



INSTITUT FRANÇAIS DE LA VIGNE ET DU VIN

# **LES MALADIES DU BOIS DE LA VIGNE**

**16-17 novembre 2010**

**Villefranche/Saône**

**COMPTE RENDU**

**Philippe Larignon  
IFV**

## SOMMAIRE

<b>Introduction</b> .....	2
<b>Programme des journées maladies du bois</b> .....	3
<b>Observatoire, étiologie et épidémiologie</b>	
Les maladies du bois dans le vignoble jurassien (observatoire et expérimentations).....	6
Les maladies du bois de vigne en Castilla y Leon.....	8
Premières observations de la verticilliose en France.....	9
Dépérissements de jeunes plantes liés à <i>Neofusicoccum parvum</i> .....	11
Les dépérissements liés aux <i>Botryosphaeriaceae</i> .....	13
Diversité de <i>Phaeomoniella chlamydospora</i> dans le vignoble français.....	16
Esca de la vigne : analyse quantitative et dynamique de la maladie à l'échelle de la parcelle et du cep.....	17
Identification des facteurs climatiques favorisant l'expression des symptômes du BDA.....	18
<b>Interactions hôte-parasites</b>	
Influence de la physiologie de la plante sur le développement de l'esca.....	20
BDA, caractérisation des mécanismes impliqués dans l'expression des symptômes et identification des toxines (présentation du programme AAP Casdar).....	21
Forme apoplectique : altération très précoce de la physiologie de la plante.....	22
Effet d'un surnageant de culture de champignons impliqués dans les maladies du bois sur des cellules différenciées de vigne.....	23
<b>Outils de diagnostic</b>	
Développement d'un outil de détection des champignons associés aux maladies du bois de la vigne en France.....	25
<b>Méthodes de lutte</b>	
Recherche et évaluation de procédés permettant la production de plants indemnes de champignons associés aux maladies du bois (présentation du programme Casdar).....	27
Le point des recherches sur les méthodes de lutte en pépinière/ transfert au champ.....	30
Les maladies du bois : tests de désinfection en pépinière.....	31
Lutte biologique et maladies du bois de la vigne.....	34
Evaluation de l'efficacité des <i>Trichoderma</i> à l'égard de <i>Eutypa lata</i> en protection des plaies de taille.....	35
Effets anti-fongiques des saponines sur la croissance de champignons phytopathogènes.....	36
Mise en place d'essais pour évaluer l'efficacité d'une stratégie de traitement chimique à l'encontre des maladies du bois.....	37
Recherche de marqueurs de tolérance à <i>Eutypa lata</i> .....	39
Impact des choix culturaux sur le développement des maladies du bois (présentation du programme AAP Casdar).....	41
Organisation des travaux réalisés sur les maladies du bois en Bourgogne.....	44
Diversité des microorganismes du bois de <i>Vitis vinifera</i> en Bourgogne.....	46
Effet de quelques facteurs agronomiques sur les maladies du bois.....	47
Incidence de la taille sur l'Esca et le BDA.....	49
<b>Liste des participants</b> .....	51

# **OBSERVATOIRE, ETIOLOGIE ET EPIDEMIOLOGIE**

# Les maladies du bois dans le vignoble jurassien (observatoire et expérimentations)

Gaël DELORME

Société de Viticulture du Jura -B.P. 40417 – 455, Rue de Colonel de Casteljou –  
39016 LONS LE SAUNIER Cedex

## ▪ Contexte :

Le Trousseau et le Savagnin, typiques du vignoble jurassien, font parti des cépages les plus sensibles à l'Esca / BDA.

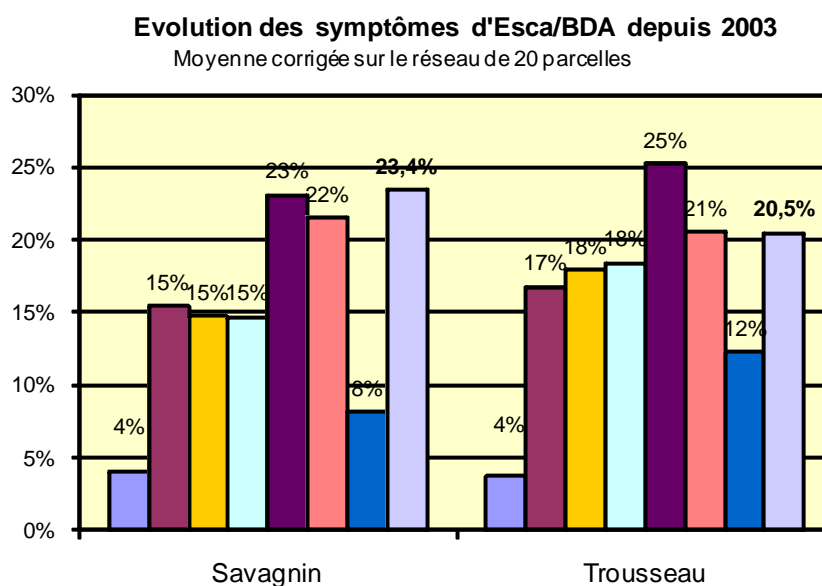
C'est l'une des préoccupations majeure pour la profession de ce vignoble. La Société de Viticulture du Jura s'applique donc à travailler sur cette thématique.

## ▪ Suivi de l'expression des symptômes :

Observations effectuées sur un réseau de 20 parcelles (Savagnin et Trousseau) issues de l'observatoire national :

- La majorité des parcelles appartient à la tranche d'âge 15 - 30 ans ; ce sont des parcelles globalement sensibles et très touchées.

- Le suivi se fait sur 10 placettes de 30 souches par parcelle depuis 2003.



Les moyennes d'expression des symptômes sont corrigées du fait d'un nombre de pieds improductifs (morts, absents, jeunes) très importants. Cette correction permet de qualifier plus précisément l'expression des symptômes en comparaison des autres années.

L'année 2010 retrouve donc un très haut niveau d'expression des symptômes. De plus, il est notable que les symptômes partiels ont certainement été sous évalués, du fait d'une généralisation des cas douteux sur savagnin cette année. Seuls les symptômes partiels les plus marqués ont donc été retenus.

▪ Expérimentations :

Une série d'expérimentations a été mise en place, ou par opportunité est suivie par la Société de Viticulture. Ce programme, lancé en 2009, offre à ce jour que peu de résultats. Ainsi, nous ne présenterons que ceux qui sont actuellement pertinents :

- Recépage : comparaison entre la pratique du recépage forcé avec une modalité "arrachage et remplacement". Aucun résultat actuellement.
- Surgreffage: comparaison du surgreffage (recepape en fente) des pieds totalement symptomatiques avec une référence "arrachage et remplacement" ; Aucun résultat actuellement.
- Plants mycorhizés / plants non mycorhizés: Plantation 1999/2000; mycorhization réalisée par une société privée. Souche de mycorhize non-connue actuellement ; Peu d'expression, pas de différences significatives.
- *Trichoderma* en pépinière : *Trichoderma atroviride* inoculé en pépinière, plantation 2008; en comparaison avec plants non-inoculés. Aucun résultat actuellement.
- Engrais foliaire favorisant les flux de sève : aucun effet constaté.
- Sensibilité des différents clones jurassiens (6 clones de trousseau, 2 de poulsard et 4 de savagnin)
- Parcelles âgées de 3 à 7 ans, actuellement aucune différence.

## Les maladies du bois de vigne en Castilla y León

M<sup>a</sup> Teresa MARTIN

Instituto Tecnológico Agrario de Castilla y León, finca de Zamadueñas, Ctra. de Burgos Km. 119,  
47071 Valladolid, Espagne

L'Espagne est un des pays grand producteurs de vin avec une surface de vignoble de 1169000ha. Castilla y León occupe le plateau du centre nord de la péninsule, a une surface de 75000ha et compte neuf Dénominations d'Origine. Le suivi des symptômes foliaires des maladies du bois depuis 2001 montre une incidence moyenne de 2% avant l'interdiction de l'arsénite de soude (2003) et de plus de 7% après. Les ceps ou une partie de ceps montrant des symptômes sont prélevés et analysés au laboratoire. Les champignons associés aux maladies du bois sont identifiés morphologiquement et de façon moléculaire avant d'être conservés. Les espèces de champignons majoritaires sont *Phaeoconiella chlamydospora* et *Phaeoacremonium aleophilum* et dans la famille de *Botryosphaeriaceae* *Diplodia seriata* (forme téléomorphe : '*Botryosphaeria*' *obtusa*). Pour ces trois espèces une analyse de la variabilité génétique a été réalisée en utilisant des marqueurs moléculaires RAPD et AFLP, et le séquençage partiel de plusieurs gènes, ITS,  $\beta$ -tubuline, actine, facteur d'élongation 1- $\alpha$  calmoduline. Pour chacune de ces trois espèces des méthodes de détection moléculaires plus performantes ont été établies. Une PCR multiplex pour les deux champignons associés à la maladie de Petri et une PCR à temps réel. Pour *Diplodia seriata* deux paires d'oligonucléotides permettent son identification par PCR conventionnelle.

## Premières observations de la Verticilliose chez la vigne en France

Philippe LARIGNON<sup>1</sup>, Morvan COARER<sup>2</sup>, Claire GROSJEAN<sup>3</sup> et Guillaume MORVAN<sup>4</sup>

<sup>1</sup>IFV, Pôle Rhône-Méditerranée, Domaine de Donadille, 30230 Rodilhan

<sup>2</sup>IFV, Pôle Val de Loire, Château de la Frémoire, 44120 Vertou

<sup>3</sup>Chambre régionale d'Agriculture de Bourgogne, 3 rue du Golf - 21800 Quétigny

<sup>4</sup>Chambre d'Agriculture de l'Yonne, 14 bis rue Guynemer, BP 50289, 89005 Auxerre Cedex

En 2009, dans le vignoble de Chablis (Bourgogne), des dépérissements ont été observés sur de jeunes plantations de Chardonnay/41B (date de plantation : 2006). Notre objectif était d'identifier leurs causes.

Les symptômes observés sur trois parcelles situées sur les communes de Beine, Poilly-sur-Serein et Fyé, se présentaient sous deux formes :

- une forme lente caractérisée par des taches jaunâtres à la surface du limbe ou des taches nécrotiques délimitées par un liseré jaune. Le symptôme le plus caractéristique étant de grands secteurs nécrotiques délimités par un liseré jaune. Les inflorescences ou grappes sont desséchées.



- Une forme sévère caractérisée par une apoplexie des rameaux.



Dans le bois, les symptômes se traduisent par des nécroses olivâtres qui sont rencontrées dans le porte-greffe, la soudure et le greffon. Le système racinaire est touché, les racines présentent des nécroses grisâtres.

Les analyses microbiologiques réalisées selon la méthode de Larignon et Dubos (1997) ont été conduites sur 15 plantes. Elles montrent la présence du champignon *Verticillium* sp. Il est isolé dans 100 % des plantes analysées. Il est trouvé dans les nécroses olivâtres que ce soit au niveau du porte-greffe, de la soudure ou du greffon. Il est également rencontré dans les racines.

La comparaison des séquences des gènes 4-5 ITS de différentes souches de *Verticillium* (*albo-atrum*, *dahliae*, *longisporum*, *tricorpus*) avec celle que nous avons isolée montre que notre souche correspondrait aux espèces *albo-atrum* et *dahliae*. Cependant, il sera nécessaire d'effectuer d'autres analyses sur d'autres gènes pour pouvoir différencier ces deux espèces.

De ces études, nous pouvons dire que *Verticillium* sp. est responsable du dépérissement observé dans le vignoble du Chablis. Ce champignon étant déjà décrit comme responsable de la verticilliose dans de nombreux pays : Allemagne (Böning *et al.*, 1960, Thate 1960), Californie (Schnathorst et Goheen 1977), Chine (Zhang *et al.*, 2009), Grèce (Zachos et Panagopoulos, 1963), Italie (D'Ercole 1970, Minervini, 1989), Nouvelle-Zélande (Canter-Visscher 1970)...

## **Remerciements**

Cette étude a été réalisée grâce à la participation financière de France AgriMer et du CASDAR.

## Dépérissements de jeunes plantes liés à *Neofusicoccum parvum*

Philippe LARIGNON

IFV, Pôle Rhône-Méditerranée, Domaine de Donadille, 30230 Rodilhan

En France, les maladies du bois qui affectent les jeunes plantations sont peu connues. Seule la maladie du Pied noir a été observée, surtout dans le vignoble champenois ou cognaçais. Elle est due au champignon *Neonectria liriodendri*. Récemment, dans le vignoble des Côtes de Provence Sainte-Victoire ou des Côteaux d'Aix en Provence, des dépérissements ont été observés sur des jeunes plantations âgées entre 2 et 6 ans en provoquant d'importants dommages. De jeunes parcelles peuvent être touchées jusqu'à 30 %. Notre objectif était d'identifier les causes de ce dépérissement.

Ces dépérissements sont caractérisés le plus souvent par une défoliation des rameaux qui peuvent se dessécher totalement ou partiellement par la suite. Pour les rameaux moins atteints, les feuilles peuvent montrer des décolorations. Dans les cas les plus sévères, la végétation se dessèche complètement conduisant à la mort du greffon. Des redémarrages de la végétation sont parfois observés au niveau du porte-greffe. Dans le tronc de telles vignes, sont surtout observées des bandes brunes situées sous l'écorce et des nécroses sectorielles de couleur brun-gris. Ces nécroses sont surtout développées au niveau du point de greffe, notamment pour les cas les plus graves. L'observation microscopique montre que le bois de printemps nouvellement formé, est caractérisé par un grand nombre de vaisseaux bouchés par des gommages et des thylls.

Les analyses microbiologiques réalisées selon la méthode de Larignon et Dubos (1997) ont été conduites sur 27 plantes prélevées sur huit parcelles (4 parcelles de Grenache/R110, 1 de Cinsault/R110, 1 de Syrah/3309, 1 de Grenache/R140, et 1 de Sauvignon/ Fercal). Ces analyses montrent surtout la présence du champignon *Neofusicoccum parvum*. Il est trouvé dans 92,6 % des plantes analysées. Il est surtout localisé dans des nécroses sectorielles et des bandes brunes au niveau du greffon et du point de greffe. D'autres champignons sont trouvés mais à des fréquences relativement faibles : *Acremonium* sp. (11%), *Alternaria* sp. (14,8%) *Aspergillus* sp. (3,7%), *Botryosphaeria dothidea* (3,7%), *Chaetomium* sp. (7,4%), *Clonostachys rosea* (3,7%), *Diplodia seriata* (3,7%), *Eutypa lata* (7,4%), *Fusarium* sp. (11%). *Phaeoacremonium aleophilum* (11%) *Phaeomoniella chlamydospora* (22%), *Phomopsis* sp. (11%), 5 autres champignons non identifiés (3,7%).

Les tests de pathogénie ont été réalisés sur des boutures de Sauvignon à deux yeux. Le mycélium de *Neofusicoccum parvum* (isolat Montagne Sainte-Victoire) a été déposé sur la surface des boutures et sur les plaies d'éborgnage et de débitage. Ce matériel végétal ainsi préparé a été mis à stratifier dans des récipients contenant de l'eau pendant deux semaines, à une température de 28°C et à humidité saturante. Après cette période, les boutures ont été plantées dans des pots et conservées jusqu'à la manifestation de symptômes sur la partie herbacée. Sur les 20 plantes élevées en pot après quatre mois de culture, 13 ont présenté des dessèchements de la végétation. Ces plantes présentent d'importantes nécroses dans le bois dans lesquelles le champignon a été retrouvé. Sa capacité à provoquer des nécroses dans le bois ou sur la partie herbacée chez la vigne a été constatée par d'autres auteurs (Larignon *et*

*al.*, 2001, van Niekerk *et al.*, 2004 ; Rego *et al.*, 2008 ; Lavaux *et al.*, 2009 ; Urbez-Torres et Gubler, 2009). Ce champignon est également décrit comme pathogène chez un grand nombre de plantes : le manguier (Javier-Alva *et al.*, 2009), l'avocatier (Zea-Bonilla *et al.*, 2007, McDonald *et al.*, 2009) l'eugénie (Ploetz *et al.*, 2009), le myrtillier (Espinoza *et al.*, 2009), etc.

De ces études (analyses microbiologiques, tests de pathogénie), nous pouvons dire que *N. parvum* est responsable du dépérissement observé dans le vignoble des Côtes de Provence Sainte-Victoire ou des Côteaux d'Aix en Provence. Les symptômes décrits (défoliation de rameaux et leur partiel ou total dessèchement, décolorations sur les feuilles, bandes brunes, nécroses en position sectorielle de couleur grise) sont identiques à ceux du Black dead arm observé chez les vignes adultes (Larignon et Dubos, 2001), auquel ce champignon a été déjà associé (Larignon *et al.*, 2001). La forte similitude des symptômes et la présence du même microorganisme suggèrent que le dépérissement observé chez les jeunes plantes serait le même que celui observé chez les plantes adultes.

### **Remerciements**

Cette étude a été réalisée grâce à la participation financière de France AgriMer et du CASDAR. Nous remercions Jean-Jacques Balikian de l'Association des Vignerons de la Sainte-Victoire, M. Didier Richy de la Chambre d'agriculture des Bouches-du-Rhône, M. Clément des pépiniéristes Vitipro et Mme Geneviève Guignot, expert agricole et foncier de Carpentras pour leur participation à cette étude.

### **Pour en savoir plus :**

LARIGNON P. 2010. Dépérissement sur jeunes plantes. Des symptômes liés au champignon *Neofusicoccum parvum* déjà connu comme lié au black dead arm sur vigne adultes. **Phytoma**. 635, 44-46.

## Les dépérissements liés aux *Botryosphaeriaceae*

Philippe LARIGNON

IFV, Pôle Rhône-Méditerranée, Domaine de Donadille, 30230 Rodilhan

Les champignons de la famille des *Botryosphaeriaceae* sont connus depuis longtemps comme étant des champignons pathogènes chez la vigne.

Au cours des années 1920, Ravaz et Verge décrivent en France une maladie caractérisée par la présence de taches brun foncé sur le premier entre-nœud du rameau, la présence de nécroses sur le limbe entraînant une chute prématurée dans les cas graves et un dessèchement de la grappe. Désignée sous le nom d'excoriose par ces auteurs, elle a été attribuée à *Macrophoma flaccida* qui fut ensuite appelée *Fusicoccum aesculi* (Phillips et Lucas, Not1997)(forme téléomorphe *B. dothidea* Moug. :Fr) Ces & D. Ce champignon a été ensuite associé à ce dépérissement dans de nombreux pays (Afrique du Sud, Grèce, Herzégovine, Portugal) qui fut désigné sous le nom d'excoriose européen pour la différencier d'une autre maladie qui sévissait aux USA qui était due au *Phomopsis viticola* (Dead arm disease ou appelé excoriose californien). Le rôle pathogène du *Macrophoma* a été controversé. Il a été considéré comme saprophyte en dépit d'arguments scientifiques. A la fin des années 80 et au cours années 90, différents dépérissements liés à ce champignon ont été signalés : dépérissements au Portugal (Tomaz & Rego 1990, Phillips 1998), pourriture de baies aux USA (Milholland 1991) et à Taïwan (Kuo *et al.* 1989), chancre dans le tronc au Brésil (Filho *et al.* 1995). Ce champignon a été ensuite considéré comme un complexe d'espèces incluant (Phillips 2002) : *B. dothidea* (Moug.:Fr) Ces & De Not., *B. parva* Pennycook & Samuels et *B. lutea* A.J.L. Phillips.

La présence d'autres espèces de *Botryosphaeriaceae* chez la vigne a été signalée : '*B. obtusa*' sur des ceps malades au Canada (Chamberlain, 1964), *B. stevensii* au Canada (Shoemaker, 1964) et en Europe (Lehoczky, 1974). D'ailleurs, cet auteur créa le terme de Black dead arm pour la différencier du dead arm disease provoqué par *Phomopsis viticola*. Le nom provient du fait que les tissus ligneux infectés montraient une coloration noire. Cristinzio (1978) et ensuite Larignon *et al.* (2001) ont repris ce terme pour désigner des dépérissements liés à d'autres *Botryosphaeriaceae* ('*B. obtusa*', *B. parva*) que *B. stevensii*, en raison de la similitude des symptômes. D'ailleurs, Lehoczky (1988) a considéré que la maladie observée en Italie mettant en cause '*B. obtusa*' était similaire à celle observée en Hongrie. Des dépérissements liés à '*B. obtusa*' ont été également observés en Espagne (Tuset 1980) et en Italie (Rovesti & Montermini 1987).

Au cours des années 60, une autre espèce de *Botryosphaeriaceae*, a été décrite comme responsable d'un dépérissement en Californie appelé tout d'abord sous le nom de Diplodia cane blight (Webster *et al.* 1969), puis de Diplodia cane dieback and bunch rot (Hewitt 1974, Leavitt & Munnecke 1987). Selon Hewitt (1974), ce dépérissement est caractérisé par un déclin des rameaux qui débute par sa partie apicale, la présence de chancres sur les rameaux atteints souvent avec la présence de pycnides en surface et la présence de chancres dans le tronc. Ce dépérissement a été observé dans de nombreux pays : Inde (Patil 1969), Egypte (El-Goorani & El Meleigi 1972), Turquie (Ari & Oz 1990), Brésil (Ribeiro *et al.* 1992), Venezuela (Ramirez & Pineda 2003), Australie (Taylor *et al.* 2005, Wood & Wood 2005, Pitt

*et al.* 2010), Californie (Urbez-Torres *et al.* 2006), Mexique (Urbez-Torres *et al.* 2008), Bolivie (Kaiser *et al.* 2009). Le champignon qui en est responsable est *Lasiodiplodia theobromae* (Pat.) Griffon & Maubl. (forme téléomorphe *B. rhodina* (Berk. & M.A. Curtis) Arx). Cette maladie a été également appelée Botryodiplodiose au Brésil.

A partir des années 2000, la taxonomie des *Botryosphaeriaceae* a été revue et de nouvelles espèces ont été créées. Les études réalisées au cours de ces années ont porté surtout sur l'identification des espèces, leur répartition géographique, les tests de pathogénie : Afrique du Sud (van Niekerk *et al.* 2004, 2010), Australie (Castillo-Pando 2001, Wood & Wood 2005, Taylor *et al.*, 2005, Savocchia *et al.* 2007, Qiu *et al.* 2008, Pitt *et al.* 2010), Nouvelle-Zélande (Amponsah *et al.*, 2009, Billones *et al.* 2010), Etats-Unis et Mexique (Urbez-Torrès *et al.*, 2006, 2007, 2008, 2009, Urbez-Torres & Gubler 2008), Brésil (Gava *et al.* 2010), Italie (Carlucci *et al.*, 2008, Natalini & Tosi (2008), Espagne (Martin & Cobos 2007, Luque *et al.* 2009), Portugal (Rego *et al.* 2008). Les études concernaient aussi leur cycle biologique, les méthodes de détection, les méthodes de lutte, la recherche d'enzymes et de toxines, de la protéomique...

Les *Botryosphaeriaceae* sont associés à différentes symptomatologies : formes lentes (tigrures de feuilles), formes défoliatrices (apoplexie lent), apoplexie, végétation affaiblie sur les coursons encore vivants, absence de débourement ou celui-ci reste limité, mort de coursons ou de bras, des chloroses, des blanchiments de sarments, des symptômes sur fruits, des échecs de soudure. Dans le bois, les symptômes sont des nécroses sectorielles, des décolorations vasculaires ou encore des bandes brunes.

Chez la vigne, 18 espèces réparties en 6 genres ont été décrites. Ce sont :

- ▶ *Lasiodiplodia theobromae* (Pat.) Griffon & Maubl. (= '*B. rhodina* (Berk. & M.A. Curtis) Arx),
- ▶ *Lasiodiplodia crassispora* T. Burgess & Barber (forme téléomorphe non connue),
- ▶ *Lasiodiplodia plurivora* Damm & Crous
- ▶ *Neofusicoccum parvum* (Pennicook & Samuels) Crous, Slippers & A.J.L. Phillips (= '*B. parva* Pennycook & Samuels),
- ▶ *Neofusicoccum australe* (Slippers, Crous & M.J. Wingf.) Crous, Slippers & A.J.L. Phillips (= '*B. australis* (Slippers, Crous, & M.J. Wingf.)
- Neofusicoccum luteum* (Pennycook & Samuels) Crous, Slippers & A.J.L. Phillips (= '*B. lutea* A.J.L. Phillips)
- ▶ *Neofusicoccum vitifusiforme* (Niekerk & Crous) Crous, Slippers & A.J.L. Phillips
- ▶ *Neofusicoccum viticlavatum* (Niekerk & Crous) Crous, Slippers & A.J.L. Phillips
- ▶ *Neofusicoccum mediterraneum* Crous, M.J. Wingf. & A.J.L. Phillips
- ▶ *Diplodia seriata* De Not (= '*B. obtusa* (Schwein.) Shoemaker)
- ▶ *Diplodia mutila* Fr. ex Mont. (= *B. stevensii* Shoemaker)
- ▶ *Diplodia corticola* A.J.L. Phillips, Alves et Luque = '*B. corticola* A.J.L. Phillips, Alves et Luque
- ▶ *Fusicoccum aesculi* Corda (= *B. dothidea* (Mough. : Fr.) Ces & De Not
- ▶ *Dothiorella viticola* A.J.L. Phillips & J. Luque (= *Spencermartinsia viticola* (A.J.L. Phillips & J. Luque) A.J.L. Phillips, A. Alves & Crous
- ▶ *Dothiorella iberica* A.J.L. Phillips, J. Luque & A. Alves (= *B. iberica* A.J.L. Phillips, J. Luque & A. Alves
- ▶ *Dothiorella sarmentorum* (Fr) A.J.L. Phillips, A. Alves & J. Luque (= *B. sarmentorum* A.J.L. Phillips, A. Alves & J. Luque

- ▶ *Dothiorella quercina* (Cooke & ELL.) Ellis Everh (nom incorrect selon Phillips)(*Diplodia-like*) (= '*B. quercuum* (Schwein.) Sacc.)
- ▶ *Phaeobotryosphaeria porosa* (van Niekerk & Crous) Crous & A.J.L. Phillips

Le caractère pathogène des *Botryosphaeriaceae* est bien documenté. Différents modèles ont été utilisés : des rameaux ou des sarments détachés ou attachés à la plante, des boutures ou des vignes âgées de deux ans, des vignes au champ par inoculation de plaies effectuées à partir de rameaux ou de coursons ou encore de blessures effectuées au niveau du tronc. Les tests montrent que les champignons sont capables individuellement de provoquer les décolorations vasculaires, des chancres, des décolorations foliaires ou encore des flétrissements de la partie herbacée. Les différences d'agressivité observées pour certains champignons sont dues à différents ordres de cause : grande variabilité de la virulence des souches (Larignon *et al.* 2001, Savocchia *et al.* 2007, Luque *et al.* 2009, Urbez-Torres & Gubler 2009), une grande variabilité du matériel végétal utilisé pour les tests (cépage), méthodes d'inoculation, durée de l'expérimentation, etc...

Le terme de Botryosphaeriose a été proposé pour désigner les problèmes liés aux *Botryosphaeriaceae*.

Depuis 2001, en France, peu de travaux ont été réalisés sur ces champignons car ils étaient considérés comme des saprophytes en dépit d'arguments scientifiques (les raisons évoquées étaient : rapide développement masquant les agents pathogènes, présence importante dans le vignoble). Les seules études menées ont porté sur leur cycle biologique (vignoble et pépinières) et la recherche de toxines (Djoukeng *et al.* 2009). Récemment, plusieurs équipes se sont intéressées à travailler sur ces champignons. Il s'agit de :

- G. Comont et M. Corio-Costet (INRA Santé Végétale de Bordeaux) : identification des *Botryosphaeriaceae*, leur distribution dans le vignoble français, tests de pathogénie...
- C. Bertsch (Université de Haute-Alsace) : interaction hôte-parasite
- F. Fontaine (Université de Reims Champagne Ardenne) : interaction hôte – parasite.

## Diversité de *Phaeomoniella chlamydospora* dans le vignoble Français

Gwenaëlle COMONT<sup>1</sup>, Philippe LARIGNON<sup>2</sup>, François DELMOTTE<sup>1</sup>  
et Marie-France CORIO-COSTET<sup>1</sup>

<sup>1</sup>U.M.R 1065 Santé Végétale INRA/ENITA de Bordeaux, I.S.V.V., I.F.R. 103, BP 81, 33883 Villenave d'Ornon Cedex, France.

<sup>2</sup>IFV, Pôle Rhône-Méditerranée, Domaine de Donadille, 30230 Rodilhan

*Phaeomoniella chlamydospora*, (Chaetothyriales, Herpotrichiellaceae) est un des agents principal de la maladie de Pétri et de l'Esca sur vigne. Nous avons utilisé des marqueurs AFLP pour étudier la structuration génétique des populations de *P. chlamydospora* dans le vignoble français. Pour cette étude 74 isolats ont été collectés, dont 56 récoltés dans quatre régions viticoles Françaises (Poitou-Charentes, Aquitaine, Languedoc-Roussillon, Alsace) à partir de vigne ayant exprimés des symptômes d'Esca et 18 isolats supplémentaires collectés dans une même parcelle située en aquitaine (Médoc).

Un déséquilibre de liaison significatif a été observé. Il indique que les populations de *P. chlamydospora* ne sont pas à l'équilibre. Cependant, la diversité haplotypique observée montre que 72 haplotypes multilocus sont uniques sur 74 individus analysés, suggérant que cette espèce ne doit pas être strictement clonal.

L'analyse des groupes de diversité suggère la présence de deux groupes génétiquement différents mais présents dans la même région géographique. Le niveau de différenciation entre les deux groupes est important ( $F_{ST}=0.23$ ) et significatif pour 13 des 21 loci analysés. L'explication la plus plausible pour ces résultats est la coexistence dans les populations française de *P. chlamydospora* de deux lignées clonales anciennes et que des échanges génétiques peu fréquents existent entre ces deux groupes. Finalement, le faible niveau de différenciation génétique spatiale trouvé dans cette étude est compatible avec l'hypothèse de la dissémination de ce champignon *via* le transport de plants infectés sur de longues distances par l'activité humaine.

Cette étude a été publiée en 2010 : AFLP markers reveal two genetic groups in the French population of the grapevine fungal pathogen *Phaeomoniella chlamydospora*. G. Comont, P. Larignon, MF Corio-Costet, F. Delmotte. Eur J Plant Pathol (2010) 127:451-464.

## **Esca de la vigne : Analyse quantitative et dynamique de la maladie à l'échelle de la parcelle et du cep**

Lucia GUERIN-DUBRANA, Névile MAHER, Florent BONNEU, Mamadou CISS,  
Delphine PICARD et Sylvie BASTIEN

U.M.R 1065 Santé Végétale INRA/ENITA de Bordeaux, I.S.V.V., I.F.R. 103, BP 81, 33883 Villenave d'Ornon Cedex, France.

Comprendre la dynamique de développement de l'esca au vignoble est un préalable essentiel pour envisager d'y remédier durablement. Une étude épidémiologique est conduite depuis 2004 grâce au suivi de 22 placettes d'environ 2000 ceps contigus, de cépage Cabernet Sauvignon, plantée entre 1987 et 1990 autour de Bordeaux. La photographie, chaque année, de la situation sanitaire nous renseigne sur la progression de la maladie et de la mortalité. Des situations très contrastées sont observées soulevant des questions sur le lien direct entre l'expression foliaire de l'esca et la mortalité. D'une part, l'approche dynamique de la maladie à l'échelle du cep nous a permis d'étudier plus finement ce lien existant.

Grâce aux outils statistiques adaptés, la dynamique temporelle de la maladie peut être conjuguée à la dynamique spatiale à l'échelle de la parcelle, pour mesurer, modéliser et mieux comprendre les processus biologiques sous-jacents et répondre, par exemple, aux questions suivantes: Comment la maladie est initiée ? Comment elle évolue ? Quels sont les processus de contagion ? Quels sont les effets de l'environnement ? Les résultats de l'analyse exploratoire, utilisant les tests d'hypothèses par la méthode de Monté Carlo non paramétrique, montrent que la répartition des ceps n'est pas toujours aléatoire et qu'il existe, pour certaines parcelles, une structure agrégative à petite échelle, orientée ou non selon le sens du rang.

Le prolongement de ce travail est en cours à L'U.M.R. Santé Végétale INRA/ENITA de Bordeaux en collaboration avec le B.I.V.B (Bureau Interprofessionnel des Vins de Bourgogne) et de nombreux organismes professionnels de recherche et développement, dans le cadre d'un programme de recherche nationale sur les maladies du bois. La base de données constituée depuis 2004 sur la maladie est complétée par toutes les données de ce type, disponibles dans les différentes régions viticoles françaises. L'objectif est d'analyser la structure de développement de la maladie à l'échelle d'une parcelle mono cépage et de construire une méthodologie de modélisation pour décrire et prévoir les risques d'aggravation de l'esca en fonction de différents facteurs liés au contexte pédoclimatique et/ou aux pratiques culturales.

# Identification des facteurs climatiques favorables à l'expression des symptômes de black dead arm de la vigne

Philippe LARIGNON et Virginie VIGUES

<sup>1</sup>IFV Pôle Rhône-Méditerranée, Domaine de Donadille, 30230 Rodilhan.

<sup>2</sup>IFV Pôle Sud-Ouest, V'innopôle BP 22, 81310, Lisle-sur-Tarn

Le black dead arm est une maladie qui touche le vignoble français engendrant d'importantes pertes de production. Cette maladie est associée à différents champignons de la famille des *Botryosphaeriaceae* (*Diplodia seriata*, *Neofusicoccum parvum*...). Elle se présente dans le vignoble sous deux formes : une forme sévère caractérisée par une défoliation des rameaux et une forme lente caractérisée par la présence de taches ou de larges zones de détérioration entre les nervures. Dans le bois, elle se traduit par la présence d'une bande brune localisée dans le bois de printemps du nouveau cerne et caractérisée par une occlusion des vaisseaux. Des chancres peuvent être également observés chez les ceps malades. Les conditions climatiques favorables à sa manifestation ne sont pas connues. L'objectif de ce travail était de les identifier.

Cette étude a été réalisée sur deux parcelles :

+ Une vigne de Sauvignon/SO4 située dans les Costières de Nîmes (Languedoc-Roussillon), plantée en 1989 et conduite en cordon bilatéral. Les observations ont été effectuées sur huit rangs de 325 ceps pendant six années consécutives entre 2003 et 2008, chaque semaine, de la mi-mai à mi-septembre. Le nombre de ceps vivants au début du suivi était de 2337 et en fin 2067 ceps. Le pourcentage de plantes avec des symptômes est très fluctuant d'une année à l'autre. La maladie est en pleine progression, entre 4 et 7,5 % de nouveaux ceps exprimant des symptômes chaque année. En six années, 34 % des ceps ont exprimé une fois les symptômes.

+ Une vigne de Fer Servadou/140R située sur la commune de Couffouleux (Midi-Pyrénées), plantée en 1991 et conduite en cordon. Les observations, réalisées sur 825 ceps répartis sur 5 rangs, ont été effectuées pendant sept années consécutives (2004 à 2010). Le nombre de ceps vivants au début du suivi était de 814 et en fin d'observation 773 ceps. La maladie est en pleine progression, entre 3 et 22 % de nouveaux ceps exprimant des symptômes chaque année. En sept années, 92,4 % des ceps ont exprimé une fois les symptômes.

Sur chacune de ces parcelles, le suivi montre que :

- + La manifestation des symptômes commence autour de la floraison suite à l'augmentation des températures maximales atteignant environ 30°C.
- + Il existe une bonne corrélation entre le pourcentage annuel d'expression des symptômes de BDA et les pluies se manifestant un mois avant l'apparition des symptômes.
- + Elle montre également une bonne corrélation entre la moyenne des ETP enregistrés lors de la période « date des premiers symptômes – 80 % des symptômes » et le pourcentage annuel d'expression des symptômes.

En conclusion, ce travail a montré que certains facteurs climatiques interviennent sur l'expression des symptômes, mais leurs rôles ne sont pas connus.

La connaissance du climat (pluie, températures maximales pour l'expression des premiers symptômes, ETP) pourrait aider à prédire le pourcentage annuel d'expression.

Remerciements :

Ce travail a été réalisé grâce à la participation financière de France Agri Mer et du CASDAR.

# **INTERACTIONS HOTE- PATHOGENE**

# Influence de la physiologie de la plante sur le développement de l'Esca

Jean-Pascal GOUTOULY

UMR 1287 Ecophysiologie et Génomique fonctionnelle de la Vigne, Institut des Sciences de la Vigne et du Vin, Bâtiment ISVV 210 chemin de Leysotte CS 50008, 33882 Villenave d'Ornon cedex

Au-delà de l'identification et de la connaissance des différents bioagresseurs impliqués, les maladies de dépérissement font intervenir l'aptitude de la plante à répondre à l'agression. Le complexe de champignons associé au dépérissement est présent de façon très générale au vignoble. En revanche, l'expression des symptômes est variable en fonction du contexte écophysologique matérialisant un effet parcelle et même un effet année. Une partie du travail présenté consiste à identifier les facteurs climatiques et édaphiques, ainsi que les modes de conduite de la vigne, susceptibles de favoriser ou au contraire freiner l'expression et la progression de ces maladies de dépérissement. Un réseau de 22 parcelles de Cabernet-Sauvignon réparties sur différents sols du vignoble bordelais a été créé en 2004. Cinq premières années de suivi ont permis de caractériser notamment l'état sanitaire des parcelles : mortalité, taux d'expressions foliaires de maladies et fluctuations inter-annuelles. Les taux d'expression de maladies mesurés sont très variables selon les parcelles, selon les ceps au sein d'une parcelle et selon les millésimes. Différentes mesures ont permis de caractériser les statuts hydrique, azoté et carboné de la vigne, grâce aux techniques de modélisation.

Une analyse statistique multivariée a permis de croiser l'ensemble des caractéristiques résultant soit de l'observation (occurrence et gravité des symptômes) et de la mesure (analyses minérale de sol et du végétal), soit de la modélisation des variables à caractères intégrateur (statut hydrique, azoté, vigueur végétative). Il en résulte que pour notre réseau de 22 parcelles en Gironde et pour les millésimes considérés (2004 à 2008), les forts taux d'expression correspondent à plus de 80% , à des sols plutôt profonds et argileux, sous un climat frais et pluvieux. L'impact de ces conditions climatiques est d'autant plus fort qu'elles ont lieu durant la phase de croissance active de la plante (500°C-800°C, base 10). Lorsque la pluviométrie devient plus faible après 600°C.j, les plantes exprimeraient peu de symptômes, sans distinction entre les formes lentes et les formes foudroyantes.

La bibliographie montre que le rapport Carbone/Azote (C/N) dans les tissus végétaux interagit fortement avec la propagation des pathogènes, en orientant le métabolisme. En effet, un C/N faible (nutrition azotée forte) favorise le métabolisme de croissance. A l'inverse, un C/N élevé favorise le métabolisme secondaire avec la production de composés phénoliques. Ces conditions s'apparaissent lors de stress oxydatifs comme les stress hydrique, azoté ou thermique. Ces voies de biosynthèse sont communes aux voies de biosynthèse des molécules de défense que la vigne met en place pour limiter la progression de pathogène dans le bois. Selon ce schéma, les années aux conditions climatiques favorables à la croissance (2007 par ex en Gironde) conduiraient à une baisse des capacités de résistances de la vigne aux maladies de dépérissement. Ceci se traduirait alors par une augmentation des symptômes foliaires, le complexe de pathogènes rencontrant moins de résistance de la part de la plante. Inversement, les années défavorables à la croissance (par ex 2005) favoriseraient la résistance et entraîneraient une baisse de l'expression foliaire. Une première série de mesure faite avec un capteur portable (Multiplex) confirme cette tendance. Ce fonctionnement écophysologique pourrait expliquer, en partie du moins, les fluctuations inter-annuelles des symptômes. Enfin, ces résultats indiquent également que la progression du complexe de pathogènes dans le bois accentuerait la vulnérabilité de la plante la rendant plus sensible aux variations de l'environnement.

## **Black Dead Arm, caractérisation de mécanismes impliqués dans l'expression des symptômes et identification de toxines.**

Florence FONTAINE<sup>1</sup>, Maryline MAGNIN-ROBERT<sup>1</sup>, Christophe CLEMENT<sup>1</sup>, Christophe BERTSCH<sup>2</sup>, Montserrat RAMIREZ-SUERO<sup>2</sup>, Philippe LARIGNON<sup>3</sup>, Cecilia REGO<sup>4</sup> et Eliane ABOU-MANSOUR<sup>5</sup>

<sup>1</sup>Université de Reims Champagne Ardenne (URCA), UFR Sciences, Unité de Recherche Vignes et Vins de Champagne EA 2069, Laboratoire Stress, Défenses et Reproduction des Plantes, Moulin de la Housse, BP 1039, 51687 REIMS Cedex 2

<sup>2</sup>Université de Haute-Alsace, UFR Pluridisciplinaire Enseignements Professionnalisés Supérieurs, Laboratoire Vigne Biotechnologie et Environnement EA 3391, 33 rue de Herrlisheim, BP 50568, 68008 Colmar cedex.

<sup>3</sup>Institut Français de la Vigne et du Vin, Pôle Rhône-Méditerranée, Domaine de Donadille, 30230 Rodilhan.

<sup>4</sup>Institut Supérieur d'Agronomie, Tapada da Ajuda, 1349-017 Lisbonne, Portugal

<sup>5</sup>Université de Fribourg, Département de Biologie - Plant Biologie, 3 rue Albert Gockel 1700 Fribourg, Suisse

Lors de cette présentation, le programme CASDAR intitulé « Black Dead Arm, caractérisation de mécanismes impliqués dans l'expression des symptômes et identification de toxines. » et porté par l'URCA a été présenté. L'objectif de ce programme est d'acquérir des connaissances sur le Black Dead Arm (BDA) sur les 2 points suivants : l'origine de l'expression des symptômes (hypothèse toxine, bandes brunes, symptômes foliaires) et l'impact de cette maladie sur l'état physiologique de la plante, afin de proposer ultérieurement de nouveaux moyens de lutte.

Dans ce programme, deux champignons de la famille des Botryosphaeriaceés, '*Botryosphaeria obtusa*' (*Diplodia seriata* De Not. (téléomorphe "*Botryosphaeria*" *obtusa* (Schw.) Shoemaker) et *Neofusicoccum parvum* (Pennycook & Samuels) Crous, Slippers & A.J.L. Phillips comb. nov.), seront étudiés. Les travaux seront menés sur le Chardonnay, cépage considéré peu sensible vis-à-vis des maladies du bois, et le Gewurztraminer, cépage connu pour être très sensible à ces maladies. Puisqu'à ce jour aucune étude publiée ne fait référence à des tests de pathogénie des Botryosphaeriaceés sur des cépages français, nous avons donc choisi le cépage Tempranillo (très sensible) comme référents. Sur des boutures de cv Tempranillo, Cecilia Rego a obtenu des symptômes dans le bois et sur la partie herbacée un an après inoculation de champignons de la famille des Botryosphaeriaceés (Rego *et al.*, 2008).

Le programme se découpe en 3 actions qui sont les suivantes :

Action 1 : isolement et identification des toxines produites par *B. obtusa* et *N. parvum*.

Action 2 : tests de pathogénie de *B. obtusa* et *N. parvum* et de leurs toxines identifiées dans l'action 1. Les tests seront menés sur le modèle cal et le modèle bouture.

Action 3 : caractérisation des mécanismes impliqués dans l'établissement et le développement de la maladie. Cette étude sera menée au vignoble et sur le modèle bouture.

Les partenaires impliqués dans ce programme de recherche sont : l'Université Haute-Alsace (C. Bertsch), l'IFV (P. Larignon, P. Kuntzmann), Moët et Chandon (L. Mercier), L'Université de Fribourg (E. Abou-Mansour) et l'Institut Supérieur d'Agronomie de Lisbonne (C. Rego).

**Rego C**, Vaz A, Nascimento T, Cabral A, Oliveira H (2008) Diseases incited Botryosphaeriaceae fungi in Portuguese vineyards. 6<sup>th</sup> International Workshop on Grapevine Trunk diseases, 1-3 Sept. 2008, Florence, Italie.

## **Forme apoplectique de l'esca : altération précoce de la physiologie de la plante**

Maryline MAGNIN-ROBERT, Patricia LETOUSEY, Alessandro SPAGNOLO, Christophe CLEMENT et Florence FONTAINE

Université de Reims Champagne Ardenne (URCA), UFR Sciences, Unité de Recherche Vignes et Vins de Champagne EA 2069, Laboratoire Stress, Défenses et Reproduction des Plantes, Moulin de la Housse, BP 1039, 51687 REIMS Cedex 2

La proposition de nouveaux moyens de lutte contre l'esca ne pourra se faire que suite à une compréhension plus fine de l'esca, passant notamment par une reproduction des symptômes foliaires et une caractérisation de son impact sur la physiologie de la plante. En ce qui concerne l'état de santé de la plante, l'esca apparaît de plus en plus comme une maladie d'équilibre, pour laquelle il convient d'identifier les paramètres entraînant un déséquilibre du système conduisant à l'expression des symptômes foliaires. Pour cela, un suivi au vignoble de différents paramètres associés à la photosynthèse avant et en cours d'expression de la maladie a été initié depuis 2004. Le métabolisme carboné a été choisi car son bon fonctionnement est vital pour la pérennité de la plante et des perturbations précoces de ce métabolisme sont de bons indicateurs de stress. Nous focaliserons également sur les mécanismes de défense puisqu'ils sont connus pour être induits suite à des infections par des pathogènes.

L'étude de la forme apoplectique ou foudroyante de l'esca montre que les mécanismes photosynthétiques sont fortement perturbés 7 jours avant que les feuilles deviennent apoplectiques (sèches), *i.e.* visuellement, aucun signe ne permet de dire que la plante va prochainement exprimer des symptômes foliaires (Letousey *et al.*, 2010). Cette altération est détectable au niveau physiologique avec une chute brutale de l'assimilation du CO<sub>2</sub>, une fermeture des stomates et une baisse de l'activité du photosystème II mais aussi par une diminution de la transcription de certains gènes associés à la photosynthèse. Les mesures de photosynthèse, non destructives, seront donc utilisées comme marqueur précoce de stress de l'apoplexie. A l'inverse, les gènes de réponse de défense suivis sont surexprimés dans les feuilles 7 jours avant et pendant l'expression visible des symptômes sur la plante.

En résumé, la plante perçoit un stress, même avant l'expression visible de la maladie, et active une réponse de type défense. Cette perception est maximale juste un jour avant le dessèchement total des feuilles (Letousey *et al.*, 2010). Les perspectives proposées à ce travail sont d'une part de poursuivre l'étude des différents paramètres de photosynthèses et de stress sur des points de cinétique plus précoces, soit 20 ou 30 jours avant l'expression de la forme apoplectique. Et d'autre part d'élargir la caractérisation de l'impact de la maladie sur la physiologie de la plante par le biais d'analyses transcriptomiques (financement CNIV), métabolomiques et protéomiques, afin d'obtenir une vue globale des métabolismes affectés.

### Référence.

Letousey P., Baillieul F., Perrot G., Rabenoelina F., Boulay M., Vaillant-Gaveau N., Clément C., Fontaine F. (2010) Early events prior to visual symptoms in the apoplectic form of grapevine esca disease. *Phytopathology*, 100(5) : 424-431.

## Effet d'un surnageant de culture de champignons impliqués dans les Maladies du Bois sur des cellules dédifférenciées de vigne

Dr. Montserrat RAMIREZ-SUERO

Laboratoire Biotechnologies Vigne et Environnement EA-3391, Université de Haute-Alsace, Colmar

Dans le cadre du projet Casdar V902, notre laboratoire s'est intéressé à la caractérisation de l'établissement et du développement de la Maladie du Bois. Pour cela un de nos objectifs était de mettre en place un modèle d'infection vigne-pathogène *in vitro* sous conditions contrôlées. Ce système n'est pas nouveau, il existe dans la littérature des travaux où les cals sont cultivés en présence d'autres souches phytopathogènes comme *Phaeoacremonium* et *Phaeomoniella* (Conceição Santos *et al.*, 2005, Conceição Santos *et al.*, 2006). Un des avantages de ce type d'essai est que les résultats d'infection peuvent être reproductibles sur de baguettes de vigne. D'autres avantages comme les conditions contrôlées, le petit espace et la facilité de la manipulation sont des raisons pour lesquelles on utilise ce système d'infection

Pendant nos études deux champignons ont été choisis : *Diplodia seriata* et *Neofusicoccum parvum*. Cinq souches de ces champignons sont actuellement utilisées pour nos études et les résultats présentés dans la Journée de Maladie du Bois correspondent aux souches *N. parvum* isolée de la région de Bourgogne (*N.p.* Bourgogne) et *N. parvum* isolée du vignoble de Sainte Victoire (*N.p.* Ste. Victoire). Les bioessais consistent à la mise en contact de cals de *Vitis vinifera* cv. Chardonnay (cellules dédifférenciées obtenues à partir d'anthères) avec le milieu de culture de cals (milieu minimum solide) contenant différentes concentrations de surnageant de culture des champignons étudiés (30, 40 et 50% v/v). Des observations macroscopiques ont été réalisées et des cals ont été prélevés à différents temps (0, 1, 3 et 6 jours). L'ARN de ces échantillons a été extrait, et ensuite une réaction de transcriptase reverse a été réalisée pour obtenir de l'ADNc. Cet ADNc a été amplifié par PCR à l'aide d'amorces sélectionnées à partir de diverses voies de signalisation de défense chez les plantes. Les produits de PCR ont été déposés dans un gel d'agarose et l'expression de gènes a pu être semi quantifiée.

Parmi les résultats obtenus, les cals qui étaient en contact avec la souche *N.p.* Bourgogne (la souche plus agressive, les cals deviennent marron rapidement, nécrosés) ont montré une surexpression du gène HSR (Hypersensitive response, associé à la mort cellulaire) et une faible expression du gène SOD (superoxyde dismutase, associé à la détoxification cellulaire). Par contre, les cals qui étaient en contact avec la souche *N.p.* Ste Victoire (souche moins agressive, les cals deviennent marron plus lentement) ont eu une faible et forte expression de ces gènes respectivement, résultats logiques par rapport à l'observation visuelle de symptômes. Les résultats ont aussi montré l'expression des gènes PR (PR2, PR3, PR6, PR10) qui ont été décrits sur les différentes voies de signalisation chez *Arabidopsis thaliana* (Voie de l'acide salicylique associé à l'expression de gènes PR1, PR2 et PR5, voie du Jasmonate et de l'éthylène associé à l'expression de gènes PR3 et PR4). Ces derniers résultats pourraient indiquer que les voies de signalisation ne s'éteignent forcément et nous encourageant à faire une étude plus complète par q RT-PCR de gènes associés aux trois voies de signalisation ainsi que des essais complémentaires (dosage d'acide salicylique entre autres).

Conceição Santos, Silvia Fragoiroa and Alan Phillips, (2005). Physiological response of grapevine cultivars and a rootstock to infection with *Phaeoacremonium* and *Phaeomoniella* isolates: an in vitro approach using plants and calluses. *Scientia Horticultura* 103, 187-198.

Conceição Santos, Sílvia Fragoiro, Helena Valentim, Alan Phillips, (2006). Phenotypic characterisation of *Phaeoacremonium* and *Phaeomoniella* strains isolated from grapevines: enzyme production and virulence of extra-cellular filtrate on grapevine calluses. *Scientia Horticulturae*, 107(2), 123-130.

# **OUTILS DE DIAGNOSTIC**

## Développement d'un outil de détection des champignons associés aux maladies du bois de la vigne en France

Alban JACQUES, Jérôme POUZOULET, Marie UMMERZHEIM et Nathalie MAILHAC

INPT-E.I. Purpan, Laboratoire d'Agro-Physiologie, Equipe « filière Vin, Viticulture et OEnologie », 75, voie du T.O.E.C., BP57611, 31076 Toulouse Cedex 3.

Les maladies du bois de la vigne que sont l'ESCA et le BDA sont actuellement en progression au sein de nos vignobles et deviennent un problème particulièrement préoccupant et dommageable dans certaines régions viticoles. Ces maladies induisent une baisse de rendement due aux symptômes et un rajeunissement du vignoble, dû à la mortalité prématurée des ceps malades. Les champignons ascomycètes associés profitent des plaies occasionnées lors de la taille de la vigne pour pénétrer sous forme de spores. Ils se développent ensuite pendant plusieurs années au niveau des vaisseaux conducteurs du bois, sans qu'aucune manifestation externe de ces maladies ne soit visible. On sait aujourd'hui que des champignons ascomycètes associés à ces maladies contaminent le matériel végétal dès son étape de multiplication en pépinière. Au vu de ces différents éléments, il apparaît aujourd'hui nécessaire de développer des outils de diagnostic rapides et performants. Dans ce but, nous avons mis au point et validé 5 couples d'amorces utilisables en PCR en temps réel et spécifiques des 5 principaux agents pathogènes impliqués en France : *Eutypa lata*, *Phaeomoniella chlamydospora*, *Togninia minima*, *Botryosphaeria obtusa* et *Neofusicoccum parvum* et ses espèces proches. Ainsi deux 3-plexes quantitatifs ont pu être élaborés en utilisant la technologie Plexor (Promega). Afin de démontrer la pertinence de cet outil, nous avons analysé les plaies (soudure et talon) de 50 plants commerciaux âgés de 6 mois. Il en ressort que notre méthode permet d'obtenir un diagnostic rapide et cohérent avec les fréquences d'infections précédemment décrites par la méthode microbiologique. Enfin, la comparaison des résultats obtenus sur ces différentes plaies est discutée.

# **METHODES DE LUTTE**

# **Recherche et évaluation de procédés permettant la production de plants indemnes de champignons associés aux maladies du bois (programme Casdar).**

Laurent BERNOS

Vinopôle Bordeaux Aquitaine - Chambre d'Agriculture de la Gironde, 39 rue Michel Montaigne  
– BP115 – 33294 Blanquefort Cedex

Des études menées en pépinière ont montré que certains champignons responsables des trois principales maladies fongiques de dépérissement de la vigne que sont l'eutypiose, l'esca et le Black Dead Arm sont présents lors des étapes de production des plants. Certaines ont pu être identifiées, telles que la réhydratation, la stratification (pour *Phaeoconiella chlamydospora* et certains *Botryosphaeriaceae*) et l'élevage au champ (pour *Phaeoacremonium aleophilum*, *Phomopsis viticola* et certains *Botryosphaeriaceae*). A ce jour, aucun moyen efficace de désinfection n'existe quelle que soit l'étape de production des plants. Seul le traitement à l'eau chaude utilisé pour la lutte contre la flavescence dorée montre une efficacité partielle sur certains de ces champignons.

Ce projet de "**recherche et évaluation de procédés permettant la production de plants indemnes de champignons associés aux maladies du bois**" a pour objectif d'améliorer la qualité de l'état sanitaire de plants par l'étude et la mise au point de processus optimisés de production. L'évaluation de l'intérêt de méthodes nouvelles de production du matériel végétal nécessite la mise en œuvre d'outils de détection et d'identification des champignons inféodés aux maladies du bois. En effet, les méthodes microbiologiques actuellement disponibles sont basées sur des techniques d'isolement et d'identification phénotypique classiques. Elles permettent de qualifier mais non de quantifier la présence des champignons dans les tissus internes du bois. Elles sont cependant lourdes à mettre en œuvre et inefficaces pour rechercher la présence des champignons à la surface des plants et dans leur environnement. Ainsi, parallèlement à la mise en place d'essais visant à améliorer le processus de production des plants, ce projet vise à mettre au point des outils moléculaires d'identification et de quantification des champignons inféodés aux maladies du bois plus souples et plus performants

Le projet est découpé en 4 actions :

Action 1 : Développer de nouveaux outils de diagnostic des champignons pour le contrôle de la qualité des plants : adaptation de la PCR quantitative.

Action 2 : Définir des processus de multiplication des plants permettant de garantir la production d'un matériel indemne de champignons associés aux maladies du bois en sortie de pépinière.

Action 3 : Etudier en plein champ l'intérêt du traitement à l'eau chaude des plants au cours de leur production

Action 4 : Diffuser à l'ensemble de la profession les acquis scientifiques et avancées techniques obtenus.

## **Développer de nouveaux outils de diagnostic des champignons pour le contrôle de la qualité des plants : adaptation de la PCR quantitative.**

A la suite des travaux de l'IFV et du laboratoire d'agroécophysiole de l'Ecole d'Ingénieurs de Purpan qui ont permis l'élaboration de techniques spécifiques de détection des champignons impliqués dans les maladies du bois, nous proposons d'utiliser et

d'optimiser les techniques de multiplex ainsi que l'approche de PCR quantitative pour développer une méthode fiable, rapide et très sensible de détection des champignons des maladies du bois durant les étapes de productions des plants et à la sortie de la pépinière. Cette méthodologie pourra à terme servir d'outil de diagnostic pour valider la qualité des plants à la sortie de la pépinière.

### **Définir des processus de multiplication des plants permettant de garantir la production d'un matériel indemne de champignons associés aux maladies du bois en sortie de pépinière.**

Cette action a pour objectifs :

- d'une part, de tester l'efficacité de nouvelles substances antifongiques pour la désinfection des plants produits en pépinière
- d'autre part d'améliorer les processus de production de plants en étudiant l'influence de l'âge des parcelles d'où est issu le matériel végétal ainsi que les méthodes d'obtention des plants (greffés soudés, plants en pots, boutures herbacées) après modification de différentes étapes de production (réhydratation, type de greffe, stratification...).

### **Etudier en plein champ l'intérêt du traitement à l'eau chaude des plants au cours de leur production**

Le traitement à l'eau chaude (TEC) –trempage des bois ou des plants dans l'eau à 50°C pendant 45 minutes- permet de réduire la présence d'un certain nombre de champignons dans les tissus des bois. L'étude porte sur la démonstration de l'efficacité ou non du traitement à l'eau chaude pour diminuer la vitesse de propagation des maladies du bois dans le vignoble à partir de l'étude de l'apparition des symptômes au sein de parcelles plantées à des dates différentes et constituées de plants traités à l'eau chaude et de plants non traités.

### **Diffuser à l'ensemble de la profession les acquis scientifiques et avancées techniques obtenus**

La diffusion et la communication des résultats vers différentes cibles seront effectuées auprès des pépiniéristes, des viticulteurs, des techniciens et des lycées agricoles.

Elle s'appuiera sur des articles et des plaquettes de synthèse des travaux effectués présentant les résultats des différentes actions engagées. Les sites Internet des partenaires seront utilisés (Matevi, Aredvi, Vignevin, BNIC...).

Les résultats seront également présentés dans les colloques nationaux (Mondiaviti, Vinitech, Sitevi...) et dans des congrès internationaux dont le « Workshop of Grapevine Trunk Disease » et au groupe de travail national maladies du bois (techniciens et scientifiques).

- Ce projet implique de nombreux partenaires techniques comme l'Ecole d'ingénieurs de Purpan, (Toulouse), Bureau National Interprofessionnel du Cognac (BNIC) (Cognac); le Syndicat des Producteurs de Bois et Plants de Vigne de Vaucluse (Orange); la Chambre d'agriculture Vaucluse (Avignon); la Chambre d'Agriculture de l'Aude (Carcassonne); la Chambre d'Agriculture Gard (Nîmes); la Chambre d'Agriculture Gironde (Bordeaux); la Chambre d'Agriculture Saône-et-Loire (Macon); la Chambre d'Agriculture de l'Yonne (Auxerre); la Chambre Régionale d'Agriculture de Bourgogne (Quétigny); l'IFV Pôle Sud-Ouest – (L'isle sur Tarn); l'IFV pôle Rhône-Méditerranée, (Rodilhan); l'IFV pôle Val de Loire (Vertou)

A la fin de ce projet, nous espérons mettre au point des méthodes de production de plants sains à la sortie de la pépinière et d'en garantir leur état sanitaire, notamment par la mise au point d'un outil PCR spécifique des champignons associés aux maladies du bois, fiable, peu cher permettant un contrôle aisé au cours des différentes étapes de production par les pépiniéristes.

Nous attendons aussi de l'étude quelle apporte des éléments de réponses quant à l'effet du traitement des plants à l'eau chaude sur les maladies du bois en plus de son action contre le phytoplasme de la flavescence dorée. Enfin, le transfert des méthodes de diagnostic PCR ainsi que les méthodes de production permettant l'obtention de plants sains sera faite à destination des pépiniéristes et des pré-multiplicateurs. L'objectif étant d'obtenir des outils fiables, rapides, économiques et simples d'utilisation.

Nous ne sommes qu'à la moitié du projet mais nous fondons beaucoup d'espoir sur les résultats que nous allons obtenir afin de contribuer à la lutte contre les maladies du bois.

## **Le point des recherches sur les méthodes de lutte en pépinière/ transfert au champ**

François BERUD<sup>1</sup>, Philippe LARIGNON<sup>2</sup> et Myriam BERUD<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Chambre d'agriculture du Vaucluse, 2260, route du Grès, 84100 Orange

<sup>2</sup> Institut Français de la Vigne et du Vin (ENTAV/ITV France) – Domaine de Donadille, 30230 Rodilhan,

<sup>3</sup> SPBPVV, 384, route de Caderousse, 84100 Orange

Les résultats présentés concernent l'observation des parcelles plantées à partir de plants de vigne issus des essais « esca et pépinières » conduits depuis l'année 2000 par la CA 84, le Syndicat des Producteurs de Bois et Plants de Vigne de Vaucluse (SPBPVV). A ce jour 7 parcelles ont été plantées avec les cépages Syrah et Mourvèdre et correspondent à environ 4 000 plants.

### **Différents essais plantés ou à planter**

- Inoculation des champignons à très forte dose (Essais pathogénie) 2003 et 2004
- Traitement à l'eau chaude 2004 2008 2009 2010
- Utilisation d'un champignon antagoniste *Trichoderma atroviride*, Esquive 2006 2008 2009 2010
- Désinfection des bois par le Cryptonol 2006
- Méthodes de stratification (à l'eau ou à la tourbe) 2006.
- Greffage avec des greffons de ceps à symptômes 2008 2011
- Fongicides à base de produits naturels 2011

### **Résultats obtenus**

- Presque aucun symptôme d'esca BDA à ce jour dans nos essais (essais encore jeunes, il convient de travailler avec des cépages sensibles et être patient)
- Pas d'effet des traitements à l'eau chaude sur les taux de reprise sauf un essai sur 4.
- Pas d'effets nets à ce jour sur le dépérissement de la Syrah des techniques testées

### **Perspectives de travaux**

- Suivi des parcelles déjà plantées essentiel pour faire le lien % de présence des champignons précurseurs et les symptômes au champ d'esca BDA.
- Plantation des essais 2010
- Essai avec nouveaux produits naturels
- Essai avec nouveau champignon potentiellement antagoniste...

## **Les maladies du bois**

### **Tests de méthodes de désinfection en pépinière**

Virgnie VIGUES<sup>1</sup>, Olivier YOBREGAT<sup>1</sup>, Brigitte BARTHELEMY<sup>1</sup>, Flora DIAS<sup>1</sup>, Morvan COARER<sup>2</sup>, Katia GIRARDON<sup>3</sup>, François BERUD<sup>4</sup>, Michel MULLER<sup>5</sup> et Philippe LARIGNON<sup>5</sup>

<sup>1</sup>IFV Pôle Sud-Ouest - V'Innopôle Brames Aigues BP 22 - 81310 LISLE/TARN, France

<sup>2</sup>IFV Pôle Val de Loire - Château de la Frémoire - 44120 VERTOU, France

<sup>3</sup>SPBPVV, 384, route de Caderousse, 84100 ORANGE, France,

<sup>4</sup>Chambre d'agriculture du Vaucluse, 2260, route du Grès, 84100 ORANGE, France,

<sup>5</sup>IFV Pôle Rhône-Méditerranée - Domaine de Donadille - 30230 RODILHAN

Suite aux différentes études menées en pépinière sur les champignons associés aux maladies du bois (résultats parus dans *Phytoma* n°609 et n°621), de nombreuses études menées de concert entre le Sud-est et le Sud-ouest de la France ont permis d'évaluer l'efficacité de nombreuses méthodes de désinfection des plants en pépinière à l'égard des champignons associés aux maladies du bois.

#### **Evaluation de méthodes de désinfection**

Quel que soit le centre d'études, les méthodes de désinfection sont généralement testées pendant la phase de réhydratation. En effet, c'est à ce stade que le matériel végétal est le moins fragile permettant donc l'utilisation de divers process sans trop de dégâts sur la viabilité du plant. Les plants ainsi traités suivent ensuite un itinéraire de fabrication et sont analysés au moment de leur commercialisation. Suivant les modalités, les taux de réussite, la disponibilité du matériel végétal..., entre 80 et 300 plants traditionnels ou en pots sont analysés par modalité.

L'évaluation de l'efficacité du process est basée sur le taux de présence dans le plant du champignon considéré. La méthode d'analyse utilisée est celle de Larignon et Dubos (1997). Les plants sont découpés sur 6 niveaux (greffon, soudure et 4 niveaux du porte-greffe) comme le montre la figure 1. Les fragments de bois issus de ces niveaux sont mis en culture et la lecture des ensemencements est réalisée un mois plus tard. Les différents champignons associés aux maladies du bois sont recherchés : *Phaeomoniella chlamydospora* (*Pch*), *Phaeoacremonium aleophilum* (*Pal*), *Diplodia seriata* (*Ds*), *Neofusicoccum parvum* (*Np*), *Phomopsis viticola* (*Pv*) et *Neonectria liriodendri* (*Nl*). Lorsque des produits à base de *Trichoderma* sont testés comme moyen de "désinfection", un milieu inhibant la croissance de ces derniers est utilisé. En effet, ces microorganismes poussent tellement vite qu'ils peuvent masquer le développement des champignons recherchés.

Les taux de contamination des différentes modalités sont comparés à un témoin constitué de plants issus d'un même lot mais dont l'eau de réhydratation n'a subi aucun traitement.

#### **Efficacité de méthodes de désinfection**

Tous les produits testés au fil des années sont répertoriés dans le tableau ci-dessous.

Tableau I : synthèse des résultats

Méthodes de désinfection	Conditions de test			Résultats						
	Substance active	Concentration	Application	Viabilité des plants	Efficacité					
					Pch	Pal	Ds	Np	Pv	Nl
<b>Tests sur des plants traditionnels stratifiés à l'eau</b>										
Sodium hypochlorite	hypochlorite de sodium	0,5%	2h de trempage	☺	☹	☹	☺	☹	☹	☹
Cryptonol®	Oxyquinoléine	2%	2h de trempage	☺	☹	☹	☹	☹	☹	☹
		3,5%	4h de trempage	☺	☹	☹	☺	☹	☺	☹
Essence végétale n°1	/	0,3%	4h de trempage	☺	☹	☹	☹	☹	☹	☹
Essence végétale n°2	/	0,3%	4h de trempage	☹	☹	☺	☹	☹	☹	☹
Souche T7	<i>Trichoderma atroviride</i>	10 <sup>6</sup> spores/mL	4h de trempage	☺	☹	☹	☹	☹	☹	☹
			Pulvérisation sur greffons et porte-greffes	☺	☹	☹	☹	☹	☹	☹
Produit commercial à base de <i>Trichoderma</i>	<i>Trichoderma atroviride</i>	50g/L (10 <sup>7</sup> ufc/g)	Pulvérisation après le greffage	☺	☹	☹	☹	☹	☹	☹
Traitement à l'eau chaude	/	/	50°C 45min sur greffons et porte-greffes (1)	☺	☺	☹	☺	☹	☺	☺
	/	/	50°C 45min sur greffés-soudés (2)	☺	☺	☹	☺	☺	☺	☺
	/	/	(1) et (2)	☺	☺	☹	☺	☺	☺	☺
<b>Tests sur des plants en pots stratifiés à la sciure</b>										
Sodium hypochlorite	hypochlorite de sodium	0,5%	12h de trempage	☹	☹	nd	☹	☺	☹	☹
Cryptonol®	Oxyquinoléine	3,5%	12h de trempage	☺	☹	nd	☹	☹	☹	☹
Quadris Max®	Azoxystrobine, folpel	200g/hL	1h de trempage	☺	☹	nd	☺	☹	☹	☹
Switch®	fludioxonil, cyprodinil	100g/hL	1h de trempage	☺	☺	nd	☺	☺	☹	☹
Cabrio Top®	Pyraclostrobine, métirame zinc	150g/hL	1h de trempage avant la réhydratation	☺	☹	nd	☺	☺	☹	☹
			1h de trempage après la réhydratation	☺	☺	nd	☺	☹	☹	☹
Prev B2®	Bore, D-limonène	0,8%	20h de trempage	☹	☺	nd	☺	☹	☹	
Souche T7	<i>Trichoderma atroviride</i>	10 <sup>5</sup> spores/mL	20h de trempage	☺	☹	nd	☹	☹	☹	☹
Souche T10	<i>Trichoderma atroviride</i>	10 <sup>5</sup> spores/mL	20h de trempage	☺	☹	nd	☹	☹	☹	☹
Esquive®	<i>Trichoderma atroviride</i> I1237	10g/L 10 <sup>9</sup> cfu/g	20h de trempage	☺	☹	nd	☹	☹	☹	☹
Produits commerciaux à base de <i>Trichoderma</i>	<i>Trichoderma atroviride</i>	5g/L	20h de trempage	☺	☹	nd	☹	☹	☹	☹
	<i>Trichoderma</i> sp.	5g/L	20h de trempage	☺	☹	nd	☹	☹	☹	☹
<i>Gliocladium roseum</i>	<i>Gliocladium roseum</i>	10 <sup>6</sup> spores/mL	20h de trempage	☺	☹	nd	☹	☹	☹	☹
Ozonisation	/	/	8 fois le volume du bain de réhydratation	☺	☹	nd	☹	☹	☹	☹
Traitement à l'eau chaude	/	/	50°C 45min sur greffons et porte-greffes	☺	☺	nd	☺	☺	☺	☹

☺ : bonne efficacité

☺ : efficacité variable ou devant être confirmée

☹ : aucune efficacité

Nd : Non déterminé car Pal n'est que très rarement isolé dans les plants conditionnés en pots

Les temps de trempage et les concentrations sont à ajuster pour éviter les effets négatifs sur la viabilité des plants. La principale difficulté est de trouver un juste équilibre entre viabilité des plants et efficacité.

### **Conclusion**

Beaucoup de méthodes testées se sont, malheureusement, avérées inefficaces.

Un fongicide semble être intéressant : Switch® qui diminue fortement le taux de présence de *Neofusicoccum parvum* dans les plants en pots. Néanmoins ce résultat mérite d'être confirmé sur des niveaux de contaminations plus élevés.

La seule méthode donnant des résultats intéressants depuis plusieurs années est le traitement à l'eau chaude (50°C pendant 45 min) car il permet une baisse du taux de présence de *D. seriata*, *P. chlamydospora* and *Phomopsis viticola*. Ce traitement semble plus pertinent et efficace lorsqu'il est réalisé sur les greffés-soudés juste avant leur commercialisation. Les recherches s'orientent aujourd'hui vers la recherche d'une méthode capable de diminuer voire d'éliminer *N. parvum* en complément du traitement à l'eau chaude. Dans cette optique, l'utilisation du Switch® semble une piste à suivre.

## Lutte biologique et maladies du bois chez la vigne

Essaïd AIT BARKA, Florence FONTAINE et Christophe CLEMENT

Université de Reims Champagne Ardenne (URCA), UFR Sciences, Unité de Recherche Vignes et Vins de Champagne EA 2069, Laboratoire Stress, Défenses et Reproduction des Plantes, Moulin de la Housse, BP 1039, 51687 REIMS Cedex 2

En phytoprotection, la lutte biologique consiste en l'utilisation de micro-organismes afin de contrecarrer les effets délétères des parasites des plantes cultivées. Chez la vigne, nous avons inoculé une bactérie (*Burkholderia phytofirmans*) à des vitroplants. Cette bactérie non pathogène colonise l'ensemble des organes de la plante et lui confère *in vitro* un fort niveau de protection contre *Botrytis cinerea*.

L'effet protecteur de cette bactérie est la résultante de deux actions : (i) la bactérie est antagoniste du champignon et (ii) elle stimule les défenses naturelles de la vigne. Nous avons testé également cette bactérie contre les champignons impliqués dans l'ESCA : *Burkholderia phytofirmans* présente un effet fongicide contre ces champignons, ce qui en fait un agent potentiellement utilisable contre les maladies du bois. Dans le contexte actuel où les vignerons ne disposent pas de moyens fiables de protection contre les maladies du bois, cette piste pourrait s'avérer fructueuse.

La difficulté réside dans le transfert des résultats du laboratoire au vignoble. Il est donc proposé de construire un projet fédérant les acteurs de la recherche, les acteurs de terrain et les pépiniéristes, afin d'envisager de tester l'efficacité de cette bactérie au vignoble. Compte tenu du temps nécessaire à la déclaration de la maladie, il est nécessaire d'envisager un projet sur le long terme. Une stratégie pourrait consister à bactériser des vitroplants, les acclimater avant de les greffer, puis de suivre au vignoble (i) l'apparition ou pas des symptômes, (ii) la longévité de la bactérie dans la plante et (iii) les effets collatéraux potentiels de la présence d'une telle bactérie à long terme dans la plante (vigreur, rendement, ...).

## Evaluation de l'efficacité des *Trichoderma* en protection des plaies de taille à l'égard du champignon *Eutypa lata*

Philippe LARIGNON

IFV Pôle Rhône-Méditerranée, Domaine de Donadille, 30230 Rodilhan

Les *Trichoderma* sont des agents biologiques qui sont utilisés pour lutter contre les agents pathogènes. Ils agissent selon divers mécanismes pour les contrôler : le mycoparasitisme, l'antibiose et la compétition. Chez la vigne, ces champignons sont autorisés à être utilisés dans différents pays en protection des plaies de taille à l'égard de *Eutypa lata* comme la Nouvelle-Zélande, l'Australie et récemment la France. Cependant, aucune expérimentation ne montre réellement son efficacité envers l'eutypiose. Nous ne savons pas si la protection des plaies de taille par ces champignons limite réellement l'expression de l'eutypiose dans le vignoble. L'autorisation d'un tel produit a été principalement basée sur des tests réalisés sur les plaies de taille. Dans la littérature, il est difficile de juger véritablement son efficacité à l'égard de ce champignon en protection des plaies de taille. Aucune publication ne décrit les conditions climatiques au cours desquelles se sont déroulées les expérimentations, plus particulièrement celles situées entre la protection et l'apport de l'agent pathogène sur la plaie de taille. Il faut rappeler que la dissémination des ascospores d'*E. lata* se déroule lors de périodes pluvieuses. Elle prend place deux heures à trois heures après une pluie et se termine 24 heures, voire 36 heures après la fin des précipitations. Il a été également montré que la pluie joue un rôle important sur la migration des spores dans les tissus sous-jacents à la plaie de taille. Il faut constater qu'aucune publication ou méthode comme celle utilisée en France (méthode CEB n°155) ne fait allusion à cette période pluvieuse lors des tests portant sur l'évaluation de produits à l'égard de ce champignon. Par conséquent, il est difficile vraiment de juger de l'efficacité du produit. Un produit efficace ne le serait peut-être plus si les tests sont réalisés dans de bonnes conditions. Ainsi, en prenant compte cela, les tests doivent être obligatoirement être réalisés selon ces conditions pour se rapprocher du plus possible des conditions naturelles\* : Taille, protection, pluie inoculation de l'agent pathogène dans les 24 heures suivant la pluie, incubation, analyses microbiologiques.

\* LARIGNON P. 2010. Eutypiose, la pluie favorise la pénétration des spores. Conséquences sur la pertinence de la méthode à utiliser pour évaluer les produits de protection des plaies de taille de la vigne. **Phytoma**, 634, 53-55.

Les études réalisées dans ces conditions concernant l'effet de six souches de *Trichoderma* (4 de l'espèce *atroviride* et 2 de l'espèce *harzianum*)\*\* sur *E. lata* en protection des plaies de taille montrent que :

- Les *Trichoderma* se retrouvent sur les plaies et se développent dans les tissus ligneux,
- Certaines souches de *Trichoderma atroviride* T4, T7 et T10 retardent la colonisation du bois par *E. lata* les premiers mois de la protection, mais ce retard n'est plus observé après onze mois. De plus, il faut noter que *E. lata* est plus facilement trouvé sur les dix premiers millimètres des plaies traitées par les *Trichoderma* que sur celles des plaies non traitées.

\*\*Protection immédiatement après la taille (environ  $10^7$  conidies/ plaie), pluie (44 mm), inoculation le lendemain (1500 ascospores d'*E. lata*/plaie), incubation 3, 7 et 11 mois.

En conclusion, cette étude montre que les souches de *Trichoderma* testées ne sont pas efficaces envers *Eutypa lata* dans les conditions expérimentales décrites.

**Remerciements :** Ce travail a été réalisé grâce à la participation financière du CASDAR et de France AGRIMER.

## Effets anti-fongiques des saponines sur la croissance de champignons phytopathogènes

Christophe BERTSCH

Université de Haute-Alsace, Laboratoire Vigne Biotechnologie et Environnement EA 3391, 33 rue de Herrlisheim, BP 50568, 68008 Colmar cedex.

Aucun moyen de lutte efficace n'est actuellement disponible contre les maladies du bois. L'objectif de ce projet s'inscrit dans une proposition de mise en place de nouveau traitement « biologique » respectueux des exigences du Grenelle de l'environnement et du plan Ecophyto 2018.

Suite à la reconnaissance de l'agent pathogène, les mécanismes de défenses de la plante peuvent se découper en trois étapes successives, la production de formes actives d'oxygène, les étapes de signalisation et la production protéines PR, accompagnée de la biosynthèse de métabolites secondaires toxiques visant à inactiver les organismes pathogènes. Dans ces derniers composés nous retrouvons deux grandes classes : les phytoalexines (stilbènes, flavonoïdes...) et les composés antifongiques préformés (phytoanticipines) comme les glycosides cyanogéniques, les glycosinolates, les acides cyclo-hydroxamiques et les saponines.

Ces dernières semblent avoir une activité antifongique intéressante. Les saponines sont des molécules produites par un grand nombre de plantes et dont la présence a été associée à un effet antifongique. Elles ont une structure en deux parties : une partie triterpénoïde, stéroïde ou alcaloïde stéroïdien et une partie oligosaccharidique courte liée en C3 qui se compose d'un maximum de cinq molécules de sucre (habituellement glucose, arabinose, acide glucuronique, xylose, ou rhamnose). Les saponines triterpénoïdes sont trouvées essentiellement chez les dicotylédones et chez quelques monocotylédones tandis que les saponines stéroïdiennes se trouvent principalement chez les monocotylédones et chez quelques dicotylédones [Armah et al., 1999; Osbourn, 1996].

Le mécanisme d'action des saponines sur les champignons est basé sur l'interaction de ces composés avec les stérols de la membrane fongique [Armah et al., 1999; Keukens et al., 1995]. Un complexe stérol-saponine est formé dans la membrane, et va conduire à la formation d'agrégats stérol-saponine qui vont évoluer en pores. L'intégrité de la membrane plasmique fongique se trouve ainsi compromise, ce qui va diminuer le potentiel membranaire et rendre le champignon plus accessible aux autres composés antimicrobiens produits par la plante. Ces deux effets conjugués vont conduire à la mort du champignon.

L'importance des saponines pour la plante en tant que mécanisme de résistance aux infections a pu être également démontrée par l'expérience complémentaire réalisée avec des mutants de plantes sans saponines : ces souches sont plus sensibles aux infections fongiques que les souches sauvages [Papadopoulos et al., 1999].

Chez la Vigne, la nature et la diversité des saponines sont encore mal connues, bien qu'il semble établi que cette plante produise bien ce type de composés [Waterhouse et al., 2003; Arramon et al., 2003].

Nous avons montré que les saponines issu du *Quillaja bark* ont une action antifongique sur *Botrytis cinerea* et une action nématocide sur *Xiphinema index*, vecteur du GFLV. Il nous semble intéressant d'évaluer l'impact des saponines sur les agents pathogènes responsables des maladies du bois de la vigne.

## Mise en place d'essais pour évaluer l'efficacité d'une stratégie de traitement chimique à l'encontre des maladies du bois

Françoise ROCHER<sup>1</sup>, Jean-François CHOLLET<sup>1</sup> et Jean-Louis BONNEMAIN<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Laboratoire "Synthèse et Réactivité des Substances Naturelles", Université de Poitiers, UMR-CNRS 6514, 40 avenue du Recteur Pineau, F-86022 Poitiers cedex, France

<sup>2</sup> Laboratoire de Catalyse en Chimie Organique, Université de Poitiers, UMR-CNRS 6503, 40 avenue du Recteur Pineau, F-86022 POITIERS cedex, France

L'objectif de notre projet de recherche est de proposer des stratégies de traitements chimiques pour lutter contre les maladies du bois chez la vigne avec une application par pulvérisation foliaire classique. Les fongicides actuellement commercialisés sont dénués d'efficacité contre ce type de maladies, essentiellement en raison de la localisation vasculaire des champignons. En effet, ces fongicides ne sont pas ou insuffisamment mobiles après pulvérisation foliaire et n'atteignent donc pas leur cible. La stratégie que nous développons consiste à modifier des molécules existantes pour obtenir des produits capables, après une application foliaire, de circuler jusqu'au cœur du cep où sont localisés les pathogènes et de nous intéresser à des stimulateurs de défense mobiles dans la plante.

Dans un premier temps, nous nous sommes proposés d'emprunter un mécanisme physiologique de la plante, dit de « piégeage d'acide » et bien connu en ce qui concerne les herbicides. Dans ce cadre, nous avons utilisé un fongicide d'intérêt, actif *in vitro* sur des champignons du bois, et sur lequel nous avons greffé une fonction acide carboxylique. Cette stratégie a été appliquée pour synthétiser de nombreux dérivés appartenant à la famille des phénylpyrroles. Un composé a retenu notre attention, nommé « F30 » : d'une part, il présente une activité fongistatique sur certains champignons (du moins sur certaines souches) responsables des maladies du bois et d'autre part, son absorption par le mécanisme de piégeage d'acide a été confirmée (Chollet et al., 2004, 2005). En complément de cette stratégie fongicide directe, nous proposons aussi d'associer un activateur des défenses de la plante, en l'occurrence un dérivé halogéné de l'acide salicylique (AS). Nous avons montré qu'après application foliaire, l'AS et certains dérivés halogénés étaient mobiles dans le phloème avant de passer en petite quantité vers le xylème (Rocher et al., 2006, 2009).

Afin d'initier l'expérimentation de ce traitement et compte tenu de la complexité du problème posé, nous avons travaillé sur un dispositif simple dans un but exploratoire. Nous avons retenu un seul cépage, le Sauvignon - connu pour être particulièrement sensible à l'esca - cultivé de deux façons différentes : soit des boutures en milieu hydroponique sur pains de laine de roche, soit des greffes (sur SO4) installées en plein air dans des pots avec un mélange terre/terreau. Quatre espèces fongiques majeures ont été inoculées : *Eutypa lata* (El), *Neofusicoccum parvum* (Np), *Phaeoconiella chlamydospora* (Pch) et *Phaeoacremonium aleophilum* (Pal). Ces champignons ont été inoculés séparément, à l'exception de Pch et Pal qui ont également été étudiés conjointement. Une partie de ces essais a été traitée avec les solutions suivantes : F30 5 mM puis un analogue halogéné d'AS 5 mM, toutes deux additionnées d'un agent mouillant commercial (AGRAL 90 à 0,05 %) pour favoriser l'étalement et la pénétration cuticulaire des produits. Les plantes restantes ont servi de témoin.

En plein air, sur les plants greffés, nous avons pulvérisé successivement ces deux solutions sur le feuillage (4 traitements en 2009 et 4 en 2010). Aucun signe de phytotoxicité n'a été noté. Plus d'un an après la mise en place de l'essai, nous n'observons ni symptômes foliaires ni différences entre les individus traités et les témoins.

Parallèlement, des jeunes boutures en serre sont traitées par badigeonnage au pinceau sur les deux faces des feuilles adultes (7 fois en 2009 et 3 en 2010). Les observations réalisées au cours de l'année 2010 nous montrent deux cas de figure : i/ les individus inoculés avec les champignons à développement lent (Pal et/ou Pch) ne présentent pas de symptômes visuels et donc aucun effet du traitement n'est observable ; ii/ contrairement aux essais de plein air, les individus inoculés avec des champignons à croissance plus rapide (Np ou El) présentent des symptômes parfois très marqués sur les parties aériennes, ce qui a permis d'observer l'état sanitaire plus satisfaisant des plantes traitées par rapport aux plantes témoins. Il faut cependant nous assurer que l'inoculation des plants est bien effective et que le champignon s'est réellement moins développé en présence du traitement, d'où une collaboration envisagée avec l'École d'Ingénieurs de Purpan qui maîtrise les techniques de biologie moléculaire adaptées à ce type d'investigation.

Enfin, au vu de ces résultats exploratoires, de nouveaux essais seront mis en place au printemps prochain avec les mêmes matériels végétaux et fongiques mais sur un plus grand nombre d'individus pour voir si l'effet du traitement est reproductible puis pour tenter d'expliquer quel est l'effecteur essentiel du traitement : F30, le dérivé halogéné de l'AS ou la synergie des deux composés.

**Chollet JF, Rocher F, Jousse C, Delétage-Grandon C, Bashiardes G, Bonnemain JL** (2004) Synthesis and phloem mobility of acidic derivatives of the fungicide fenpiclonil. *Pest Manag Sci* **60**: 1063-1072

**Chollet JF, Rocher F, Jousse C, Delétage-Grandon C, Bashiardes G, Bonnemain JL** (2005) Acidic derivatives of the fungicide fenpiclonil: effect of adding a methyl group to the N-substituted chain on systemicity and fungicidal activity. *Pest Manag Sci* **61**: 377-382

**Rocher F, Chollet JF, Jousse C, Bonnemain JL** (2006) Salicylic acid, an ambimobile molecule exhibiting a high ability to accumulate in the phloem. *Plant Physiol* **141**: 1684-1693

**Rocher F, Chollet JF, Legros S, Jousse C, Lemoine R, Faucher M, Bush DR, Bonnemain JL** (2009) Salicylic acid transport in *Ricinus communis* involves a pH-dependent carrier system in addition to diffusion. *Plant Physiol* **150**: 2081-2091

**Remerciements** : ces travaux ont pu être réalisés grâce au soutien et à la participation financière de FranceAgriMer et d'InterLoire.

## Recherche de marqueurs de tolérance à *Eutypa lata*

Eric GOMES

UMR 1287 Ecophysiologie et Génomique fonctionnelle de la Vigne, Institut des Sciences de la Vigne et du Vin, Bâtiment ISVV 210 chemin de Leysotte CS 50008, 33882 Villenave d'Ornon cedex

L'Eutypiose est une maladie de dépérissement de la vigne due à l'ascomycète lignicole *Eutypa lata*. Les plantes infectées présentent des nécroses dans les troncs, ainsi qu'un rabougrissement des rameaux néoformés, au moment du débourrement. L'apparition des symptômes foliaires est erratique ; et à jour il n'existe pas de traitement curatif pour cette pathologie. Dans l'optique de pouvoir à terme mieux lutter contre cette maladie, il apparaît important de mieux comprendre les réponses de la plante à l'infection par *E. lata*, et le mécanisme d'apparition des symptômes liés à la maladie.

Lors d'une rencontre vigne/agent pathogène, en fonction du génotype de vigne (cultivar) et du génotype de champignon (pathovar) considéré, l'interaction pourra évoluer vers une sensibilité (présence de symptômes importants, mort éventuelle de la plante) ou au contraire vers une tolérance (réduction ou absence de symptômes, survie de plante) de la plante vis-à-vis de l'agent pathogène. Un des éléments qui conditionnent le devenir de l'interaction est la réponse moléculaire globale de la plante, c'est-à-dire la modification de son expression génique. L'augmentation importante des données moléculaires chez la vigne au cours de la décade écoulée permet maintenant d'étudier la réponse de l'ensemble des gènes de la vigne à l'infection par *E. lata*, par des approches transcriptomiques à haut débit, à l'aide de la technologie des puces à ADN ou « microarrays ».

Cette technologie a été appliquée pour la première fois à l'interaction Vigne/*E. lata* au cours de la thèse de C. Camps (2005-2008), financée par Comité Interprofessionnel de Vins de Bordeaux. L'objectif du projet de thèse était de mieux comprendre les bases moléculaires de l'interaction, et en particulier l'expression des symptômes foliaires. Des puces à ADN contenant 14500 unigènes (représentant environ 50% des gènes de la vigne) ont été utilisées pour analyser les réponses transcriptomiques de feuilles de Cabernet-Sauvignon issues de plantes infectées ou non par *E. lata*. Le but était d'identifier des gènes candidats (i) marqueurs de la maladie, (ii) marqueurs de l'infection (potentiellement utilisables comme gènes de diagnostic de la maladie) ou (iii) marqueurs de la tolérance de la plante au champignon (potentiellement utilisables lors de futurs programmes de sélection). La comparaison des transcriptomes de feuilles issues de plantes saines et de plantes infectées présentant des symptômes foliaires a permis d'identifier 80 gènes présentant une expression différentielle (gènes de défense ou gènes liés au développement, essentiellement), et pouvant être considérés comme des marqueurs de la maladie. Le même type d'analyse, comparant cette fois les transcriptomes de feuilles de plantes saines et de plantes infectées asymptomatiques a révélé que 8 gènes, sans appartenance à une catégorie fonctionnelle unique, peuvent être considérés comme des marqueurs de l'infection. Enfin, la comparaison des transcriptomes de feuilles de plantes infectées symptomatiques et asymptomatiques a conduit à l'identification de 101 gènes pouvant être considérés comme des marqueurs de tolérance de la plante vis-à-vis d'*E. lata*. Parmi ces 101 gènes, on note une surreprésentation de gènes codant pour des

protéines liées au métabolisme énergétique, ainsi qu'à la phase lumineuse de la photosynthèse. Ceci suggère que l'absence de symptômes dans les plantes infectées pourrait être due à des variations d'expression (positive ou négative) de ces gènes, afin de compenser les atteintes du métabolisme énergétique causées par les toxines (eutypine, autres toxines) produites par le champignon ; hypothèse qui reste néanmoins à valider. L'ensemble de ces résultats a été publié récemment (Camps *et al.*, 2010, Rotter *et al.*, 2009).

Ce projet a permis d'avoir un premier regard sur la réponse moléculaire globale de la vigne à *E. lata*. Cependant, plusieurs questions demeurent en suspens. Premièrement, il s'est limité à un seul cépage. Quelle est la validité chez d'autres cépages des gènes marqueurs identifiés chez le Cabernet-Sauvignon ? Deuxièmement, l'étude transcriptomique s'est limitée aux feuilles des rameaux de l'année. Qu'en est-il de la réponse génique de la plante dans le bois, au niveau du site de l'interaction plante/champignon ? Enfin, troisièmement, cette étude n'a concerné que l'infection par *E. lata*. L'expression de certains des gènes marqueurs mis en évidence est-elle également affectée lors de l'interaction de la vigne avec d'autres champignons liés aux maladies du bois de la vigne ? Un nouveau projet a donc été initié pour la période 2010-2012, grâce à un co-financement du Ministère de l'Agriculture (programme CASDAR) et de la Fondation Jean Poupelain, afin de tenter d'y répondre. Ce projet vise, entre autres, à tester la validité sur deux autres cépages (Merlot et Ugni blanc) de quelques-uns des gènes marqueurs de tolérance (10 au maximum) mis en évidence sur le Cabernet-Sauvignon. Il se propose également d'étudier au niveau du bois les réponses géniques globales de 3 cépages de vigne à *E. lata* : d'une part le Merlot, réputé tolérant ; et d'autre part le Cabernet-Sauvignon et l'Ugni blanc, sensibles. Enfin, des tests préliminaires de sensibilité de ces cépages à certains *Botryosphaeriaceae* seront effectués afin de vérifier s'il existe des tolérances croisées aux deux types d'agents pathogènes.

### **Références Bibliographiques :**

- Camps, C., C. Kappel, et al. (2010). "A transcriptomic study of grapevine (*Vitis vinifera* cv. Cabernet-Sauvignon) interaction with the vascular ascomycete fungus *Eutypa lata*." *J. Exp. Bot.* **61**: 1719-1737.
- Rotter A., Camps C., et al. (2009). "Gene expression profiling in susceptible interaction of grapevine with its fungal pathogen *Eutypa lata*: Extending MapMan ontology for grapevine" *BMC Plant Biol.* **4**: 104-128.

# **Impact des pratiques des viticulteurs sur le développement des maladies du bois**

Christel CHEVRIER

Chambre Régionale d'Agriculture du Languedoc-Roussillon, Recherche Innovation et Développement des filières végétales, CS 30012, 34875 Lattes cedex

Les maladies du bois (eutypiose, esca et BDA), longtemps considérées comme secondaires, sont devenues une préoccupation grandissante des viticulteurs. En l'absence de moyens de lutte préventifs ou curatifs, des mesures prophylactiques préconisées sont très inégalement suivies. Ce projet n'a qu'une seule finalité : apprendre à vivre avec les maladies du bois en limitant leur développement. Pour cela, il s'appuie sur des objectifs opérationnels.

Des études sur le caractère épidémiologique de ces maladies ont déjà été conduites. Sur vignes en place, des méthodologies de lutte appropriée n'existent pas aujourd'hui. Il faut donc proposer aux vignerons des alternatives à une lutte chimique. Seule une connaissance des impacts du matériel végétal et des pratiques culturales peut permettre aux vignerons d'attendre que les recherches menées (à long terme) leur proposent des solutions économiquement et satisfaisantes d'un point de vue environnemental.

La situation des maladies du bois inquiète fortement les professionnels de la filière. Pour apporter des éléments de réponses aux questions posées par ce projet, la collecte raisonnée d'un volume important de données est cruciale. C'est pourquoi l'APCA (Assemblée Permanente des Chambres d'Agriculture) a sollicité son réseau des Chambres d'agriculture viticoles (Ardèche, Drome, Bourgogne, Yonne, Saône et Loire, Vaucluse, Gard, Hérault, Aude, Pyrénées-Orientales, Lot, Gironde et Loir et Cher) pour bâtir ce projet en s'appuyant ainsi sur l'habitude de travailler en réseau et sur un maillage fin du territoire viticole. Elle s'appuie sur d'autres partenaires dont l'IFV, Ferme expérimentale du Lot, ATVB, Synthèse et Informatique, Lycées agricoles.

Le caractère évolutif, lent et variable, de l'expression des symptômes, oblige les partenaires à retenir des parcelles dont l'historique est connu.

Les actions menées dans ce projet s'appuieront sur des parcelles identifiées issues soit :

- des parcelles d'expérimentation,
- des vignes-mères de greffons appartenant aux partenaires ou sous contrat.

Ces parcelles existantes présentent déjà des ceps exprimant les symptômes des maladies du bois. Les partenaires sont conscients de la difficulté d'obtenir des réponses immédiates et reproductibles. Ainsi sur les trois années du projet, et suivant les protocoles présentés, l'équipe établira des règles de décision ou bien définira des hypothèses de réflexion pour des actions ultérieures.

## **Impact du matériel végétal**

En se basant sur l'expérience du dépérissement de la syrah, il est apparu que l'évolution de la maladie était variable suivant le clone. Ce facteur aurait-il également une influence sur le développement des maladies du bois ?

Les cépages étant nombreux et de sensibilité variable aux maladies du bois, les partenaires ont choisi de concentrer leur étude de différence de comportement sur un nombre restreint d'entre eux. Grâce aux références et expériences acquise (observatoire national,

expérimentation...), le choix des cépages s'est porté sur des variétés classées sensibles, très largement répandues ou présentant un intérêt économique important pour différents types de vins (AOC, VDP) :

- Sauvignon : 24 473 ha cultivées en France en 2006 ; 20 clones sont agréés ; le choix des clones pour l'étude est fonction des listes de clones les plus diffusés : 108, 159, 241, 242, 297, 376, 530;
- Chardonnay : 42 017 ha cultivées en France en 2006 ; 28 clones sont agréés ; le choix des clones pour l'étude est fonction des listes de clones les plus diffusés : 75, 76, 95, 96, 124, 131, 277, 548;
- Cabernet Sauvignon : 60 385 ha cultivés en 2006 en France ; 20 clones sont agréés ; le choix des clones pour l'étude est fonction des listes de clones les plus diffusés : 15, 169, 685, 33, 170, 191, 337, 341;
- Mourvèdre : 9 164 ha cultivés en 2006 en France ; 13 clones sont agréés; le choix des clones pour l'étude est fonction des listes de clones les plus diffusés : 369, 233, 234, 244, 249;
- Cinsaut : 24 773 ha cultivés en France en 2006, présent en zone méditerranéenne ; 21 clones agréés ; ayant une importance dans l'élaboration des rosés; parmi les clones étudiés : 252, 361.

### **Impact des pratiques culturales**

En établissant un maillage des principales pratiques culturales, cette action a pour objectif d'étudier leur impact dans le développement de la maladie. Les partenaires ont souhaité se concentrer sur un nombre limité de pratiques culturales pour montrer des différences de comportements ou établir des hypothèses.

Grâce aux références et expériences acquises (expérimentations menées notamment dans le cadre des Contrats de Plan Etat-Région, bibliographie...), le choix des techniques culturales s'est porté sur ce qui se pratiquait dans les régions viticoles suivant les « traditions » mais également sur les techniques en voie de développement (gestion raisonnée de l'irrigation, taille rase de précision...).

Les cépages étudiés seront des cépages régionaux sensibles aux maladies du bois. Les parcelles d'essais comportant au minimum 4 répétitions et au minimum 60 souches sont retenues pour cette action. Cette sélection permet au groupe d'obtenir un nombre jugé suffisant de situations. Il est souhaitable que l'installation de l'essai (ou la transformation opérée à cette occasion) sur la parcelle ait eu lieu lors des trois dernières années.

La taille est retenue car ce paramètre figure déjà dans de nombreuses bibliographies. La taille est liée aux pratiques culturales d'un bassin viticole. Elle est également liée aux conditions climatiques, aux cahiers des charges, à la mécanisation.

La densité est retenue car ce paramètre figure dans les cahiers des charges des organisations de défense.

L'irrigation est retenue car l'irrigation est expérimentée en zone méditerranéenne depuis plusieurs années. Depuis son autorisation, les demandes de la part des viticulteurs sont fortes. Par cette action, les partenaires espèrent dégager des hypothèses de travail.

La vigueur est retenue car ce paramètre figure dans de nombreuses bibliographies.

### **L'enquête sur les pratiques au vignoble dès la plantation**

Elle comprend un historique le plus complet et le plus précis des pratiques viticoles appliquées sur la parcelle, depuis l'installation de la vigne (prise en compte de l'influence

éventuelle des pratiques de désinfection du sol, de l'époque de plantation, du mode de plantation...) jusqu'à aujourd'hui. Elle insiste notamment sur les pratiques de rendement, de fertilisation azotée, d'origine de terroirs. Ces parcelles sont suivies depuis de nombreuses années. Le réseau est constitué de 30 parcelles de Cot 42 ou 46, et quelques-unes avec 595 ou 598. Les porte-greffes sont variés (41B, Fercal ou SO4). Suivies depuis 15 ans elles font partie de l'observatoire national MDB depuis 2005. Une enquête est en cours depuis la plantation (pots ou greffés-soudés) jusqu'à aujourd'hui. En renseignant toutes les informations (pratiques, outils de taille, traitements,...).

### **Règles de décision et divulgation**

Cette action découle des résultats obtenus dans le cadre des deux premières actions. Elle a pour objectif de proposer aux viticulteurs et aux conseillers des règles de décision. Ces règles de décision devront avoir un effet sur les orientations économiques. Les acteurs seront informés ou auront des pistes de réflexion sur les impacts de l'implantation de tel ou tel clone, de telle pratique culturale, sur les modalités (rapidité, intensité...) du développement des différentes maladies du bois.

Il est proposé la stratégie de l'entonnoir. Dès la première année, les résultats peuvent être analysés, « éprouvés » pour connaître leur capacité à amener des règles de décision. Si cet effort est fait dès la première année, cela permettra de mieux définir des règles de décisions à l'issue du programme.

Il est prévu que les résultats soient divulgués sous forme d'un guide, de plaquettes, de fiches pour les divers documents techniques des partenaires, d'articles dans les revues spécialisées, de présentations dans différents colloques et sous mise en forme internet.

# Organisation des travaux réalisés sur les maladies du bois en Bourgogne

Claire GROSJEAN<sup>1</sup> et Guillaume MORVAN<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Chambre régionale d'Agriculture de Bourgogne, 3 rue du Golf - 21800 Quétigny

<sup>2</sup>Chambre d'Agriculture de l'Yonne, 14 bis rue Guynemer, BP 50289, 89005 Auxerre Cedex

Face à une forte demande des viticulteurs de Saône-et-Loire et de l'Yonne ainsi que du BIVB (Bureau interprofessionnel des vins de Bourgogne), la Bourgogne à travers ses différents partenaires (CA21, CA71, CA89, CRAB, FREDON, SRAL, ATVB, AgroSup Dijon) est impliquée dans plusieurs projets (influence du traitement à l'eau chaude piloté par la CA33 ; épidémiologie de l'Esca/bda piloté par l'INRA/ENITAB de Bordeaux ; impact des pratiques culturales avec la CRA Languedoc Roussillon pour le dossier CASDAR et CRA Bourgogne pour le dossier CPER Bourgogne).

Des enquêtes et essais antérieurs réalisés par le CA89 entre 2005 et 2007 ont permis de réaliser un tri des pratiques culturales afin d'établir une liste de thèmes d'essais à expérimenter.

L'objectif des travaux actuels est d'augmenter le nombre d'essais, leur taille et les différentes situations rencontrées afin de pouvoir apporter des conseils aux viticulteurs sur les pratiques (dé)favorables.

Sur chaque parcelle, deux modalités (voire trois) d'une pratique culturale sont mises en place avec le viticulteur, chaque modalité comporte au moins 500 pieds. Les parcelles sont choisies en fonction de leurs caractéristiques de façon à avoir la plus grande homogénéité (sol, clone, porte-greffe, condition de plantation...) pour faciliter l'interprétation des résultats. Les pratiques sont majoritairement réalisées par les viticulteurs avec un encadrement du Chargé de mission maladies du bois (explication du cahier des charges des modalités, démonstration / appui technique, suivi du calendrier...) ce qui permet d'augmenter le nombre d'essais, d'impliquer la profession et de noter les possibilités pratiques de vulgarisation ou des freins.

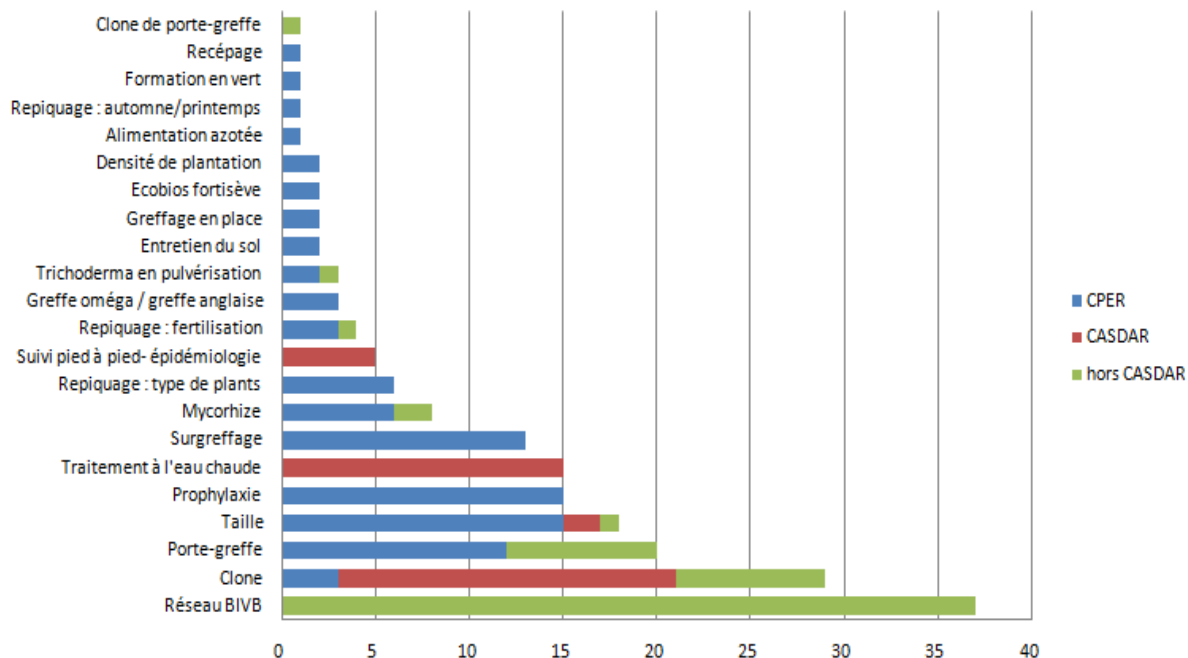
La répartition des thèmes d'essais choisis en fonction du dossier (CPER, CASDAR, hors CASDAR) est la suivante :

Un comptage annuel permet de noter la fréquence et l'intensité des symptômes d'Esca/BDA (forme apoplectique partielle ou totale sur le pied, forme lente partielle ou totale, manquant, jeune pied non formé, pied mort, pied sain) ainsi que la réalisation ou le cas échéant le taux de réalisation de la mesure expérimentée (% de pieds réellement taillés en Guyot Poussard par exemple). Cette opération sera réitérée chaque année pour dresser un bilan de l'évolution des symptômes.

Une partie de ces essais ont été mis en place à l'automne 2009 (prophylaxie, remplacement des manquants...) mais la majorité a débuté au printemps 2010.

Ce travail est réalisé avec le soutien financier du BIVB, de FranceAgriMer, du CASDAR, du conseil régional.

### Nombre d'essais par dossier en Bourgogne



## Diversité des microorganismes du bois de *Vitis vinifera* en Bourgogne

*Etude complémentaire aux travaux réalisés par le Bureau Interprofessionnel des Vins de Bourgogne et la Chambre d'Agriculture de l'Yonne.*

Béatrice VINCENT<sup>1</sup> et Morvan COARER<sup>2</sup>

<sup>1</sup>IFV Pôle Bourgogne-Beaujolais-Jura-Savoie, 6 rue du 16<sup>ème</sup> Chasseurs, 21200 BEAUNE

<sup>2</sup>IFV Pôle Val de Loire - Château de la Frémoire - 44120 VERTOU, France

Depuis 2009, dans le cadre d'un programme général d' « étude des microorganismes des bois, des raisins et des vins », l'IFV collabore avec le BIVB et la CA89 afin d'apporter ses compétences en termes de microbiologie classique et moléculaire. Les analyses de bois réalisées sont effectuées sur les parcelles suivies par le BIVB et la CA89 dans le cadre de leurs études sur les relations entre potentiels hydriques de la plante et expression des MDB.

Les bois de 2 ans sont prélevés en décembre de l'année N sur l'ensemble des ceps suivis, qu'ils aient exprimé ou non un symptôme de MDB lors des notations en juillet et août.

L'IFV réalise une notation des symptômes sur coupes puis une analyse microbiologique sur milieu MEA d'un fragment de bois de 3 cm divisé en 20 sections désinfectées à l'hypochlorite de sodium selon un protocole identique à celui de P. Larignon.

Dans le cadre du programme général de l'IFV sur la diversité des microorganismes, l'ensemble des moisissures présentes sur les sections de bois – et pas seulement les moisissures impliquées dans les MDB – sont isolées et caractérisées par biologie moléculaire (IFV Nantes). Pour le millésime 2009, 166 souches issues de bois de pinot noir de Bourgogne sont conservées dans la collection nationale de l'IFV.

*Aureobasidium pullulans* semble constituer une population de base comprise, en fonction des parcelles, entre 25 et 85 % des moisissures présentes. Le genre *Alternaria* varie entre 4 et 14 %.

Les moisissures de la famille des *Botryosphaeriaceae*, impliquées dans les MDB, varient entre 10 et 50 % en fonction des parcelles (moyenne des 24 ceps analysés par parcelle). Dans cette famille, l'espèce *B. obtusa* est la plus représentée.

Les 5 à 30 % restants se partagent entre des genres tels que *Penicillium*, *Trichoderma*, *Pilidiella* ou *Aspergillus* et une 20<sup>ème</sup> de groupes de moisissures reste encore à identifier (en cours de séquençage, IFV Montpellier).

Les seuls résultats de l'année 2009 ne permettent pas encore de tirer des conclusions concernant les relations entre microorganismes, notations de terrain et mesures de potentiels hydriques. Les travaux se poursuivent donc pour enrichir la base de données du BIVB et de la CA89.

Par ailleurs, des travaux similaires sont conduits en Val de Loire afin de pouvoir confronter ultérieurement les résultats inter-régions.

# Effet de quelques facteurs agronomiques sur les maladies du bois

Vincent DUMOT

BNIC - Station Viticole, 69 rue de Bellefonds - BP 18 - 16101 Cognac Cedex - France

## Compte-rendu succinct de présentation

Cette présentation contient des résultats sur les maladies du bois de plusieurs essais monofactoriels, et principalement d'un essai de longue durée implanté dans ce but.

### Principales conclusions de cette étude :

- Certains facteurs agronomiques jouent sur l'expression de symptômes des maladies du bois,
- Le mode de conduite présente les effets les plus nets,
- Une méthode de caractérisation des modes de conduite manque pour extrapoler les résultats,
- Certains effets, difficiles à mettre en évidence sur des petits dispositifs, mériteraient d'être étudiés sur des réseaux d'essais monofactoriels.

Le contexte régional « cépage x climat x itinéraires culturels » fait du vignoble de Cognac celui qui exprime le plus de symptômes d'eutypiose en France, et un de ceux qui exprime le plus de symptômes d'esca (au sens large, incluant le Black Dead Arm).

Un essai a été mis en place au début des années 90 au lycée agricole de Saintes pour étudier le rôle de quelques facteurs agronomiques sur les maladies du bois. Les variables interprétées sont le cumul de ceps ayant montré des symptômes au moins une année, pour chaque maladie (eutypiose et esca au sens large).

La répartition des symptômes montre un fort gradient dans la parcelle, surtout pour les symptômes d'eutypiose. Trois hypothèses sont avancées :

- Effet de l'environnement : proximité de parcelles très touchées d'un côté, d'un bois de l'autre,
- Effet de la date de taille : la partie la plus touchée est toujours taillée en premier, ce qui pourrait rallonger la durée de réceptivité des plaies,
- Effet du sol. Une approche écophysiological est en cours pour cartographier la vigueur par ndvi et interpréter les résultats en fonction de la résistivité du sol.

Un autre site expérimental suivi dans la région montre un net gradient de symptômes d'esca, la partie haute de la parcelle présentant plus de symptômes. Cette partie présente un sol moins profond que le bas, comme le met en évidence la carte de résistivité. Cette observation va à l'encontre des tendances observées dans le Bordelais.

Le premier facteur étudié est le mode de conduite. Les pieds taillés en cordons expriment beaucoup plus d'eutypiose, et un peu plus d'esca, que les pieds taillés en guyot. La principale cause semble être la surface de plaies de taille plus élevée dans les cordons. Un autre essai mode de conduite suivi dans la région apporte des informations complémentaires :

- Confirmation de la plus grande sensibilité des cordons bas à l'eutypiose, peu d'effet sur l'esca,

- Plus grande sensibilité aux 2 maladies des cordons à forts écartements entre pieds (cordons longs),
- Plus grande sensibilité des cordons hauts à l'eutypiose et à l'esca,
- Taille mécanique nettement moins sensible à l'esca que la référence taille manuelle. Cette modalité est toutefois fortement déconseillée pour des raisons qualitatives.

Au final le mode de conduite joue sur les maladies du bois. Reste à caractériser chacune des modalités pour :

- Comprendre comment elles jouent,
- Extrapoler les résultats à d'autres situations taillées de façon similaire.

Le deuxième facteur est la fertilisation. 3 niveaux sont comparés. L'effet sur la vigueur apparaît clairement sur les poids de bois de taille, ainsi que sur l'azote assimilable des moûts. La fertilisation augmente l'expression de l'eutypiose et de l'esca, ainsi que le nombre de morts, contrairement à une référence bibliographique qui suggérait que les ceps vigoureux exprimaient plus d'eutypiose mais mourraient moins. La surface des plaies de taille, identique entre modalités, n'explique pas ces différences de symptômes, qui pourraient plutôt être liées à la physiologie de la plante et au mode d'expression des symptômes.

Enfin le porte-greffe joue. Les 4 porte-greffes comparés ne se classent pas pareil pour l'eutypiose et l'esca. L'esca a été observé sur deux autres essais porte-greffe. Dans le premier 2 porte-greffe se dégagent : 333EM moins sensible, 1103 Paulsen plus sensible. Dans le second 333EM et Rupestris présentent peu de symptômes, à l'opposé Richter 110 et 161-49C expriment beaucoup. Mais d'autres observations relativisent ces tendances. Un réseau d'essais porte-greffe pourrait sans doute préciser ces sensibilités conférées.

Une autre partie de l'essai compare différentes modalités de protection des plaies de taille. Pour l'eutypiose, seule la modalité « taille tardive » est jugée différente du témoin. En revanche cette pratique n'a pas d'effet sur l'esca. Les protections chimiques présentent des efficacités intéressantes sur eutypiose et surtout sur esca, mais les produits ne sont plus commercialisés et le temps de travail pour l'application est rédhibitoire. La protection physique (mastic) ne présente qu'une faible efficacité contre l'eutypiose. Les pulvérisations de cuivre, juste après la taille et lors du débourrement, n'ont aucun effet.

## Incidence de la taille sur l'Esca et le BDA

Elisabeth CARRERE

Chambre d'agriculture Haute-Garonne, Service agronomie/environnement  
Viticulture, 51 av. Adrien Escudier - 31620 Fronton

Quinze parcelles de négrette ont été extraites de l'observatoire national MDB pour suivre l'incidence de 3 modes de taille pratiqués sur le vignoble de Fronton : le guyot simple, la tirette et le gobelet en éventail.

Les pourcentages de ceps improductifs (mort, manquant, recépés ou complants de moins de 4 ans) et de ceps atteints de BDA/ESCA (partiel ou total) sont calculés avec les moyennes de 2005 à 2010.

Le constat depuis 2005 est le suivant :

### EXPRESSION DE L'ESCA/BDA EN FONCTION DU MODE DE TAILLE

	2010	2009	2008	2007	2006	2005
<b>Guyot Simple / au Gobelet en éventail</b>	+ 42.21 %	+ 58.85 %	+ 73.17 %	+32 %	+ 25 %	+ 62.5 %
<b>Guyot simple / Tirette</b>	+ 79.46 %	+ 75.06 %	+ 92.91 %	+ 84 %	+ 70 %	0 %
<b>Gobelet en éventail / Tirette</b>	+ 64.45 %	+ 39.39 %	+ 73.6 %	+76.47 %	+60 %	-166.66 %

Le guyot simple exprime l'esca et le BDA plus fréquemment que la Tirette et le gobelet en éventail

Le Gobelet en éventail exprime plus fréquemment l'ESCA/BDA que la tirette (sauf en 2005).

Sur ces 3 modes de taille la tirette paraît être un mode de taille moins pénalisant pour la négrette pour ce qui concerne l'expression lente de l'Esca/BDA.

### Pourcentage de pieds improductifs (morts c'est-à-dire non débouffés l'année d'observation + manquants + complants + recépés), en fonction du mode de taille

	2010	2009	2008	2007	2006	2005
<b>GUYOT SIMPLE / AU GOBELET EN EVENTAIL</b>	-96.85 %	-111.04 %	-155.79 %	-1.56 %	-1.56 %	-20 %
<b>GUYOT SIMPLE / TIRETTE</b>	-88.51 %	-98.71 %	-131.92 %	-110.93 %	-110.9 %	-98 %
<b>GOBELET EN EVENTAIL / TIRETTE</b>	+4.23 %	+ 5.84 %	+ 9.33 %	-107.69 %	-107.69 %	-65 %

Le guyot simple est le mode de taille qui présente le moins de ceps improductifs.

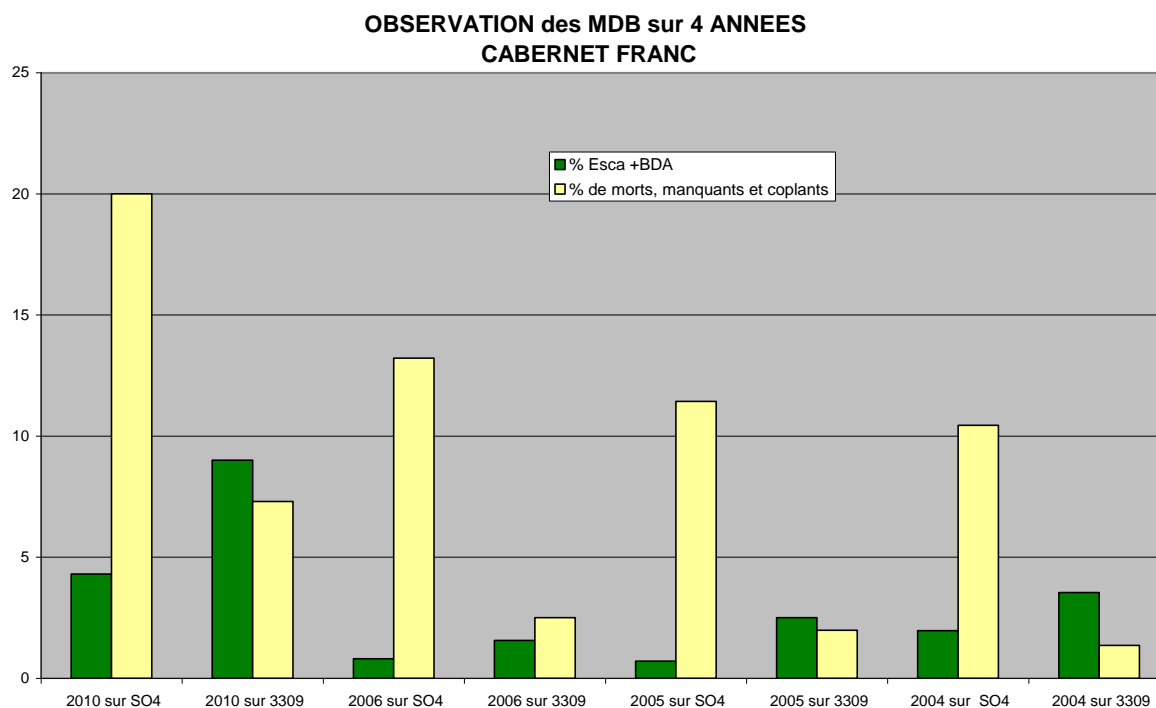
Les 3 dernières années le mode de taille tirette comporte moins de ceps improductifs que le gobelet en éventail.

Alors que le guyot simple exprime la forme lente de l'ESCA/BDA plus fréquemment que les autres tailles, la forme apoplectique de l'ESCA/BDA est moins accentuée par ce mode de taille.

## **Incidence du porte greffe sur l'ESCA/BDA**

Une parcelle de cabernet franc est plantée en 1997 avec comme porte greffe le 3309, et en 1996 avec le porte greffe SO4.

Le sol est homogène, le viticulteur conduit la parcelle avec les mêmes pratiques culturales.



Ce graphique montre que quelque soit l'année d'observation le Cabernet franc sur SO4 exprime moins les symptômes d'ESCA/BDA que le cabernet franc sur 3309 : La forme lente s'exprimerait moins sur SO4 que sur 3309

A l'inverse, quelque soit les années, le cabernet franc sur SO4 comporte plus de ceps improductifs que le cabernet franc sur 3309 : La forme apoplectique s'exprimerait de façon plus importante sur SO4 que sur 3309.

Ceps improductifs = morts (non débourré l'année d'observation) + manquants + complants de moins de 4 ans+ recépés.

# **LISTE DES PARTICIPANTS**

<b>Noms</b>	<b>Organisme</b>	<b>Adresse électronique</b>
Eliane Abou-Mansour	Plant Biology, University of Fribourg, 3, rue Albert Gockel, 1700 Fribourg, Suisse	<a href="mailto:eliane.abou-mansour@unifr.ch">eliane.abou-mansour@unifr.ch</a> Excusée
Marielle Adrian	Université de Bourgogne Sciences de la Vigne BP 138 - 21004 Dijon	<a href="mailto:marielle.adrian@u-bourgogne.fr">marielle.adrian@u-bourgogne.fr</a> Excusée
Biliana Arsic	Syndicat des Côtes-du-Rhône 2260 Route du Grès 84100 Orange	<a href="mailto:b.arsic@syndicat-cotesdurhone.com">b.arsic@syndicat-cotesdurhone.com</a>
Michel Badier	Chambre d'Agriculture du Loir-et-Cher	<a href="mailto:michel.badier@loir-et-cher.chambagri.fr">michel.badier@loir-et-cher.chambagri.fr</a>
Nadine Bals	ADVA Chambre d'agriculture Hérault, 15 rue Victor Hugo 34120 Pézénas	<a href="mailto:bals@herault.chambagri.fr">bals@herault.chambagri.fr</a>
Muriel Barthe	CIVB/Service Technique 1 Cours du XXX juillet 33075 Bordeaux Cedex	<a href="mailto:muriel.barthe@vins-bordeaux.fr">muriel.barthe@vins-bordeaux.fr</a> Excusée
Benoît Bazerolle	Chambre d'agriculture de Côte d'Or 11 rue Becquerel – 21000 Dijon	<a href="mailto:benoit.bazerolle@cote-dor.chambagri.fr">benoit.bazerolle@cote-dor.chambagri.fr</a>
Cécile Bernard	Chambre d'Agriculture de Charente 25, rue Cagouillet 16 100 Cognac	<a href="mailto:cecile.bernard@charente.chambagri.fr">cecile.bernard@charente.chambagri.fr</a> Excusée
Laurent Bernos	Vinopôle Bordeaux Aquitaine Chambre d'Agriculture de la Gironde, 39 rue Michel Montaigne – BP115 – 33294 Blanquefort Cedex	<a href="mailto:l.bernos@gironde.chambagri.fr">l.bernos@gironde.chambagri.fr</a>
Christophe Bertsch	Université de Haute-Alsace, UFR PEPS, laboratoire Vigne Biotechnologies et Environnement 33, rue de Herrlisheim 68 008 Colmar cedex	<a href="mailto:christophe.bertsch@uha.fr">christophe.bertsch@uha.fr</a>
François Berud	Chambre d'agriculture du Vaucluse, 2260, route du Grès, 84100 Orange	<a href="mailto:francois.berud@vaucluse.chambagri.fr">francois.berud@vaucluse.chambagri.fr</a>
Myriam Berud	SPBPVV 384, route de Caderousse 84100 Orange	<a href="mailto:exploit.stvictor@orange.fr">exploit.stvictor@orange.fr</a>
Elisabeth Besnard	Chambre d'Agriculture du Lot Ferme expérimentale 46140 Anglars-Juillac	<a href="mailto:ferme-exp-cahors@wanadoo.fr">ferme-exp-cahors@wanadoo.fr</a>
Philippe Bonnard	FranceAgriMer Division Aides techniques et Expérimentation 12 rue Henri Rol-Tanguy TSA 40004	<a href="mailto:philippe.bonnard@franceagrimer.fr">philippe.bonnard@franceagrimer.fr</a> Excusé

	93555 Montreuil sous Bois Cedex	
Michel Boulay	Ex Moët et Chandon	Excusé
Nadège Brochard-Mémain	Chambre d'Agriculture de Loire-Atlantique, Château de la Frémoire 44 120 Vertou	<a href="mailto:nadege.brochard@loire-atlantique.chambagri.fr">nadege.brochard@loire-atlantique.chambagri.fr</a> Excusée
Blandine Broquedis	Chambre d'Agriculture du Gard 1120, Route de Saint –Gilles – BP 172, 30 932 Nîmes Cedex 09	<a href="mailto:blandise.broquedis@gard.chambagri.fr">blandise.broquedis@gard.chambagri.fr</a>
Jean-Yves Cahurel	IFV Pôle Bourgogne – Beaujolais – Jura - Savoie 210 Bd Vermorel – BP 320 – 69661 Villefranche/Saône cedex	<a href="mailto:jean-yves-cahurel@vignevin.com">jean-yves-cahurel@vignevin.com</a>
Elisabeth Carrère	Chambre d'agriculture Haute-Garonne, 51 av. Adrien Escudier - 31620 Fronton	<a href="mailto:elisabeth.carrere@agriculture31.com">elisabeth.carrere@agriculture31.com</a>
Bertrand Chatelet	IFV Pôle Bourgogne – Beaujolais – Jura - Savoie 210 Bd Vermorel – BP 320 – 69661 Villefranche/Saône cedex	<a href="mailto:bertrand.chatelet@vignevin.com">bertrand.chatelet@vignevin.com</a>
Laurent Charlier	CIVB/Service Technique 1 Cours du XXX juillet 33075 Bordeaux Cedex	<a href="mailto:laurent.charlier@vins-bordeaux.fr">laurent.charlier@vins-bordeaux.fr</a>
Christel Chevrier	Chambre Régionale d'Agriculture du Languedoc-Roussillon, Recherche Innovation et Développement des filières végétales, CS 30012, 34875 Lattes cedex	<a href="mailto:christel.chevrier@languedocroussillon.chambagri.fr">christel.chevrier@languedocroussillon.chambagri.fr</a>
Jean-François Chollet	Université de Poitiers/Faculté des Sciences UMR 6514 – Laboratoire de synthèse 40, avenue du Recteur Pineau 86022 Poitiers cedex	<a href="mailto:jfchollet@yahoo.com">jfchollet@yahoo.com</a> Excusé (représenté par Françoise Rocher)
Julie Chong	Université de Haute-Alsace, UFR PEPS, laboratoire Vigne Biotechnologies et Environnement 33, rue de Herrlisheim 68 008 Colmar cedex	<a href="mailto:julie.chong@uha.fr">julie.chong@uha.fr</a>
Marc Chovelon	GRAB Agroparc BP 1222 Chemin de la Castelette 84911 Avignon cedex 09	<a href="mailto:marc.chovelon@grab.fr">marc.chovelon@grab.fr</a>
Barbara Cichosz	Chambre d'agriculture du Gers	<a href="mailto:ca32@gers.chambagri.fr">ca32@gers.chambagri.fr</a>
Christophe Clément	URCA, UFR Sciences de Reims Laboratoire de Stress, Défenses et reproduction des Plantes BP 1039 51 687 Reims Cedex 2	<a href="mailto:christophe.clement@univ-reims.fr">christophe.clement@univ-reims.fr</a>
Morvan Coarer	IFV Pôle Val de Loire Château de la Frémoire	<a href="mailto:morvan.coarer@vignevin.com">morvan.coarer@vignevin.com</a>

	44 120 Vertou	
Gwenaëlle Comont	UMR INRA Bordeaux Santé Végétale/ENITAB 71, avenue Edouard Bourleaux BP 81 - 33883 Villenave d'Ornon	<a href="mailto:gwenaelle.comont@bordeaux.inra.fr">gwenaelle.comont@bordeaux.inra.fr</a>
Laurent Colombier	Chambre d'Agriculture de Dordogne	<a href="mailto:laurent.colombier@dordogne.chambagri.fr">laurent.colombier@dordogne.chambagri.fr</a> Excusé
Nicolas Constant	AIVB – LR Les arcades Jacques Coeur Bâtiment C, Route de Boirargues 34970 Lattes	<a href="mailto:constant.aivb@wanadoo.fr">constant.aivb@wanadoo.fr</a> Excusé
Marie-France Corio-Costet	UMR INRA Bordeaux Santé Végétale/ENITAB 71, avenue Edouard Bourleaux BP 81 - 33883 Villenave d'Ornon	<a href="mailto:coriocos@bordeaux.inra.fr">coriocos@bordeaux.inra.fr</a>
Thierry Coulon	IFV Pôle Bordeaux-Aquitaine, 39 rue Michel Montaigne 33 290 Blanquefort	<a href="mailto:thierry.coulon@vignevin.com">thierry.coulon@vignevin.com</a>
Pierre Coutos- Thévénot	Université de Poitiers/Faculté des Sciences Fondamentales et Appliquées 40 avenue du Recteur Pineau 86022 Poitiers Cedex	<a href="mailto:pierre.coutos@univ-poitiers.fr">pierre.coutos@univ-poitiers.fr</a> Excusé
Gérard Darné	UMR 1219 I.S.V.V. 210 Chemin de Leysotte CS 50008 - 33882 Villenave d'Ornon	<a href="mailto:gerard.darne@u-bordeaux1.fr">gerard.darne@u-bordeaux1.fr</a> Excusé
Gaël Delorme	Société de Viticulture du Jura -B.P. 40417 – 455, Rue de Colonel de Casteljau – 39016 Lons le Saunier Cedex	<a href="mailto:gael.delorme@jura.chambagri.fr">gael.delorme@jura.chambagri.fr</a>
Serge Delrot	UMR EGFV ISVV, 210 Chemin de Leysotte - CS 50008 - 33882 Villenave d'Ornon Cedex	<a href="mailto:serge.delrot@bordeaux.inra.fr">serge.delrot@bordeaux.inra.fr</a> Excusé
Agnès Destrac- Irvine	UMR EGFV ISVV, 210 Chemin de Leysotte - CS 50008 - 33882 Villenave d'Ornon Cedex	<a href="mailto:destrac@bordeaux.inra.fr">destrac@bordeaux.inra.fr</a>
Valérie Didier	Chambre d'agriculture du Roussillon 19, avenue de Grande Bretagne 66025 Perpignan Cedex	<a href="mailto:v.didier@pyrenees-orientales.chambagri.fr">v.didier@pyrenees-orientales.chambagri.fr</a> Excusée
Bruno Doublet	SRAL Champagne	
Vincent Dumot	BNIC, Station viticole 69, rue de Bellefonds 16 100 Cognac	<a href="mailto:vdumot@bnic.fr">vdumot@bnic.fr</a>
Laurent Duquesne	Chambre d'Agriculture de Charente 25, rue Cagouillet 16 100 Cognac	<a href="mailto:ca16cognac@charente.chambagri.fr">ca16cognac@charente.chambagri.fr</a> Excusé
Jocelyn Dureuil	Chambre d'Agriculture de Saône-	<a href="mailto:jdureuil@sl.chambagri.fr">jdureuil@sl.chambagri.fr</a>

	et-Loire, Pôle Technique Viticole Les poncétys - 71960 Davayé	Excusé
Sybille Farine	Université de Haute-Alsace, UFR PEPS, laboratoire Vigne Biotechnologies et Environnement 33, rue de Herrlisheim 68 008 Colmar cedex	<a href="mailto:sybille.farine@uha.fr">sybille.farine@uha.fr</a>
Nicolas Fermond	Chambre d'agriculture de la Drôme	<a href="mailto:nfermond@drome.chambagri.fr">nfermond@drome.chambagri.fr</a>
Florence Fontaine	URCA, UFR Sciences de Reims Laboratoire de Stress, Défenses et reproduction des Plantes BP 1039 51 687 Reims Cedex 2	<a href="mailto:florence.fontaine@univ-reims.fr">florence.fontaine@univ-reims.fr</a>
Michel Girard	Chambre d'Agriculture de Charente-Maritime 9 Bd Gautret - 17500 Jonzac	<a href="mailto:michel.girard@charente-maritime.chambagri.fr">michel.girard@charente-maritime.chambagri.fr</a> Excusé
Eric Gomès	UMR EGFV ISVV, 210 Chemin de Leysotte - CS 50008 - 33882 Villenave d'Ornon Cedex	<a href="mailto:eric.gomes@bordeaux.inra.fr">eric.gomes@bordeaux.inra.fr</a>
Etienne Goulet	IFV Pôle Val de Loire 42 rue Georges Morel BP 60057 49071 Beaucozé Cedex	<a href="mailto:etienne.goulet@itvfrance.com">etienne.goulet@itvfrance.com</a> Excusé
Jean-Pascal Goutouly	UMR EGFV ISVV, 210 Chemin de Leysotte - CS 50008 - 33882 Villenave d'Ornon Cedex	<a href="mailto:goutouly@bordeaux.inra.fr">goutouly@bordeaux.inra.fr</a>
Claire Grosjean	Chambre régionale d'Agriculture de Bourgogne, 3 rue du Golf - 21800 Quétigny	<a href="mailto:claire.grosjean@bourgogne.chambagri.fr">claire.grosjean@bourgogne.chambagri.fr</a>
Jacques Grosman	Draaf-Sral Rhône-Alpes 165 rue de Garibaldi BP 3202 69401 Lyon Cedex 03	<a href="mailto:jacques.grosman@agriculture.gouv.fr">jacques.grosman@agriculture.gouv.fr</a>
Lucia Guérin- Dubrana	ENITA de Bordeaux UMR INRA Santé Végétale 1 cours du Général de Gaulle BP 201 - 33 175 Gradignan	<a href="mailto:l-guerin@enitab.fr">l-guerin@enitab.fr</a> Excusée
Jean Guern		<a href="mailto:jean.guern@wanadoo.fr">jean.guern@wanadoo.fr</a> Excusé
Pascal Guilbeau	Chambre d'Agriculture de Gironde 39, rue Michel Montaigne BP 115 - 33 294 Blanquefort cedex	<a href="mailto:p.guilbault@gironde.chambagri.fr">p.guilbault@gironde.chambagri.fr</a> Excusé
Marc Guisset	Chambre d'agriculture du Roussillon 19, avenue de Grande Bretagne 66025 Perpignan Cedex	<a href="mailto:m.guisset@pyrenees-orientales.chambagri.fr">m.guisset@pyrenees-orientales.chambagri.fr</a> Excusé
Alban Jacques	Ecole d'ingénieurs de Purpan 75 voie du TOEC BP 57611 31076 Toulouse Cedex 3	<a href="mailto:alban.jacques@purpan.fr">alban.jacques@purpan.fr</a>
Philippe	IFV Pôle Alsace	<a href="mailto:philippe.kuntzmann@vignevin.com">philippe.kuntzmann@vignevin.com</a>

Kuntzmann	Unité de Colmar, Biopôle 28, rue de Herrlisheim - 68000 Colmar	Excusé
Francis Laffargue	Chambre d'Agriculture du Lot Ferme expérimentale 46140 Anglars-Juillac	<a href="mailto:ferme-exp-cahors@wanadoo.fr">ferme-exp-cahors@wanadoo.fr</a>
Philippe Larignon	IFV Pôle Rhône-Méditerranée Domaine de Donadille 30230 Rodilhan	<a href="mailto:philippe.larignon@vignevin.com">philippe.larignon@vignevin.com</a>
Pascal Lecomte	UMR INRA Bordeaux Santé Végétale/ENITAB 71, avenue Edouard Bourleaux BP 81 - 33883 Villenave d'Ornon	<a href="mailto:lecomte@bordeaux.inra.fr">lecomte@bordeaux.inra.fr</a> Excusé
Caroline Leroux	Comité de Développement du Beaujolais 210 Bd Vermorel- B.P. 319 69661 Villefranche Cedex	<a href="mailto:caroline.le-roux@rhone.chambagri.fr">caroline.le-roux@rhone.chambagri.fr</a>
Marie Lummerzheim	Ecole d'ingénieurs de Purpan 75 voie du TOEC BP 57611 31076 Toulouse Cedex 3	<a href="mailto:marie.lummerzheim@purpan.fr">marie.lummerzheim@purpan.fr</a>
Alexandra Lusson	Chambre d'Agriculture de la Gironde, 39 rue Michel Montaigne – BP115 – 33294 Blanquefort Cedex	<a href="mailto:a.lusson@gironde.chambagri.fr">a.lusson@gironde.chambagri.fr</a>
Maryline Magnin- Robert	URCA, UFR Sciences de Reims Laboratoire de Stress, Défenses et reproduction des Plantes BP 1039 - 51 687 Reims Cedex 2	<a href="mailto:maryline.magnin-robert@univ-reims.fr">maryline.magnin-robert@univ-reims.fr</a>
Nathalie Maillhac	Ecole d'ingénieurs de Purpan 75 voie du TOEC BP 57611 31076 Toulouse Cedex 3	<a href="mailto:nathalie.maillhac@purpan.fr">nathalie.maillhac@purpan.fr</a>
Teresa Martin	Instituto Tecnológico Agrario de Castilla y León, finca de Zamadueñas, Ctra. de Burgos Km. 119, 47071 Valladolid, Espagne	<a href="mailto:marvilte@itacyl.es">marvilte@itacyl.es</a>
Flore Mazet	Université de Haute-Alsace, UFR PEPS, laboratoire Vigne Biotechnologies et Environnement 33, rue de Herrlisheim 68 008 Colmar cedex	<a href="mailto:flore.mazet@uha.fr">flore.mazet@uha.fr</a>
Isabelle Méjean	Chambre d'Agriculture 26	<a href="mailto:imejean@drome.chambagri.fr">imejean@drome.chambagri.fr</a> Excusée
Eric Ménard	BNIC 69, rue de Bellefonds 16 100 Cognac	<a href="mailto:emenard@bnic.fr">emenard@bnic.fr</a> Excusé
Laurence Mercier	MHCS – Moët & Chandon, 6 rue Croix de Bussy – 51200 Epernay	<a href="mailto:lmercier@mhws.fr">lmercier@mhws.fr</a>
Didier Merdinoglu	UMR Santé de la Vigne et Qualité du Vin INRA – ULP Laboratoire de Génétique et	<a href="mailto:didier.merdinoglu@colmar.inra.fr">didier.merdinoglu@colmar.inra.fr</a>

	d'Amélioration des Plantes 28 rue de Herrlisheim BP 20507 68021 Colmar cedex	
Isabelle Merlin	UMR EGFV ISVV, 210 Chemin de Leysotte - CS 50008 - 33882 Villenave d'Ornon Cedex, France	<a href="mailto:isabelle.merlin@bordeaux.inra.fr">isabelle.merlin@bordeaux.inra.fr</a>
Christine Monamy	BIVB, BP 150 - 21204 Beaune Cedex	<a href="mailto:christine.monamy@bivb.com">christine.monamy@bivb.com</a> Excusée
Laura Mornet	Chambre d'agriculture de la Charente, 25 rue Cagouillet 16 100 Cognac	<a href="mailto:laura.mornet@charente.chambagri.fr">laura.mornet@charente.chambagri.fr</a> Excusée
Guillaume Morvan	Chambre d'Agriculture de l'Yonne 14 bis rue Guynemer 89 015 Auxerre Cedex	<a href="mailto:g.morvan@yonne.chambagri.fr">g.morvan@yonne.chambagri.fr</a>
Mickaël Olivon	Chambre d'Agriculture du Rhône, Brignais	<a href="mailto:olivon.mickael@rhone.chambagri.fr">olivon.mickael@rhone.chambagri.fr</a>
Laurent Panigai	CIVC/Service technique 5, rue Henri Martin BP 135 51204 Epernay	<a href="mailto:laurent.panigai@civc.fr">laurent.panigai@civc.fr</a>
Marie-Laure Panon	CIVC/Service technique 5, rue Henri Martin BP 135 51204 Epernay	<a href="mailto:marie-laure.panon@civc.fr">marie-laure.panon@civc.fr</a>
Flora Pensec	Université de Haute-Alsace, UFR PEPS, laboratoire Vigne Biotechnologies et Environnement 33, rue de Herrlisheim 68 008 Colmar cedex	<a href="mailto:florapensec@orange.fr">florapensec@orange.fr</a>
Matthieu Pessato	CA 82	<a href="mailto:viticulture@tarn-et-garonne.chambagri.fr">viticulture@tarn-et-garonne.chambagri.fr</a> Excusé
Pierre Petitot	Chambre d'agriculture de Côte d'Or 11 rue Becquerel – 21000 Dijon	<a href="mailto:pierre.petitot@cote-dor.chambagri.fr">pierre.petitot@cote-dor.chambagri.fr</a>
Jérôme Pouzoulet	Ecole d'ingénieurs de Purpan 75 voie du TOEC BP 57611 31076 Toulouse Cedex 3	<a href="mailto:jerome.pouzoulet@yahoo.fr">jerome.pouzoulet@yahoo.fr</a> Excusé
Montserrat Ramirez-Suero	Université de Haute-Alsace, UFR PEPS, laboratoire Vigne Biotechnologies et Environnement 33, rue de Herrlisheim 68 008 Colmar cedex	<a href="mailto:montserrat.ramirez@gmail.com">montserrat.ramirez@gmail.com</a>
Cecilia Rego	Instituto Superior de Agronomia, UTL, Lisboa, Portugal	<a href="mailto:crego@isa.utl.pt">crego@isa.utl.pt</a>
Patrice Rey	ENITA de Bordeaux UMR INRA Santé Végétale 1 cours du Général de Gaulle BP 201, 33 175 Gradignan	<a href="mailto:p-rey@enitab.fr">p-rey@enitab.fr</a> Excusé
Didier Richy	Chambre d'Agriculture des Bouches-du-Rhône 22, avenue Henri Pontier	<a href="mailto:d.richy@bouches-du-rhone.chambagri.fr">d.richy@bouches-du-rhone.chambagri.fr</a>

	13 626 Aix-en-Provence	
Jean-Philippe Roby	ENITA de Bordeaux 1 cours du Général de Gaulle BP 201 - 33 175 Gradignan	<a href="mailto:jp-roby@enitab.fr">jp-roby@enitab.fr</a> Excusé
Emmanuel Rouchaud	Chambre d'Agriculture de l'Aude 70, rue Aimé Ramond 11 878 Carcassonne Cedex 9	<a href="mailto:emmanuel.rouchaud@aude.chambagri.fr">emmanuel.rouchaud@aude.chambagri.fr</a> Excusé
Claudie Roulland	BNIC, Station viticole 69, rue de Bellefonds 16 100 Cognac	<a href="mailto:croulland@bnic.fr">croulland@bnic.fr</a>
Gilles Salva	CRVI Les Caselles 20 230 San Giuliano	<a href="mailto:civamviti.salva@wanadoo.fr">civamviti.salva@wanadoo.fr</a> Excusé
Alessandro Spagnolo	URCA, UFR Sciences de Reims Laboratoire de Stress, Défenses et reproduction des Plantes BP 1039 - 51 687 Reims Cedex 2	<a href="mailto:alessandro.spagnolo@univ-reims.fr">alessandro.spagnolo@univ-reims.fr</a>
Christophe Terrier	FDCETA, 3 rue du clos fleuri, 17100 Saintes	<a href="mailto:terrier.fdceta@orange.fr">terrier.fdceta@orange.fr</a>
Montse Torrès	M. Torrès 08720 Vilafranca del Pinedes Espagne	<a href="mailto:mtorresv@torres.es">mtorresv@torres.es</a>
Daniel Vergnes	Chambre d'Agriculture 64 124 Boulevard Tourasse 64 078 Pau Cedex	<a href="mailto:d.vergnes@pa.chambagri.fr">d.vergnes@pa.chambagri.fr</a>
Virginie Viguès	IFV Station Régionale Midi-Pyrénées V'Innopôle BP 22 81 310 L'Isle/Tarn	<a href="mailto:virginie.vigues@vignevin.com">virginie.vigues@vignevin.com</a>
Béatrice Vincent	IFV Pôle Bourgogne-Beaujolais-Jura- Savoie, 6 rue du 16 <sup>ème</sup> Chasseurs, 21200 BEAUNE	<a href="mailto:beatrice.vincent@vignevin.com">beatrice.vincent@vignevin.com</a>