

Bilan d'étape Appel A Projet Maladies du bois

Recherche et évaluation de procédés permettant
la production de plants indemnes de
champignons associés aux maladies du bois

Détails du Projet

➤ Porteur

- Chambre d'Agriculture de la Gironde

➤ Concours financier

- CasDar
- FAM
- BIVB
- autofinancement des partenaires

➤ Durée 36 mois

- de janvier 2010 à décembre 2012

Les partenaires du projet

- Ecole d'ingénieurs de Purpan
- Bureau National Interprofessionnel du Cognac (BNIC)
- Syndicat des Producteurs de Bois et Plants de Vigne de Vaucluse
- Chambre d'agriculture du Vaucluse, de l'Aude, du Gard, de la Gironde, de la Saône-et-Loire, de l'Yonne
- Chambre Régionale d'Agriculture de Bourgogne.
- IFV Pôles Sud-Ouest, Rhône-Méditerranée, Val de Loire

Comité de pilotage

- **Aline Lonvaud**- ISVV
- **Elodie Humblot**-APCA
- **Jean-Pierre Péros** : INRA - UMR DIAPC - équipe génétique Vigne
- **Muriel Barthe** - CIVB
- **Nathalie Ollat** -UMR Ecophysiologie et Génomique Fonctionnelle de la Vigne -ISVV
- **Patrice Rey** - ENITA de Bordeaux, UMR 1065 Santé Végétale

Rappel des actions du projet

- 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.

Action 1: Développement de nouveaux outils de diagnostic des champignons associés pour le contrôle de la qualité des plants

- **Partenaires impliqués dans l'action**
- **El Purpan, pôles IFV**

- Développement de la PCR qualitative
 - Choix d'amorces spécifiques pour chacun des champignons associés
 - Mise au point des conditions de PCR permettant la lecture en multiplex
 - Validation sur champignons directement & sur matériel végétal
- Développement de la PCR quantitative en temps réel
 - *Botryosphaeria obtusa*, *Botryosphaeria parvum*, *Phaemoniella chlamydospora*, *Phaeocremonium aleophilum*
- Validation en cours en s'appuyant sur les autres étapes du projet
 - Amélioration d'étapes du processus de production de plants
 - Recherche de nouveaux moyens de désinfection

- Comparaison notations microbiologiques/diagnostics QPCR
- Clés d'interprétation des différences de résultats

	Pourcentage total
Echantillons identiques	30%
Echantillons pour lesquels rien n'a poussé en microbiologie alors que des champignons ont été détectés en qPCR	27%
Echantillons dont la différence d'analyse s'explique par le fait que Pal est difficile à faire pousser sur boîte.	7%
Echantillons dont la différence peut s'expliquer du fait que les deux <i>Botryosphaeria</i> peuvent être confondus sur boîte.	4%
Echantillons dont la différence peut être expliquée par la prédominance de la virulence des <i>Botryosphaeria</i> .	12%
Echantillons dont la différence d'analyse s'explique par plusieurs des raisons évoquées ci-dessus.	5%
Non expliqués (ou pas totalement)	15%

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.

- **Partenaires impliqués dans l'action :**
- **BNIC, IFV, CA84, SPBPVV**

Colloque Maladies du bois - 9 décembre 2011



Greffons et porte-greffes

Éborgnage/débitage

Réhydratation

Greffage/Paraffinage

**Stratification
(eau, sciure, tourbe)**

Élevage plein champ

Mise en pot

Mise en vente

2.1- Influence de l'âge des parcelles et de leur état sanitaire sur la qualité des plants à la sortie de la pépinière

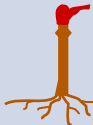

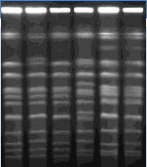
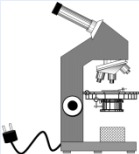
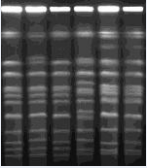
2.2- Recherche de nouveaux moyens de désinfection des bois

2.3- amélioration d'étapes du processus de production des plants

2.4- greffage en vert

2.1-Influence de l'âge des parcelles et de leur état sanitaire sur la qualité des plants à la sortie de la pépinière

Partenaires: IFV, CA84, SPBPVV

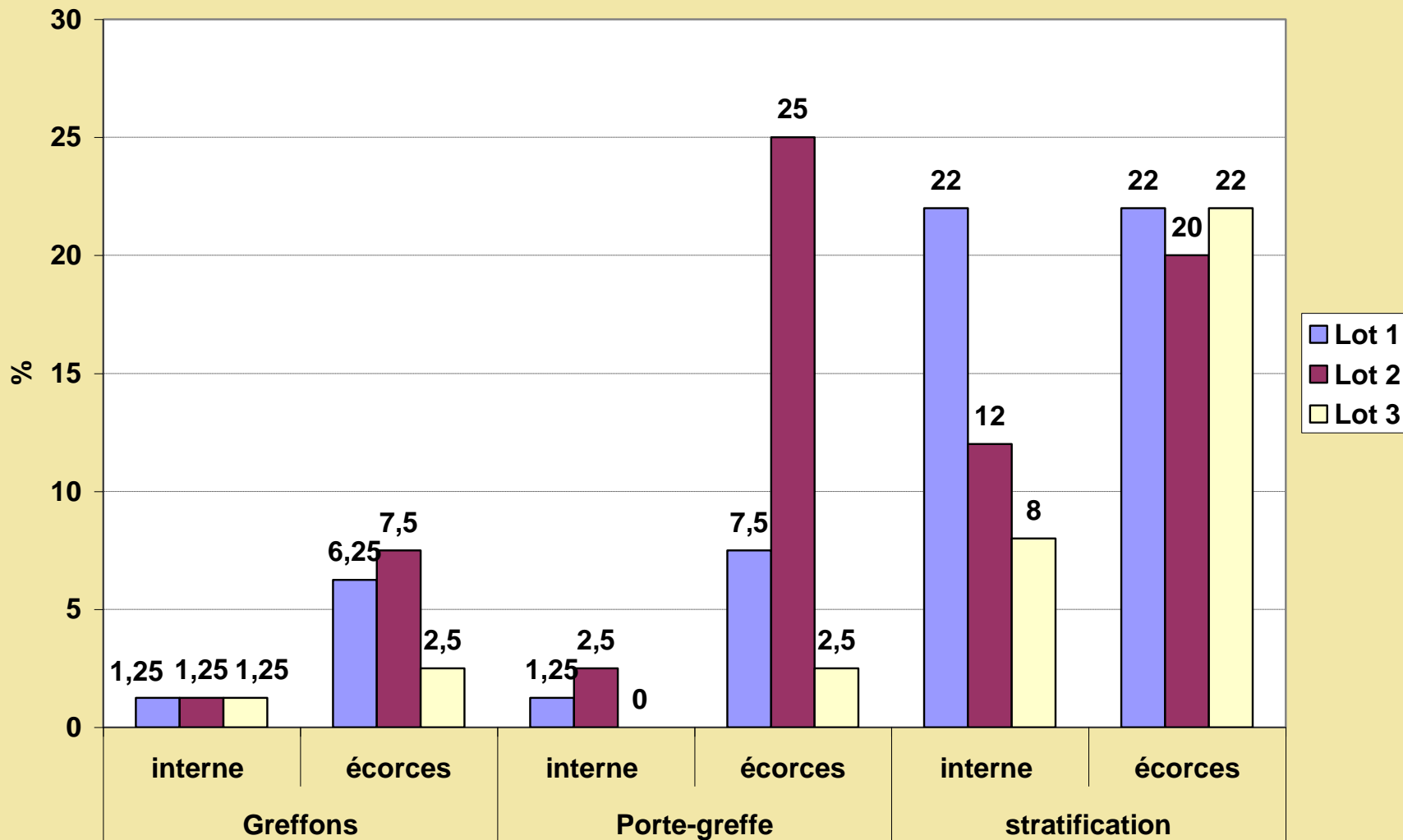
Calendrier	Actions à mener et résultats attendus
<p>Été 2010</p>	<ul style="list-style-type: none"> • caractérisation de parcelles présentant différents niveaux de maladies: <ul style="list-style-type: none"> ➤ 3 parcelles de PG/ R110 (taux de manquants) ➤ 3 parcelles de mourvèdre (expression des symptômes) <div style="text-align: right;">    <p>+</p> </div>
<p>Hiver 2010/2011</p>	<ul style="list-style-type: none"> • caractérisation de la contamination microbiologique du matériel végétal (greffons et porte-greffes) issu de parcelles + ou – malades → Production des plants
<p>Année 2011/2012</p>	<ul style="list-style-type: none"> • greffage, stratification • élevage
<p>Printemps 2012</p>	<ul style="list-style-type: none"> • caractérisation des taux de reprise des plants • caractérisation de la contamination microbiologique des plants issus de parcelles + ou - malades <div style="text-align: right;">   </div>

Analyse des greffons et porte-greffes

Nîmes / Porte- greffes / R110

		<i>Fa</i>	<i>Pch</i>	<i>Pal</i>	<i>Ds</i>	<i>Np</i>	<i>Bsp.</i>	<i>Phomopsis</i>	<i>Il</i>	Total sains
Jeune	Tissus internes	1.2	0	0	1.2	7.5	0	1.2	0	56
	Ecorces	1.2	0	0	7.5	28.7	3.7	1.2	0	
Moyen	Tissus internes	0	0	0	2.5	5	2.5	0	0	66
	Ecorces	0	0	0	25	3.7	5	1.2	1.2	
Vieux	Tissus internes	0	0	0	0	3.7	0	3.7	0	86
	Ecorces	1.2	0	0	2.5	3.7	1.2	0	0	

Colloque Maladies du bois - 9 décembre 2011



Evolution de *D. seriata* dans les tissus ligneux internes et au niveau des écorces pour chaque lot analysé



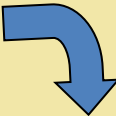


Conclusion

- Le choix des parcelles de prélèvement ne semble pas représenter un point critique
- La contamination du matériel végétal est observée essentiellement en surface
- La stratification est une étape critique de contamination

2.2- Recherche de nouveaux moyens de désinfection des bois

Partenaires: *BNIC* , *IFV*

Produits expérimentés en pépinières 2 années consécutives

Calendrier	Actions à mener et résultats attendus
<p>Hiver 2009 / 2010</p> 	<ul style="list-style-type: none"> • propriétés fongicides / phytotoxicité au laboratoire: détermination des conditions d'application des produits en pépinière
<p>➤ 2010</p> 	<p>➤ puis 2011</p> 
<p>Printemps</p> 	<ul style="list-style-type: none"> • production de plants en pot selon différents itinéraires techniques (application des produits dans les bains de réhydratation avant greffage)
<p>Eté</p> 	<ul style="list-style-type: none"> • caractérisation de l'influence des produits fongicides sur la contamination finale des plants



Colloque Maladies du bois - 9 décembre 2011

virutec
carsanit
virutec
best top
arvo hdl
agricerm 1000
vibafon
desogerm 3A vegetaux
agricerm 2000
halamid-R
Four-sann
japur
oxycide 0110
proxitane ahc
zal perax su 380
bactipal elv
oxysan
agroxyde II
alcachlore 0147
okcitar
DSAL
bactesam
bakcil
avdn 5
cine102
memno florades
phenoseptyl pov
virkon
Cryptonol
switch
Anolyte

○ *Vibafon*: chlorure de didecyl /diméthylammonium
Diméthylbenzylammonium /formaldéhyde ou glutaraldéhyde

○ *Halamid*: Nsodiumnchloroparatoluenesulfonamide

○ *Oxysan*: acide acétique acide peracétique
peroxyde d'hydrogene

○ Hypochlorite de Na

○ Chlorure de didecyl /diméthylammonium

○ *Mennoflorades*: a. benzoïque

○ *Phénoseptyl*: orthophénylphénol

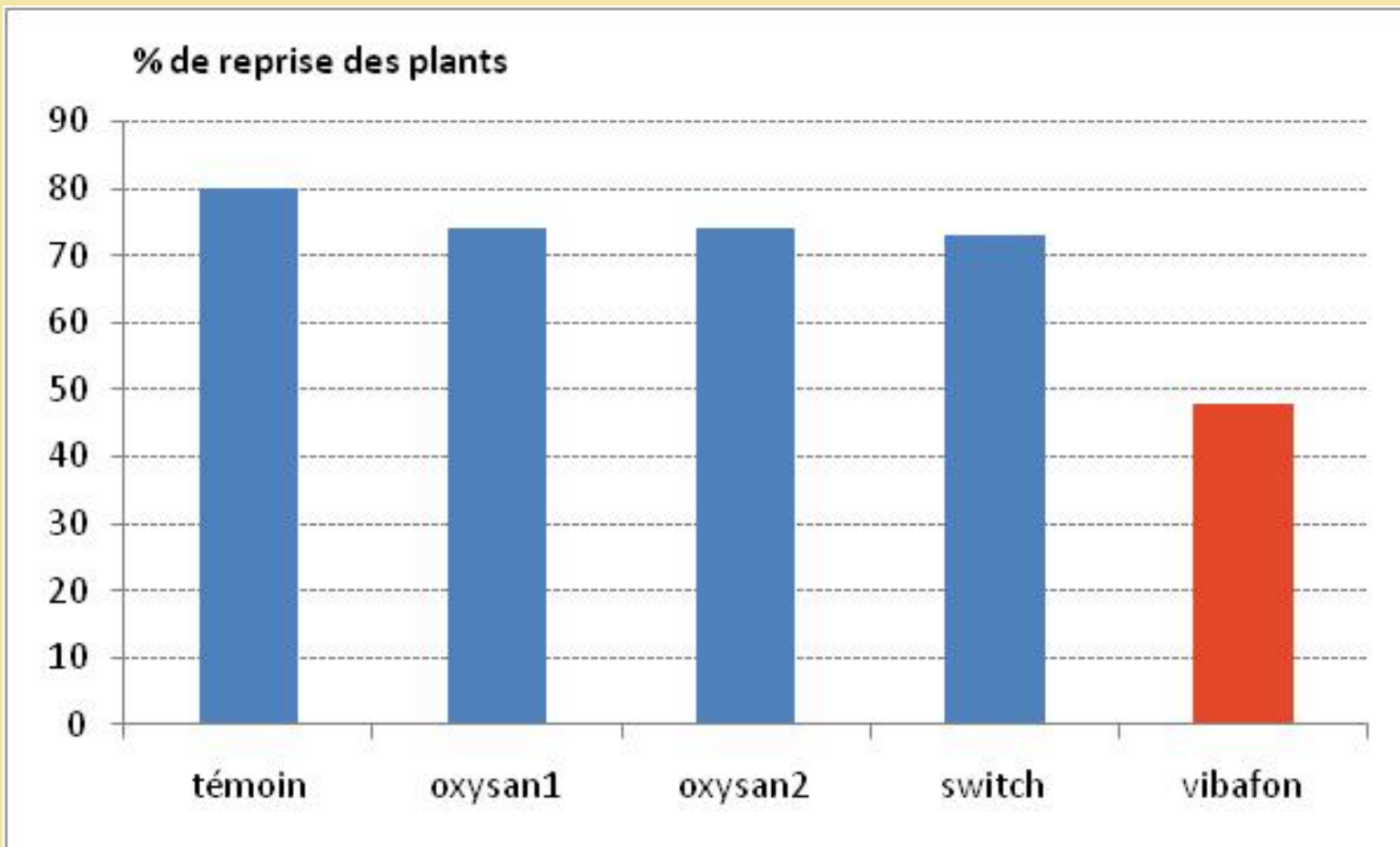
○ *Virkon*: a. sulfamique/monopersulfate de K, a.malique

○ oxyquinoleine

○ fludioxonil/cyprodinil

□ Produits testés en 2010 et 2011

➤ Taux de reprise






Résultats 2010

Analyses microbiologiques

	Effet produit	Effet zone	Effet rep
Pch	NS	NS	*
Ds (Bo)	***	***	***
Np	*	***	*
Bsp1	***	**	***
Bsp2	***	***	***

2.3- Amélioration d'étapes du processus d'élaboration des plants

Partenaires: *BNIC*

Calendrier	Actions à mener et résultats attendus	
Printemps/été 2010		<ul style="list-style-type: none"> • nouvelles techniques de stratification: intérêt, faisabilité technique évalués à l'échelle du laboratoire
Printemps 2011		<ul style="list-style-type: none"> • production de plants en pot : mise en œuvre et comparaison de plusieurs techniques de stratification
Été 2011		<ul style="list-style-type: none"> • caractérisation de la faisabilité technico-économique (temps de travaux, coût, qualité des plants) • caractérisation de l'influence des méthodes de stratification sur la contamination finale des plants

Bilan, partenaires: BNIC, IFV, EI Purpan

Année 2012



• **synthèse des résultats** / définition d'un **processus optimisé** de production des plants/ production et évaluation de la qualité sanitaire des plants/ mise en œuvre de la PCR quantitative si méthode disponible



Tests nouveaux substrats

12 substrats testés / 3 répétitions par substrat :

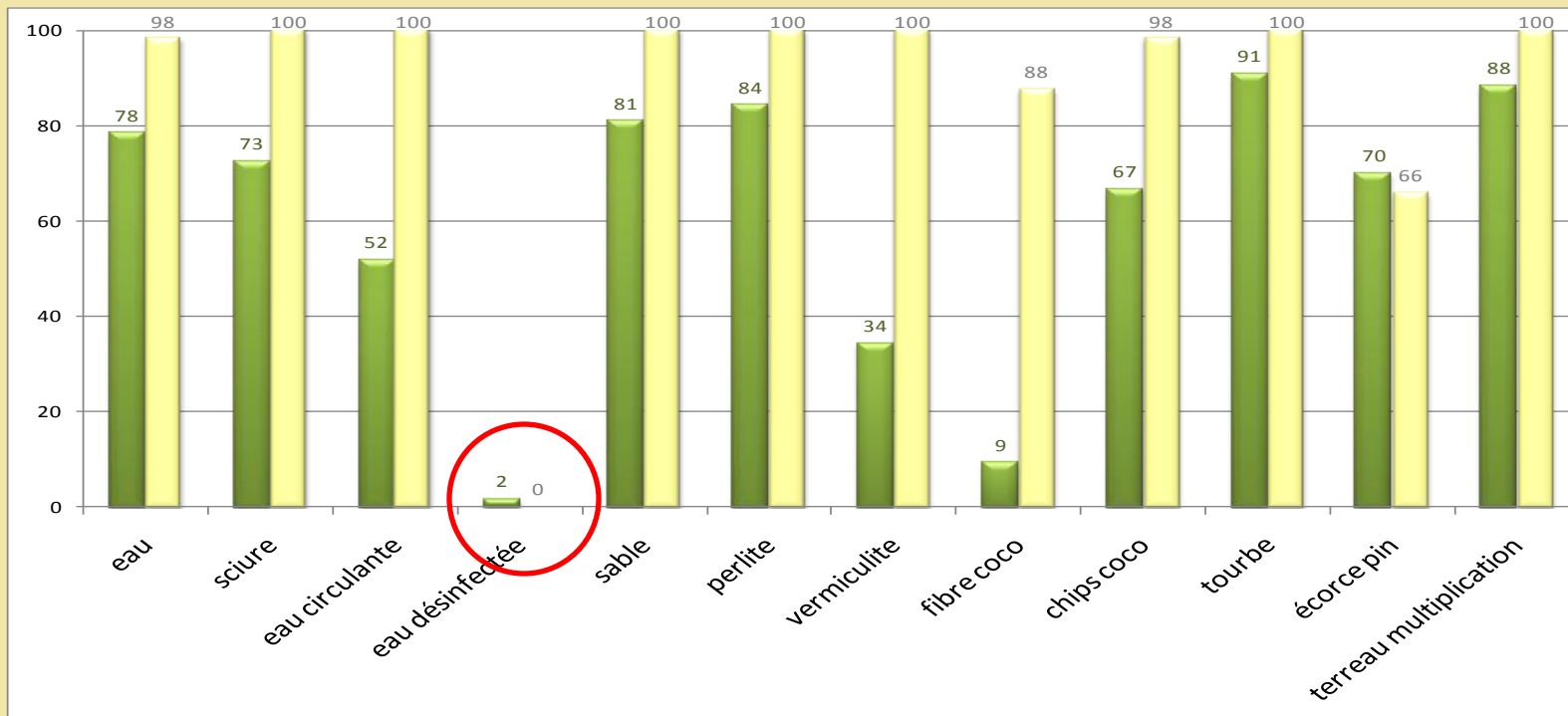
- 2 références (eau, sciure)
- 2 liquides (eau circulante, eau désinfectée)
- 5 substrats organiques (fibre coco, chips coco, tourbe, écorce de pin, terreau multiplication)
- 3 substrats inertes (sable, perlite, vermiculite)



RESULTATS



Essai stratification positif sur tous les substrats, sauf l'eau désinfectée :

- bon taux de débourrement
- calcs présents
- bon racinage



Partenaires: IFV

2.4- greffage en vert

Calendrier	Actions menées et résultats attendus
	<ul style="list-style-type: none">• fabrication des plants (en pots et repiquage en pépinière)
	<ul style="list-style-type: none">• caractérisation microbiologique de la contamination des plants
	<ul style="list-style-type: none">• le cas échéant, caractérisation des étapes de contamination

Colloque Maladies du bois - 9 décembre 2011

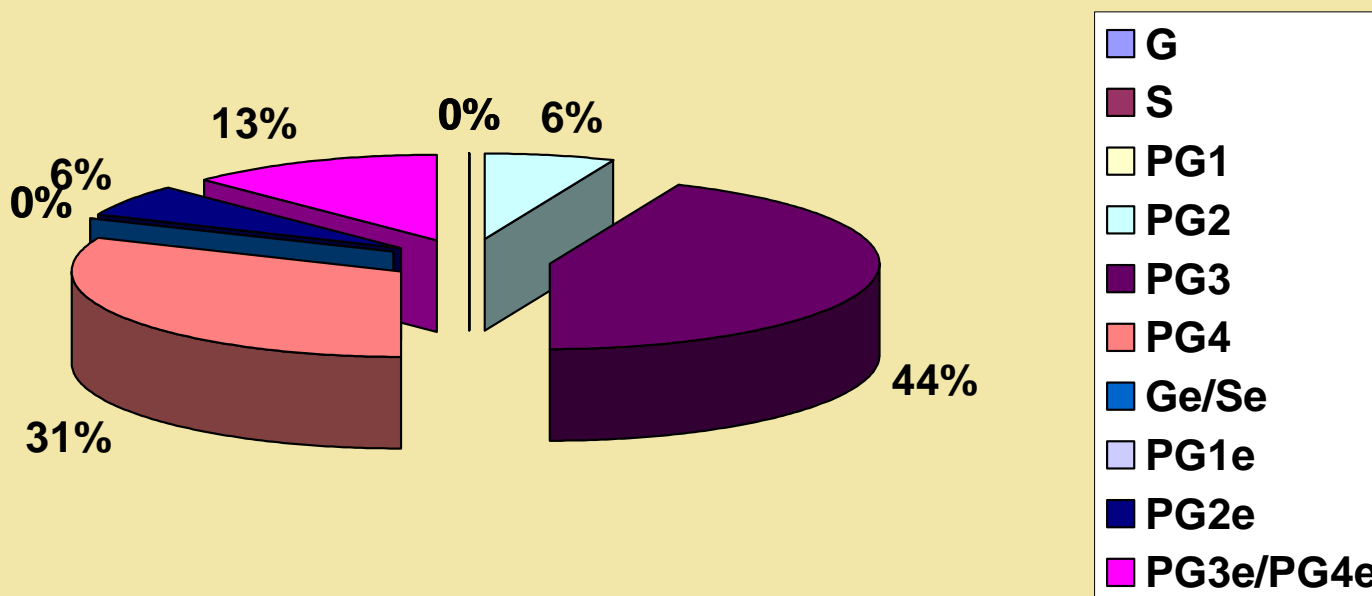
Essais réalisés

Type de matériel	Date de greffage	Date de fin de l'élevage en serre	Nombre analysé
Cabernet-Sauvignon 412/Riparia Gloire	2 août 2010	7 décembre 2010	45
Cabernet- Sauvignon cl 412/140 Ruggieri	3 août 2010	29 mars 2011	16
Cabernet-Sauvignon cl 412/5BB	3 août 2010	29 mars 2011	15
CABERNET Sauvignon cl 412/Rupestris du Lot	3 août 2010	29 mars 2011	13

Résultats de l'analyse microbiologique

Un seul des champignons recherchés a été trouvé dans le matériel végétal analysé (greffes et porte-greffe) aussi bien en surface que dans les tissus ligneux

Ilyonectria liriodendri





Colloque Maladies du bois - 9 décembre 2011

Conclusion

Absence des champignons associés aux maladies du bois excepté *Ilyonectria liriodendri*

Présence de microorganismes quasiment dans tous les greffes-boutures : *Chaetomium* sp., *Fusarium* sp...

Perspectives

Mise en place d'une expérimentation permettant de mieux comprendre la vitesse à laquelle une parcelle saine pourrait être infectée et par conséquent la nécessité ou non de produire des plants indemnes des champignons en sortie de pépinière.

Définir le rôle des microorganismes *Chaetomium* sp., *Fusarium* sp.

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

Objectif

Mesurer l'impact du traitement à l'eau chaude des plants sur le comportement ultérieur des vignes vis à vis des maladies du bois (en termes d'expression des symptômes)

➤ 2 sous actions

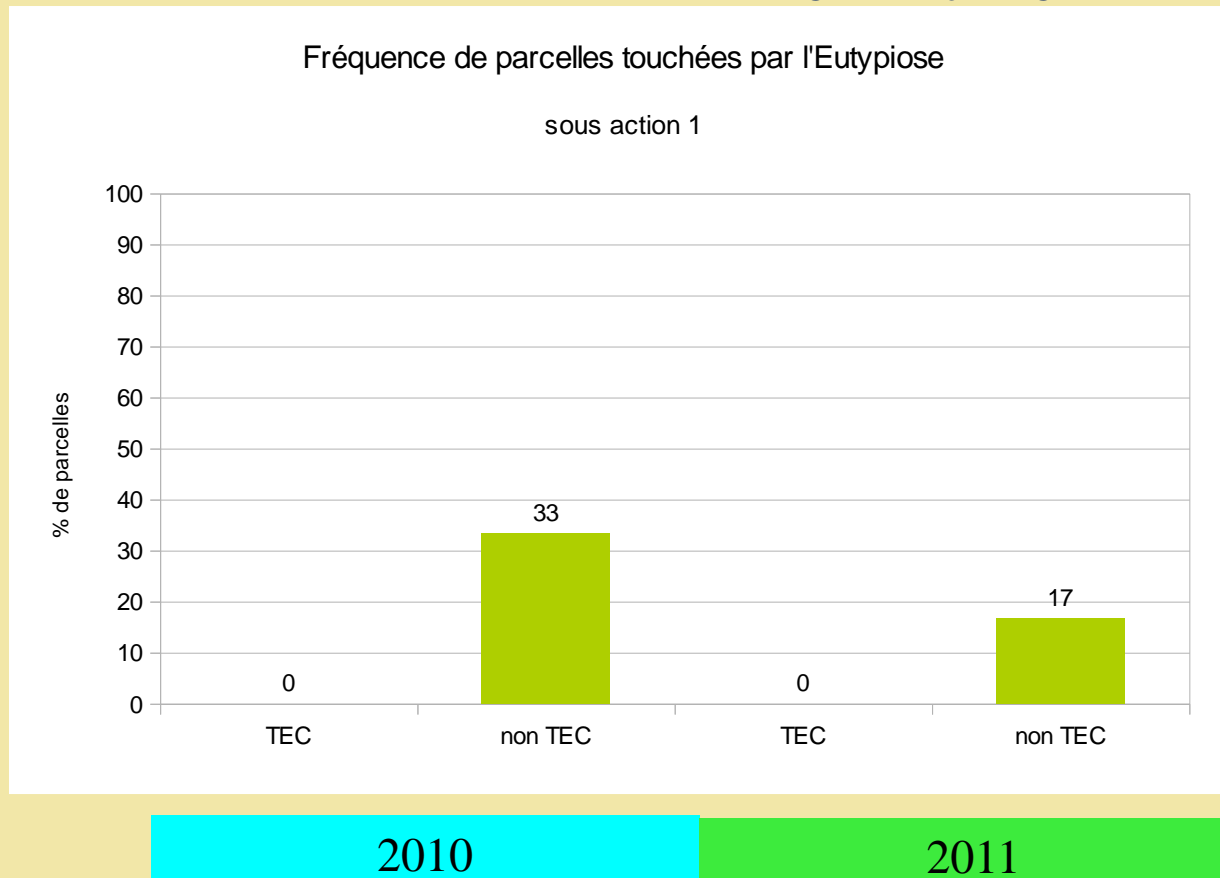
- Étudier la part du TEC dans l'ensemble des facteurs de variations de l'expression => réseau de parcelles en Gironde.
- Comparaisons monofactorielles TEC / témoin non TEC => réseau de parcelles Aude, Gard, Saône et Loire et Yonne.



Colloque Maladies du bois - 9 décembre 2011

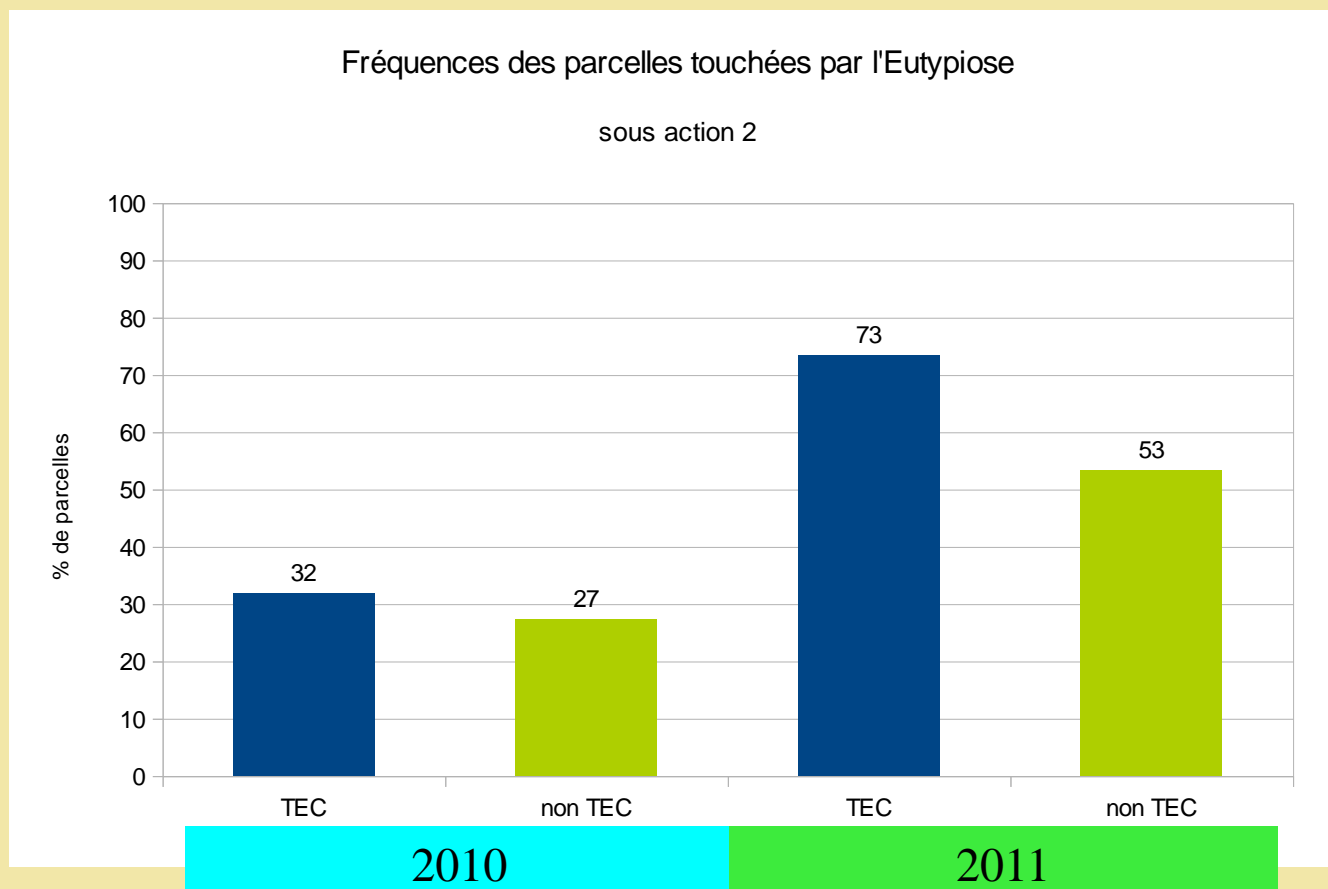
Eutypiose

- Sous action 1 (étude plurifactorielle)
 - Baisse de la fréquence de parcelles touchées
 - Comme en 2010, $F_{\text{TEC}} < F_{\text{nonTEC}}$



• Sous action 2 (études monofactorielles)

Augmentation de la fréquence des parcelles touchées
Comme en 2010, $F_{TEC} > F_{nonTEC}$



Conclusions Eutypiose :

Sur le court-terme (plantations âgées de moins de 7 ans) : pas d'aggravation significative associée au TEC même si la fréquence de parcelles touchées semble plus importante.

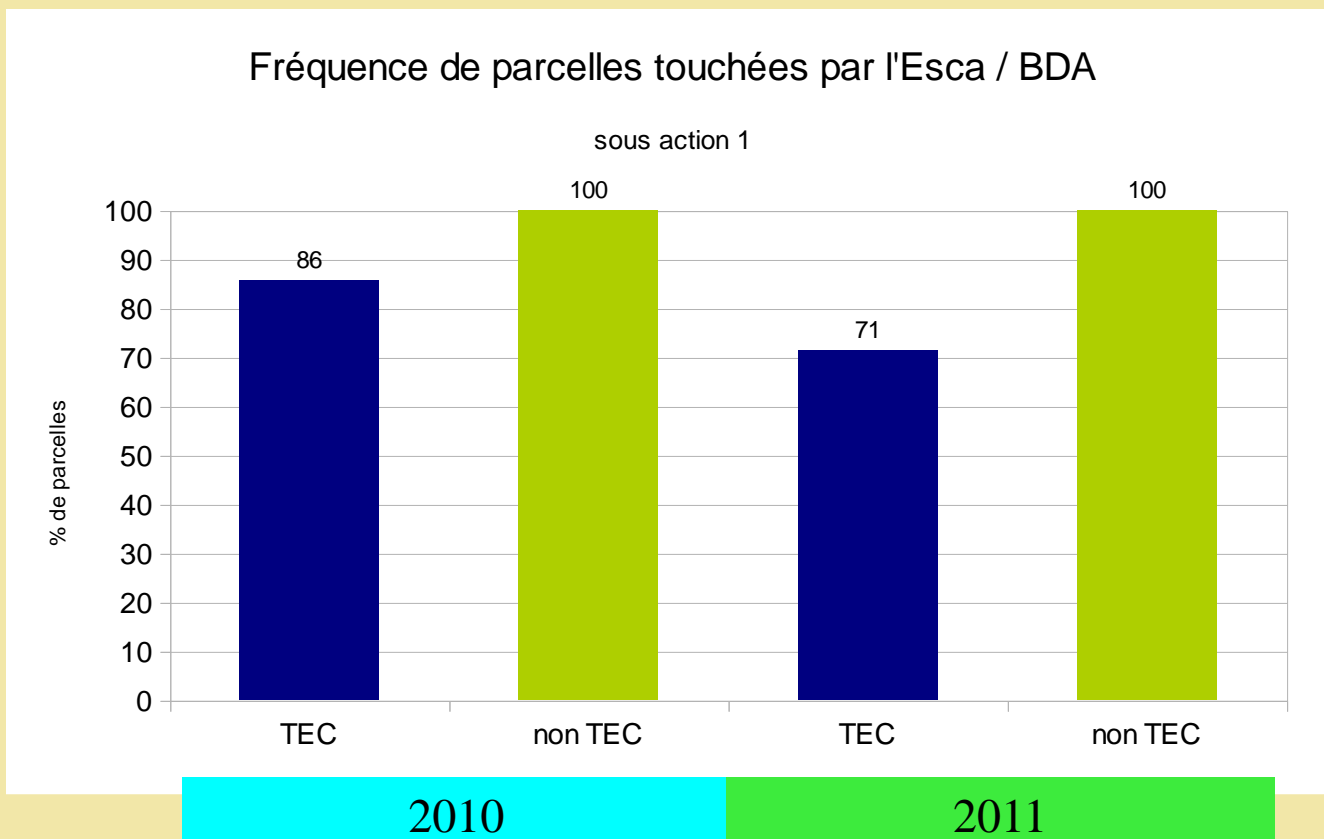
Sur le moyen terme (plantations âgées de 10 ans) : pas d'aggravation significative associée au TEC ni en intensité ni en fréquence.



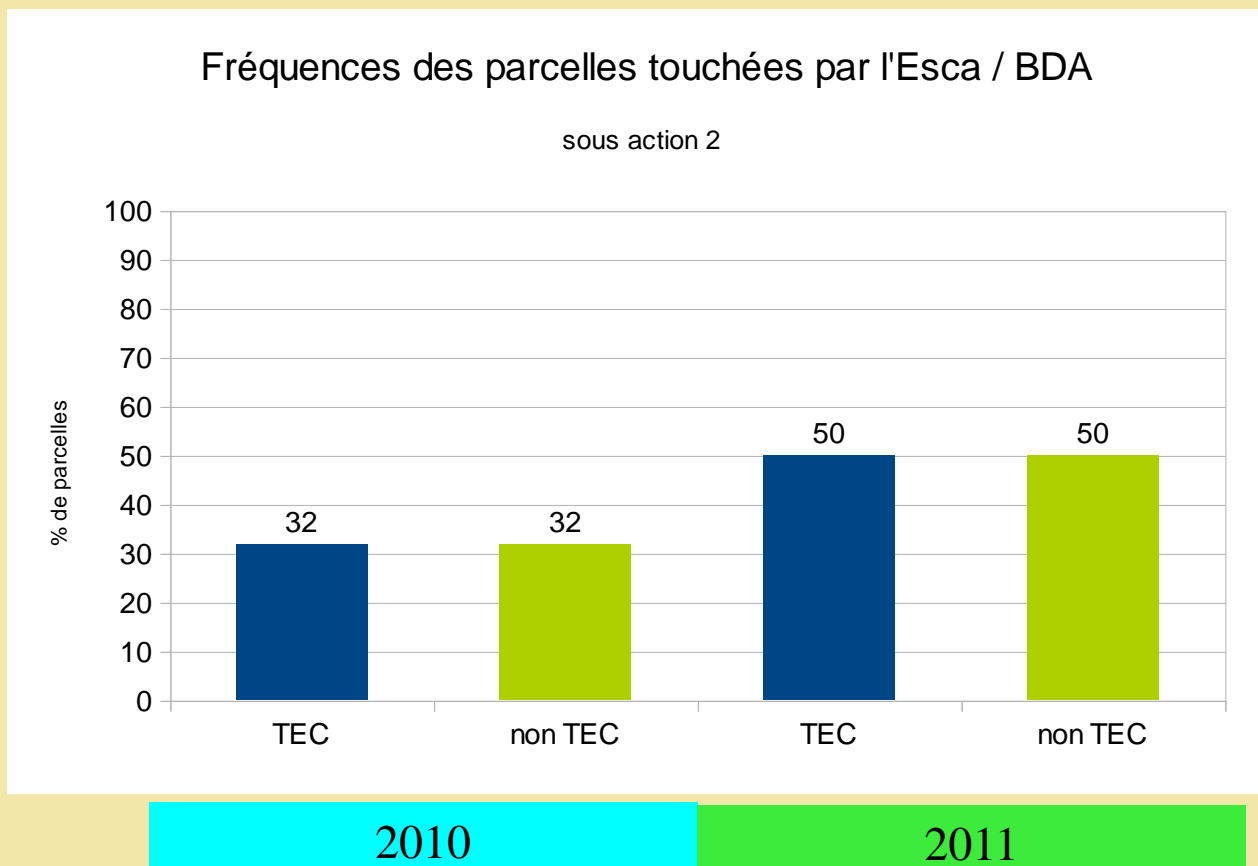
Colloque Maladies du bois - 9 décembre 2011

Esca et BDA

- Sous action 1 (étude plurifactorielle)
- Moins de parcelles touchées en 2011 dans le groupe TEC.
- Toutes les parcelles non TEC sont touchées.



- Sous action 2 (études monofactorielles)
 - Augmentation de la fréquence des parcelles touchées,
 - sans différence entre TEC et non TEC





Colloque Maladies du bois - 9 décembre 2011

Conclusions Esca / BDA :

Légèrement plus de parcelles touchées et une tendance (uniquement en Gironde) à une plus forte intensité dans les modalités non TEC.



Colloque Maladies du bois - 9 décembre 2011

● Prévisions 2012

Continuer les comptages.

Faire des comptages dans le voisinage des parcelles.

Remettre en place au printemps le protocole expérimental permettant d'évaluer la distance de dissémination des spores (IFV - CA89 – CRAB).

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

➤ Les cibles

- pépiniéristes, viticulteurs, techniciens, lycées agricoles.

➤ Médias, revues, plaquettes de synthèse.

➤ Sites Internet des partenaires : Matevi, Aredvi, Vignevin, BNIC...

➤ Les colloques nationaux

- Mondiaвити, Vinitech ou le Sitevi, “ Workshop of Grapevine Trunk Disease ”

➤ 14 Interventions orales

- Assemblée Générale des Pépiniéristes du Sud-Ouest – Lycée Agricole de Montagne
- Réunion du groupe de travail “ qualité des plants ” -Professionnels du syndicat des pépiniéristes charentais, des viticulteurs charentais, des techniciens viticoles et de FranceAgrimer.
- Les maladies du bois : eutypiose, esca, Black dead arm. Journée technique maladies du bois, Hyères
- Journées Maladies du Bois - Domaine de l’Eclair (Villefranche/Saône).
- ...

➤ 17 Articles ou communications écrites

- Note technique
- Guide du Vignoble
- l'Information Agricole du Rhône
- ...

➤ Perspectives 2012

- communiquer sur les résultats du projet
- s'appuyer sur le Vinitech 2012
- ...



Colloque Maladies du bois - 9 décembre 2011