



MATINEE TECHNIQUE

Enroulement de la vigne :
étude d'une maladie complexe

Décembre 2008



BOURGOGNES

*Bureau Interprofessionnel
des Vins de Bourgogne*

***L'ENROULEMENT VIRAL DE LA VIGNE
ET SES VECTEURS***
***Préoccupation pour la viticulture et
défi pour la recherche***

**Etienne Herrbach et Jean Le Maguet
INRA Colmar**

Relevé de notes et rédaction Eve Gueydon (BIVB)

*Matinée Technique du BIVB : « Enroulement de la vigne : étude d'une maladie complexe. »
Décembre 2008*

LE PROBLEME DE L'ENROULEMENT

Les résultats de recherche présentés sont issus d'une collaboration entre 3 Interprofessions : Bourgogne, Champagne et Alsace. Le travail a commencé à l'INRA de Dijon puis a été transféré à l'INRA de Colmar, partenaire avec l'Université Louis Pasteur de Strasbourg pour ces travaux.

L'enroulement est une maladie complexe pour laquelle il n'existe pas de solution simple. Elle nécessite de nombreuses recherches et analyses.

SYMPTÔMES

Les bordures des feuilles les plus basses des ceps (dans un premier temps) s'enroulent vers l'intérieur.

Les limbes foliaires subissent une décoloration dès le mois de juillet. Les feuilles des cépages rouges, rougissent, tandis que les feuilles des cépages blancs jaunissent. Ce phénomène est plus difficile à observer sur les cépages blancs.

Une caractéristique de cette décoloration est que les nervures restent vertes. Cela permet de reconnaître cette maladie par rapport à une autre, entraînant également un changement de couleur du feuillage.



Rougissement des
feuilles sur Pinot
Meunier

Jaunissement des
feuilles sur
Chasselas



Les porte-greffes sont asymptomatiques (ne présentant pas de symptômes) mais peuvent être infectés et transmettre la maladie au greffon.

EFFETS NEGATIFS DE L'ENROULEMENT VIRAL

L'un des principaux effets est une réduction de la photosynthèse. En effet, le virus se développe dans les vaisseaux conducteurs de sève (phloème) et entrave la migration de celle-ci.

Des retards de maturation sont observés. Cela constitue un problème particulièrement important pour les cépages rouges qui ont alors des difficultés à atteindre la pleine maturité. Enfin, cette maladie entraîne des pertes de rendements, d'un point de vue quantitatif (15 à 30 % en moyenne). D'un point de vue qualitatif, la vendange est également de moins bonne qualité.

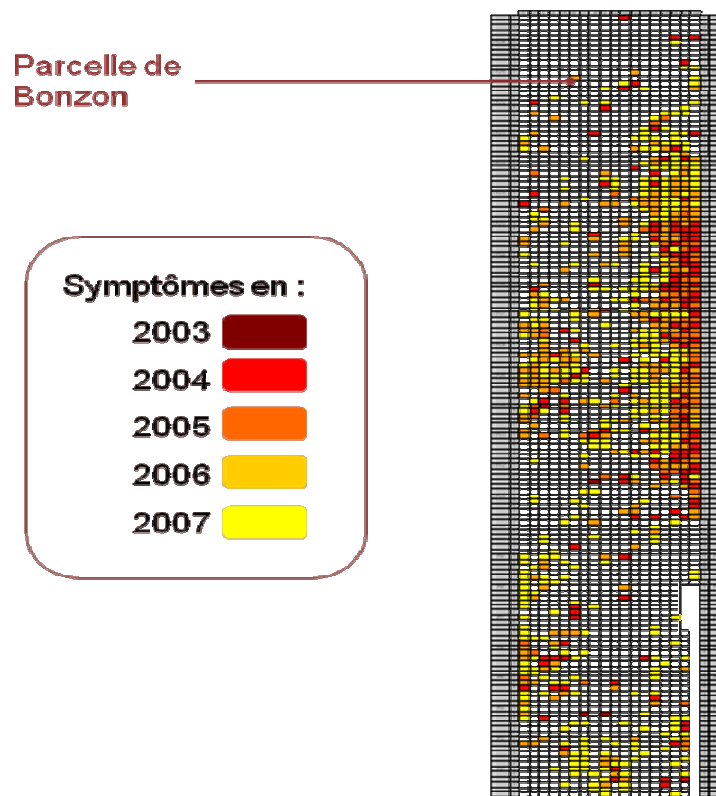
IMPORTANCE DE L'ENROULEMENT VIRAL

Tous les cépages et toutes les variétés de porte-greffe sont sensibles. Il n'existe pas de résistance mais des différences de sensibilité. Cependant, aucune étude approfondie n'a été menée sur le sujet.

L'enroulement est présent dans tous les pays viticoles : Europe septentrionale et méditerranéenne, Afrique du Nord et du Sud, Proche Orient, Amérique du Nord et du Sud, Océanie, Birmanie... L'ensemble du vignoble mondial est atteint par cette maladie. Il existe beaucoup d'études dans les régions avec un climat méditerranéen.

Est-ce une maladie en expansion ? Tout le monde s'accorde à dire que c'est le cas, mais il manque des données chiffrées. La question est de savoir pourquoi. Le réchauffement climatique, les associations porte-greffe/greffon....il existe de nombreuses hypothèses.

EXEMPLE DE DISPERSION DE L'ENROULEMENT



*Matinée Technique du BIVB : « Enroulement de la vigne : étude d'une maladie complexe. »
Décembre 2008*

Une étude menée sur une parcelle de Pinot Noir à Bonzon, dans le Mâconnais, montre l'évolution du nombre de pieds exprimant des symptômes entre 2003 et 2007. Il apparaît clairement que la maladie progresse d'année en année à partir d'un foyer primaire. (Exemple expliqué en deuxième partie du compte rendu).

MODES DE DISPERSION

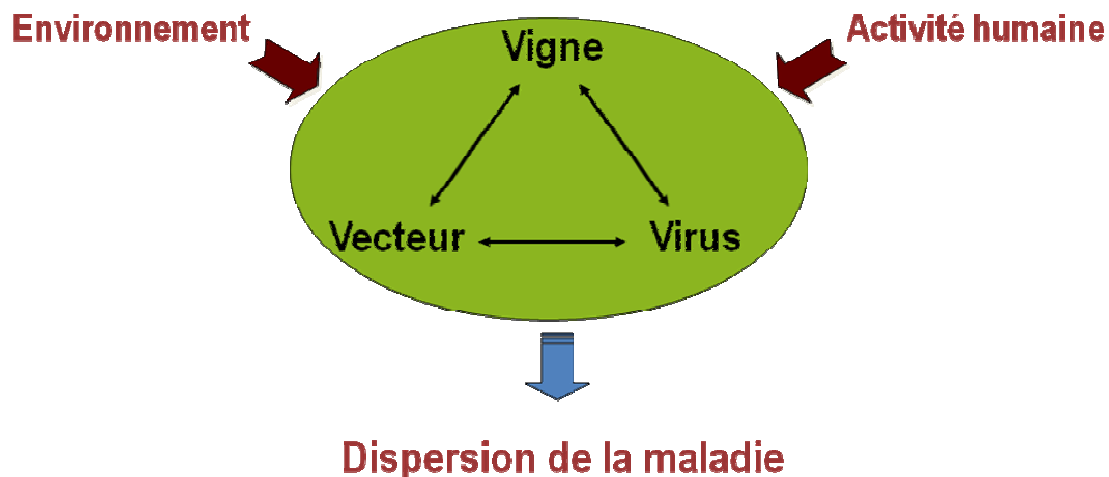
Il existe deux niveaux de dispersion.

- La dispersion par l'homme : échange de bois de vigne, sélection massale : la multiplication des bois à partir du pied-mère atteint, entraîne la présence de la maladie dans la descendance.
- La dispersion par un vecteur naturel à partir d'une souche virosée : le vecteur est la cochenille.

Il faut prendre en compte ces deux niveaux de dispersion.

NOTION DE VECTION DE VIRUS

La vection repose sur l'interaction entre 3 partenaires.



Il existe le trinôme : vigne, vecteur, virus.

L'environnement se constitue du milieu naturel avec son cortège d'ennemis (parasitoïdes...), des facteurs climatiques, du sol...

L'activité humaine se traduit par l'intervention de l'homme sur la vigne par les pratiques culturales, les traitements...

La dispersion de la maladie est la résultante de l'ensemble de ces facteurs.

VECTION DE VIRUS : EXEMPLES

Les vecteurs de maladies les plus importants du monde végétal sont les pucerons qui hébergent différents virus et les transmettent aux plantes selon différents modes.

Un autre exemple sur la vigne est la transmission de la bactérie responsable de la Flavescence Dorée par une cicadelle de plante à plante, ou encore le nématode vecteur du virus du Court-Noué...et bien sûr les cochenilles pour le virus de l'enroulement de la vigne.

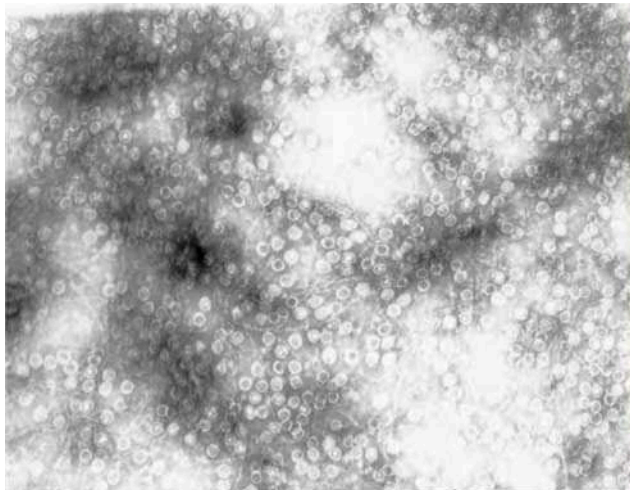
LES PARTENAIRES BIOLOGIQUES

NOTIONS DE VIROLOGIE

Les virus sont des agents infectieux microscopiques, c'est-à-dire capables d'engendrer une maladie et de se reproduire. Ce sont des parasites cellulaires obligatoires.

Ils ont une organisation simple et se composent d'un seul acide nucléique (patrimoine génétique, ADN ou ARN pour les virus de plante) et une coque protéique (fabriquée à partir de l'ARN viral). Pour détecter un virus, un ciblage soit de la protéine, soit de l'acide nucléique, est utilisé.

Particules icosaédriques
ex. virus du Court-Noué



diamètre 30 nm

Particules flexueuses
ex. virus de l'Enroulement



diamètre 12 nm, longueur 1400-2200 nm

LES VIRUS DE L'ENROULEMENT

Il existe 9 espèces de ce virus recensées à ce jour, dans le monde. Il s'agit du Grapevine Leafroll-associated Virus : GLRaV-1 à 9. Il appartient à la famille des Clostérovirides. Les espèces possèdent des caractéristiques différentes mais sont parentes.

3 espèces sont signalées en France :

- GLRaV-1 et GLRaV-3 (Ampélovirus) surtout présents en Bourgogne et en Alsace
- GLRaV-2 (Closérovirus : non transmis par les cochenilles) qui pose problème en Aquitaine, par exemple.

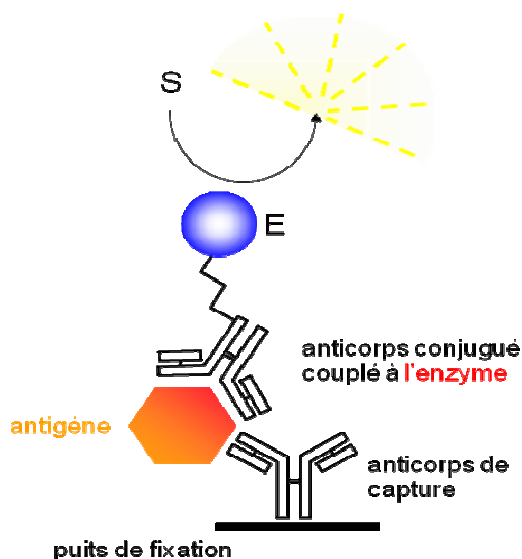
L'association avec Grapevine virus A (GVA ou agent du bois strié) est fréquente.

Ils sont transmis par les cochenilles, sauf GLRaV-2.

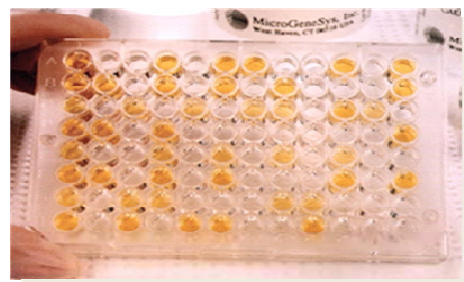
DETECTION DES VIRUS

Une détection de la coque protéique est possible par des méthodes sérologiques dont le test ELISA (Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay).

Principe du test ELISA



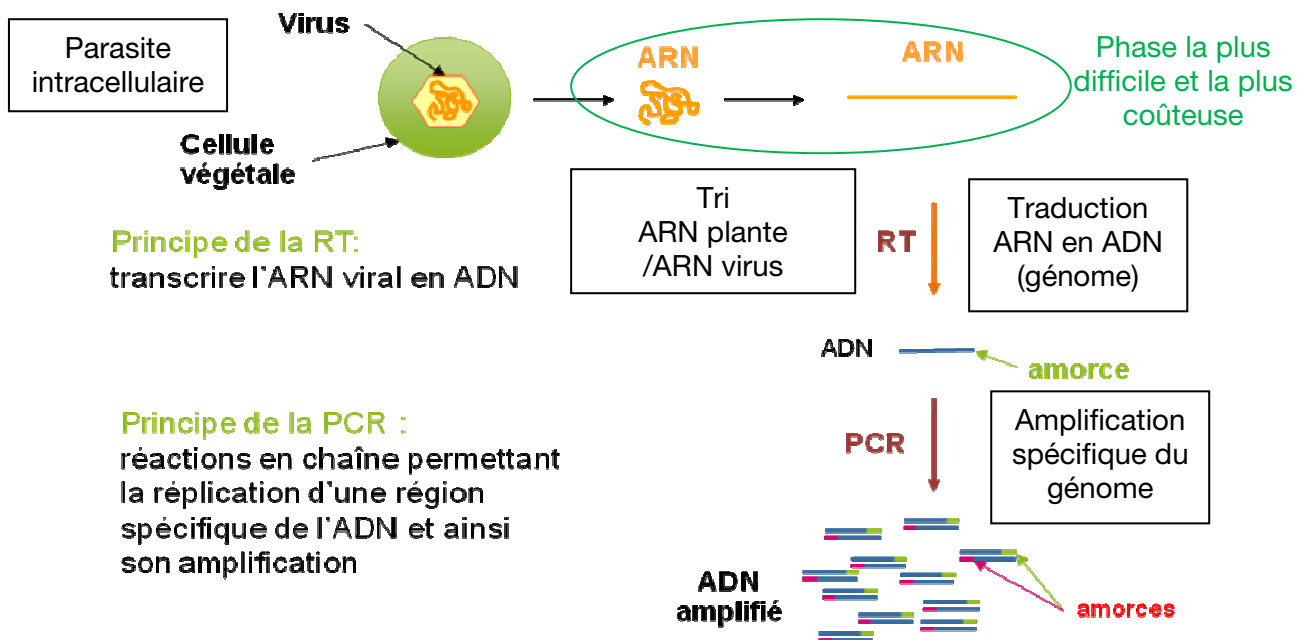
Principe de l'ELISA :
Méthode sérologique fondée sur la reconnaissance entre le virus (antigène) et des anticorps spécifiques dirigés contre lui.



La particule virale possède des protéines qui vont être reconnues par des anticorps. Si la protéine (antigène) est présente, elle va se fixer sur l'anticorps de capture. Un deuxième anticorps qui reconnaît cette même protéine est associé à une enzyme capable de produire une couleur jaune. Aussi, quand la protéine est présente, donc quand le virus est présent, elle se fixe au premier anticorps, puis le deuxième se fixe de l'autre côté de la protéine et produit une couleur jaune. On dose cette coloration, ce qui permet d'estimer la quantité de virus.

C'est le test le plus simple et le plus couramment utilisé.

Il est possible de détecter l'acide nucléique du virus par des méthodes moléculaires dont la RT-PCR (Reverse Transcription-Polymerase Chain Reaction). Cette méthode est plus sensible, plus complexe et également plus chère. Elle est 10 à 100 fois plus sensible que l'ELISA.



LES COCHENILLES SUR LA VIGNE

Ce sont des insectes polyphages, c'est-à-dire qu'ils s'adaptent à plusieurs végétaux, et mangeurs de sève. On recense 7000 espèces dans le monde et 380 espèces en France. Ils appartiennent au même ordre que les pucerons.

Les cochenilles produisent des dégâts directs : ponction de sève et affaiblissement de la plante. Plus il y a de pression de ces insectes, plus la plante va s'affaiblir, ce qui va avoir des conséquences sur le déroulement normal de son cycle.

Elles engendrent aussi des dégâts indirects : fumagine, vection de virus. En effet, certaines espèces vont produire un miellat sucré, sur lequel va se développer un champignon, ce qui constitue la fumagine, qui est une porte d'entrée pour *Botrytis*.

Elles vivent souvent en symbiose avec les fourmis qui sont friandes du miellat, ces dernières protégeant alors les cochenilles contre des prédateurs.



*Matinée Technique du BIVB : « Enroulement de la vigne : étude d'une maladie complexe. »
Décembre 2008*

4 espèces principales sont dénombrées dans le Nord-Est de la France. Elles sont toutes capables de transmettre le virus de l'enroulement en laboratoire.
 Les cochenilles ont un cycle biologique annuel dans nos régions avec deux stades larvaires (L1 et L2) avant l'âge adulte.

Cochenilles farineuses
Pseudococcides

Cochenilles à coque
Coccides

Heliococcus bohemicus
 la cochenille bohémienne

Parthenolecanium corni
 la lécanine du cornouiller

Phenacoccus aceris
 la cochenille du platane

Pulvinaria vitis
 la cochenille floconneuse



Parthenolecanium corni

Parthenolecanium corni : L1

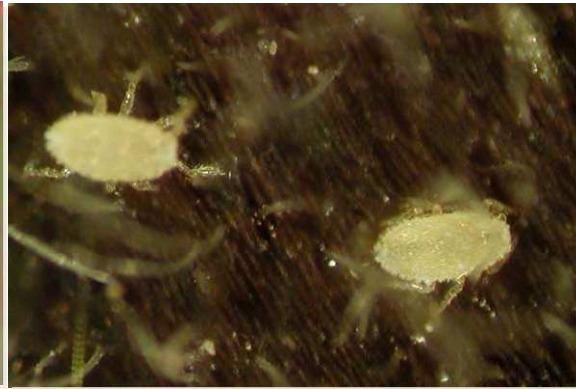


Pulvinaria vitis

Pulvinaria vitis



Heliococcus bohemicus

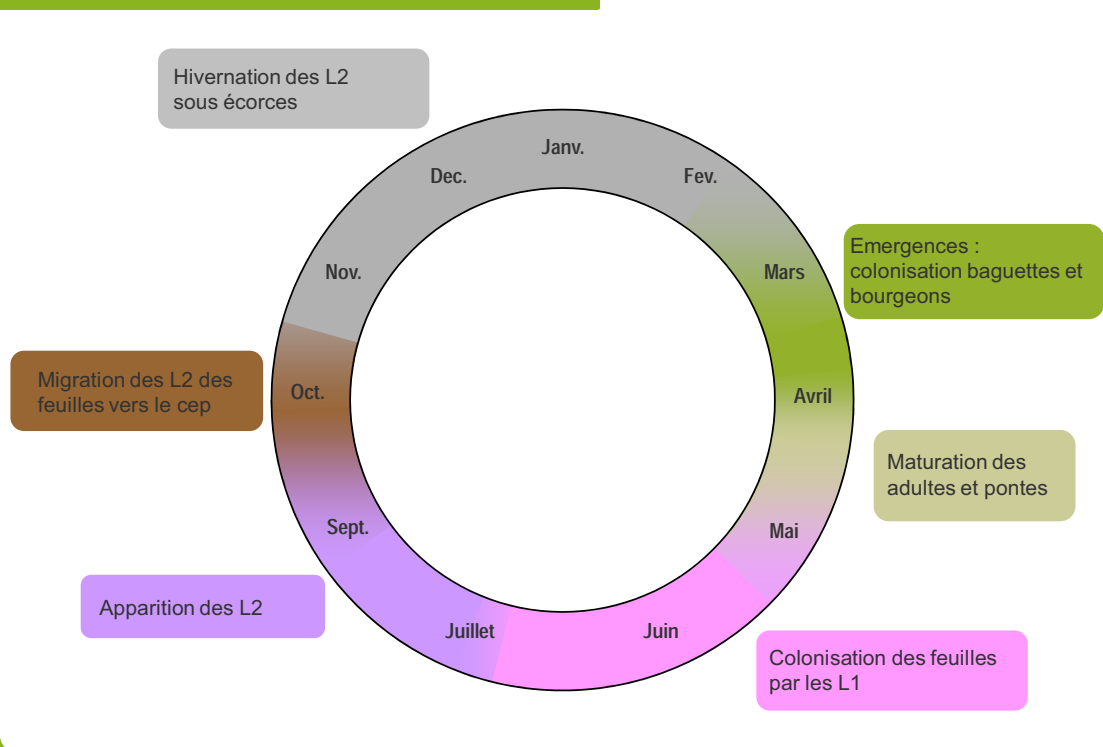


Heliococcus bohemicus : L1



Phenacoccus aceris

Schéma du cycle biologique



Il existe des variations selon les espèces et les années.

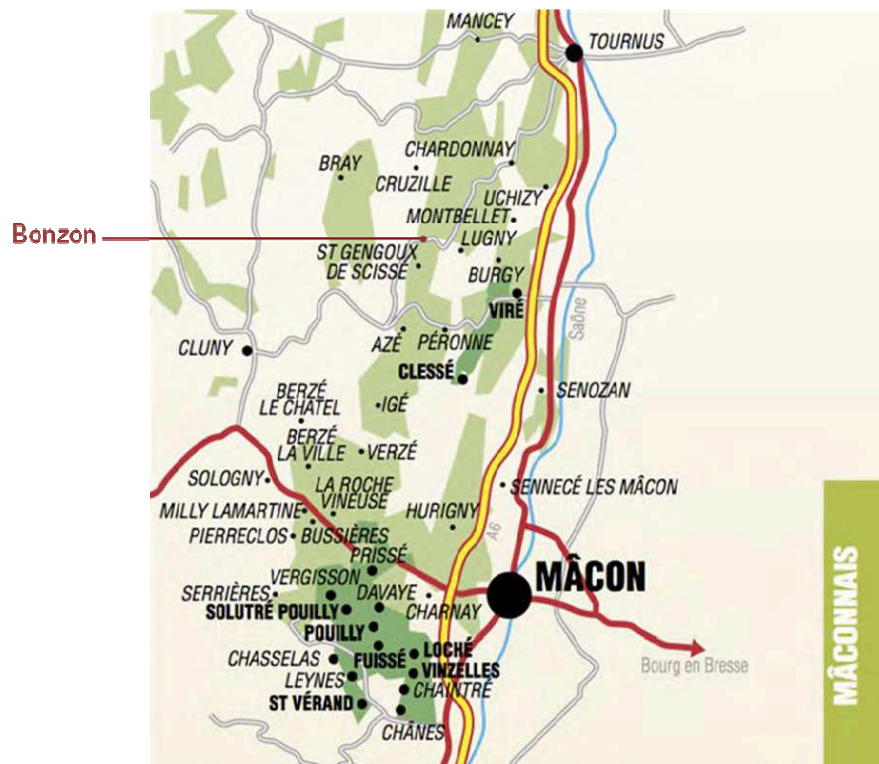
C'est au moment de la colonisation des baguettes et des bourgeons qu'elles sont les plus visibles. Lorsque les larves 1 colonisent les feuilles, elles se placent à la face inférieure. Elles sont de taille réduite et translucides et donc difficiles à observer.

En juin/juillet a lieu la mue des L1 en L2. L'entrée en dormance de la plante est le signe de leur migration vers le cep et de leur hibernation.

ETUDE EPIDEMIOLOGIQUE D'UNE PARCELLE

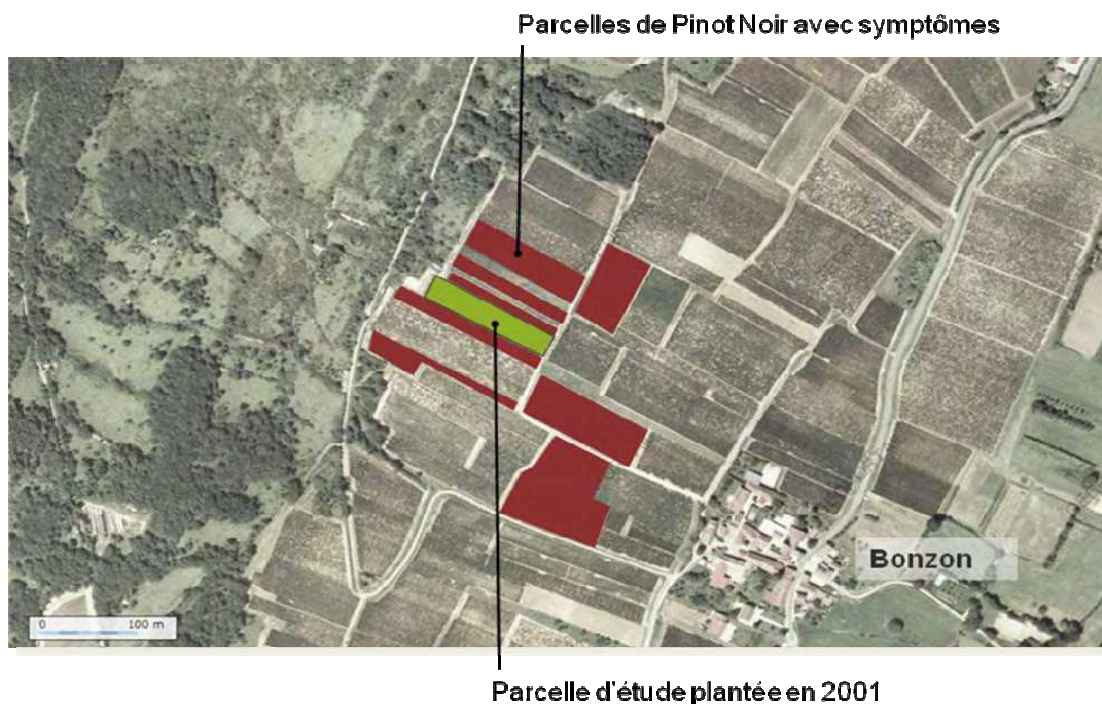
PARCELLE D'ETUDE

Elle se situe en Saône et Loire, dans le vignoble du Mâconnais à Bonzon.



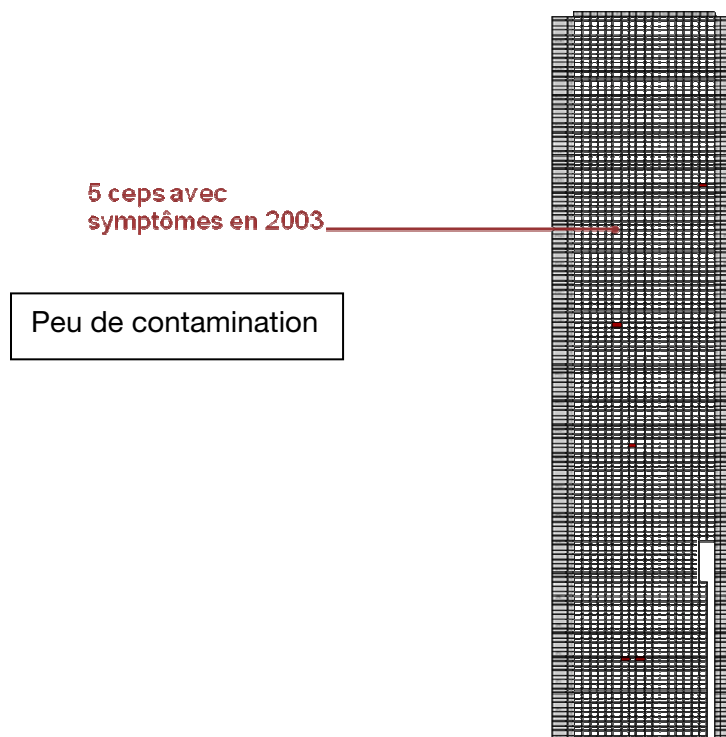
Elle a été plantée en 2001 avec du matériel végétal certifié sain (PG 3309) en Pinot Noir et compte près de 3000 ceps.

L'environnement proche de cette parcelle est contaminé par l'enroulement.



SYMPTÔMES

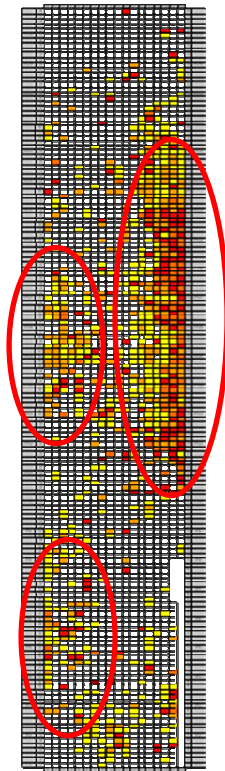
La première détection a été faite en 2003 (CA 71 2003/2004).



Puis, des relevés annuels des symptômes ont été effectués à chaque automne.

3 zones principales de contamination apparaissent : 1 foyer important sur la droite de la parcelle et 2 plus faibles

Symptômes en :



Symptômes en :

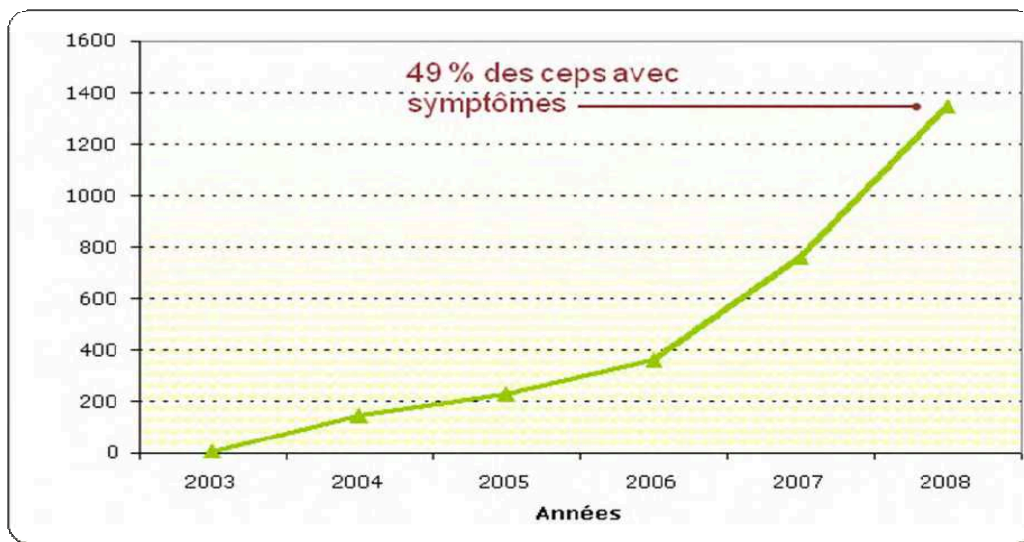


En 2008 : toujours explosion de la maladie et les zones s'étendent et parfois se rejoignent.

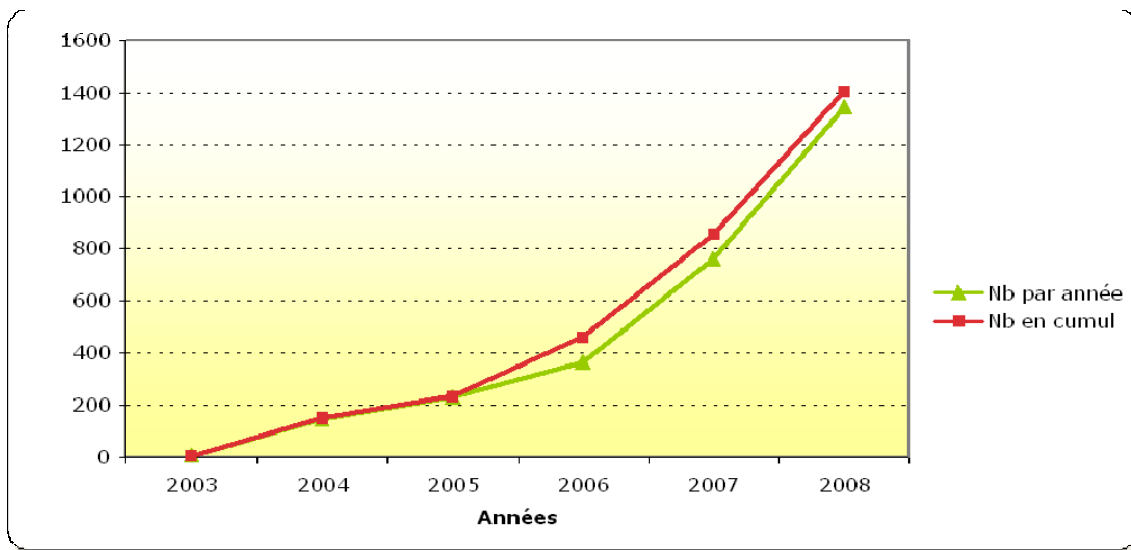


D'après ces relevés, une contamination importante et rapide de la parcelle est nettement observable.

Prévalence de l'enroulement :

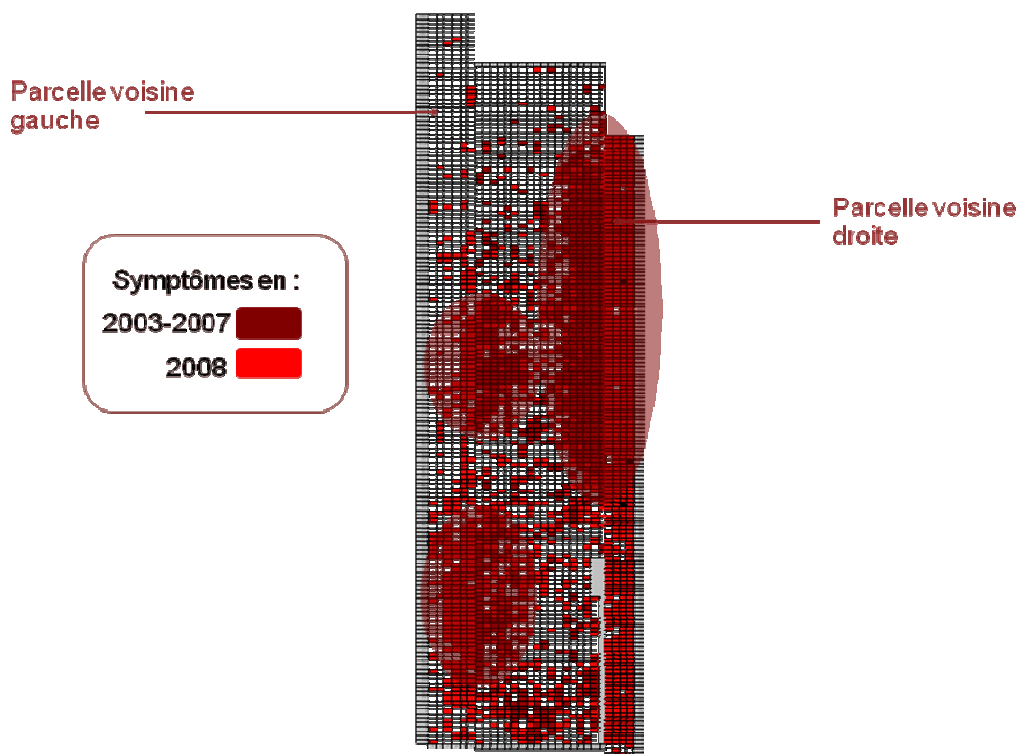


Les mêmes données exploitées sous forme de graphique confirment la progression rapide de la contamination. Depuis que la parcelle est suivie, le nombre de ceps présentant des symptômes double tous les ans pour atteindre près de la moitié des ceps en 2008.



Sur ce graphique est ajouté le nombre cumulé de ceps symptomatiques de l'enroulement. En effet, certains ceps arrêtent parfois d'exprimer les symptômes. La comparaison avec le cumul montre qu'il y a une bonne reconduction de la maladie, les deux courbes sont en effet assez proches.

Il existe une continuité des symptômes. Le foyer le plus important est accolé à la parcelle voisine qui est 100 % enroulée. Les zones moins touchées sont plus éloignées. En bas à droite de la parcelle étudiée, un rang n'est pas planté, ce qui crée une barrière naturelle et ce qui semble freiner la contamination. De même, en haut à droite, une bande enherbée sépare les deux parcelles, ce qui paraît également empêcher la progression rapide de la maladie.



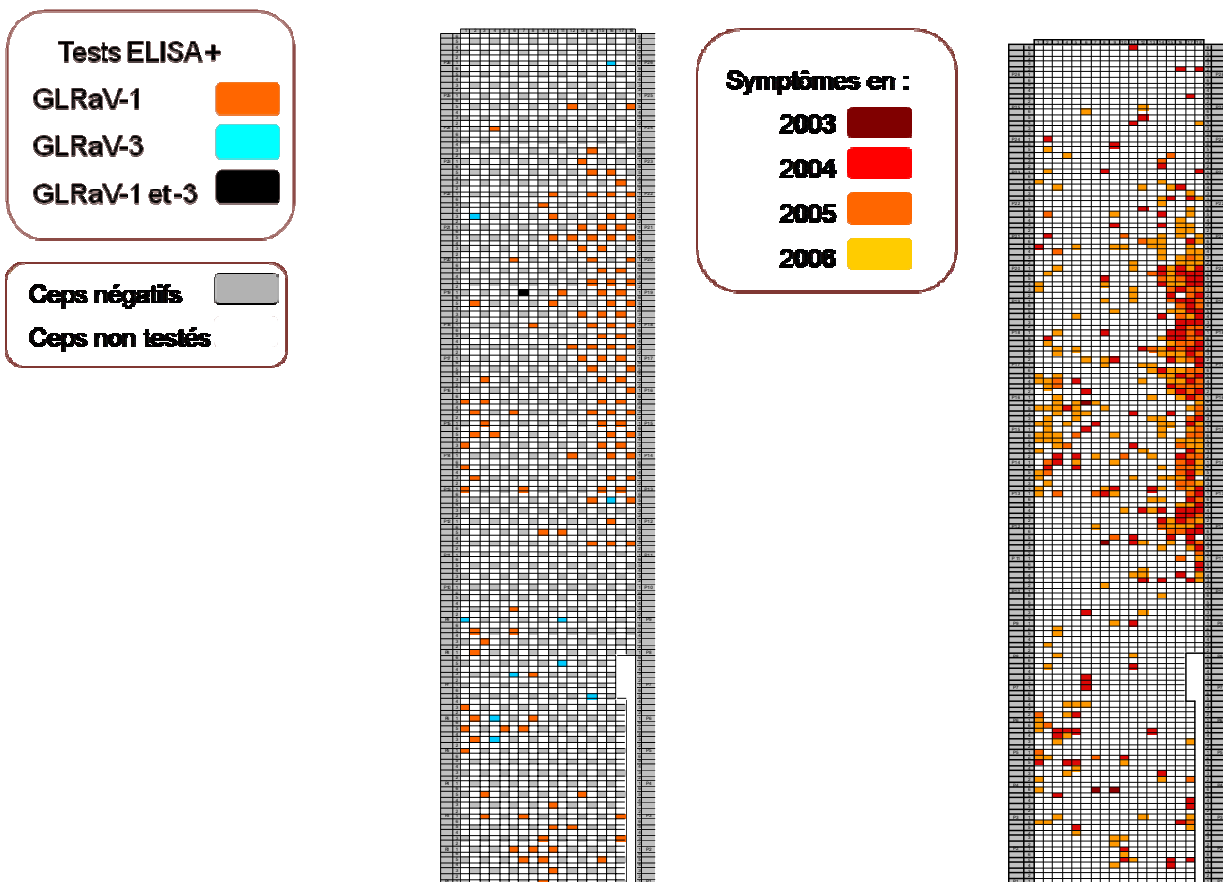


Dernier rang de la parcelle de Bonzon et premier rang de la parcelle voisine de droite.

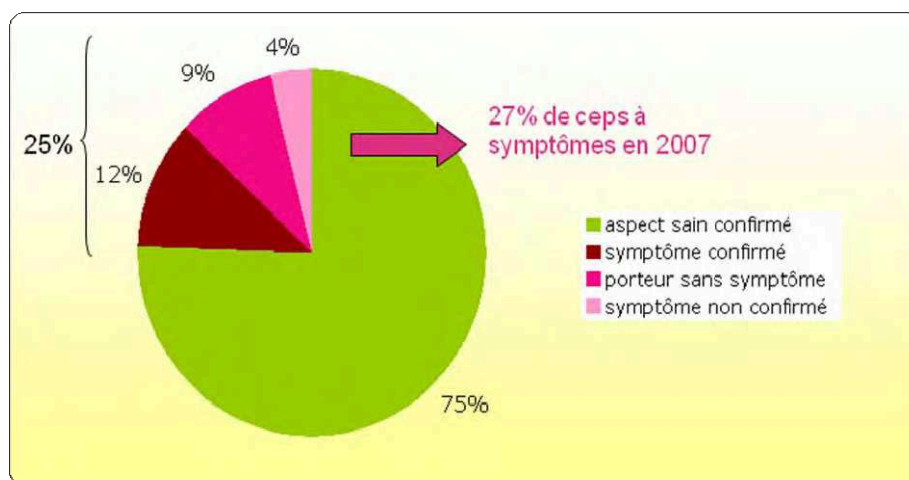
La parcelle de Bonzon est plus jeune que celle de droite et semble exprimer les symptômes de manière plus importante que les rangs voisins pourtant atteints de l'enroulement. L'âge de la vigne a, sans doute, un impact sur l'expression des symptômes.

ETUDE FINE DE LA PREVALENCE DE LA MALADIE

Un test ELISA a été pratiqué sur 700 ceps de la parcelle de Bonzon.



Il existe une bonne corrélation entre les résultats des tests ELISA et l'expression des symptômes puisque pour la plupart des pieds notés comme atteints, les tests ont confirmé la présence de l'enroulement.



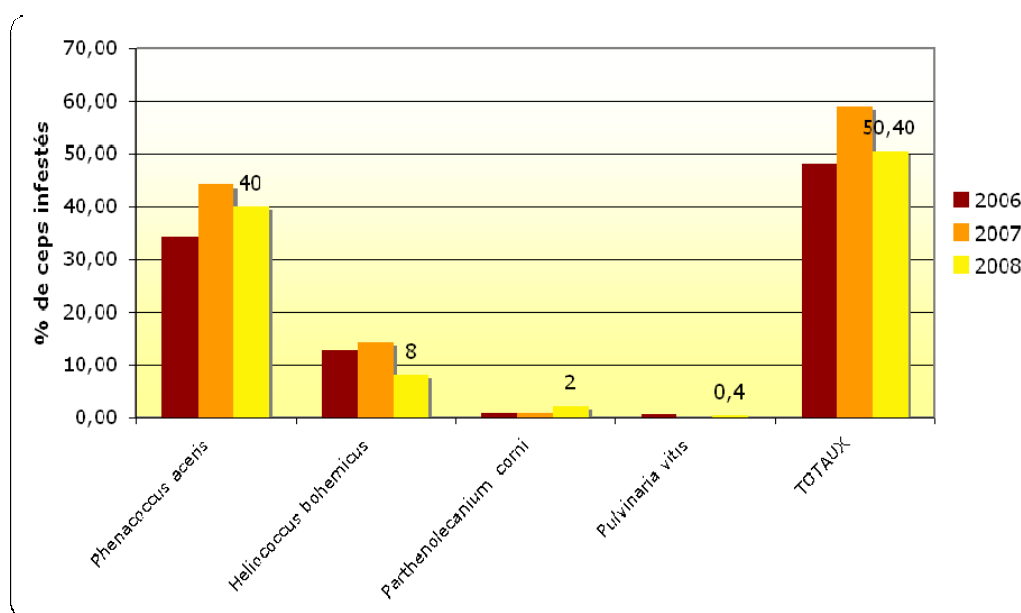
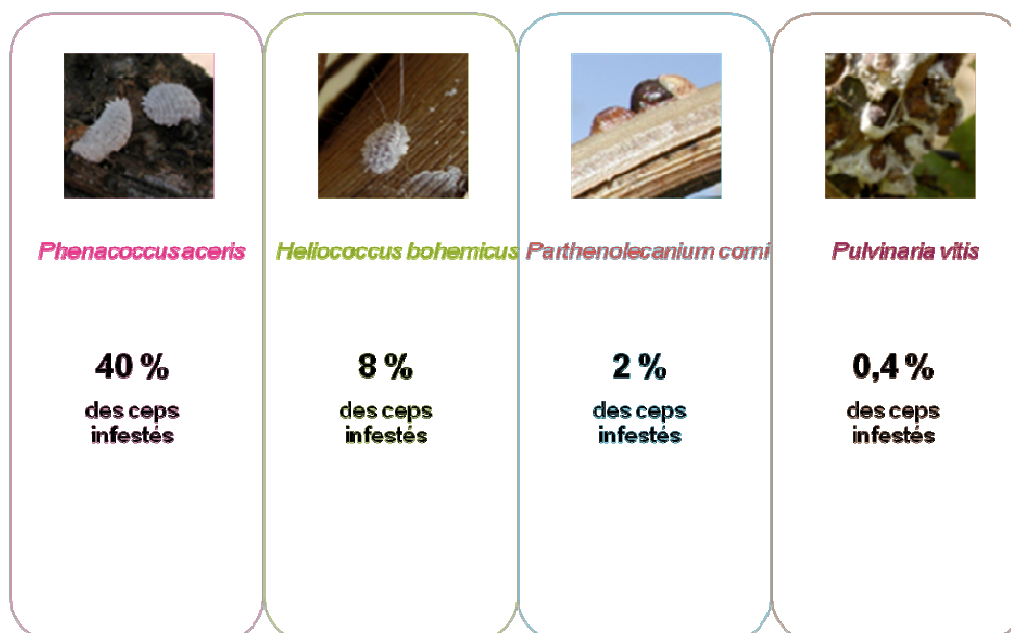
Répartition des ceps selon la présence des symptômes et les résultats des tests ELISA sur la parcelle de Bonzon

Pour 12 % des ceps testés, la présence de l'enroulement a été confirmée. Pour 9 %, les ceps sont porteurs mais n'expriment pas les symptômes et, pour 4 %, les symptômes ne sont pas confirmés. Cette étude a été faite en 2006, 25 % des ceps testés étaient donc susceptibles d'être atteints. En 2007, 27 % des ceps exprimaient les symptômes, ce qui a confirmé les résultats de 2006. Il existe donc bien une bonne corrélation entre l'expression des symptômes et les résultats des tests ELISA.

LES COCHENILLES

4 espèces sont répertoriées sur la parcelle d'après les observations. L'espèce prédominante est *Phenacoccus aceris*.

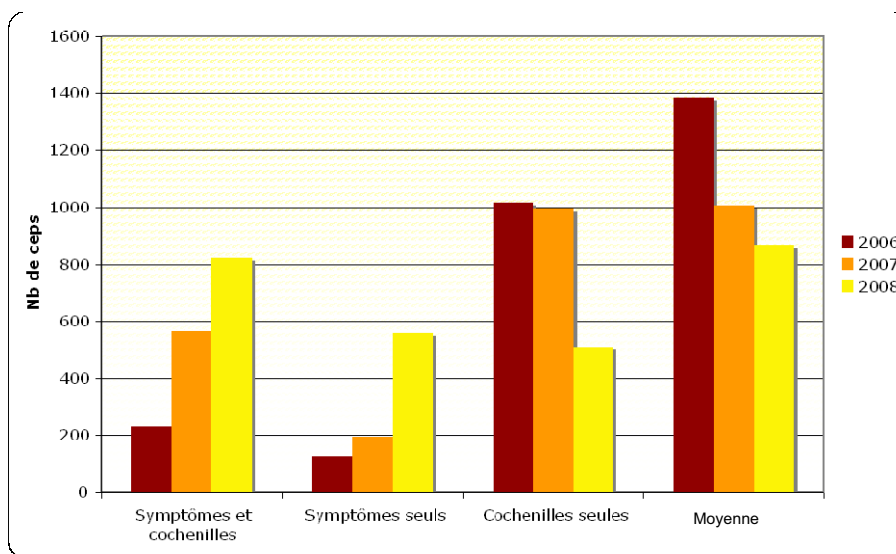




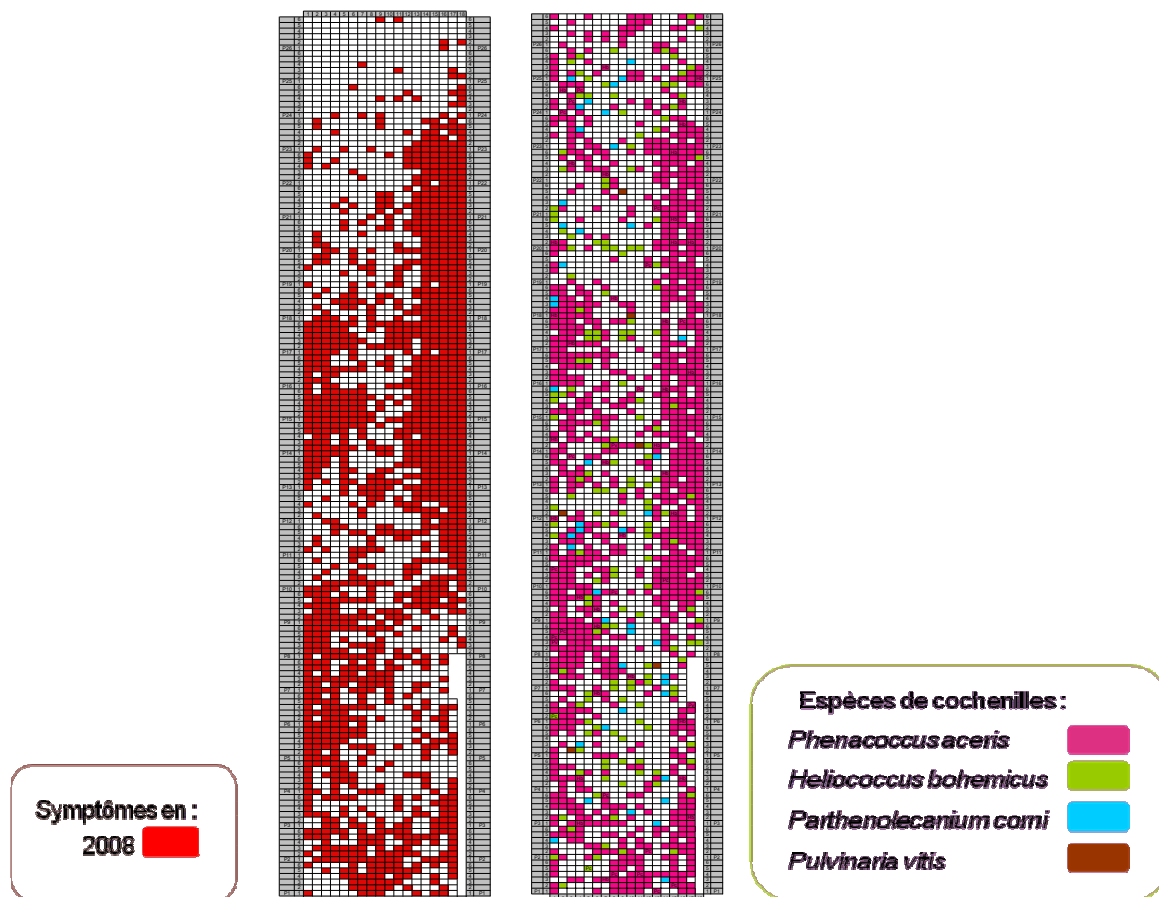
En 2008, 1387 ceps sont recensés comme infestés, soit 50 % des ceps. Un cep est considéré comme infesté à partir du moment où au moins une cochenille est observée sur celui-ci.

La majorité des ceps présentent des populations très faibles en cochenilles (maximum 100). Les mâles sont assez rares et le plus souvent des femelles sont observées, ce qui s'explique par la présence très courte et fugace des mâles, la faible proportion de reproduction sexuée des cochenilles et la capacité des femelles à utiliser la parthénogénèse (essentiel de la reproduction).

SYMPTÔMES ET COCHENILLES



Ce graphique montre l'évolution des catégories des ceps entre 2006 et 2008. La forte présence de cochenilles en année n tend à expliquer l'explosion des symptômes en année n+1. La quantité de ceps porteurs de cochenilles seules diminue et en parallèle, la quantité de ceps présentant des symptômes augmente.



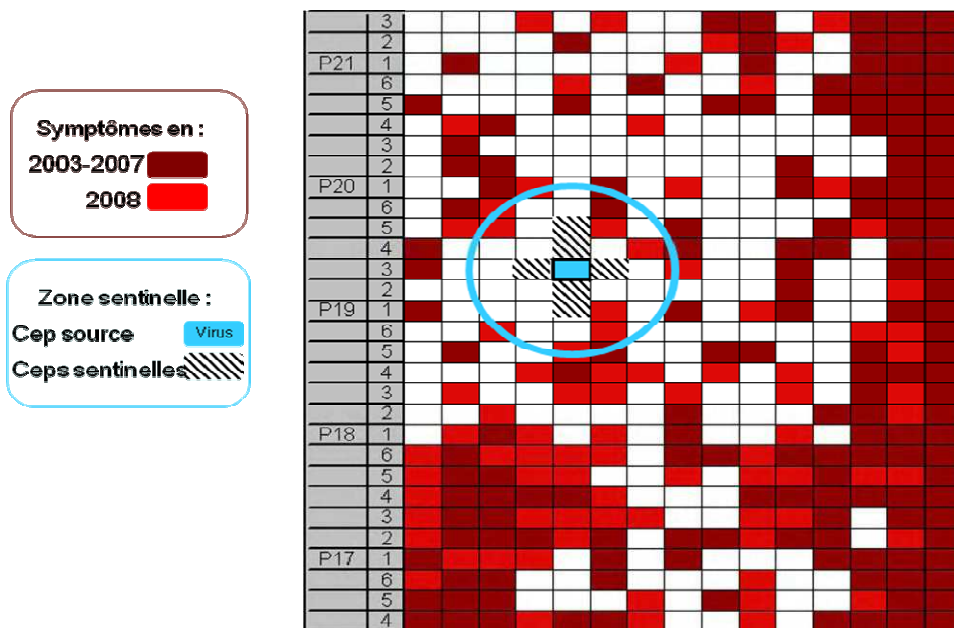
Cette étude a montré que *Phenacoccus aceris* est associée à GLRaV-1 à Bonzon.

A partir de ce constat, il est nécessaire de poursuivre le travail pour mieux comprendre l'épidémiologie globale.

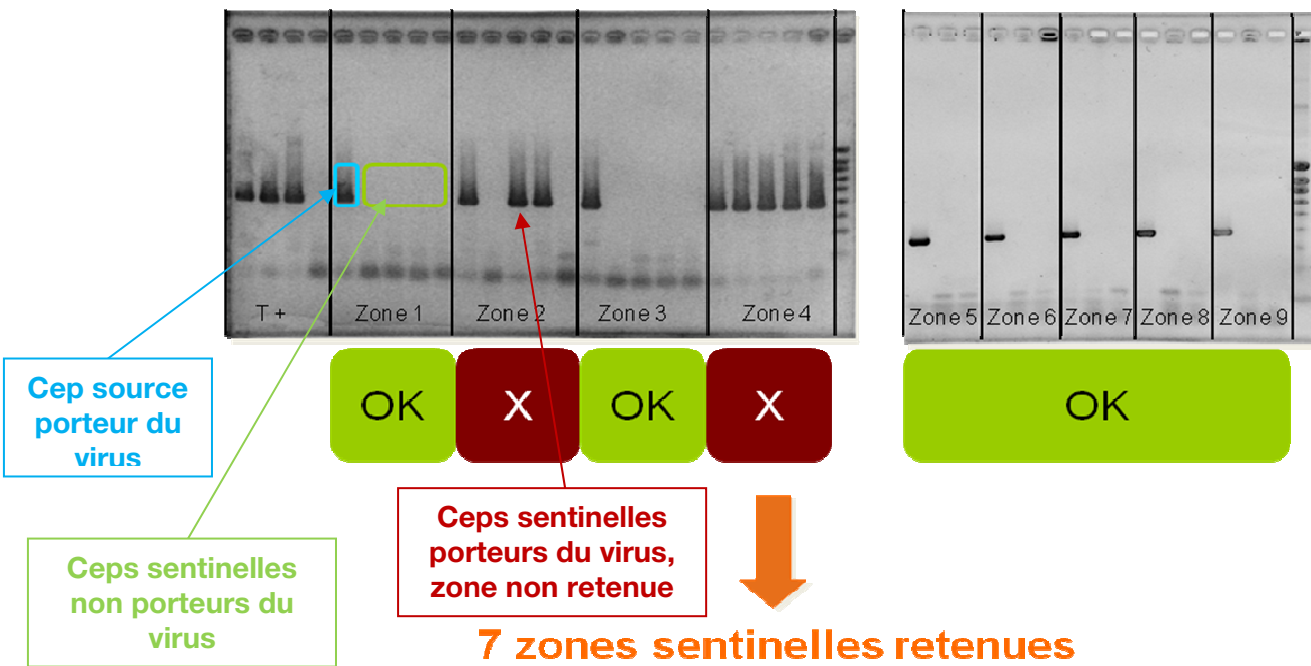
Pour cela dans les prochaines années, une étude de zones « sentinelles » va être faite, des travaux d'épidémiologie moléculaire vont compléter les premiers résultats et des expériences d'infectivité et de transmission vont être réalisées.

ESSAI « SENTINELLE »

Le but est d'estimer la probabilité de contamination de zones saines à partir d'un cep virosé. Pour cela, 9 placettes témoins ont été choisies selon le principe suivant : un cep virosé, dit cep source, qui doit être entouré de pieds sains : 2 au-dessus et 2 en-dessous dans le rang (les cochenilles se déplacent de préférence le long du rang), un à droite et un à gauche, ils sont dits ceps sentinelles. Il est nécessaire de vérifier que les ceps sentinelles ne sont pas atteints par l'enroulement.



Les ceps sont donc testés par RT-PCR pour vérifier l'absence du GLRaV-1.



Lors de l'analyse, on fait migrer des fragments amplifiés de génome viral selon leurs poids. On sait reconnaître la bande correspondante au GLRaV-1. Sur ces gels de migration, on peut donc vérifier que le cep source est atteint d'enroulement et que les ceps sentinelles en sont exempts. Quand les ceps sentinelles sont atteints, la zone sentinelle est exclue de l'étude. Après cette analyse, 7 zones sur les 9 placettes choisies ont été conservées et vont être suivies dans les prochaines années pour savoir quand et à quelle vitesse la maladie va se propager.

EPIDEMIOLOGIE MOLECULAIRE

L'objectif est de confirmer le rôle de *Phenacoccus aceris* dans la dissémination du GLRaV-1 d'une parcelle à l'autre.

Pour cela, la variabilité du GLRaV-1 entre la parcelle d'étude et la parcelle voisine de droite très enroulée va être analysée. Cette variabilité est étudiée en comparant entre eux les différents variants du GLRaV-1, appelés isolats.

15 ceps sont choisis dans la parcelle d'étude et 15 ceps dans la parcelle voisine dans des zones de contamination.



Un test ELISA est d'abord réalisé pour chacun de ces pieds pour confirmer la présence de l'enroulement. Les 30 ceps sont bien positifs à la maladie. Une analyse en RT-PCR est ensuite pratiquée et 19 isolats sont retenus. Le séquençage génétique de ces isolats est réalisé.

Les séquences génétiques obtenues pour une partie du génome sont alignées, grâce à un logiciel spécialisé. Les zones du génome très conservées entre les différents isolats sont identifiées (même alignement de bases : A, T, C, G). Ces zones sont ensuite comparées pour évaluer la variabilité.

Exemple :

```

GTACCCAACTGATGGGTAAGTGTAGTCGCTAATGAGCTAGAA
GTACACGTTTCCCTAAATTACTGATGGGTAAGTGGAGTCGCACCCATT
TTAGACTGATGGGTAAGTAGTGTTCGCATCGACTACCTAACCGTT
    
```

Alignement des
séquences
compilées



```

GTACCCAACTGATGGGTAAGTGTAGTCGCTAATGAGCTAGAA
GTACACGTTTCCCTAAATTACTGATGGGTAAGTGGAGTCGCACCCATT
TTAGACTGATGGGTAAGTAGTGTTCGCATCGACTACCTAACCGTT
    
```

Identification des
zones très
conservées

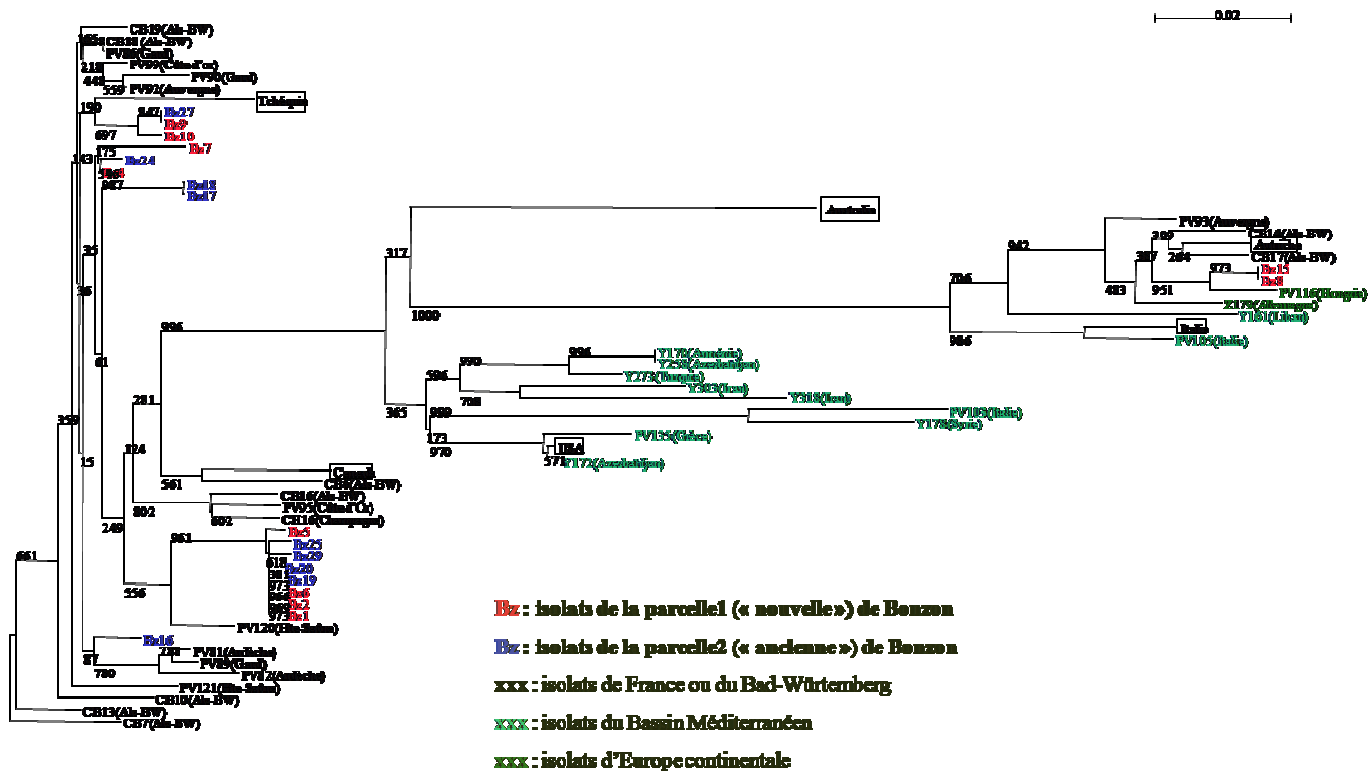


```

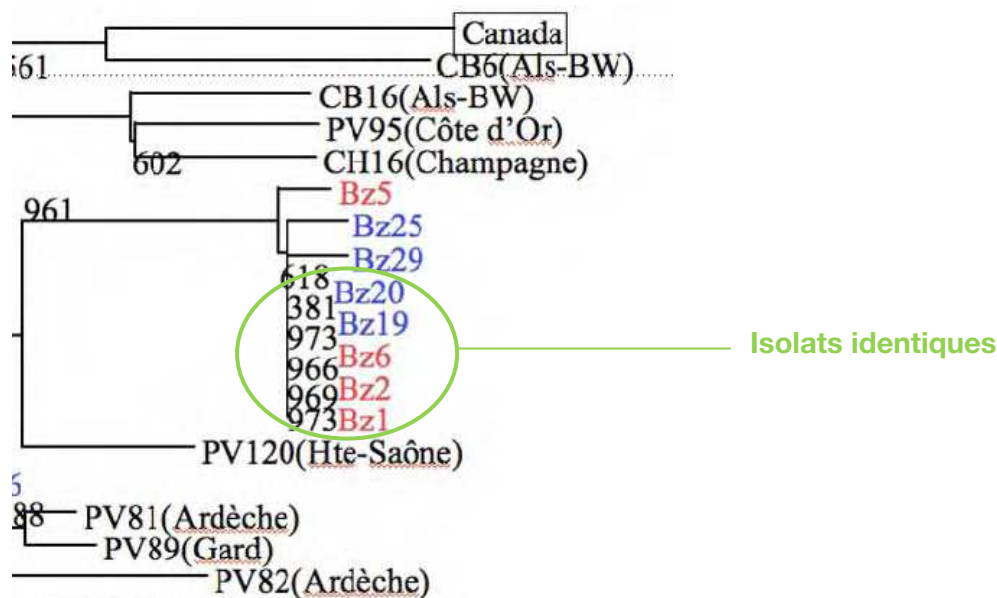
GTACCCAACTGATGGGTAAGTGTAGTCGCTAATGAGCTAGAA
GTACACGTTTCCCTAAATTACTGATGGGTAAGTGGAGTCGCACCCATT
TTAGACTGATGGGTAAGTAGTGTTCGCATCGATCGACTACCTAACCGTT
    
```

Ajustement et
comparaison des
séquences

Une petite zone est différente dans les séquences très conservées. Elle va permettre d'établir la variabilité des souches de virus et donc leur proximité (ou éloignement) génétique. A partir de cette analyse, des arbres phylogénétiques peuvent être construits qui montrent « le lien de parenté » entre les différentes souches de virus prélevées dans la parcelle d'étude et dans la parcelle voisine. Cela permettra de savoir si les souches de virus de la parcelle très contaminée sont à l'origine de la contamination de la parcelle d'étude.



Les isolats de la parcelle d'étude apparaissent en rouge et les isolats de la parcelle voisine en bleu. De manière générale, on observe qu'ils sont voisins d'un point de vue génétique.

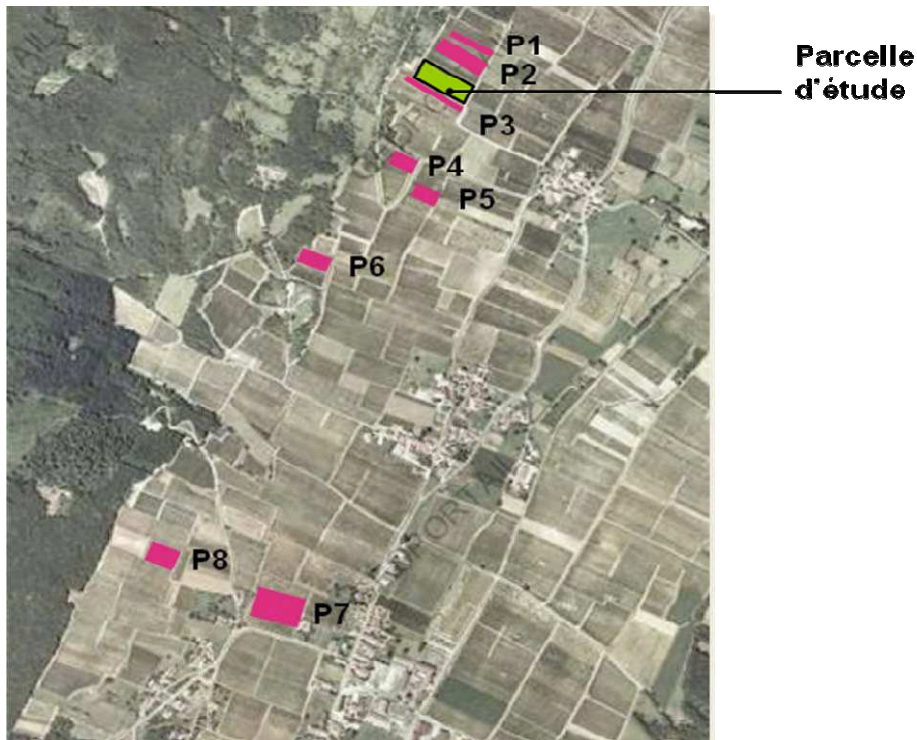


En zoomant sur une partie de l'arbre, il apparaît clairement la proximité des isolats. Certains isolats (3 de la parcelle d'étude et 2 de la parcelle voisine) sont même identiques.

Les isolats de l'ancienne parcelle sont donc à l'origine des isolats de la nouvelle.

Qu'en est-il des isolats plus éloignés ?

8 parcelles plus éloignées de la parcelle d'étude sont choisies, afin d'avoir une idée de la diversité génétique des isolats du GLRaV-1 dans ces parcelles.



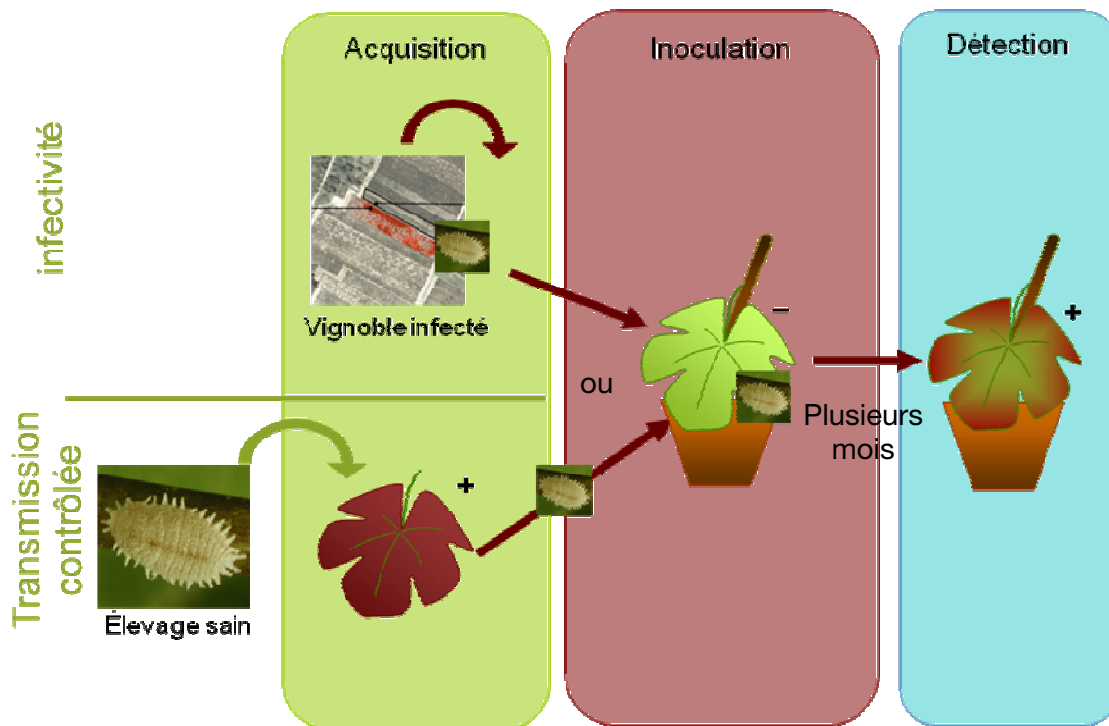
Les premiers tests, réalisés selon le même mode opératoire que ceux pratiqués sur la parcelle voisine, sont effectués sur la P7 et la P8. Les résultats permettent de construire un nouvel arbre phylogénétique.

Les échantillons sont éloignés de plus de 2 km. L'analyse statistique est encore en cours mais les premiers résultats montrent que les isolats de P7 et P8 sont assez proches entre eux mais éloignés des isolats de la parcelle d'étude.

EXPERIENCES DE TRANSMISSION

Le but est de mieux connaître l'acquisition du virus par les cochenilles en laboratoire et au vignoble par inoculation d'une plante saine.

Lors d'un premier ensemble d'expériences (test d'infectivité), des cochenilles sont prélevées sur des plants infectés au vignoble et déposées sur une plante saine. Quelques mois plus tard, on vérifie que la plante a été infectée ou pas, par le virus de l'enroulement. Dans une seconde série d'expériences (test de transmission contrôlée), des cochenilles non porteuses du virus, donc saines, sont déposées sur une plante infectée par l'enroulement (acquisition). Les cochenilles sont ensuite prélevées sur cette plante malade et transmises à une plante saine. Quelques mois plus tard, on vérifie l'inoculation de la plante saine.

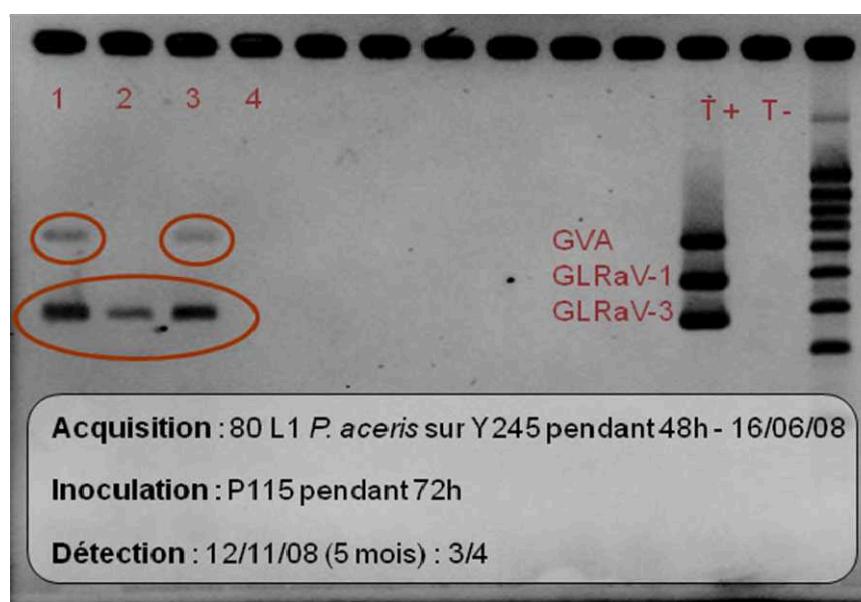


Des premiers résultats ont été obtenus pour *Phenococcus aceris*.

80 larves L1 de *Phenococcus aceris* saines sont placées sur une plante malade (Y245), au niveau des feuilles, pendant 48 h. Puis, ces larves sont de nouveau prélevées de la plante malade et placées sur une plante saine (4 pieds, P115) pendant 72 h.

La détection de la présence du virus sur P115 est faite 5 mois après. 3 pieds sur 4 sont infestés par l'enroulement. Les virus GVA, GLRaV-1 et GLRaV-3 sont recherchés.

Les 3 pieds infectés sont porteurs de GLRaV-3. Pour l'instant, il n'y a pas de signal pour GLRaV-1, le virus ne s'étant peut-être pas assez multiplié. Les plantes sont conservées en vue d'analyses ultérieures.



Des expériences d'infectivité ont également été réalisées avec des lécanines prélevées dans le vignoble alsacien. Elles contenaient soit une seule espèce de virus, soit des combinaisons de virus.

espèce-stades virus	Virus des plantes sources							Total
	GLRaV1	GLRaV3	GLRaV1, 2, 3 et GVA	GLRaV1-GLRaV3	GLRaV1-GVA	GLRaV3-GVA	GLRaV1,3-GVA	
<i>P. corni</i>	GLRaV1 4/22		2/4	2/18	10/36		0/10	24/90
100 L1	GLRaV3	0/16	0/4	0/18		0/5	0/10	0/43
	GVA		0/1		10/36	0/5	0/10	16/52
<i>P. corni</i>	GLRaV1 21/45		1/2	0/39	10/38		10/25	65/149
50 L2	GLRaV3	0/16		0/39		0/13	0/25	0/93
	GVA		1/2		16/38	0/13	12/25	29/78

Il ressort que dans les conditions naturelles, les larves de lécanines prélevées sur les ceps malades sont capables d'inoculer des plants sains.

De même, des expériences de transmission contrôlées des virus de l'enroulement par les cochenilles ont été conduites.

date inoculation	espèce	stade	Source	Virus	AAP	IAP	plantes tests	transmission			
								GLRaV1	GLRaV3	GVA	GLRaV2
23/6/04	<i>P. corni</i>	L1	P 70	GLRaV1-GVA	12 j	8 j	Pinot 115	2/16	-	2/10	
22/6/04	<i>P. corni</i>	L1	Y 285	GLRaV3	12 j	8 j	Pinot 114		0/7		
11/6/07	<i>P. corni</i>	L1	Y 245	GLRaV1, 3 et GVA	5-6	7 j	Pinot 115	13/48	0/46	10/48	
11/6/07	<i>P. corni</i>	L1	V 38	GLRaV2 et 3	5-6	7 j	Muscat-Otonel		0/16		0/16
4/6/07	<i>P. corni</i>	L1	<i>N. benthamiana</i>	GVA	1-2	16 j	Muscat-Otonel			0/15	
30/5/07	<i>P. persicae</i>	L1	Y 258	GLRaV1, 3 et GVA	8 j	7 j	Pinot 114	0/18	0/18	0/18	
21/5/07	<i>H. bohemicus</i>	L1	Y 258	GLRaV1, 3 et GVA	3 j	7 j	PN pépin	0/6	0/6	1/6	
6/6/07	<i>H. bohemicus</i>	L1	Y 258	GLRaV1, 3 et GVA	2 j	4 j	PN pépin	0/10	0/10	0/10	
25/6/07	<i>H. bohemicus</i>	L1	<i>N. benthamiana</i>	GVA	3 j	7 j	Pinot 115			0/26	

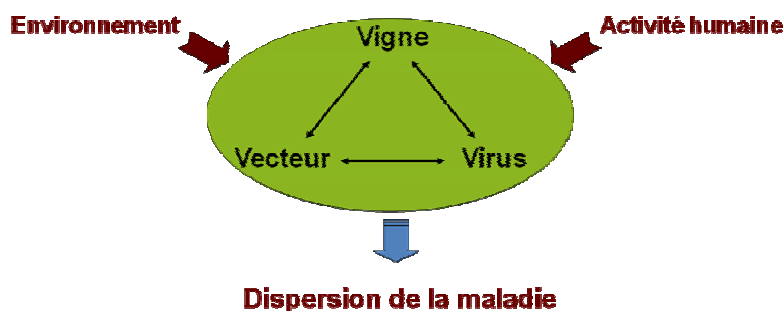
Au laboratoire, la lécanine est capable de transmettre l'enroulement.

LES STRATEGIES DE PROTECTION

POSSIBILITES D'ACTION

Il existe deux niveaux d'épidémiologie indépendants sur lesquels il est possible d'agir :

- La diffusion des virus par le matériel végétal, et dont l'activité humaine,
- La dissémination naturelle par les cochenilles.



DEUX APPROCHES COMPLEMENTAIRES

L'une des approches est le travail sur le matériel végétal.

Lors de la certification du matériel végétal, GLRaV-1 et GLRaV-3 sont recherchés. Il est particulièrement difficile de détecter la présence de virus dans les porte-greffes qui n'expriment pas de symptôme.

Il est également nécessaire de limiter l'échange de matériel virosé.

L'autre approche est le travail sur les cochenilles.

Il s'agit de lutter contre le vecteur. En effet, on ne peut pas lutter contre le virus : une fois qu'une plante est infectée, elle le reste. Il faut donc lutter contre le vecteur.

Lutte contre le vecteur :

- Lutte insecticide : il n'existe pas de molécule spécifique aux cochenilles. Les traitements utilisés contre les tordeuses de la grappe et les cicadelles peuvent avoir un effet contre les cochenilles.... mais aussi contre les auxiliaires (prédateurs, parasitoïdes).
- Lutte biologique : il existe donc, des parasitoïdes et des prédateurs naturels des cochenilles. Cependant, il n'y a pas encore de méthode opérationnelle et des études sont en cours (Californie, IFV-Beaune). Une cochenille femelle peut donner des centaines de larves. Or, les niveaux de population ne sont pas si élevés, c'est donc qu'il existe des facteurs naturels limitants. Un travail est mené sur le cortège parasitaire capable d'empêcher la prolifération des cochenilles.

Remarque : Les travaux de Gilles Sentenac, IFV-Unité de Beaune, ont conduit au développement d'une alternative biologique à la lutte chimique contre les cochenilles.

L'utilisation des larves de chrysopes, dans des conditions maîtrisées, est une technique qui a prouvé son efficacité. Néanmoins, le coût élevé de cette lutte biologique ne peut s'envisager que sur des surfaces restreintes, limitées aux foyers.

MEILLEURE CONNAISSANCE DE LA VECTION

Des travaux sur la biologie de la vection doivent être conduits, sur la spécificité hôte-virus, mais aussi sur les paramètres de la transmission du virus : à quel stade la cochenille est le meilleur vecteur, etc... , ainsi que sur les mécanismes de la vection.

D'autres études se poursuivent sur la dispersion de la virose : rôle des cochenilles (poursuite des travaux engagés) et l'activité des cochenilles. Un essai va être conduit sur le domaine viticole de l'INRA de Colmar. Sur une parcelle saine plantée en Pinot Noir, quelques pieds vont être infectés par le virus, puis des cochenilles saines vont être déposées sur les pieds malades et les pieds sains vont être suivis au cours des prochaines années pour mieux comprendre la dispersion de la maladie dans un environnement maîtrisé n'impliquant que les cochenilles.

CONCLUSION

Tout ce travail démontre la complexité du pathosystème « enrroulement ». Il reste encore beaucoup de travail et c'est un vrai défi pour la recherche, car il existe plusieurs espèces virales et plusieurs espèces vectrices. La vigne est une plante pérenne et le cycle de la cochenille est annuel. De plus, la manipulation de ces insectes est délicate. La symptomatologie de cette maladie est complexe (variation dans l'expression des symptômes, possibilité de confusion avec d'autres maladies ou carences, difficulté d'identification sur les cépages blancs...). Enfin, deux modes de dispersion se superposent.

Il est nécessaire de maintenir une coopération entre les différents acteurs techniques et financiers telle qu'elle a commencée.

Partenaires financiers : BIVB, CIVC, CIVA, Viniflor, Région Bourgogne, INRA, ANRT.

Partenaires scientifiques et techniques : Equipe de recherche Biologie et Ecologie des Phytoplasmes (INRA Dijon), Equipe de recherche Virologie et Vection (INRA Colmar), IFV Beaune et Colmar, Sicarex Beaujolais, Chambre d'Agriculture de Saône et Loire, SRPV Beaune, Université Louis Pasteur de Strasbourg, USDA Montpellier, les viticulteurs.

DISCUSSION AVEC LA SALLE

Est-ce que la thermothérapie peut fonctionner dans le cas de l'enroulement ?

C'est très difficile, on peut difficilement guérir une plante atteinte. Des équipes de recherche travaillent sur certaines viroses et testent cette voie, peu de résultats pour l'instant.

La replantation est-elle une solution ?

Il existe certains pare-feux qui peuvent retarder la maladie mais la replantation n'est pas une solution en soit, car elle n'aura qu'un effet retardateur, si les parcelles environnantes sont touchées par l'enroulement.

La densité de cochenilles a-t-elle un lien avec la densité virale ?

La cochenille est un vecteur non multipliant. Le virus va se multiplier et diffuser plus vite au sein même de la plante que par infestation par les cochenilles.

Les plants de vigne âgés semblent moins exprimer les symptômes. Existe-t-il une accoutumance de la plante à la maladie ?

Peut-être que des mécanismes de défenses au sein de la plante existent mais ils sont méconnus. Plus une plante est inoculée jeune, plus elle exprime les symptômes. Il y a également souvent superposition avec d'autres maladies et d'autres symptômes.

La cochenille est-elle le seul vecteur ?

A priori oui, il y a une spécificité vecteur-virus. Il est cependant possible de trouver de nouvelles espèces de cochenilles vectrices.

Le climat a-t-il une incidence sur l'expression de la maladie ?

Il semblerait en effet que les conditions climatiques jouent un rôle. En 2003, il a fait très chaud et la maladie semblait moins présente, alors qu'en 2007/2008, années très humides la maladie s'est davantage exprimée.

Quelle est la répartition matériel végétal/cochenille ?

C'est difficile à évaluer. Le travail sur les cochenilles est engagé. Il est nécessaire d'avoir une réflexion sur le matériel végétal et la certification de celui-ci.

En 2008, pourquoi y-a-t-il eu une expression précoce des symptômes ?

C'est vrai qu'une forte expression était observable au mois de juin, mais finalement l'expression a été moins forte que ce que l'on pouvait attendre. Il y a une influence notable du climat. En effet, le virus dépend de la plante et, si la plante végète, le virus végète également.

Le Bois Noir est transmis par une cicadelle, on peut confondre les deux maladies, existe-t-il un lien ?

Les symptômes se ressemblent mais sont différents. Dans le cas du Bois Noir, l'aoûtement des bois ne se fait pas et les nervures des feuilles ne restent pas vertes. Il n'y a pas de lien entre les vecteurs et maladies. De plus, ce n'est pas parce qu'on ne voit pas de cochenille qu'elles n'y sont pas. Il y a pu y avoir des cochenilles puis plus aucune. Leur présence a précédé l'explosion d'enroulement. Il y a un décalage entre la présence des cochenilles et l'apparition des symptômes.

Les travaux menés dans les autres pays du monde donnent-ils des résultats proches ? Et les autres parcelles suivies dans le cadre de cette étude ont des densités de plantation différentes, cela a-t-il un impact ?

En ce qui concerne les autres parcelles, on manque de données chiffrées pour conclure sur ce paramètre.

Les autres travaux dans le monde portent sur des espèces de cochenilles et de virus différentes. Il existe de nombreuses études dans les régions à climat méditerranéen où le virus le plus fréquent est le GRLaV-3 et les espèces de cochenilles sont différentes des

nôtres. Il est également présent dans les régions septentrionales mais se comporte différemment. En région septentrionale, la seule étude en cours est celle qui vient d'être présentée. Il est évident que des contacts et des échanges existent entre les différentes équipes de recherche qui étudient le sujet dans le monde. En 2009 aura lieu à Dijon un colloque international sur les virus de la vigne qui permettra de développer encore les contacts.

Quel est le délai d'expression des symptômes ?

Si des cochenilles sont observées en année N, en général des symptômes sont visibles en année N+1. Il faut au minimum un ou deux ans avant que la plante exprime la maladie. Il existe une vraie question sur l'expression des symptômes et pourquoi parfois la plante arrête de les exprimer une année. Beaucoup de paramètres peuvent être impliqués.

Existe-t-il des travaux, des références sur le matériel végétal infesté ?

Il n'existe pas d'étude chiffrée mais il est possible que l'ENTAV ait des données.

Quand la plante est infectée, elle peut exprimer plus ou moins de symptômes mais est- ce qu'elle reste infectée ?

Une fois qu'une plante est infectée, elle le reste. Il est impossible de la guérir, d'où la nécessité de traiter le problème des cochenilles.

Pourquoi ce virus est-il présent sur la vigne ?

Le virus est transmis à partir d'une plante infectée qui a été multipliée. L'amélioration des techniques de détection permettra de diminuer la quantité de matériel végétal infecté par l'enroulement.

Des recherches sont-elles menées sur le virus lui-même ?

Des équipes de virologues travaillent sur ces virus en parallèle des autres travaux.

Quels sont les ennemis naturels des cochenilles ?

Les prédateurs connus des cochenilles sont les coccinelles et des larves de chrysope. Il existe également des parasitoïdes de l'ordre des hyménoptères (mini-guêpe).

La confusion sexuelle est testée en Californie, mais chez les cochenilles les mâles sont peu présents. Cela peut être efficace s'il y a une faible densité de population de cochenilles.

Les cochenilles sont peu mobiles, comment passent-elles d'un pied à l'autre ?

Ce sont les stades larvaires qui sont les plus mobiles. Il y a ainsi une très faible dispersion de proche en proche sur les ceps, mais les fourmis peuvent également participer à une dispersion passive des insectes. Les différents passages des engins et opérateurs dans les vignes peuvent également être la cause de la dispersion des cochenilles.

Les cochenilles se conservent-elles dans le sol ?

A priori, elles hivernent essentiellement dans l'écorce.

La lutte insecticide au débourrement faite pour les cicadelles et les vers de la grappe a-t-elle un impact sur les cochenilles ?

Il n'y a pas d'essai et donc pas de résultat sur ce sujet. Cela reste difficile de savoir.

Les firmes de produits phytosanitaires font-elles des recherches sur le traitement des cochenilles ?

Probablement, mais cela reste incertain.



BOURGOGNES

*Bureau Interprofessionnel
des Vins de Bourgogne*

Pôle Technique et Qualité du BIVB
CITVB
6 rue du 16^e chasseurs
21 200 Beaune

Tél. : 03 80 26 23 74 - Fax : 03 80 26 23 71
technique@bivb.com