

anses

agence nationale de sécurité sanitaire
alimentation, environnement, travail



Connaître, évaluer, protéger

Période de latence de *Xylella fastidiosa* sur le genre *Citrus*

Avis de l'Anses
Rapport d'expertise collective

Avril 2020 - Édition scientifique



anses

agence nationale de sécurité sanitaire
alimentaire, environnement, travail

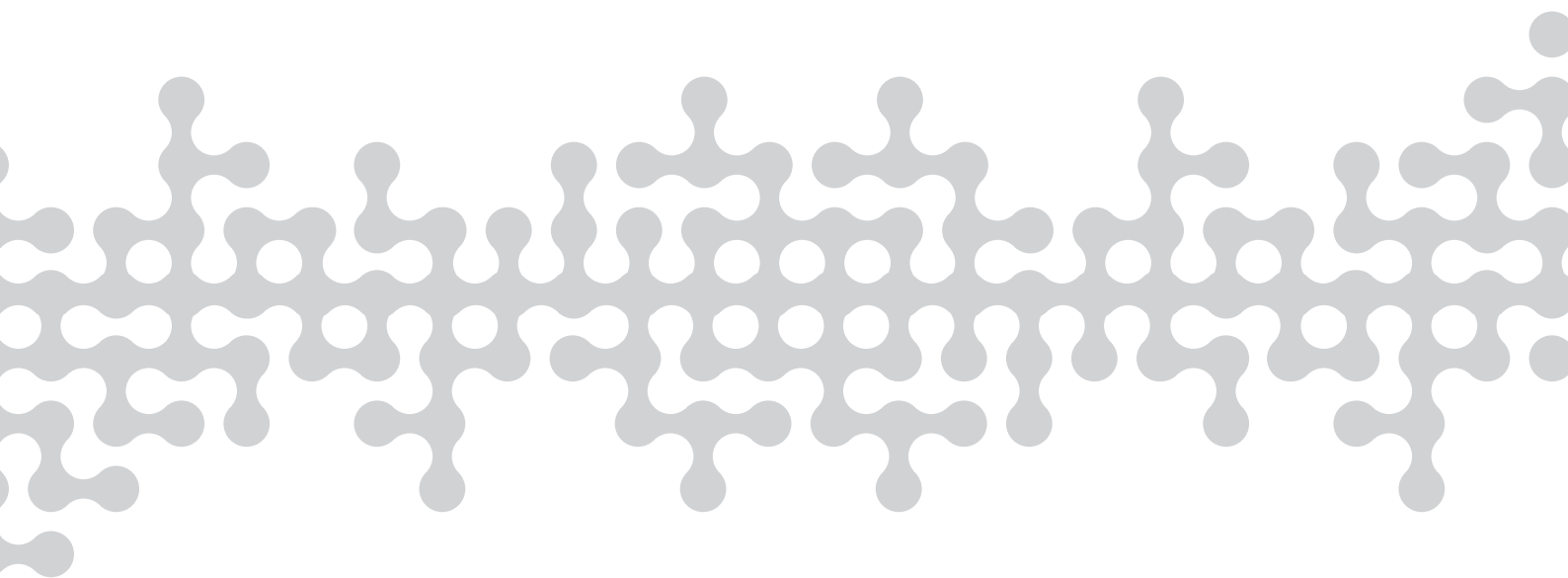


Connaître. évaluer. protéger

Période de latence de *Xylella fastidiosa* sur le genre *Citrus*

Avis de l'Anses
Rapport d'expertise collective

Avril 2020 - Édition scientifique



Le directeur général

Maisons-Alfort, le 10 avril 2020

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

relatif à une « Demande d'avis de l'Anses sur la période de latence de *Xylella fastidiosa* sur le genre *Citrus* »

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 à 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 publiés sur son site internet.

L'Anses a été saisie le 13 mars 2019 par la DGAI pour la réalisation de l'expertise suivante : Demande d'avis de l'Anses sur la période de latence de *Xylella fastidiosa* sur le genre *Citrus*.

1. CONTEXTE ET OBJET DE LA SAISINE

Le texte de la saisine est cité littéralement ci-dessous tel qu'il a été adressé à l'Anses.

1.1. Contexte

1.1.1. Situation en France

La bactérie *Xylella fastidiosa*, sous-espèce *multiplex*, a été identifiée pour la première fois en France en 2015. Aujourd'hui, elle est établie dans certaines communes du littoral méditerranéen de la région Provence-Alpes-Côte d'Azur et dans la région Corse, pour laquelle une stratégie d'enrayement est en place depuis janvier 2018.

1.1.2. Réglementation en vigueur et conséquences sur les déplacements de végétaux dans l'UE

La décision d'exécution 2015/789/UE modifiée précise les dispositions visant à empêcher d'autres introductions de la bactérie *Xylella fastidiosa* ainsi que sa propagation dans l'UE.

Conformément à l'article 9.1 de cette décision, les mouvements de végétaux spécifiés (la

liste des espèces spécifiées est précisée en annexe I de la décision d'exécution 2015/789/UE) en dehors des zones délimitées (la définition d'une zone délimitée est précisée à l'article 4 de la décision d'exécution 2015/789/UE) sont interdits. Par dérogation, l'article 9.2 définit des conditions permettant à l'autorité compétente d'autoriser un opérateur à déplacer des végétaux spécifiés hors de zones délimitées. Parmi ces dispositions¹, l'obligation de maintenir sous protection matérielle (en conditions « insect-proof » permanentes) le site de production du végétal spécifié pendant toute la durée de culture pose des difficultés de mise en œuvre. De ce fait, aucune dérogation n'a été délivrée, à ce jour, en France. Cela se traduit notamment par des pertes de marchés et des baisses du chiffre d'affaires chez les professionnels concernés pouvant aller jusqu'à 50 %.

1.1.3. Alternative aux dispositions de l'article 9.2 pour la délivrance d'une dérogation au mouvement des végétaux spécifiés

Une alternative permettant de lever les difficultés de mise en œuvre des dispositions de l'article 9.2 tout en présentant un niveau de garantie sanitaire équivalent pourrait être de considérer la culture des végétaux sous protection matérielle durant une partie seulement du cycle de production. Le dispositif correspondant reposerait alors sur la succession de deux périodes :

- **Une période de production du matériel végétal en plein champ ;**
- **Une période de production sous protection matérielle, comportant elle-même 2 périodes.** La première période se déroule dans une serre protégée matériellement dite de « quarantaine ». La seconde partie se déroule dans une serre de production, également en conditions « insect-proof ». La durée de passage en serre de « quarantaine » doit être supérieure ou égale à la période de latence de la bactérie dans l'espèce hôte, celle-ci étant sans doute fonction de sa sous-espèce, du « *sequence type* »² ou de la souche considérée, mais aussi de la variété de *Citrus* considérée et de ses conditions de culture.

- Serre dite « de quarantaine »

Les *Citrus* arrivés au stade de développement phénologique recherché par le producteur sont conduits vers la première installation dite de « quarantaine ». Celle-ci offre une première protection matérielle, renforcée par des traitements phytosanitaires et une surveillance vectorielle. Durant cette période, les végétaux font l'objet d'échantillonnages et de tests moléculaires effectués conformément aux méthodes d'analyse validées à l'échelon international. Si à l'issue de cette période dite « de quarantaine », aucun résultat positif d'analyses n'a été observé, le lot de *Citrus* est déclaré indemne de *Xylella fastidiosa*.

- Serre de production

Le lot de matériel végétal déclaré indemne est transporté sous protection matérielle jusqu'à la serre de production pour poursuivre son parcours cultural avant sa

¹ (Cf. bibliographie 4.3 Législation et réglementation)

² La méthode MLST (MultiLocus Sequence Typing) consiste à séquencer un ensemble de fragments d'ADN, amplifiés par PCR, provenant de différents « gènes de ménage ». Pour chaque fragment, des séquences différentes représenteront des allèles différents. L'ensemble des séquences obtenues pour une souche donnée correspond à un profil allélique caractéristique que l'on peut représenter par un codage (ST). 87 « sequence type » ont actuellement été décrits pour *X. fastidiosa* sur la base de sept gènes (<https://pubmlst.org/xfastidiosa/>).

commercialisation. Des tests moléculaires seront ensuite effectués avant la sortie des plants, conformément à l'article 9.4.

1.2. Objet de la saisine

Il est demandé d'examiner les questions suivantes :

- Détermination de la période de latence de *Xylella fastidiosa* après infection du matériel végétal appartenant au genre *Citrus* par un insecte vecteur, pour toute sous-espèce, *sequence type* ou souche connue et décrite à ce jour, pour les variétés d'agrumes et dans les conditions de culture correspondant à celles pratiquées en Haute-Corse.
- Pertinence du dispositif alternatif à la protection matérielle permanente prenant en compte une production sous serre dite de « quarantaine » durant la période de « quarantaine » comme définie précédemment, pour la culture d'agrumes.
- Détermination de l'échantillonnage à réaliser en serre de quarantaine puis en serre de production pour apporter un niveau de garantie sanitaire équivalent à celui prévu par les dispositions de l'article 9.2 de la décision européenne de 2015.

2. ORGANISATION DE L'EXPERTISE

2.1. Modalités de traitement : moyens mis en œuvre et organisation

L'Anses a confié au groupe de travail « Période de latence de *Xylella fastidiosa* », rattaché au comité d'experts spécialisé « Risques biologiques pour la santé des végétaux » l'instruction de cette saisine.

Les travaux d'expertise ont été soumis régulièrement au CES « Risques biologiques pour la santé des végétaux » pour discussion, tant sur les aspects méthodologiques que scientifiques. Les travaux d'expertise ont été présentés au CES le 26/11/2019 puis le 21/01/2020.

Le rapport produit tient compte des observations et éléments complémentaires formulés par les membres du CES.

Ces travaux sont ainsi issus d'un collectif d'experts aux compétences complémentaires.

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) ».

2.2. 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 publiées sur le site internet de l'agence (www.anses.fr).

3. ANALYSE ET CONCLUSIONS DU GT ET DU CES

Comme l'a rappelé le GT « La présente saisine s'inscrit dans la perspective de mise en place d'une dérogation permettant d'autoriser un opérateur à déplacer des végétaux spécifiés (végétaux ayant montré une sensibilité à *Xylella fastidiosa* dans le monde) hors de zones délimitées (zone infectée et zone tampon), ceci sans respecter l'obligation de maintenir sous protection matérielle (en conditions « insect-proof » permanentes) le site de production du végétal spécifié pendant toute la durée de culture.

Le GT a réalisé une évaluation du risque de ce dispositif alternatif et ce en répondant à trois questions [de la saisine]. »

3.1. Détermination de la période de latence de *Xylella fastidiosa* après infection du matériel végétal appartenant au genre *Citrus*

Le GT a tout d'abord préféré substituer ici à la notion classique de « période de latence » qui dans la littérature peut avoir plusieurs définitions (elle correspond soit au temps écoulé entre l'infection de la plante-hôte et le moment où la bactérie est détectable avant l'expression des symptômes, soit au temps écoulé entre l'infection de la plante-hôte et l'expression des symptômes), une notion de « période d'incubation » au sein de laquelle on distingue :

- une période « d'indétectabilité »
- et une période de « détectabilité » de la bactérie.

Le GT a ensuite cherché à estimer la période d'incubation de *Xylella fastidiosa* sur *Citrus* sur la base des données bibliographiques disponibles. Ces données étaient de 2 ordres : i) le rapport de l'EFSA de 2019³, et ii) 3 essais d'inoculations sur *Citrus* en conditions contrôlées.

Dans le rapport de l'EFSA, une analyse statistique a été réalisée sur 23 études conduites sur oranger avec la sous-espèce *pauca*, responsable de la chlorose panachée des agrumes (en anglais « Citrus variegated of chlorosis » ou CVC) pour estimer la période d'incubation.

Les 3 essais d'inoculations ont été réalisés, i) pour le premier, sur 2 espèces du genre *Citrus* (*Citrus sinensis* – oranger – et un hybride *Citrus reticulata* x *Citrus sinensis* – orange verte ou King Tango) avec une souche de la sous-espèce *pauca* ST13 présente au Brésil⁴, ii) pour le deuxième, sur une gamme de *Citrus sp.* (mandarinier, oranger, pomelo et 3 variétés de citranges) avec une souche de la sous-espèce *pauca* ST53 présente en Italie⁵, et iii) le dernier, sur oranger avec une souche de la sous-espèce *pauca* ST74 et une souche de la sous-espèce *fastidiosa-sandyi* ST75, toutes les deux isolées à partir de caféiers⁶.

Le premier essai a permis de reproduire la CVC. Les 2 derniers essais ont montré, comme l'a indiqué le GT, que « l'absence de pouvoir pathogène de ces [trois] souches de la bactérie (et donc d'expression de symptômes) sur les espèces végétales inoculées est associée à une

³ EFSA (2019). Update of the Scientific Opinion on the risks to plant health posed by *Xylella fastidiosa* in the EU territory. *EFSA Journal* 2019, 17(5), 5665. doi: 10.2903/j.efsa.2019.5665

⁴ OLIVEIRA A.-C., VALLIM M.-A., SEMIGHINI C.-P., ARAÚJO W.-L., GOLDMAN G.-H. et MACHADO, M.-A. (2002). Quantification of *Xylella fastidiosa* from citrus trees by real-time polymerase chain reaction assay. *Phytopathology*, 92, 1048-1054.

⁵ EFSA (2016). Maria Saponari, Donato Boscia, Giuseppe Altamura, Giusy D'Attoma, Vincenzo Cavalieri, Stefania Zicca, Massimiliano Morelli, Danilo Tavano. Pilot project on *Xylella fastidiosa* to reduce risk assessment uncertainties. *EFSA Journal* (2016). doi.org/10.2903/sp.efsa.2016.EN-1013

⁶ Anses (2017). In rapport technique périodique H2020 POnTE – partie B - Ref. Ares (2017) 4012361 du 11/08/2017.

absence de colonisation de la plante par les souches inoculées sur agrumes pendant la période d'expérimentation considérée. »

Sur la base de l'ensemble des données disponibles, le GT a retenu l'analyse de l'EFSA compte tenu du nombre d'études analysées, de la diversité des modèles statistiques utilisés et de l'amplitude de l'intervalle définissant la période d'incubation qui englobe les observations de Oliveira et de ses collègues. Par conséquent, le GT conclut que « la période d'incubation de *Xylella fastidiosa* sur *Citrus* qui précède l'apparition de symptômes, pour des souches associées à la maladie dite « CVC », est de durée variable ; elle a été estimée entre 169 et 1080 jours, [qui plus est] avec une incertitude élevée. La répartition hétérogène de la bactérie dans les parties aériennes de la plante complique les prélèvements pour analyses de laboratoire et réduit la probabilité de détection de la bactérie lors de cette phase. »

3.2. Pertinence du dispositif alternatif à la protection matérielle permanente

Pour rappel, le dispositif alternatif dispense de respecter l'obligation de maintenir sous protection matérielle (en conditions « insect-proof » permanentes) le site de production du végétal spécifié pendant toute la durée de culture.

En tenant compte de l'estimation de la période d'incubation dans la première question, le GT rappelle que « si les plants d'agrumes corses s'avéraient contaminés par les souches actuellement présentes en Corse (subsp. *multiplex* ST6 et ST7), ils constitueraient potentiellement des facteurs de dissémination de souches de *X. fastidiosa* pathogènes pour d'autres espèces végétales. Les souches de *X. fastidiosa* actuellement présentes en Corse ne sont pas pathogènes sur agrumes (ne provoquent pas la chlorose panachée des agrumes), mais il a été montré qu'elles peuvent se maintenir dans les plants après inoculation. Des plants infectés asymptomatiques pourraient donc être porteurs sains. »

Le GT a également pris en compte les insectes vecteurs de *X. fastidiosa*, dans l'évaluation du risque lié au dispositif alternatif, pour ce qui concerne la première phase de production en plein champ.

En effet, le GT a considéré que si « *Philaenus spumarius*, vecteur de *X. fastidiosa* en Italie, est considéré comme le principal vecteur potentiel de *X. fastidiosa* en Europe », « la gamme d'insectes vecteurs potentiels de *X. fastidiosa* est large. » Le GT s'est donc appuyé sur les résultats d'une étude concernant les insectes vecteurs potentiels de la bactérie pour la France métropolitaine qui montrait, qu'en Corse, les deux tiers des insectes prélevés (1726 au total) appartenaient à 6 des 13 espèces considérées potentiellement vectrices de *X. fastidiosa*. La multiplicité des insectes vecteurs présents dans l'environnement augmente le risque de contamination des plants d'agrumes durant la phase de production en plein champ.

Ainsi, le GT considère que la transmission de ces souches de *X. fastidiosa*, pathogènes pour d'autres espèces végétales, à partir de plants d'agrumes cultivés en Corse, par des populations d'insectes vecteurs présents dans l'environnement ne peut être exclue. Le matériel *Citrus* représenterait donc un risque de dissémination de souches pathogènes de *X. fastidiosa* pour d'autres végétaux en dehors des zones de foyers. »

De plus, en tenant compte du nombre important d'insectes potentiellement vecteurs de la bactérie en Corse, le GT a considéré i) que les techniques d'échantillonnage disponibles (le filet fauchoir essentiellement) rendent difficile le dénombrement des populations des insectes vecteurs en routine, et ii) que les méthodes de lutte contre ces insectes sont très limitées (la pratique du

désherbage pour limiter l'abondance de la végétation présente dans les vergers pouvant héberger les insectes, au stade nymphal, avec des impacts négatifs sur l'environnement et le traitement insecticide à base de pyréthriinoïdes contre les adultes, compliqué à appliquer en raison de la grande mobilité des insectes cibles).

Le GT a donc jugé que « le dispositif alternatif prévoit une phase de production en plein champ [ce] qui introduit un risque d'infection des agrumes par *X. fastidiosa* via des vecteurs présents dans l'environnement. Ce dispositif alternatif ne garantit pas un état sanitaire satisfaisant à la réglementation (taux d'infection inférieur à 1%), du fait de la possibilité d'infections au champ et des limites de la détection. Ce dispositif induirait un risque inacceptable d'avoir des plants d'agrumes porteurs sains (asymptomatiques) de *X. fastidiosa*, et pouvant être sources de contamination ultérieure d'autres végétaux. »

Par conséquent, « le GT conclut que le passage au champ du matériel végétal représente un risque inacceptable d'infestation par les vecteurs de *X. fastidiosa* et de contamination par la bactérie. »

3.3. Détermination de l'échantillonnage à réaliser

En matière de règle d'échantillonnage, « le GT recommande de suivre les méthodes de calcul de la taille de l'échantillon de la NIMP31⁷. Par ailleurs, le GT rappelle qu'au-delà de la variation statistique liée à la méthode d'échantillonnage, des plants qui seront analysés lors de cet échantillonnage pourraient être des porteurs sains et ne pas être détectés du fait de la distribution hétérogène de la bactérie à l'échelle de la plante. »

3.4. Conclusions

Suite aux réponses apportées aux trois questions posées par la saisine, le GT a conclu que « compte tenu des éléments de réponse apportés aux trois questions portant sur la période de latence (1), le dispositif alternatif (2) et l'échantillonnage (3), le GT estime que l'alternative proposée à savoir, la culture des végétaux sous protection matérielle durant une partie seulement du cycle de production, avec une partie de culture en plein champ sans protection, présente un risque inacceptable comparé aux schémas de production sous protection matérielle permanente qui garantissent un statut de plante hôte indemne de bactérie et de vecteur.

En effet, le GT estime que le dispositif dérogatoire proposé ne garantit pas une absence totale de risque de dissémination de la bactérie *X. fastidiosa*, contrairement au dispositif réglementaire actuel (y compris avec la dérogation 9.2) du fait (i) de la rupture de confinement vis-à-vis des insectes vecteurs pouvant transmettre la bactérie aux plants et (ii) de la persistance potentielle de *X. fastidiosa*, pendant plusieurs mois sans symptômes visibles (mais sans limite bien définie) dans les tissus de *Citrus*, avec des souches non pathogènes pour les agrumes mais pathogènes pour d'autres végétaux et qui seraient impossible à détecter avec certitude.

Enfin, alors qu'à l'horizon 2022 le nouveau schéma de production doit assurer à l'ensemble de la chaîne de production de plants certifiés destinés aux agrumiculteurs des conditions de culture en conditions « insect-proof », les auditions ont mis en évidence que la production de plants d'ornement n'entraîne pas dans le schéma de production conforme à la certification fruitière.

⁷ NORMES INTERNATIONALES POUR LES MESURES PHYTOSANITAIRES. NIMP 31 : Méthodes d'échantillonnage des envois. Convention internationale pour la protection des végétaux, 26 p. <https://www.ippc.int/en/publications/588/>

Le GT recommande donc que les plants d'ornement qui sont aussi destinés au marché d'exportation intègrent la filière de certification des plants d'agrumes et soient produits sous protection « insect-proof » permanente pour garantir leur traçabilité et leur état sanitaire.

Au demeurant, une forte incertitude sur l'évolution de la virulence de *X. fastidiosa* en Corse (et plus largement pour tout matériel végétal exporté) perdure puisqu'il n'est pas exclu de voir émerger des souches virulentes sur agrumes comme cela a été décrit au Brésil (risque de recombinaison entre différentes sous-espèces de *X. fastidiosa*).

Les autres incertitudes identifiées par le GT sont : i) les incertitudes liées à la capacité de la sous-espèce *multiplex* (ST6 et ST7) à persister et coloniser les végétaux de *Citrus* en provoquant ou non des symptômes de maladie (nécessité d'essais à réaliser en conditions contrôlées en intégrant la détection moléculaire de la bactérie), ii) les incertitudes sur le risque de transmission des insectes vecteurs à partir de plants de *Citrus* porteurs sains (essais à réaliser en conditions contrôlées) et iii) les incertitudes liées à la différence d'attractivité des insectes vecteurs par les plantes hôtes. »

4. CONCLUSIONS ET RECOMMANDATIONS DE L'AGENCE

L'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail endosse les conclusions du GT et du CES sur le risque inacceptable que représente le dispositif alternatif à la protection matérielle permanente du matériel végétal.

Sur la base de cette expertise, l'Agence conclut que le dispositif alternatif proposé ne permet pas de garantir de façon fiable l'état sanitaire des plants qui seraient ainsi libérés :

1/ la culture en plein champ des plants d'agrumes représente une étape initiale potentiellement contaminante : les agrumes peuvent y faire l'objet d'une contamination par la bactérie *X. fastidiosa* via certaines espèces d'insectes vecteurs ;

2/ le transfert en serre dite de « quarantaine » de matériel végétal potentiellement contaminé ne constitue pas une étape garantissant l'expression systématique de symptômes de la fraction des plants infectés durant la culture en plein champ, pour deux raisons complémentaires. D'une part, une incertitude élevée existe sur la durée de la période d'incubation de la bactérie, et donc sur la durée de la période de « quarantaine » qui pourrait être prescrite. D'autre part, les données relatives aux souches de *X. fastidiosa* actuellement présentes sur le territoire montrent que les plantes contaminées peuvent rester asymptomatiques sur un temps très long.

3/ la réalisation d'un test de diagnostic basé sur des méthodes moléculaires des plants d'agrumes en serre dite de « quarantaine » et en serre « insect-proof » ne garantit pas un résultat suffisamment fiable sur l'état sanitaire du matériel végétal : *X. fastidiosa* est d'autant plus difficile à détecter que sa répartition dans les plants contaminés est hétérogène - que ce soit à l'échelle de la population ou à celle d'une plante donnée - et sa détection dépend étroitement des modalités de prélèvement.

De plus, l'Anses s'associe au constat des experts que la première phase (en plein champ) constitue, indépendamment de l'insuffisance de garanties sanitaires quant au matériel végétal à la

sortie du dispositif proposé, une séquence de dissémination potentielle de la bactérie *X. fastidiosa* par les différents vecteurs présents dans l'environnement, au détriment de la situation sanitaire du territoire.

Enfin, l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail recommande que les plants d'ornement, également destinés au marché d'exportation, intègrent la filière de certification des plants d'agrumes et soient produits sous protection « insect-proof » permanente pour garantir leur traçabilité et leur état sanitaire.

Dr Roger Genet

MOTS-CLES

Xylella fastidiosa, *Citrus*, sous-espèce *multiplex*, sous-espèce *pauca*, période de latence, période asymptomatique, période d'incubation, période endophytique

Xylella fastidiosa, *Citrus*, sub-species *multiplex*, sub-species *pauca*, latence period/survival period/asymptomatic period/latent infection/timing symptoms appearance/symptoms appearance, incubation period, endophytic period

Saisine relative à une demande d'avis sur la période de latence de *Xylella fastidiosa* sur le genre *Citrus*

Saisine « n° 2019-SA-0050 »

RAPPORT d'expertise collective

« Comité d'experts spécialisé Risques biologiques pour la santé des végétaux »

« Groupe de travail Période de latence de *Xylella fastidiosa* »

Mars 2020

Mots clés

Xylella fastidiosa, *Citrus*, sous-espèce *multiplex*, sous-espèce *pauca*, période de latence, période asymptomatique, période d'incubation, période endophytique

Xylella fastidiosa, *Citrus*, sub-species *multiplex*, sub-species *pauca*, latence period/survival period/asymptomatic period/latent infection/timing symptoms appearance/symptoms appearance, incubation period, endophytic period

Présentation des intervenants

PRÉAMBULE : Les experts 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

Présidente

M. Péninna DEBERDT – Bactériologie des zones tropicales – CIRAD

Membres

M. Philippe LEGRAND – Phytopathologie – Station de quarantaine – Anses

M. Charles MANCEAU – Bactériologie / phytopathologie – INRAE (retraité)

M. Xavier NESME – Bactériologie / phytopathologie des arbres fruitiers et forestiers – Diversité et adaptation des bactéries phytopathogènes – INRAE

Mme Valérie OLIVIER – Bactériologie – Unité bactériologie/virologie/OGM – Anses

.....

COMITÉ D'EXPERTS SPÉCIALISÉ

Les travaux, objets du présent rapport ont été suivis et adoptés par le CES suivant : Risques biologiques pour la santé des végétaux

Président

M. Thomas LE BOURGEOIS – Directeur de recherche, CIRAD, UMR botAnique et bioInforMatique de l'Architecture des Plantes

Membres

Mme Marie-Hélène BALESDENT – Directrice de recherche, INRAE de Versailles-Grignon, UR BIOlogie et GEstion des Risques en agriculture

Mme Françoise BINET – Directrice de recherche, CNRS, UMR ECOBIO Rennes

M. Antonio BIONDI – Enseignant-Chercheur, Université de Catagne, Département Agriculture, Alimentation et Environnement, Italie

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

Mme Péninna DEBERDT – Chercheur, CIRAD, UPR HORTSYS

M. Nicolas DESNEUX – Directeur de recherche, INRAE PACA, Institut Sophia Agrobiotech

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

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

M. Laurent GENTZBITTEL – Professeur des Universités, Institut National Polytechnique de Toulouse, Laboratoire d'Écologie Fonctionnelle et Environnement

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

M. David MAKOWSKI – Directeur de recherche, INRAE AgroParisTech Paris-Saclay, UMR d'Agronomie

M. Arnaud MONTY – Enseignant-chercheur, Université de Liège - Faculté de Gembloux Agro-Bio Tech, Department BIOSE, Biodiversity and Landscape Unit

Mme Maria NAVAJAS – Directrice de recherche, INRAE Montpellier, UMR CBGP Centre de biologie pour la gestion des populations

M. Xavier NESME – Ingénieur de recherche, INRAE, Centre Auvergne-Rhône Alpes, UMR Écologie microbienne

Mme Marie-Hélène ROBIN – Enseignante/chercheuse, Ecole d'Ingénieurs de Purpan, UMR AGIR

M. Stéphan STEYER – Attaché scientifique, Centre wallon de Recherches Agronomiques, Département Sciences du Vivant, Responsable Virologie Végétale

M. Éric VERDIN – Ingénieur de recherche, INRAE, Centre PACA Avignon, Unité de pathologie végétale

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

M. Thierry WETZEL – Directeur de recherche, DLR RHEINPFALZ

.....

PARTICIPATION ANSES

Coordination scientifique

M. Emmanuel GACHET – Coordinateur scientifique – Anses

Mme Christine TAYEH – Coordinatrice scientifique – Anses

AUDITION DE PERSONNALITÉS EXTÉRIEURES

DRAAF – Corse

M. Eric LEMONNIER – Chef du Service Régional de l’Alimentation

M. David LE SOURNE – Santé et protection des végétaux – Service Régional de l’Alimentation

.....

DDCSPP – Haute-Corse

Mme Annick HAVET – Chef du Service Santé, Protection Animale et Végétale

M. Luc TASTEVIN – Service Santé, Protection Animale et Végétale

.....

Conservatoire des ressources biologiques ou génétiques des agrumes

M. Emmanuel BLOQUEL – Responsable du Centre de Ressources Biologiques CITRUS – INRAE

.....

AREFLEC

M. Jean-Claude RIBAUT – Président

.....

Les Pépinières « Les Agrumes du Soleil »

Mme Marie-Dominique CRISTINI

.....

CONTRIBUTIONS EXTÉRIEURES AU(X) COLLECTIF(S)

M. Hervé JACTEL – Entomologiste – INRAE – contribution sur la gestion des populations de vecteurs

SOMMAIRE

Présentation des intervenants	3
Sigles et abréviations	8
Liste des tableaux	8
Liste des figures	8
1 Contexte, objet et modalités de réalisation de l'expertise	9
1.1 Contexte	9
1.1.1 Situation en France.....	9
1.1.2 Réglementation en vigueur et conséquences sur les déplacements de végétaux dans l'UE	9
1.1.3 Alternative aux dispositions de l'article 9.2 pour la délivrance d'une dérogation au mouvement des végétaux spécifiés.....	9
1.2 Objet de la saisine	10
1.3 Modalités de traitement : moyens mis en œuvre et organisation	11
1.4 Prévention des risques de conflits d'intérêts.	11
2 Evaluation du risque	12
2.1 Détermination de la période de latence de <i>Xylella fastidiosa</i> sur du matériel végétal du genre <i>Citrus</i>	12
2.1.1 Approche bibliographique	12
2.1.2 Détermination de la période de latence de <i>Xylella fastidiosa</i> sur le genre <i>Citrus</i>	13
2.1.2.1 Définition de la notion de période de latence : distinction entre période de détectabilité et période d'incubation	13
2.1.2.2 Analyse des données de pouvoir pathogène des sous-espèces de <i>Xylella fastidiosa</i> (<i>multiplex</i> et <i>pauca</i>) sur <i>Citrus</i>	14
2.1.2.3 <i>Citrus</i> et sous-espèces de <i>Xylella fastidiosa</i> présentes en Europe	14
2.1.2.4 Estimation par analyses statistiques de la période d'incubation sur <i>Citrus</i>	15
2.1.2.5 Résultats d'essais d'inoculations en laboratoire sur <i>Citrus</i>	16
2.1.2.5.1 Essais de pouvoir pathogène de la souche isolée d'olivier <i>Xylella fastidiosa</i> subsp. <i>pauca</i> ST53 sur agrumes (CNR Bari) (EFSA, 2016)	16
2.1.2.5.2 Essais de pouvoir pathogène sur oranger de souches de <i>Xylella fastidiosa</i> subsp. <i>pauca</i> ST74 et <i>Xylella fastidiosa</i> subsp. <i>fastidiosa-sandyi</i> ST75 isolées à partir de caféiers (Anses, 2017)	18
2.1.2.5.3 Synthèse des informations recueillies	19
2.1.2.6 Prise en compte du vecteur de <i>Xylella fastidiosa</i>	20
2.1.3 Conclusion sur la période d'incubation de <i>X. fastidiosa</i> sur le genre <i>Citrus</i>	21
2.2 Pertinence du dispositif alternatif à la protection matérielle permanente	22
2.2.1 Production des agrumes en Corse : présentation du dispositif actuel, analyse des risques et garanties	22
2.2.1.1 L'organisation de la production des plants d'agrumes en Corse	22
2.2.1.1.1 Schéma de production du matériel certifié	23
2.2.1.1.2 Analyse du schéma de production des plants certifiés et non certifiés d'une pépinière à activité d'export ...	27
2.2.1.1.3 Impact de la Décision d'exécution (UE) 2015/789 (DEX) sur la filière de production de plants d'agrumes.....	27
2.2.2 Dispositif alternatif : présentation et analyse des risques.....	28
2.2.2.1 Risques liés à <i>Xylella fastidiosa</i> lors de la production des plants d'agrumes	28
2.2.2.2 Présentation des aspects techniques du dispositif alternatif	29
2.2.2.3 Analyse du dispositif alternatif envisagé.....	29
2.2.3 Conclusions sur la pertinence technique du dispositif	31

2.3 Détermination de l'échantillonnage du matériel végétal cultivé sous serre en condition « insect-proof » (en serre dite de « quarantaine » puis en serre de production).....	32
3 Conclusions du groupe de travail	33
4 Bibliographie.....	35
4.1 Publications et rapports	35
4.2 Normes.....	37
4.3 Législation et réglementation.....	37
ANNEXES	38
Annexe 1 : Lettre de la saisine.....	39
Annexe 2 : Suivi des actualisations du rapport.....	44

Sigles et abréviations

CES : Comité d'experts spécialisé

CRB : Centre de ressources biologiques

CVC : *Citrus* Variegated Chlorosis

EFSA : European Food Safety Authority

IP : inoculation point

mpi : mois post inoculation

PECO : Population, Exposition, Comparateur, Outcome/Effet

PCR : Polymerase chain reaction

ST : sequence type

UE : Union européenne

WoS : Web of Science

Liste des tableaux

Tableau 1. Sous-espèces et « sequence types » de *X. fastidiosa* détectés en Europe (données de février 2020) _____ 15

Tableau 2. Tableau récapitulatif sur les inoculations des sous-espèces *pauca*, *fastidiosa* et *multiplex* sur *Citrus* en conditions expérimentales _____ 20

Liste des figures

Figure 1. Représentation schématique de la détection de la bactérie à partir du point d'inoculation dans les plants d'agrumes inoculés avec *Xylella fastidiosa* subsp. *pauca* ST53 (Source : EFSA, 2016) _____ 17

Figure 2. Comparaison de la colonisation de *Citrus sinensis* après inoculation par 2 sous-espèces de *Xylella fastidiosa* (*pauca* et *fastidiosa-sandyi**) : *Xylella fastidiosa* subsp. *pauca* ST74 (CFBP 8072) et *Xylella fastidiosa* subsp. *fastidiosa-sandyi* ST75 (CFBP 8073) isolées à partir de caféiers. _____ 19

Figure 3. Schéma de production selon l'ancien et le nouveau cahier des charges de la certification fruitière _____ 25

Figure 4. Présentation de la phase de transition menant le schéma de production des plants certifiés vers la nouvelle certification (entre 2017 et 2022) _____ 26

1 Contexte, objet et modalités de réalisation de l'expertise

1.1 Contexte

1.1.1 Situation en France

La bactérie *Xylella fastidiosa*, sous-espèce *multiplex*, a été identifiée pour la première fois en France en 2015. Aujourd'hui, elle est établie dans certaines communes du littoral méditerranéen de la région Provence-Alpes-Côte d'Azur et dans la région Corse, pour laquelle une stratégie d'enrayement est en place depuis janvier 2018.

1.1.2 Réglementation en vigueur et conséquences sur les déplacements de végétaux dans l'UE

La décision d'exécution 2015/789/UE modifiée précise les dispositions visant à empêcher d'autres introductions de la bactérie *Xylella fastidiosa* ainsi que sa propagation dans l'UE.

Conformément à l'article 9.1 de cette décision, les mouvements de végétaux spécifiés (la liste des espèces spécifiées est précisée en annexe I de la décision d'exécution 2015/789/UE) en dehors des zones délimitées (la définition d'une zone délimitée est précisée à l'article 4 de la décision d'exécution 2015/789/UE), sont interdits. Par dérogation, l'article 9.2 définit des conditions permettant à l'autorité compétente d'autoriser un opérateur à déplacer des végétaux spécifiés hors de zones délimitées. Parmi ces dispositions¹, l'obligation de maintenir sous protection matérielle (en conditions « insect-proof » permanentes) le site de production du végétal spécifié pendant toute la durée de culture pose des difficultés de mise en œuvre. De ce fait, aucune dérogation n'a été délivrée, à ce jour, en France. Cela se traduit notamment par des pertes de marchés et des baisses du chiffre d'affaires chez les professionnels concernés pouvant aller jusqu'à 50 %.

1.1.3 Alternative aux dispositions de l'article 9.2 pour la délivrance d'une dérogation au mouvement des végétaux spécifiés

Une alternative permettant de lever les difficultés de mise en œuvre des dispositions de l'article 9.2 tout en présentant un niveau de garantie sanitaire équivalent pourrait être de considérer la culture des végétaux sous protection matérielle durant une partie seulement du cycle de production. Le dispositif correspondant reposerait alors sur la succession de deux périodes :

- **Une période de production du matériel végétal en plein champ ;**
- **Une période de production sous protection matérielle, comportant elle-même 2 périodes.** La première période se déroule dans une serre protégée matériellement dite de « quarantaine ». La seconde partie se déroule dans une serre de production, également en

¹ (Cf. bibliographie 4.3 Législation et réglementation)

conditions « insect-proof ». La durée de passage en serre de « quarantaine » doit être supérieure ou égale à la période de latence de la bactérie dans l'espèce hôte, celle-ci étant sans doute fonction de sa sous-espèce, du « *sequence type* »² ou de la souche considérée, mais aussi de la variété de *Citrus* considérée et de ses conditions de culture.

- Serre dite « de quarantaine »

Les *Citrus* arrivés au stade de développement phénologique recherché par le producteur sont conduits vers la première installation dite de « quarantaine ». Celle-ci offre une première protection matérielle, renforcée par des traitements phytosanitaires et une surveillance vectorielle. Durant cette période, les végétaux font l'objet d'échantillonnages et de tests moléculaires effectués conformément aux méthodes d'analyse validées à l'échelon international. Si à l'issue de cette période dite « de quarantaine », aucun résultat positif d'analyses n'a été observé, le lot de *Citrus* est déclaré indemne de *Xylella fastidiosa*.

- Serre de production

Le lot de matériel végétal déclaré indemne est transporté sous protection matérielle jusqu'à la serre de production pour poursuivre son parcours cultural avant sa commercialisation. Des tests moléculaires seront ensuite effectués avant la sortie des plants, conformément à l'article 9.4.

1.2 Objet de la saisine

Il est demandé d'examiner les questions suivantes :

- Détermination de la période de latence de *Xylella fastidiosa* après infection du matériel végétal appartenant au genre *Citrus* par un insecte vecteur, pour toute sous-espèce, *sequence type* ou souche connue et décrite à ce jour, pour les variétés d'agrumes et dans les conditions de culture correspondant à celles pratiquées en Haute-Corse.
- Pertinence du dispositif alternatif à la protection matérielle permanente prenant en compte une production sous serre dite de « quarantaine » durant la période de « quarantaine » comme définie précédemment, pour la culture d'agrumes.
- Détermination de l'échantillonnage à réaliser en serre de quarantaine puis en serre de production pour apporter un niveau de garantie sanitaire équivalent à celui prévu par les dispositions de l'article 9.2 de la décision européenne de 2015.

² La méthode MLST (MultiLocus Sequence Typing) consiste à séquencer un ensemble de fragments d'ADN, amplifiés par PCR, provenant de différents « gènes de ménage ». Pour chaque fragment, des séquences différentes représenteront des allèles différents. L'ensemble des séquences obtenues pour une souche donnée correspond à un profil allélique caractéristique que l'on peut représenter par un codage (ST). 87 STs ont actuellement été décrits pour *X. fastidiosa* sur la base de sept gènes (<https://pubmlst.org/xfastidiosa/>).

1.3 Modalités de traitement : moyens mis en œuvre et organisation

L'Anses a confié au groupe de travail « Période de latence de *Xylella fastidiosa* », rattaché au comité d'experts spécialisé « Risques biologiques pour la santé des végétaux » l'instruction de cette saisine.

Les travaux d'expertise ont été soumis régulièrement au CES « Risques biologiques pour la santé des végétaux » pour discussion, tant sur les aspects méthodologiques que scientifiques. Les travaux d'expertise ont été présentés au CES le 26/11/2019 puis le 21/01/2020.

Le rapport produit tient compte des observations et éléments complémentaires formulés par les membres du CES.

Ces travaux sont ainsi issus d'un collectif d'experts aux compétences complémentaires.

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) ».

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 publiées sur le site internet de l'agence (www.anses.fr).

2 Evaluation du risque

2.1 Détermination de la période de latence de *Xylella fastidiosa* sur du matériel végétal du genre *Citrus*

2.1.1 Approche bibliographique

Pour répondre à cette question, le GT a considéré l'avis EFSA (2019)³ comme une première source de données disponibles sur la période de latence de *Xylella fastidiosa* sur *Citrus*. Le GT l'a complété par une recherche supplémentaire décrite dans ce paragraphe.

Le GT a défini les mots-clés pour la recherche bibliographique relative aux études qui ont pu être conduites sur la détermination de la période de latence de *Xylella fastidiosa* sur le genre *Citrus*. La démarche adoptée par le GT pour choisir les mots-clés est issue de la démarche P.E.C.O.⁴ en suivant 4 critères :

- La population concernée par le sujet : les plantes hôtes du genre *Citrus*
- L'exposition à ce danger : infection par *Xylella fastidiosa*
- Le comparateur : des plantes saines du genre *Citrus* ou d'autres espèces végétales
- Le résultat ou outcome : nombre de jours qui définissent la période de latence

Les mots-clés et la combinaison de ces mots-clés choisis ou requête pour la recherche bibliographique sont les suivants : (*Xylella fastidiosa*) AND (*Citrus* OR *Poncirus* OR *Fortunella*) AND (latence period OR survival period OR asymptomatic period OR latent infection OR timing symptoms appearance OR symptoms appearance) AND (incubation period OR endophytic period OR latent period). Cette recherche a été menée conjointement sur deux bases de données : Scopus et Web of Science (WoS). Les mots-clés ont été recherchés dans le titre, le résumé et le thème des articles.

La recherche bibliographique via WoS a donné 1690 références au total sur *X. fastidiosa*. Le nombre de références trouvées avec la combinaison des mots-clés choisis est moindre via Scopus (1158 références). La recherche bibliographique menée via WoS a permis d'identifier une seule référence nouvelle en comparaison avec la bibliographie citée dans l'avis EFSA actualisé en 2019. Il s'agit de Oliveira *et al.* (2002).

Enfin, des données complémentaires sur la période de latence obtenues en conditions expérimentales ou contrôlées ont été rassemblées par le GT et répertoriées (Tableau 2). Ces

³ Avis de l'Efsa du 28/04/2019 : "Update of the Scientific Opinion on the risks to plant health posed by *Xylella fastidiosa* in the EU territory", EFSA Panel on Plant Health

⁴ PECO : Population, Exposition, Comparateur, Outcome/Effet

données figurent dans des rapports techniques de projets et des rapports d'évaluation de risques ou ont été obtenues suite à des questionnements d'experts.

Le GT a réalisé une analyse de l'ensemble de ces données avant de proposer une estimation de la période de latence de *X. fastidiosa* sur *Citrus*.

2.1.2 Détermination de la période de latence de *Xylella fastidiosa* sur le genre *Citrus*

2.1.2.1 Définition de la notion de période de latence : distinction entre période de détectabilité et période d'incubation

Le GT a tout d'abord défini la notion de période de latence. Dans la littérature, cette période correspond selon les définitions :

- soit au temps écoulé entre l'infection (inoculation par le vecteur ou artificiellement) de la plante-hôte et l'expression des symptômes,
- soit à la période comprise entre le moment de l'inoculation et celui où la bactérie est détectable, avant l'expression des symptômes.

Dans le cadre de cette saisine, le GT définit la période d'incubation comme étant la période précédant l'apparition des symptômes de la maladie. Durant la période d'incubation se succèdent :

- une période d'indétectabilité qui correspond à la période pendant laquelle la bactérie n'est pas détectable et,
- une période de détectabilité qui correspond à la période pendant laquelle la bactérie devient détectable.

En outre, la détectabilité dépend de la répartition spatiale et temporelle de la bactérie dans la plante. Le GT rappelle que la détectabilité est optimale lorsque la bactérie a envahi l'ensemble de la plante et, que la présence de la bactérie dans la plante et sa détection n'attestent pas de son pouvoir infectieux sur d'autres plantes hôtes. Néanmoins, ces remarques ne sont pas associées uniquement au pathosystème *Xylella fastidiosa/Citrus* mais à tous les pathosystèmes « agents pathogènes/plantes ».

Dans la suite du rapport, l'expression « période de latence » sera remplacée par la période d'incubation ou période de détectabilité selon le contexte (sauf quand le GT reprend littéralement la question de la saisine).

Par ailleurs, le GT rappelle que la multiplication de la bactérie dans la plante dépend de la virulence de la bactérie qui est variable en fonction de la sous-espèce de *X. fastidiosa* et de l'espèce végétale infectée. Elle dépend également du niveau de résistance/sensibilité de la variété infectée et des conditions environnementales. En effet, lorsqu'un agent pathogène et une plante sont incompatibles, l'agent pathogène ne se développe pas et la maladie ne s'exprime pas, indépendamment des conditions environnementales. Cependant, dans une situation compatible, les conditions environnementales et l'état physiologique de la plante modulent l'expression de la maladie.

2.1.2.2 Analyse des données de pouvoir pathogène des sous-espèces de *Xylella fastidiosa* (*multiplex* et *pauca*) sur *Citrus*

Compte-tenu du fort effet d'interaction entre souche pathogène et génotype d'hôte, des données disponibles sur les sous-espèces et « sequence type » (ST) trouvées sur *Citrus* en conditions naturelles d'infection au Brésil et dans les zones d'introduction en Europe (toutes plantes confondues) ont été analysées par le GT.

La chlorose panachée des agrumes⁵ (CVC) qui sévit en Amérique du Sud, au Brésil en particulier, est causée par *X. fastidiosa* subsp. *pauca*. La sous-espèce *multiplex* de *X. fastidiosa* n'a jamais été isolée de symptômes de CVC. Nunney *et al.* (2012) ont émis l'hypothèse que l'émergence de la chlorose panachée des agrumes au Brésil serait due à l'émergence d'une souche de *X. fastidiosa* subsp. *pauca* issue d'une recombinaison entre la sous-espèce *pauca*, endémique du Brésil, et la sous-espèce *multiplex* qui a été introduite (EFSA, 2018). La présence de *X. fastidiosa* subsp. *multiplex* au Brésil est, quant à elle, considérée comme le résultat d'une introduction des Etats-Unis via des *Prunus* porteurs (Nunes *et al.*, 2003, Almeida *et al.*, 2008). Le type moléculaire de souche de *Xylella fastidiosa* subsp. *pauca* agent de la chlorose panachée des agrumes au Brésil est de type ST11, ST12 ou ST13 (Nunney *et al.*, 2012). La maladie a pu être reproduite dans le cadre d'essais d'inoculation de *X. fastidiosa* subsp. *pauca* du type ST13 sur *Citrus* (Oliveira *et al.*, 2002).

2.1.2.3 *Citrus* et sous-espèces de *Xylella fastidiosa* présentes en Europe

Deux ST de *X. fastidiosa* subsp. *multiplex* ont été identifiées par typage moléculaire (ST6 et ST7) en Corse. Le type ST6 est majoritairement présent dans le Nord de l'île et le type ST7 majoritairement présent dans le Sud de l'île. La majorité des échantillons dans lesquels *X. fastidiosa* a été détectée (60% des échantillons trouvés positifs en Corse et en région PACA), concerne *Polygala myrtifolia*. De nombreux échantillons ont été prélevés sur vigne et agrumes en Corse (611 *Citrus* et 471 *Vitis*), en zones de foyers et hors zones de foyers, et analysés par la méthode française de référence ANSES LSV MA039 (méthode validée en vigueur au moment des analyses) : aucun n'a révélé la présence de *X. fastidiosa*. Les essais de pathogénie réalisés par l'INRAE avec les 2 souches de « sequence types » ST6 et ST7, isolées en Corse n'ont pas montré de pouvoir pathogène sur agrumes car aucune expression de symptômes sur une période de 8 mois n'a été observée en conditions contrôlées (M.A. Jacques, INRAE, communication personnelle). Des isolats de *X. fastidiosa* subsp. *multiplex* de type ST6 sont présents en Espagne (zone continentale) mais cependant aucun essai d'inoculation de la sous-espèce *multiplex* sur *Citrus* n'a été réalisé en Espagne (J.A. Navas-Cortes, CSIC-IAS, communication personnelle).

Le Tableau 1 ci-dessous récapitule les sous espèces et « sequence types » (ST) de *X. fastidiosa* présents en Europe.

⁵ Anciennement dénommée « chlorose variéguée des agrumes »

Tableau 1. Sous-espèces et « sequence types » de *X. fastidiosa* détectés en Europe (données en février 2020)

Pays	Sous-espèce et « Sequence type »
Espagne continentale	<i>X. f.</i> subsp. <i>multiplex</i> ST6
Espagne / Baléares	<i>X. f.</i> subsp. <i>multiplex</i> ST7, ST81 <i>X. f.</i> subsp. <i>fastidiosa</i> ST1 <i>X. f.</i> subsp. <i>pauca</i> ST80
France (région PACA)	<i>X. f.</i> subsp. <i>multiplex</i> ST6, ST7 <i>X. f.</i> subsp. <i>pauca</i> ST53 (Menton)
France (Corse)	<i>X. f.</i> subsp. <i>multiplex</i> ST6, ST7
Italie (Pouilles)	<i>X. f.</i> subsp. <i>pauca</i> ST53
Italie (Toscane)	<i>X. f.</i> subsp. <i>multiplex</i> ST87
Portugal	<i>X. f.</i> subsp. <i>multiplex</i> ST7

Les données présentées dans le tableau sont des données de signalement par analyses officielles dont la synthèse se trouve dans le document de l'EFSA qui n'ont pas évolué depuis 2019.

Source : <https://efsa.onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.2903/sp.efsa.2019.EN-1667> (page 8)

2.1.2.4 Estimation par analyses statistiques de la période d'incubation sur *Citrus*

La période asymptomatique qui correspond à la période d'incubation chez *X. fastidiosa* a fait l'objet d'une analyse particulière par le Panel « Santé des plantes » de l'EFSA (EFSA, 2019). À l'heure actuelle, les données sur les isolats de *X. fastidiosa* présents dans l'Union Européenne sont insuffisantes pour pouvoir estimer la durée de la période asymptomatique (donc d'incubation) ; les données ont donc été extraites des études de cas expérimentales réalisées précédemment dans d'autres régions du monde et couvrant différentes combinaisons de sous-espèces de *X. fastidiosa* et de plantes hôtes. Bien que ces études de cas aient été menées dans une gamme d'environnements et de conditions contrôlées différents, les conditions climatiques n'étaient pas explicitement incluses par les auteurs du rapport comme variable dans les modèles d'estimation. La plupart des études sur les orangers ont été conduites sous abris (22 sur 23 études).

Les données sur le moment de développement des symptômes n'étant pas disponibles pour chaque individu (ou plante hôte) dans toutes les études, il n'a pas été possible d'estimer la durée de la période asymptomatique pour toutes les combinaisons [sous-espèces de *X. fastidiosa* – plantes hôtes]. Seules les données sur le nombre d'individus symptomatiques et asymptomatiques à deux moments après infection étaient disponibles : la date de la première évaluation des symptômes et la date de fin de l'étude. En conséquence, le moment exact de l'expression des symptômes est inconnu dans les trois cas suivants : (i) Hôtes ayant présenté des symptômes avant la première observation ; (ii) Hôtes ayant développé des symptômes entre la première observation des symptômes et la fin de l'étude ; (iii) Hôtes qui n'avaient pas développé de symptômes à la fin de l'étude.

Le problème a été résolu en utilisant deux types de fonction de survie, qui dans cette étude décrit la probabilité qu'un hôte n'a pas développé de symptômes à un moment donné après l'infection. Afin de tenir compte du nombre relativement faible d'observations, la fonction de survie a d'abord été estimée à l'aide d'une méthode paramétrique basée sur le maximum de vraisemblance (« maximum likelihood ») sous l'hypothèse que les symptômes se développent à un

rythme constant au cours du temps. Ces résultats ont ensuite été comparés à une méthode non paramétrique utilisant l'estimateur de Kaplan-Meier, qui ne fait pas l'hypothèse d'un rythme constant de développement des symptômes au cours du temps, et qui est dérivé uniquement à partir des données.

Il ressort du rapport de l'EFSA (2019) que sur *Citrus*, des données sont uniquement disponibles pour *X. fastidiosa* subsp. *pauca* responsable du CVC au Brésil. La période d'incubation estimée sur agrumes est parmi les plus longues de l'ensemble des plantes hôtes testées, et ce quel que soit le type de test appliqué. Le temps médian (durée au bout de laquelle 50% des infections aboutiraient à l'apparition de symptômes) est estimé à 169 et 250 jours par les méthodes non-paramétrique et paramétrique respectivement. La période d'incubation qui pourrait aboutir à des symptômes dans 95% des cas a été extrapolée par la méthode paramétrique à 1080 jours, soit près de trois années.

Le rapport de l'EFSA (2019) souligne les incertitudes inhérentes à ce type d'estimation telles que (i) le nombre limité de données disponibles (deux points de mesure pour chaque étude) et son impact sur l'approche non paramétrique, (ii) l'hypothèse utilisée dans le modèle paramétrique selon laquelle les symptômes se développent à un rythme constant au cours du temps et qui ne reflète pas forcément la réalité et (iii) l'incapacité de l'analyse à capter les facteurs spécifiques aux cultivars. Les incertitudes sont aussi dues, entre autres, à ce que toutes les inoculations n'aboutissent pas au développement de la maladie du fait des conditions environnementales et du niveau de sensibilité de l'hôte qui influencent la réussite de l'infection. Le rapport de l'EFSA (2019) rappelle que les estimations sont basées sur des études de jeunes plantes hôtes qui peuvent présenter des différences en terme d'expression des symptômes avec des plantes hôtes plus âgées. Enfin, ces résultats montrent que l'utilisation de l'inspection visuelle pour la détection des infections d'orange douce avec des souches de *X. fastidiosa* sous-espèce *pauca* peut être problématique en raison de la durée de la période asymptomatique chez ces hôtes.

Compte tenu de ces éléments, le GT retient les estimations de période d'incubation obtenues dans ce rapport avec une incertitude élevée.

2.1.2.5 Résultats d'essais d'inoculations en laboratoire sur *Citrus*

Les travaux ci-dessous réalisés dans deux laboratoires différents (CNR Bari et LSV Angers) sur des souches de *X. fastidiosa* (ST53 isolée d'oliviers au CNR et, ST74 et ST75 isolées de caféiers au LSV) conduisent à la même conclusion : l'absence de pouvoir pathogène de ces souches de la bactérie (et donc d'expression de symptômes) sur les espèces végétales inoculées est associée à une absence de colonisation de la plante par les souches inoculées sur agrumes pendant la période d'expérimentation considérée (Cf. Tableau 2).

2.1.2.5.1 *Essais de pouvoir pathogène de la souche isolée d'olivier Xylella fastidiosa subsp. pauca ST53 sur agrumes (CNR Bari) (EFSA, 2016)*

Le rapport de l'EFSA (2016) dans lequel des résultats de tests de pouvoir pathogène sont présentés (test de pouvoir pathogène sur agrumes, pages 39-44), donne des informations conjointes sur l'apparition des symptômes de maladie et la détection de *X. fastidiosa* en fonction du temps. Ce rapport ne concerne que des inoculations de la sous-espèce *pauca* pathogène des oliviers en Italie.

Pour toutes les espèces de *Citrus* spp. inoculées par la sous-espèce *pauca* ST53 (mandarinier (cv. Commune) ; oranger (cv. Madame Vinous) ; citranges (cv. Carrizo, C35 et

Troyer) ; pomelo (cv Duncan)), le pourcentage de plantes testées positives par PCR en temps réel se situait entre 20 et 100% aux points d'inoculation (pétioles foliaires), 3 mois après inoculation (mpi) (EFSA (2016) : extraction de l'ADN par le tampon CTAB et PCR en temps réel selon la méthode Harper *et al.* (2010)).

Les tests moléculaires suivants réalisés à 6, 9 et 12 mpi ont montré que la bactérie n'était pas détectée au-dessus des 2-3 premiers entre-nœuds, à environ 10 cm du point d'inoculation (Figure 1 ci-dessous, Figure 26 dans le rapport EFSA). Ainsi, la plupart des échantillons ont donné des résultats de détection négatifs par PCR en temps réel (Harper *et al.*, 2010), que ce soit à partir des tissus du xylème, prélevés sur les tiges ou sur les pétioles des feuilles. Les tests par isolement microbiologique ont tous été négatifs sur les 6 plantes sectionnées. La bactérie n'a pas été détectée sur racines d'agrumes par PCR en temps réel (Harper *et al.*, 2010).

Globalement, les résultats obtenus sur agrumes suggèrent que la multiplication initiale de la bactérie peut se produire dans les plantes peu après l'inoculation mais que la colonisation et l'infection systémique des plantes inoculées n'est pas mise en évidence sur la durée et dans les conditions de l'expérimentation. Les plants d'agrumes inoculés (10 par variété) n'ont exprimé aucun symptôme foliaire y compris celui typique du CVC. Quatre plants ayant été conservés jusqu'à 14 mois dans la serre, pour des essais et des observations supplémentaires, n'ont pas exprimé de symptôme. Dans le cadre de ces essais, le témoin positif correspondant à l'olivier inoculé par la sous-espèce *pauca* ST53, a développé les symptômes de la maladie.

Cependant, le maintien de chacun des inoculums au niveau de certains points ou à proximité des points d'inoculation a été observé pendant quelques mois. Ces travaux ont été transmis dans le rapport technique périodique H2020 POnTE (PonTE partners, 2017).

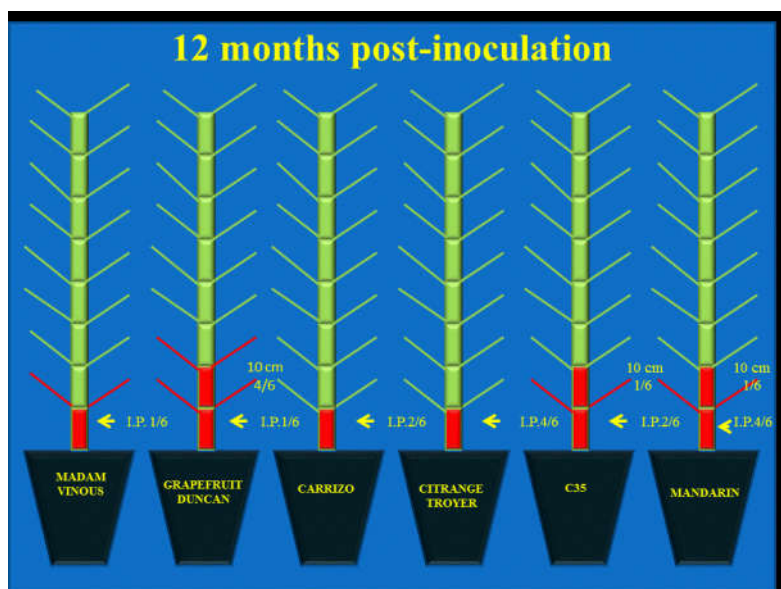


Figure 1. Représentation schématique de la détection de la bactérie à partir du point d'inoculation dans les plants d'agrumes inoculés avec *Xylella fastidiosa* subsp. *pauca* ST53 (Source : EFSA, 2016)

Représentation du mouvement bactérien différentiel dans les plants d'agrumes, 12 mois post inoculation, basée sur des essais de détection par PCR en temps réel (Harper *et al.*, 2010) effectués sur les tiges et les pétioles foliaires de 6 plantes coupées pour chaque génotype. En rouge, les parties des plantes où la bactérie a été détectée par PCR en temps réel (Harper *et al.*, 2010). Les flèches jaunes pointent vers le point d'inoculation (IP) avec le nombre de plantes trouvées positives à 12 mois post inoculation. Le nombre

de plantes positives au-dessus du point d'inoculation est également indiqué au niveau des nœuds et rameaux secondaires et la distance par rapport au point d'inoculation est indiquée en centimètres (cm).

2.1.2.5.2 Essais de pouvoir pathogène sur oranger de souches de *Xylella fastidiosa* subsp. *pauca* ST74 et *Xylella fastidiosa* subsp. *fastidiosa-sandyi* ST75 isolées à partir de caféiers (Anses, 2017)

Dans le cadre du projet européen H2020 Ponte, des tests d'inoculation avec la sous-espèce *pauca* ST74 et la sous-espèce *fastidiosa* ST75 isolées de caféiers interceptés en France ont été menés sur agrumes et caféiers (Anses, 2017). Les observations qui ont été faites sur *Citrus* montrent que la bactérie ne prolifère pas et reste localisée au niveau du point d'inoculation (Cf. Figure 2).

Sept *Citrus sinensis* var *Calabrese* ont été inoculés respectivement avec les 2 souches de *Xylella fastidiosa* suivant différentes techniques, soit par piqûre, soit par injection (Cf. Figure 2)

- Piqûre : l'inoculation a été réalisée en déposant une goutte de suspension bactérienne d'environ 5 µL et en piquant la feuille (nervure centrale) avec une aiguille au niveau de la goutte environ 5 fois.
- Injection : l'inoculation a été réalisée en injectant environ 100 µL (jusqu'à saturation des tissus) de la suspension bactérienne (à l'aide d'une seringue munie d'une aiguille) dans la tige ou le pétiole.

Chaque oranger a été inoculé au niveau de 3 nervures centrales, 3 pétioles et 3 rameaux. De plus, 3 témoins sains (inoculation avec de l'eau) ont été réalisés.

Dix mois après l'inoculation des 7 orangers par l'une ou l'autre des 2 souches (*Xylella fastidiosa* subsp. *pauca* à $5,3 \cdot 10^7$ bactéries/mL (LSV4103 – CFBP 8072 isolée sur *Coffea arabica* originaire d'Equateur); *Xylella fastidiosa* subsp. *fastidiosa/sandyi* à $2,19 \cdot 10^8$ bactéries/mL (LSV4209 - CFBP 8073 isolée sur *Coffea canephora* originaire du Mexique), des symptômes de chlorose sont apparus sur certains orangers, qui n'ont pas évolué, dans le temps de l'observation, en maladie. Les arbres ont eu un développement normal. Les 2 souches n'ont pas été capables de se disséminer dans la plante car les tests moléculaires par PCR en temps réel (Harper *et al.*, 2010) ont permis de détecter la présence des souches seulement au niveau ou à proximité de certains points d'inoculation (37% des points pour ST74 et 14% des points pour ST75).

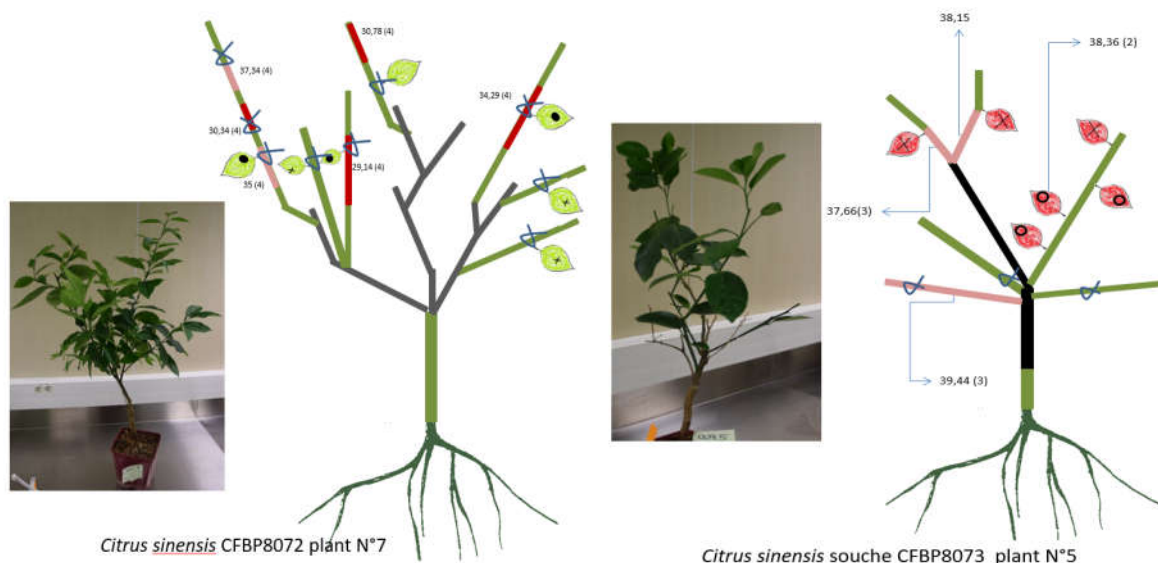


Figure 2. Comparaison de la colonisation de *Citrus sinensis* après inoculation par 2 sous-espèces de *Xylella fastidiosa* (*pauca* et *fastidiosa-sandyi*) : *Xylella fastidiosa* subsp. *pauca* ST74 (CFBP 8072) et *Xylella fastidiosa* subsp. *fastidiosa-sandyi* ST75 (CFBP 8073) isolées à partir de caféiers.

Source : Legendre *et al.* (2016)

Légende : résultats d'analyse *Xylella fastidiosa* en Ct obtenus par PCR Harper (vert : négatif ; rouge : positif avec Ct < 35 ; rose : positif avec 35 < Ct < 40). Toutes les zones d'inoculation ont été marquées sur la plante : par un rond quand l'inoculation a été faite par injection (tige ou pétiole) et par une croix quand l'inoculation a été faite par une piqûre (nervure centrale). Des marques (α) ont été placées au niveau des branches afin de repérer plus facilement la zone d'inoculation en cas de chute des feuilles.

* *Xylella fastidiosa* subsp. *fastidiosa-sandyi* ST75 est phylogénétiquement classée dans la sous-espèce *fastidiosa* ou dans la sous-espèce *sandyi* en fonction de la méthode utilisée. (Jacques *et al.*, 2016)

A titre indicatif, des essais complémentaires réalisés au LSV Angers sur deux caféiers naturellement contaminés par *Xylella fastidiosa* et interceptés, ont permis les observations suivantes :

- l'analyse par PCR en temps réel (Harper *et al.*, 2010) de prélèvements de pétioles à différentes périodes de l'année n'a jamais permis d'avoir 100% de pétioles détectés positifs, que les feuilles présentent des brûlures foliaires ou non, confirmant une répartition hétérogène de l'inoculum même sur des plantes fortement contaminées (Ct faibles en PCR en temps réel) et symptomatiques ;
- a contrario, des feuilles sans aucun symptôme ont pu présenter des taux de contamination de *X. fastidiosa* très élevés (observation basée sur les valeurs de Ct obtenues en PCR en temps réel (Harper *et al.*, 2010)).

2.1.2.5.3 Synthèse des informations recueillies

L'ensemble des résultats des essais d'inoculation sur *Citrus* en conditions contrôlées identifiés par le GT est synthétisé dans le **Erreur ! Source du renvoi introuvable.** ci-dessous. Ces essais montrent qu'à l'heure actuelle, seul le génotype ST13 de *X. fastidiosa* subsp. *pauca*, absent d'Europe et associé à la maladie de la chlorose panachée sur *Citrus* en conditions naturelle, a pu reproduire les symptômes après inoculation, au contraire des génotypes de *X. fastidiosa* présents en Europe qui n'ont causé aucun symptôme après inoculations artificielles en conditions contrôlées. Par ailleurs, selon Nunney *et al.* (2012), seules les souches ST11, ST12 et ST13 de *X. fastidiosa* subsp. *pauca* sont responsables du CVC au Brésil. Le GT souligne

cependant que ces résultats proviennent uniquement d'essais réalisés en conditions contrôlées et qu'ils présentent de ce fait une incertitude quant à leur transposition au champ.

Tableau 2. Tableau récapitulatif sur les inoculations des sous-espèces *pauca*, *fastidiosa* et *multiplex* sur *Citrus* en conditions expérimentales

Source	Sequence type/souche et origine	Observation de symptômes (en mois après inoculation)	Détection de <i>Xylella fastidiosa</i> par PCR en temps réel** (en mois après inoculation)	Localisation de la détection	Variété/espèce d'agrume testée
Oliveira (2002)	ST13/9a5c* sous-espèce <i>pauca</i> (isolée de <i>Citrus sinensis</i>) Brésil	Symptômes de chlorose panachée sur feuille absents à 8 mois et présents à 12 mois	2, 8 et 12	développement de la bactérie supposé systémique pour cette souche	<i>Citrus sinensis</i> / <i>Citrus reticulata</i> x <i>Citrus sinensis</i>
Anses (POnTE 2017)	ST74/CFBP8072 sous-espèce <i>pauca</i> (isolée de caféier) Equateur	10 mois sans symptôme (25°C)	10	Bactérie limitée au point d'inoculation	<i>Citrus sinensis</i>
Saponari (EFSA 2016)	ST53 sous-espèce <i>pauca</i> (isolée d'olivier) Italie	14 mois sans symptôme (26-28°C)	12	Bactérie détectée à +/- 10 cm du point d'inoculation	<i>Citrus sinensis</i> /Pomelos/ citrange (3 cultivars)/ <i>Citrus reticulata</i>
Anses (POnTE 2017)	ST75/CFBP8073 (sous-espèce <i>fastidiosa</i>) (isolée de caféier) Mexique	10 mois sans symptôme (25°C)	10	Bactérie limitée au point d'inoculation	<i>Citrus sinensis</i>
Jacques (INRAE, communication personnelle)	ST6 sous-espèce <i>multiplex</i> (isolée de <i>Spartium junceum</i>) et ST7 sous-espèce <i>multiplex</i> (isolée de <i>Polygala myrtifolia</i>) Corse	8 mois sans symptôme	Pas d'information disponible	non déterminé	<i>Citrus sinensis</i>

* Souche responsable du CVC (Citrus Variegated Chlorosis) sur *Citrus*

** selon Harper *et al.* (2010) sauf dans le cas de l'étude Oliveira *et al.* (2002)

2.1.2.6 Prise en compte du vecteur de *Xylella fastidiosa*

Chez le genre *Citrus*, *X. fastidiosa* est transmis par des insectes vecteurs de l'infra-ordre des *Cicadomorpha* qui se nourrissent de la sève brute qui circule dans le xylème (Roberto *et al.*, 1996). Parmi ces vecteurs et dans l'état actuel des connaissances, *Philaenus spumarius*, vecteur de *X. fastidiosa* en Italie, est considéré comme le principal vecteur potentiel de *X. fastidiosa* en Europe. Ce vecteur est jugé polyphage, malgré certaines préférences alimentaires (Rasplus *in* EFSA 2019), attaquant entre autres les agrumes. Cet insecte a une capacité de transmission variant selon les plantes hôtes (Cornara *et al.*, 2017). La transmission expérimentale de *X. fastidiosa* (sous-espèce *pauca* ST53) par cet insecte a été démontrée, notamment aux agrumes, par Cavalieri *et al.* (2016) et Cornara *et al.* (2017). Pour ces espèces végétales, l'infection n'est pas systématique (taux d'infection inférieur à 25%, Cornara *et al.* (2017)). Cependant, la gamme d'insectes vecteurs potentiels de *X. fastidiosa* est large (EFSA, 2015, Annexe C). Un document présentant les insectes vecteurs potentiels de *X. fastidiosa* pour la France métropolitaine a également été édité (Germain, 2016). Selon ce rapport, les espèces de vecteurs potentiels en

Corse identifiés par leur régime alimentaire, à savoir une prise de nourriture de la sève brute via le xylème sont au nombre de 13 dont *P. spumarius*. Sur 1726 insectes prélevés lors d'une mission en Corse en août 2015 (sur 19 sites dans la région d'Ajaccio), 1142 appartiennent à des espèces considérées potentiellement vectrices de la bactérie. Ces espèces sont par ordre décroissant de nombre d'insectes prélevés *Cicadella viridis* (758 individus), *Aphophora pectoralis* (335), *Lepyronia coleoptera* (42), *Cicada orni* (4), *Aphrophora alni* (2) et *Neophileanus* sp. (1). En conclusion, 6 des 13 espèces potentiellement vectrices de *X. fastidiosa* ont été récoltées en Corse. Néanmoins, les auteurs rappellent qu'aucun travail scientifique ne confirme la possibilité de vection de *X. fastidiosa* par ces vecteurs à l'exception de *P. spumarius*. Les populations des différentes espèces de vecteurs varient selon les zones géographiques en fonction de la présence de leurs plantes hôtes. Par exemple, certaines plantes herbacées favorisent la présence de ces insectes vecteurs. Des études montrent ainsi que le ciste (*Cistus* spp.) est très apprécié par *P. spumarius* (Cruaud *et al.*, 2018).

Aucune des souches de *X. fastidiosa* présentes à l'heure actuelle en Europe n'est pathogène sur *Citrus*. Cependant, les résultats d'études d'inoculation (en conditions contrôlées) suggèrent que les *Citrus* infectés par ces souches pourraient constituer des porteurs sains du fait de la persistance locale de ces souches dans les tissus végétaux pendant plusieurs mois malgré l'absence de symptôme (Cf. Tableau 2). Les porteurs sains sont des sources potentielles d'inoculum susceptible d'être prélevé par l'insecte vecteur et ainsi véhiculé vers d'autres plantes, potentiellement sensibles à ces souches. L'insecte vecteur est un moyen de dissémination efficace car il peut porter un très fort taux de cellules bactériennes au niveau de ses pièces buccales (Cunty *et al.*, article en préparation). En effet, la contamination des plantes par *X. fastidiosa* s'effectue par l'intermédiaire de piqûres d'insectes vecteurs dont le cibarium/precibarium peut être fortement chargé de cellules de *X. fastidiosa*. Il n'y a pas de spécificité connue de *P. spumarius* pour des souches particulières de *X. fastidiosa*. En revanche, les différentes souches de *X. fastidiosa* montrent une capacité variable à s'agréger et à se concentrer dans les plantes-hôtes. Elles sont donc plus ou moins accessibles aux vecteurs (Lindow, 2019).

Malgré l'absence de souches de *X. fastidiosa* pathogènes des *Citrus* en France actuellement, des agrumes porteurs sains (notamment des « sequences types » ST6 et ST7 présentes en Corse) pourraient être à l'origine de la dissémination de souches de *X. fastidiosa* pathogènes pour d'autres plantes hôtes sensibles. En l'absence de protection « insect-proof », les plants de *Citrus* corses sont donc potentiellement des facteurs de dissémination de la maladie vers d'autres plantes.

2.1.3 Conclusion sur la période d'incubation de *X. fastidiosa* sur le genre *Citrus*

La maladie de la chlorose panachée des agrumes (CVC) qui sévit au Brésil est causée par les souches ST11, ST12 et ST13 de *X. fastidiosa* subsp. *pauca*. A ce jour, aucune souche responsable de la chlorose panachée des agrumes n'a été détectée sur *Citrus* en Europe (Cf. Tableau 1).

Les données bibliographiques relatives à la période d'incubation de *X. fastidiosa* subsp. *pauca* sur le genre *Citrus* donnent une période d'incubation sur *Citrus* d'une durée variant de plusieurs mois à plusieurs années (valeur la plus faible estimée à 169 jours ; valeur la plus haute estimée à 1080 jours) qui précéderait l'apparition de symptômes de maladie du CVC dans le cas d'une situation compatible.

Dans le cas d'une situation incompatible (pour des souches testées autres que ST13), la persistance de la bactérie dans les tissus végétaux autour du point d'inoculation peut durer plusieurs mois, vu qu'elle a été détectée jusqu'à 12 mois après inoculation artificielle, sans provoquer de symptômes même à 14 mois après inoculation (Cf. Tableau 2). Cependant, l'évolution de la bactérie dans la plante au-delà du terme de ces études n'est pas connue.

En conclusion, les infections par *X. fastidiosa* peuvent être limitées autour du point d'infection sans expression de symptômes visibles. Cette répartition hétérogène de la bactérie dans les parties aériennes de la plante a pour conséquence l'absence de fiabilité dans la détection de la bactérie durant la période d'incubation.

La possibilité que les *Citrus* hébergent de façon asymptomatique des souches de *X. fastidiosa* autres que celles responsables de la chlorose panachée des agrumes donne aux agrumes un rôle potentiel de plantes-relais (porteurs sains) dans la dispersion de la maladie pour d'autres espèces végétales.

2.2 Pertinence du dispositif alternatif à la protection matérielle permanente

2.2.1 Production des agrumes en Corse : présentation du dispositif actuel, analyse des risques et garanties

2.2.1.1 L'organisation de la production des plants d'agrumes en Corse

Il existe 2 schémas de production concernant :

- le matériel certifié CTIFL : panel de variétés limité (7 variétés fruitières et 5 porte-greffes). Le matériel certifié est destiné aux agrumiculteurs. Le matériel IGP⁶ (clémentine et pomelos de Corse, citron de Menton) impose l'obligation d'avoir du matériel certifié.
- le matériel non certifié a une diversité variétale plus large : il est à destination des producteurs d'agrumes (marchés de niche ou variétés non inscrites au Catalogue officiel des variétés cultivées) ou des particuliers (plants d'ornement, jardins et espaces verts).

L'ensemble du matériel (certifié et non certifié) ne représente pas plus de 10000 plants/an, soit une production très faible en comparaison d'autres pépinières françaises de plants fruitiers, ou étrangères de plants d'agrumes. A titre de comparaison, la plus importante pépinière d'agrumes d'ornement d'Europe, située au Portugal, produisait, en 2014, 1,5 million de plants par an, expédiés aux Pays-Bas puis rediffusés dans 32 pays d'Europe (Legrand et Calado, 2014).

Seul le matériel certifié est présenté et considéré dans cette analyse car c'est le matériel qui est l'objet du contrôle le plus exigeant tant pour sa qualité sanitaire et variétale, que pour sa traçabilité. Par ailleurs, même si le dispositif alternatif ne concerne que les plants certifiés chez les pépiniéristes, le GT a étendu l'analyse de la période de production au champ à l'amont de la filière de production des greffons et des porte-greffes car les risques liés à cette étape peuvent survenir en cas de production au champ de greffons et porte-greffes.

⁶ IGP : Indications Géographiques Protégées

2.2.1.1.1 Schéma de production du matériel certifié

Le schéma général de production du matériel certifié pour les plants fruitiers repose sur l'identification d'un plant initial (PI) tant pour les porte-greffes que pour les greffons. Ensuite, le PI est multiplié par voie végétative (greffage sur des porte-greffes issus de semences elle-mêmes certifiées, et donc multipliés par semis) pour obtenir des plants de base (PB) qui fourniront des greffons. Ces greffons sont à destination des pépiniéristes qui multiplient le matériel végétal et produisent les plants certifiés (plusieurs milliers par an). Le greffon certifié est greffé sur un porte-greffe issu d'une semence certifiée et forme ainsi un plant certifié. Les plants certifiés sont donc issus, par multiplication végétative, d'un seul et même plant pour la partie greffée comme pour le porte-greffe (le PI). La production des plants certifiés vise à conserver une conformité variétale et sanitaire tout au long de la chaîne de production (Audition E. Bloquel ; Cf. Figure 3).

Le CTIFL conserve les PI dans son centre de Lanxade (Dordogne) pour toutes les filières d'arbres fruitiers à l'exception des agrumes. L'INRAE a une délégation du CTIFL pour le maintien des PI d'agrumes en Corse au sein du CRB⁷ INRAE-CIRAD (à San Giuliano) tant pour les greffons que pour les porte-greffes. Le CRB garde encore actuellement la maîtrise de la production des PB de porte-greffes compte tenu de la technicité de cette étape (Audition E. Bloquel ; Cf. Figure 4). L'AREFLEC⁸ intervient à l'étape d'amplification du matériel végétal. Cette structure est un maillon de la filière mais dont l'activité ne se limite pas seulement à la production de plants d'agrumes : l'AREFLEC réalise également des expérimentations sur agrumes et sur olivier par exemple (Audition J.C. Ribaut). L'AREFLEC est le seul fournisseur habilité à produire et à diffuser des greffons certifiés aux pépiniéristes producteurs des plants. Les greffons fournis par l'AREFLEC consistent en des baguettes-greffons avec plusieurs yeux : la technique de greffage utilisée est généralement la greffe en écusson. Une partie des PB de l'AREFLEC sont forcés pour une production accélérée de greffons sur 3 ans (production accélérée de greffons ou PAG ; Cf. Figures 3 et 4). L'AREFLEC reconstitue ce stock de PB à partir d'un autre parc de PB dont la durée de vie est de 10 ans. Au terme d'un cycle de 10 ans, le CRB fournit de nouveaux greffons issus du PI lorsque l'AREFLEC a besoin de reconstituer son stock de PB.

Pour la dernière étape, 4 pépiniéristes sont habilités à produire des plants greffés certifiés à partir des greffons fournis par l'AREFLEC, tous implantés en Corse (l'un d'entre eux s'est spécialisé dans l'export de plants d'agrumes). Dans le cadre de l'appellation « clémentine corse », les pépiniéristes ont obligation de s'approvisionner en greffons auprès d'AREFLEC. Les plants d'agrumes certifiés sont destinés aux agrumiculteurs corses qui doivent planter des plants certifiés.

Du côté de la production des semences d'agrumes (i.e. porte-greffes), le CRB assure actuellement à la fois le maintien des PI et, la production et la commercialisation des semences certifiées. Cependant, le parc semencier du CRB n'est plus en conformité avec la nouvelle certification qui impose que toutes les semences soient issues de PI cultivés en conditions « insect-proof » (Cf. Figure 4). La mise en conformité du parc semencier est prévue à l'horizon 2022. Parallèlement, en 2022, l'étape de production/commercialisation des semences sera transférée à AREFLEC. Le nouveau parc semencier d'AREFLEC (conforme à la nouvelle certification) est entré en production en 2018. Chaque mouvement de matériel végétal a une traçabilité complète (étiquetage de chaque plant et matériel végétal à chaque étape).

⁷ CRB : Centre de ressources biologiques de citrus (San Giuliano, Haute-Corse)

Les aspects sanitaires de la certification sont les suivants :

- pour les PI : tous les plants certifiés font l'objet d'une analyse exhaustive d'une liste prédéfinie d'agents pathogènes (comprenant des organismes de quarantaine et des agents pathogènes responsables de maladies dites de « qualité ») sur la base de tests moléculaires ou morphologiques. Des contrôles visuels annuels sont également réalisés par le CTIFL.
- pour les PB : une analyse par sondage est réalisée sur un panel variable d'organismes nuisibles (recherche des organismes jugés les plus à risque par le CTIFL parmi les agents pathogènes recherchés sur les PI). Des contrôles visuels annuels sont également réalisés par le CTIFL.
- Pour les plants produits par les pépiniéristes et destinés aux agrumiculteurs : des contrôles visuels annuels sont réalisés par le CTIFL. Une analyse par échantillonnage de ces plants est réalisée en cas de doute.

⁸ AREFLEC : Association de Recherche et d'Expérimentation sur Fruits et Légumes en Corse

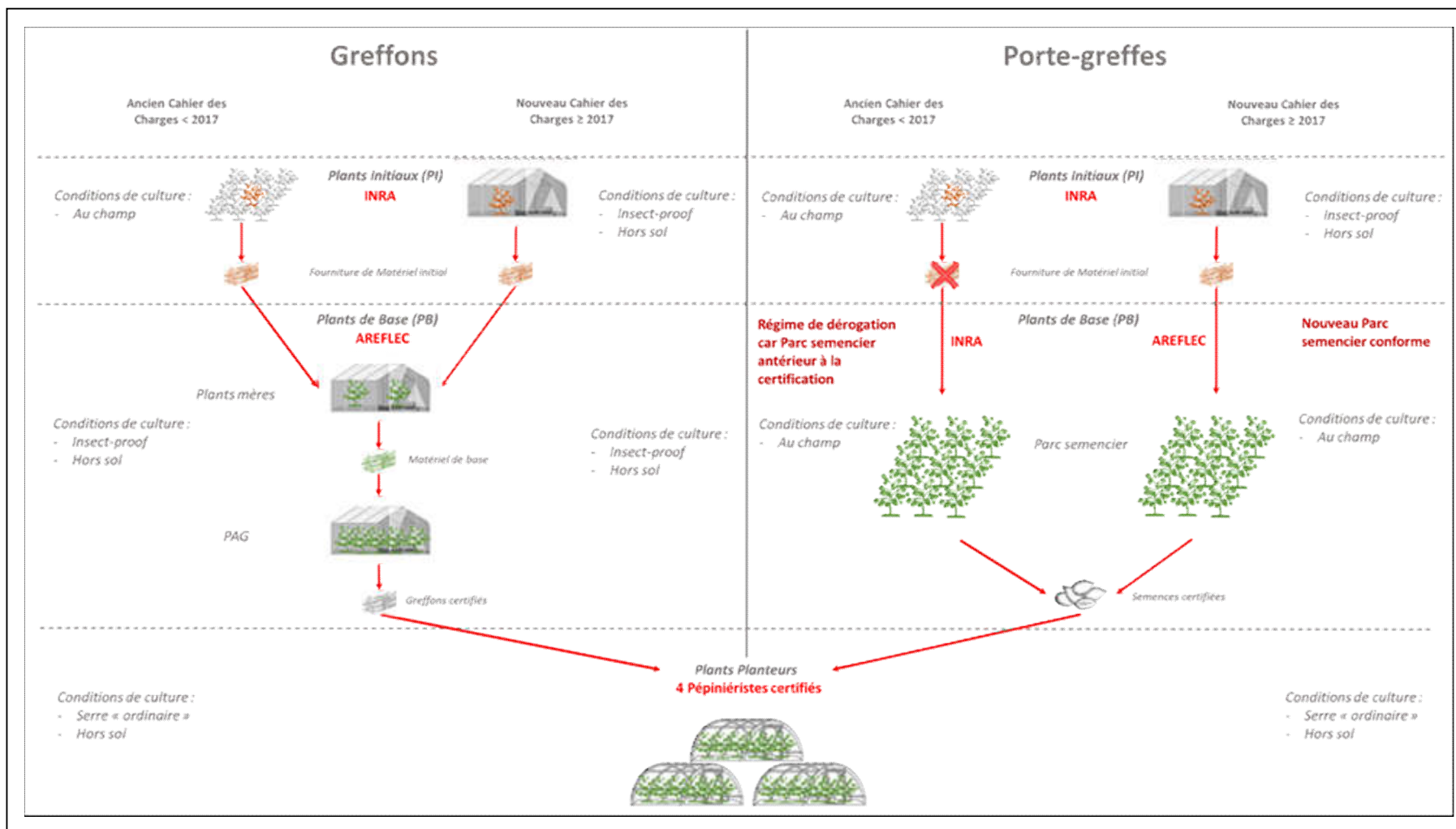


Figure 3. Schéma de production selon l'ancien et le nouveau cahier des charges de la certification fruitière

Source : E. Bloquel, INRAE, communication personnelle

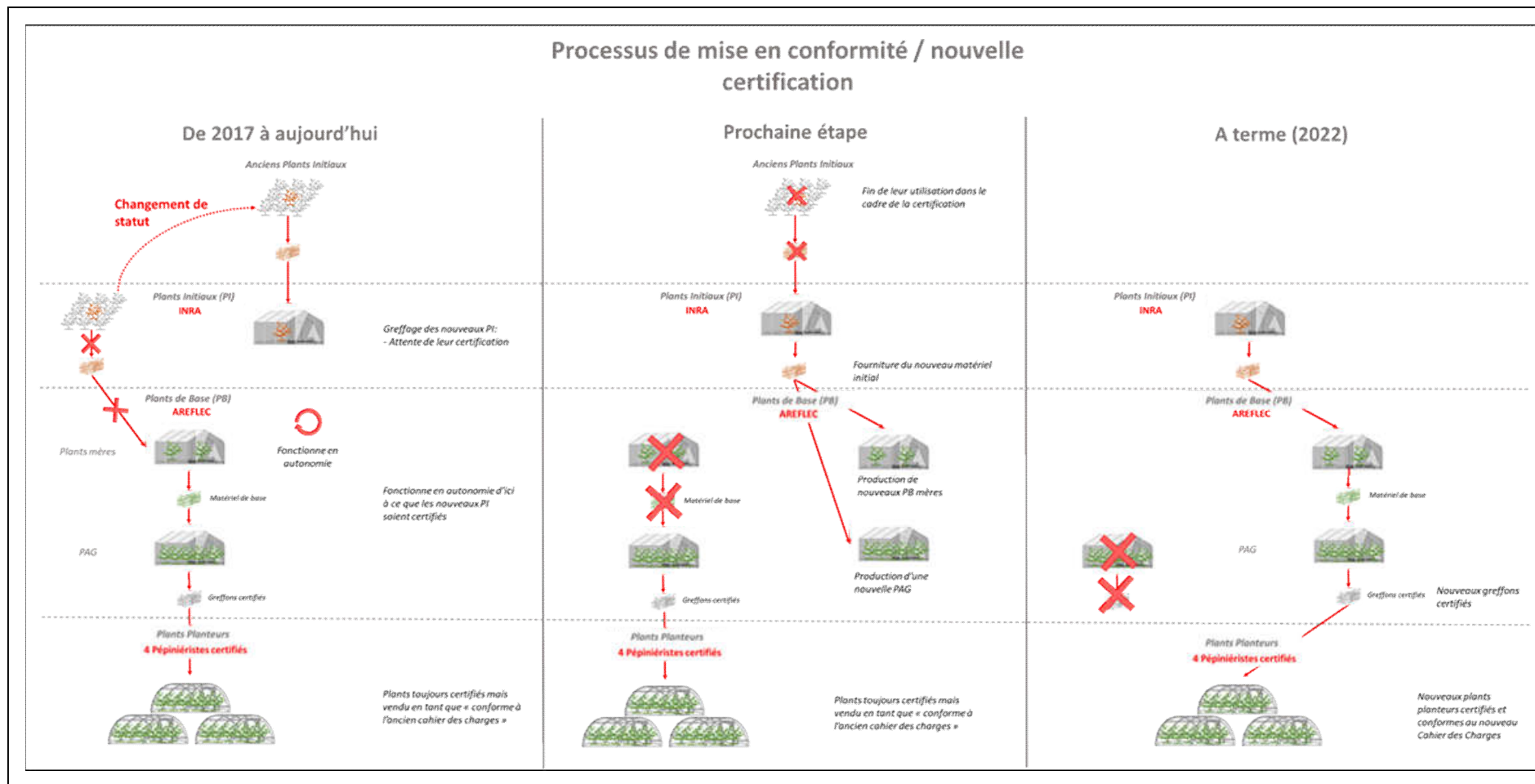


Figure 4. Présentation de la phase de transition menant le schéma de production des plants certifiés vers la nouvelle certification (entre 2017 et 2022)

Source : E. Bloquel, INRAE, communication personnelle

2.2.1.1.2 Analyse du schéma de production des plants certifiés et non certifiés d'une pépinière à activité d'export

En Corse, la proportion de matériel certifié est estimée à environ 90 à 95% des plants d'agrumes produits pour les agrumiculteurs (donc hors plants d'ornement).

Les particularités suivantes concernent le cas des Pépinières « Les Agrumes du Soleil » (Audition M.D. Cristini).

Le marché d'export des Pépinières « les Agrumes du Soleil » concerne essentiellement des plants d'ornement non certifiés et pour lesquels aucune traçabilité n'est assurée actuellement. Cependant, de manière à assurer la traçabilité du matériel végétal produit par les Pépinières « Les Agrumes du Soleil », un dispositif de certification pourrait être mis en place en Corse en un an ou deux ans pour certifier la filière des plants d'agrumes d'ornement.

La capacité de stockage des Pépinières « Les Agrumes du Soleil » en serre « insect-proof » des plants est limitée : seuls des plants en pots de 7 à 12 litres maximum peuvent être stockés en conditions protégées. Or, actuellement l'entreprise a un stock de plants greffés dont le litrage varie entre 4 litres (3 ans) et 85 litres (8 à 10 ans). La production se fait essentiellement en plein champ pour obtenir une qualité des plants et elle est impérative pour l'élevage des gros plants. Des plants destinés à l'exportation se trouvent dans des conteneurs de 85 litres.

Cela conduit à un passage au champ du matériel végétal âgé. Ce schéma de production représente donc à un moment donné une rupture de confinement vis-à-vis de *Xylella fastidiosa* et de ses insectes vecteurs.

2.2.1.1.3 Impact de la Décision d'exécution (UE) 2015/789 (DEX) sur la filière de production de plants d'agrumes

Les principaux bassins de productions de fruits d'agrumes en France sont par ordre décroissant, la Corse et Menton mais il n'existe qu'une seule zone de production de plants d'agrumes destinés aux agrumiculteurs, elle se trouve en Corse.

La DEX n'a pas d'incidence sur les mouvements d'agrumes à l'intérieur de la Corse. En revanche, la DEX rend désormais impossibles les mouvements d'agrumes de la Corse vers le continent du fait que l'ensemble de la Corse est en zone d'enrayement pour *X. fastidiosa*. Il y a donc impossibilité pour les agrumiculteurs de Menton d'acheter des plants ou des greffons depuis la Corse, ce qui a un impact pour la zone de production des Citrons de Menton. La DEX a aussi un impact sur l'activité d'un pépiniériste en Corse qui s'est investi dans l'export de plants essentiellement d'ornements (Cf. 2.2.1.1.2).

Dans le cas particulier du CRB INRAE-CIRAD, parmi les agents pathogènes de « qualité » à contrôler pour les PI dans le schéma de certification, deux agents pathogènes (responsables des maladies des agrumes *impetratura cristacortis*) ne peuvent être contrôlés que par indexage biologique. Ces analyses par indexage doivent être réalisées actuellement en Italie ou en Espagne. L'envoi de matériel végétal hors de Corse est donc impératif pour le maintien de la filière de production de plants d'agrumes certifiés et des filières IGP en Corse (Audition E. Bloquel).

L'INRAE-CIRAD qui gère le CRB, a donc démarré la mise en place d'un dispositif « insect-proof » (composé d'une dalle de béton, de deux tunnels couverts par une double bâche, et en latéral d'un voile « insect-proof »). Un des compartiments (1000 m² équipé d'un sas pour le

protéger de vecteurs potentiels) fait l'objet d'une demande d'agrément (depuis décembre 2018) pour répondre aux exigences de l'article 9.2 de la DEX (Audition E. Bloquel).

Dans ce dispositif, sont positionnés les futurs PI et des collections de variétés de *Citrus* (300 sur les 1100 accessions détenues par le CRB). Des pièges à glu ont été disposés pour le suivi notamment des pucerons (suivi notamment des cas de présence de virus de la tristeza) et de *P. spumarius*. Des contrôles officiels sont réalisés 2 fois par an dans la zone tampon de 100 mètres autour du dispositif pour vérifier l'absence de plantes hôtes contaminées par *Xylella fastidiosa*. Parallèlement, 3 cycles de contrôle ont été mis en place : 1) un cycle de contrôle du dispositif avec un plan de surveillance biologique de la serre « insect-proof », 2) un cycle de contrôle bisannuel par le SRAL et 3) un cycle de contrôle d'entrée et de sortie du matériel végétal (avec un protocole d'introduction et de transfert de matériel végétal sous « insect-proof ») (Audition E. Bloquel).

Le CRB INRAE-CIRAD sera donc en conformité avec l'article 9.2 de la DEX, et pourra donc reprendre ses exportations de matériel végétal.

Parallèlement, le pépiniériste qui a une activité d'export a fait la même demande d'agrément du dispositif « insect-proof » que celle du CRB.

2.2.2 Dispositif alternatif : présentation et analyse des risques

La Décision d'exécution (UE) 2015/789 considère la bactérie *X. fastidiosa* d'une manière générale et sans distinction des sous-espèces ou des hôtes. Le dispositif alternatif aux dispositions de l'article 9.2 a donc été étudié selon les mêmes critères.

2.2.2.1 Risques liés à *Xylella fastidiosa* lors de la production des plants d'agrumes

La graine n'est pas considérée comme un moyen de transmission de *X. fastidiosa* aux semis de *Citrus sinensis* et *Citrus limon* (EFSA 2015, §3.2.1 Identification of pathways ; la référence Cordeiro *et al.* 2014 est dans la bibliographie de EFSA, 2019). Malgré les incertitudes pouvant subsister sur ce point en raison du nombre limité d'études et portant seulement sur deux espèces, le semis d'un porte-greffe d'agrumes peut être considéré comme initialement indemne de *X. fastidiosa*.

L'infection du plant par *X. fastidiosa* peut donc résulter d'une infection :

- du porte-greffe au cours de sa culture ;
- par greffage à partir d'un greffon déjà infecté ;
- du plant greffé au cours de sa culture.

Pour éviter une infection du plant d'agrumes, il est donc recommandé de :

- Produire les porte-greffes sous installation confinée « insect-proof » afin de conserver leur caractère indemne conféré par le semis ;
- Utiliser des greffons issus directement d'arbres testés et indemnes de *X. fastidiosa* (ou issus d'une chaîne de production à partir d'arbres testés et indemnes de *X. fastidiosa* garantissant le maintien du caractère indemne des greffons produits, donc sous installation confinée « insect-proof »). Ainsi, les précautions prises et les analyses effectuées au niveau de la conservation des ressources génétiques et de la production des plants donneurs de greffons certifiés, permettent de maîtriser les risques sanitaires et notamment celui lié à *X. fastidiosa* (Legrand, 2019).

Il est également recommandé de greffer et de conserver le plant greffé sous installation confinée « insect-proof » afin de conserver le caractère indemne conféré par les deux premières précautions.

2.2.2.2 Présentation des aspects techniques du dispositif alternatif

Le dispositif alternatif aux dispositions de l'article 9 de la décision d'exécution 2015/789 (Cf. bibliographie 4.3 Législation et réglementation) qu'envisagé, peut être découpé selon les phases suivantes :

- Phase 1 : Production en plein champ
- Phase 2 : Transfert entre « plein champ » et serre de « quarantaine »
- Phase 3 : Période et dispositif « serre de quarantaine »
- Phase 4 : Transfert entre « serre de quarantaine » et serre(s) de production « insect proof »
- Phase 5 : Période et dispositif serre de production « insect proof »
- Phase 6 : Sortie du dispositif « production » « insect proof » vers les destinataires finaux

Phase 1 : Production en plein champ

En plein champ, le matériel végétal n'est pas protégé matériellement contre la transmission de *X. fastidiosa* par ses vecteurs. De ce fait, les exigences de l'article 9 - site indemne de *X. fastidiosa* et de ses vecteurs ; tout au long de la culture des végétaux, aucun vecteur ne doit avoir été trouvé sur le site – ne sont plus garanties.

Les inspections et analyses au moment du mouvement du matériel végétal à l'issue de la phase 1 ne sont pas évoquées.

Phases 2 à 6

Toutes les exigences formulées aux articles 9 à 13 de la Décision d'exécution (UE) 2015/789 (Cf. bibliographie 4.3 Législation et réglementation) pourraient et devraient être appliquées à ces différentes phases, chacune pour ce qui les concerne.

2.2.2.3 Analyse du dispositif alternatif envisagé

Le dispositif alternatif envisagé dans la demande prévoit une production en plein champ (phase 1) au cours de laquelle existe une possibilité d'infection des végétaux par *X. fastidiosa* et par ses vecteurs. En effet, *X. fastidiosa* est présente sur de nombreuses plantes, notamment du maquis corse, et ses insectes potentiellement vecteurs très largement répandus (Cf. paragraphe 2.1.2.6). De ce fait, les garanties de production en plein champ en tant que site indemne de vecteurs apparaissent donc difficiles voire impossibles à établir, à maintenir et à justifier. Les techniques d'échantillonnage pour détecter la présence des insectes vecteurs et dénombrer leurs populations reposent sur des méthodes mécaniques, passives, principalement le filet fauchoir (Chauvel *et al.*, 2015 ; Cruaud *et al.*, 2018 ; Bodino *et al.*, 2019 ; Antonatos *et al.*, 2020). En effet les espèces appartenant aux familles Aphrophoridae ou Cicadellidae ne communiquent pas à l'aide de phéromones sexuelles (Ranieri *et al.*, 2016) rendant impossible le développement de pièges attractifs, spécifiques, fondés sur l'émission de phéromones de synthèse. La méthode de récolte par filet nécessite une mise en pratique méticuleuse pour éviter les biais d'échantillonnage puis la mise en œuvre de tris et identifications (parfois moléculaires, Cruaud *et al.*, 2018) longs et fastidieux, rendant le dénombrement des populations difficile en routine (Cornara *et al.*, 2018).

Les méthodes de lutte contre ces insectes sont aussi très limitées. Les nymphes sont surtout présentes dans la végétation accompagnatrice des vergers, suggérant la pratique du désherbage pour en limiter l'abondance (Conara *et al.*, 2018) mais avec des impacts négatifs sur l'environnement (Civitello *et al.*, 2015). Des traitements insecticides existent contre les adultes avec notamment l'usage de pyréthriinoïdes comme la deltaméthrine et la lambda-cyhalothrine. Des néonicotinoïdes ont été testés (acétamipride, imidaclopride, sulfoxaflor, Dader *et al.*, 2019) mais ils sont interdits d'usage en France. En outre, ces mesures sont rendues compliquées, voire inopérantes, en raison de la grande mobilité des organismes cibles, capables de ré-infester rapidement les zones traitées (Conara *et al.*, 2018, citant King 1952), obligeant à la lutte collective à large étendue spatiale (e.g. paysage). Une approche efficace mais coûteuse et difficile à envisager à grande échelle est l'utilisation de filets de protection (Castellano *et al.*, 2019).

L'état sanitaire des végétaux ne peut donc être garanti à l'issue des phases 1 et 2 (possibilité d'infection par *X. fastidiosa* et par ses vecteurs au champ). La serre de « quarantaine » telle qu'elle est prévue dans le dispositif alternatif reçoit du matériel végétal d'état sanitaire inconnu, des plantes indemnes pouvant y côtoyer des plantes infectées par *X. fastidiosa* ou porteuses de ses vecteurs.

Le risque d'un passage au champ est donc bien d'avoir des plantes porteuses saines de *X. fastidiosa*, avec des infections très localisées uniquement au point d'inoculation par les vecteurs, non détectables par analyses moléculaires si le prélèvement ne cible pas le point d'inoculation (qui est bien sûr impossible à déterminer lors des prélèvements pour analyses). Ces plantes pourraient ultérieurement être source de contamination (via les vecteurs), et notamment après la sortie du dispositif envisagé.

Pour chacune des phases 2 à 6, les dispositions relatives au confinement des végétaux (installations, équipements, procédures) afin de les protéger de toute nouvelle infection par *X. fastidiosa* ou par ses vecteurs, et afin d'éviter toute infection croisée entre plante indemne et plante infectée, seraient nécessaires.

Un point clé est donc la maîtrise des vecteurs (*Cf. supra*) et de leur entrée dans cette serre via les mouvements de plantes ou de personnels ; le risque principal est lié aux végétaux issus de plein champ, porteurs potentiels. L'élimination de tout vecteur sous toutes ses formes (oeufs, larves etc.) et sur tout substrat est indispensable avant l'entrée dans la serre de quarantaine des végétaux produits au champ ; elle apparaît néanmoins difficile à effectuer avec des plantes entières et leur substrat.

Du fait de la possibilité d'infection latente ponctuelle des *Citrus* par les souches de *X. fastidiosa* présentes en Corse et des incertitudes liées à la détection de la bactérie (du fait de sa répartition hétérogène dans les plantes), il n'est pas possible de déterminer actuellement une durée minimum de passage en serre dite de « quarantaine » qui garantirait que tous les plants infectés aient été détectés, donc éliminés, et que les autres plants soient indemnes.

Pour la serre de production, il apparaît nécessaire d'avoir les mêmes contraintes que pour la serre de quarantaine (notamment la maîtrise de l'entrée des vecteurs) pour éviter toute possibilité d'une nouvelle infection. Il est rappelé que la quarantaine repose sur un principe de base qui est l'analyse individuelle de chaque plante, sans regroupement de différentes plantes pour la réalisation des analyses (qui est de nature à entraîner une dilution de l'organisme nuisible recherché et donc à diminuer la sensibilité des analyses de détection), et l'absence d'échantillonnage de lots pour garantir l'état sanitaire de chaque plante.

En cas de découverte d'insecte vecteur de *X. fastidiosa* pouvant être à l'origine d'une nouvelle infection, il sera nécessaire de recommencer le processus à son début après élimination de tout vecteur (durée de passage en confinement supérieure à la période de détectabilité puis analyses) pour les végétaux concernés.

Dans le cas où un insecte vecteur serait découvert en serre de production, cela constituerait une non-conformité réglementaire (non respect des points 2b et 2g de l'article 9 : site indemne de *X. fastidiosa* et de ses vecteurs ; tout au long de la culture des végétaux, aucun vecteur ne doit avoir été trouvé sur le site). Tous les végétaux en cours de production, qui deviendraient alors non-conformes, devraient être détruits.

2.2.3 Conclusions sur la pertinence technique du dispositif

Les précautions prises en amont de la chaîne de production des plants d'agrumes, au niveau de la conservation des ressources génétiques et de la production des plants donneurs de greffons certifiés, permettent de maîtriser les risques sanitaires des greffons et notamment celui lié à *X. fastidiosa* (Legrand, 2019) ainsi que la production de porte-greffes issus de graines sous confinement. Les dispositions de la Décision d'exécution (UE) 2015/789 pour la production des plants greffés sous « insect-proof » ont aussi été prises dans ce sens.

Or, le dispositif alternatif envisagé dans le cadre de la saisine prévoit une phase de production en plein champ qui introduit un risque d'infection des végétaux par *X. fastidiosa* via ses vecteurs largement répandus dans l'environnement. L'élimination des vecteurs sous toutes leurs formes avant l'entrée en serre de quarantaine constitue un point clé difficile à mettre en œuvre (Cf. 2.2.2.3). Au cours de la chaîne de production, la seule manière de maîtriser le risque, une fois les vecteurs éliminés, repose sur l'analyse individuelle de chaque plant tout en conservant les plants analysés et indemnes à l'abri de toute nouvelle infection par *X. fastidiosa* ou par ses vecteurs.

Il faut rappeler que :

- la sélection sanitaire est la base de la production des végétaux ; cette sélection doit donc intervenir tout en amont de la chaîne de production (au niveau de la production des porte-greffes et de la production des greffons), et la chaîne de production des plants greffés doit être conçue de manière à conserver l'état sanitaire initialement sélectionné du matériel végétal.
- l'alternative envisagée, outre le fait qu'elle introduit dans la chaîne de production un risque inacceptable difficilement maîtrisable dû au passage en plein champ, tant au niveau de *X. fastidiosa* que de ses vecteurs, sera certainement plus longue et plus onéreuse que l'application des dispositions de l'article 9.2 de la Décision d'exécution (UE) 2015/789.

Le GT conclut que le passage au champ du matériel végétal représente un risque inacceptable de contamination par la bactérie, du fait de l'abondance des vecteurs et des plantes infectées dans l'environnement. De plus, un matériel végétal infecté peut être un porteur sain (asymptomatique). Par ailleurs, les analyses de laboratoire peuvent donner des résultats négatifs erronés du fait d'une répartition hétérogène de la bactérie dans la plante entière, en particulier pour le complexe agrumes/souches de *X. fastidiosa* corses. Le diagnostic peut conduire alors à des faux-négatifs.

Au total, le dispositif de contrôle proposé nécessiterait un temps plus long pour libérer du matériel végétal que ce qui a pu être envisagé initialement dans la Décision d'exécution (UE) 2015/789, sans garantir l'état sanitaire de ce matériel végétal.

2.3 Détermination de l'échantillonnage du matériel végétal cultivé sous serre en condition « insect-proof » (en serre dite de « quarantaine » puis en serre de production)

Le dispositif alternatif envisagé prévoit des tests moléculaires avant la sortie des plants de la serre de production. Ceux-ci devraient alors être réalisés conformément à l'article 9.4 de la Décision d'exécution (UE) 2015/789. Cet article 9.4 indique que :

« À un moment aussi proche que possible du mouvement, les lots de végétaux spécifiés ont fait l'objet d'une inspection visuelle officielle, d'échantillonnages et de tests moléculaires effectués conformément à des méthodes d'analyse validées à l'échelon international, sur la base d'un plan d'échantillonnage permettant d'identifier, avec une fiabilité de 99 %, un taux de présence de végétaux infectés égal ou supérieur à 1 % et visant en particulier les végétaux qui présentent des symptômes suspects de présence de l'organisme spécifié, conformément à la NIMP n°31. » (NIMP n°31 : voir CIPV, 2016).

L'Annexe 2 de la NIMP 31 définit le calcul de la taille de l'échantillon pour les lots de petite taille. Un lot de petite taille est un lot dont la taille de l'échantillon fait plus de 5% de la taille du lot. Pour un plan d'échantillonnage avec une fiabilité de 99% avec un taux de présence de 1% de végétaux infectés, pour un lot de 100 plantes, l'analyse doit porter sur 99 plantes et pour un lot de 1000 plantes, l'analyse doit porter sur 368 plantes (Cf. la table complète dans la norme). Le GT recommande de suivre cette approche décrite dans la norme pour la détermination de l'échantillonnage à réaliser.

3 Conclusions du groupe de travail

La présente saisine s'inscrit dans la perspective de mise en place d'une dérogation permettant d'autoriser un opérateur à déplacer des végétaux spécifiés (végétaux ayant montré une sensibilité à *Xylella fastidiosa* dans le monde) hors de zones délimitées (zone infectée et zone tampon), ceci sans respecter l'obligation de maintenir sous protection matérielle (en conditions « insect-proof » permanentes) le site de production du végétal spécifié pendant toute la durée de culture.

Le GT a réalisé une évaluation du risque de ce dispositif alternatif et ce en répondant à trois questions.

1/ Détermination de la période de latence de *Xylella fastidiosa* après infection du matériel végétal appartenant au genre *Citrus* :

La période d'incubation de *Xylella fastidiosa* sur *Citrus* qui précède l'apparition de symptômes, pour des souches associées à la maladie dite CVC, est de durée variable ; elle a été estimée entre 169 et 1080 jours avec une incertitude élevée. La répartition hétérogène de la bactérie dans les parties aériennes de la plante complique les prélèvements pour analyses de laboratoire et réduit la probabilité de détection de la bactérie lors de cette phase. Aussi, si les plants d'agrumes corses s'avaient contaminés par les souches actuellement présentes en Corse (subsp. *multiplex* ST6 et ST7), ils constitueraient potentiellement des facteurs de dissémination de souches de *X. fastidiosa* pathogènes pour d'autres espèces végétales. Les souches de *X. fastidiosa* actuellement présentes en Corse ne sont pas pathogènes sur agrumes (ne provoquent pas la chlorose panachée des agrumes), mais il a été montré qu'elles peuvent se maintenir dans les plants après inoculation. Des plants infectés asymptomatiques pourraient donc être porteurs sains. Par ailleurs, le GT considère que la transmission de ces souches de *X. fastidiosa*, pathogènes pour d'autres espèces végétales, à partir de plants d'agrumes cultivés en Corse, par des populations d'insectes vecteurs présents dans l'environnement ne peut être exclue. Le matériel *Citrus* représenterait donc un risque de dissémination de souches pathogènes de *X. fastidiosa* pour d'autres végétaux en dehors des zones de foyers.

2/ Pertinence du dispositif alternatif à la protection matérielle permanente :

Le dispositif alternatif prévoit une phase de production en plein champ qui introduit un risque d'infection des agrumes par *X. fastidiosa* via des vecteurs présents dans l'environnement. Ce dispositif alternatif ne garantit pas un état sanitaire satisfaisant à la réglementation (taux d'infection inférieur à 1%), du fait de la possibilité d'infections au champ et des limites de la détection. Ce dispositif induirait un risque inacceptable d'avoir des plants d'agrumes porteurs sains (asymptomatiques) de *X. fastidiosa*, et pouvant être sources de contamination ultérieure d'autres végétaux. Le GT conclut que le passage au champ du matériel végétal représente un risque inacceptable d'infestation par les vecteurs de *X. fastidiosa* et de contamination par la bactérie.

3/ Détermination de l'échantillonnage à réaliser :

Le GT recommande de suivre les méthodes de calcul de la taille de l'échantillon de la NIMP31. Par ailleurs, le GT rappelle qu'au-delà de la variation statistique liée à la méthode

d'échantillonnage, des plants qui seront analysés lors de cet échantillonnage pourraient être des porteurs sains et ne pas être détectés du fait de la distribution hétérogène de la bactérie à l'échelle de la plante.

Compte tenu des éléments de réponse apportés aux trois questions portant sur la période de latence (1), le dispositif alternatif (2) et l'échantillonnage (3), le GT estime que l'alternative proposée à savoir, la culture des végétaux sous protection matérielle durant une partie seulement du cycle de production, avec une partie de culture en plein champ sans protection, présente un risque inacceptable comparé aux schémas de production sous protection matérielle permanente qui garantissent un statut de plante hôte indemne de bactérie et de vecteur. En effet, le GT estime que le dispositif dérogatoire proposé ne garantit pas une absence totale de risque de dissémination de la bactérie *X. fastidiosa*, contrairement au dispositif réglementaire actuel (y compris avec la dérogation 9.2) du fait (i) de la rupture de confinement vis-à-vis des insectes vecteurs pouvant transmettre la bactérie aux plants et (ii) de la persistance potentielle de *X. fastidiosa*, pendant plusieurs mois sans symptômes visibles (mais sans limite bien définie) dans les tissus de *Citrus*, avec des souches non pathogènes pour les agrumes mais pathogènes pour d'autres végétaux et qui seraient impossible à détecter avec certitude.

Enfin, si à l'horizon 2022, le nouveau schéma de production doit assurer à l'ensemble de la chaîne de production de plants certifiés destinés aux agrumiculteurs des conditions de culture en conditions « insect-proof », les auditions ont mis en évidence que la production de plants d'ornement n'entrait pas dans le schéma de production conforme à la certification fruitière. Le GT recommande donc que les plants d'ornement qui sont aussi destinés au marché d'exportation intègrent la filière de certification des plants d'agrumes et soient produits sous protection « insect-proof » permanente pour garantir leur traçabilité et leur état sanitaire.

Au demeurant, une forte incertitude sur l'évolution de la virulence de *X. fastidiosa* en Corse (et plus largement pour tout matériel végétal exporté) perdure puisqu'il n'est pas exclu de voir émerger des souches virulentes sur agrumes comme cela a été décrit au Brésil (risque de recombinaison entre différentes sous-espèces de *X. fastidiosa*).

Les autres incertitudes identifiées par le GT sont : i) les incertitudes liées à la capacité de la sous-espèce *multiplex* (ST6 et ST7) à persister et coloniser les végétaux de *Citrus* en provoquant ou non des symptômes de maladie (nécessité d'essais à réaliser en conditions contrôlées en intégrant la détection moléculaire de la bactérie), ii) les incertitudes sur le risque de transmission des insectes vecteurs à partir de plants de *Citrus* porteurs sains (essais à réaliser en conditions contrôlées) et iii) les incertitudes liées à la différence d'attractivité des insectes vecteurs par les plantes hôtes.

Date de validation du rapport d'expertise collective par le groupe de travail : 12 mars 2020

Date de validation du rapport d'expertise collective par le CES : 23 mars 2020

4 Bibliographie

4.1 Publications et rapports

ALMEIDA R.-P.-P., NASCIMENTO F.-E., CHAU J., PRADO S.-S., TSAI C.-W., LOPES S.-A. et LOPES J.-R.-S. (2008). Genetic structure and biology of *Xylella fastidiosa* causing disease in citrus and coffee in Brazil. *Applied and Environmental Microbiology*, 74, 3690-3701.

Anses (2017). In rapport technique périodique H2020 POnTE – partie B - Ref. Ares (2017) 4012361 du 11/08/2017.

ANTONATOS S., PAPACHRISTOS D.-P., KAPANTAIKAKI D.-E., LYTRA I.-C., VARIKOU K., EVANGELOU V.-I. et MILONAS P. (2020). Presence of Cicadomorpha in olive orchards of Greece with special reference to *Xylella fastidiosa* vectors. *Journal of Applied Entomology*, 144, 1-11.

BODINO N., CAVALIERI V., DONGIOVANNI C., PLAZIO E., SALADINI M.-A., VOLANI S., SIMONETTO A., FUMAROLA G., Di CAROLO M., PORCELLI F., GILIOLI G. et BOSCO D. (2019). Phenology, seasonal abundance and stage-structure of spittlebug (Hemiptera: Aphrophoridae) populations in olive groves in Italy. *Scientific reports*, 9(1), 1-17.

CASTELLANO S., Di PALMA A., GERMINARA G.-S., LIPPOLIS M., STARACE G. et SCARASCIA-MUGNOZZA G. (2019). Experimental Nets for a Protection System against the Vectors of *Xylella fastidiosa* Wells *et al.* *Agriculture*, 9(2), 32.

CAVALIERI V., CORNARA D., DONGIOVANNI C., ALTAMURA G., BOSCIA D., PORCELLI F., BOSCO D. et SAPONARI M. (2016). Transmission of *Xylella fastidiosa* to different host plants by naturally infected *Philaenus spumarius*. 22th Congress of the Italian Society of Plant Pathology, 19-22 September 2016, Roma (Italy)

CHAUVEL G., CRUAUD A., LEGENDRE B., GERMAIN J.-F. et RASPLUS J.-Y. (2015). Mission d'expertise sur *Xylella fastidiosa* en Corse. 145 pp.

CORNARA D., CAVALIERI V., DONGIOVANNI C., ALTAMURA G., PALMISANO F., BOSCO D., PORCELLI F., ALMEIDA R.-P.-P. et SAPONARI M. (2017) Transmission of *Xylella fastidiosa* by naturally infected *Philaenus spumarius* (Hemiptera, Aphrophoridae) to different host plants. *Journal of Applied Entomology*, 141, 80-87.

CORNARA D., BOSCO D. et FERERES A. (2018). *Philaenus spumarius*: when an old acquaintance becomes a new threat to European agriculture. *Journal of pest science*, 91(3), 957-972.

CRUAUD A., GONZALEZ A.-A., GODEFROID M., NIDELET S., STREITO J.-C., THUILLIER J.-M., ROSSI J.-P., SANTONI S. et RASPLUS J.-Y. (2018). Using insects to detect, monitor and predict the distribution of *Xylella fastidiosa*: a case study in Corsica. *Scientific reports* 8, 15628.

DÁDER, B., VIÑUELA, E., MORENO, A., PLAZA, M., GARZO, E., del ESTAL, P., & FERERES, A. (2019). Sulfoxaflor and Natural Pyrethrin with Piperonyl Butoxide Are Effective Alternatives to Neonicotinoids against Juveniles of *Philaenus spumarius*, the European Vector of *Xylella fastidiosa*. *Insects*, 10(8), 225.

EFSA (2015). Scientific Opinion on the risk to plant health posed by *Xylella fastidiosa* in the EU territory, with the identification and evaluation of risk reduction options. *EFSA Journal* (2015), 13(1). doi: 10.2903/j.efsa.2015.3989

EFSA (2016). Maria Saponari, Donato Boscia, Giuseppe Altamura, Giusy D'Attoma, Vincenzo Cavaliere, Stefania Zicca, Massimiliano Morelli, Danilo Tavano. Pilot project on *Xylella fastidiosa* to reduce risk assessment uncertainties. *EFSA Journal* (2016). doi.org/10.2903/sp.efsa.2016.EN-1013

EFSA (2018). Updated pest categorization of *Xylella fastidiosa*. *EFSA Journal* (2018), 16(7). doi: [10.2903/j.efsa.2018.5357](https://doi.org/10.2903/j.efsa.2018.5357)

EFSA (2019). Update of the Scientific Opinion on the risks to plant health posed by *Xylella fastidiosa* in the EU territory. *EFSA Journal* 2019, 17(5), 5665. doi: 10.2903/j.efsa.2019.5665

GERMAIN J.-F. (2016). Les insectes vecteurs potentiels de *Xylella fastidiosa* en France métropolitaine. AFPP – 4^{ème} Conférence sur l'entretien des jardins, espaces végétalisés et infrastructures. Toulouse – 19 et 20 octobre 2016, 118-124.

HARPER S.-J., WARD L.-I. et CLOVER G.-R.-G. (2010). Development of LAMP and real-time PCR methods for the rapid detection of *Xylella fastidiosa* for quarantine and field applications. *Phytopathology*, 100, 1282-1288.

JACQUES M.-A., DENANCÉ N., LEGENDRE B., MOREL E., BRIAND M., MISSISSIPI S., DURAN K., OLIVIER V., PORTIER P., POLIAKOFF F. et CROUZILLAT D. (2016). New coffee plant-infecting *Xylella fastidiosa* variants derived via homologous recombination. *Applied and Environmental Microbiology*, 82(5), 1556–1568. doi: [10.1128/AEM.03299-15](https://doi.org/10.1128/AEM.03299-15)

LEGENDRE B., MOLUSSON D., JUTEAU V., SAINTE-LUCE A., OLIVIER V. et POLIAKOFF F. (2016). Host plants colonization by *Xylella fastidiosa* WP2. PONTE meeting, Madrid, 12-13 December 2016.

LEGRAND P. (2019). Phytosanitary management of *Citrus* germplasm in France. *Bulletin OEPP/EPPO Bulletin* (2019), 49(1), 83–86.

LEGRAND P. et CALADO G. (2014). Compte rendu de mission au Portugal du 23 au 27 juin 2014, document interne Anses. 5 pp.

LINDOW S. (2019). Advances in molecular and ecological studies for the control of *Xylella fastidiosa*. 2nd European conference on *Xylella fastidiosa*. Ajaccio, 29th – 30th October 2019.

NUNES L.-R., ROSATO Y.-B., MUTO N.-H., YANAI G.-M., da SILVA V.-S., LEITE D.-B., GONCALVES E.-R., de SOUZA A.-A., COLETTA-FILHO H.-D., MACHADO M.-A., LOPES S.-A. et de OLIVEIRA R.-C. (2003). Microarray analyses of *Xylella fastidiosa* provide evidence of coordinated transcription control of laterally transferred elements. *Genome Research*, 13, 570-578.

NUNNEY L., YUAN X., BROMLEY R.-E. et STOUTHAMER R. (2012). Detecting genetic introgression: high levels of intersubspecific recombination found in *Xylella fastidiosa* in Brazil. *Applied and Environmental Microbiology*, 78, 4702-4714.

OLIVEIRA A.-C., VALLIM M.-A., SEMIGHINI C.-P., ARAÚJO W.-L., GOLDMAN G.-H. et MACHADO, M.-A. (2002). Quantification of *Xylella fastidiosa* from citrus trees by real-time polymerase chain reaction assay. *Phytopathology*, 92, 1048-1054.

POnTE partners. (2017) Rapport technique périodique H2020 du projet POnTE 635646 – partie B - Ref. Ares (2017) 4012361 du 11/08/2017.

ROBERTO S.-R., COUTINHO A., DE LIMA J.-E.-O., MIRANDA V.-S. et CARLOS E.-F. (1996). Transmission of *Xylella fastidiosa* by the leafhoppers *Dilobopterus costalimai*, *Acrogonia terminalis* and *Oncometopia facialis* in citrus. *Fitopatologia Brasileira*, 21(4), 517-518.

4.2 Normes

CIPV, 2016. NORMES INTERNATIONALES POUR LES MESURES PHYTOSANITAIRES. NIMP 31 : Méthodes d'échantillonnage des envois. Convention internationale pour la protection des végétaux, 26 p. <https://www.ippc.int/en/publications/588/>

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

IPPC, 2019. Guide for Establishing and Maintaining Pest Free Areas. Understanding the principal requirements for pest free areas, pest free places of production, pest free production sites and areas of low pest prevalence. FAO/IPPC, juin 2019, 128 p. <http://www.fao.org/documents/card/en/c/ca5844en>

4.3 Législation et réglementation

DÉCISION D'EXÉCUTION (UE) 2018/1511 DE LA COMMISSION du 9 octobre 2018 modifiant la décision d'exécution (UE) 2015/789 relative à des mesures visant à éviter l'introduction et la propagation dans l'Union de *Xylella fastidiosa* (Wells et al.) » (version du 11.10.2018)


ANNEXES

Annexe 1 : Lettre de la saisine

A19DGDRR 0492

COURRIER ARRIVE
15 MARS 2019
DIRECTION GENERALE

2019-SA-0050



MINISTÈRE DE L'AGRICULTURE ET DE L'ALIMENTATION

Direction générale de l'alimentation Service des actions sanitaires en production primaire Sous-direction de la qualité, de la santé et de la protection des végétaux Bureau de la santé des végétaux 251 rue de Vaugirard 75352 Paris cedex 15	Le Directeur Général de l'Alimentation à Monsieur le Directeur Général de l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail 14 rue Pierre et Marie Curie 94701 Maisons-Alfort cedex
--	---

Dossier suivi par : Saoussen Joudar
Mail : bsv.sdqspv.dgal@agriculture.gouv.fr
Tel : 01 49 55 81 48

Réf. interne : BSV/2019- 03 / 0 12 Paris, le 13 Mars 2019

Objet : Demande d'avis de l'Anses sur la période de latence de *Xylella fastidiosa* sur le genre *Citrus*.

Conformément à l'article L.1313-3 du code de la santé publique, j'ai l'honneur de solliciter l'avis de l'Agence nationale de sécurité sanitaire, de l'alimentation de l'environnement et du travail concernant l'évaluation de la période de latence de *Xylella fastidiosa* sur des espèces du genre *Citrus*, qui présentent un enjeu majeur en Corse.

Éléments de contexte et données utiles

1. Situation en France

La bactérie *Xylella fastidiosa*, sous-espèce *multplex*, a été identifiée pour la première fois en France en 2015. Aujourd'hui, elle est établie dans certaines communes du littoral méditerranéen de la région Provence-Alpes-Côte d'Azur et dans la région Corse, pour laquelle une stratégie d'enrayement est en place depuis janvier 2018.

2. Réglementation en vigueur et conséquences sur les déplacements de végétaux dans l'UE

La décision d'exécution 2015/789/UE modifiée précise les dispositions visant à empêcher d'autres introductions ainsi que sa propagation dans l'UE.

Conformément à l'article 9.1 de cette décision, les mouvements de végétaux spécifiés¹ en dehors des

¹ La liste des espèces spécifiées est précisée en annexe I de la décision d'exécution 2015/789/UE

zones délimitées², sont interdits. Par dérogation, l'article 9.2 définit des conditions permettant à l'autorité compétente d'autoriser un opérateur à déplacer des végétaux spécifiés hors de zones délimitées. Parmi ces dispositions, l'obligation de maintenir sous protection matérielle (en conditions « insect-proof » permanentes) le site de production du végétal spécifié pendant toute la durée de culture pose de réelles difficultés de mise en œuvre. De ce fait, aucune dérogation n'a été délivrée, à ce jour, en France. Cela se traduit notamment par des pertes de marchés et des baisses du chiffre d'affaires chez les professionnels concernés pouvant aller jusqu'à 50 %.

3. Alternative aux dispositions de l'article 9.2 pour la délivrance d'une dérogation au mouvement des végétaux spécifiés

Une alternative permettant de lever les difficultés de mise en œuvre des dispositions de l'article 9.2 tout en présentant un niveau de garantie sanitaire équivalent pourrait être de considérer la culture des végétaux sous protection matérielle durant une partie seulement du cycle de production. Le dispositif correspondant reposerait alors sur la succession de deux périodes :

- Une période de production du matériel végétal en plein champ ;
- Une période de production sous protection matérielle, comportant elle-même 2 périodes. La première période se déroule dans une serre protégée matériellement dite de « quarantaine ». La seconde partie se déroule dans une serre de production, également en conditions « insect-proof ». La durée de passage en serre de « quarantaine » doit être supérieure ou égale à la période de latence de la bactérie dans l'espèce hôte, celle-ci étant sans doute fonction de la sous-espèce, du « *sequence type* » ou de la souche considérée, mais aussi de la variété de *Citrus* considérée et de ses conditions de culture.

➤ Serre dite « de quarantaine »

Les *Citrus* arrivés au stade de développement phénologique recherché par le producteur sont conduits vers la première installation dite de « quarantaine ». Celle-ci offre une première protection matérielle, renforcée par des traitements phytosanitaires et une surveillance vectorielle. Durant cette période, les végétaux font l'objet d'échantillonnages et de tests moléculaires effectués conformément aux méthodes d'analyse validées à l'échelon international. Si à l'issue de cette période dite « de quarantaine », aucun résultat positif d'analyses n'a été observé, le lot de *Citrus* est déclaré indemne de *Xylella fastidiosa*.

➤ Serre de production

Le lot de matériel végétal déclaré indemne est transporté sous protection matérielle jusqu'à la serre de production pour poursuivre son parcours cultural avant sa commercialisation. Des tests moléculaires seront ensuite effectués avant la sortie des plants, conformément à l'article 9.4.

Questions posées

Je vous saurais gré de bien vouloir examiner les questions suivantes :

- Détermination de la période de latence de *Xylella fastidiosa* après infection du matériel végétal appartenant au genre *Citrus* par un insecte vecteur, pour toute sous-espèce, *sequence type* ou souche connue et décrite à ce jour, pour les variétés d'agrumes et dans les conditions de culture correspondant à celles pratiquées en Haute-Corse.
- Pertinence du dispositif alternatif à la protection matérielle permanente prenant en compte

² La définition d'une zone délimitée est précisée à l'article 4 de la décision d'exécution 2015/789/UE

une production sous serre dite de « quarantaine » durant la période de latence comme définie précédemment, pour la culture d'agrumes.

- Détermination de l'échantillonnage à réaliser en serre de quarantaine puis en serre de production pour apporter un niveau de garantie sanitaire équivalent à celui prévu par les dispositions de l'article 9.2 de la décision européenne de 2015.

Le livrable attendu est un avis scientifique et technique sur les questions posées.

Délai justifié

Je souhaiterais pouvoir disposer de votre avis dans un délai de six mois à compter de la date de réception de ce courrier.

Destinataires pour la réponse mail

Bureau de la santé des végétaux (bsv.sdqspv.dgal@agriculture.gouv.fr),

Saoussen Joudar (saoussen.joudar@agriculture.gouv.fr),

Bureau de l'évaluation scientifique, de la recherche et des laboratoires (saisines-anses.dgal@agriculture.gouv.fr).

Mes services se tiennent à votre disposition pour vous apporter toute information complémentaire.

Je vous remercie de bien vouloir m'accuser réception de la présente demande.

Notes



Agence nationale de sécurité sanitaire
de l'alimentation, de l'environnement et du travail
14 rue Pierre et Marie Curie
F94701 Maisons-Alfort cedex
www.anses.fr
[@Anses_fr](https://twitter.com/Anses_fr)