

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

*AAP de recherche appliquée et d'innovation dans le
domaine des maladies du bois de la vigne -V905*

Détails du Projet

➤ Porteur

- Chambre d'Agriculture de la Gironde

➤ Concours financier

- CasDar
- France AgriMer
- BIVB
- autofinancement des partenaires

➤ Durée 36 mois

- de janvier 2010 à décembre 2012

Les partenaires du projet

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

Objectifs du projet

➤ Constat

- Présence de certains champignons responsables des MDB dans les étapes de production de plants
 - réhydratation
 - stratification : *Phaeomoniella chlamydospora*, certains *Botryosphaeriaceae*
 - élevage au champ : *Phaeoacremonium aleophilum*, *Phomopsis viticola*, certains *Botryosphaeriaceae*
- Pas de moyen efficace de désinfection des plants

➤ Améliorer la qualité sanitaire des plants

- étude et mise au point de processus optimisés de production

Rappel des actions du projet

- Action 1 : Développer de nouveaux outils de diagnostic des champignons pour le contrôle de la qualité des plants : adaptation de la PCR quantitative.
- Action 2 : Définir des processus de multiplication des plants permettant de garantir la production d'un matériel indemne de champignons associés aux maladies du bois en sortie de pépinière.
- Action 3 : Etudier en plein champ l'intérêt du traitement à l'eau chaude des plants au cours de leur production.

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

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

- Développement de la PCR qualitative
 - Choix d'amorces spécifiques pour chacun des champignons associés
 - Mise au point des conditions de PCR permettant la lecture en multiplex
 - Validation sur champignons directement & sur matériel végétal
- Développement de la PCR quantitative en temps réel
 - Botryosphaeria obtusa, Botryosphaeria parvum, Phaemoniella chlamydospora, Phaeocremonium aleophilum
- Comparaison notations microbiologiques/diagnostics QPCR

- Clés d'interprétation des différences de résultats
 - 77% des résultats sont identiques
 - 18% des résultats différents s'expliquent par une détection en qPCR > microbiologie
 - 4% seulement des résultats différents restent inexpliqués, mais peut-être les mêmes raisons que précédemment?
- Utilisation de l'outil pour les étapes du projet
 - Amélioration d'étapes du processus de production de plants
 - Recherche de nouveaux moyens de désinfection

➤ Perspectives :

- travail sur la spécificité des amorces
- mise au point de nouvelles amorces
- échantillonnage à préciser
- mise en routine de l'outil
- autres moyens de détection (Nanobody ?)

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

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



Greffons et porte-greffes

Ébrogne/débitage

Réhydratation



Greffage/Paraffinage



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

Élevage plein champ

Mise en pot

Mise en vente

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

*2.2- Recherche de
nouveaux moyens de
désinfection des bois*

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

2.4- greffage en vert

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

➤ Résultats

- Contamination du matériel végétal essentiellement en surface
- Le niveau de contamination augmente avec l'âge des parcelles
- L'origine du matériel végétal n'influence pas le niveau de contamination des plants

➤ Perspectives

- dans les essais réalisés, l'état sanitaire des parcelles de vignemères de greffons et porte greffe n'influence pas le niveau de contamination des plants en sortie de pépinière
- résultats à consolider car seulement 3 ans d'étude



Greffons et porte-greffes

Ébournage/débitage

Réhydratation



Greffage/Paraffinage



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

Élevage plein champ

Mise en pot

Mise en vente

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

2.2- Recherche de nouveaux moyens de désinfection des bois

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

2.4- greffage en vert

2.2- Recherche de nouveaux moyens de désinfection des bois

➤ Résultats

- Effets phytotoxiques des produits de désinfection
- Efficacité très minime vis-à-vis de la présence des espèces associées aux MDB dans les plants : seul le Switch présente un effet significatif (vis-à-vis de *D. Seriata* en particulier)
- Le TEC modifie l'équilibre de la microflore des plants et diminue la fréquence d'isolement des espèces de *Botryosphaeria* et de *Phomopsis*

2.2- Recherche de nouveaux moyens de désinfection des bois

➤ Perspectives

- Tester l'association SWITCH/TEC
- Évaluer l'intérêt de stratifier les plants dans de l'eau + désinfectant peu concentré



Greffons et porte-greffes

Ébournage/débitage

Réhydratation



Greffage/Paraffinage



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

Élevage plein champ

Mise en pot

Mise en vente

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

2.2- Recherche de nouveaux moyens de désinfection des bois

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

2.4- greffage en vert

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

➤ Résultats

- Pas d'amélioration du pourcentage de reprise des plants avec de nouveaux substrats
- Pas d'amélioration de l'état sanitaire des plants avec des substrats inertes ou organiques innovants

➤ Résultats

- La stratification classique dans l'eau ou dans la sciure n'est pas remise en cause : arrêt des tests



Greffons et porte-greffes

Ébrogne/débitage

Réhydratation



Greffage/Paraffinage



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

Élevage plein champ

Mise en pot

Mise en vente

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

2.2- Recherche de nouveaux moyens de désinfection des bois

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

2.4- greffage en vert

➤ Résultats

- Absence des champignons associés aux maladies du bois (excepté *Ilyonectria liriodendri*)
- Présence de microorganismes quasiment dans tous les greffes-boutures : *Chaetomium sp.*, *Fusarium sp.*...

➤ Perspectives

- Mise en place d 'expérimentation pour comprendre la vitesse d 'infection d 'une parcelle saine => production ou non de plants indemnes de champignons en sortie de pépinière
- Rôle des micro-organismes *Chaetomium sp.*, *Fusarium sp* à déterminer
- Etudier les autres types de greffes (fente...)

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

- **Partenaires impliqués dans l'action :**
- **CA89, CRA Bourgogne, CA71, CA30, CA 33, CA11**

➤ 2 sous actions

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

➤ Résultats

- Situation Gironde (sous action 1) :
 - parcelles TEC associées à une moindre expression
- Situation Aude (sous action 2) :
 - modalités TEC et non TEC avec des expressions au même niveau.
- Situation Saône et Loire (sous action 2) :
 - modalités non TEC associées à une moindre expression (en tendance).

➤ Résultats

- Situation Gironde (sous action 1) : parcelles TEC associées à une moindre expression.
- Situations Aude et Saône et Loire (sous action 2) : modalités TEC et non TEC avec des expressions au même niveau (moyen).
- Situations Gard et Yonne (sous action 2) : pas de différence entre les modalités avec une expression nulle ou presque

➤ Résultats

- Dans la comparaison **mono factorielle**, on ne constate **pas de différence** entre les deux modalités **TEC et non TEC**
- Dans la comparaison **plurifactorielle**, les parcelles TEC expriment **moins d'Eutypiose et d'Esca / BDA**
 - (attention au faible nombre de parcelles ayant pu être retenues et à l'impact des autres facteurs).
- **Pas d'impact du TEC** des plants (protocole FD) sur l'expression des maladies du bois (Eutypiose, Esca et BDA) dans les 10 premières années de vie d'une vigne..

➤ Perspectives

- Poursuivre les observations tout en augmentant l'échantillonnage
- Mettre en place un BDD nationale sur les expressions des MDB au champ
 - méthode unique
 - régions/cépages différents
 - alimentation de données dans la durée

➤ Conclusion

- validation ou élimination de pistes de travail
- durée du projet courte pour ce type de problématique
- mise en commun de moyens
- travail en commun pour des agents de structures différentes pouvant générer des collaborations futures

➤ **Merci de votre attention**