

# Prophylaxie des outils d'élagage phase n°3 : étude du transfert de la charge microbologique sur une plaie de taille.

## Résumé

Cette étude vise à étudier le transfert de la charge microbologique provenant des outils d'élagage sur les plaies de taille. Les résultats ont mis en évidence que les outils mécaniques et manuels avaient des profils opposés, les premiers privilégiant la flore bactérienne là où les seconds favorisent la charge fongique. Par ailleurs, le protocole de pulvérisation permet de réduire drastiquement la charge fongique et bactérienne. Cette réduction effective à une incidence directe puisque le fait de désinfecter un outil permet de réduire le dépôt sur une plaie de taille par un facteur 10. Il est donc impératif de poursuivre les efforts déjà entrepris pour préserver la santé du patrimoine arboricole urbain.

**Mots clés** : Prophylaxie ; élagage ; charge microbologique ; transfert.

## Introduction

Dans la plupart des publications sur les bonnes pratiques de taille, les recommandations se concentrent sur les méthodes à employer pour réaliser les coupes. Sujet largement abordé par le milieu arboricole, une large gamme de thématiques est ainsi couverte avec des exemples de considérations comme la biomécanique (Smiley and Kane, 2006; Pavlis *et al.*, 2008), l'adaptation de la technique en fonction de l'environnement (Holewinski, Orr and Gillon, 1983), la formation sur la technique (Harris, 1975; Hensley, 1979; Bell, 1980; French and Appleton, 2001), les techniques de taille sanitaire (Svihra, 1994) ou encore la cicatrisation après opération (Neely, 1991).

Cependant, le sujet de la prophylaxie sur les opérations de taille est plus rarement abordé. Quand ce dernier l'est, il s'agit le plus souvent de cas de figure très spécifiques comme les études sur la transmission du feu bactérien pour pommiers et poiriers (Kleinhempel *et al.*, 1987; Lecomte, 1990; Teviotdale, Wiley and Harper, 1991; Hasler, Vogelsanger and Schoch, 1996), le

potyvirus sur la tomate (Wintermantel, 2011) ou la probactérie *Xanthomonas campestris* sur la vigne (Naue *et al.*, 2014).

Cette étude a pour but de combler ce déficit en s'intéressant aux outils de coupe et aux charges microbiologiques qu'ils transportent. Après avoir éprouvé un certain nombre de protocoles à travers les phases n°1 et n°2 cette troisième et ultime phase va nous permettre d'estimer les dépôts qui sont réalisés par une opération de coupe.

## Matériels & Méthodes

### *Supports d'étude*

Outil emblématique de l'activité arboricole, la tronçonneuse est une mécanique complexe dont le fonctionnement naturel, en particulier celui de la lubrification de ces différents éléments, est favorable au développement des micro-organismes. En conditions normales d'utilisation, cette dernière va favoriser, avec la chaleur générée, l'huile et la sciure, des amalgames complexes et difficiles à traiter qui sont de véritables incubateurs microbiologiques.

En parallèle, nous avons choisi d'y opposer un outil de taille simple : la scie d'élagage. Cet outil à main présente une lame fixe et dentelée. Cette dernière caractéristique est généralement la cause d'une accumulation de matière au niveau de la lame. Dans la plupart des cas de figure, il est courant que les opérateurs brossent cette partie de la lame afin d'y dégager les fragments végétaux et récupérer ainsi du pouvoir de coupe. Ici nous apporterons le même soin avec l'objectif supplémentaire de maximiser les opérations de désinfection.

Pour analyser cette faune commensale à l'activité d'élagage, nous avons demandé à nos équipes de nous fournir leurs outils de travail. Ces derniers devaient remplir deux conditions. La première était que les outils devaient avoir servis dans la journée afin d'être exposés aux différents contaminants d'une intervention typique. La seconde était que ces outils ne devaient avoir subi aucune opération de désinfection afin de nous restituer cette charge microbiologique collectée intacte pour analyse.

## *Traitements réalisés*

Cette étude vise à mettre en évidence l'importance des opérations de désinfection préalables à la taille des sujets dans les opérations d'élagage. Pour ce faire nous allons donc opposer des témoins aux traitements par pulvérisation classiquement effectués de façon routinière par nos équipes. Ces derniers seront constitués des outils « dans leur jus ».

Le produit utilisé dans cette étude, le pistolet pulvérisateur Kontakt<sup>®</sup>, est le produit en dotation régulière de nos équipes d'élagage. Ce produit comporte notamment des propriétés bactéricides, fongicides et virucides. L'ensemble des opérations mentionnées se font au-dessus d'un bac de récupération afin d'avoir la maîtrise des effluents de désinfection des outils.

Pour les tronçonneuses, le processus fait intervenir deux opérateurs. Le premier met en route l'engin afin que le second puisse faire, à l'aide du pistolet de désinfection, une pulvérisation des deux côtés du guide sur un outil « chaîne roulante ». Le premier opérateur procède ensuite à une accélération de la machine afin d'éliminer un maximum de produit par effet centrifuge avec le mouvement de la chaîne.

Pour la scie à main, l'outil sera débarrassé de la matière végétale éventuellement coincée dans les dents de la lame avant d'être pulvérisé des deux côtés de la lame.

Enfin, une tronçonneuse sera spécialement affectée aux procédures de recoupe des rondelles. Cette dernière fera l'objet d'une procédure de pulvérisation, brossage vigoureux et re-pulvérisation afin de « rincer » les effluents dans le bac. Cette procédure, logistiquement lourde, est notamment mise en place sur les chantiers les plus sensibles. Évaluée en phase n°1, cette dernière nous permet d'obtenir des conditions de quasi-asepsie. Ce dernier traitement ne sera pas réévalué dans cette étude.

## *Méthode de prélèvement écologique*

Les prélèvements faits sur les outils ont été réalisés en interne et analysés par un laboratoire indépendant accrédité de la société Eurofins. Pour effectuer ces prélèvements, et conformément à leurs recommandations, nous avons procédé en suivant le protocole (Cf. **Erreur! Source du renvoi introuvable.**) ainsi qu'en utilisant le matériel de prélèvement fourni. A l'aide d'un écouvillon ATL stérile immergé dans une solution de sels de Tryptone et d'un neutralisant, nous avons effectué une collecte des organismes sur une surface

totale de 25 cm<sup>2</sup>. Nous avons procédé à deux passages en quinconces perpendiculaires en faisant tourner délicatement les écouillons pour bien jouer sur l'ensemble de leur surface de prélèvement.

Pour quantifier les dépôts microbiologiques des outils d'élagage sur les plaies de taille nous avons, après délibération avec le laboratoire indépendant Eurofins, décidé de procéder à la découpe de deux rondelles par essai. Dans un premier temps une première coupe est effectuée avec l'outil testé. La rondelle est ensuite détachée avec la tronçonneuse réservée et faisant l'objet des procédures de désinfection les plus poussées mentionnées plus haut.

Cette première rondelle est conditionnée en sachet stérile et conservée au frais en attendant son expédition. Ce premier échantillon contient deux types de charge microbiologique, la première est la charge microbiologique naturelle présent sur l'arbre au niveau de l'écorce et dans son bois ; la seconde est la charge microbiologique déposée par l'outil de coupe. Afin de pouvoir déterminer ce qui a été déposé, il est indispensable d'avoir une estimation du microbiote de base. Pour cela il nous est nécessaire de procéder à une deuxième coupe. Ainsi, dans un second temps une deuxième rondelle est prélevée à l'aide de la tronçonneuse réservée. Cette rondelle ne présente quant à elle que la charge microbiologique naturelle et constitue donc notre témoin. Entre chaque découpe, la tronçonneuse réservée subit une opération avancée de désinfection.

Chaque dénombrement sera effectué en tripliqua (Cf. Tableau 1).

Type de prélèvement	Tronçonneuse		Scie		Total
	Sans désinfection	Avec désinfection	Sans désinfection	Avec désinfection	
Prélèvements de la flore outil par écouvillonnage	3	3	3	3	12
Prélèvement d'une rondelle pour estimation du dépôt microbiologique	3	3	3	3	12
Prélèvement d'une rondelle pour estimation du microbiote naturel	3	3	3	3	12
<b>Total des échantillons</b>					<b>36</b>

*Tableau 1 : Tableau récapitulatif des échantillons prélevés nécessaires à l'étude.*

Les 36 échantillons ainsi prélevés ont été consciencieusement conditionnés pour le transport et expédiés le jour même dans un colis réfrigéré puis perçus dans les 48h par le laboratoire d'analyse afin de garantir la meilleure fraîcheur possible.

### *Dénombrement*

A réception des échantillons, le laboratoire Eurofins procède à un prélèvement par écouvillonnage sur les deux faces de chaque rondelle. Par la suite, le dénombrement bactérien et fongique met en place le même protocole.

Une série de dilutions successives est effectuée pour chaque échantillon à partir de la solution mère issue du prélèvement. La solution mère et chacune de ses dilutions filles sont ensuite étalées sur une gélose, non sélective pour la quantification bactérienne, sélective pour la quantification fongique. Les boîtes de pétri ainsiensemencées sont mises à incubation à une température de 22°C pour une durée de 3 jours dans le cas des quantifications bactériennes contre 5-7 jours pour les quantifications fongiques.

A l'issue de cette incubation, les « *Unités Formants Colonies* » (U.F.C.) sont comptabilisées dans les boîtes les plus représentatives. La charge initiale est obtenue en multipliant le résultat de ce dénombrement par le facteur de dilution.

### *Définition du % de transfert*

Aux profils bactériens et fongiques des rondelles provenant des découpes avec les différents outils aux différents niveaux de désinfection seront retranchées les flores basales correspondantes. La valeur obtenue correspond au dépôt de l'outil pendant le processus de coupe. Cette valeur sera rapportée à la charge microbiologique de l'outil sans désinfection donnant le % de transfert. Ce nombre exprime donc la part de la charge microbiologique déposée par rapport à la charge naturelle de chaque outil considéré.

## Résultats & Discussion

Les résultats de l'étude sont présentés dans le Tableau 2. Les résultats ont été discutés avec la société Eurofins afin de valider les « outliers »,

présentés en rouge dans le tableau. Ces résultats anormaux sont relativement minoritaires (3 sur 72 soit  $\approx 4\%$ ). La validation de ces résultats nous a permis l'obtention du Tableau 3 récapitulant les données.

### *Validation du processus de désinfection*

Dans un premier temps, les prélèvements effectués directement sur les outils confirment les résultats des phases précédentes sur l'importance des opérations de désinfection. En effet, avec une action bactéricide allant de 66,5% à 84,34% d'une part et une action fongicide allant de 87,22% à 98,92% d'autre part, le protocole standard permet déjà d'obtenir une très bonne réduction de la charge microbiologique.

Ces résultats sont tout à fait cohérents avec les niveaux de désinfection observés en phase n°1 (73% de la charge bactérienne et 98% de la charge fongique) et en phase n°2 (97,98% de la charge bactérienne et 98,67% de la charge fongique). On remarquera toutefois une grande disparité dans les résultats. Cette observation est probablement dû au fait que certains outils étaient plus sales que d'autres. Comme évoqué précédemment, l'amalgame de sciure et de divers fluides, naturels ou non, favorise la création de bastions microbiologiques dont il est difficile de se débarrasser. Nous pouvons donc émettre l'hypothèse que l'application régulière et consciencieuse d'un protocole de désinfection, même simple, limitera la formation de tels amalgames et devrait permettre d'avoir des charges microbiologiques plus restreintes.

### *Comparaison des flores sur les outils*

La comparaison des profils microbiologiques moyens des outils révèle une différence fondamentale entre les outils à main et les outils mécaniques complexes. Caractérisée par une charge bactérienne plus élevée que sa charge fongique la tronçonneuse présente en effet un profil inverse aux outils manuels. Une hypothèse pouvant expliquer cette différence réside dans le fonctionnement même de ces outils. Considérant le principe de fonctionnement, déjà largement abordé au cours de cette série d'étude, le mécanisme de lubrification de l'appareil et l'amalgame de l'huile et de la sciure crée un environnement microbiologiquement favorable. Ainsi, de telles conditions favoriseront généralement les populations bactériennes, certes généralement plus fragiles mais aussi avec un taux de croissance plus rapide.

En plus d'être cohérents avec les résultats obtenus en phase n°1 et n°2, cette observation semble donc logique.

Par opposition, la simplicité de l'outil manuel par rapport à l'outil mécanique et son absence de lubrification crée des conditions plus difficiles. Exposée davantage aux fluctuations des conditions climatiques comme l'humidité ou le vent par exemple, la charge microbologique présente sur ces outils va privilégier les formes de vie les plus résistantes. Or, les souches fongiques forment des structures de repos particulièrement stables telles qu'elles peuvent être observées chez *Sclerotinia sclerotiorum* (Bolton, Thomma and Nelson, 2006) par exemple.

N°	Id	Outil	Désinfection	Type de charge microbologique	Surface (cm <sup>2</sup> )	Bactéries Totales	Bactéries.cm <sup>-2</sup>	Moisissures Totales	Moisissures.cm <sup>-2</sup>
1	T.t.O.1	Tronçonneuse	Sans	Outil	25	1200000	48000,00	21000	840,00
2	T.t.O.2	Tronçonneuse	Sans	Outil	25	590000	23600,00	4400	176,00
3	T.t.O.3	Tronçonneuse	Sans	Outil	25	200000	8000,00	2300	92,00
4	K.t.O.1	Tronçonneuse	Avec	Outil	25	580000	23200,00	1700	68,00
5	K.t.O.2	Tronçonneuse	Avec	Outil	25	84000	3360,00	640	25,60
6	K.t.O.3	Tronçonneuse	Avec	Outil	25	2700	108,00	1200	48,00
7	T.t.D.1	Tronçonneuse	Sans	Dépôt	3,71	8200	2211,98	560	151,06
8	T.t.D.2	Tronçonneuse	Sans	Dépôt	3,71	4200	1132,97	1400	377,66
9	T.t.D.3	Tronçonneuse	Sans	Dépôt	3,83	760	198,29	240	62,62
10	K.t.D.1	Tronçonneuse	Avec	Dépôt	3,61	110000	30447,03	240	66,43
11	K.t.D.2	Tronçonneuse	Avec	Dépôt	4,08	7400	1811,92	360	88,15
12	K.t.D.3	Tronçonneuse	Avec	Dépôt	4,05	19000	4688,29	680	167,79
13	T.t.B.1	Tronçonneuse	Poussée	Naturelle	3,61	11000	3044,70	1100	304,47
14	T.t.B.2	Tronçonneuse	Poussée	Naturelle	3,58	3200	893,50	40	11,17
15	T.t.B.3	Tronçonneuse	Poussée	Naturelle	3,74	960	256,79	400	106,99
16	K.t.B.1	Tronçonneuse	Poussée	Naturelle	3,64	1800	493,93	200	54,88
17	K.t.B.2	Tronçonneuse	Poussée	Naturelle	3,93	3500	891,27	640	162,97
18	K.t.B.3	Tronçonneuse	Poussée	Naturelle	3,90	2400	616,08	160	41,07
19	T.s.O.1	Scie	Sans	Outil	25	54000	2160,00	960	38,40
20	T.s.O.2	Scie	Sans	Outil	25	270000	10800,00	400000	16000,00
21	T.s.O.3	Scie	Sans	Outil	25	300000	12000,00	17000	680,00
22	K.s.O.1	Scie	Avec	Outil	25	4500	180,00	1400	56,00
23	K.s.O.2	Scie	Avec	Outil	25	2200	88,00	1900	76,00
24	K.s.O.3	Scie	Avec	Outil	25	91000	3640,00	1200	48,00
25	T.s.D.1	Scie	Sans	Dépôt	3,30	3700	1121,66	240	72,76

26	T.s.D.2	Scie	Sans	Dépôt	3,20	8800	2746,20	6400	1997,24
27	T.s.D.3	Scie	Sans	Dépôt	3,02	8000	2652,58	200	66,31
28	K.s.D.1	Scie	Avec	Dépôt	2,98	2600	871,16	40	13,40
29	K.s.D.2	Scie	Avec	Dépôt	3,05	2100	689,12	200	65,63
30	K.s.D.3	Scie	Avec	Dépôt	3,08	9300	3020,70	120	38,98
31	T.s.B.1	Scie	Poussée	Naturelle	3,20	4100	1279,48	320	99,86
32	T.s.B.2	Scie	Poussée	Naturelle	3,27	1800	550,92	200	61,21
33	T.s.B.3	Scie	Poussée	Naturelle	3,27	5500	1683,37	480	146,91
34	K.s.B.1	Scie	Poussée	Naturelle	2,98	8200	2747,52	40	13,40
35	K.s.B.2	Scie	Poussée	Naturelle	3,02	33000	10941,90	400	132,63
36	K.s.B.3	Scie	Poussée	Naturelle	3,14	8900	2832,96	800	254,65

Tableau 2 : Résultats des dénombrements fongiques et bactériens issus des prélèvements effectués. Les valeurs en rouges sont des outliers et ne sont pas prise en compte dans les calculs.

<b>Bactérien</b>					
	Outil	% Désinfection	Flore Basale	Rondelle	%Transfert
Tronçonneuse sale	26533,33	66,50%	1390,05	1181,08	-0,79%
Tronçonneuse propre	8889,33			3250,10	7,01%
Scie sale	8320,00	84,34%	1390,05	2173,48	9,42%
Scie propre	1302,67			1526,99	1,65%
<b>Fongique</b>					
	Outil	% Désinfection	Flore Basale	Rondelle	%Transfert
Tronçonneuse sale	369,33	87,22%	98,71	197,11	26,64%
Tronçonneuse propre	47,20			107,46	2,37%
Scie sale	5572,80	98,92%	98,71	712,10	11,01%
Scie propre	60,00			39,34	-1,07%(0%)

Tableau 3 : Tableau de synthèse présentant les divers résultats obtenus au cours de l'étude.

### *Définir le microbiote du matériel végétal*

Les plantes offrent une multitude de niches pour la croissance et la prolifération d'une diversité de micro-organismes avec lesquels elles vivent en symbiose (Terhonen *et al.*, 2019; Srivastava, Kashyap and Srivastava, 2020; Trivedi *et al.*, 2020; Carvalhais and Dennis, 2021). Ces dernières influencent leur croissance (Santoyo *et al.*, 2016), leur capacité à accéder aux nutriments (Kudoyarova *et al.*, 2017) et leur tolérance aux stress abiotiques et biotiques (Evelin, Kapoor and Giri, 2009; Kim *et al.*, 2012; Berg and Koskella, 2018). Cet ensemble complexe constitue le microbiote végétal (Turner, James and Poole, 2013). Les différents tissus végétaux abritent des communautés végétales distinctes, qui sont généralement divisées en rhizosphère (communautés microbiennes associées à la surface des racines et à la couche de sol adjacente), en phyllosphère (communautés microbiennes des surfaces extérieures des parties aériennes des plantes) et en endosphère (communautés microbiennes résidant à l'intérieur des tissus végétaux) (Turner, James and Poole, 2013; Singh *et al.*, 2017; Carvalho and Castillo, 2018).

Dans un premier temps, la phyllosphère, partie aérienne de la plante, est pauvre en nutriments et soumise à des températures, des radiations et une humidité extrêmes (Vorholt, 2012). Pour cette raison, le microbiome phyllosphérique est beaucoup plus dynamique que le microbiome

rhizosphérique (Morris, Nicot and Nguyen-The, 1996; Turner, James and Poole, 2013; Kembel *et al.*, 2014; Thapa and Prasanna, 2018; Srivastava, Kashyap and Srivastava, 2020).

A l'opposé et vivant de manière asymptomatique dans les tissus des plantes hôtes, les endophytes sont considérés comme omniprésents (Helander *et al.*, 1994; Wilson, 1995; Preszler, Gaylord and Boecklen, 1996; Faeth and Hammon, 1997; Saikkonen, 2007; Terhonen *et al.*, 2019). En effet, il n'existe aucun rapport sur des espèces d'arbres dépourvues d'endophytes (Jumpponen and Trappe, 1998; Sieber, 2007). Ils comprennent donc une large gamme de champignons, y compris des pathogènes latents et des saprophytes dormants (Osono, 2006).

Cette flore naturelle a été quantifiée dans l'étude pour établir un point de comparaison à partir duquel les dépôts ont été comparés. Ces valeurs sont présentées sous le terme de flore basale dans le Tableau 3.

### *Etude des profils microbiologiques des coupes*

En parallèle, les flores dénombrées sur les rondelles ayant subi une coupe comportent, en plus de cette flore basale, la charge microbiologique déposée par les opérations de coupe avec les outils aux différents niveaux de désinfection. Dans l'ensemble, les rondelles issues des découpes avec les différents outils présentent des profils microbiologiques supérieurs aux flores basales bactériennes et fongiques prélevées sur les branches du sujet. Nous pouvons remarquer que les rondelles provenant des découpes effectuées avec des tronçonneuses sales présentent un profil bactérien moyen (en rouge sur le Tableau 3) inférieur au profil de découpe avec une tronçonneuse désinfectée d'une part et à la flore basale d'autre part. Au vu des charges bactériennes présentes sur ces outils et après discussion avec le laboratoire indépendant Eurofins, il a été convenu que ces derniers ne seraient pas retenus dans notre étude.

Nous pouvons également remarquer une charge fongique moyenne relativement basse sur les rondelles provenant des découpes effectuées avec les scies désinfectées (en bleu sur le Tableau 3). Ces résultats ont été également discutés avec la société Eurofins et il apparaît que ces derniers flirtaient avec la limite de détection microbiologique. Cela implique qu'il est difficile de les distinguer clairement des résultats de flores basales. Toutefois, et contrairement aux résultats présentés en rouge, ces résultats semblent plus cohérents puisqu'il s'agit d'un outil simple présentant, une fois désinfecté,

un profil fongique extrêmement faible. Nous pouvons donc dans ce cas considérer que le profil fongique moyen présenté par les découpes effectuées avec les scies désinfectées est globalement équivalent à la flore fongique basale du sujet.

### *Incidence de la prophylaxie sur le transfert de la charge microbiologique*

L'observation des pourcentages de transfert présentés dans le Tableau 3 révèle l'importance du processus de désinfection. Les deux premières phases de l'étude ont cherché à éprouver les différents protocoles de désinfection, soulignant au passage les charges microbiologiques considérables pouvant être véhiculées par les outils de coupe. La phase n°3 présente quant à elle une approche beaucoup plus pragmatique.

Sur la base des résultats exploitables on remarque que la simple pulvérisation permet de réduire le dépôt bactérien d'une scie d'élagage de 9,42% à 1,65%. Pour ce qui est des dépôts fongiques, le processus de désinfection réduit le pourcentage de transfert de 26,64% à 2,37% pour une tronçonneuse et de 11,01% à 0% pour une scie. De manière générale, si l'on considère l'ensemble de ces résultats, on constate que la simple pulvérisation des outils permet de réduire par un facteur 10 le pourcentage de transfert de la charge microbiologique accumulée et transportée naturellement par les outils d'élagage.

## Conclusion

Cette étude vient confirmer les premières observations des phases précédentes. On remarque que la réduction effective de la charge microbiologique se traduit directement par un dépôt moindre sur la plaie de taille avec un facteur 10. L'émergence des problématiques de gestion des infections, comme cela peut être le cas avec le chancre coloré du platane, impose l'évolution des pratiques pour que les protocoles de désinfection soient appliqués de manière routinière par les équipes de terrain.

## Remerciements

La fin de ce cycle d'analyse me permet de mettre en lumière la dynamique mise en place pour la réalisation de cette étude. Initiative de la direction, **M. Vezine** et **Rodrigues** ont su créer les conditions nécessaires à la bonne réalisation des analyses. Un grand merci au service exploitation et notamment à **M. Ferreira** et **Mme. Vienne** pour la logistique qu'ils ont su mettre en œuvre et sans laquelle nous n'aurions pas eu de sujet d'étude. Par ailleurs, je tiens à m'excuser auprès de **nos équipes d'élagages** qui ont su, à ma demande, aller contre leur conscience professionnelle pour me fournir des outils n'ayant pas été désinfectés.

Un grand merci à **Mme. Mercier** pour sa capacité à adoucir et rendre accessible un contenu parfois un peu trop hermétique. Enfin, je dédie ce dernier clin d'œil à **Mlle. Delluc** mon apprentie pour avoir participé à mes côtés avec tant d'enthousiasme à chaque étape de l'expérimentation, les bonnes comme les mauvaises...

JC Miquel

## Bibliographie

- Bell, L. A. (1980) 'An Effective Tree Trimming Program', *Journal of Arboriculture*, 6(1), pp. 24–25.
- Berg, M. and Koskella, B. (2018) 'Nutrient- and Dose-Dependent Microbiome-Mediated Protection against a Plant Pathogen', *Current Biology*, 28(15), pp. 2487–2492.e3. doi: 10.1016/j.cub.2018.05.085.
- Bolton, M. D., Thomma, B. P. H. J. and Nelson, B. D. (2006) 'Sclerotinia sclerotiorum (Lib.) de Bary: Biology and molecular traits of a cosmopolitan pathogen', *Molecular Plant Pathology*, 7(1), pp. 1–16. doi: 10.1111/j.1364-3703.2005.00316.x.
- Carvalhais, L. and Dennis, P. (2021) *The Plant Microbiome: Methods and Protocols, Methods in molecular Biology*. Edited by L. C. Carvalhais and P. G. Dennis. New York, NY: Springer US (Methods in Molecular Biology). doi: 10.1007/978-1-0716-1040-4.
- Carvalho, S. D. and Castillo, J. A. (2018) 'Influence of Light on Plant-Phyllosphere Interaction', *Frontiers in Plant Science*, 9(October), pp. 1–16. doi: 10.3389/fpls.2018.01482.
- Evelin, H., Kapoor, R. and Giri, B. (2009) 'Arbuscular mycorrhizal fungi in alleviation of salt stress: a review', *Annals of Botany*, 104(7), pp. 1263–1280. doi: 10.1093/aob/mcp251.
- Faeth, S. H. and Hammon, K. E. (1997) 'Fungal endophytes in oak trees: long-term patterns of abundance and associations with leafminers', *Ecology*, 78(3), p. 810. doi: [https://doi.org/10.1890/0012-9658\(1997\)078\(0810:FEIOTL\)2.0.CO;2](https://doi.org/10.1890/0012-9658(1997)078(0810:FEIOTL)2.0.CO;2).
- French, S. C. and Appleton, B. L. (2001) 'A guide to successful pruning: Pruning basics and tools', *VO Ornamental and Turf. Virginia Cooperative Extension, Virginia Polytechnic Institute and State University*, p. Publication 430-455. Available at: <http://www.ext.vt.edu/pubs/nursery/430-455/430-455.pdf>.
- Harris, R. W. (1975) 'Pruning fundamentals', *Journal of Arboriculture*, 1(12), pp. 221–226.
- Hasler, T., Vogelsanger, J. and Schoch, B. (1996) 'Disinfection of fire blight contaminated tools', *Acta Horticulturae*, 411(1), pp. 369–371. doi: 10.17660/actahortic.1996.411.75.
- Helander, M. L. *et al.* (1994) 'Endophytic fungi in Scots pine needles: spatial variation and consequences of simulated acid rain', *Canadian Journal of Botany*, 72(8), pp. 1108–1113. doi: 10.1139/b94-135.
- Hensley, D. L. (1979) 'Pruning : Why, When and How ?', *Journal of Arboriculture*, 5(10), pp. 239–240.
- Holewinski, D. E., Orr, J. W. and Gillon, J. P. (1983) 'Development of Improved Tree-Trimming Equipment and Techniques.', *Journal of Arboriculture*, 9(5), pp.

137–140.

Jumpponen, A. and Trappe, J. M. (1998) 'Dark septate endophytes: A review of facultative biotrophic root-colonizing fungi', *New Phytologist*, 140(2), pp. 295–310. doi: 10.1046/j.1469-8137.1998.00265.x.

Kembel, S. W. *et al.* (2014) 'Relationships between phyllosphere bacterial communities and plant functional traits in a neotropical forest', *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 111(38), pp. 13715–13720. doi: 10.1073/pnas.1216057111.

Kim, Y. C. *et al.* (2012) 'Enhancement of plant drought tolerance by microbes', in *Plant Responses to Drought Stress: From Morphological to Molecular Features*. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, pp. 383–413. doi: 10.1007/978-3-642-32653-0\_15.

Kleinhempel, H. *et al.* (1987) 'Disinfection of pruning shears for the prevention of the fire blight transmission', *Acta Horticulturae*, (217), pp. 211–218. doi: 10.17660/actahortic.1987.217.35.

Kudoyarova, G. R. *et al.* (2017) 'Effect of auxin producing and phosphate solubilizing bacteria on mobility of soil phosphorus, growth rate, and P acquisition by wheat plants', *Acta Physiologiae Plantarum*, 39(11), p. 253. doi: 10.1007/s11738-017-2556-9.

Lecomte, P. (1990) 'Risk of fire blight infection associated with pruning of pear trees', *Acta Horticulturae*, (273), pp. 83–90. doi: 10.17660/actahortic.1990.273.10.

Morris, C. E., Nicot, P. C. and Nguyen-The, C. (1996) *Aerial Plant Surface Microbiology, Aerial Plant Surface Microbiology*. Edited by C. E. Morris, P. C. Nicot, and C. Nguyen-The. Boston, MA: Springer US. doi: 10.1007/b102414.

Naue, C. R. *et al.* (2014) 'Xanthomonas campestris pv. Viticola on grapevine cutting tools and water: Survival and disinfection', *Journal of Plant Pathology*, 96(3), pp. 451–458.

Neely, D. (1991) 'Branch pruning wound closure', *Journal of Arboriculture*, 17(8), pp. 205–208. Available at: <http://scholar.google.com/scholar?hl=en&btnG=Search&q=intitle:Branch+pruning+wound+closure#1>.

Osono, T. (2006) 'Role of phyllosphere fungi of forest trees in the development of decomposer fungal communities and decomposition processes of leaf litter', *Canadian Journal of Microbiology*, 52(8), pp. 701–716. doi: 10.1139/w06-023.

Pavlis, M. *et al.* (2008) 'The Effects of Pruning on Drag and Bending Moment of Shade Trees', *Arboriculture & Urban Forestry*, 34(4), pp. 207–215.

Preszler, R. W., Gaylord, E. S. and Boecklen, W. J. (1996) 'Reduced parasitism of a leaf-mining moth on trees with high infection frequencies of an endophytic fungus', *Oecologia*, 108(1), pp. 159–166. doi: 10.1007/BF00333227.

Saikkonen, K. (2007) 'Forest structure and fungal endophytes', *Fungal Biology*

15

- Reviews*, 21(2–3), pp. 67–74. doi: 10.1016/j.fbr.2007.05.001.
- Santoyo, G. *et al.* (2016) 'Plant growth-promoting bacterial endophytes', *Microbiological Research*, 183, pp. 92–99. doi: 10.1016/j.micres.2015.11.008.
- Sieber, T. N. (2007) 'Endophytic fungi in forest trees: are they mutualists?', *Fungal Biology Reviews*, 21(2–3), pp. 75–89. doi: 10.1016/j.fbr.2007.05.004.
- Singh, R. P. *et al.* (2017) *Understanding host-microbiome interactions - an omics approach: Omics of host-microbiome association, Understanding Host-Microbiome Interactions - An Omics Approach: Omics of Host-Microbiome Association*. Edited by R. P. Singh *et al.* Singapore: Springer Singapore. doi: 10.1007/978-981-10-5050-3.
- Smiley, E. T. and Kane, B. (2006) 'The effects of pruning type on wind loading of *Acer rubrum*', *Arboriculture & Urban Forestry*, 32(1), pp. 33–40. doi: 10.48044/jauf.2006.005.
- Srivastava, A. K., Kashyap, P. L. and Srivastava, M. (eds) (2020) *The Plant Microbiome in Sustainable Agriculture, The Plant Microbiome in Sustainable Agriculture*. Wiley. doi: 10.1002/9781119505457.
- Svihra, P. (1994) 'Principles of eradicated pruning', *Journal of arboriculture*, 20(5), pp. 262–272.
- Terhonen, E. *et al.* (2019) 'Forest tree microbiomes and associated fungal endophytes: Functional roles and impact on forest health', *Forests*, 10(1), p. 42. doi: 10.3390/f10010042.
- Teviotdale, B., Wiley, M. F. and Harper, D. H. (1991) 'How disinfectants compare in preventing transmission of fire blight', *California Agriculture*, 45(4), pp. 21–23. doi: 10.3733/ca.v045n04p21.
- Thapa, S. and Prasanna, R. (2018) 'Prospecting the characteristics and significance of the phyllosphere microbiome', *Annals of Microbiology*, 68(5), pp. 229–245. doi: 10.1007/s13213-018-1331-5.
- Trivedi, P. *et al.* (2020) 'Plant-microbiome interactions: from community assembly to plant health', *Nature Reviews Microbiology*, 18(11), pp. 607–621. doi: 10.1038/s41579-020-0412-1.
- Turner, T. R., James, E. K. and Poole, P. S. (2013) 'The plant microbiome', *Genome Biology*, 14(6), pp. 1–10. doi: 10.1186/gb-2013-14-6-209.
- Vorholt, J. A. (2012) 'Microbial life in the phyllosphere', *Nature Reviews Microbiology*, 10(12), pp. 828–840. doi: 10.1038/nrmicro2910.
- Wilson, D. (1995) 'Endophyte: The Evolution of a Term, and Clarification of Its Use and Definition', *Oikos*, 73(2), p. 274. doi: 10.2307/3545919.
- Wintermantel, W. M. (2011) 'A Comparison of Disinfectants to Prevent Spread of Potyviruses in Greenhouse Tomato Production', *Plant Health Progress*, 12(1). doi: 10.1094/PHP-2011-0221-01-RS.

## Annexes