

LES MALADIES DU BOIS DE LA VIGNE

29 – 31 octobre 2018

Dijon

(Université de Bourgogne, salle Multiplex)



COMPTE RENDU

PROGRAMME DES JOURNEES MALADIES DU BOIS

29 – 31 octobre 2018

Lundi 29 octobre 2018

13h30 - Accueil

14h00 – Introduction

14h30 – 15h45 – Maladies du bois et dépérissements ; de la vision historique à l'action nationale

- + L'actualité du Plan national dépérissement du vignoble (Héloïse Mahé, IFV 20 min)
- + Etat des lieux - Observations du vignoble (Bruno Doublet, DRAAF/SRAL) (25 min)
- + Esca / BDA en Bourgogne au cours des XXe et XXIe siècles (Philippe Larignon, IFV) (25 min)

15h 45– 16h15 - Pause

16h15 – 18h – Biologie des champignons et écologie microbienne

- + Diversité de *Phaeomoniella chlamydospora* et *Togninia minima* : quoi de nouveau ? (Jean-Pierre Péros, INRA Montpellier) (20 min)
- + Traits d'histoire de vie et adaptation des *Botryosphaeriaceae* spp. dans le vignoble français : agressivité, sensibilité aux fongicides, et mycovirus (Marie-France Corio-Costet, IFV) (25 min)
- + La dégradation non-enzymatique du bois: cas des maladies du bois de la vigne (Sybille Farine, UHA / Bordeaux Sciences Agro) (20 min)
- + Etude comparative des activités enzymatiques de dégradation du bois et de métabolisation des stilbènes chez différents *Botryosphaeriaceae* (Clément Labois, UHA) (20 min)
- + Le microbiome de plantes adventices au vignoble et la relation avec la flore fongique et bactérienne de la vigne (Stéphane Compant, AIT Austrian Institute of Technology) (20 min)

Soirée libre

Mardi 30 octobre 2018

9h00 -10h30 – Compréhension du mode d'action de l'arsénite de sodium

- + Effet de l'arsénite de sodium sur le cycle biologique des champignons associés aux maladies du bois (Philippe Larignon, IFV) (20 min)
- + Spéciation de l'arsenic dans la vigne et son impact sur les populations fongiques (programme CASDAR V1301) (Mary-Lorène Goddard, UHA) (15 min)
- + Impact de l'arsénite de sodium sur les communautés microbiennes (CASDAR V1301) (Emile Bruez, Bordeaux Sciences Agro, Université de Bordeaux) (15 min)
- + Principaux résultats de l'expérimentation arsénite au vignoble (CASDAR V1301) (Florence Fontaine, URCA) (15 min)
- + Impact de l'arsénite de sodium sur les *Botryosphaeriaceae* (Mary-Lorène Goddard, UHA) (15 min)

10h30 – 11h – Pause

11h - 12h30 – Interaction hôte-pathogène - Influence des facteurs environnementaux

- + Nouvelles techniques d'imagerie pour le suivi non-destructif des champignons pathogènes dans le bois (projet VITIMAGE) (Cédric Moisy, IFV) (20 min)
- + Présentation du projet Eurêka (Christophe Bertsch, UHA) (20 min)
- + Analyse métabolomique de l'infection de *Vitis vinifera* subsp. *sylvestris* par *Neofusicoccum parvum* (Clément Labois, UHA) (15 min)
- + Présentation du projet Tolédé : Comprendre la Tolérance de la vigne et l'agressivité des champignons pour limiter la contribution des maladies du bois au Dépérissement du vignoble. (Jean-Pierre Péros, INRA Montpellier) (15 min)

12h30 – 14h00 - Buffet

14h00 – 16h00 – Influence des facteurs environnementaux

- + Recherche d'un effet clone sur l'expression des maladies du bois : du vignoble au labo (Claire Grosjean, CRA BFC ; Florian Moret, Christelle Guillier, INRA Dijon) (20 min)
- + Rôle des bactéries dans la dégradation du bois de la vigne : Interactions bactéries/*Fomitiporia mediterranea* (Rana Haidar, INRA Bordeaux) (20 min)
- + Projet GTD free : Etude de l'impact d'un stress température sous deux régimes hydriques sur la physiologie de la vigne en lien avec l'agressivité des Botryosphaeriaceae (Aurélié Songy, URCA) (20 min)
- + Ecophysiological impacts of esca, a devastating grapevine trunk disease, on *Vitis vinifera* L. (Loris Ouadi) (20 min)
- + Marqueurs moléculaires de sensibilité de la vigne à *Eutypa lata* (Chloé Cardot, BNIC) (25 min)

16h – 16h30 - Pause

16h30 – 18 h – Influence des facteurs environnementaux

- + Etude des paramètres culturaux d'un réseau de parcelles en lien avec l'expression pluriannuelle d'Esca/BDA (Céline Abidon, 20 min)
- + Conduite de la vigne et esca : synthèse (Pascal Lecomte, INRA Bordeaux) (20 min)
- + Résultats d'essais en Bourgogne-Franche-Comté : Taille, prophylaxie, impact flux de sève, ... (Claire Grosjean, CRA BFC et Gaël Delorme, CA 39 (30 min)

Soirée libre

Mercredi 31 octobre 2018

8h30 -11h – Méthodes de lutte

- + Un nouveau mode de traitement des maladies du bois de la vigne : l'endothérapie végétale ? (Johann Fuchs, UHA) (15 min)
- + Maladies du bois : mise au point d'un modèle simplifié en vue de tester de nouveaux moyens de lutte (Jean-François Chollet, Université de Poitiers) (15 min)
- + Effet d'un produit à base d'extraits de plantes et d'oligoéléments véhiculés par un transporteur pour contrôler les maladies du bois. (Vincenzo Mondello, URCA) (15 min)
- + Colonisation racinaire du porte-greffe R110 par *Trichoderma atroviride* (Romain Pierron, UHA) (15 min)
- + *Pantoea* : amie ou ennemie du vignoble ? (Flore Mazet, UHA) (15 min)
- + L'efficacité de trois agents de biocontrôle, appliqués individuellement ou en combinaison, à protéger les jeunes plants de vigne contre *Neofusicoccum parvum* (Amira Yacoub, INRA Bordeaux) (20 min)

**Maladies du bois et dépérissements : de la vision
historique à l'action nationale**

Le Plan national Dépérissement du vignoble : premiers résultats

Héloïse Mahé

¹ CNIV – Paris – France

Contact : heloise.mahe@vignevin.com

Face à la progression des maladies du bois de la vigne et aux phénomènes de dépérissements du vignoble, les interprofessions viticoles françaises ont lancé il y a maintenant deux ans et demi un plan d'action national. Des dizaines d'initiatives, de programmes de recherche et d'expérimentation sont aujourd'hui à l'œuvre dans tous les vignobles français.

Tous les bassins viticoles sont concernés aux travers des 4 ambitions du Plan national contre le dépérissement du vignoble: prise de conscience et engagement des viticulteurs, qualité du matériel végétal, observation du vignoble et bien entendu recherche et développement au service du vignoble.

Sur la plateforme web du Plan Dépérissement, plus d'une centaine d'articles sont en ligne : bonnes pratiques, fiches techniques, retours d'expérience, contribution de recherche. Une cinquantaine de formations sont aussi référencées et font écho aux actions menées par le Plan et ses partenaires en faveur de la formation. La prise de conscience des viticulteurs passe aussi par le diagnostic à l'échelle de l'exploitation de l'impact socio-économique des dépérissements. Une enquête a été menée auprès de 250 viticulteurs. Ce travail doit aboutir à terme à l'élaboration d'un outil d'aide à la décision pour un meilleur pilotage des exploitations dans un contexte de dépérissement. Un premier outil d'autodiagnostic sera testé dès la fin 2018.

Partenaire de l'ambition 2 du Plan Dépérissement, la Fédération française de la pépinière viticole (FFPV) a engagé la création d'une marque collective. L'objectif est de promouvoir la traçabilité et la qualité des plants de vigne produits en France. La marque sera dévoilée lors du Congrès de la FFPV à Beaune fin octobre 2018.

Près de 5 millions d'euros sont maintenant octroyés par le Plan Dépérissement à 15 projets de recherche et d'expérimentation. Ces projets privilégient une approche scientifique nouvelle, élargie et partenaire de la production. Cinq nouveaux programmes de recherche ont été sélectionnés en juin 2018 pour compléter les travaux entamés en 2017. Parmi ces cinq projets, deux d'entre eux portent sur le sol viticole, ils sont complémentaires. S'ajoutent un projet d'épigénétique, un projet sur la flavescence dorée et le coût de la lutte collective, et un projet de transfert sur l'évaluation de la sensibilité des cépages à l'eutypiose. L'appel à projets est renouvelé en 2019.

Allant au-delà des thématiques de dépérissement, le projet d'observatoire national du vignoble voit le jour. La construction de l'infrastructure de données géographiques (IDG), destinée à l'hébergement et à la consultation des données d'observation, commence à l'automne 2018.

Situation du vignoble

Synthèse des résultats issus des dispositifs d'observation 2017 (partiellement 2018)

Bruno Doublet¹ et Jacques Grosman²

¹ Personne ressource dépérissement & maladies du bois de la vigne DRAAF – SRAL Grand Est
Complexe agricole du Mont Bernard 4, rue Dom Pierre Pérignon CS 60440 51037 Châlons-en-
Champagne cedex

² Référent Expert viticulture DGAL, Draaf-Sral Auvergne-Rhône-Alpes, Site de Lyon
165 rue de Garibaldi BP 3202, 69401 Lyon Cedex 03

Contacts : bruno.doublet@agriculture.gouv.fr, jacques.grosman@agriculture.gouv.fr

Les principales maladies du bois de la vigne, regroupent l'esca, le black dead arm et l'eutypiose. Encore actuellement, peu de solutions sont à disposition des viticulteurs pour prévenir ou contenir efficacement ces affections qui compromettent à terme la pérennité des ceps. Elles représentent l'une des principales préoccupations phytosanitaires du vignoble français, européen et mondial. Cette problématique viticole s'inscrit pleinement dans celle plus globale du dépérissement du vignoble.

Aussi, la connaissance objective, partagée et actualisée de l'état des lieux dans les principaux bassins viticoles demeure un pré-requis. Il permet de contribuer à l'ambition n°3 (« Vers une coordination des réseaux d'observation pour anticiper les crises et identifier les actions correctrices ») du Plan national dépérissement du vignoble.

Les données recueillies proviennent pour une grande part (soit 63% des parcelles) des réseaux d'épidémiosurveillance, intégrés dans le dispositif national de surveillance biologique du territoire (du plan Ecophyto). Pour une autre part (soit 37% des parcelles), elles sont issues de dispositifs de type Observatoires, spécifiques maladies du bois, soit en continuité de l'observatoire « historique » (animé par la DGAL entre 2003 et 2008), soit de création plus récente (2012-2015). Le pilotage et le suivi des observations sont variables selon les structures et les objectifs poursuivis.

Les données compilées sont donc diverses selon les vignobles mais permettent néanmoins d'établir un état de lieux national.

Au total, un panel d'environ 1200 parcelles (2017) ont été suivies en France. Les notations répondant aux critères définis par les protocoles harmonisés visent à déterminer le taux moyen de ceps présentant des symptômes foliaires, incluant les formes d'expressions lentes et sévères, ce qui correspond à la **prévalence** des maladies. L'esca et le black dead arm, sont prioritairement notés (sans distinction), et l'eutypiose n'est observée que dans certains vignobles. Ces données sont recueillies sur une vingtaine de cépages et se déclinent sur la plupart des régions viticoles sans pour autant représenter exhaustivement l'ensemble des bassins de productions. Le grand Sud-Est est peu représenté.

Les prévalences moyennes (fréquence de ceps atteints) sont calculées à partir de situations qui peuvent différer par le nombre de parcelles suivies pour chaque cépage. Les résultats montrent qu'au-delà des fortes variations inter-annuelles, les moyennes masquent aussi de fortes disparités entre parcelles et entre cépages y compris pour un même bassin viticole. Les résultats reflètent essentiellement des tendances en terme d'évolution globale des maladies du bois.

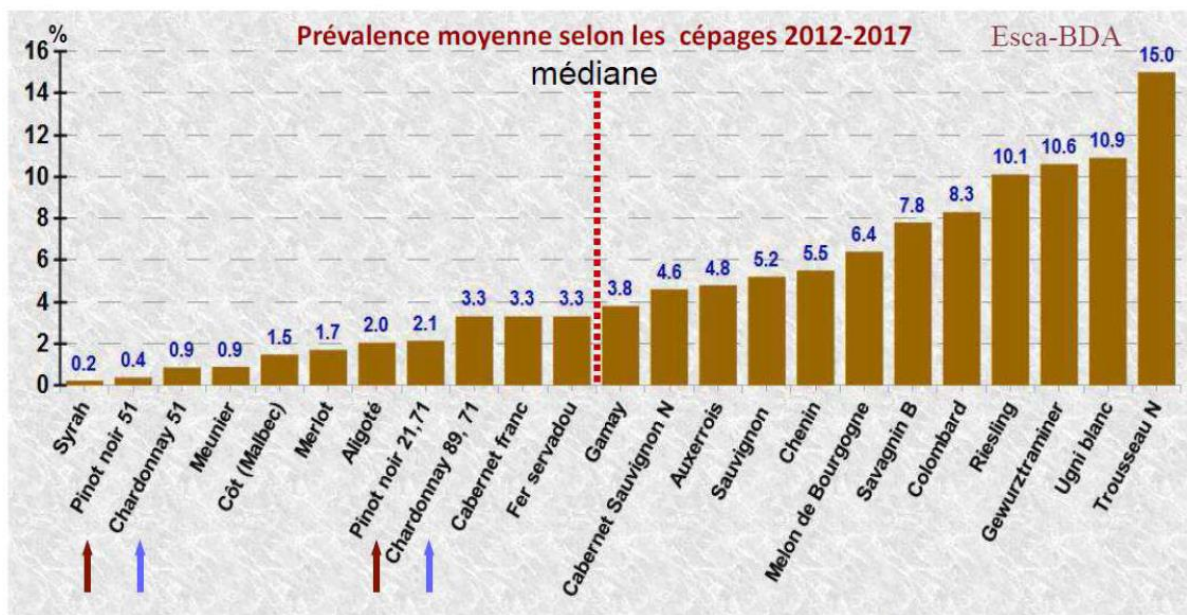
Pour rappel, le niveau d'externalisation annuel des symptômes foliaires, pour l'esca sous formes lentes ou apoplectiques ou encore pour l'eutypiose est variable comme l'ont démontré des suivis précis de ceps à ceps. Par ailleurs, il ne reflète pas forcément l'intensité des attaques

causées par les agents pathogènes du fait de l'impossibilité d'évaluer le niveau des nécroses dans les parties pérennes de la vigne. En effet, le poids des facteurs abiotiques (conditions météorologiques de l'année, en lien avec la disponibilité hydrique des sols et les techniques culturales) se conjugue avec ceux imputables aux facteurs biotiques. En d'autres termes, la seule approche annuelle serait réductrice pour évaluer l'état des lieux, la vision comparée et pluriannuelle s'inscrit davantage dans cet objectif.

L'**eutypiose** est suivie en Charentes, Bordelais, Val de Loire, Rhône-Beaujolais. Les expressions annuelles sont fluctuantes et souvent en lien avec les conditions climatiques de fin hiver-début printemps.

L'Ugni blanc en Charentes demeure de loin le cépage le plus atteint, même si en tendance pour ces deux dernières années, les expressions sont plus contenues. Ainsi, pour cet observatoire en 2017, la prévalence moyenne est de 4,1 % et encore de 4 % en 2018. Dans une mesure bien moindre, le Sauvignon, le Cabernet Sauvignon dans le bordelais se situent en deçà de 0,7 % et même moins en 2017. De même, en Val de Loire (Sauvignon, Chenin, Cabernet-Franc), en Côtes du Rhône (Gamay en Beaujolais), les prévalences moyennes sont inférieures à 0,5 %, ce qui s'inscrit dans la tendance de ces dernières années vers une moindre expression de l'eutypiose. Ce constat n'intègre pas encore exhaustivement toutes les observations de 2018.

L'**esca/black dead arm** (les 2 syndromes ne sont pas différenciés dans la notation) constitue toujours la part la plus importante et préoccupante des maladies du bois, qu'il s'agisse de la forme lente ou foudroyante (apoplectique). Tous les vignobles (bassins viticoles) sont concernés, 84% des parcelles observées expriment des symptômes foliaires (f. lente ou apoplectique). Comme pour l'eutypiose, les expressions annuelles sont fluctuantes et certainement dépendantes des facteurs biotiques ou abiotiques. Les différentes sensibilité des cépages déjà connues se vérifient de nouveau (graphique ci-dessous). A noter que sur la période 2012-2017 (6 années), la prévalence moyenne (esca-bda) est de 4,9 %, la prévalence médiane de 3,7 % . Pour 2017, la prévalence moyenne est de 4,4 %



Bruno Doublet - P. ressource Dépérissement & Maladies du bois DRAAF-SRAL Grand Est
 Jacques Grosman - Référent Expert Viticulture - DGAL-SDQSPV

Figure 1 : prévalence moyenne des cépages observés sur la période 2012 à 2017 (*)
 (*) données 2018 encore partielles lors de cette présentation

A noter qu'en 2018, la fréquence de la forme apoplectique n'a pas augmenté, ce qui peut s'expliquer par un niveau bien pourvu de réserves hydriques des sols en fin d'hiver malgré des conditions estivales très chaudes et très sèches dans la plupart des régions.

Les prévalences d'expressions (pour les symptômes foliaires) demeurent très variables selon les années, les bassins viticoles (même en comparant un même cépage comme le Chardonnay ou le Pinot noir) et la sensibilité des cépages.

En tendance, pour 2017, les niveaux d'expressions apparaissent plutôt en hausse notamment pour les vignobles de la façade atlantique (Charentes, Bordelais) constat cependant non vérifié pour les vignobles à l'Est jusqu'à la vallée du Rhône.

En Alsace l'observatoire reflète des expressions esca-bda élevées pour le Gewurztraminer, le Riesling et l'Auxerrois. En 2017, la prévalence moyenne est proche de 6 %, en 2018 elle atteint 8,3 % . En Charentes, l'Ugni Blanc demeure très fortement impacté notamment en 2017, 12,7 % dont 2,7 % de formes sévères, mais l'impact est plus limité en 2018 avec 6,1 % d'expression. En Val de Loire, pour le Sauvignon, le Chenin, le Cabernet Franc et le Melon, les prévalences moyennes sont de 5,7 % dont 2 % de formes sévères (valeurs de 2017).

La Champagne reste le vignoble le moins touché, avec 0,9 % de prévalence moyenne pour les 3 cépages Chardonnay, Pinot noir et Meunier (données 2017 et du même ordre pour 2018). La Bourgogne, avec des cépages comparables présente des niveaux d'attaque supérieurs, 2,4 % de prévalence moyenne en 2018 dont 1,5 % de ceps apoplectiques. Dans le Beaujolais, le cépage Gamay présente une expression moins marquée en 2017 avec 2,8 % et en 2018 avec 1,4 %. La tendance est comparable dans le Jura, en 2017 : la prévalence moyenne pour les 2 cépages Savagnin et Trousseau est de 6,6 % dont 4,2 % de forme foudroyante. Le Bordelais, présente une expression en hausse, au regard des millésimes 2016 et 2017 pour le Cabernet Sauvignon, le Sauvignon, le Cabernet Franc et le Sémillon et dans une moindre pour le Merlot moins sensible.

Le dispositif d'observation récent (période 2015-2017) retient pour ces cépages en 2017, 3,5 % d'esca-bda dont 0,28 % d'apoplexie.

L'impact agronomique des maladies du bois, peut être estimé par un calcul de la proportion de surface viticole improductive ou faiblement productive. Ce chiffre est obtenu par la somme des ceps morts, des absents, des complants, des recépés et des sévèrement touchés. La moyenne, établie à partir de 5 régions, se situe à hauteur de 13,3 % en 2017. Sur la période 2012-2017 la proportion de surface improductive est de l'ordre de 12 %.

Bilan et perspectives :

Ces résultats, confirment que les maladies du bois (esca-bda en 1^{er} lieu) restent l'une des problématiques sanitaires majeures pour la viticulture et sont sans doute une cause importante des phénomènes de dépérissement. Le Plan national dépérissement intègre pleinement ces maladies notamment dans les projets de recherche. Alors que la recherche demeure mobilisée, la nécessité de disposer d'outils d'observation au vignoble est indispensable.

L'intégration des maladies du bois dans le dispositif de la plateforme d'épidémiosurveillance végétale vise à partager les expertises et faire progresser les compétences des acteurs de la surveillance. L'objectif sera d'améliorer l'efficacité de la surveillance, nourrir l'analyse, alimenter la recherche et évaluer les solutions potentielles.

L'esca / BDA en Bourgogne au cours des XXe et XXIe siècles

Philippe Larignon

Institut Français de la Vigne et du Vin, Pôle Rhône-Méditerranée, 7 avenue Cazaux, 30230 Rodilhan

Contact : philippe.larignon@vignevin.com

La reconstitution du vignoble français à la fin du XIX^{ème} siècle a conduit à la recrudescence des maladies du bois (apoplexie, folletage) comme en témoignent certains écrits de l'époque. Ces maladies étaient préoccupantes dans le Midi et également bien présentes dans les vignobles de la façade atlantique (Anjou, Charentes, Bordeaux). Leur importance était tout à fait comparable à ce que nous connaissons aujourd'hui. Contrairement à tous ces vignobles, les vignobles septentrionaux étaient peu touchés mais le sont devenus au début du XXI^{ème} siècle.

A partir des témoignages trouvés dans les bulletins de viticulture de la Bourgogne, des données climatiques (depuis 1901), des observations réalisées annuellement dans ce vignoble ainsi que des connaissances acquises sur les facteurs climatiques favorisant l'expression des symptômes esca/BDA, une grille d'évaluation du risque de leur manifestation a été créée. Les facteurs pris en compte sont le niveau de pluviométrie et la moyenne des températures maximales pour la période comprise entre le 1^{er} mai et le 30 septembre. Elle a ainsi permis de comprendre pourquoi l'esca /BDA a été peu présent au cours du XX^{ème} siècle dans cette région viticole. Les conditions climatiques étaient peu ou moyennement favorables à son expression et cela jusque dans les années 80. L'interdiction des traitements à l'arsénite de sodium en raison de son caractère cancérigène depuis 2001 et des conditions climatiques devenant de plus en plus favorables à l'expression de la maladie expliquent sa recrudescence. Selon les prévisions climatiques prévues dans cette région, il est fort probable que les trente prochaines années seront surtout marquées par des années favorables, voire très favorables à l'expression des symptômes.

Contrairement au vignoble bourguignon, l'utilisation de cet outil dans d'autres vignobles (Midi, Bordelais) a plutôt montré que les conditions climatiques pouvaient être propices, voire très propices ou peu favorables à l'expression des symptômes tout au long du XX^{ème} siècle. Leur importance à cette époque était tout à fait comparable à ce que nous connaissons aujourd'hui. Ces observations sont tout à fait corroborées par les témoignages apportés par les pathologistes de l'époque.

Historique de l'esca/BDA dans le vignoble bourguignon (de 1901 à aujourd'hui)

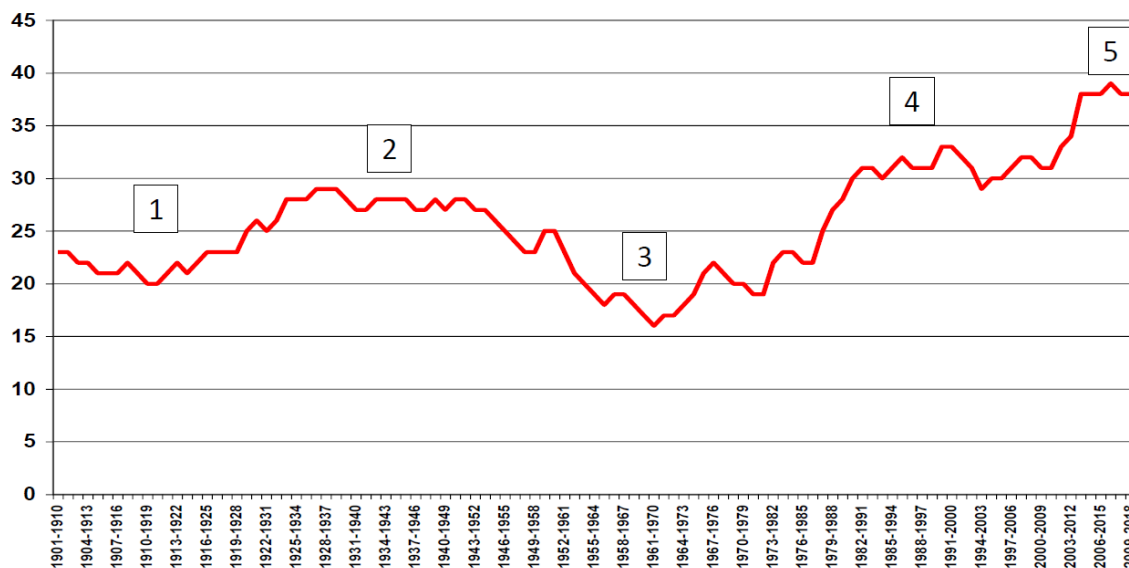
1 – Les conditions climatiques sont peu favorables à l'expression des symptômes. Les informations trouvées dans l'ancienne littérature indiquent que cette maladie est rare ou considérée comme une maladie nouvelle (sources : Bulletin du Syndicat viticole de la côte dijonnaise 1912, Bulletin de la société vigneronne de l'arrondissement de Beaune n°163).

2 – Les conditions climatiques deviennent plus propices à son expression suite au réchauffement du climat (selon Le Roy Ladurie et al. 2006). L'utilisation régulière de l'arséniate de plomb à cette époque pour lutter contre les vers de la grappe empêche sa manifestation. Ce produit était appliqué pendant la période végétative avant la floraison pour lutter contre leur première génération (source : Bulletin de la société vigneronne de l'arrondissement de Beaune n°170).

3 – Suite au léger refroidissement du climat allant de 1948 à 1977 (selon Le Roy Ladurie et al. 2006), les conditions climatiques deviennent de moins en moins favorables à leur manifestation pour même y devenir très défavorables durant les années 60. Elles ne touchent que quelques souches et d'ailleurs les traitements avec les produits arsenicaux n'étaient préconisés que pour les vignes qui ont été rabattues suite à des hivers froids et non pas à l'égard de l'esca (source : avertissements agricoles de la Station de Bourgogne – Franche-Comté, Bulletin janvier 1965).

4 – Les conditions climatiques redeviennent plus favorables à l'extériorisation de l'esca/BDA suite à la phase de réchauffement à partir de 1978 selon Le Roy Ladurie et al. 2006. La maladie a pu être contrôlée par l'emploi de l'arsénite de sodium. Selon les informations fournies par Adivalor sur la collecte de l'arsénite de soude en Bourgogne, 12 tonnes et 31 tonnes de produit ont été respectivement récupérés en Côte d'Or et en Saône-et-Loire. En considérant une superficie équivalente à celle de la Gironde pour laquelle le produit a été largement utilisé, on aurait récupéré environ 300 tonnes de produits en Saône-et-Loire, ce qui signifie un large emploi d'un tel produit.

5 - Elles deviennent encore plus propices à l'expression des symptômes. Ce fait additionné à l'interdiction des traitements avec l'arsénite de soude à partir de 2001 en raison de sa toxicité a conduit à une recrudescence des maladies du bois dans le vignoble bourguignon. Cette double peine pour les viticulteurs s'est traduit tout d'abord par une inquiétude des Professionnels sur la propagation de cette maladie sur l'ensemble du vignoble bourguignon (sources : Journal « l'Exploitant Agricole de Saône-et-Loire » du 24 octobre 2008, le Journal de Saône-et-Loire du 7 mai 2009), puis à des manifestations (marche silencieuse des viticulteurs à Mâcon le 26 octobre 2012, déversement de pieds de vigne devant les permanences des parlementaires de Saône-et-Loire le 4 novembre 2014).



**Biologie des champignons et écologie
microbienne**

Diversité génétique de *Phaeoconiella chlamydospora* et *Phaeoacremonium minimum*

Amandine Launay¹, Melinda Penalver¹, Gilles Berger¹, Marc-Henri Lebrun² et Jean-Pierre Péros¹

¹ AGAP, Université de Montpellier, CIRAD, INRA, Montpellier SupAgro, Montpellier, France

² UMR BIOGER, CNRS-INRA, Versailles, France

Contact : jean-pierre.peros@inra.fr

La diversité génétique de deux champignons pionniers souvent associés dans le processus de dégradation du bois de la vigne a été étudiée afin de définir des panels optimisant la diversité de chacune de ces espèces et de mieux comprendre la structure de leurs populations. Des isolats issus des anciennes régions Charentes, Aquitaine et Languedoc-Roussillon ont été génotypés avec 18 marqueurs microsatellites définis par Smetham et al (2008) pour *Phaeoconiella chlamydospora* (Pch) et avec 22 marqueurs microsatellites que nous avons développé pour *Phaeoacremonium minimum* (Pmi). Au total, 142 haplotypes ont été identifiés parmi 148 isolats de Pch et 49 haplotypes parmi 89 isolats de Pmi. La distance génétique moyenne entre les haplotypes était deux fois plus importante pour Pch que pour Pmi. Ce dernier résultat a été confirmé par des données SNPs (Single Nucleotide Polymorphisms) issus du séquençage GBS (Genotyping by Sequencing) de dix individus de chacune des espèces. Les marqueurs microsatellites ont révélé pour les deux espèces une différenciation significative entre les populations d'Aquitaine et des Charentes (Ouest) et celles du Languedoc-Roussillon (Sud). Les valeurs de l'index d'association (Ia) entre marqueurs microsatellites sont compatibles avec une intervention exclusive de la multiplication asexuée dans les populations du Sud des deux champignons. En revanche, dans les populations de l'Ouest, l'hypothèse d'une intervention de la recombinaison ne peut pas être rejetée pour Pmi et les valeurs de Ia pour Pch sont beaucoup plus faibles que dans le Sud. Pour chacune des espèces, un panel de 30 haplotypes a été sélectionné. L'agressivité de ces individus sera déterminée en conditions contrôlées et ils seront séquencés afin de détecter par génétique d'association les régions du génome de chaque espèce impliquées dans les différences d'agressivité.

Remerciements: Ce travail est soutenu par le Plan National Dépérissement du Vignoble (<https://www.plan-deperissement-vigne.fr>) de janvier 2018 à décembre 2020.

Traits d'histoire de vie et adaptation des *Botryosphaeriaceae spp* dans le vignoble français : agressivité, sensibilité aux fongicides, et mycovirus

Marie-France Corio-Costet¹, Aurélia Nivault¹, Armelle Marais², Anthony Bellée¹ et Gwenaëlle Comont¹

¹INRA, UMR Santé et Agroécologie du Vignoble (1065), ISVV, Labex Cote, CS, 33882 Villenave d'Ornon, France

²INRA, UMR Biologie du Fruit et Pathologie, Virologie, 33883 Villenave d'Ornon, France

Contact : marie-france.corio-costet@inra.fr

Les *Botryosphaeriaceae* en tant qu'agents pathogènes impliqués dans les maladies de dépérissement présentent une grande diversité d'espèces. À partir des 13 espèces identifiées (*B. dothidea*, *D. intermedia*, *D. mutila*, *D. pinea*, *D. rosulata*, *D. seriata*, *L. lignicola*, *L. parva*, *L. pseudotheobromae*, *L. viticola*, *N. luteum*, *N. parvum*, *N. ribis* and *S. viticola*) et de 65 souches, nous avons caractérisé 19 génotypes, pour différents traits d'histoire de vie [1,2]. Ainsi à partir des températures optimales de croissance montrons-nous que certaines espèces, voire souches, sont mieux adaptées aux variations de températures. Pour la première fois, nous révélons que de nombreux mycovirus peuvent être présents dans les différentes espèces et souches [2-4], lesquels pourraient potentiellement agir soit sur l'hypovirulence (diminution de la taille des nécroses), soit sur l'hypervirulence (augmentation de la taille des chancres et/ou nécroses). Au niveau adaptation au stress abiotique, nous montrons que les fongicides utilisés au vignobles exercent une pression de sélection sur ces *Botryosphaeriaceae* pouvant conduire à des phénomènes de pluri-résistance aux fongicides utilisés en viticulture. Les CI₅₀ et les CMI trouvées suggèrent un effet non intentionnel des fongicides sur ces populations [2]. Pour lutter contre ces agents pathogènes, différentes méthodes de lutte sont en cours d'expérimentation, en particulier la stimulation des défenses de plantes au laboratoire et *in natura*, en utilisant des puces Q-RT-PCR haut-débit (Néovigen96) [2,5-7].

- [1] Comont C, V Mayet, Corio-Costet MF (2016) First report of *Lasiodiplodia viticola*, *Spencermartinsia viticola* and *Diplodia intermedia* associated with *Vitis vinifera* decline in French Vineyards. *Plant Disease*, 100 : 2328.
- [2] Nivault A (2017), Diversité et traits d'histoire de vie des Botryosphaeriaceae et évaluation du potentiel de défense de différents cultivars de *Vitis*, thèse Université de Bordeaux 2017.
- [3] Marais A, Nivault A, Faure C, Theil S, Comont C, Candresse T, Corio-Costet MF (2017) Determination of the complete genomic sequence of *Neofusicoccum luteum* mitovirus 1 (NIMV1), a novel mitovirus associated with a phytopathogenic Botryosphaeriaceae. *Arch. Virology*, 162 : 2477-2480.
- [4] Marais A, Nivault A, Faure C, Comont C, Theil S, Candresse T, Corio-Costet MF (2018) Molecular characterization of a novel fusarivirus infecting the plant pathogenic fungus of *Neofusicoccum luteum* *Arch.Virol*, 163 :559-562.
- [5] Bellée A, Comont G, Nivault A, Abou-Mansour E, Coppin C, Dufour MC and MF. Corio-Costet (2017) Life traits of four Botryosphaeriaceae species and molecular responses of different genotypes and cultivar of *Vitis vinifera*. *Plant Pathology*, 66 (5)-763-776.
- [6] Bellée A, Comont G, Nivault A, Guérin L and MF Corio-Costet (2017) Effect of plant defense stimulators or biostimulant on *Botryosphaeriaceae* in planta and in vineyard on grapevine trunk disease. 10th Grapevine trunk world diseases, Reims, 2-6 July 2017.
- [7] Dufour MC, Magnin N, Dumas B, Vergnes S and MF Corio-Costet (2016) High-throughput gene-expression quantification of grapevine defense responses in the field using fluidigm microfluidics dynamic arrays. *BMC genomics*. 17 : 957.

Mécanismes de dégradation non enzymatique du bois et Maladie Du Bois de la Vigne

Sibylle Farine, Mélanie Gellon, Johann Fuchs, Célia Perrin, Romain Pierron, Céline Tarnus et
Christophe Berstch

Laboratoire Vigne, Biotechnologies et Environnement - EA 3991 – UHA, 33 rue de Herrlisheim –
68000 Colmar - France

Contact : sibylle.farine@uha.fr

Les maladies du bois de la vigne (MDB), présentes dans tous les vignobles du monde, regroupent sous un même terme plusieurs maladies. L'Esca, l'Eutypiose et le BDA (Black Dead Arm) sont les maladies ayant l'impact économique le plus important. Les principaux agents fongiques impliqués sont : *Eutypa lata*, *Phaemoniella chlamydospora*, *Phaeoacremonium minimum*, *Fomitiporia mediterranea* et *Botryosphaeria spp.* Ils décomposent le bois de façon complémentaire pour aboutir à l'expression de la maladie.

Le bois est constitué à plus de 90% de cellulose, d'hémicellulose et de lignine. On distingue la pourriture brune de la pourriture blanche selon les substances dégradées : les champignons de la pourriture blanche sont des basidiomycètes dégradant la cellulose, l'hémicellulose et plus particulièrement la lignine alors que les champignons de la pourriture brune sont des ascomycètes ne dégradant que la cellulose et l'hémicellulose. Divers types de pourritures peuvent se trouver en même temps ou successivement sur un même bois. Les mécanismes de dégradation des différents bois ayant des applications industrielles et biotechnologiques ont été les plus étudiés et donc davantage décrits contrairement à la vigne où ces mécanismes sont encore peu ou pas connus. Les champignons de la pourriture brune dégradent les constituants du bois via un processus non enzymatique ainsi qu'un processus enzymatique alors que pour les champignons de la pourriture blanche, seul le processus enzymatique a été démontré à ce jour.

Aucun champignon de la pourriture brune n'ayant été décrit sur la vigne jusqu'à présent, nous avons, dans un premier temps, choisi *Fomitiporia mediterranea* (champignon de la pourriture blanche impliqué dans l'esca) comme champignon d'étude de la dégradation du bois de vigne atteint de MDB afin (i) de vérifier l'existence, de mécanismes de dégradation du bois similaires à ceux décrits sur d'autres essences de bois, (ii) de vérifier si des champignons de la pourriture blanche pourraient également procéder via des mécanismes non enzymatiques.

L'objectif de cette approche est d'une part d'identifier un marqueur d'infection parmi les métabolites impliqués dans ces mécanismes de dégradation du bois, et d'autre part de proposer des agents de biocontrôle capables d'inhiber ces mécanismes.

Etude comparative des activités enzymatiques de dégradation du bois et de métabolisation des stilbènes chez différents *Botryosphaeriaceae*

Clément Labois^{1,2}, Elodie Stempien¹, Mary-Lorène Goddard^{1,2}, Celine Tarnus¹, Christophe Bertsch¹ et Julie Chong¹

¹ Laboratoire Vigne, Biotechnologies et Environnement EA 3991, Université de Haute-Alsace, 33 rue de Herrlisheim, 68008 Colmar, France

² Laboratoire d'Innovation Moléculaire et Applications, UMR CNRS 7042-LIMA, Université de Haute-Alsace/Université de Strasbourg, 3bis, rue Alfred Werner 68093 Mulhouse Cedex, France

Contact : clement.labois@uha.fr

Parmi les maladies du bois, le dépérissement associé aux *Botryosphaeriaceae* est l'une des principales maladies touchant les vignobles de France et du monde. L'absence de traitement efficace rend plus que nécessaire la compréhension des mécanismes de développement des champignons ainsi que des défenses de la vigne. Il a déjà été montré le rôle prépondérant de certaines phytoalexines (stilbènes) dans la régulation des activités fongiques. Malgré tout, les facteurs impliqués dans la propagation de la maladie ne sont pas clairement identifiés. C'est dans ce but que nous avons étudié plusieurs facteurs en lien avec l'agressivité de *Diplodia seriata* et de *Neofusicoccum parvum*. Pour cela, nous avons donc analysé la capacité des champignons à métaboliser les stilbènes et plus particulièrement le resvératrol, la delta-viniférine, le picéide et le picéatannol. Nous avons également porté notre attention sur la capacité enzymatique de ces champignons à dégrader le bois.

Il en ressort des profils bien distincts tant par l'arsenal enzymatique de chacun des champignons que par leur capacité à métaboliser les stilbènes¹.

1. Stempien, E. *et al.* Grapevine Botryosphaeria dieback fungi have specific aggressiveness factor repertory involved in wood decay and stilbene metabolization. *PLOS ONE* **12**, e0188766 (2017).

Le microbiome de plantes adventices au vignoble et la relation avec la flore fongique et bactérienne de la vigne

David Gramaje¹, Carmen Berlanas¹, María del Pilar Martínez Diz², Emilia Diaz Losada², Abdul Samad³, Friederike Trognitz³, Livio Antonielli³, Angela Sessitsch³, Markus Gorfer³ et Stéphane Compant³.

¹ Instituto de Ciencias de la Vid y del Vino (ICVV), Consejo Superior de Investigaciones Científicas, Universidad de la Rioja, Gobierno de La Rioja, Ctra. LO-20 Salida 13, 26007 Logroño, Spain

² Estación de Viticultura e Enología de Galicia - INGACAL. Ponte San Clodio s/n, 32427, Leiro, Ourense, Spain

³AIT Austrian Institute of Technology GmbH, Center for Health & Bioresources, Bioresources Unit, Konrad-Lorenz Strabe 24, 3430 Tulln, Austria

Contact : stephane.compant@ait.ac.at

La vigne interagit avec différents micro-organismes au niveau de la rhizosphère, de l'endosphère et des parties aériennes. Bien que différentes études aient décrit les différents types d'assemblages bactériens et fongiques au niveau des différents organes de la vigne, relativement peu connue est la relation de ces assemblages avec celui de plantes adventices poussant également dans les vignobles. Nous avons étudié ces relations au niveau de l'intérieur des racines et de la rhizosphère de la vigne ainsi que chez les plantes adventices *Lamium amplexicaule* L., *Veronica arvensis* L., *Lepidium draba* L. et *Stellaria media* L. Ceci a été réalisé par des approches cultivables ou non cultivables ainsi que par le biais d'études de génomes et de pangénomes de bactéries. La vigne partage des micro-organismes bactériens avec les plantes adventices, dont certains ont des propriétés de biofertilisants, de biocontrôle ou de bioherbicides. Nous avons par ailleurs étudié la différence et les propriétés génomiques d'agents responsables de la maladie du pied noir, des souches de *Dactylonectria macrodidyma*, isolées de sol de vignoble, de la vigne ou de plantes adventives telles que *Solanum nigrum* L. Les isolats apparaissent similaires d'un point de vue génomique mais contiennent des clusters de gènes impliqués dans la dégradation de carborhydrates, ainsi que des gènes codants des protéines associées à des nécroses, en plus de groupes de gènes codants des métabolites secondaires telles que la fujukurine normalement trouvée chez *Fusarium* spp. Ceci suggère le rôle dans l'adaptation et l'infection de la vigne par ces agents responsables de la maladie du pied noir et démontre de plus la nécessité de prendre en compte non seulement la vigne lors d'études microbiennes mais également l'environnement de la vigne incluant les plantes adventices. Les plantes adventices pouvant être une source d'agents pathogènes pour la vigne ainsi que des réservoirs de micro-organismes ayant des propriétés bénéfiques pouvant être utiles comme agents biofertilisants, de biocontrôle ou bioherbicides.

**Compréhension du mode d'action de l'arsénite
de sodium**

Effet de l'arsénite de sodium sur le cycle biologique des champignons pathogènes impliqués dans les maladies du bois

Philippe Larignon

Institut Français de la Vigne et du Vin, Pôle Rhône-Méditerranée, 7 avenue Cazaux, 30230 Rodilhan

Contact : philippe.larignon@vignevin.com

Les maladies du bois (esca, botryosphaeriose) étaient contrôlées en France par l'utilisation de l'arsénite de sodium. Une compréhension de son mode d'action permettra de trouver un produit de substitution ou un ensemble de moyens simulant son action. Notre objectif était de déterminer son effet sur le cycle biologique de différents agents pathogènes et de leur microflore accompagnatrice. Les expérimentations ont été réalisées dans le vignoble des Costières de Nîmes sur une parcelle de Merlot / SO4 plantée en 1974, conduite en cordon et atteinte par ces maladies (9 % en 2015). Vingt-deux jours après la taille effectuée le 20 janvier 2016, l'arsénite de sodium a été appliquée à la concentration de 1250 g/L par un pulvérisateur sur la partie haute des ceps (bras, coursons, bois) jusqu'à ruissellement. Chaque semaine, trente coursons ont été prélevés au hasard jusqu'au 2 mai. D'autres échantillons (coursons et rameaux) ont aussi été collectés à différents stades phénologiques (inflorescences visibles, floraison, fermeture de la grappe, véraison) pour suivre la colonisation des agents pathogènes dans les rameaux. Les analyses microbiologiques effectuées sur les plantes traitées ou non ont montré que la microflore était modifiée dans les tissus sous-jacents aux plaies de taille et de leurs écorces. *Diplodia seriata*, *Diaporthe* spp. et *Epicoccum* sp. étaient rarement trouvés des écorces et des tissus ligneux de coursons et de rameaux issus de plantes traitées entre la date de traitement et la véraison, contrairement à *Cladosporium* sp. and *Pullularia* sp. qui étaient plus souvent isolés du même matériel. *Phaeomoniella chlamydospora* est moins rencontré dans les tissus ligneux de coursons contrairement au témoin. Cette étude a montré aussi que *D. seriata* était plus souvent isolé des tissus ligneux et des écorces de rameaux malades que de rameaux apparemment sains.

En conclusion, la rarefaction des contaminations des plaies de taille et de leur développement dans les rameaux seraient liés à la réduction des sources d'inoculum due au traitement. Cela suggère que les contaminations annuelles pourraient être responsables de symptômes herbacés.

Spéciation de l'arsenic dans la vigne et son impact sur les populations fongiques (programme CASDAR V1301)

Mary-Lorène Goddard^{1,2}, Anne Boos^{3,4}, Pascale Ronot^{3,4}, Islah El Masoudi^{3,4}, Christophe Bertsch², Fontaine Florence⁵, Céline Tarnus^{1,§} et Philippe Larignon⁶

¹ Laboratoire d'Innovation Moléculaire et Applications, Université de Haute-Alsace, Université de Strasbourg, CNRS, LIMA, UMR 7042, 3bis rue Alfred Werner, 68093 Mulhouse cedex, France

² Laboratoire Vigne, Biotechnologies et Environnement, LVBE, EA3991, 33 rue de Herrlisheim, 68008 Colmar Cedex, France.

³ Université de Strasbourg, IPHC, 25 rue Becquerel, 67087 Strasbourg, France

⁴ CNRS, UMR7178, 67087 Strasbourg, France

⁵ SFR Condorcet, URCA, RIBP EA 4707, BP 1039, 51687 Reims Cedex 2, France.

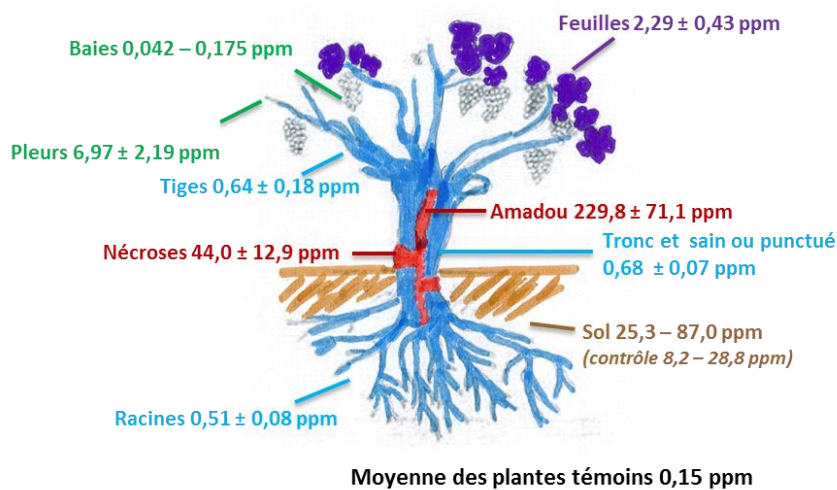
⁶ IFV Pôle Rhône-Méditerranée, 7 avenue Cazeaux, 30230 Rodilhan, France.

Email: mary-lorene.goddard@uha.fr

L'arsénite de sodium a été utilisé durant des décennies pour traiter les vignes grapevine contre diverses pathogènes et a prouvé en particulier son efficacité envers les champignons responsables des maladies du bois. L'utilisation de ce fongicide a été interdite dans les années 2000 sans aucune solution de substitution pour les viticulteurs. A travers le programme CASDAR V1301 (2013-2016), nous nous sommes intéressés au mode d'action de l'arsénite de sodium mode au vignoble (impact sur la microflore et sur la physiologie de la vigne afin de comprendre son efficacité et trouver un substitut respectueux de l'homme et de l'environnement.

Nous avons réalisé une série d'expérimentations au vignoble durant deux années sur trois cépages (Chardonnay, Gewurtztraminer et Merlot) dans trois région de France. Nous avons réalisé des analyses transcriptomique, metabolomique, morphologique and microbiologique dans différentes parties de la plante après un traitement à l'arsénite de sodium.

Dans cette partie du travail, nous détaillerons la distribution de l'arsenic ainsi que des différentes formes présentes dans la plante et nous discuterons de la corrélation entre les teneurs en arsenic et les populations fongiques.



Teneurs moyennes en arsenic dans les vignes traitées à l'arsénite de sodium.

Impact de l'arsénite de sodium sur les communautés microbiennes

Emilie Bruez^{1,2}, Philippe Larignon³, Marc-Henri Lebrun⁴, Christophe Bertsch⁵, Patrice Rey²
et Florence Fontaine⁶

¹SAVE, INRA, Institut National de Recherche Agronomique, BSA, ISVV, 33882, Villenave d'Ornon, France

² Université de Bordeaux, Bordeaux Sciences Agro, UMR1065 SAVE, 33140 Villenave d'Ornon, France

³ IFV Pôle Rhône-Méditerranée, 7 avenue Cazeaux, 30230 Rodilhan, France

⁴ INRA, AgroParisTech, UMR 1290 Biologie et gestion des risques en agriculture (BIOGER), Campus AgroParisTech, F-78850, Thiverval-Grignon, France

⁵ Université de Haute-Alsace, Biopole, 68000 Colmar, France

⁶ SFR Condorcet FR CNRS 3417, URCA, RIBP EA 4707, BP 1039, 51687 Reims Cedex 2, France

Contacts : emilie.bruez@gmail.com

Avant son arrêt dans les années 2000, l'arsénite de sodium a été utilisé dans beaucoup de vignobles européens pour contrôler l'esca/BDA. Bien que ce fongicide ait été décrit comme très efficace contre les maladies, son mode d'action est inconnu tant sur la plante que sur les microorganismes qui colonisent les tissus ligneux. La présente étude a été de mettre en place une expérimentation pour voir l'effet de l'arsénite sur le microbiome du bois. Trois cépages ont été étudiés : le gewurztraminer en Alsace, le chardonnay en Champagne et le merlot en Languedoc. La moitié des plants a été traitée par l'arsénite en 2014 et 2015, puis les plants ont été arrachés. La microflore fongique et bactérienne de différents tissus du bois (non nécrosé, liseré, amadou et nécrose sectorielle) a été étudiée par la technique d'empreinte moléculaire SSCP (Single Strand Conformation Polymorphism) et la technique de Next Generation Sequencing appelée Illumina. Les résultats ont montré que pour les communautés bactériennes il n'y avait de différences significatives entre les différents types de tissus et les plants traités ou non. Par contre des différences étaient notables entre les trois cépages. Pour les communautés fongiques, il n'y avait pas de différences entre les régions. Mais les communautés diffèrent entre les différents tissus, notamment pour l'amadou qui est très différent des autres tissus. Dans ce tissu très nécrosé qu'est l'amadou, des différences sont très présentes entre les plants traités à l'arsénite de ceux qui ne le sont pas. En effet pour les plants non traités, dans tous les tissus étudiés, c'est l'espèce *Fomitiporia mediterranea* (impliqué dans l'esca) qui est la plus abondante. Pour les mêmes tissus, mais des plants traités des trois régions, d'autres champignons y sont majoritaires. Ce qui indique que l'arsénite de sodium a un effet sur les champignons pathogènes. Pour confirmer l'hypothèse, des souches ont été isolées du bois de ces plants et ont été testées *in vitro* avec l'arsénite de sodium. La CI50 de *Fomitiporia mediterranea* est de 0.43 mg/L tandis que pour *Trichoderma* sp. et *Penicillium* sp., les CI50 sont >28 mg/L. Cette étude montre que l'arsénite a un effet sur les communautés fongiques et en particulier sur certaines espèces, qui sont impliquées dans l'esca. Les espèces potentiellement protectrices semblent plus se développer lorsque les plants sont traités. Quant aux communautés bactériennes, elles semblent plutôt cépage-dépendantes.

Principaux effets de l'arsénite de sodium sur la physiologie de la vigne

Julie Vallet¹, Guillaume Robert-Siegwald², Christelle Guillier³, Marielle Adrian³, Sophie Trouvelot³, Lucile Jacquens³, Aurélie Songy¹, Christophe Clément¹, Philippe Larignon⁴, Marc-Henri Lebrun² et Florence Fontaine¹

¹SFR Condorcet, URCA, RIBP EA 4707, Résistance Induite et Bioprotection des Plantes, BP 1039, 51687 Reims Cedex 2, France

²UMR 1290 BIOGER, INRA AgroParisTech, Ave. L. Bretignières, 78850 Thiverval Grignon, France.

³Agroécologie, AgroSup Dijon, CNRS, INRA, Univ. Bourgogne Franche-Comté, INRA, 17 rue Sully, BP 86510, 21000 Dijon, France

⁴7IFV Pôle Rhône-Méditerranée, Domaine de Donadille, 30230 Rodilhan, France.

Contact : florence.fontaine@univ-reims.fr

Dans le cadre du projet CASDAR V1301, l'impact d'un traitement à l'arsénite de sodium sur la physiologie de la vigne a été étudié chez le Chardonnay. Deux approches complémentaires, transcriptomique et métabolomique, ont été réalisées sur différents organes (tiges herbacées et tronc en distinguant le bois sain et la zone d'interaction bois sain / bois altéré) de ceps non traités sans symptômes foliaires (témoins), non traités avec symptômes foliaires et traités (n'exprimant donc plus les symptômes et qualifiés de « guéris »). Les échantillons ont été prélevés 6 mois après le traitement (avant vendanges). Parmi les principaux résultats, l'analyse transcriptomique montre que les tiges herbacées présentent des différences d'expression des gènes plus importantes que le bois. Ainsi, les ceps témoins et malades ont des profils d'expression spécifiques et le traitement arsénite conduit lui aussi à un profil d'expression particulier. Parmi ces gènes, nous avons pu identifier un groupe ayant une réponse de type « stigmate de l'infection », car ils sont différentiellement exprimés chez les ceps malades par rapport aux ceps témoins et de façon similaire chez les ceps malades et les ceps « guéris » par le traitement arsénite. Un autre groupe de gènes présente une réponse de type « guérison », car ils sont différentiellement exprimés chez les ceps malades par rapport aux ceps témoins, et avec le même profil d'expression chez les ceps témoins et les ceps ayant été traités à l'arsénite. Ces expériences montrent que l'infection du bois de la vigne a un impact important sur la physiologie des parties aériennes et qu'il est ainsi possible d'identifier des gènes marqueurs de l'infection au niveau de la tige herbacée. De plus, le traitement à l'arsénite a un effet important sur le transcriptome de la vigne et certains gènes pourraient être considérés comme des marqueurs de la « guérison » de la vigne. En complément, l'analyse métabolomique nous a permis de mettre en évidence des signatures métaboliques spécifiques du traitement arsénite tant au niveau des tiges herbacées que des zones ligneuses (zones d'interaction bois sain altéré). Le traitement arsénite impacte donc aussi le métabolome de la vigne et de potentiels métabolites marqueurs de « guérison » sont en cours d'identification. La détermination d'indicateurs de « guérison », gènes et ou métabolites, permettrait de tester plus facilement l'efficacité de futures stratégies de protection contre l'esca. Enfin l'impact du traitement arsénite s'est également confirmé à l'échelle cellulaire (histologie) où des réponses structurales et défensives sont encore observées, 7 mois post-traitement, dans les différents compartiments de la plante.

Impact de l'arsénite de sodium sur les *Botryosphaeriaceae*

Mary-Lorène Goddard^{1,2}, Andréa Golfier^{1,2}, Florence Ledig^{1,2}, Justine Scheinder³, Christine Schaeffer³, Anne Boos⁴, Pascale Ronot⁴, Mélanie Gellon², Sibylle Farine², Christophe Bertsch², Sébastien Albrecht¹, Céline Tarnus¹

¹ Laboratoire d'Innovation Moléculaire et Applications, UMR CNRS 7042-LIMA, Université de Haute-Alsace/Université de Strasbourg, 3bis, rue Alfred Werner 68093 Mulhouse Cedex, France

² Laboratoire Vigne, Biotechnologies et Environnement, EA 3991, Université de Haute-Alsace, 33, rue de Herrlisheim 68008 Colmar, France

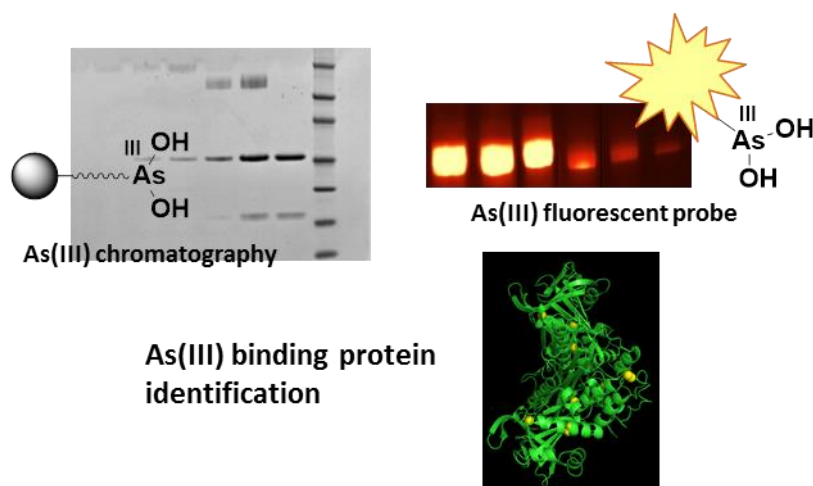
³ Laboratoire de Spectrométrie de Masse BioOrganique (LSMBO), IPHC, Université de Strasbourg, CNRS, UMR7178, 25 Rue Becquerel, 67087 Strasbourg, France

⁴ Laboratoire de Reconnaissance et Procédés de Séparation Moléculaire, IPHC, Université de Strasbourg, CNRS, UMR7178, 25 rue Becquerel, 67087 Strasbourg, France

Contact : mary-lorene.goddard@uha.fr

L'arsénite de sodium a été utilisé durant des décennies pour traiter la vigne vis-à-vis de différents pathogènes et il montrait une efficacité particulière envers les champignons responsables des maladies du bois. Ce fongicide a été interdit en France en 2001, sans solution de remplacement pour les viticulteurs. La compréhension de son mode d'action nous permettrait d'y pallier. Aussi, nous avons entrepris d'identifier (i) les protéines se liant à l'arsénite dont l'activité seraient modifiée et (ii) les voies métaboliques impactées par sa présence. Pour se faire, nous avons développé d'une part des outils spécifiques à base d'arsenic (III) afin de réaliser les détections par chromatographie d'affinité et par fluorescence. D'autre part, nous avons mis en place des expériences de protéomique et métabolomique différentielles.

Ces outils ont été testés dans un premier temps pour l'étude de *Neofusicoccum parvum*, un champignon responsable du Botryosphaeria dieback. Nous présenterons les résultats obtenus vis-à-vis des métabolites et protéines extracellulaires produits par ce champignon.



Mots clés : *Neofusicoccum parvum*; arsénite de sodium, sonde fluorescente, chromatographie d'affinité, protéomique, métabolomique

**Interaction hôte-pathogène – Influence des
facteurs environnementaux**

VITIMAGE : Nouvelles techniques d'imagerie pour le suivi non-destructif de la progression des champignons pathogènes dans le bois

Cédric Moisy¹, Maïda Cardoso², Samuel Merigeaud³, Jean-Luc Verdeil⁴, Julie Perry⁵, Marc Lartaud⁴, Christophe Goze-Bac², Anne-Sophie Spilmont⁶, Philippe Larignon⁷, Jean-Pierre Péros⁸, Romain Fernandez¹ et Loïc Le Cunff¹

¹ IFV - Pole Matériel Végétal - UMT Géno-Vigne, F-34060 Montpellier, France

² CNRS, BioNanoMRI, Laboratoire L2C, UMR 5221 CNRS-Université de Montpellier, F-34095 Montpellier, France

³ Tridilog, F-34980 Saint-Gely du Fesc, France

⁴ CIRAD, UMR AGAP, Plateforme PHIV, F-34398 Montpellier, France

⁵ CIVC, F-51204 Epernay, France

⁶ IFV, Pôle Matériel Végétal, UMT Géno-Vigne, F-30240 Le Grau du Roi, France

⁷ IFV, Pôle Rhône-Méditerranée, F- 30230 Rodilhan, France

⁸ INRA, UMR AGAP, DAAV, UMT Géno-Vigne, F-34060 Montpellier, France

Contact : cedric.moisy@vignevin.com

Le projet VITIMAGE, porté par l'IFV et financé par le Plan National Dépérissement du Vignoble, vise à apporter des connaissances et à développer des outils d'imagerie non destructifs utilisables par la filière viticole. Ces techniques sont encore sous-utilisées chez la vigne alors qu'elles permettent d'étudier les interactions plante/pathogène complexes, comme celles des maladies du bois.

Le projet VITIMAGE s'appuie sur les données de premières expérimentations obtenues au sein de l'UMT Geno-Vigne® de Montpellier sur le suivi de champignons pathogènes dans le bois de vigne. Ces premières analyses encourageantes ont été générées en utilisant deux approches : l'imagerie par micro-tomographie rayon X et l'imagerie par résonance magnétique nucléaire (IRM). Dans ce projet, nous proposons de continuer ces expérimentations mais aussi de tester et d'associer d'autres techniques d'imagerie non destructives pour caractériser finement les interactions hôte/pathogènes et tenter d'identifier de nouvelles signatures du développement des maladies. Cette démarche permet une évaluation dans du bois vivant et les premiers résultats montrent que l'imagerie non-destructive offre des outils appropriés pour le suivi de l'impact des pathogènes sur les tissus de la plante. Elle sera utilisée pour comparer le développement des principaux champignons pathogènes pionniers des maladies du bois, les réactions des cépages réputés « sensibles » et « tolérants », ainsi que des molécules de lutte.

LIEN UTILE :

<https://www.plan-deperissement-vigne.fr/travaux-de-recherche/programmes-de-recherche/vitimage>

Analyse métabolomique de l'infection de *Vitis vinifera* subsp. *sylvestris* par *Neofusicoccum parvum*, un champignon associé aux maladies du bois de la vigne

Clément Labois^{1,2}, Mary-Lorène Goddard^{1,2}, Hélène Laloue¹, Peter Nick³, Celine Tarnus¹,
Christophe Bertsch¹, Julie Chong¹

¹ Laboratoire Vigne, Biotechnologies et Environnement EA 3991, Université de Haute-Alsace, 33 rue de Herrlisheim, 68008 Colmar, France

² Laboratoire d'Innovation Moléculaire et Applications UMR CNRS 7042-LIMA, Université de Haute-Alsace/Université de Strasbourg, 3bis rue Alfred Werner, 68093 Mulhouse Cedex, France

³ Botanical Institute, Molecular Cell Biology, Karlsruhe Institute of Technology, Karlsruhe, Germany

Contact : clement.labois@uha.fr

Ces dernières années, les vignobles de France et du monde sont confrontés à la recrudescence des maladies du bois de la vigne. Le dépérissement associé aux champignons appartenant à la famille des *Botryosphaeriaceae* est l'une des principales maladies observées au sein des vignobles¹. A ce jour, aucun traitement efficace n'existe pour limiter la progression de la maladie provoquant des nécroses du bois et *in fine* la mort du pied. De plus, il existe peu d'études sur le suivi des modifications métaboliques de la vigne lors de l'infection par ces champignons. Par ailleurs, il a été montré que la vigne sauvage *Vitis vinifera* subsp *sylvestris*, considérée comme l'ancêtre de la vigne cultivée *Vitis vinifera* subsp *vinifera* serait moins sensible à l'infection par des *Botryosphaeriaceae*.² C'est dans ce contexte que nous avons réalisé des analyses ciblées du métabolome afin de quantifier par GC-MS les métabolites primaires. Des analyses non ciblées des métabolites secondaires par LC- MS ont également été réalisées.

Nous avons pu mettre en exergue des marqueurs de l'infection par *Neofusicoccum parvum* ainsi que des profils métaboliques distincts entre les sous-espèces *vinifera* et *sylvestris*, en lien avec leur degré de résistance au pathogène.

Décrypter les bases moléculaires et génétiques de la tolérance de la vigne aux maladies du bois.

Jean-Pierre Péros¹, Luc Bidel¹, Amandine Launay¹, Gilles Berger¹, Yves Bertrand¹,
Gwenaëlle Comont², Anne Clément-Vidal³, Jean-Luc Verdeil³, Cécile Marchal⁴, Cédric
Moisy⁵, Loïc Le Cunff⁵, Marc-Henri Lebrun⁶ et Marie-France Corio-Costet²

¹ AGAP, Université de Montpellier, CIRAD, INRA, Montpellier SupAgro, Montpellier, France

² SAVE, INRA, Bordeaux, France

³ CIRAD, UMR AGAP, Montpellier, France

⁴ INRA, CRB Vigne Vassal-Montpellier, Marseillan, France

⁵ IFV, Pôle Matériel Végétal, Montpellier, France ;

⁶ UMR BIOGER, CNRS-INRA, Versailles, France

Contact : jean-pierre.peros@inra.fr

L'incidence de l'expression des symptômes associés aux maladies du bois (Eutypiose, Esca et Black Dead Arm) varie selon les cépages mais les bases moléculaires et génétiques de ces différences sont peu connues. Le programme TOLEDE du Plan National de Dépérissement du Vignoble vise à explorer cette question en appliquant différentes approches à de larges gammes de cépages (majoritaires en France + un panel diversifié de 93 cultivars du compartiment génétique cuve-ouest) et d'isolats de quatre champignons pionniers impliqués dans la dégradation du bois (*Eutypa lata*, *Phaeoconiella chlamydospora*, *Phaeacremonium minimum*, *Neofusicoccum parvum*). Le projet comprend une analyse des différences de tolérance entre les cépages (Tâche 1) et de l'agressivité des champignons (Tâche 2) avec ou sans hypothèses a priori sur la nature des composantes impliquées. Dans la Tâche 1, nous comparons la composition biochimique du bois, la taille des vaisseaux et le profil d'expression de 96 gènes de défense. Par ailleurs, avec l'objectif de détecter les régions du génome de la vigne impliquées dans la tolérance, nous étudions la ségrégation de l'expression des symptômes de dépérissement dans des populations biparentales au vignoble et menons des études de génétique d'association sur un large panel de cultivars inoculés en conditions contrôlées. Pour la Tâche 2 nous comparons des isolats d'agressivités différentes pour la production d'enzymes dégradant les parois et les composés phénoliques ainsi que pour la production de composés toxiques déjà décrits. Nous recherchons également de nouveaux composés toxiques (glycoprotéines) et menons des études de génétique d'association sur des panels d'isolats de chaque espèce. Les résultats des Tâches 1 et 2 seront confrontés afin d'identifier les principales composantes de la tolérance et de l'agressivité. Les marqueurs génétiques ou biochimiques de la tolérance seront appliqués dans la Tâche 3 à la sélection des cépages ou comme indicateurs pour mesurer l'effet de pratiques agronomiques sur la tolérance. Les marqueurs de l'agressivité pourront servir quant à eux à la détection et au suivi des ceps malades au vignoble.

Remerciements: Ce travail est soutenu par le Plan National Dépérissement du Vignoble (<https://www.plan-deperissement-vigne.fr>) de janvier 2018 à décembre 2020.

Expression clone-dépendante de l'Esca chez la vigne

Florian Moret¹, Christelle Lemaître-Guillier¹, Claire Grosjean², Gilles Clément³, Christian Coelho⁴, Lucile Jacquens¹, Jonathan Negrel¹, Guillaume Morvan⁵, Grégory Mouille³, Sophie Trouvelot¹, Florence Fontaine⁶ et Marielle Adrian¹

¹ Agroécologie, AgroSup Dijon, CNRS, INRA, Univ. Bourgogne, Univ. Bourgogne Franche-Comté, F-21000 Dijon, France

² Chambre Régionale d'Agriculture de Bourgogne Franche-Comté, 21110 Bretenière, France. ³ Institut Jean-Pierre Bourgin, INRA, AgroParisTech, CNRS, Université Paris-Saclay, 78000 Versailles, France

⁴ UMR PAM Université de Bourgogne, AgroSup Dijon, Institut Universitaire de la Vigne et du Vin Jules Guyot, 21000 Dijon, France

⁵ Chambre d'Agriculture de l'Yonne, 89000 Auxerre, France

⁶ SFR Condorcet FR CNRS 3417, Université de Reims Champagne-Ardenne, RIBP EA 4707, 51687 Reims Cedex 2, France

Contacts : christelle.guillier@inra.fr, claire.grosjean@bfc.chambagri.fr, florian.moret@inra.fr

L'incidence des maladies du bois de la vigne (MDB) augmente graduellement au sein des vignobles, causant d'importantes pertes économiques. Le coût mondial du remplacement de vignes malades est estimé à plus d'1,5 milliards de dollars par an [1]. En France, presque 13% du vignoble est affecté [2]. Plusieurs facteurs pourraient influencer la sensibilité aux MDB, notamment le climat, l'âge de la vigne, la fertilisation du sol, le porte-greffe ainsi que le cépage [3]. Actuellement, aucun cépage tolérant aux MDB n'a pu être identifié et le niveau de l'expression des MDB pour un cépage donné peut varier en fonction de la région et d'une année à l'autre [3], et probablement selon notre hypothèse en fonction du clone. Dans ce contexte, notre objectif a été de déterminer si l'expression de l'Esca, une des MDB les plus répandues, était clone-dépendante.

Deux clones (76 et 95) du cépage Chardonnay plantés dans la même parcelle ont été comparés selon leurs traits développementaux et physiologiques, leur métabolome, et l'expression foliaire des symptômes d'Esca. Les paramètres agronomiques des vignes furent mesurés durant l'été 2015, et les analyses du métabolome ont été réalisées sur des échantillons de feuilles, dénuées de symptômes foliaires, prélevées sur des vignes asymptomatiques en tant que contrôle (C), et sur des rameaux symptomatiques (D+) et asymptomatiques (D-) de vignes exprimant l'Esca. Les données de GC-MS montrent que l'expression des symptômes d'Esca induit des changements dans le métabolome des feuilles. Certains métabolites présentaient un différentiel d'accumulation entre les feuilles C et D+ au sein de chaque clone. De plus, une différence de profil métabolique entre les feuilles C et D- n'a été observée que pour le clone 95. Enfin, certains métabolites sont inversement accumulés chez les 2 clones pour les échantillons de feuilles D+, avec des quantités plus faibles que chez le contrôle pour le clone 76 et plus élevées pour le clone 95. Il s'agit notamment du kaempferol, kaempferol-3-O-glucoside, gentiobiose et quercétine. La complexité de ces résultats met en avant la difficulté de détecter, chez le Chardonnay, une empreinte métabolique commune aux 2 clones testés associée à l'expression de l'Esca. Enfin, une analyse par fluorescence 3D a également permis de discriminer les échantillons D+ de chaque clone (et de leur contrôle), montrant ainsi le potentiel de cette méthodologie pour étudier l'impact de l'esca sur le métabolome foliaire. Ainsi, cette étude montre que des clones d'un même cépage peuvent répondre, d'un point de vue métabolique, de façon différente à une atteinte d'Esca. Elle sera prochainement publiée dans la revue *Frontiers in Plant Science*.

Remerciements : Le projet a été financé par la Région Bourgogne-Franche-Comté, le Bureau Interprofessionnel des Vins de Bourgogne et l'Union Européenne (programme Feder).

Bibliographie : [1] Hofstetter et al. *Fungal Divers.* 2012; [2] Bruez et al. *Phytopathol. Mediterr.* 2013; [3] Surico et al. *Phytopathol. Mediterr.* 2006

Rôle des bactéries dans la dégradation du bois de la vigne : Interactions bactéries/*Fomitiporia mediterranea*

Rana Haidar^{1,2}, Amira Yacoub^{1,2}, Antoine Pinard^{1,2}, Jessica Vallance^{2,1} et Patrice Rey^{2,1}

¹ INRA, ISVV, UMR1065 Santé et Agroécologie du Vignoble (SAVE), F-33140 Villenave d'Ornon, France

² Université de Bordeaux, ISVV, UMR1065 SAVE, Bordeaux Sciences Agro, F-33140 Villenave d'Ornon, France

Contact : rana.haidar@inra.fr

De récentes études réalisées à l'UMR SAVE ont montré que le microbiote colonisant les tissus ligneux de *Vitis vinifera* était composé de champignons impliqués dans la formation de nécroses typiques des maladies du bois de la vigne (e.g. Esca). Ces champignons sont présents dans les vignobles mondiaux, aussi bien chez les ceps malades que sains. Ce microbiote est aussi composé de bactéries dont les fonctions sont relativement méconnues et dont les interactions (e.g. antagonisme, synergie, effet additif) avec les champignons pathogènes (e.g. *Fomitiporia mediterranea*), nécessitent d'être étudiées afin de comprendre le déroulement exact du processus de dégradation du bois. Les bactéries sont en effet décrites dans la littérature comme étant impliquées dans les premières étapes de déstructuration des polymères du bois mais elles ne pourraient pas former à elles seules des nécroses. Ce phénomène qui a été décrit chez les arbres n'a cependant jamais été étudié chez la vigne. Dans ce contexte, une étude préliminaire sur l'impact des interactions bactéries-champignons sur la dégradation du bois chez *V. vinifera* a été initiée. Dans un premier temps, 237 souches bactériennes ont été isolées à partir de différents tissus du bois des ceps Esca-symptomatiques, âgés de 12 ans, du cultivar Sauvignon blanc. Afin de sélectionner des bactéries qui développeraient une interaction synergique avec *F. mediterranea*, le principal champignon responsable de la pourriture blanche (ou amadou, une nécrose typique de l'Esca), 59 souches bactériennes représentant des groupes génétiques différents ont été sélectionnées. La capacité de ces souches à dégrader les principaux composés du bois (cellulose, hémicellulose et lignine) ainsi que leur capacité à inhiber la croissance mycélienne de *F. mediterranea* a été étudiée. Suite à ce criblage, 3 souches bactériennes dégradatrices de la cellulose et de l'hémicellulose et qui n'inhibaient pas le développement de *F. mediterranea in vitro*, ont été sélectionnées. Les premiers résultats des expérimentations réalisées en microcosme ont révélés que la co-culture de *F. mediterranea* avec 2 souches bactériennes : *Chryseobacterium* sp. et *Paenibacillus* sp., a abouti à une dégradation plus importante des composés du bois par rapport à la dégradation réalisée par le champignon seul, ou les bactéries seules, démontrant pour la première fois des interactions bactéries-champignons synergiques dans le bois de la vigne.

Projet GTD free : Etude de l'impact d'un stress température sous deux régimes hydriques sur la physiologie de la vigne en lien avec l'agressivité des Botryosphaeriaceés

Aurélié Songy, A.¹, Philippe Larignon², Jean-François Guise¹ ; Olivier Yobregat³ Catia Pinto¹, Vincenzo Mondello¹, Christophe Clément¹, Cindy Coppin¹ et Florence Fontaine¹

¹ Université de Reims Champagne-Ardenne, Unité Résistance Induite et Bioprotection des Plantes EA 4707, Bât.18, BP 13039, 51687 Reims cedex 2, France.

² Institut Français de la Vigne et du Vin, Pôle Rhône-Méditerranée, 7 avenue Cazeaux, 30230 Rodilhan, France.

³ Institut Français de la Vigne et du Vin, Pôle Sud Ouest, Vinnopôle – Brames Aigues, BP 22, 81310 Lisle sur Tarn, France.

Contact : aurelie.songy@univ-reims.fr

Les dépérissements à *Botryosphaeria* font partie des maladies du bois les plus étendues et les plus préoccupantes en Europe, et plus particulièrement en France. Ces maladies se traduisent par des symptômes dans les organes pérennes de la vigne (nécroses) et des symptômes externes sur les feuilles et les baies dont l'incidence et la virulence varient d'année en année. Les agents pathogènes de ces dépérissements sont de la famille des Botryosphaeriaceae dont *Neofusicoccum parvum* et *Diplodia seriata* sont fréquemment isolés en France. Il a été montré que les facteurs climatiques ont une influence sur l'expression des symptômes, ainsi que sur l'agressivité des pathogènes. De plus, des stress abiotiques, tel qu'un stress chaud, peuvent modifier le caractère pathogénique de certains Botryosphaeriaceés. Dans ce contexte, notre étude porte sur la caractérisation de l'influence de deux facteurs environnementaux, à savoir la température et le régime hydrique du sol, sur l'interaction vigne / *D. seriata*, *N. parvum*. Des boutures herbacées d'Ugni blanc et de Chardonnay, respectivement plus ou moins sensibles aux maladies du bois, ont été infectées par *D. seriata* et *N. parvum*, sous deux régimes hydriques du sol, et soumises à un stress thermique (3 jours à 35°C) ou non. La taille des nécroses et des chancre induits, ainsi que des paramètres liés à la croissance et à la photosynthèse des plantes, ont été mesurés. Des analyses transcriptomique et métabolomique ont été réalisées afin d'étudier la réponse physiologique globale de la plante.

Nos premiers résultats montrent des modifications de la photosynthèse en fonction des différents stress abiotiques testés pour les deux cépages. La combinaison des stress hydrique et thermique semble avoir un impact plus important que les stress abiotiques seuls. Elle provoque notamment une réduction de croissance chez l'Ugni blanc, tandis que celle du Chardonnay n'est pas affectée. Côté pathogène, *N. parvum* induit des nécroses et des chancre plus grands que *D. seriata* pour les deux cépages. Son agressivité pourrait être augmentée suite à un stress thermique chez le Chardonnay. Chez l'Ugni blanc, la réponse à l'infection tend à différer en fonction des différents stress abiotiques appliqués, comme le montre l'analyse transcriptomique. Ces premiers effets constatés seront bientôt complétés par les résultats de l'analyse métabolomique.

Cette recherche fait partie intégrante du projet GTD free supporté à la fois par la maison Hennessy & Jas et une ANR Chaire Industrielle. Les auteurs remercient le Comité Champagne (CIVC) et le Bureau National Interprofessionnel du Cognac (BNIC) pour avoir mis à disposition les données climatologiques et épidémiologiques de la Champagne et de Cognac ayant servies à déterminer les modalités du stress thermique appliqué au cours de cette expérimentation.

Ecophysiological impacts of esca, a devastating grapevine trunk disease, on *Vitis vinifera* L.

Loris Ouadi¹, Emilie Bruez^{1,2,4}, Sylvie Bastien^{1,2}, Jessica Vallance^{1,2}, Pascal Lecomte¹, Jean-Christophe Domec² et Patrice Rey^{1,3}

¹ INRA, ISVV, UMR1065 Santé et Agroécologie du Vignoble (SAVE), F-33140, Villenave d'Ornon, France

² Bordeaux Sciences Agro, INRA UMR1391 Interactions Sol Plante Atmosphère (ISPA), F-33140, Villenave d'Ornon, France

³ Université de Bordeaux, ISVV, UMR1065 Santé et Agroécologie du Vignoble (SAVE), Bordeaux Sciences Agro, F-33140, Villenave d'Ornon, France

⁴ Université de Bordeaux, ISVV, UR Œnologie, F-33140 Villenave d'Ornon, France

Contact : lo.ouadi@gmail.com

Esca is a widely reported Grapevine Trunk Diseases (GTDs) caused by a broad range of taxonomically unrelated fungal pathogens that colonize and damage the conductive vascular tissues, thus interfering with the vine physiology and potentially leading to plant death. However, the quantification of the effect of esca on leaf and whole-plant water transport disruption remains unknown. Here a detailed analysis of xylem-related physiological parameters in grapevines that expressed esca-foliar symptoms was carried out. The experiments were conducted in a vineyard from the Bordeaux region (France) on 16-year-old vines of the cultivar Cabernet-Sauvignon (*Vitis vinifera*), which have been monitored for esca-foliar symptoms over a two-year period. During the summer of 2016, heat dissipation sap-flow sensors were installed on 5 grapevines showing esca-foliar symptoms and 5 asymptomatic ones. Over the same period, leaf water potential, stomatal conductance and leaf transpiration were measured. This physiological monitoring showed that sap flow density and whole-plant transpiration of esca-infected vines dropped significantly a week before the first foliar symptoms appeared. When atmospheric water demand was the highest, both parameters were about twice as low in symptomatic vines as in asymptomatic ones, which was paralleled by an increase in root to stem hydraulic resistance in the infested trees. Equally, stomatal conductance and leaf transpiration showed a similar trend, and leaf chemistry and isotopic analyses revealed a decrease in long-term water-use efficiency in esca-infested vines. To highlight a correlation between the evolution of the physiological data and the reduced whole-plant hydraulic capacity, larger amounts of necrotic wood including white rot were found in the trunk and cordon of symptomatic vines than in healthy vines. This study reveals that the use of non-destructive and physiological monitoring methods, as opposed to just visually assessing foliar symptoms, can potentially improve the accuracy of an early detection of esca-infected vines.

**Recherche de marqueurs moléculaires de la tolérance
de la Vigne à *Eutypa lata*.
Compréhension des mécanismes physiologiques impliqués.**

Projet test *Eutypa*

Chloé Cardot^{1,2}, Gaëtan Mappa², Sylvain La Camera², Gérald Ferrari¹ et Pierre Coutos-Thévenot²

¹ Bureau National Interprofessionnel du Cognac Station viticole, 69 rue de Bellefonds - BP 90018 - 16101 Cognac Cedex - France

² Université de Poitiers UMR CNRS 7267 EBI Ecologie et Biologie des Interactions, Equipe “SEVE Sucres & Echanges Végétaux-Environnement”, Batiment Botanique B31, 3 rue Jacques Fort - TSA 51106 - 86073 Poitiers CEDEX 9 - France

Contact : ccardot@bnic.fr

Dans un contexte de sélection variétale de nouveaux cépages résistants aux maladies foliaires, un test d'évaluation de sensibilité à *Eutypa lata*, champignon responsable de l'Eutypiose, a été mis en place. Afin de valider ce test, la sensibilité de 12 cépages est vérifiée en utilisant une méthode d'infection *in vitro*. Elle consiste à mettre en relation un disque foliaire et le mycélium sans contact physique mais en conservant le dialogue moléculaire. Suite à cette infection, des différences d'expressions de gènes de défenses et du métabolisme sont observées ainsi que des variations de réponses physiologiques, telles que la production de stilbènes et les activités invertasiques. Ainsi, des gènes sont validés comme étant marqueurs de la sensibilité et utilisables pour une évaluation sur de nouveaux cépages. De plus, l'étude des réponses physiologiques à l'infection, ont permis d'émettre quelques hypothèses expliquant les différences de sensibilité des cépages.

Etude des paramètres cultureux d'un réseau de parcelles de vigne en lien avec l'expression pluriannuelle d'Esca/BDA en Alsace

Céline Abidon et Solène Malblanc

Institut Français de la Vigne et du Vin, Biopôle – 28 rue de Herrlisheim, 68000 Colmar

Contact : celine.abidon@vignevin.com

Le projet Euréka : Développement de moyens de lutte curatif et préventif contre les maladies du bois. Ce projet vise à répondre aux dépérissements par la mise en place de 6 actions : endothérapie végétale (act.1), sylvestris, double greffage (act.2), évaluation des types de greffages (act.3), rajeunissement (act.4), étude des pratiques culturelles (act.5), mise en place d'une parcelle atelier d'innovation (act.6).

L'action 5 du projet Euréka est pilotée par l'IFV et l'AVA. Ce résumé présente le travail réalisé lors de la première année du projet, par le partenaire IFV.

Principe : croiser les données historiques d'un observatoire des maladies du bois (MDB) avec les pratiques culturelles des parcelles de l'observatoire.

But : à l'aide de la science des statistiques, identifier des paramètres ou des pratiques culturelles ayant un effet sur l'expression des MDB (Esca/BDA).

Données utilisées :

- L'observatoire des MDB : en Alsace, il existe depuis 2003 un observatoire des MDB. 90 parcelles à l'origine, 73 aujourd'hui. Ces parcelles appartiennent à 30 viticulteurs ayant mis à disposition chacun 3 parcelles : Gewurztraminer, Riesling et Auxerrois. Chaque année en septembre, les mêmes 300 ceps, sont observés (Chambre d'Agriculture d'Alsace et l'IFV). On y note l'état de chaque cep selon les catégories suivantes : Esca/BDA partiel, Esca/BDA total, apoplexie, jeune plant, recépé, cep mort, cep absent, cep sain.

- Recensement de données auprès des viticulteurs de l'observatoire : les 30 viticulteurs de l'observatoire ont répondu une enquête par des entretiens semi-directifs et individuels. Ont été recensés lors des entretiens : les indicateurs descriptifs de l'exploitation, les caractéristiques des parcelles (matériel végétal, conditions pédologiques...) et l'ensemble des pratiques culturelles (itinéraires techniques, composantes du rendements, règles de décisions...) de 2003 à 2017.

Analyse statistique : Les données collectées ont ainsi permis d'identifier 57 variables potentiellement explicatives des MDB. Ces variables sont divisées en 2 groupes : pratiques fixes (cépage, environnement de la parcelle) et pratiques culturelles (destination des productions, mode de taille, travaux en vert, gestion des maladies, entretien du sol...). Les pratiques culturelles sont temporelles, on prend en compte l'évolution des techniques de 2003 à 2017. Après avoir réalisé un screening des variables, 27 d'entre elles sont retenues pour les analyses statistiques : 9 variables fixes et 18 variables temporelles.

Les pratiques fixes sont analysées de 2 manières, sur une moyenne de l'expression Esca/BDA (2003-2017) : AFDM et modèle GLM. Ces analyses statistiques permettent de faire une deuxième sélection de variable et de mettre en place un modèle explicatif des MDB. Le modèle GLM permet d'identifier 3 variables significativement corrélées au risque $\alpha = 5\%$. Le modèle sélectionné est celui qui minimise le critère de sélectivité AIC. Les résidus suivent une loi normale et sont homoscedastique.

Résultats et discussion :

Les variables fixes corrélées avec l'expression d'esca/BDA sont :

- le cépage : le Gewurztraminer est le cépage le plus sensible de l'observatoire suivi du Riesling.
- le type de sol : le type de sol influence l'expression des MDB, et notamment les sols argileux, lourds, expriment moins l'esca/BDA. A l'inverse, les sols plus légers comme les sols loessiques sont plus atteints.
- la contrainte hydrique : (calculée à partir des réserves utiles des sols) l'analyse statistique montre que dès qu'il y a une contrainte hydrique, l'expression des maladies est plus élevée.

L'analyse des variables temporelles (pratiques culturales) est encore en cours. Néanmoins, des tests statistiques de comparaison 1 à 1 des variables temporelles avec l'expression des MDB a permis d'identifier des variables pouvant influencer les MDB (Test de Kruskal) : revendication des parcelles, date de récolte, (démontré précédemment par l'étude de Kuntzmann P. et Barbe J, 2011), propreté de la taille, recépage, entretien du sol, entretien du cavaillon, fertilisation, ébourgeonnage, épamprage ou encore la période de taille. Les modalités influentes des variables ne sont, néanmoins pas encore statistiquement identifiées.

Perspectives :

- le travail d'analyse statistique s'adosse au travail du collectif que forment les viticulteurs de l'observatoire
- des notations seront réalisées pour mesurer le stress hydrique des parcelles, la nutrition minérale et azotée mais aussi la vigueur des vignes, le tassement des sols ou encore la longueur du cycle végétatif afin de consolider les résultats statistiques.
- D'autres jeux de données issus d'autres observatoires pourront être étudiés avec la méthode développée ici.
- Le deuxième partenaire de l'action (AVA) va décliner l'étude des pratiques culturales à l'échelle d'une commune (syndicat viticole) notamment pour étudier des variables qui n'ont pas pu l'être ici.
-

Note : Ce travail s'inscrit dans une des actions du projet Euréka, financée de septembre 2017 à février 2021 dans le cadre du Plan National de lutte contre les Dépérissements du Vignoble.

Conduite de la vigne et esca : synthèse de l'Action 2 du programme Casdar-Cniv V1303 (2013-2017)

Pascal Lecomte¹, Barka Diarra¹, Renaud Travadon², Kendra Baumgartner², Patrice Rey³
et Christel Chevrier⁴

avec le concours de : S. Gambier¹, V. Cook¹, E. Bruez^{1,3}, D. Renault^{1,3}, D. P. Lawrence², S. Bastien³, J.P. Roby³, L. Guerin-Dubrana^{3,1}, J. Vallance^{3,1}, P. Malhomme (Terres de Gascogne, CA32), N. Bals (CA34), G. Delorme (CA39), J. Dureuil (CA71), C. Grosjean (CRA Bourgogne), S. Dubuisson, J. Perry et M.L. Panon (Comité Champagne), C. Bertsch (UHA), A. Carbonneau (Supagro), H. Ojeda, M. Heywang, E. Zumstein et J.-L. Escudier (INRA Pech-Rouge), F. Dal (Sicavac), M. Giudici et T. Martignon (Simonit & Sirch).

¹ INRA, ISVV, UMR1065 Santé et Agroécologie du Vignoble (SAVE), F-33140 Villenave d'Ornon

² Department of Plant Pathology, University of California, Davis, CA 95616, USA

³ Université de Bordeaux, ISVV, UMR1065 Save, Bordeaux Sciences Agro, F-33140 Villenave d'Ornon

⁴ CRA Languedoc-Roussillon, Maison des Agriculteurs, Mas de Saporta CS 30012, F-34970 Lattes

Contact : pascal.lecomte@inra.fr

Dans le cadre du programme CASDAR/CNIV V1303, intitulé «Evaluer l'impact de techniques agricoles et des facteurs environnementaux pour prévoir et lutter contre les maladies du bois de la vigne», deux études, l'une descriptive, sous la forme d'une enquête, et l'autre analytique avec des prélèvements de bois et des analyses au laboratoire ont été conduites. L'objectif commun était d'explorer le rôle de la conduite, ou de la taille, sur le développement de l'esca.

Pour la première étude, des dispositifs expérimentaux déjà existants et présentant des modes de conduite ou de taille différents, ont été recherchés ainsi que des couples de parcelles présentant des profils agronomiques comparables [âge identique ou proche, sauf si la plus jeune était plus affectée), mêmes cépages ou cépages de sensibilité équivalente, porte-greffe si possible identique et même environnement. Dans ces parcelles, l'esca était toujours identifiée comme la maladie historique prédominante. Les symptômes imputables à l'esca (et probablement pour partie à d'autres maladies au niveau du bois) ont été notés en suivant la méthode CEB 261 (Grosman et Lecomte, 2016). Les prospections ont été réalisées en Gironde, dans le Gers, le Languedoc, le Jura et la Bourgogne. Au total, 25 parcelles ont été retenues, autorisant la comparaison de 13 couples dont 8 sur la même exploitation, suggérant des pratiques similaires. Parmi eux, 3 étaient issus de dispositifs expérimentaux avec 3 à 5 répétitions, tous localisés en Gironde.

La seconde approche a consisté à comparer par des variables mesurées (taux d'esca, % de surfaces de nécroses internes, diversité et abondance des pathogènes), des ceps conduits en taille minimale depuis l'âge de 4 ans, à des ceps conduits en cordon sur le site INRA de Pech-Rouge. Deux cépages d'un dispositif expérimental ont été utilisés, la Syrah et le Mourvèdre. L'impact de l'esca a été évalué en 2013 et 8 ceps asymptomatiques par système de conduite ont été prélevés en fin d'année. Après photographies des troncs coupés longitudinalement, 4 prélèvements de bois ont été réalisés, au milieu des troncs au cœur du bois ou dans le bois fonctionnel, en haut et en bas des troncs à des fins d'identification microbiologiques ou moléculaires des champignons présents.

Les résultats ont montré que, quelle que soit la démarche, exploratoire ou analytique, la tendance était la même: il y a un effet significatif du mode de conduite et du mode de taille sur le développement de l'esca. La première étude a montré que les formes avec des bras longs (à qualité de taille égale) pouvaient dépérir moins vite que celles avec des bras courts, mais pouvaient exprimer plus souvent ou plus longtemps des symptômes foliaires. La seconde a montré que les nécroses s'étaient développées plus vite chez les ceps taillés en cordon et que ces derniers ont été infectés par des pathogènes différents mais pas forcément plus abondants.

Référence citée : Lecomte P. et J. Grosman, 2016, Méthode CEB 261, Méthode d'essai d'efficacité pratique de préparations phytopharmaceutiques destinées à la lutte contre les maladies du bois de la vigne.

Résultats d'essais en Bourgogne-Franche-Comté

Taille, trichoderma, prophylaxie, densité de plantation

Claire Grosjean

Chambre régionale d'agriculture de Bourgogne - Franche-Comté, 1 rue des coulots, 21 110 Bretenière

Contact : claire.grosjean@bfc.chambagri.fr

Afin de répondre aux préoccupations des vignerons sur les maladies du bois (MDB), la Chambre d'agriculture de Bourgogne-Franche-Comté a mis en place en 2009 un réseau de 100 essais monofactoriels de comparaison de pratiques culturales en Côte d'Or, Yonne et Saône-et-Loire. Un comptage point zéro des maladies du bois a été réalisé avant la mise en place des essais. Ces parcelles sont divisées en 2 modalités de 500 pieds : une modalité témoin et une modalité sur laquelle est testée une pratique. Chaque année des comptages des symptômes des maladies du bois, voire des mesures agronomiques, sont réalisés sur chaque parcelle pour analyser l'impact de la pratique sur ces maladies. Les pratiques testées sont en lien avec la physiologie de la vigne et ses défenses naturelles ; la gestion de l'inoculum, la gestion du potentiel de production et des tests de produits.

Les comptes rendus de ces essais ont progressivement été communiqués au travers de 6 lettres maladies du bois, les derniers résultats portent sur, la taille guyot poussard, les trichodermas, la prophylaxie et la densité de plantation en voici le résumé :

- Essais de comparaison **taille Guyot poussard/Guyot simple** :
 - Sur jeunes vignes (entre 10 et 15ans) > la taille guyot poussard semble présenter un retard d'expression de 2 à 3 ans par rapport à la taille guyot simple (sur parcelle présentant une expression entre 2 et 4 %). Sur les parcelles faiblement expressives, aucune différence n'est encore observée.
 - Sur vieilles vignes > la taille guyot poussard ne semble pas avoir d'intérêt par la difficulté de transformation du type de taille et par la présence de nécroses et plaies de taille déjà existantes.

- Essais de pulvérisation de **trichoderma** sur les plaies de taille :
 - Sur vignes adultes, aucune différence significative n'est détectée entre les pieds traités avec les trichodermas et les pieds témoins.
 - Sur repiquages ou jeunes vignes, l'expression des pieds est encore insuffisante pour conclure, ces essais sont poursuivis.

- Essais sur l'impact du niveau de **prophylaxie** : deux modalités sont testées, la prophylaxie minimale (arrachage uniquement des pieds morts de MDB) et la prophylaxie maximale (arrachage de tous les pieds exprimant le moindre symptôme de MDB)
 - Sur vignes adulte > 8 essais sur 10 ne présentent pas de différence significative ; sur seulement 2 essais, l'expression de la prophylaxie maximale est inférieure à celle de la prophylaxie minimale.
 - Sur jeunes vignes, 4 essais sur 6 sont non significatifs (les 2 autres essais sont à leur 1ère forte expression donc il n'est pas encore possible de conclure)

- Essais sur la **densité de plantation** : une densité à 10 000 pieds/ha est comparé avec une densité à 5 800 pieds/ha, en 2011 après 3 années d'observation, les modalités à forte

densité de plantation sont systématiquement moins expressives comparé à la basse densité. En 2018, des comptages sur ces mêmes parcelles ont confirmé ces résultats.

Les chambres d'agriculture de Bourgogne-Franche-Comté font parties d'un dossier régional sur la déclinaison du plan national dépérissement dans cette région, les résultats d'essais seront maintenant communiquées au travers de la **lettre maladies de dépérissement** dont la première édition va paraître début 2019 et par des matinées techniques au printemps 2019.

Avec le soutien financier du conseil régional de Bourgogne-Franche-Comté et du Bureau Interprofessionnel des Vins de Bourgogne.

Résultats d'essais en Bourgogne-Franche-Comté

Influence du fonctionnement interne du cep sur l'expression des symptômes Esca/BDA

Gaël Delorme

Chambre d'agriculture du Jura, 455 rue du Colonel de Casteljau, 39000 Lons le Saunier

Contact : gael.delorme@jura.chambagri.fr

Contexte de l'étude :

La taille dite "respectueuse" ou Guyot Poussard est en plein essor sur le vignoble jurassien, basée sur le respect des 2 flux de sève principaux et de la limitation des entraves de la sève. Grâce à une approche descriptive nous souhaitons étudier statistiquement l'influence du fonctionnement interne des ceps sur l'expression des symptômes Esca/BDA

Résultats :

- Une première étape 2013-2014, un grand nombre de ceps étaient individuellement étudiés où sur 5 parcelles de savagnin blanc et trousseau noir. Elle a permis de retenir la méthodologie de notation et adoptant une qualification du fonctionnement interne, non destructrice, basée sur une échelle de 0 à 5.

Chaque cep était considéré comme un individu statistique. Confronté à l'expression de l'Esca/BDA, sur ces 2 années les premières corrélations sont apparues mais pas forcément sur l'ensemble des 5 parcelles et toujours avec un coefficient de corrélation assez faible.

- La seconde étape 2015-2016 a permis d'augmenter le nombre de parcelles observées : 25 (de 7 à 36ans) toujours sur ces 2 cépages sensibles ; l'individu statistique est donc la parcelle. Sur 4 années d'expression, malgré que les courbes de tendance ($R^2 \ll 0,7$) montrent que l'on ne peut avoir une bonne prédiction,

L'ANalyse COVariance est réalisée entre 3 variables:

-Variable analysée : taux de symptôme affiné

-Variable explicative : année d'observation°

-Covariable : note globale fonctionnement

Elle donne une **très bonne significativité de la note de fonctionnement (prob: 0,000).**

Conclusions et perspectives :

Clairement, sur ces deux cépages sensibles, une très bonne corrélation est ressortie entre le fonctionnement interne des ceps (ou dysfonctionnements) et la sensibilité à l'Esca/BDA. Les régressions linéaires nous ont montré néanmoins qu'il était difficile de prédire l'impact de la note de fonctionnement interne sur le taux de symptômes de la parcelle. Ce qui est tout à fait cohérent face au nombreux autres facteurs plus au moins connus pouvant influencer la sensibilité à ces maladies (matériel végétal, âge, condition pédologique, conduite de la parcelle,...).

L'expérience acquise dans une telle étude est aujourd'hui, mobilisé au sein du plan national dépérissement du vignoble sur le programme LONGVI "Comprendre et améliorer la longévité du vignoble" et plus particulièrement sur la partie conductivité hydraulique.



Visualiser de l'extérieur ce qui se passe à l'intérieur

Méthodes de lutte

Un nouveau mode de traitement des maladies du bois de la vigne : l'endothérapie végétale ?

Johann Fuchs, A. Fritsch, C. Perrin, Christophe Bertsch, Céline Tarnus Sybille Farine et
Mélanie Benard-Gellon

Laboratoire Vigne, Biotechnologies et Environnement – Université de Haute-Alsace, 33 rue de
Herrlisheim, 68000 Colmar
Contact : johann.fuchs@uha.fr

L'Esca est régulièrement décrite comme l'une des maladies du bois des plus ravageuses. Elle est causée par un complexe de champignons qui s'attaquent aux organes pérennes de la vigne conduisant à la mort du cep. Depuis que l'utilisation de l'arsénite de sodium a été interdite en 2001, cette maladie prend de l'ampleur dans nos vignobles. Aujourd'hui, la situation est telle que la filière viticole n'a aucune solution mise à disposition pour lutter efficacement contre ces maladies et la réglementation exige des pratiques plus respectueuses de l'environnement. Une solution pourrait venir d'une technique alternative : l'endothérapie végétale. Cette technique, autorisée en France depuis 2014, est régulièrement utilisée en culture fruitière dans la lutte contre les agents pathogènes du pommier et de l'avocatier [1,2] mais aussi en zones urbaines [3] et présente de nombreux avantages notamment sur le plan environnemental. En effet, par comparaison à une pulvérisation classique, cette technique permet une réduction des doses de traitements et limite la dérive des produits dans le sol, l'air et l'eau, réduisant ainsi l'impact sur les organismes non ciblés.

Il a récemment été démontré que l'expression des symptômes Esca pouvait diminuer les années suivant un curetage mécanique de l'amadou [4]. La récente étude des mécanismes de l'arsénite de sodium a montré que la molécule est concentrée dans la pourriture blanche après application par pulvérisation [5]. Ces données nous laissent penser que certains champignons impliqués dans l'expression des symptômes de l'Esca pourraient se trouver dans « l'amadou ». De ce fait, nous avons adapté l'endothérapie végétale à la vigne en perçant un trou verticalement dans le tronc afin d'atteindre et de traiter la pourriture blanche en y injectant des molécules fongicides. L'intérêt de cette méthode est de réaliser un « curetage chimique » en ciblant les champignons impliqués dans les MDB et localisés dans le cep lui-même (i.e. *Fomitiporia mediterranea*). Le traitement est ainsi réalisé là où les pathogènes se multiplient, se concentrent et produisent différents types de métabolites toxiques.

Des premiers tests en vignobles réalisés en 2018 ont montré une tendance assez prometteuse puisque les conditions d'expérimentation ont conduit à une réduction de l'expression des symptômes foliaires pouvant aller jusqu'à 50% sur certains cépages et pieds traités en comparaison avec des pieds non traités par cette méthode. Ces tests seront renouvelés et suivis sur plusieurs années afin de voir si cette tendance se confirme.

[1] A. H. Vanwoerkom *et al.*, 2014. Trunk injection: An alternative technique for pesticide delivery in apples, *Crop Prot.*, vol. 65, pp. 173–185.

[2] F. J. Byrne *et al.*, 2012. Evaluation of neonicotinoid, organophosphate and avermectin trunk injections for the management of avocado thrips in California avocado groves, *Pest Manag. Sci.*, vol. 68, no. 5, pp. 811–817.

[3] P. Bourdrez *et al.*, 2014. Micro-injection sur pin, palmier, chêne et marronnier, *Phytoma*, vol. 678, p. 21.

[4] F. Thibault, 2015. Le curetage, *Compte-rendu des 5èmes journées Natl. des Mal. du bois la Vigne*, pp. 55–57.

[5] M.-L. Goddard *et al.*, 2015. L'efficacité de l'arsénite de sodium envers les maladies du bois de la vigne., *Compte-rendu des 5èmes journées Natl. des Mal. du bois la Vigne*.

Maladies du bois : mise au point d'un modèle simplifié en vue de tester de nouveaux moyens de lutte contre les maladies du bois

Florence Fontaine¹, Alessandro Spagnolo¹, Sophie Marhadour², Hanxiang Wu²,
Cécile Marivngt-Mounir² et Jean-François Chollet²

¹ Université de Reims Champagne-Ardenne (URCA), UFR Sciences Exactes et Naturelles, Equipe Résistance Induite et Bioprotection des Plantes EA 4707, Moulin de la Housse, 51687 REIMS CEDEX 2, France

² Université de Poitiers (UP), Faculté des Sciences Fondamentales et Appliquées, Institut de Chimie des Milieux et Matériaux de Poitiers (IC2MP) UMR CNRS 7285, Bâtiment B27, 4 rue Michel Brunet, TSA 51106, 86073 POITIERS CEDEX 9

Contacts : jean.francois.chollet@univ-poitiers.fr, florence.fontaine@univ-reims.fr

Face à l'ampleur des pertes causées par les maladies du bois de la vigne et aux moyens de lutte très limités, notre projet a pour objectif de développer de nouveaux moyens de lutte chimique et/ou biologique à l'aide d'un modèle simplifié en conditions contrôlées.

Contrairement aux herbicides, aucun fongicide phloème-mobile (et donc capable d'être mobile dans la plante après pulvérisation foliaire) n'a jamais été mis au point par l'industrie phytosanitaire. Rappelons que l'objectif que nous recherchons est d'avoir une méthode qui permette de vectoriser une molécule active (fongicide, stimulateur de réactions de défense) pour l'amener au contact des champignons parasites à contrôler. Plusieurs nouveaux conjugués associant dans leur structure un fongicide de la famille des phénylpyrroles (le fenpiclonil, utilisé comme molécule modèle) et un acide aminé ou un sucre ont été synthétisés, tel que SM26 dont l'efficacité sur plante a été testée par application foliaire. En complément, la bactérie *Paraburkholderia paraphytofirmans* a été inoculée au niveau du sol des boutures. Cette bactérie non pathogène colonise l'ensemble des organes de la plante et lui confère *in vivo* un fort niveau de protection contre *Botrytis cinerea*. L'effet protecteur de cette bactérie résulte d'une stimulation des défenses naturelles de la vigne, ce qui en fait un agent potentiellement utilisable contre les maladies du bois. Cette étude a été menée chez le Chardonnay et le Sauvignon et les pathogènes ciblés ont été les Botryosphaeriaceae (*Diplodia seriata*, *Neofusicoccum parvum*). Chez le Chardonnay, une induction de l'expression des gènes de défense lors d'un traitement soit avec SM 26, soit avec *P. phytofirmans* a été observée par rapport aux plantes témoins (non inoculées par le pathogène *N. parvum*). Ces inductions sont également observées de manière beaucoup plus prononcée lors du co-traitement SM 26 + *P. phytofirmans*. En présence de *N. parvum* seul (sans traitement), l'expression de la majorité des gènes est également induite et, comme précédemment, de plus fortes inductions sont ensuite notées lors du co-traitement SM 26 + *P. phytofirmans*. Des réponses différentes ont déjà été observées chez le Sauvignon mais toutefois, la combinaison « profongicide SM 26 + bactérie » semble prometteuse pour les deux cépages.

Effet d'un produit à base d'extraits de plantes et d'oligoéléments véhiculés par un transporteur pour contrôler les maladies du bois

Vincenzo Mondello¹, Gianluca Manfredini², Maresa Novara², Elodie Rebolle³, Romain Dandois³, Lionel Orcel³, Christophe Clément¹ et Florence Fontaine¹

¹ SFR Condorcet FR CNRS 3417, Université de Reims Champagne-Ardenne, Résistance Induite et Bioprotection des Plantes, RIBP EA 4707, BP 1039, Reims, Cedex 2 51687, France.

² NDG Natural Development Group Srl, Via Matteotti 159/C 40013 Castel Maggiore, Italy.

³ NUFARM SAS, 28 Boulevard Camélinat, 92230 Gennevilliers, France

Contact : vincenzo.mondello@univ-reims.fr

Le CA3356 est un produit développé par Natural Development Group en cours de registration en Italie. Il s'agit d'un produit de nouvelle conception qui utilise un transporteur, l'hydroxyapatite, largement présent naturellement dans nos os et dents, et déjà utilisé en recherche médicale. Dans le CA3356, l'hydroxyapatite «biomimétique» (MicroSap®), véhicule du cuivre (50g/L) et du zinc. Le produit a été déjà testé contre le mildiou en conditions contrôlées et a montré une bonne efficacité.

L'objectif de l'étude est d'approfondir les connaissances sur les effets de CA3356 dans l'interaction vigne-MDB au vignoble et plus spécifiquement vigne-*Botryosphaeriaceae* en conditions contrôlées.

Au vignoble, le produit a été testé sur une parcelle de Chardonnay (historique MDB individuel des ceps depuis 2014) à partir de 2018 et selon le protocole intégrant 5 traitements (BBCH : 00, 14, 73, 81-83 et 97-99) en total. A partir de fin Juin, un suivi MDB tous les 15 jours a été conduit pour chaque cep. L'analyse statistique de l'incidence annuelle et cumulée de l'ESCA pour les ceps témoins (non traités) et pour les ceps traités n'a pas montrée de différences. L'étude sera poursuivie les 2 prochaines années car il est reconnu que l'efficacité d'un produit au vignoble s'observe souvent après 2 à 3 ans d'applications, surtout dans un contexte des MDB.

Les effets du CA3356 ont également été étudiés en conditions contrôlées en utilisant deux cépages (Chardonnay et Cabernet sauvignon) et les pathogènes *Diplodia seriata*, *Neofusicoccum parvum*. Ces derniers ont été inoculés avant d'effectuer deux traitements CA3356 à la même concentration du vignoble. Pour chaque traitement, l'activité photosynthétique (conductivité stomatique, transpiration, photosynthèse net et assimilation en CO₂) a été mesurée. Les effets du produit sur la croissance des plantes et des pathogènes (ré-isolement, taille des nécroses internes induites) ont été évaluées. En résumé, CA3356 a statistiquement augmenté le poids des plantes Chardonnay traitées, sans modifier significativement la taille des nécroses induites. CA3356 a également amélioré l'activité photosynthétique sur les plantes inoculées dès le quatrième jour après le premier traitement. Un comportement différent a été observé chez le Cabernet sauvignon. Des analyses sont encore en cours sur ces expérimentations qui sera reconduit en 2019.

Ce travail est soutenu financièrement par Natural Group Development et Nufarm. Les auteurs remercient la maison de champagne Roederer chez qui les essais au vignoble sont réalisés et les pépinières Mercier et fils qui nous fournissent les sarments de Cabernet-Sauvignon pour la production de boutures nécessaires aux expérimentations en serre.

Colonisation racinaire du porte-greffe Richter 110 par *Trichoderma atroviride*

R. Pierron¹, E. Stempien², I. Adendorff², Halleen^{2,3}, L. Mostert²

¹Univ Haute Alsace, Lab Vigne Biotechnol & Environm LVBE EA 3991, 33 Rue Herrlisheim, BP 68008, Colmar, France.

²Department of Plant Pathology, Stellenbosch University, Private bag X1, Matieland 7602, South Africa.

³Infruitec-Nietvoorbij, Private bag X5026, Stellenbosch 7599, South Africa.

Contact : romain.pierron@uha.fr

La majorité des pépinières Sud-Africaines sont impactées par la maladie du pied noir ou Black Foot. Aucun moyen de lutte n'est à disposition. Afin d'optimiser le contrôle de cette maladie, grâce à l'agent *Trichoderma atroviride*, une étude préliminaire des interactions biologiques entre les racines de porte-greffe et *T. atroviride* était nécessaire. Cette étude visait à (i) suivre la colonisation de deux souches différentes de *T. atroviride* T-77 et USPP T1, (ii) mesurer la réponse du porte-greffe suite à cette colonisation, (iii) confirmer cette colonisation en microscopie à fluorescence.

Des boutures du porte-greffe Richter 110 (*Vitis berlandieri* x *Vitis rupestris*) ont été inoculées avec des solutions de spores (10^6 spores/mL) de *T. atroviride* T-77 ou USPP T1. Les lots témoins ont reçu la même eau utilisée pour la suspension de spores. Chaque modalité comporte 15 plantes. Pour chaque plante, des sections de racines, préalablement stérilisées en surface, ont été déposées sur du milieu PDA amendé en streptomycine. Concernant l'étude d'expression de gènes en RT-qPCR, les échantillons de feuilles des plantes de chaque modalité ont été groupés en trois lots de cinq plantes. La souche *T. atroviride* T-77 a également été transformée via une souche d'*Agrobacterium* contenant un plasmide vecteur d'un gène codant une protéine fluorescente (*tdTomato*).

Les deux souches de *T. atroviride* ont été réisolées avec succès à partir des racines, la colonisation de la souche T-77 (70%) semblant plus importante que celle de USPP T1 (30%) 3 semaines post inoculation en chambre de culture. Les feuilles des plantes dont les racines ont été colonisées par l'agent de biocontrôle présentent une induction des gènes *PAL*, *LOX*, *STS*, *PR6* et *CHIT4C* relativement aux témoins traités avec de l'eau. La différence d'intensité de l'induction des gènes entre les souches de *T. atroviride* reste à confirmer. La transformation de la souche T-77 a permis de confirmer la colonisation de l'intérieur des racines de Richter 110 3 semaines après inoculation.

En conclusion, ce travail préliminaire a permis la mise en place de protocoles de réisolation ainsi que de suivi d'expression de gènes et de colonisation de *T. atroviride* dans les racines du porte-greffe Richter 110. Les deux souches de cet agent colonisent le système racinaire des jeunes plants et semblent induire une réponse systémique au niveau des feuilles (ISR).

***Pantoea* : amie ou ennemie du vignoble ?**

Flore Mazet et Marc Fisher

Laboratoire Vigne, Biotechnologies et Environnement – Université de Haute-Alsace, 33 rue de Herrlisheim, 68000 Colmar

Contact : flore.mazet@uha.fr

Pantoea est une entérobactérie largement répandue dans l'environnement. Elle se rencontre notamment au niveau du sol à partir duquel elle peut interagir avec les plantes ⁽¹⁾. Selon l'espèce et la souche, *Pantoea* peut soit être phytopathogène (ie *P. agglomerans* pv. *gypsophilae* responsable de la galle du gypsophile ⁽²⁾) soit phytoprotectrice (ie *P. agglomerans* E325 ⁽³⁾ utilisée comme biocide contre le feu bactérien).

Dans la vigne, différentes souches de *P. agglomerans* ont pu être isolées à partir du bois ou de la sève. Cinq d'entre elles sont étudiées au sein du laboratoire. Comme elles étaient issues de pieds atteints ou non de maladie du bois, nous avons voulu savoir si leur présence pouvait être associée à des symptômes ou si une action biocide pouvait leur être attribuée.

Ces 5 souches, phylogénétiquement différentes (d'après l'analyse du 16S), ont un même profil physiologique. Cependant leur comportement diffère, lorsqu'elles sont mises en contact avec des vitro-plants de vigne. Certaines souches se sont montrées agressives (symptômes de stress, retard de croissance, mortalité des vitro-plants) ; en revanche, pour d'autres, après l'établissement d'un dialogue moléculaire, un certain équilibre semble s'être établi se traduisant par une croissance apparemment normale des plantes.

Neuf mois après infection bactérienne, les vitro-plants sevrés ont été soumis à une attaque par *Erysiphe necator*. Il s'est avéré que les plants qui avaient été infectés par les souches de *P. agglomerans* apparemment les plus agressives au stade vitro-plant ont mieux résisté à l'attaque fongique que les plants initialement infectés par les souches bactériennes les moins agressives.

Nous devons désormais étudier le comportement de la plante suite à cette infection bactérienne, tant d'un point de vue précoce que tardif, en étudiant notamment l'expression des gènes de défense. Nous souhaitons également suivre le déplacement de la bactérie dans la plante ainsi que sa localisation. Enfin une co-infection bactéries-champignons des maladies du bois, dans des bois forcés, devrait nous permettre de mieux comprendre l'interaction de ces microorganismes *in planta*.

(1) FEMS Microbiology Reviews, 39, 2015, 968-984

(2) Molecular Plant Pathology, 4, 2003, 307-14.

(3) Journal of controlled release, 161 (2012) 109-115

Efficacité de 3 agents de biocontrôle, appliqués individuellement ou en combinaison, pour protéger de jeunes plants de vigne contre *Neofusicoccum parvum*

Amira Yacoub^{1,2}, Rana Haidar^{1,2}, Jonathan Gerbore³, Marie-Cécile Dufour^{1,2} et Patrice Rey^{2,1}

¹ INRA, ISVV, UMR1065 Santé et Agroécologie du Vignoble (SAVE), F-33140 Villenave d'Ornon, France, E-mail : amira.yacoub@inra.fr

² Université de Bordeaux, ISVV, UMR1065 SAVE, Bordeaux Sciences Agro, F-33140 Villenave d'Ornon, France.

³ BIOVITIS, 15400 Saint Etienne de Chomeil, France.

Contact : amira.yacoub@inra.fr

Neofusicoccum parvum est parmi les champignons pathogènes impliqués dans les maladies du bois de la vigne (MDBs), qui causent des pertes considérables de productivité et de longévité du vignoble. Etant donné l'absence du traitement chimique, le biocontrôle par l'utilisation des micro-organismes semble être une méthode prometteuse pour limiter l'extension de ces maladies dans les vignobles.

De récentes études ont montré que certains microorganismes comme *Pythium oligandrum*, *Pantoea agglomerans* et *Brevibacillus reuszeri* réduisent significativement les nécroses causées par des champignons pathogènes impliqués dans les MDBs (Haidar *et al.* 2016a, b; Yacoub *et al.* 2016). Dans ces dernières études, ces différents agents de biocontrôle (BCAs) ont été appliqués individuellement aux jeunes plants de vigne. Dans la présente étude, notre expérimentation consiste à protéger des plants de vigne (greffés ou non) contre *N. parvum* (inoculé au niveau du tronc), par l'inoculation combinée ou individuelle des différents BCAs (inoculés au niveau racinaire ou du tronc). Le niveau de protection induit par les différents BCAs (appliqués individuellement ou en combinaison) est évalué par la mesure de nécroses induites par *N. parvum*, 5 mois après l'inoculation du pathogène. Nos résultats ont montré que le niveau de protection des plants de vigne (greffés ou non) induits par l'application combinée des BCAs est similaire à celui induit par les BCAs appliqué individuellement. Ces résultats suggèrent qu'il n'y a pas d'effet synergique de biocontrôle entre *P. oligandrum* et les bactéries sur les plants non greffés et greffés. Afin de développer une stratégie de biocontrôle adéquate, il semble important de caractériser les événements moléculaires qui ont eu lieu durant l'interaction tripartite : vigne, BCAs et *N. parvum*. Pour cela, les mécanismes de défense induits par les BCAs seront étudiés par PCRq, au niveau du tronc. Une série de 96 gènes impliqués dans les défenses de la plante sera étudiée ("NeoViGen96"chip). Les gènes étudiés sont impliqués dans différentes voies de défenses chez la plante : synthèse des PR protéines (26 gènes), synthèse des métabolites secondaires (18), voie des indoles (3), renforcement de la paroi cellulaire (14), voies de signalisation (15) et des oxylipines (4) (Dufour *et al.* 2016).

Références

Haidar, R., Deschamps, A., Roudet, J., Calvo-Garrido, C., Bruez, E., Rey, P. and Fermaud, M. (2016a). Multi-organ screening of efficient bacterial control agents against two major pathogens of grapevine. *Biological Control*, 92, pp.55-65.

Haidar, R., Roudet, J., Bonnard, O., Dufour, M., Corio-Costet, M., Fert, M., Gautier, T., Deschamps, A. and Fermaud, M. (2016b). Screening and modes of action of antagonistic bacteria to control the fungal pathogen *Phaeomonilla chlamydospora* involved in grapevine trunk diseases. *Microbiological Research*, 192, pp.172-184.

Yacoub, A., Gerbore, J., Magnin, N., Chambon, P., Dufour, M., Corio-Costet, M., Guyoneaud, R. and Rey, P. (2016). Ability of *Pythium oligandrum* strains to protect *Vitis vinifera* L., by inducing plant resistance against *Phaeoconiella chlamydospora*, a pathogen involved in Esca, a grapevine trunk disease. *Biological Control*, 92, pp.7-16.

Dufour, M.C., Magnin, N., Dumas, B., Vergnes, S. and Corio-Costet M. F. (2016). High-throughput gene-expression quantification of grapevine defense responses in the fields using microfluidic dynamic arrays. *BMC Genomics*, DOI 10.1186/s12864-016-3304-z.

Liste des participants

Civilité	NOM	Prénom	compte utilisateur	organisme	Téléphone
Mlle	Abidon	Céline	celine.abidon@vignevin.com	Institut Français de la Vigne et du Vin	0617715373
Mme	Abou-Mansour	Eliane	eliane.abou-mansour@unifr.ch	Université de Fribourg	
Mme	Adrian	Marielle	marielle.adrian@u-bourgogne.fr	Institut Universitaire de la Vigne et du Vin Dijon	0380693485
Mme	Barbier	Muriel	muriel.barbier@sayens.fr	Sayens - SATT Grand Est	06 32 23 05 29
Mr	Bertsch	Christophe	christophe.bertsch@uha.fr	Université de Haute-Alsace Colmar	0389203104
Mr	Berud	François	francois.berud@vaucluse.chambagri.fr	Chambre d'Agriculture 84	0686179351
Mme	Besnard	Elisabeth	ferme-exp-cahors@wanadoo.fr	Ferme Départementale Anglars-Juillac	0610281919
Mme	Bettenfeld	Pauline	pauline-bettenfeld@wanadoo.fr	URCA-INRA Dijon	
Mr	Bidel	Luc	Luc.Bidel@inra.fr	INRA Montpellier	0499612292
Mme	Blanc	Marie-Veronique	marie- veronique.blanc@drome.chambagri.fr	Chambre d'agriculture de la Drôme	0625635885
Mr	Bonneau	Laurent	laurent.bonneau@inra.fr	Université de Bourgogne	0380693465
Mr	Bortolami	Giovanni	giovanni.bortolami@inra.fr	INRA Bordeaux-Aquitaine	0664608489
Mr	Bourdet	Simon	sbourdet@bnic.fr	BNIC	0686385714
Mlle	Bruez	Emilie	emilie.bruez@gmail.com	Bordeaux Sciences Agro - Université de Bordeaux	0631366333
Mr	Cahurel	Jean-Yves	jean-yves.cahurel@vignevin.com	Institut Français de la Vigne et du Vin	0474064343
Mlle	Cardot	Chloé	ccardot@bnic.fr	BNIC	0689728503
Mlle	Catania	Manon	manon.catania@charente- maritime.chambagri.fr	Chambre d'agriculture de Charente-maritime	0546504500
Mr	Charlier	Laurent	laurent.charlier@vins-bordeaux.fr	CIVB	0678965644

Mme	Charlotte	Huber	c.huber@cavb.fr	CAVB	
Mr	Chollet	Jean-François	jean.francois.chollet@univ-poitiers.fr	Université de Poitiers	0549453965
Mme	Chong	Julie	julie.chong@uha.fr	Université de Haute-Alsace Colmar	0389203139
Mr	Coarer	Morvan	morvan.coarer@vignevin.com	Institut Français de la Vigne et du Vin	0616617188
Mr	Compant	Stéphane	stephane.compant@ait.ac.at	AIT Austrian Institute of Technology	00436648251316
Mlle	Coppin	Cindy	cindy.coppin@univ-reims.fr	Université de Reims Champagne-Ardenne	0762776282
Mme	Corio-Costet	Marie-France	marie-france.corio-costet@inra.fr	INRA Bordeaux-Aquitaine	0557122625
Mr	Courty	Pierre-Emmanuel	pierre-emmanuel.courty@inra.fr	INRA Dijon	0674295540
Mr	Dal	François	francois.dal@sicavac.fr	SICAVAC	0681201282
Mr	Delorme	Gaël	gael.delorme@jura.chambagri.fr	Chambre d'agriculture du Jura	0384351417
Mr	Doublet	Bruno	bruno.doublet@agriculture.gouv.fr	DRAAF-SRAL Grand Est - P ressource /DGAL PV	0326973207
Mlle	Dubus	Christine	cdubus@sl.chambagri.fr	Chambre d'Agriculture 71	0625138478
Mr	Dureuil-Trojanowski	Jocelyn	jdureuil@sl.chambagri.fr	Chambre d'agriculture de Saône et Loire	0609219637
Mr	Elia	Cédric	c.elia@gironde.chambagri.fr	Chambre d'Agriculture de la Gironde	0673142871
Mme	Farine	Sibylle	sibylle.farine@uha.fr	Université de Haute-Alsace Colmar	0389203138
Mr	Fischer	Marc	marc.fischer@uha.fr	Université de Haute-Alsace Colmar	0389203136
Mme	Fontaine	Florence	florence.fontaine@univ-reims.fr	Université de Reims Champagne-Ardenne	0633926475
Mr	Fuchs	Johann	johann.fuchs@uha.fr	Université de Haute-Alsace Colmar	0389203123
Mr	Gelhayé	Eric	eric.gelhayé@univ-lorraine.fr	Université de Lorraine - Nancy	06 04 52 03 80

Mme	Goddard	Mary-Lorène	mary-lorene.goddard@uha.fr	Université de Haute-Alsace Colmar	0389336859
Mlle	Grosjean	Claire	claire.grosjean@bfc.chambagri.fr	Chambre Régionale d'Agriculture de Bourgogne - Franche-Comté	0678892239
Mr	Grosman	Jacques	jacques.grosman@agriculture.gouv.fr	MAA-DGAL	0686998648
Mr	Guilbault	Pascal	p.guilbault@gironde.chambagri.fr	Chambre d'Agriculture de la Gironde	0672279287
Mme	Guillier	Christelle	christelle.guillier@inra.fr	INRA Dijon	0380693571
Mme	Haidar	Rana	rana.haidar@inra.fr	INRA Bordeaux-Aquitaine	0652471613
Mr	Humbert	Florian	florian.humbert@bourgogne-vigne-vin.fr	GIP Pôle Bourgogne Vigne et Vin	0380396980
Mlle	Jaquens	Lucile	lucile.jaquens@u-bourgogne.fr	Université de Bourgogne	0380692044
Mr	Labois	Clément	clement.labois@uha.fr	Laboratoire Vigne, Biotechnologie et Environnement	0667333151
Mme	Laloue	Hélène	helene.laloue@uha.fr	Université de Haute-Alsace Colmar	0389203122
Mr	Larignon	Philippe	philippe.larignon@vignevin.com	Institut Français de la Vigne et du Vin	0466206704
Mme	Layche	Ilyass	ilyass.laiche@agriculture.gouv.fr	DRAAF-SRAL Châlons en Champagne	07 63 23 91 53
Mr	Lecomte	Pascal	pascal.lecomte@inra.fr	INRA Bordeaux-Aquitaine	0647732853
Mlle	Mahé	Héloïse	heloise.mahe@vignevin.com	Institut Français de la Vigne et du Vin-CNIV	0144501126
Mlle	Malblanc	Solène	solene.malblanc@vignevin.com	Institut Français de la Vigne et du Vin	0389302273
Mr	Malhomme	Pascal	pascal.malhomme@gers.chambagri.fr	Chambre d'Agricultur du Gers	0638613577
Mme	Mazet	Flore	flore.mazet@uha.fr	Université de Haute-Alsace Colmar	0389203138
Mr	Moisy	Cédric	cedric.moisy@vignevin.com	Institut Français de la Vigne et du Vin	0785805395
Mr	Mondello	Vincenzo	vincenzo.mondello@univ-reims.fr	Université de Reims Champagne-Ardennes	0782602367

Mr	Moret	Florian	florian.moret@inra.fr	INRA Dijon	0695829774
Mr	Noceto	Pierre-Antoine	noceto.pa@gmail.com	INRA Dijon	
Mlle	Noirot	Elodie	elodie.noirot@inra.fr	INRA Dijon	0380693460
Mr	Ouadi	Loris	lo.ouadi@gmail.com	INRA Bordeaux-Aquitaine	0650917104
Mme	Panon	Marie-Laure	marie-laure.panon@civc.fr	Comité Champagne	0326515073
Mr	Peros	Jean-Pierre	jean-pierre.peros@inra.fr	INRA Montpellier	0499612026
Mme	Perrin	Célia		Université de Haute-Alsace Colmar	
Mr	Pierron	Romain	romain.pierron@uha.fr	Université de Haute-Alsace Colmar	0389203139
Mr	Poinssot	Benoit	benoit.poinssot@inra.fr	Université de Bourgogne	0380693458
Mr	Richy	Didier	d.richy@bouches-du-rhone.chambagri.fr	Chambre d'Agriculture des Bouches du Rhône	0630514402
Mr	Riou	Christophe	christophe.riou@vignevin.com	Institut Français de la Vigne et du Vin	0673884944
Mlle	Songy	Aurélié	aurelie.songy@univ-reims.fr	Université de Reims Champagne-Ardenne	0623953562
Mr	Terrier	Christophe	terrier.fdceta@orange.fr	FDCETA	0683109648
Mme	Trarieux	Corinne	corinne.trarieux@bivb.com	BIVB	0380262399
Mme	Trotel-Aziz	Patricia	patricia.trotel-aziz@univ-reims.fr	Université de Reims Champagne-Ardenne	0326918861
Mme	Trouvelot	Sophie	sophie.trouvelot@u-bourgogne.fr	Institut Universitaire de la Vigne et du vin	0380693104
Mr	Wipf	Daniel	daniel.wipf@inra.fr	Université de Bourgogne	0380693452
Mlle	Yacoub	Amira	amira.yacoub@inra.fr	INRA Bordeaux-Aquitaine	0557122634

