



Evaluation de l'efficacité des *Trichoderma* en protection des plaies de taille à l'égard du champignon *Eutypa lata*
 (Exposé réalisé lors du 7th International Workshop on grapevine trunk diseases
 Santa Cruz, Chili, 17-21 janv.)



5 days (*E. lata* MT247 /*Trichoderma* T1)

➔ Biological control agents of plant pathogens

➔ Mechanisms to control of pathogenic fungi:

- Mycoparasitism
- Antibiosis
- Competition



6 days (*E. lata* MT247 /*Trichoderma* T1)

➔ Authorization to be used in pruning wound protection against *E. lata* in several countries:

- New Zealand, Australia
- France

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.



12 days (E. lata MT247 /Trichoderma T1)



50 days (E. lata MT247 /Trichoderma T1)

➔ Really efficiency ????

➔ Based on the tests made on pruning wounds

In the literature, it is difficult to know really their efficiency against *Eutypa lata* when they use in pruning wounds protectants.

Did the tests make really in the good conditions?

What were the climatic conditions during the experimentation between the protection and the inoculation of the pathogen?

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.

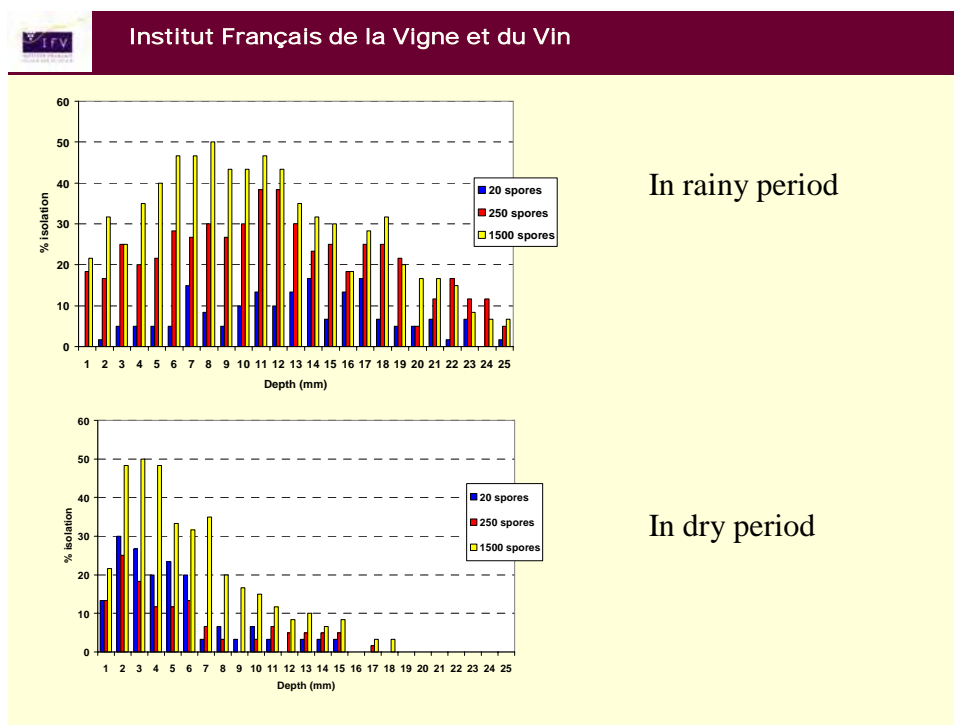
Ascospores:



- Dissemination: each rainfall > 1 mm (Moller & Carter, 1965)
- Penetration into the plant by pruning wounds
- Liberation: within 2 hr or 3 hr of the onset of rainfall (Pearson, 1980)
- Stopped 24 hr or even 36 hr after the end of the rainfall (Pearson, 1980, Dubos, 1987).
- Migration in the subjacent tissues to the pruning wound

Il faut rappeler que la dissémination des ascospores d'*Eutypa 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 et présenté lors du dernier congrès international sur les maladies du bois (6ème International Workshop on grapevine trunk diseases, Florence, 1-3 sept 08) que la pluie joue un rôle important sur la migration des spores dans les tissus sous-jacents à la plaie de taille.



Les tests réalisés dans de telles conditions montrent une migration des spores plus profonde dans les tissus sous-jacents à la plaie de taille que s'ils étaient réalisés en période sèche. Ce travail a montré également que les tests réalisés dans de mauvaises conditions (c'est-à-dire en période sèche) donnaient des résultats d'efficacité tout à fait différents s'ils étaient réalisés dans de bonnes conditions c'est-à-dire en périodes pluvieuses.

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.

Pour en savoir plus : 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.

Steps necessary to make the tests:

- Pruning
- Protection
- **Rain**
- Inoculation
- Incubation
- Microbiological analyses

Ainsi, en prenant compte ces résultats, les tests doivent être obligatoirement être réalisés selon ces conditions pour se rapprocher du plus possible des conditions naturelles : Taille, protection, pluie (étape cruciale pour se rapprocher des conditions les proches de la réalité), inoculation de l'agent pathogène dans les 24 heures suivant la pluie, incubation, analyses microbiologiques.

Material and method

- Pruning: December 14th
- Protection: immediately (around 10^7 conidia per wound)
- **Rain**: 44 mm
- Inoculation (December 15th , 1500 ascospores per wound)
- Incubation: 3, 7 and 11 mo.
- Microbiological analyses

Four strains of *Trichoderma atroviride* : T1, T4, T7 and T10

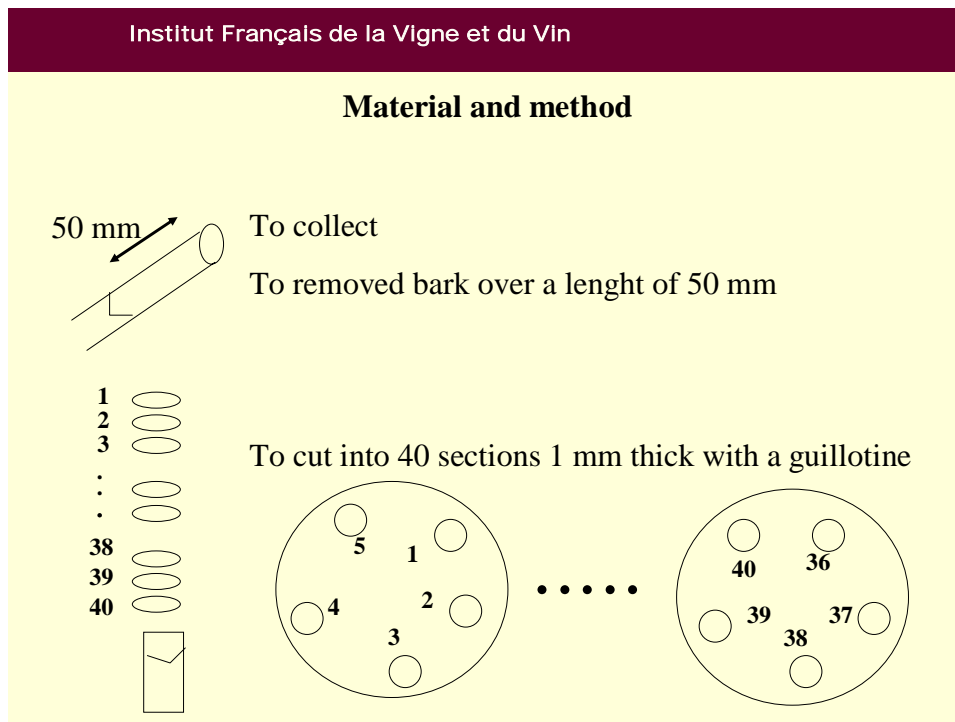
Two strains of *Trichoderma harzianum* T3 and T6

(Coming from four French societies).

Le travail présenté ici porte sur l'évaluation de l'efficacité du *Trichoderma* à l'égard d'*Eutypa lata* en protection des plaies de taille. Quatre souches de *Trichoderma atroviride* désignées sous le code T1, T4, T7 et T10 et deux souches de *Trichoderma harzianum*, T3 et T6 ont été testées. Ces souches de *Trichoderma* proviennent de quatre sociétés françaises.

La taille a été réalisée en décembre. Les sarments ont été coupés à environ 15 cm de leur base. La surface des plaies a été ensuite protégée par une suspension de spores de *Trichoderma*. La concentration appliquée était environ de 10 millions de spores par plaie de taille. L'apport de l'agent pathogène a été effectué le lendemain à raison de 1500 ascospores par plaie lors d'une période pluvieuse.

Les vingt portions de sarments laissés sur le ceps ont été prélevées 3, 7 et 11 mois après la protection. Le pourcentage de plaies présentant le *Trichoderma* ou *Eutypa lata* a été déterminé par la méthode d'isolement.

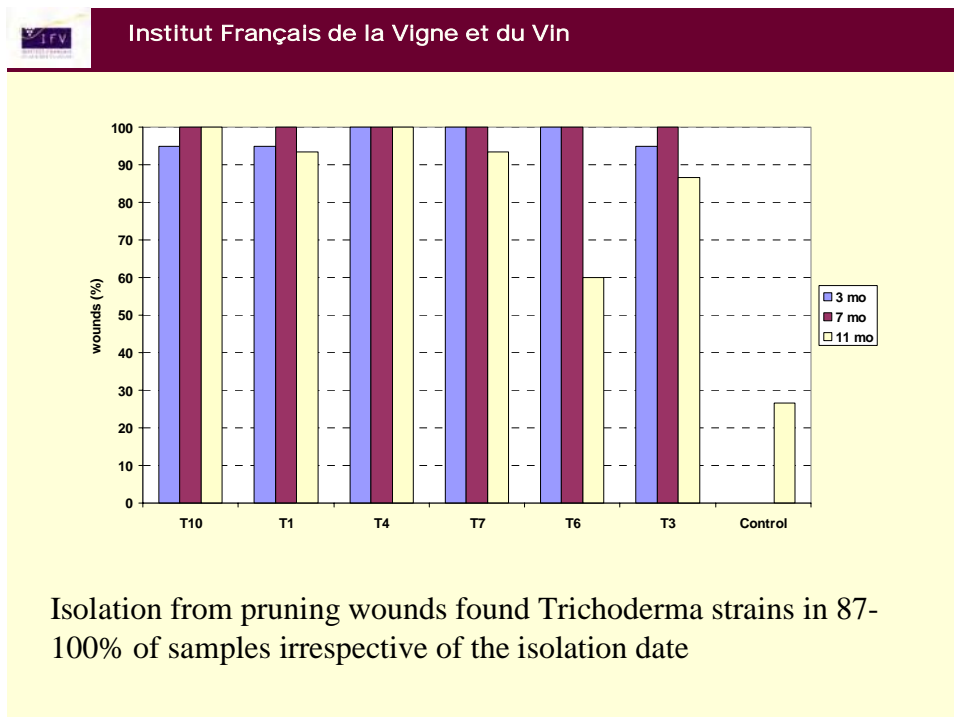


Chacune des portions de sarments a été écorcée et désinfectée par flambage à l'alcool. Elles ont été ensuite débitées en rondelles de 1mm d'épaisseur à l'aide d'une cisaille sur une longueur de 15 mm pour le premier prélèvement, 35 mm pour le deuxième et 40 mm pour le dernier prélèvement. Les rondelles de bois obtenues ont été déposées sur un milieu de culture malt-agar (cristomalt 15 g/l, agar-agar 20 g/l, stérilisation à 121°C pendant 20 min) suivant l'ordre de découpe à raison de cinq par boîte. Les boîtes ont été mises incubées pendant 5 semaines.



Première question :

Est-ce que les *Trichoderma* se développent dans les tissus ligneux ?



Les résultats sont donnés en pourcentage de plaies présentant le *Trichoderma*. Pour les plaies non protégées (témoin), il n'est pas trouvé dans les portions de bois prélevées 3 ou 7 mois après le début de l'expérimentation. Il est rencontré sur un faible nombre de plaies après 11 mois. Le fait de le retrouver sur des plaies indique que des niveaux d'infection naturelle existent mais ils restent faibles.

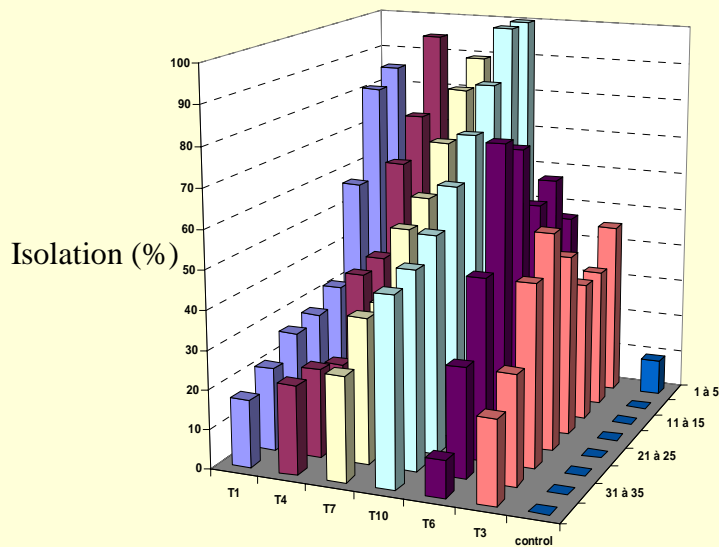
Le fait de le retrouver sur des plaies âgées indique dans les conditions naturelles, il n'est qu'un envahisseur tardif de la colonisation du bois.

Des plaies protégées, les différentes souches de *Trichoderma* sont retrouvées au niveau des plaies de taille et cela qu'elle soit la date de prélèvement.



Deuxième question :

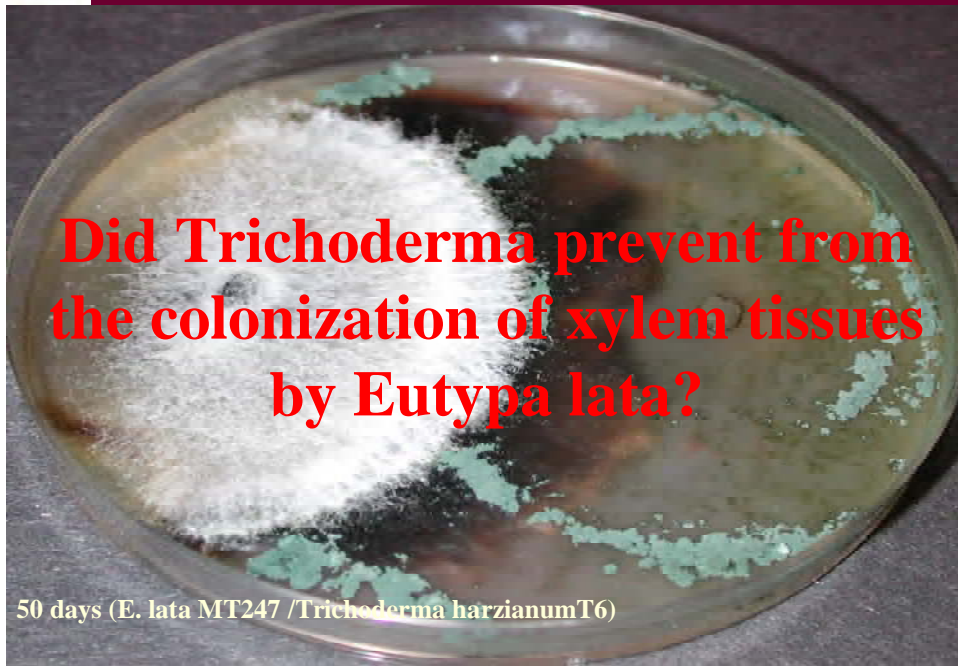
Est-ce que les *Trichoderma* colonisent les tissus ligneux sous-jacents à la plaie de taille ?



Isolation along the cane after 11 months, found that *Trichoderma* had penetrated up to 40 mm.

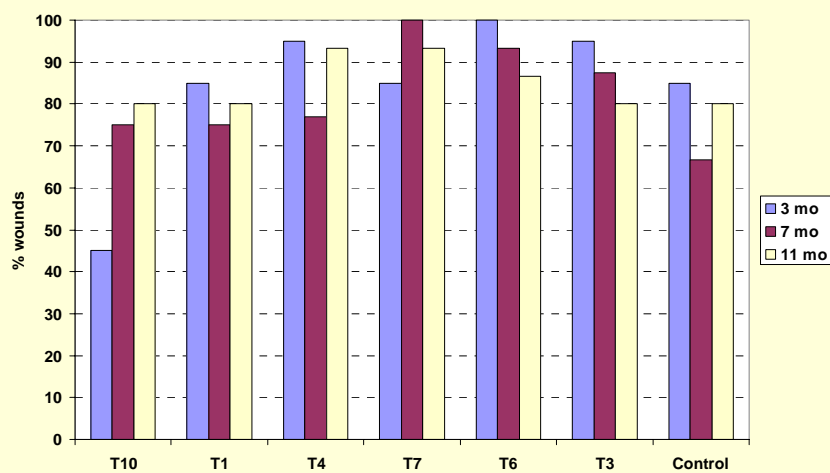
Les résultats présentés ici concernent les isolations réalisées sur les portions de bois prélevées 11 mois après la protection.

Les *Trichoderma* sont trouvés jusqu'à 4 cm au-dessous de la surface des plaies de taille indiquant leur capacité à coloniser le bois.



Troisième question :

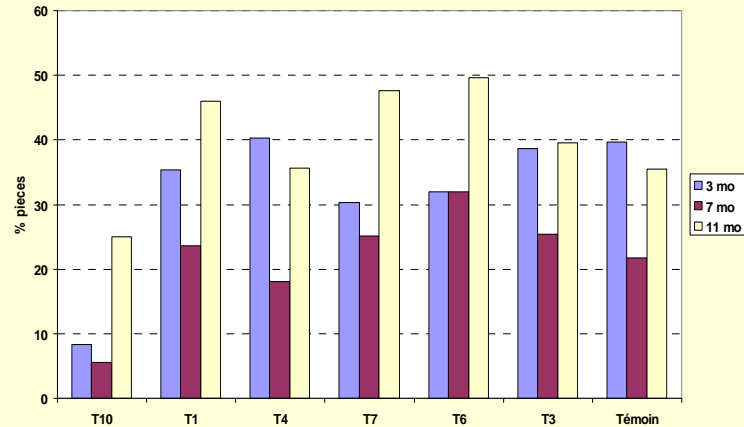
Est-ce que les *Trichoderma* empêchent la colonisation du bois par *Eutypa lata* ?



E. lata incidence in *Trichoderma* treated wounds was similar to the inoculated control after 3 months (85%), 7 months (67%) and 11 months (80%), except for the strain T10 after 3 mo (45%).

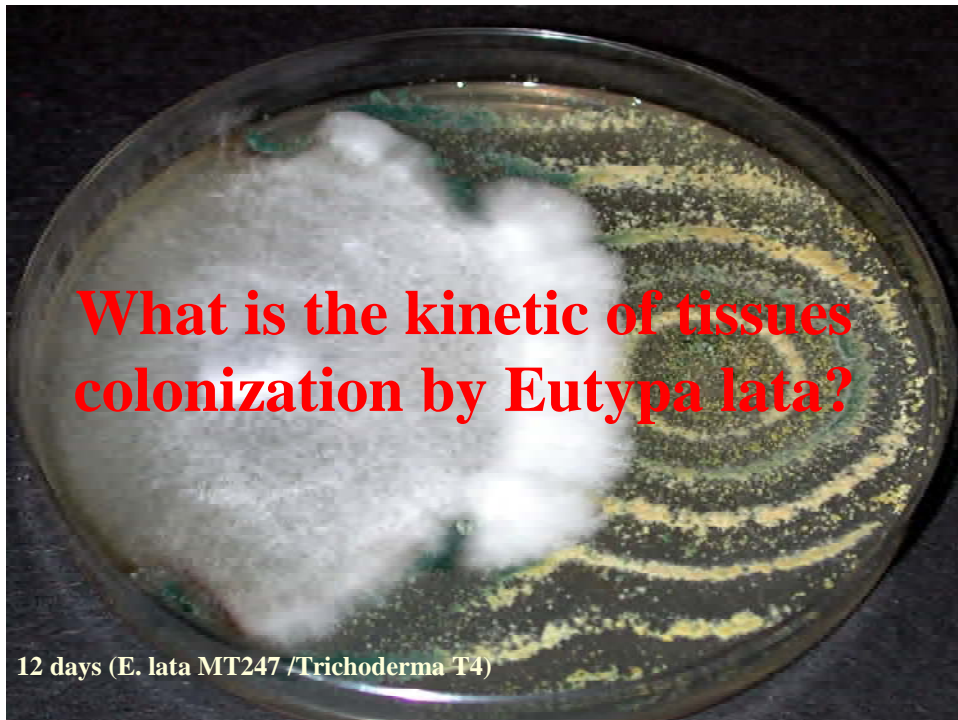
Cette figure présente le pourcentage de plaies présentant *Eutypa lata*, 3, 7 ou 11 mois après la protection.

Le pourcentage de plaies infectées par *Eutypa lata* est similaire entre les plaies protégées par le *Trichoderma* et celles non traitées, et cela quelle que soit la date de prélèvement (à l'exception de la souche T10 après 3 mois).



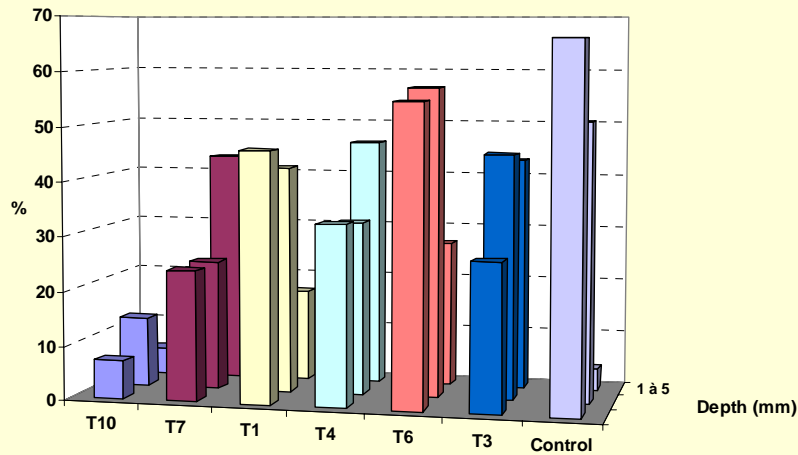
The *E. lata* disease severity (percentage of pieces of wood infected) was similar between the wound treatments after 3 months (30-40%), 7 months (18-25%) and 11 months (35-49%) and to the inoculated control after 3 months (39%), 7 months (21%) and 11 months (35%), except for the strain T10 after 3 months (8%), 7 months (5%) and 11 months (25%).

Le pourcentage de rondelles de bois infectées par *Eutypa lata* est similaire entre les plaies traitées et celles non traitées après 3 mois (30-40 %), 7 mois (18 – 25 %) et 11 mois (35 – 49 %), à l'exception de la souche T10.



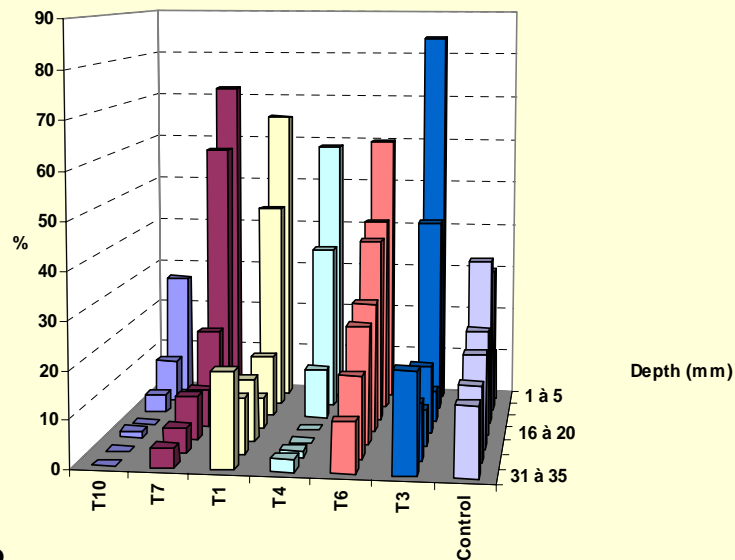
Quatrième question :

Quelle est la cinétique de colonisation du bois par *Eutypa lata* en présence des *Trichoderma* ?



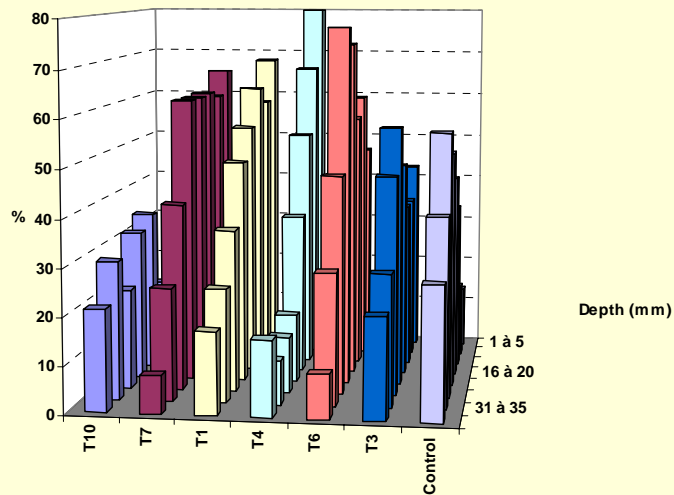
3 mo

Trois mois après le traitement, le profil d'isolement d'*Eutypa lata* est similaire entre les plaies traitées et non traitées. A noter cependant qu'il est moins trouvé dans les tissus ligneux situés entre le 11 et le 15ème mm de la surface avec les souches T3, T4 et T7. Il est faiblement trouvé dans les tissus ligneux lorsque les plaies sont protégées avec la souche T10.



7 mo

Sept mois après le traitement, il est tout à fait intéressant de noter que les traitements réalisés avec les souches T4, T7 et T10 semblent limiter la colonisation du bois par *Eutypa lata*.



11 mo

Onze mois après le traitement, le profil d'isolement d'*Eutypa lata* est similaire entre les plaies protégées et celles non protégées.

Cette étude montre que les souches de *Trichoderma* T4, T7 et T10 retardent la colonisation du bois par *Eutypa 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* (exemple T1, T4...) que sur celles des plaies non traitées.



Deuxième test évaluant l'efficacité des *Trichoderma* à l'égard d'*Eutypa lata*



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