'immersion (Haviland et al., 2005)

(A) données non ajustées

(B) pourcentage de mortalité corrigé en fonction de la mortalité à 30°C

Les barres donnent l'erreur standard de la moyenne



## 2.2.7 Synthèse des données de la littérature scientifique sur l'efficacité des TEC vis-à-vis de divers bioagresseurs de la vigne

L'efficacité des TEC sur les ravageurs et maladies de la vigne ou de leurs vecteurs est résumée dans le Tableau 8. Citant Crous et al. 2001, le *Final review of policy: importation of grapevine (Vitis species) propagative material into Australia* (référence : Department of Agriculture, Fisheries and Forestry, 2013) indique que les TEC de 30 minutes à 50°C sont efficaces également pour éliminer les champignons endophytes les plus connus des boutures de vigne incluant ceux impliqués dans le dépérissement des jeunes vignes.

Tableau 8. Synthèse des données de la littérature scientifique sur les TEC analysées pour la rapport en réponse à la saisine 2015-SA-0266

Bioagresseur	Température	Durée	Efficacité	Référence
<b>Jaunisses (hors FD)</b>				
BN	52	45	(0/105) vs. (9/116)	Manini et al. 2009
BN	50	45	(0/1005) vs. (3/(1384-131))	Manini et al. 2009
BN	52	45	(0/(1080-144)) vs. (3/(1384-131))	Manini et al. 2009
BN	50	45	(0/(258-182)) vs. 10/(258-168)	Tassart-Subirats et al. 2003
BN	50	30	(0/(134-69)) vs. (5/(137-70))	Tassart-Subirats et al. 2003
BN	50	45	(0/(136-67)) vs. (5/(137-70))	Tassart-Subirats et al. 2003
BN	48	45	(55 bout./trait.) 4 % vs. 7%	IFV
BN	50	30	(55 bout./trait.) 2 % vs. 7%	IFV
<b>Bactéries (hors Xylella)</b>				
<i>Xylophilus ampelinus</i>	50	20 et 30	efficace	Robert 1993
<i>Agrobacterium tumefaciens</i>	50	30	pas totalement efficace	Burr 1989
<i>Agrobacterium vitis</i>	50	30	efficace	Burr 1989
<b>Insectes</b>				
Phylloxera = <i>Viteus vitifoliae</i> (tous stades)	43 + 52	5 + 5	éradication complète	Stonered & Strik 1996
Phylloxera (stade non indiqué)	45	20	aussi efficace que le bromure de méthyl	Sakai et al. 1985
Phylloxera	55	5	règlementation australienne	<a href="http://www.vinehealth.com.au/media/PQS-Version-9-2-July-2012-condition7.pdf">http://www.vinehealth.com.au/media/PQS-Version-9-2-July-2012-condition7.pdf</a>
Phylloxera	50	10	règlementation canadienne	<a href="http://www.inspection.gc.ca/vegetaux/phytoravageurs-especes-envahissantes/directives/date/d-94-34/fra/1321940472117/1321940825401">http://www.inspection.gc.ca/vegetaux/phytoravageurs-especes-envahissantes/directives/date/d-94-34/fra/1321940472117/1321940825401</a>
<i>Scaphoideus titanus</i> (oeufs)	50	45	mortalité 88-100% => pas totalement efficace	Linder et al. 2010
<i>Planococcus ficus</i> = Vine mealybug (tous stades)	50	10	mortalité de 99%-100%	Haviland et al. 2005
<i>Planococcus ficus</i> (tous stades)	50	20	mortalité de 99%-100%	Haviland et al. 2005
<b>Nématodes</b>				
<b>vecteurs de virus</b>				
<i>Xiphinema index</i> et <i>X. diversicaudatum</i>			aucune donnée	
<b>autres</b>				
<i>Meloidogyne incognita</i>	20	12	mortalité < 30%	Page-Weir et al., 2013
<i>Meloidogyne incognita</i>	45-46-47-48-49	12	mortalité 100%	Page-Weir et al., 2013
"les nématodes"	50	10	règlementation canadienne	<a href="http://www.inspection.gc.ca/vegetaux/phytoravageurs-especes-envahissantes/directives/date/d-94-34/fra/1321940472117/1321940825401">http://www.inspection.gc.ca/vegetaux/phytoravageurs-especes-envahissantes/directives/date/d-94-34/fra/1321940472117/1321940825401</a>

## 2.2.8 Conclusion sur la deuxième partie de la saisine concernant les autres bioagresseurs de la vigne

Les conditions de TEC à évaluer sont une température de 50°C pendant soit 35 min soit 45 min.

En ce qui concerne les jaunisses de la vigne, les données collectées dans la bibliographie et les résultats expérimentaux fournis par l'IFV montrent une diversité au sein des jaunisses qui se traduit par une tolérance à la température différente, notamment entre la FD et le BN. Un traitement à 50°C pendant 35 min est inefficace pour éliminer le phytoplasme responsable du bois noir dans la vigne. Il n'y a pas de travaux suffisamment robustes pour montrer qu'une durée de traitement de 45 min soit totalement efficace. En ce qui concerne les autres jaunisses, elles ne sont pas présentes sur vigne en France. La jaunisse du Palatinat est présente sur aulne. Du fait de

sa proximité taxonomique avec la FD, on peut penser que sa sensibilité au TEC est similaire à celle de la FD avec une incertitude élevée du fait du manque de données expérimentales. Pour le phytoplasme de l'*Aster yellow*, la littérature scientifique ne fournit pas de données permettant de montrer que le TEC soit efficace.

En ce qui concerne *Xylophilus ampelinus*, un TEC de 35 min ou 45 min à 50°C est efficace pour éliminer la bactérie. Une incertitude sur l'efficacité de ces paramètres de traitement se situe au niveau de leur extrapolation à des boutures et des plants de vigne infectés par un processus naturel qui pourrait avoir pour conséquence une sensibilité des bactéries différente à la température par leur localisation ou leur physiologie. Cette incertitude est cependant de faible niveau.

En ce qui concerne le Phylloxera, on peut extrapoler des données de la littérature que des TEC à 50°C pendant 35 min ou 45 min sont efficaces contre le phylloxera, vraisemblablement à tous les stades de développement de l'insecte. Une incertitude faible subsiste car les paramètres précis (50°C pendant 35 min ou 45 min) n'ont pas été testés.

En ce qui concerne les agrobactéries, *A. vitis* et *A. tumefaciens* biovar 1 présentent des biologies assez différentes et ne répondent pas de la même façon aux TEC. Un TEC de 30 min à 50°C permet de réduire les atteintes de Galle du collet mais pas l'assainissement complet de la vigne vis-à-vis d'*A. vitis*. Cependant, malgré l'absence de données expérimentales, du fait de la forte sensibilité d'*A. vitis in vitro* à 50°C, il est possible avec une incertitude modérée qu'un TEC de 35 min et surtout de 45 min à 50°C soit efficace pour assainir les plantes contre *A. vitis*. Par contre, la survie des souches d'*A. tumefaciens* biovar 1 n'étant pas affectée par 30 min à 50°C *in vitro* – et bien que les essais sur plants infectés visant spécifiquement *A. tumefaciens* biovar 1 fassent défaut – il est très peu probable qu'un TEC de 35 min à 50°C permette d'assainir des plants infectés par *A. tumefaciens* biovar 1. L'absence de donnée expérimentale ne permet pas d'évaluer l'efficacité d'un TEC de 45 min à 50°C contre ce type d'agrobactérie.

En ce qui concerne les nématodes vecteurs de virus, ce sont des ectoparasites qui ne sont pas transmis par les plants sans substrat. Le TEC est donc inutile dans l'objectif de la saisine. Les nématodes associés à la vigne sont sensibles aux conditions des TEC proposés.

En ce qui concerne les insectes, le TEC a été expérimenté sur peu d'organismes. Un TEC à 50°C pendant 45 min n'est pas totalement efficace pour rendre non-viables la totalité des œufs de *Scaphoideus titanus*. Une réduction importante de la production de larves est cependant observée.

Dans le cas de *Planococcus ficus*, l'extrapolation des essais de TEC suggère avec une incertitude de niveau modéré à faible que des TEC de 50°C pendant 35 min ou 45 min conduiraient à une mortalité complète des œufs de cochenille.

### 3 Conclusion générale

L'application de TEC sur des bois de vigne assainit de façon générale les organes traités vis-à-vis des bioagresseurs de la vigne. Cependant, les bioagresseurs ont des sensibilités différentes aux traitements.

Les différentes données bibliographiques et les essais récents de l'IFV montrent qu'un traitement des bois et plants de vigne à l'eau chaude pendant 35 minutes à 50°C est efficace pour détruire le phytoplasme de la FD. Les données bibliographiques indiquent qu'il en est de même pour Xf.

Cependant, aucune donnée bibliographique ne permet de s'assurer de l'efficacité totale d'un traitement qui, dans sa durée ou la température d'application, ne respecterait pas les conditions minimales de 35 minutes et 50°C. Dès lors, l'abaissement de la durée du traitement de 45 à 35 minutes ne peut s'envisager que si la température de consigne du traitement de 50 °C est suffisamment maîtrisée pour que la température réelle ne descende jamais en-dessous de 49°C durant 35 minutes. En outre, pour maintenir une durée de traitement réellement efficace, celle-ci doit être considérée quand le bain est à la température de consigne, c'est-à-dire après stabilisation de la température suite à l'immersion des plantes.

En ce qui concerne les jaunisses de la vigne, les données collectées dans la bibliographie et les résultats expérimentaux fournis par l'IFV montrent une diversité de réponses au traitement au sein des jaunisses qui se traduit par une tolérance à la température différente ; notamment entre la FD et le bois noir. Un traitement à 50°C pendant 35 min est inefficace pour éliminer le phytoplasme responsable du bois noir dans la vigne. Il n'y a pas de travaux suffisamment robustes pour montrer qu'une durée de traitement de 45 min serait plus efficace. En ce qui concerne les autres jaunisses, elles ne sont pas présentes sur vigne en France. La jaunisse du Palatinat est présente sur aulne. Du fait de sa proximité taxonomique avec la FD, on peut penser que sa sensibilité au TEC est similaire à celui de la FD avec une incertitude importante du fait du manque de données expérimentales. Pour le phytoplasme de l'Aster yellow, la littérature scientifique ne fournit pas de données permettant de montrer que ce TEC est efficace.

En ce qui concerne *Xylophilus ampelinus*, un TEC de 50°C pendant 35 min ou 45 min est efficace pour éliminer la bactérie. Une incertitude sur l'efficacité de ces paramètres de traitement se situe au niveau de leur extrapolation à des boutures et des plants de vigne infectés par un processus naturel qui pourrait avoir pour conséquence une sensibilité des bactéries différente à la température par leur localisation ou leur physiologie. Cette incertitude est cependant de faible niveau.

En ce qui concerne le Phylloxera, l'extrapolation des données de la littérature indique que des TEC à 50°C pendant 35 min. ou 45 min sont efficaces contre le phylloxera et ceci vraisemblablement à tous les stades de développement de l'insecte. Une incertitude modérée subsiste car les paramètres précis (50°C pendant 35 min ou 45 min) n'ont pas été testés.

En ce qui concerne les agrobactéries, *A. vitis* et *A. tumefaciens* biovar 1 présentent des biologies différentes et ne répondent pas de la même façon aux TEC. L'extrapolation des données expérimentales suggère avec une incertitude modérée qu'un TEC de 35 min et surtout de 45 min à 50°C pourrait être efficace pour assainir les plantes contre *A. vitis*. En revanche, même en absence de donnée expérimentale sur plants infectés, il est très peu probable qu'un TEC de 35 min à 50°C permette d'assainir des plants infectés par *A. tumefaciens* biovar 1. L'absence de

données ne permet pas d'évaluer l'efficacité d'un TEC de 45 min à 50°C contre ce type d'agrobactérie.

En ce qui concerne les nématodes vecteurs de virus, ce sont des ectoparasites qui ne sont pas transmis par les plants sans substrat. Le TEC est donc inutile dans l'objectif de la saisine. Néanmoins, les nématodes vecteurs de virus associés à la vigne sont sensibles aux conditions des TEC proposés.

En ce qui concerne les insectes, le TEC a été expérimenté sur peu d'organismes. Un TEC à 50°C pendant 45 min n'est pas totalement efficace pour rendre non-viables la totalité des œufs de *Scaphoideus titanus*. Une réduction importante de la production de larves est cependant observée.

Dans le cas de *Planococcus ficus*, l'extrapolation des essais de TEC suggère avec une incertitude de niveau modérée à faible que des TEC de 50°C pendant 35 min ou 45 min conduiraient à une mortalité complète des œufs de cochenille.

**Tableau 9. Synthèse des conclusions sur l'efficacité des traitements à l'eau chaude sur les organismes nuisibles de la vigne évalués dans le cadre de la saisine<sup>3</sup>.**

Organismes nuisibles	Durée du traitement à 50°C			
	45 minutes		35 minutes	
	efficacité	incertitude	efficacité	incertitude
Flavescence dorée	+	très faible	+	très faible
Bois noir	+	élevé	-	très faible
Jaunisses	+	élevée	+	élevée
<i>X. fastidiosa</i>	+	très faible	+	très faible
<i>X. ampelinus</i>	+	faible	+	faible
<i>A. vitis</i>	+	modérée	+	modérée
<i>A. tumefaciens</i>	inconnue	inconnue	-	faible
Phylloxera	+	modérée	+	modérée
<i>Scaphoideus titanus</i> (œufs)	-	faible	-	faible
<i>Planococcus coccus</i>	+	modérée	+	modérée
Nématodes vecteurs de virus	+	faible	+	faible

<sup>3</sup> Ce tableau 9 remplace le tableau le tableau 9 de la version précédente du rapport placé en annexe 4

L'incertitude est qualifiée à 4 niveaux (très faible, faible, modérée et élevée). Le niveau très faible est associé aux résultats qui supportent totalement l'hypothèse. Les autres niveaux d'incertitude sont explicités dans le texte (paragraphe 2 et 3).

**Date de validation du rapport : 12/09/2016**

## 4 Bibliographie

### 4.1 Publications

- ▶ Agence canadienne d'inspection des aliments. Jaunisse de la vigne Flavescence dorée et bois noir - Guide d'identification. <http://www.inspection.gc.ca/vegetaux/phytoravageurs-especes-envahissantes/directives/date/d-94-34/fra/1321940472117/1321940825401Normes>
- ▶ Alma A., Davis R.E., Vibio M., Danielli A., Bosco D., Arzone A., Bertaccini A. 1996. Mixed infection of grapevines in northern Italy by phytoplasmas including 16S rRNA RFLP subgroup 16SrI-B strains previously unreported in this host. *Plant Disease* 80, 418–21.
- ▶ Arnaud G., Malembic-Maher S., Salar P., Bonnet P., Maixner M., Marccone C., Boudon-Padieu E., Foissac X. 2007. Multilocus sequence typing confirms the close genetic interrelatedness of three distinct flavescence dorée phytoplasma strain clusters and group 16SrV phytoplasmas infecting grapevine and alder in Europe. *Applied and Environmental Microbiology* 73: 4001-10.
- ▶ Belli G., Bianco P.A., Conti M. 2011. Grapevine yellows in Italy: past, present and future. *Journal of Plant Pathology* 92 (2), 303-326.
- ▶ Bertaccini A. 2015. Phytoplasma diseases in grapevine yellows, a threat to worldwide viticulture. *18th Meeting ICVG, 7-11/9/15, Ankara*, p. 112-8.
- ▶ Boudon-Padieu E. 2005. Phytoplasmes de la vigne et vecteurs potentiels/ Grapevine phytoplasmas and potential vectors. *Bulletin O.I.V.* 78 (891–892), 299–320.
- ▶ Burr T.J., Ophel K., Katz B.H., Kerr A. 1989. Effect of hot water treatment on systemic *Agrobacterium tumefaciens* biovar 3 in dormant grape cuttings. *Plant disease* 73: 242-245.
- ▶ 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 (12): 281-286.
- ▶ Caudwell A., Larrue J., Boudon-Padieu E., Mclean G. D. 1997. Flavescence dorée elimination from dormant wood of grapevines by hot-water treatment. *Australian Journal of Grape and Wine Research*. 3: 21-25.
- ▶ Department of Agriculture, Fisheries and Forestry. 2013. Final review of policy: importation of grapevine (*Vitis* species) propagative material into Australia. CC BY 3.0.
- ▶ Constable F. E. 2010. Phytoplasma epidemiology: grapevines as a model. In *Phytoplasmas: genomes, plant hosts and vectors*, P. G. Weintraub & Phil Jones (ed.). pages 188-212.
- ▶ Costechareyre D., Rhouma A., Lavire C., Portier P., Chapulliot D., Bertolla F., Boubaker A., Dessaux Y., Nesme X. 2010. Rapid and efficient identification of *Agrobacterium* species by *recA* allele analysis. *Microbiol. Ecol.* 60:862-872. doi: 10.1007/s00248-010-9685-7
- ▶ Department of Agriculture, Fisheries and Forestry. 2013. Final review of policy: importation of grapevine (*Vitis* species) propagative material into Australia. CC BY 3.0. available at [daff.gov.au](http://daff.gov.au).
- ▶ EPPO (European and Mediterranean Plant Protection Organization). 2009. *Xylophilus ampelinus*, PM 7/96(1), EPPO Bulletin, 39, 403–412.
- ▶ EPPO (European and Mediterranean Plant Protection Organization). 2009. PM 10/16: Hot water treatment of grapevine to control *Viteus vitifoliae*. EPPO Bulletin. 39: 484-485.

- ▶ Feil H., Purcell A.H. 2001. Temperature-dependent growth and survival of *Xylella fastidiosa* *in vitro* and in potted grapevines. *Plant Disease* **85**: 1230-1234.
- ▶ Fiche pratique de l'IFV Sud-Ouest. Le bois noir ou stolbur de la vigne. <http://www.vignevin-sudouest.com/publications/fiches-pratiques/bois-noir.php>
- ▶ Goheen A.C., Nyland G., Lowe S.K. 1973. Association of a Rickettsialike organism with Pierce's disease of grapevine and alfalfa dwarf and heat therapy of the disease in grapevines. *Phytopathology* **63**: 341-345.
- ▶ Grall S., Manceau C., 2003. Colonization of *Vitis vinifera* by a green fluorescence protein-labeled, gfp-marked strain of *Xylophilus ampelinus*, the causal agent of bacterial necrosis of grapevine. *Applied and Environmental Microbiology*, 69: 1904–1912.
- ▶ Grall S., Roulland C., Guillaumes J., Manceau C. 2005. Bleeding sap and old wood are the two main sources of contamination of merging organs of vine plants by *Xylophilus ampelinus*, the causal agent of bacterial necrosis. *Appl. Environ. Microbiol.* 71: 8292–8300.
- ▶ Hanley J.A., Lippman-Hand A. 1983. If nothing goes wrong, is everything all right?: Interpreting zero numerators. *JAMA*, 249(13): 1743-1745.
- ▶ Haviland D.R., Bentley W.J., Daane K.M. 2005. Hot-Water Treatments for Control of *Planococcus ficus* (Homoptera: Pseudococcidae) on Dormant Grape Cuttings. *J. Econ. Entomol.* 98(4):1109-1115
- ▶ Héritier J, 1983. Bacterial necrosis in Aude. Bulletin technique—Chambre d'agriculture des Pyrenees-Orientales, 106 :50–56.
- ▶ Ipach, U., Kling, L., Maixner, M. 2012. First Occurrence of Aster Yellows Disease on Grapevine in the Palatinate Area, Germany. Proceedings of the 17<sup>th</sup> Congress of ICVG, Davis, California, USA October 7–14, 2012.
- ▶ Linder C., Schaub L., Klötzli-Estermann F. 2010. Efficacité du traitement à l'eau chaude contre les oeufs de *Scaphoideus titanus*, vecteur de la flavescence dorée de la vigne. *Revue suisse Viticulture, Arboriculture, Horticulture.* 42 (2): 132–135
- ▶ Kreiter S. 2008. Ravageurs de la vigne (2<sup>ème</sup> édition). Ouvrage collectif sous la direction de S. Kreiter : D. Esmenjaud, M. Martinez, R. Sforza, D. Thiéry, M. van Helden et M. Yvon. Editions Féret, 424pp.
- ▶ Mahmoodzadeh H., Nazemieh A., Majidi I., Paygami I., Khalighi A. 2003. Effects of Thermotherapy Treatments on Systemic *Agrobacterium vitis* in Dormant Grape Cuttings. *J. Phytopathology* 151: 481–484.
- ▶ Maixner M. 2006. Grapevine yellows - Current developments and unsolved questions. *15th Meeting ICVG*, 3-7/4/06, Stellenbosch, South Africa. p. 223-224.
- ▶ Maixner M. 2011. Recent advances in Bois noir research. *Petria* 21 (2/3): 95-108.
- ▶ Mannini F. 2007. Hot water treatment and field coverage of mother plant vineyards to prevent propagation material from phytoplasma infections. *Bulletin of Insectology* 60: 311-2.
- ▶ Mannini F., Argamante N., Gambino G., Mollo A. 2009. Phytoplasma diffusion through grapevine propagation material and hot water treatment. *16th Meeting of ICVG*, Dijon, 31/8-4/9/09, p. 182-3.
- ▶ Meagher J.W. 1960. Root-knot nematode of the grape vine. Control in rooted stocks by hot water treatment. *Journal of Agriculture* **58**, 419, 421, 423, 445.

- ▶ Mousavi S.A., Östermana J., Wahlberg N., Nesme X., Lavire C., Vial L., Paulind L., de Lajudie P., Lindström K. 2014. Phylogeny of the *Rhizobium-Allorhizobium-Agrobacterium* clade supports the delineation of *Neorhizobium* gen. nov. *Syst. Appl. Microbiol.* 37: 208-215
- ▶ NF X 50-110 (mai 2003) Qualité en expertise – Prescriptions générales de compétence pour une expertise. AFNOR (indice de classement X 50-110).
- ▶ Nicholas P.R., Chapman A.P., Ciriaco R.M. 1992. Grapevine propagation, *In* Coombe B.G. and Dry P.R. eds., *Viticulture volume 2 practices*, Winetitles Adelaide, Chapter 1.
- ▶ Ophel K., Nicholas P.R., Magarey P.A., Bass A. W. 1990. Hot Water Treatment of Dormant Grape Cuttings Reduces Crown Gall Incidence in a Field Nursery. *American Journal of Enology and Viticulture* January 41: 325-329
- ▶ Panagopoulos CG, 1987. Recent research progress on *Xanthomonas ampelina*. *EPPO Bulletin* 17: 225–230.
- ▶ Page-Weir, N.E.M., Jamieson L.E., Bell N.L., Rohan T.C., Chhagan A., Clare G.K., Kean A.M. Davis, V.A. Griffin, M.J., Connolly P.G. 2013. Interception and hot water treatment of mites and nematodes on root crops from the Pacific Islands *New Zealand Plant Protection* 66:17-28.
- ▶ Roberts WP. 1993. Grapevine heat treatment - *Xanthomonas ampelina*. Final report to Grape and Wine Research & Development Corporation, 19pp. disponible à : <http://research.agwa.net.au/wp-content/uploads/2012/09/DPI-3V-Final-Report.pdf>
- ▶ Sakai H, Tsutsumi Y, Kawai A, Sato S, Takano T, Takahashi T, 1985. Methyl bromide fumigation and hot water treatment of grapevine stocks against the grape phylloxera, *Viteus vitifolia* Fitch. *Research Bulletin of the Plant Protection Service, Japan*, 21: 67-69
- ▶ Stonerod P., Strik B. 1996. Hot-water dipping eradicates phylloxera from grape nursery stock. *HortTechnology* 6: 381–383.
- ▶ Suatmadji R.W. 1982. Control of rootknot nematodes, *Meloidogyne javanica*, in rooted stocks of grapevine, *Vitis vinifera*, by immersion in nematicide solutions at different temperatures and in hot water. *Nematologia Mediterranea* 10, 119-125. Tassart-Subirats V., Clair D., Grenan S., Boudon-Padieu E., Larrue J., 2003. Hot water treatment: curing efficiency for phytoplasmas infection and effect on plant multiplication material. 14th Meeting of ICVG, Locorotondo, Italie, 12-17/9-03, Italy. p. 69-70.

## 4.2 Normes

NF X 50-110 (mai 2003) Qualité en expertise – Prescriptions générales de compétence pour une expertise. AFNOR (indice de classement X 50-110).

## 4.3 Législation et réglementation

Annexe IV, Partie B. Art 32 de la Directive 2000/29/EC



---

## ANNEXES

---

## Annexe 1 : Lettre de saisine

2015 -SA- 0 2 6 6



MINISTÈRE DE L'AGRICULTURE, DE L'AGRO-ALIMENTAIRE ET DE LA FORET

Direction générale de l'alimentation  
Service de la prévention des risques  
sanitaires de la production primaire  
Sous-direction de la qualité et de la  
protection des végétaux  
Bureau des Semences et de la Santé  
des Végétaux

251, rue de Vaugirard  
75732 Paris cedex 15

Dossier suivi par : Stéphanie CLARENC  
Tél. : 01 49 55 58 34  
Mél : bssv.sdqpv.dgal@agriculture.gouv.fr  
Réf. interne : BSSV / 2015 -

12 - 007

COURRIER ARRIVE

28 DEC. 2015

DIRECTION GENERALE

Monsieur le Directeur général  
de l'Agence nationale de sécurité sanitaire de  
l'alimentation, de l'environnement et du travail

27-31 avenue du général Leclerc  
BP 94701 Maison Alfort cedex

Paris, le 18 DEC. 2015

**Objet : Saisine relative à la modification du couple temps-température du traitement à l'eau chaude du matériel végétal**

Monsieur le Directeur général,

La réglementation phytosanitaire relative à la flavescence dorée indique que le traitement à l'eau chaude du matériel végétal de la vigne doit être réalisé avec un couple temps/température de 45 minutes à 50°C (Annexe IV, Partie B, Art. 32 de la Directive 2000/29/EC). Toutefois, selon certains intervenants, la réalisation de ce traitement à l'eau chaude génère des problèmes de reprise du matériel végétal et des retards aux débourrements, néfastes à la filière viticole.

Face à ce constat, un programme d'étude de l'IFV a été co-financé par FranceAgriMer et la fédération française de la pépinière viticole (FFPV). Cette étude démontre qu'un couple temps/température de 35 minutes à 50 °C permettrait d'assainir le matériel végétal de la vigne vis-à-vis de la flavescence dorée et ne présente pas les effets néfastes de problèmes de reprise ou de retard au débourrement.

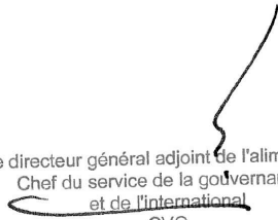
Par ailleurs, le traitement à l'eau chaude avec le couple temps/température de 45 minutes à 50°C a également été validé par l'EFSA afin d'assainir le matériel végétal vis-à-vis de *Xylella fastidiosa*. Il est repris dans la modification de la décision communautaire relative à *Xylella fastidiosa* adoptée le 23 novembre 2015.

Au regard de ces éléments, il est attendu de cette expertise de déterminer :

1. Efficacité du traitement à l'eau chaude pour la flavescence dorée et *Xylella fastidiosa* avec le couple temps/température de 35 minutes à 50 °C.
2. Efficacité du traitement à l'eau chaude avec les couples temps/température de 35 minutes à 50 °C et de 45 minutes à 50 °C sur les organismes suivants :
  - jaunisses de manière générale,
  - *Xylophilus ampelinus*,
  - *Phylloxera*
  - *Agrobacterium tumefaciens* et *Agrobacterium vitis*
  - nématodes vecteurs de virus
  - insectes et plus particulièrement aux stades de développement œufs, larves, nymphes

Mes services se tiennent à votre disposition pour vous apporter toute information et appui dans cette étude.

Je vous prie d'agréer, Monsieur le Directeur général, l'expression de ma considération distinguée.



Le directeur général adjoint de l'alimentation  
Chef du service de la gouvernance  
et de l'international  
CVO  
Loïc EVAIN

Annexe 2 : Rapport technique fourni avec la saisine pour examen



2015 -SA- 0 2 6 6

# TRAITEMENT A L'EAU CHAUDE DES BOIS ET PLANTS DE VIGNE

PROGRAMME FRANCEAGRIMER 2011-2012



**RAPPORT TECHNIQUE**



## TRAITEMENTS A L'EAU CHAUDE DES BOIS ET PLANTS DE VIGNE : EXPERIMENTATIONS 2011-2012

Dans le cadre de la lutte contre les maladies à jaunisses de la vigne, *Flavescence dorée* (FD) et *Bois noir* (BN), la technique du Traitement à l'eau chaude (TEC) des bois et plants est utilisée depuis plusieurs années et permet d'obtenir des plants exempts de phytoplasmes. Cependant, devant le développement probable de cette technique suite à l'évolution de la réglementation, et l'observation de certains dommages observés sur le matériel végétal lors de traitements de routine, la reprise de nouveaux essais s'est avérée nécessaire.

### Rappel du contexte

A l'heure actuelle, le recours à la pratique du TEC devrait s'accroître. D'une part pour répondre à l'évolution de la réglementation et des obligations communautaires. En effet depuis 2008 ont été définies des zones protégées à l'intérieur desquelles les matériels de multiplication de la vigne (bois et plants) ne peuvent être introduits et circuler que s'ils sont accompagnés d'un passeport phytosanitaire européen portant la mention ZPd4. Pour obtenir cette mention, soit le matériel de multiplication est issu de zones protégées ou de zones exemptes de FD (définies par le règlement CE/690/2008), soit il est issu de zones non exemptes mais a subi au préalable un TEC.

D'autre part, en renforcement de cette réglementation, certaines organisations professionnelles viticoles, incluses dans des zones protégées ou exemptes, souhaitent pratiquer le TEC de façon systématique sur tout matériel de multiplication destiné à la plantation.

Or, si dans la majorité des cas aucun problème n'a été constaté lors des traitements de routine, il est parfois apparu des dommages importants sur le matériel végétal traité. De plus, il paraissait nécessaire de pouvoir bénéficier d'une plus grande souplesse d'utilisation du TEC par rapport à certaines contraintes imposées au pépiniériste ou au viticulteur (aléas climatiques, retards dans les prévisions de plantation...), éventuellement de proposer plusieurs traitements possibles, et donc de mieux maîtriser certains paramètres.

Ces différentes raisons ont entraîné la reprise d'expérimentations portant à la fois sur l'efficacité vis-à-vis des phytoplasmes et sur l'innocuité vis-à-vis du matériel végétal. Il s'agit de mieux cerner les limites de températures et de durée sur la viabilité des plants, afin de garantir une reprise optimale lors de l'installation d'une plantation tout en offrant une garantie sanitaire fiable vis-à-vis des phytoplasmes.

Ces expérimentations étaient prévues sur deux campagnes, 2010-2011 et 2011-2012.

### Principaux résultats acquis lors des expérimentations 2010-2011

#### 1. MODIFICATIONS DU COUPLE TEMPERATURE-TEMPS : INCIDENCES SUR L'EFFICACITE DU TRAITEMENT VIS-A-VIS DE LA FD

##### Objectifs affichés

Il s'agissait de tester et de comparer l'efficacité de différents couples température-durée de traitement à l'eau chaude de moindre intensité que le traitement de référence (50°C-45mn) vis-à-vis de la Flavescence dorée.

On se proposait également de vérifier si les tests de biologie moléculaire sur bois constituaient un moyen fiable d'estimer l'absence ou la présence du phytoplasme. Ainsi, l'efficacité des TEC a été vérifiée dans un premier temps par des analyses sur bois, réalisées avant et après traitement, et dans un second temps par le suivi du matériel végétal sous serre.

#### **Principaux résultats obtenus**

L'utilisation de tests de biologie moléculaire sur bois est apparue comme un moyen peu fiable de détection du phytoplasme dans des boutures infectées par de la FD. En effet on retrouve une proportion quasi équivalente de boutures malades dans les témoins non traités. Ce résultat n'est pas étonnant, vu la répartition aléatoire des phytoplasmes dans les rameaux et leur faible concentration à l'intérieur de ces derniers.

Ils ne constituent pas non plus une méthode efficace pour évaluer l'élimination du phytoplasme après un traitement à l'eau chaude. L'ADN du phytoplasme peut être détecté sans que l'agent pathogène soit vivant.

L'efficacité des différents traitements peut-être par contre évaluée par le suivi des boutures en plantation, en surveillant l'extériorisation des symptômes sur feuilles. L'utilisation des tests de biologie moléculaire sur feuilles peut permettre de vérifier l'élimination du phytoplasme sur des plants sans symptôme et constituer ainsi un moyen complémentaire de s'assurer de l'état sanitaire des boutures. Aucun symptôme n'est apparu dans les lots traités, quelle que soit la modalité de traitement, alors que près d'un quart des boutures a manifesté des signes de la maladie dans les lots témoins. Les différents TEC n'ont pas présenté de différences au niveau des taux de reprise, qui sont très supérieurs à ceux des témoins non traités.

Il a été observé une bonne corrélation entre les analyses sur feuilles et les symptômes observés. Toutefois, il est également apparu que certains plants peuvent présenter des signes de la FD de façon localisée. Ces parties malades peuvent disparaître et seules les parties du végétal d'apparence saine subsistent. Selon les parties qui seront prélevées, les résultats d'analyse peuvent être différents. De même, 43% des boutures des témoins non traités ne présentent aucun signe de la maladie. Plusieurs cas de figures peuvent se produire : soit la partie du rameau constituant la bouture est indemne de phytoplasme, soit celui-ci est en trop faible concentration pour entraîner l'extériorisation de symptômes et être décelé par analyse. Dans ce dernier cas, la plante est en incubation et l'on peut avoir une évolution soit vers un rétablissement, soit vers des symptômes de FD l'année suivante.

Pour toutes ces raisons, les boutures seront conservées une année supplémentaire afin de vérifier si des plants sont en incubation de la maladie, que ce soit dans les lots traités ou non. L'abandon des analyses sur bois, lourdes à gérer au niveau temps de manipulation et gourmandes en quantité de matériel végétal, va nous permettre de reprendre ces essais avec pratiquement les mêmes couples températures-temps de traitement, sur d'autres variétés et parcelles inoculées et sur de plus grandes quantités d'échantillons afin de confirmer les résultats obtenus cette année.

## **2. IMPACT DU TEC SUR LA VIABILITE DU MATERIEL VEGETAL**

#### **Objectifs affichés**

Il s'agit de vérifier si le TEC des bois et plants de vigne a un impact sur le matériel végétal, s'il affecte ou non ses facultés de reprise et ses capacités de croissance. Pour cela, on se propose d'étudier un certain nombre de paramètres intervenant dans le processus de fabrication des plants et susceptibles de jouer un rôle sur la qualité de cette reprise.

#### **Principaux résultats obtenus**

Par rapport aux expérimentations réalisées précédemment, l'ensemble de ces essais permet de confirmer certains résultats (peu d'effet d'une diminution de l'intensité du TEC sur le taux de reprise, effet négatif des plantations tardives, besoin d'un temps minimum de conservation en chambre froide

entre TEC et plantation, en général peu ou pas de différence entre lots traités et non traités). D'autres résultats se révèlent par contre irréguliers ou contraires (effet négatif sur les repiqués non retrouvés, différences fortes de reprise entre certains lots de plants traités et non traités).

La diminution de l'intensité des traitements n'a pas eu d'influence sur la viabilité des plants. En parallèle, il ne faut pas oublier qu'en abaissant les valeurs du TEC, on peut prendre des risques quant à l'efficacité du traitement sur la destruction des phytoplasmes. Par contre, nous avons eu de grandes différences sur le niveau de la reprise en comparant les résultats obtenus sur des lots identiques et traités à températures équivalentes mais cultivés sur des lieux de production différents. Il semble qu'il y ait un très fort effet environnement du TEC (qualité des plants, conditions de conservation, d'acclimatation, de plantation, réglage de la machine...) susceptible d'influer sur la qualité et la viabilité du matériel végétal.

Il nous semble nécessaire d'approfondir les résultats obtenus quant à cet aspect « environnement du TEC » en comparant des séries de plants cultivés sur plusieurs sites et en détaillant de façon très précise les paramètres encadrant chaque intervention effectuée sur les plants.

## PROGRAMME EXPERIMENTATIONS 2011-2012

### 1. MODIFICATIONS DU COUPLE TEMPERATURE-TEMPS : INCIDENCES SUR L'EFFICACITE DU TRAITEMENT VIS-A-VIS DE LA FD ET DU BN

#### Objectif :

Confirmer l'efficacité de couples température-durée de traitement à l'eau chaude (TEC) expérimentés en 2011 vis-à-vis de la Flavescence dorée (FD), et tester l'efficacité de certains de ces TEC vis-à-vis du phytoplasme du Bois noir (BN).

Vérifier l'évolution et le maintien de l'état sanitaire du matériel végétal traité en 2011.

#### Principe :

Les essais se font sur des boutures infectées prélevées sur des ceps contaminés. Les bois sont traités selon les différentes modalités puis plantés sous serre insect-proof afin de surveiller l'extériorisation des symptômes. Les résultats seront complétés par des tests sur feuilles ou sur racines.

#### Protocole :

*Pour la FD :*

- 9 modalités de traitement : - à 50°C : 30', 35', 45'  
- à 48°C : 30', 35', 45'  
- à 49°C : 30', 35'  
- témoin non traité
- Matériel végétal :

Les boutures viennent de sarments aoûtés prélevés sur des ceps ayant présenté des symptômes durant l'été, dans 5 parcelles fortement contaminées par la FD :

3 dans l'Hérault (*Carignan N, Cabernet-Sauvignon N, Grenache N*), 1 en Savoie (*Chardonnay B*), 1 dans le Tarn (*Gamay N*).

*Pour le BN :*

- 4 modalités de traitement : - à 50°C : 30', 45'  
- à 48°C : 45'  
- témoin non traité

- Matériel végétal :

Les boutures viennent de bois prélevés dans 1 parcelle de *Chardonnay B* en Savoie.

**Observations et mesures envisagées:**

Suivi de l'évolution des boutures en serre : mortalité, extériorisation des symptômes, durabilité de la guérison (conservation en 2<sup>e</sup> année).

**Résultats obtenus :**

A) Observations en 2<sup>e</sup> année des boutures traitées en 2011

Les résultats des observations réalisées en 2012 sur les boutures installées sous serre insect-proof en 2011 sont consignés dans le tableau suivant. Aucune bouture traitée, quelle que soit la modalité n'a exprimé de symptômes. Par contre, parmi les non traitées, sur les 40 boutures n'ayant pas encore exprimé de symptômes, 5 boutures ont présenté des signes de flavescence dorée, ces symptômes ayant été confirmés par analyse PCR. Cela montre qu'une période d'incubation pendant laquelle aucun symptôme n'est apparent est bien possible. Sur les 15 boutures ayant exprimé des symptômes en 2011, une seule était toujours en vie à l'automne 2012. Ces résultats confirment également l'efficacité du traitement à l'eau chaude vis-à-vis de l'élimination des phytoplasmes de la flavescence dorée et ce même avec des couples température-durée moins exigeant que le couple de référence.

Année	Témoin non traité		48°-35'	48°-45'	50°-30'	50°-35'	50°-45'
2011	15 FD	40 "saines"	/	/	/	/	/
2012	14 mortes 1 FD	5 FD	/	/	/	/	/

B) Observations en 1<sup>re</sup> année des boutures traitées en 2012

En 2012, les essais d'efficacité ont donc été reconduits en rajoutant de nouvelles modalités (48°-30', 49°-30', 49°-35'). Pour cette première année d'observations, aucune bouture traitée n'a présenté des symptômes de Flavescence Dorée. A l'inverse, 2% des boutures non traitées ont bien présenté des symptômes, symptômes confirmés par analyse PCR. Il est à noter que la mortalité des boutures a été bien supérieure à celle observée l'an passé. Les observations se poursuivront en 2013 pour vérifier si des boutures en incubation ne révéleront pas de nouveaux symptômes.

Concernant le Bois Noir, 4 modalités ont été mises en œuvre (tnt, 48°-45', 50°-30' et 50°-45'). Seul le couple de référence a été totalement efficace. Dans les autres modalités, des symptômes confirmés par analyse PCR ont été observés.

Type phytoplasme	Témoin non traité	48°-30'	48°-35'	48°-45'	49°-30'	49°-35'	50°-30'	50°-35'	50°-45'
FD (160 bt/lot) 5 variétés	2%	/	/	/	/	/	/	/	/
BN (55 bt/lot) Chardonnay	7%			4%			2%		/



### C) Conclusions des 2 années d'essais "Efficacité"

En terme d'efficacité, le recours à d'autres couples température-durée moins exigeants pour le matériel végétal semble envisageable pour éliminer les phytoplasmes de la flavescence dorée. Il conviendra cependant de confirmer ces résultats en observant les symptômes potentiels une année supplémentaire sur les boutures installées sous serre insec-proof. Par contre, il semble bien que la destruction des phytoplasmes du Bois noir soit plus difficile et qu'il faille pour obtenir ce résultat conserver le couple de référence à savoir 50°-45'.

## 2. IMPACT DU TRAITEMENT A L'EAU CHAUDE SUR LE MATERIEL VEGETAL

### Objectif Général:

Vérifier si le TEC a un impact sur le matériel végétal, c'est-à-dire s'il affecte ou non ses facultés de reprise et ses capacités de croissance.

Le matériel utilisé pour ces essais est sain vis-à-vis des phytoplasmes.

L'innocuité du TEC sera basée sur l'observation des caractères suivants :

- la vitesse de débournement
- la vigueur de la végétation
- le taux de reprise

### A) TRAITEMENTS REALISES SUR DIFFERENTS SITES DE PRODUCTION

#### Présentation de l'essai:

##### a) Objectif de l'essai

Suite à l'essai de l'année 2011 et en vue de trouver une explication à la disparité des résultats obtenus, l'essai « échange de matériel » a été reconduit cette année 2012. En effet au regard de la grande variabilité des résultats il semblait indispensable de reconduire l'essai afin de mieux cerner les divers paramètres liés à l'environnement entourant le traitement eau chaude (transport, conservation...).

##### b) Rappel de l'essai

Durant cet essai l'objectif est d'estimer l'incidence du traitement eau chaude (TEC) sur la reprise des boutures après plantation sur différents sites nationaux possédant des machines différentes. Cet essai est réalisé sur des plants greffés-soudés sains qui seront échangés, traités puis plantés en pépinière dans chacun des lieux de traitement.

##### c) Protocole

7 sites de production avec pour chaque lieu un assemblage produit dans la région:

Site	Variété
Alsace (pépinière Jenny et Hebinger)	Gewurztraminer 1048 / SO4 762
Chambre d'agriculture de l'Aude	Chardonnay 130 / R110.152
Pépinière Mercier (Aude)	Colombard / SO4.203
Chambre d'agriculture de Gironde	Cabernet-Sauvignon 169 / 101-14.3
Chambre d'agriculture de Saône et Loire	Chardonnay 95 / SO4 102
Savoie (pépinière Gabey et Fay)	Aligoté 264 / 41B.194
IFV Grau du Roi	Chardonnay 1066 / SO4 762

*Tableau 1 : liste des assemblages par sites de production.*

Chacun de ces assemblages est composé de 800 plants dont 200 qui reste sur place et 600 centralisés à l'IFV afin d'être redistribués par la suite sur d'autres sites.

Pour cet essai deux modalités de traitement ont été choisies : Témoin non traité et traitement de référence (50°-45') sauf exception pour l'Alsace avec une modalité supplémentaire 48°-45' ainsi que le remplacement du TNT par cette modalité sur le site de l'IFV pour les 6 assemblages extérieurs.

#### Déroulement de l'essai

##### a) Avant TEC

Le but cette année étant de cadrer les différents paramètres environnant le TEC nous avons décidé d'enregistrer la date, l'heure et la température extérieure à chaque sortie de chambre froide. Nous avons également relevé les conditions climatiques lors de chaque transport vers le site concerné ainsi que la durée entre la sortie des plants de chambre froide et l'heure de départ du TEC.

##### b) Pendant le TEC

Comme en 2011 le suivi de température du bain a été enregistré par le thermomètre Testo (précision à 0.2, fréquence 1 min) avec cette année l'ajout d'une puce, Progès+, disposée dans les plants (précision 0.5, fréquence 5 min).

Pour ce qui est des conditions autour du traitement nous avons relevé la météo ainsi que les principales différences entre les machines (couvercle, étalonnage...).

##### c) Après le traitement

Afin de mieux suivre les conditions après traitement nous avons laissé la puce 2-3h après TEC (temps après lequel elle enregistre la température ambiante).

Nous avons également noté où et comment était disposé les plants après traitement (disposé sur une palette, laissé dans la cage de traitement...)

Pour finir nous avons fait parvenir à chacun des partenaires un fichier pour qu'ils enregistrent les diverses variables (stockage, réhydratation, plantation) en leurs indiquant que dans un souci d'uniformisation de l'essai tout le monde devait planter sous plastique en racine coupées.

	Site 1	Site 2	Site 3	Site 4	Site 5	Site 6	Site 7
T° moyenne atelier ou extérieure lors du TEC	15.9	14.3	15.7	18.5	11.1	11.7	16.9
T° moyenne TESTO	49.8	49.7	47.3	49.9	49.8		50.3
Temps de stabilisation	25 min	15 min	10 min	8 min	4 min		14 min
Moyenne entre la T° de départ du TEC et la T° de stabilisation	49.5	49.2	47.1	49.6	49.5		50.4
T° moyenne Progés +	50.1	49.1	47.8	50.1	50	49.8	50
Temps de Stabilisation	12 min	17 min	18 min	11 min	9 min	8 min	9 min
Moyenne entre la T° de départ du TEC et la T° de stabilisation	49.5	49	47.2	49.5	49.2	49.5	49.7

**Tableau 3 : Comparaison des durées de stabilisation par site et par type de puce.**

Grâce à ce tableau nous pouvons distinguer plusieurs paramètres :

- Le temps de chauffe de la machine pour atteindre la température moyenne du TEC
- Le temps que mettent les plants à atteindre la température moyenne du TEC
- La température moyenne des plants et du bain avant d'atteindre la moyenne de température du TEC
- La corrélation ou non entre la température extérieure et la vitesse de chauffe de la machine pendant le TEC

Nous voyons tout d'abord qu'il faut en moyenne attendre 10-12 min pour que le bain se stabilise à la température moyenne de traitement.

Néanmoins on remarque ici 2 valeurs très éloignées : la première de 4 min pour le site 5 peut s'expliquer par le fait que la machine était la plus petite et que le système de régulation (conçu par le pépiniériste) était très précis.

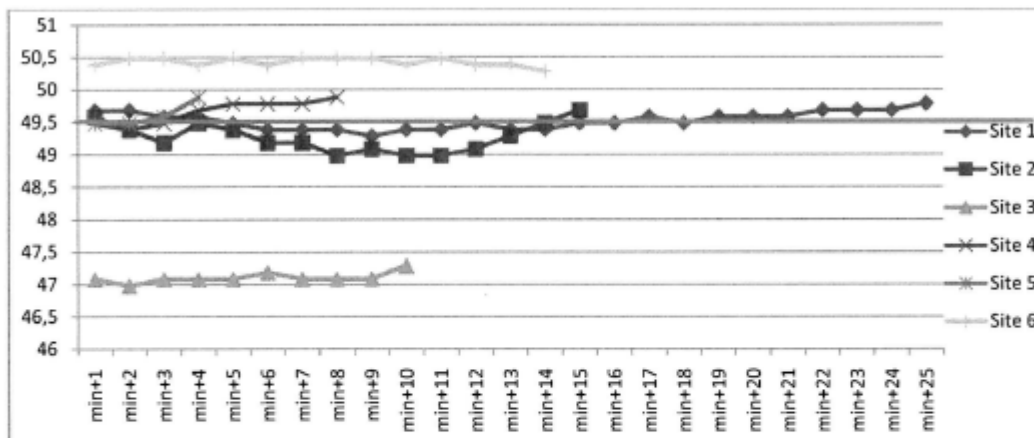
La seconde valeur de 24 min pour le site 1 est due au placement de la sonde Testo qui se trouvait dans la zone soumise au plus grande variation de température, on peut d'ailleurs voir que la montée en température des plants dans le bain correspond tout à fait à la moyenne.

On peut également noter que les plants eux aussi mettent 10-12 min pour atteindre la température moyenne avec 2 valeurs un peu trop élevées pour le site 2 et pour le site 3.

Pour le site 2 le résultat n'est pas alarmant car les plants sont rapidement montés aux alentours de la moyenne de TEC avec une moyenne de 49 avant stabilisation à 49,1.

Pour ce qui est des valeurs avant la température moyenne du TEC et la moyenne du TEC on remarque qu'elles sont proches. Cela signifie ici que même dans les cas où la température a mis plus de 10 min à se stabiliser à la moyenne, plusieurs prises de températures étaient proches de la moyenne du TEC avant de l'atteindre.

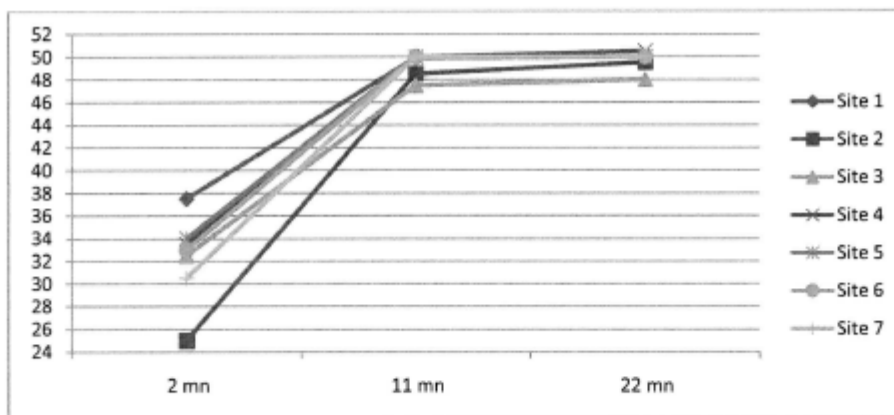
Pour finir d'après ce tableau on n'observe pas de corrélation entre la température extérieure et la vitesse de chauffe de la machine durant le TEC.



**Graphique 1 : Relevés de température de TESTO en début de TEC**

Sur ces graphiques on peut observer la monter en température du bain jusqu'à l'atteinte de la température moyenne de TEC. On peut relever plusieurs choses sur ce premier graphique :

- La stabilité de la température de l'eau au début du bain
- Une température légèrement supérieure à 50 °C pour le site 7 qui implique une petite descente de la température les 13 premières minutes.
- La montée rapide de la machine pour le site 5
- Une montée en température rapide mais non brusque pour le site 4.
- Les plus grandes variations sont enregistrées pour le site 2



**Graphique 2 : Relevés de température de Progès +en début de TEC**

Ce graphique ainsi que le tableau ci-dessous, nous montre la montée en température dans un paquet de plant (puce Progès+). On voit ici que c'est les sites 2 et 7 que les augmentations sont les plus fortes ce qui pourrait constituer un choc thermique ayant une incidence sur la viabilité des plants. En revanche le site 1 se détache avec une augmentation modérée.

Pour finir on remarque que les 2 enregistrements (graph 1 et 2) ne donnent pas du tout les mêmes allures de courbe. En effet la sonde TESTO n'enregistre que la température du bain qui comme on le note est relativement homogène dès le départ du TEC. En revanche Progès +, elle, montre une élévation importante de la température les 10 premières min car cette puce est dans les paquets de plants où la température avant traitement est très différente de la température du bain.

	Site 1	Site 2	Site 3	Site 4	Site 5	Site 6	Site 7
Nombre de degrés pris en 9 min	12.4	23.5	15	16.5	16	17	19.5
Température extérieure	15.9	14.3	15.7	18.5	11.1	11.7	16.9

**Tableau 4 : Montée en température les 10 premières min du TEC et température extérieure.**

*Remarque :* Ce tableau prouve une fois de plus que la température extérieure n'influe en rien sur le TEC.

**f) Résultats effectifs concernant les températures de traitement**

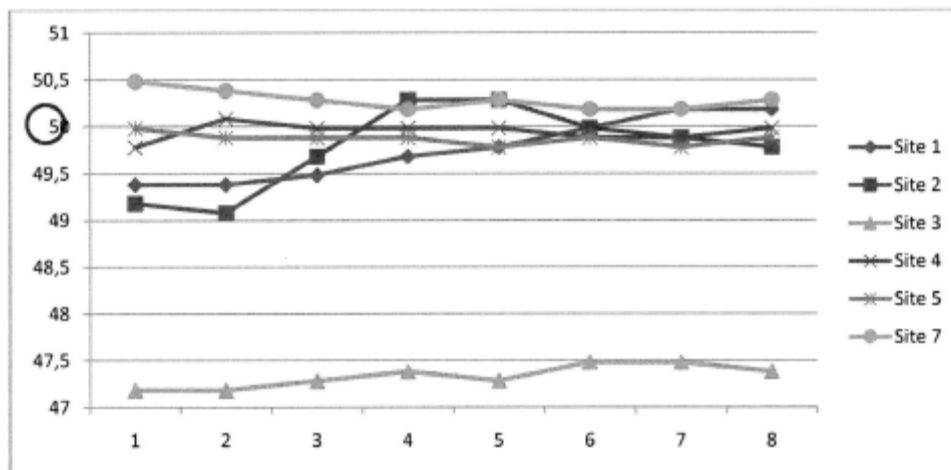
Site	Moyenne de température TESTO	Moyenne de température Progès +
Site 1	49.8	50.1
Site 2	49.7	49.1
Site 3	47.3	47.8
Site 4	49.9	50.1
Site 5	49.8	50
Site 6		49.8
Site 7	50.3	50

Tableau 5 : Moyennes des températures lors du TEC avec 2 sondes.

On voit donc ici que les traitements sont corrects par rapport à la consigne de température donnée avec une seule fausse note pour le site 3 avec un traitement trop bas qui pourrait donc s'avérer peu efficace au regard de la flavescence dorée.

Un autre problème n'apparaissant pas sur ce tableau a été relevé lors du traitement pour le site 5 où la machine a disjoncté durant les 3 premières minutes et où les plants ont été sortis 3 minutes en retard. On ne peut donc savoir à ce stade si ce petit incident pourrait avoir un impact, néanmoins il est important de le souligner en cas de résultat inattendu.

Pour ce qui est des machines en elles mêmes on a pu voir que certains sites comme le 2 et le 4 possèdent un couvercle mais que cela n'a pas d'incidence sur la température lors du traitement.



Graphique 3 : Comparaison des relevés de température de TESTO lors du TEC

Ce graphique nous démontre que comme l'indiquait les moyennes tout les traitements excepté pour le site 3 ont suivi la température de référence avec plus ou moins de stabilité durant les 45 min.

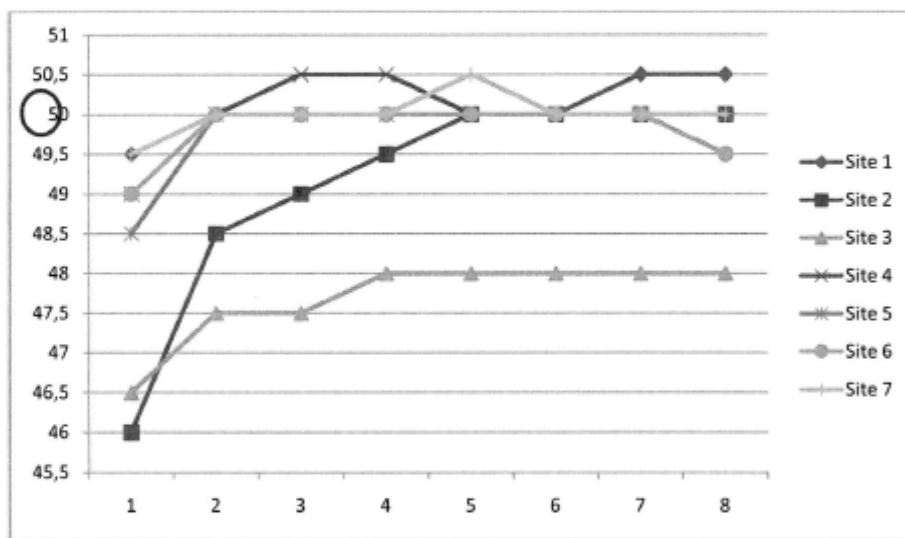
Les différences entre la température minimale et maximale observées durant les 45' de traitement varient selon les machines entre 0.5°C et 1.3°C.

Les bains les plus proches de 50° durant tout le TEC étant le site 5 et le site 4 comme le montre le tableau 5.

En revanche quand on regarde la moyenne de TEC du site 1 qui était la même que pour le site 5 (49.8°) on se rend compte qu'elle est plus dû ici à un équilibre entre les 15 premières et les 15 dernières minutes du TEC.

On note également ici que le traitement du site 7 est légèrement supérieure au autre mais que la stabilité de la température est relativement correcte.

Pour finir on peut noter que pour le site 2 la moyenne est bonne (49.7°) mais que c'est le site où l'eau du bain a subit les plus grandes variations de température comme le montrait auparavant les graphiques 1 et 2.



Graphique 4 : Comparaison des relevés de température de Proqès +lors du TEC

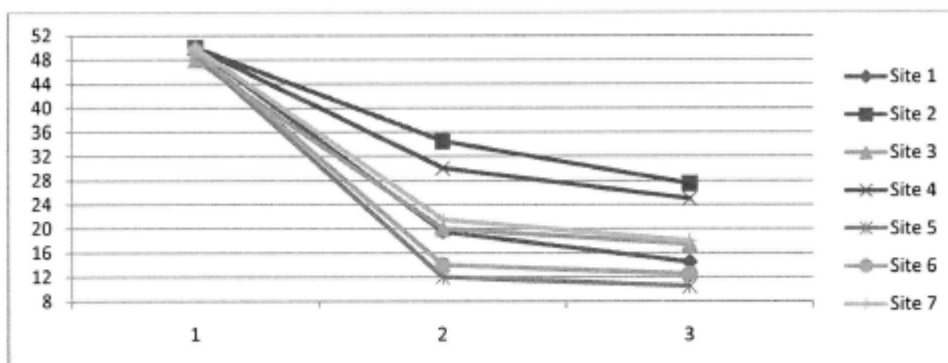
Ce graphique a pour objectif d'exposer les variations de température dans un paquet de plant lors d'un TEC.

On remarque tout d'abord quelques différences avec le graphique précédent au niveau des variations. En effet ici pour le site 2, il n'y a pas plusieurs variations mais une seule montée en température avec un début de bain un peu bas.

En outre pour les sites 5 et 6 on note toujours une forte stabilité de la température et de bonne stabilité pour les sites 7, 4 et 1\_avec de petits écarts négligeables.

g) Analyse du refroidissement des plants après TEC.

Outre les conditions avant traitement et le TEC lui-même, il semblait intéressant de connaître la vitesse de refroidissement des plants afin d'avoir un aperçu sur le choc thermique subi à la sortie du bain.



Graphique 5 : Courbes de la chute de température des plants par site (Proqès +)

Nom du site	Temps	T° lors du TEC	Lieu de stockage plants après TEC	h 0 (t° à la fin du TEC)	h+1	h+2	Total de la perte de degrés
Site 1	soleil	15,5°	dans hangar ouvert	50° (11h17)	19,5	14,5	35,5
Site 2	soleil	13°	dans hangar ouvert	50° (11h16)	34,5	27,5	22,5
Site 3	gris, pluie légère	15°	dans hangar ouvert	48° (12h46)	20	17,5	30,5
Site 4	gris, pluie légère	18,5°	dans chambre d'acclimatation	50° (12h21)	30	25	25,5
Site 5	gris, pluvieux	11°	plants dehors	49° (11h16)	12	10,5	38,5
Site 6	vent, gris et légère pluie	11,5°	dans hangar ouvert	49,5° (11h47)	14	12,5	37
Site 7	soleil	16°	dans hangar avec porte la plupart du temps fermée	50° (11h42)	21,5	18	32
<b>Moyenne de la chute de température une heure après TEC</b>					<b>21,6</b>	<b>17,9</b>	<b>31,6</b>

Tableau 6 : Evolution de la température à la sortie du bain puis 1h et 2h après.

Sur ce graphique ainsi que sur ce tableau on peut distinguer des différences de chute de température selon les sites.

- ✓ Site 1, la chute a été relativement rapide la 1<sup>ère</sup> heure malgré le fait que les plants soient restés durant cette heure au dessus du bac de traitement.
- ✓ C'est pour le site 2, que la diminution de la température des plants a été la moins brutale car les plants ont été laissés dans le palox sous une toile de jute, ce qui a très certainement freiné le refroidissement.



- ✓ Pour ce qui est du site 3 la chute correspond un peu près à la moyenne générale. Les plants sont redescendus rapidement en température car après traitement ils ont été étalés dans le hangar à l'air libre qui était de 15°C cette journée là.
- ✓ Site 4, la chute a été une des moins fortes car une fois traités les plants ont été placés en chambre d'acclimatation où la température était d'environ 18°C.
- ✓ C'est pour le site 5 que la chute de température la plus importante a été enregistrée. En effet la machine de traitement était située dehors et les plants après traitement ont été placés à proximité de la machine où il faisait 11°C avec une forte humidité. Dans ce type de cas on pourrait potentiellement mettre en péril la qualité des plants car au delà du fort choc thermique les plants sont laissés à l'extérieur où ils se dessèchent plus vite.
- ✓ Pour le site 6 la chute est également élevée car il faisait 11°C environ ce jour là. Les plants étaient malgré tout à l'abri du vent après traitement et le hangar où ils étaient entreposés était à peine à 12°C.
- ✓ Pour finir pour le site 7, la descente est correcte vis-à-vis de la moyenne. Les plants ont été mis à l'abri de tout courant d'air (sous plastique).

#### Bilan de la mise en œuvre des traitements

- ↓ Il n'existe pas de corrélation entre la température de l'eau durant le TEC et la température extérieure, sous réserve que la machine ait un système de régulation de température opérationnel.
- ↓ Dès le début des TEC toutes les machines étaient proches de la température de référence (sauf site 3) et ont mis en moyenne 10-12 min pour atteindre leur moyenne de traitement. Les variations sont ici dues à des volumes de machines différents, ou à des homogénéités plus ou moins correctes.
- ↓ Les plants mettent également 10-12 min à atteindre la température de référence (puce à l'intérieur des paquets de plants).
- ↓ La présence d'un couvercle n'a aucune incidence sur la moyenne de traitement et trouve plutôt son intérêt dans l'économie d'énergie.
- ↓ Des petites variations lors du TEC n'ont pas forcément d'incidence sur la température des plants, on peut d'ailleurs prendre l'exemple du site 2. Cet exemple montre que malgré des variations de l'eau du bain d'environ 0.8°C la température des plants une fois dans le bain se stabilisent.

#### En résumé :

- ❖ **Site 1** : les plants ont subi les plus forts écarts durant le transport. La température du traitement était correcte avec une montée en température un peu lente et une chute après TEC un brin trop élevée.
- ❖ **Site 2** : C'est le lieu où lors du TEC le bain a subi les plus grandes variations mais avec une moyenne correcte une montée rapide de la température et une diminution lente après TEC.

- ❖ **Site 3** : Un TEC avec une température trop faible et certainement un manque d'homogénéité de la machine.
- ❖ **Site 4** : Le système de chambre d'acclimatation semble une réponse intéressante pour la limitation du choc thermique avant et après TEC. Le traitement a été un des plus proches de 50° C et a été très stable.
- ❖ **Site 5** : Les écarts pendant le transport ont été un peu élevés et le transport a été le plus long. Le traitement a été correct en revanche les plants ont subi un fort choc thermique avec une montée très rapide en début de TEC et une chute très forte après TEC.
- ❖ **Site 6** : le traitement a été correct et très stable.
- ❖ **Site 7** : le traitement a été le seul un peu au-dessus de 50° et a été stable. La machine semble la plus homogène au regard des enregistrements des 2 puces qui sont les plus similaires.

Les traitements eau chaude sur les différents sites ont donc tous été corrects comme le montre les résultats à l'exception du site 3 où le traitement était trop bas et donc priori potentiellement moins efficace.

Mais il faut vérifier si toutes ces différences entre sites auront une incidence significative sur les taux de reprise des plants traités.

#### Principaux résultats obtenus

Les résultats des observations et contrôles effectués en fin de campagne après arrachage de la pépinière sont consignés dans le tableau suivant.

		Site 5			Site 3		Site 2		Site 6		Site 1		Site 4		Site 7		
		tnt	48°-45'	50°-45'	tnt	50°-45'	tnt	50°-45'	tnt	50°-45'	tnt	50°-45'	tnt	50°-45'	tnt	48°-45'	50°-45'
Date TEC		-	05-avr	05-avr	-	03-avr	-	28-mars	-	11-avr	-	23-mars	-	04-avr	-	12-avr	12-avr
Date PII*		3 <sup>e</sup> semaine mai			15-mai		07-mai		4 <sup>e</sup> semaine mai		4 <sup>e</sup> semaine mai		10-mai		23-mai		
écart		# 6 semaines			42 jours		40 jours		# 6 semaines		# 9 semaines		36 jours		41 jours		
notat* par ifv							23-mai										
origine Alsace	Gewurz 1048 / SO4 762	96%	96%	94%			100%	100%					98%	88%		99%	99%
origine Mercier	Colombard / SO4.203				97%	96%			100%	100%	71%	63%				95%	91%
origine Savoie	Aligoté 264 / 41B.194				96%	99%	96%	93%					88%	86%		100%	89%
origine CA11	Chard.130 / R110.152				95%	97%			100%	100%	41%	33%				97%	97%
origine CA33	CS 169 / 101-14.3						100%	100%	100%	100%	91%	87%				95%	98%
origine CA71	Chard 95 / SO4 102						100%	96%	100%	98%			99%	98%		97%	97%
origine IFV30	Chard 1066 / SO4 762	86%	86%	83%	98%	100%	94%	93%	100%	99%	82%	68%	97%	96%	100%	99%	100%
Moyenne		<b>91%</b>	<b>91%</b>	<b>89%</b>	<b>97%</b>	<b>98%</b>	<b>98%</b>	<b>96%</b>	<b>100%</b>	<b>99%</b>	<b>71%</b>	<b>63%</b>	<b>96%</b>	<b>92%</b>		<b>97%</b>	<b>96%</b>

Commentaires :

Dans 5 cas sur 7, les différences de reprise entre les témoins non traités et la modalité 50°-45' sont inférieures ou égales à 2 . Sur les 2 autres sites, la modalité référence a décroché davantage par rapport au témoin non traité, - 8% et - 4%. Les résultats du site 1 (71 pour le témoin non traité et 63% pour la modalité traitée) peuvent s'expliquer en partie par une plus longue période entre le traitement et la plantation ainsi que par de mauvaises conditions lors de la plantation. Sur un seul site, la modalité traitée a présenté un taux de réussite supérieur mais de seulement 1 . Globalement, on remarque donc que les différences de reprise ne sont pas très importantes, contrairement aux essais conduits l'année précédente mais pratiquement toujours en faveur du témoin non traité. Cependant, même limitées ces différences peuvent être significatives et s'avérer problématiques, que ce soit sur le plan économique ou commercial.

**B) AUTRES ESSAIS SELECTIVITE****1. ESSAIS SUR BOUTURES****Objectif :**

Vérifier l'innocuité du TEC sur des boutures greffons et porte-greffe, avant greffage.

**Protocole :**

2 modalités : témoin non traité et TEC 50°-45'

Assemblage : *Viognier / Fercal*

Quantités : 4 répétitions de 150 plants soit 1200 plants à greffer.

**Résultats :**

GREFFES - BOUTURES			Nb Greffes-boutures	Plants triés	Éliminés soudures	Éliminés racines	Morts	% reprise
Viognier 642 / Fercal 242 B3	I	50°-45'	150	80	16	18	36	53%
Viognier 642 / Fercal 242 B3	I	tnt	150	118	14	6	12	79%
Viognier 642 / Fercal 242 B3	II	50°-45'	151	84	10	13	44	56%
Viognier 642 / Fercal 242 B3	II	tnt	149	73	10	20	46	49%
Viognier 642 / Fercal 242 B3	III	50°-45'	151	98	1	18	34	65%
Viognier 642 / Fercal 242 B3	III	tnt	150	106	10	11	23	71%
Viognier 642 / Fercal 242 B3	IV	50°-45'	147	90	8	5	44	61%
Viognier 642 / Fercal 242 B3	IV	tnt	147	97	12	11	27	66%

Moyenne lots traités : 59%

Moyenne lots non traités : 66%

**Commentaires :**

Les lots de plants issus de boutures greffons et porte-greffe non traitées présentent un taux de réussite moyen supérieur aux lots issus de bouture traitées (66 contre 59 ). Le pourcentage de

réussite pour les plants issus de boutures traitées est cependant tout à fait correct (59 ). Ces différences ne sont cependant pas significatives sur un plan statistique. Cet assemblage Viognier/Fercal avait été volontairement choisi car ce porte-greffe est réputé pour être plus sensible aux traitements à l'eau chaude. En l'occurrence, s'il n'y a pas eu d'impact rédhibitoire du TEC, force est de constater que les taux de réussite s'avèrent inférieurs.

## 2. ESSAIS REHYDRATATION

### **Objectif :**

Vérifier l'effet d'une réhydratation des plants juste avant plantation.

### **Protocole :**

Les plants sont réhydratés par immersion totale excepté pour 1 lot où seules les racines seront trempées pendant 24h.

### **Résultats :**

Modalités		Pas de Réhydratation		Réhydratation 24h			Réhydratation 24h (racines)		Réhydratation 48h	
		Témoin non traité	TEC 50°-45'	Témoin non traité	TEC 15°-45'	TEC 50°-45'	Témoin non traité	TEC 50°-45'	Témoin non traité	TEC 50°-45'
Chardonnay 1068 /SO4	Nombre de plants	5 x 50	5 x 50	5 x 50	5 x 50	5 x 50	5 x 50	5 x 50	5 x 50	5 x 50
	% de reprise	100	98	99,2	99,6	100	98,8	98,8	98,8	98
Riparia 1030 (Rp)	Nombre de plants	5 x 50	5 x 50	5 x 50		5 x 50			5 x 50	5 x 50
	% de reprise	98	96	99,6		97,6			98,4	98,4

### **Commentaires :**

Les résultats obtenus ne permettent pas de mettre en évidence un effet quelconque de la réhydratation des plants avant plantation. Les traitements à l'eau chaude n'auraient donc pas tendance à déshydrater les plants comme on aurait pu le penser. La réhydratation des plants traités à l'eau chaude est donc facultative. Ces résultats ont cependant été acquis dans des conditions optimales de conservation des plants après traitement (plants conservés en sacs microperforés et en chambre froide pourvue d'humidificateurs).

## 3. CHOCS THERMIQUES ET ACCLIMATATION

### **Objectifs :**

Vérifier et évaluer l'impact de différents types d'acclimatation du matériel avant et, ou, après traitement.

### **Protocoles :**

Matériel utilisé :

- Chardonnay sur SO4
- Riparia Gloire (racinés de porte-greffe repiqués)
- Grenache B sur 3309C

Tableau 2

Riparia Gloire (racinés repiqués de porte-greffe)

Modalités TEC	Acclimatation avant TEC	Acclimatation après TEC	Nombre de plants	% de reprise
50°-45'	15h en sac	15h air libre	250	97,1
	15h en sac	15h, mis en sac au bout de 4h	250	98
	15h en sac	tec puis immersion pendant 30' à 20°	250	98,4
Témoin non traité	Pas de sortie de chambre froide		250	97,5

Tableau 3

Italia sur Gravesac

Modalités TEC	Acclimatation	Nombre plants	% de reprise
Témoin non traité	Pas de sortie de chambre froide	100	100
Témoin non traité	Acclimatation T° ambiante 24h sans TEC	100	98
Témoin non traité	Acclimatation T° ambiante 24h avant TEC à 15°-45'	100	100
TEC 50°-45'	Acclimatation T° ambiante 24h avant TEC	100	97
TEC 50°-45'	Immersion pendant 12h à 20° avant TEC	100	100
TEC 50°-45'	TEC puis acclimatation 30' à 20°	100	99
TEC 50°-45'	Acclimatation 36h avant TEC	100	97

**Commentaires :**

Les résultats indiqués dans le tableau 1 montrent que pour les lots de greffés soudés, il n'y a pratiquement aucune différence de reprise quelles que soient les modalités d'acclimatation testées. Certaines modalités présentent bien quelques différences de taux de reprise mais aucune tendance ne se dégage réellement concernant la durée d'acclimatation du matériel avant ou après traitement. Pour les racinés de porte-greffe, on remarque que des durées d'acclimatation trop longues (44h voire 24h) ou trop courtes (1h) après traitement ne semblent pas très favorables même si là aussi la tendance n'est pas nette.

Dans les tableaux 2 et 3, les résultats obtenus ne sont guère plus explicites.

On peut donc penser que des durées d'acclimatation moyennes sont à privilégier, de l'ordre d'une douzaine d'heures mais qu'entre 6 heures et 20 heures, les risques sont globalement très limités.

#### 4. ESSAIS RACINES

##### **Objectif :**

Evaluer l'impact de la coupe des racines des plants avant traitement à l'eau chaude.

##### **Protocole :**

4 modalités prévues :

- Témoin non traité racines entières
- Témoin non traité racines coupées
- TEC 50°-45' racines entières
- TEC 50°-45' racines coupées

2 assemblages testés :

- Chardonnay sur SO4
- Grenache B sur 3309C

##### **Résultats**

Variété	Modalités	racines	nbre plants	%rep
Chardonnay 1068/ SO4 762B2	Témoin non traité	entières	50	100
	Témoin non traité	coupées	50	100
	TEC 50°-45'	entières	50	100
	TEC 50°-45'	coupées	50	100

Variété	Modalités	racines	nbre plants	%rep
Grenache B 141/ 3309C	Témoin non traité	entières	100	100
	Témoin non traité	coupées	100	99
	TEC 50°-45'	entières	100	96
	TEC 50°-45'	coupées	100	96

##### **Commentaires :**

Sur les deux assemblages testés, il n'y a eu aucun impact lié à la coupe des racines. Que ce soit pour les modalités traitées ou pour les modalités non traitées, les résultats sont similaires (seulement 1% de reprise en moins pour le lot de Grenache B non traité racines coupées).

Par contre pour le Grenache B, et même si ce n'était pas le but initial de l'essai, on peut remarquer que les lots traités présentent des taux de reprise un peu inférieurs (96% contre 99 et 100% pour les lots non traités).

## CONCLUSION GENERALE

### ESSAIS EFFICACITE

Après deux années d'expérimentation visant à évaluer l'efficacité de différents couples température-durée, certains enseignements peuvent être tirés.

Tout d'abord, le couple de référence, 50°-45' a montré toute son efficacité vis-à-vis de la destruction des phytoplasmes de la Flavescence Dorée et du Bois Noir. Aucune bouture traitée avec cette modalité n'a été trouvée positive à ces jaunisses.

Dans les témoins non traités, même si la mortalité des boutures a été importante, des symptômes de Flavescence Dorée, confirmés par analyse PCR, ont bien été observés. Il faut également signaler que certains symptômes ne se sont extériorisés qu'au bout de 2 ans confirmant ainsi, la possibilité d'incubation de la maladie.

D'autres couples température-durée ont été testés et pour l'instant l'efficacité vis-à-vis de la Flavescence Dorée a été totale même s'il faut encore vérifier l'an prochain si certaines boutures ne sont pas en incubation.

Par contre, vis-à-vis du Bois Noir, seul le couple de référence a fait preuve d'efficacité.

La possibilité d'opter pour des couples températures-durée moins exigeants pourrait donc s'envisager mais sous réserve d'un fonctionnement optimal de la machine à eau chaude puisque la marge de sécurité en terme d'efficacité s'en trouverait réduite et en sachant que les phytoplasmes du Bois Noir ne seraient pas éliminés.

### ESSAIS SELECTIVITE

L'expérimentation principale visait à évaluer l'incidence de traitements à l'eau chaude réalisés à partir de machines différentes et sur des plants de diverses origines. En première année d'expérimentation, en 2011, un site de traitement et un lot de plants avaient décroché en terme de taux de réussite observé. Les résultats ont été mauvais alors que pour les autres sites de traitement et les autres lots de plants on pouvait considérer que les traitements à l'eau chaude n'avaient pas altéré la qualité du matériel traité de manière significative même si les taux de réussite étaient légèrement inférieurs par rapport aux témoins non traités.

Cette expérimentation a été reconduite en 2012. Le nombre de sites de traitements et de lots de plants de diverses origines ont été augmentés. Les conditions des traitements ont été également harmonisées. Les résultats se sont ainsi avérés plus homogènes et aucun site ni aucun lot de plants n'ont décroché comme en 2011. Malgré cela, les témoins non traités ont quasi systématiquement présenté des taux de reprise après plantation légèrement supérieurs aux lots traités (3% en moyenne).

De nombreux autres essais ont été entrepris afin de vérifier l'impact potentiel de facteurs autres que la température et la durée du traitement. Il a pu être ainsi analysé l'influence de l'acclimatation des plants avant et après traitement à l'eau chaude, de leur réhydratation avant plantation, de la coupe ou non des racines avant traitement. Un essai sur boutures avant greffage a également été reconduit en 2012, en testant notamment l'effet du traitement sur un porte-greffe jugé plus sensible, le Fercal.

Concernant les conditions entourant le traitement en lui-même, peu de facteurs ont eu un impact notable. La réhydratation des plants semble facultative et les conditions d'acclimatation que ce soit avant ou après traitement n'ont eu qu'une influence très limitée. On peut cependant conseiller d'éviter les durées trop importantes ou trop courtes (plus de 24h et moins de 6h). La coupe des racines ou non avant traitement n'a pas eu non plus d'impact significatif. Sur boutures, les lots traités ont présenté des taux de réussite en pépinière inférieurs aux non traités (7% d'écart).

Globalement, en matière de sélectivité, on peut en conclure que, dans la grande majorité des cas, les traitements à l'eau chaude, s'ils sont réalisés dans de bonnes conditions, n'affecte pas de manière importante les taux de réussite même si, que ce soit sur boutures ou sur plants, les lots non traités présentent en moyenne des taux de réussite supérieurs de 2 à 3%. Le traitement à l'eau chaude semble cependant fragiliser quelque peu le matériel traité. Si les conditions sont favorables, cette



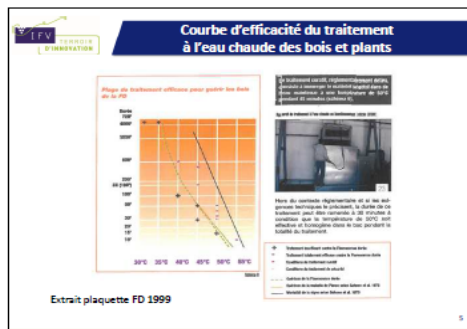
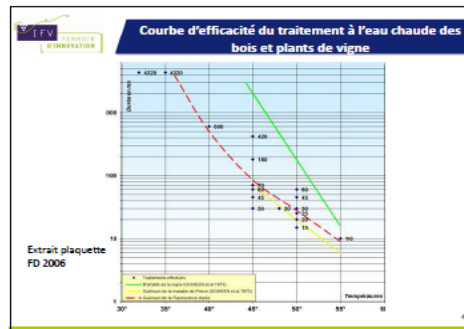
fragilisation n'a donc que peu de conséquences. Par contre en cas de mauvaises conditions de conservation du matériel ou de plantation, et à fortiori de traitement, les conséquences peuvent s'avérer plus significatives. Ce type de traitement ne peut donc pas être considéré comme totalement anodin et un accident de traitement est d'autre part toujours possible.

Pour minimiser les risques, il convient de prendre le maximum de précautions avant et pendant le traitement mais aussi après ce traitement, jusqu'à la plantation effective des plants. Cela engage donc également le viticulteur qui doit veiller à planter ce matériel à des dates compatibles et dans les meilleures conditions possibles.



Annexe 3 : Diaporama présenté au GT par Mr Pascal BLOY le 23 février 2016

14/04/2016



**Objectif:**  
Rechercher un autre couple température-durée de même efficacité vis-à-vis des phytoplasmes mais de moindre intensité que le TEC de référence.

**Résultats d'essais antérieurs:**

Plants GS	tnt	45°-60'	48°-30'	50°-15'	50°-20'	50°-25'	50°-30'	50°-35'	50°-45'
2000: (160/ha) Entou-019	FD an1	12%	6%	6%		0%			0%
	FD an2	4%	0%	3%		3%			0%
2001: (160/ha) Entou-019	FD an1	24%		4%		2%	0%	0%	0%
	FD an2	5%					0%	0%	0%
2000: (100/ha) C&J2	FD an1	1%					1%		0%

14/04/2016

### Traitement à l'eau chaude des bois et plants de vigne

#### Essais 2011

Prévalence PCR(+)	BOUTURES POSITIVES (Lot 1)						BOUTURES NEGATIVES (Lot 2)					
	213 au total 38%											
Modalités de TEC	TNT	50°-30'	50°-45'	50°-60'	48°-30'	48°-45'	TNT	50°-30'	50°-45'	50°-60'	48°-30'	48°-45'
Boutures traitées	34	34	34	43	34	34	56	56	56	57	57	57
Phytoplasmes PCR(+)	20	18	14	20	16	22	-	-	-	-	-	-
Taux de reprise	59%	53%	41%	48%	48%	60%	-	-	-	-	-	-

- 556 boutures prélevées sur ceps présentant des symptômes de Flavescence Dorée
- 4 cépages concernés: Alicante HB, Cabernet Sauvignon, Carignan, Sauvignon B.
- Tests PCR effectués individuellement sur les 556 boutures prélevées. Seulement 38% de positifs → répartition trop aléatoire des phytoplasmes et faible concentration dans les rameaux.
- Tests PCR effectués après TEC non concluants → détection des phytoplasmes, même si détruits par le TEC.
- Nécessité d'observer les symptômes visuels après bouturage sous serre insect-proof.
- Tests PCR sur feuilles programmés

### ESSAIS EFFICACITE 2011



Essais sous serre insect-proof

### ESSAIS EFFICACITE 2011



Témoins non-traités

### ESSAIS EFFICACITE 2011

Boutures plantées	BOUTURES POSITIVES (Lot 1)						BOUTURES NEGATIVES (Lot 2)					
	205											
Modalités	TNT	50°-30'	50°-45'	50°-60'	48°-30'	48°-45'	TNT	50°-30'	50°-45'	50°-60'	48°-30'	48°-45'
boutures plantées	34	34	34	35	34	34	56	56	56	57	57	57
Taux de reprise	41%	73%	73%	80%	73%	82%	45%	74%	72%	81%	70%	73%

Taux de reprise nettement supérieur avec les boutures traitées (effet curatif du traitement)  
Pas de différences de reprise entre modalités traitées

### ESSAIS EFFICACITE 2011

Modalités	BOUTURES POSITIVES (Lot 1)						BOUTURES NEGATIVES (Lot 2)					
	205											
Taux de reprise	41%	73%	73%	80%	73%	82%	45%	74%	72%	81%	70%	73%
Type Boutures	Remises	Ches. Boutures	PCR/feuille	Reprise	Reprise	Reprise	Remises	Ches. Boutures	PCR/feuille	Reprise	Reprise	Reprise
Remises	14	pas de reprise	0/40%	0/0%	0/0%	0/0%	14	pas de reprise	0/40%	0/0%	0/0%	0/0%
Ches. Boutures	11	remises 100%	10/100%	10/100%	10/100%	10/100%	11	remises 100%	10/100%	10/100%	10/100%	10/100%
PCR/feuille	11	remises 100%	10/100%	10/100%	10/100%	10/100%	11	remises 100%	10/100%	10/100%	10/100%	10/100%

### ESSAIS EFFICACITE 2011

Résultats: (lots constitués de 90 boutures)

	Témoins non traités	48°-35'	48°-45'	50°-30'	50°-45'	50°-60'
% reprise	43	76	75	80	74	80
% bt FD (sur 90 boutures)	17	0	0	0	0	0

Catégorie	Lot 1	Lot 2
Bt. Boutures	32 (35%)	57 (63%)
Bt. sans symptômes	14 (15%)	20 (22%)
Bt. à symptômes (bt FD)	8 (9%)	14 (15%)

Aucun symptôme sur les modalités traitées.  
Résultat confirmé par les analyses PCR sur feuilles.  
Présence de nombreux symptômes sur les témoins non traités.  
Présence de phytoplasmes confirmée par PCR.  
Résultats à vérifier en année N+1 (période d'incubation?)

14/04/2016

### ESSAIS EFFICACITE 2011

Observations en 2<sup>e</sup> année des boutures traitées en 2011:

Année	Témoin non traité	48°-35'	48°-45'	50°-30'	50°-35'	50°-45'
2011	15 FD 40 à salines	/	/	/	/	/
2012	14: mort 1: RO	5 FD	/	/	/	/

- Toujours aucune bouture avec symptômes dans les modalités traitées  
 - Incubation avérée dans les boutures du témoin non traité

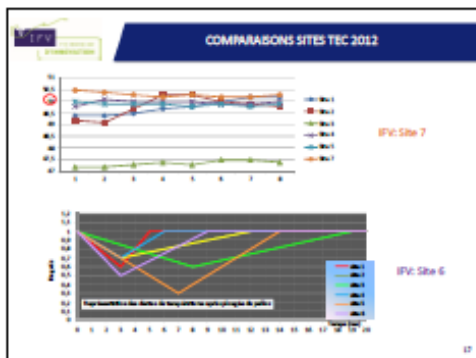
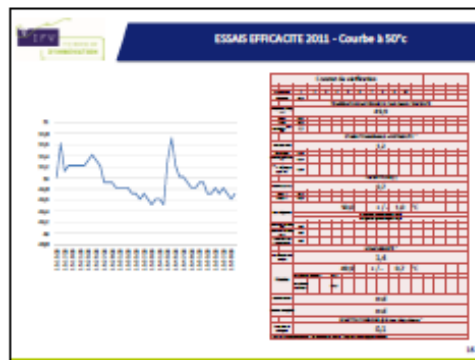
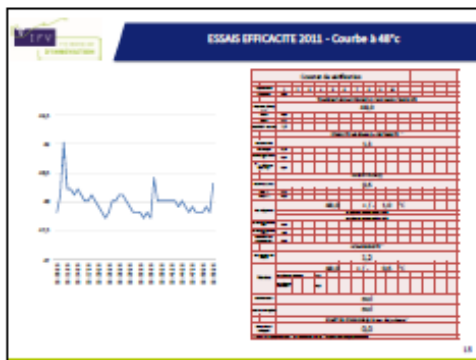


### ESSAIS EFFICACITE 2012

Tests de nouvelles modalités en 2012:

Phytoplasme	test	48°-30'	48°-35'	48°-45'	49°-30'	49°-35'	50°-30'	50°-35'	50°-45'
FD (MLO/Ah) F. vitifoliae		2%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%
BN (prosyd) Oenoneura		7%		4%			2%		0%

- Forte mortalité des boutures (plus de 50%)
- Pour la FD pas de symptômes dans les lots traités
- Observer les boutures une année supplémentaire (incubation possible)
- Vérifier l'effet de certaines températures (48°)
- 50°-45' inefficace pour le bois noir

### Traitement à l'eau chaude des bois et plants de vigne

#### CONCLUSIONS ESSAIS EFFICACITE

Après suivi des essais 2011 et 2012 pendant 2 années supplémentaires afin de vérifier l'absence de nouvelles boutures en incubation:

- Confirmation TEC de référence à 50° - 45' efficace pour détruire les phytoplasmes de la FD et du bois noir
- Autres couples température - durée efficaces vis-à-vis de la FD mais marge plus faible d'où nécessité d'une machine très bien réglée
- Couples testés autres que le TEC de référence(50°-45') à priori inefficaces vis-à-vis du bois noir

14/04/2016

### CAHIER DES CHARGES OFFICIEL EN FRANCE

**Identification des machines de traitement à l'eau chaude:**

- Date de mise en service
- Capacité maximale de traitement
- Numéro d'identification

**Description de la machine de traitement à l'eau chaude:**

- Isolation thermique
- Dispositif de chauffage permettant d'obtenir une température homogène et stable (variations inférieures à ± 0,5°C pendant le bain). Vérification et étalonnage réguliers des sondes.
- Système automatique sécurisé d'enregistrement
- Horodateur
- Dispositif permettant d'enregistrer les mouvements d'immersion et de sortie du bain



### CAHIER DES CHARGES OFFICIEL EN FRANCE

**Enregistrement des données:**

- Enregistrement permettant de vérifier la température et la durée des bains
- Machine reliée à un dispositif sécurisé d'édition

**Tracabilité du matériel végétal:**

- Fournisseur du matériel végétal
- Caractéristiques du matériel végétal

**Attestations de traitement à l'eau chaude:**

- Bains identifiés par un numéro de code (date, n° d'ordre)
- Modèle d'attestation

**Archivage des données:**

- Tenue d'un registre par campagne
- Archivage des données pour 5 ans

**Préconisations concernant les conditions de réalisation du traitement à l'eau chaude:**

- Stockage avant et après traitement
- Acclimation du matériel végétal
- Information du client viticulteur



### EXEMPLES DE COURBES

2016 Bain Greffions



Exemples courbes IFV Le Grau du Roi

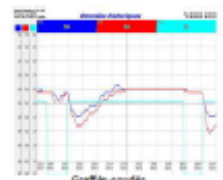
2016 Bain Boutures greffables



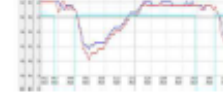

### EXEMPLES DE COURBES

Exemples courbes Chambre d'Agriculture de Saône et Loire

Greffes-soudées



Boutures greffables



### MODE OPERATOIRE EN AUSTRALIE

DEPARTMENT OF PRIMARY INDUSTRIES  
ICA-07 version 7.4 HOT WATER TREATMENT OF ASSAULTS

**Procédure bien encadrée au niveau réglementaire:**

- Type d'équipement préconisé, pompe, sondes, enregistreur des données, étalonnage...
- Emplacement des capteurs (3 sondes minimum), vérifications fonctionnement
- Enregistrements des traitements réalisés
- Tracabilité du matériel traité avant pendant et après traitement
- Agrément de la station de traitement

**Consignes de traitement:**

- 50°C ± 1°C durant 30 minutes ou 54°C ± 1°C durant 30 minutes
- Réglage à 51°C au départ du traitement (option1)
- La température doit remonter à 50°C ± 1°C dans les 2 minutes suivant le début du traitement
- La température ne doit pas descendre par la suite en dessous 49°C (pour les 3 sondes)

### MODE OPERATOIRE AU CANADA

**WHY IS HOT WATER TREATMENT (HWT) NOT ACCEPTED AS A VIABLE SOLUTION?**

- Since 2001, French/Francois facilities commercial register with IFV and some enterprises continue to use an unapproved plant.
- In 2004, French/Francois were severely underfunded, the region of Burgundy began to use an HWT installation of 100t.
- That one million plants were successfully treated in the Burgundy region with the best 7% mortality.

There is a big question: the difference in the original HWT protocol and the ICA-07 Protocol

PREVIOUS HWT PROTOCOL	ICA-07 PROTOCOL
• HWT - 50°C for 15 minutes	• 28 days acclimatization and temperature control prior HWT
• 2 HWT with only 3 sondes (minimum)	• HWT - 50°C ± 1°C during 30 minutes
• Minimum 2000 kg of plants	• 24 hours at least temperature control during HWT
• 10000 plants per day	• 10000 plants per day
• Minimum 2000 kg of plants at 12°C	• 10000 plants per day
• 10000 plants per day	• 10000 plants per day
• 10000 plants per day	• 10000 plants per day

Source: IFV - 2015

**MODE OPERATOIRE EN CALIFORNIE**

The hot-water treatment process currently involves three steps.

First, vines are immersed for 5 minutes into a pre-heating tank at 30°C to warm up the wood.

Next they are immersed for 5 minutes in the hot-water treatment tank at 52.0°C (121°F) to kill any stage of vine infestation.

Lastly, the vines are immersed for 5 minutes into a cooling tank around 22°C. The use of these tanks is used to cool down the wood to prevent any damage to its quality.

Several literature sources document that these treatments can be done without sacrificing the quality of the treated wood. Hot-water treatments also have the added effect of providing partial to complete control of pests such as root-knot nematodes and grape phylloxera, as well as diseases such as Pierce's disease (*Xylella fastidiosa*), *Phytophthora cinerea*, *Phaeoacremonium*, and *Agrobacterium* spp.

Foundation Plant Services FPS Grape Program  
Newsletter October 2004



**POSSIBILITES DE REVISION DU COUPLE TEMPERATURE DUREE**

**Techniquement envisageable sous certaines conditions**

Possibilité d'adopter un couple 50°C-35' mais:

- Stations de traitement adaptées à ces conditions de traitement
- Durée effective de 35' à 50°C ± 1°C indispensable (durée réelle fonction des caractéristiques de la machine, du type de matériel traité et des conditions de traitement). 50°C ± 0,5°C techniquement impossible à tenir.
- Nécessité de vérifier notamment les conditions de remontée en température après le début du traitement (à prévoir lors des vérifications par organisme accrédité)
- Sondes et enregistreurs normalisés et vérifiés (sondes PT100 pour immersion avec exactitude de ± 0,5°C maxi et résolution de 0,1°C)
- Fréquences d'enregistrement: toutes les minutes

Efficacité sur Bois Noir à vérifier pour ce couple (à priori efficacité insuffisante avec le couple 50°C-30')

**Traitement à l'eau chaude des bois et plants de vigne**

**IMPACT DU TEC SUR LE MATERIEL VEGETAL**  
Expérimentations 2010-2012



**Traitement à l'eau chaude des bois et plants de vigne**

**Rappel principaux résultats 2011**

- Diminution de l'intensité du TEC: (niveau à 40°-45; 50°-60° et 65°) → pas d'influence sur le niveau de reprise
- Période de réalisation: → conservation au moins 1 mois en chambre froide après TEC → ne pas planter juste après le TEC → baisse du taux de reprise en cas de plantations tardives
- Différentes catégories de plants: → taux de reprise inférieur pour des plants repiqués de frigo.
- Lots de plants traités et plantés sur 4 sites de production: → hétérogénéité significative des résultats (débranchage d'un site et d'un assemblage). → à poursuivre en 2012
- Comparaison Impact traitements avant greffage sur SO4 et Fercat: → résultats à confirmer en 2012 pour le Fercat
- Réhydratation: Impact négatif d'une réhydratation avant plantation de 48 heures → à confirmer en 2012

A tester en 2012: Choix thermique, Acclimatation et Coupe des racines

**Traitement à l'eau chaude des bois et plants de vigne**

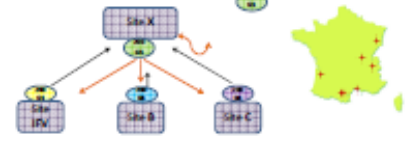
**TRAITEMENTS SUR DIFFERENTS SITES DE PRODUCTION 2012**

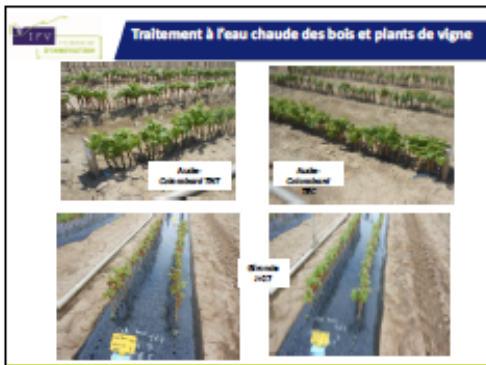
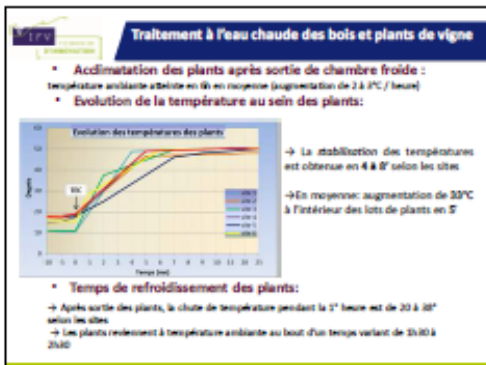
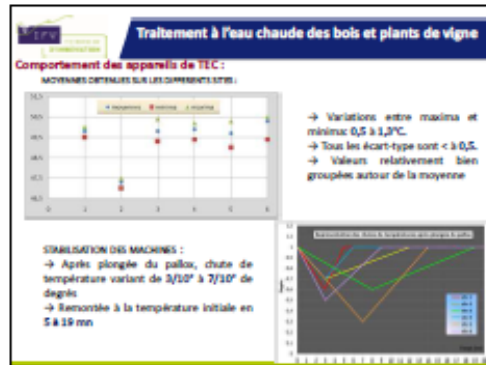
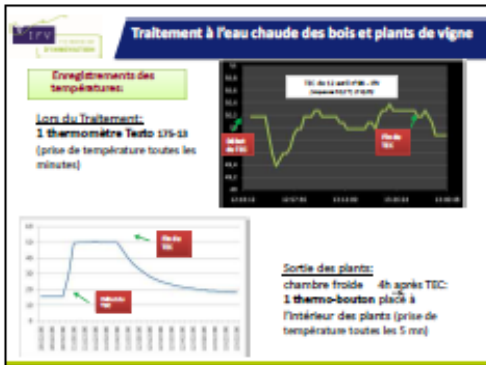



**Traitement à l'eau chaude des bois et plants de vigne**

**Description de l'essai:**

- Lots de plants échangés entre 7 sites de production
- 1 lot = 100 plants traités, 100 non traités
- Chaque site traite et plante en pépinière: 1 lot qui lui est propre + 1 lot origine IFV + 2 lots de 2 autres sites





### Traitement à l'eau chaude des bois et plants de vigne

**Résultats Essai Multi-sites 2012**

	Site 1	Site 2	Site 3	Site 4	Site 5	Site 6	Site 7
Site 1	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%
Site 2	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%
Site 3	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%
Site 4	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%
Site 5	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%
Site 6	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%
Site 7	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%

En moyenne 2% d'écart entre le témoin non traité et la modalité 50°-45' (de -2% à +2%)




**Traitement à l'eau chaude des bois et plants de vigne**

**AUTRES EXPERIMENTATIONS 2012**  
**CHOCs THERMIQUES -**  
**ACCLIMATATION - REHYDRATATION**  
**TRAITEMENT SUR BOUTURES**



**Traitement à l'eau chaude des bois et plants de vigne**

**Chocs thermiques :**



Temps	10°C	50°C	50°C	10°C	10°C	50°C	50°C	10°C	10°C
Phase 1 (1h)	10°C	50	50	10	10	50	50	10	10
Phase 2 (1h)	10°C	50	50	10	10	50	50	10	10
Phase 3 (1h)	10°C	50	50	10	10	50	50	10	10
Phase 4 (1h)	10°C	50	50	10	10	50	50	10	10

→ Pas de différences très significatives  
 → Éviter les extrêmes (acclimatation trop longue ou trop courte)  
 → Bon compromis: 12h avant et 12h après

**Traitement à l'eau chaude des bois et plants de vigne**

**Réhydratation :**

Modalité	Pas de Rh		Rh 24h		Rh 24h (racines)		Rh 48h	
	50°	TEC 50°	50°	TEC 50°	50°	TEC 50°	50°	TEC 50°
Taux de reprise	100	98	94,2	95,6	100	94,8	95,8	95,8

→ Pas de différences significatives comme en 2011  
 → A priori pas de déshydratation due au TEC

**Traitement à l'eau chaude des bois et plants de vigne**

**Essais Racines**

Modalité	Reprise	Reprise	Reprise	Taux
PRODIGE (100% / 100%)	100%	100%	100%	100%
PRODIGE (100% / 100%)	100%	100%	100%	100%
PRODIGE (100% / 100%)	100%	100%	100%	100%

Pas d'impact sur la reprise lié à la coupe des racines

**Traitement à l'eau chaude des bois et plants de vigne**

**Traitement des boutures 2012:**  
 - Assemblage : Vignoble B / Fercal  
 - 2 modalités : témoin non traité / TEC 50°-45°  
 - 4 répétitions de 150 plants / modalité

Modalité	TEC 50°-45°	TEC 50°-45°	TEC 50°-45°	TEC 50°-45°	TEC 50°-45°	TEC 50°-45°	TEC 50°-45°	TEC 50°-45°	TEC 50°-45°	TEC 50°-45°	TEC 50°-45°	TEC 50°-45°	TEC 50°-45°	TEC 50°-45°	TEC 50°-45°	TEC 50°-45°	TEC 50°-45°	TEC 50°-45°	TEC 50°-45°	
Vignoble B (100% / 100%)	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%
Vignoble B (100% / 100%)	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%
Vignoble B (100% / 100%)	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%
Vignoble B (100% / 100%)	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%

Moyenne lots traités : 59%  
 Moyenne lots non traités : 66%  
 (Pas de différences significatives au niveau statistique)

**Traitement à l'eau chaude des bois et plants de vigne**

**CONCLUSIONS - SELECTIVITE**

- Traitement des plants de "figo" risqué.
- Acclimatation des plants avant et après traitement, nécessaire mais doit être raisonnée (ex: 12 h avant – 12 h après). Dépend de la température ambiante.
- Pas de déshydratation des plants suite au traitement.
- Plantations juste après le traitement augmentent les retards de végétation.
- Traitements tardifs augmentent également les retards de végétation.
- Stockage en chambre froide de 3 semaines à 1 mois après le traitement et avant la plantation, conseillé.
- Caractéristiques et fonctionnement des machines de traitement à l'eau chaude variables selon les modèles. Vérifications annuelles par organisme agréé indispensables (homogénéité, stabilité, fiabilité,...).

**Traitement à l'eau chaude des bois et plants de vigne**

**CONCLUSIONS - SELECTIVITE**

- > Risque de casse important si machine mal réglée, si problèmes liés au stockage des plants, à leur acclimatation, si conditions de plantation non adaptées ou si matériel végétal de qualité médiocre.
- > Réponse au traitement pouvant être variable selon l'assemblage (ex: plus grande sensibilité du Ferca).
- > Si TEC bien conduit, risques pour le matériel végétal limités mais TEC pas anodin et généralement les témoins non traités présentent une réussite supérieure (2 à 3% en moyenne).



Annexe 4 : Tableau 9 synthétique des conclusions sur l'efficacité des traitements à l'eau chaude sur les organismes nuisibles de la vigne initialement intégré au rapport contenant les erreurs d'interprétations pour le bois noir et *A. tumefaciens*. Ce tableau qui a fait l'objet de corrections, a été remplacé dans cette version 4 du rapport.

Organismes nuisibles	Durée du traitement à 50°C			
	45 minutes		35 minutes	
	efficacité	incertitude	efficacité	incertitude
Flavescence dorée	+	très faible	+	très faible
Bois noir	+	très faible	-	très faible
Jaunisses	+	élevée	+	élevée
<i>X. fastidiosa</i>	+	très faible	+	très faible
<i>X. ampelinus</i>	+	faible	+	faible
<i>A. vitis</i>	+	modérée	+	modérée
<i>A. tumefaciens</i>	+	élevée	-	faible
Phylloxera	+	modérée	+	modérée
<i>Scaphoideus titanus</i> (œufs)	-	faible	-	faible
<i>Planococcus coccus</i>	+	modérée	+	modérée
Nématodes vecteurs de virus	+	faible	+	faible

L'incertitude est qualifiée à 4 niveaux (très faible, faible, modérée et élevée). Le niveau très faible est associé aux résultats qui supportent totalement l'hypothèse. Les autres niveaux d'incertitude sont explicités dans le texte (paragraphe 2 et 3).







Agence nationale de sécurité sanitaire  
de l'alimentation, de l'environnement et du travail  
14 rue Pierre et Marie Curie  
94701 Maisons-Alfort Cedex  
[www.anses.fr](http://www.anses.fr) / [@Anses\\_fr](https://twitter.com/Anses_fr)