

Traitement à l'eau chaude contre l'enroulement chlorotique de l'abricotier

Beatrix BUCHMANN, Santiago SCHAERER, Danilo CHRISTEN et Markus BÜNTER, Agroscope, 8820 Wädenswil

Renseignements: Beatrix Buchmann, e-mail: beatrix.buchmann@agroscope.admin.ch, tél. +41 58 460 63 11, www.agroscope.ch



A



B



C

A. Symptômes foliaires de l'ECA: les feuilles enroulées et chlorotiques ont donné son nom à la maladie.
 B. Des nécroses du phloème sont souvent observées sous l'écorce. Ce symptôme varie fortement selon la variété.
 C. Arbre malade devant un arbre sain.

Introduction

Le phytoplasme *Candidatus phytoplasma prunorum* de la maladie de quarantaine *European Stone Fruit Yellows* (ESFY), ou enroulement chlorotique de l'abricotier, provoque de graves dommages aux abricotiers

et à diverses espèces de *Prunus*. Les symptômes sont des feuilles chlorotiques et enroulées et le dépérissement de certaines branches ou de l'arbre entier. Les fruits se développent anormalement et chutent précocement. Les phytoplasmes sont des bactéries dépourvues de paroi cellulaire. En été, ils colonisent le phloème

de la partie aérienne des plantes-hôtes. L'hiver, les phytoplasmes survivent dans les racines, pour recoloniser la partie aérienne des plantes au printemps. Comme tous les organismes de quarantaine, l'ECA doit être annoncé aux stations cantonales d'arboriculture ou aux services phytosanitaires cantonaux.

En Suisse, le canton le plus touché par l'ECA est le Valais. Certains *Prunus*, tels que la variété d'abricotier Luizet ou plusieurs variétés connues de prunier, peuvent être porteurs de l'ECA sans présenter de symptômes visibles et ainsi déclencher de nouvelles infections. La maladie peut être transmise par le psylle du prunier (*Cacopsylla pruni*), présent dans toute la Suisse. Des travaux en collaboration avec Peccoud *et al.* 2013 ont montré la présence de deux biotypes (groupe A et B) de *Cacopsylla pruni* en Suisse, justifiant ainsi l'introduction du terme de «*Cacopsylla pruni-complexe*».

La maladie peut également se propager lors de la multiplication de matériel végétal contaminé (portegreffe ou greffon). Il n'existe aucun produit phytosanitaire permettant de lutter contre l'ECA. Les arbres atteints doivent être immédiatement éliminés, racines comprises. Une méthode efficace doit donc être trouvée pour assainir totalement le matériel de multiplication. Cet article présente les premières expériences de traitement à l'eau chaude de greffons d'abricotiers et de pêchers.

Méthodes et résultats

Combinaison de greffons, bain d'eau chaude et greffe en chip-budding

En immergeant les plants greffés de vigne durant 45 minutes dans un bain d'eau chaude (50°C), l'agent pathogène *Candidatus phytoplasma vitis*, vecteur de la maladie de quarantaine Flavescence dorée, est éliminé (Santiago Schaerer, Agroscope, comm. personnelle). En suivant ce principe – également utilisé pour le passeport phytosanitaire ZP-d4 des plants de vigne – nous avons essayé, chaque année depuis 2007, d'optimiser ce traitement à l'eau chaude pour les greffons d'abricotiers atteints. Au total, quatre séries d'essais en laboratoire ont été effectués en variant la température de l'eau et la durée de l'immersion (45°C/60 min; 50°C/15, 20, 30, 35, 45 et 60 min; 52°C/25 et 45 min). De même que dans les essais pratiques d'Agroscope à Cadenazzo, deux durées d'immersion différentes ont été appliquées (30 et 40 min) à 50°C sur des yeux dormants de greffes en écusson d'abricotiers à racines nues. Les essais en laboratoire ont été pratiqués sur des lignées de sélection, des variétés d'abricotiers et de pruniers infectés:

Résumé Dans différentes parcelles des conservatoires de ressources phytogénétiques fruitières, l'enroulement chlorotique de l'abricotier (ECA) a été dépisté sur de précieuses variétés anciennes d'abricotiers. Ces variétés devant être conservées à long terme, une méthode simple a été recherchée pour éliminer l'agent pathogène *Candidatus phytoplasma prunorum* des greffons d'abricotiers. Dans les essais réalisés en laboratoire, une technique combinant l'immersion pendant 30 minutes dans de l'eau chauffée à 50°C avec une greffe en chip-budding sur les variétés testées a présenté les meilleurs taux de croissance. Cette méthode doit toutefois être adaptée pour certaines variétés. Par ailleurs, les temps de réchauffement et de refroidissement doivent être suffisamment longs pour que les greffes en chip-budding donnent le résultat souhaité. Un essai pratique d'écussonnage a été mené sur des abricotiers à racines nues, dans un bain d'eau chaude à 50°C pendant 45 minutes (variante 1, comme pour des barbues de vigne atteintes de flavescence dorée) ou pendant 30 minutes (variante 2), mais ce procédé n'a pas donné satisfaction car, dans les deux variantes, moins de 5% des plantes traitées ont débourré.

- FG 4176 et FG 4071 du programme de sélection des abricotiers d'Agroscope à Conthey.
- Fantasma, Tardif de Tain, Harogem, Hargrand et la variété de pêche Belle des Croix Rouges ainsi que les variétés PAN (anciennes variétés d'abricotiers, à des fins de conservation des ressources génétiques) portant les numéros d'identification 1030367 et 1025901.
- Des greffons sains de la variété d'abricotiers Hargrand utilisés comme témoin.

Pour obtenir le débourrement d'yeux exempts de phytoplasmes, la combinaison des greffons, d'un traitement à l'eau chaude optimal et de la greffe en chip-budding a été essayée. Les greffons d'un diamètre de 7 à 9 mm ont été taillés fin janvier ou début février, puis conservés durant 14 jours à une température de 4°C et à une humidité élevée. La taille en hiver permet de diminuer la colonisation de l'agent pathogène ECA. ➤

Traitement à l'eau chaude des greffons

Le procédé suivant s'est avéré le plus efficace lors des tests:

Adaptation à la température ambiante sans dessèchement des greffons

Les greffons sont sortis de la chambre froide (4 °C) 24 h avant le traitement. Le récipient d'eau utilisé a une longueur de 30 cm. Les greffons sont coupés à environ 25 cm de long et attachés par variété. Pour s'adapter à la température ambiante et éviter le dessèchement des bois, les fagots sont enroulés dans un linge de cuisine en coton humide et déposés dans un bac en plastique (fig. 1).



Figure 1 | Greffons taillés et enroulés dans un linge humide.

Bain d'eau chaude

Les greffons ne doivent pas être attachés trop serré pour qu'en agitant l'eau chaude, elle puisse bien circuler entre les greffons. Le bassin doit être rempli de façon à ce que tout le fagot soit immergé. Chauffer à 50 °C jusqu'à ce que la température reste constante. Placer un thermomètre dans le fagot pour contrôler la température et attacher le fagot au support qui permet d'agiter. Dès que l'agitation du bac est enclenchée, traiter durant 35 min (fig. 2).



Figure 2 | Fagot de greffons attaché à la structure permettant d'agiter le bain d'eau à 50 °C.

Refroidissement des greffons après le bain d'eau chaude

Verser de l'eau du robinet à env. 20 °C dans un cylindre en verre suffisamment haut ou dans un seau. Après le traitement à l'eau chaude, plonger immédiatement le fagot en le laissant tremper pendant 20 min. Important: après refroidissement d'un fagot de greffons, la température de l'eau doit à nouveau être ramenée à 20 °C avant le prochain fagot. Après refroidissement, envelopper les greffons à nouveau dans un linge humide et les laisser reposer pendant 24 h à température ambiante.



Figure 3 | Après le traitement à l'eau chaude, le fagot de greffons doit être immédiatement refroidi dans un cylindre en verre ou un seau rempli d'eau du robinet à 20 °C durant 20 min.

Essai préliminaire sur la phase de réchauffement et de refroidissement des greffons

Lors de l'essai préliminaire, les greffons ont été sortis de la chambre froide une heure avant le traitement à l'eau chaude. Après celui-ci, les greffons ont été refroidis durant deux heures à l'air ambiant. Dès qu'ils ont été refroidis, les greffons ont été greffés sur les porte-greffes Myrobolan. Déjà en découpant les greffons traités, un brunissement de l'écorce et du cambium a pu être observé. Plus de 90 % des greffes en chip-budding n'ont pas pris. Les 10 % des greffes qui ont pris ont

présenté une moins bonne croissance que les greffes ayant suivi une phase de réchauffement, de refroidissement et de repos. Les brusques changements de température semblent exercer une influence négative sur la vitalité des greffons.

Grefe en chip-budding

Un jour après le traitement à l'eau chaude, les yeux des greffons traités sont greffés en chip-budding sur des porte-greffes vigoureux Myrobolan (fig. 4 et 5). Afin de limiter l'agent pathogène lors de la greffe en chip-

budding, un greffon de taille minimale est greffé sur le porte-greffe sain, comprenant uniquement l'œil et l'écorce alentour avec le cambium (fig. 4 et 5). Environ deux mois avant la greffe, les porte-greffes sont mis en pot dans le substrat spécifique de multiplication «Foradur» (Floragard) et forcés sous serre à 22 °C. Après la greffe, le plant est rabattu à 10–15 cm au-dessus du point de greffe, tout en laissant des pousses vertes afin que le chip croisse bien et que le flux de sève se maintienne sans encombre (fig. 6).

La variété PAN 1025901 est la seule qui n'a pas pris, suite au traitement à l'eau chaude et à la greffe décrits précédemment. En ce qui concerne la température et/ou la durée de traitement, la méthode doit donc être adaptée aux variétés particulièrement sensibles.

Essais en laboratoire

Des échantillons de feuilles positifs pour l'ECA provenant des greffes des abricotiers et pruniers ont été dépistés mi-septembre par nested PCR (PCR nichée) (Méthode Johnston *et al.* 2014). En février 2014 et 2015, un échantillon de racines issu des essais avec la variété PAN numéro 1030367 a été prélevé et testé pour l'ECA avec la «nested PCR»: tous les échantillons, foliaires et racinaires, étaient négatifs. Les plants des autres variétés traitées ont gelé durant l'hiver 2013/2014. Avant le gel, les jeunes plantes provenant des greffons traités contre l'ECA – les sélections FG 4176 et FG 4071, les variétés d'abricotiers Fantasma, Tardif de Tain, Ha-

rogem, Hargrand et la variété de pêche Belle des Croix Rouges – ne présentaient pas de symptômes d'ECA.

Nos observations indiquent que les facteurs suivants ont une influence sur la réussite ou l'échec du traitement à l'eau chaude:

- Différences de sensibilité des variétés à l'eau chaude.
- Intensité de l'attaque de l'agent pathogène ECA et maturation insuffisante des greffons atteints.

Nous recommandons d'effectuer des tests de détection de l'ECA sur les greffons avant le traitement à l'eau chaude, de même que sur les jeunes plantes après deux ans au minimum avec des techniques de biologie moléculaire sur des échantillons de racines.

Traitement à l'eau chaude dans les conditions de la pratique

En février 2014, deux essais ont été effectués par Agroscope à Cadenazzo sur de jeunes plants d'abricotiers, avec un traitement à l'eau chaude similaire à celui des plants de vigne. Le but recherché était d'éliminer les phytoplasmes sur les yeux dormants de greffes en écusson d'abricotiers à racines nues (fig. 7) atteints d'ECA, en les traitant à l'eau chaude.

Comme pour les plants de vigne, deux séries de plants d'abricotiers ont été plongés dans un bain d'eau à 50 °C, l'une durant 45 min et l'autre pendant 30 min (fig. 8 et 9). Un jour avant le traitement, les greffes en écusson d'abricotiers ont été dépotées et les racines coupées à 2–3 cm. ➤



Figure 4 | A gauche, le chip avec l'œil provenant du greffon traité et à droite le porte-greffe Myrobolan avec l'encoche destinée à recevoir le chip.



Figure 5 | La greffe en chip-budding terminée, ligaturée avec du ruban à greffer («Buddy Tape»).



Figure 6 | Les porte-greffes Myrobolan forcés, greffés en chip-budding et rabattus, placés dans des pots de 2 litres avec du substrat.



Figure 7 | Yeux dormants d'abricotiers à racines nues greffés en août 2013 et traités à l'eau chaude en février 2014.

Seuls 5 % des plantes traitées sont parties en végétation. Les plants d'abricotiers à racines nues semblent plus sensibles que les jeunes plants de vigne au thermotraitement. De plus, les températures du grand bain d'eau chaude sont plus difficiles à réguler que dans le procédé en laboratoire. Le remplissage et la vidange du grand bain durent également plus longtemps.

En raison des échecs rencontrés, la méthode a été jugée inadaptée et n'a pas été poursuivie.



Figure 8 | Greffes d'abricotiers (dans le filet jaune) parmi des greffes de vigne pour le traitement à l'eau chaude. Cette méthode n'a pas donné de résultats probants.



Figure 9 | Installation de traitement à l'eau chaude pour les plants de vigne.

Conclusions

- L'essai démontre que les diverses variétés d'abricotiers contaminées par l'ECA réagissent de manière spécifique à différentes températures de l'eau et durées d'immersion.
- Si la durée de trempage des greffons est trop lente ou la température trop élevée, les yeux ne débourent pas. Nous partons du principe que les greffes sont encore porteuses de l'ECA si les températures de l'eau sont trop basses ou si la durée d'immersion est trop courte.
- Aucune différence n'a pu être observée entre les variétés (numéros de sélection) d'abricotiers infectées par l'ECA et les greffons sains d'abricotiers de la variété Hargrand.
- Une durée précise de réchauffement, de refroidissement et de repos est essentielle au succès du traitement contre l'ECA et à la croissance des greffons. ■

Remerciements

Les essais ont pu être réalisés grâce au soutien de Gérard Devènes, d'Agroscope à Conthey, de Thierry Castellazzi, du Service phytosanitaire fédéral (SPF) à Cadenazzo de l'Office fédéral de l'agriculture (OFAG) et d'Hélène Johnston pour les analyses moléculaires.

Bibliographie

- Schaerer S. et Bünler M., 2013. Merkblatt 1-2-006: Europäische Steinobst-Vergilbungskrankheit: *Candidatus phytoplasma prunorum* – European Stone fruit Yellows ESFY; Synonym: Chlorotisches Blattrollen. Agroscope, 15.01.2013, 2 p.
- Schaerer S. et Bünler M., 2013. Merkblatt 1-2-005: Birnenverfall: *Candidatus phytoplasma pyri* – Pear decline PD; Synonym: Birnbaumsterben. Agroscope, 15.01.2013, 2 p.
- Schaerer S. et Bünler M., 2013. Merkblatt 1-2-004: Apfetribsucht: *Candidatus phytoplasma mali* – Apple Proliferation AP; Synonym: Apfetribsucht, Hexenbesen oder Besenwuchs. Agroscope, 15.01.2013, 2 p.
- Peccoud J., Labonne G. & Sauvion N., 2013. Molecular Test to Assign Individuals within the *Cacopsylla pruni* Complex. www.plosone.org – PLOSone, August 2013, 8 (8), 8 p.
- Johnston H., Genini M., Buentner M. & Schaerer S., 2014. Phytoplasmoses en arboriculture fruitière: diagnostic par PCR en temps réel par PCR nichée? *Revue suisse Vitic., Arboric., Hortic.* 46 (2), 110–115.
- Jermini M., Schaerer S., Johnston H., Colombi L. & Marazzi C., 2014. Dix ans de flavescence dorée au Tessin. *Revue suisse Vitic., Arboric., Hortic.* 46 (4), 222–214.
- European Food Safety Authority (EFSA), 2015. Hot water treatment of *Vitis* sp. for *Xylella fastidiosa*. Scientific Panel on Plant Health (PLH). *EFSA Journal* 13 (9), 10 p.

Summary
Combatting European Stone-Fruit Yellows with a Warm-Water Treatment

Valuable old apricot varieties in a number of fruit tree genetic-resource collection plots were found to be infected with European stone-fruit yellows (ESFY). Because it is hoped to preserve these apricot varieties over the long term, a simple method was sought to rid apricot scions infected with ESFY of the *Candidatus* phytoplasma prunorum pathogen. Of the laboratory test series, the combination of a 30-minute soaking in warm water (50°C) followed by chip budding of the tested varieties showed the best growth rates. It turns out, however, that the method must be adapted for individual varieties. Sufficiently long warming-up and cooling-down times are very important for the successful growth of the chip grafts. A field trial with bareroot apricot bud grafts in a warm-water bath, as used for grapevine grafting against Flavescence dorée (grapevine yellows), was not successful, with fewer than 5% of the treated plants of the two batches sprouting. Treatments were conducted at a water temperature of 50°C and soaking times of 30 and 45 minutes.

Key words: European Stone-Fruit Yellows, *Candidatus* phytoplasma prunorum, warmwater treatment.

Zusammenfassung
Warmwasserbehandlung gegen Europäische Steinobst-Vergilbungskrankheit

In Parzellen der Obstgenressourcen-Sammlungen (NAP-PGREL) wurden wertvolle alte Aprikosensorten gefunden, die mit der Europäischen Steinobst-Vergilbungskrankheit (ESFY) befallen waren. Diese Aprikosensorten sollen langfristig erhalten bleiben, weshalb nach einer einfachen Methode gesucht wurde, um an ESFY erkrankte Aprikosenedelreiser vom Erreger *Candidatus* phytoplasma prunorum, zu befreien. Aus den Labor-Versuchsreihen hat die Kombination von 50°C warmem Wasser mit der Eintauchzeit von 30 Minuten mit anschließender Chipveredlung bei den geprüften Sorten die besten Anwachsrate gezeigt. Es zeigte sich, dass die Methode jedoch für einzelne Sorten angepasst werden muss. Genügend lange Aufwärm- und Abkühlzeiten sind sehr wichtig für das erfolgreiche Anwachsen der Chip-Veredelungen. Ein Praxisversuch mit nacktwurzigen Aprikosen-Okulationen im Warmwasserbad, wie er für Reben-Veredelungen gegen Flavescence dorée angewandt wird, war nicht erfolgreich. Von den behandelten Pflanzen der zwei Chargen trieben weniger als 5% aus. Die Behandlungen wurde bei 50°C Wassertemperatur und Eintauchzeiten von 30 und 45 Minuten durchgeführt.

Riassunto
Trattamento con acqua calda contro il Giallume Europeo delle Drupacee

Nelle particelle delle raccolte del Piano d'azione nazionale per la conservazione e l'uso sostenibile delle risorse fitogenetiche per l'alimentazione e l'agricoltura (PAN-RFGAA) sono state riscontrate antiche varietà di albicocco pregiate infestate dal Giallume Europeo delle Drupacee (*European Stone Fruit Yellow* ESFY). Tali varietà di albicocco vanno preservate a lungo termine pertanto si è cercato un metodo semplice per liberare dall'agente patogeno *Candidatus* phytoplasma prunorum gli innesti di albicocco colpiti dall'ESFY. Da una serie di esperimenti in laboratorio, la combinazione di acqua calda a 50°C con un tempo di immersione di 30 minuti e il successivo innesto di un chip alle varietà esaminate ha mostrato il miglior tasso di attecchimento. Tuttavia è emerso che il metodo deve essere adeguato alle singole varietà. Tempi di riscaldamento e di raffreddamento sufficientemente lunghi sono molto importanti per la riuscita dell'attecchimento dell'innesto del chip. Un esperimento pratico di innesti di albicocco senza radici in acqua calda, come viene applicato agli innesti di vite contro la Flavescenza dorata, non ha conseguito buoni risultati. I trattamenti sono stati effettuati con una temperatura dell'acqua di 50°C e un tempo di immersione di 30 e 45 minuti. Tra le piante trattate delle due modalità sono germogliate meno del 5 per cento.