

AP2009 n°V905

Projet en cours 2009 → 2013
Montant global : 633 080 €
Subvention CAS DAR : 379 844€

NOTE SYNTHETIQUE

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

Organisme chef de file : Chambre d'Agriculture de la Gironde, 05 56 35 00 00

Chef de projet : Laurent Bernos, l.bernos@gironde.chambagri.fr

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

Objectifs

Des études menées en pépinière ont montré que certains champignons responsables des trois principales maladies fongiques de dépérissement de la vigne que sont l'eutypiose, l'esca et le Black Dead Arm sont présents lors des étapes de production des plants. Certaines ont pu être identifiées, comme la réhydratation, la stratification (pour *Phaeoconiella chlamydospora* et certains *Botryosphaeriaceae*) et l'élevage au champ (pour *Phaeoacremonium aleophilum*, *Phomopsis viticola* et certains *Botryosphaeriaceae*). A ce jour, aucun moyen efficace de désinfection n'existe quelle que soit l'étape de production des plants. Seul le traitement à l'eau chaude utilisé pour la lutte contre la flavescence dorée montre une efficacité partielle sur certain de ces champignons.

Ce projet a pour objectif d'améliorer la qualité de l'état sanitaire de plants par l'étude et la mise au point de processus optimisés de production.

L'évaluation de l'intérêt de méthodes nouvelles de production du matériel végétal nécessite la mise en œuvre d'outils de détection et d'identification des champignons inféodés aux maladies du bois. En effet, les méthodes microbiologiques actuellement disponibles sont basées sur des techniques d'isolement et d'identification phénotypique classiques. Elles permettent de qualifier mais non de quantifier la présence des champignons dans les tissus internes du bois. Elles sont cependant lourdes à mettre en œuvre et inefficaces pour rechercher la présence des champignons à la surface des plants et dans leur environnement. Ainsi, parallèlement à la mise en place d'essais visant à améliorer le processus de production des plants, ce projet vise à mettre au point des outils moléculaires d'identification et de quantification des champignons inféodés aux maladies du bois plus souples et plus performants

Le projet est découpé en 3 actions :

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

Résultats et valorisation attendus

Les résultats sont les suivants :

Action 1 : Développer de nouveaux outils de diagnostic des champignons pour le contrôle de la qualité des plants : adaptation de la PCR quantitative

Contexte et objectifs

A la suite des travaux de l'IFV et du laboratoire d'agroécophysiole de l'Ecole d'Ingénieurs de Purpan qui ont permis l'élaboration de techniques spécifiques de détection des champignons impliqués dans les maladies du bois, nous proposons d'utiliser et d'optimiser les techniques de multiplex ainsi que l'approche de PCR quantitative pour développer une méthode fiable, rapide et très sensible de détection des champignons des maladies du bois durant les étapes de productions des plants et à la sortie de la pépinière. Cette méthodologie pourra à terme servir d'outil de diagnostic pour valider la qualité des plants à la sortie de la pépinière.

Résultats obtenus

- Le développement de la PCR quantitative a permis de mettre au point un choix d'amorces spécifiques pour les champignons associés (*Botryosphaeria spp*, *Phaemoniella chlamydospora*, *Phaeocromonium aleophilum*), la mise au point des conditions de PCR permettant la lecture en multiplex et la validation sur champignons (directement et sur matériel végétal)
- Le développement de la PCR quantitative en temps réel.
- La comparaison des notations microbiologiques et des diagnostics QPCR a permis de créer des clés d'interprétation des différences de résultats
- L'outil a été utilisée pour les étapes du projet : amélioration d'étapes du processus de production de plants, recherche de nouveaux moyens de désinfection

Perspectives

Des difficultés de collaboration entre les partenaires du projet ont émergé suite au changement de chef de file à ESAPurpan et à la présence d'un partenaire non intégré dans le projet Casdar.

Des négociations ont permis que le projet aboutisse mais la diffusion de la méthode pose problème.

Des validations par comparaisons avec le diagnostic microbiologique sont en cours.

La méthode peut être encore affinée.

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.

Contexte et objectifs

Cette action a pour objectifs :

- d'une part, de tester l'efficacité de nouvelles substances antifongiques pour la désinfection des plants produits en pépinière
- d'autre part d'améliorer les processus de production de plants en étudiant l'influence de l'âge des parcelles d'où est issu le matériel végétal ainsi que les méthodes d'obtention des plants (greffés soudés, plants en pots, boutures herbacées) après modification de différentes étapes de production (réhydratation, type de greffe, stratification...).

Résultats obtenus pour la sous-action 1 : influence de l'âge des parcelles et de leur état sanitaire sur la qualité des plants en sortie de pépinière

- Il est fait le constat que la contamination du matériel végétal est observée essentiellement en surface
- Il est confirmé que l'étape de stratification est un point critique de contamination des plants au cours de la phase de production
- Dans l'essai réalisé, l'état sanitaire des parcelles de vigne-mères de greffons et porte-greffe n'influence pas le niveau de contamination des plants en sortie de pépinière.

Perspectives : ces résultats sont à consolider par une poursuite des essais (3 ans ?)

Résultats obtenus pour la sous-action 2 : recherche de nouveaux moyens de désinfection des bois

- Les produits de désinfection testés peuvent avoir des effets phytotoxiques sur les plants
- Leur efficacité est très minime vis-à-vis de la présence des espèces associées aux maladies du bois dans les plants
- Le traitement à l'eau chaude (TEC) modifie l'équilibre de la microflore des plants et diminue la fréquence d'isolement des espèces de *Botryosphaeria* et de *Phomopsis*.

Perspectives

Tester l'association Switch et TEC.

Evaluer l'intérêt de stratifier les plants dans de l'eau avec du désinfectant peu concentré.

Résultats obtenus pour la sous-action 3 : amélioration d'étapes du processus d'élaboration des plants

- Il n'est pas constaté d'amélioration du pourcentage de reprise des plants avec les 12 nouveaux substrats testés
- Il n'est pas constaté d'amélioration de l'état sanitaire des plants avec des substrats inertes ou organiques innovants

Perspectives :

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

Résultats obtenus pour la sous-action 4 : greffage en vert

- On note l'absence des champignons associés aux maladies du bois dans les plants obtenus par greffage en vert
- En revanche, nous observons la présence de microorganismes dans quasiment tous les greffes boutures (Chaetomium sp, Fusarium sp...).

Perspectives :

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

Travailler sur le rôle des microorganismes Chaetomium sp., Fusarium sp

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

Contexte et objectifs

Cette action se propose de répondre à la question de l'impact du traitement à l'eau chaude (TEC) des plants sur le comportement ultérieur des vignes vis à vis des maladies du bois. L'expression des symptômes étant soumis à l'influence de nombreux paramètres l'action se scinde en deux sous-actions complémentaires. Un travail de suivi de l'impact du TEC comme seul paramètre de variation d'une part et un travail de suivi de la part d'influence du TEC au sein de l'ensemble des facteurs d'autre part.

Résultats obtenus

- Dans la comparaison mono factorielle, on ne constate pas de différence entre les 2 modalités TEC et non TEC
- Dans la comparaison plurifactorielle, les parcelles TEC expriment moins d'Eutypiose et d'Esca / BDA
- Il est constaté une absence d'impact du TEC des plants sur l'expression des maladies du bois dans les 12 premières années de vie d'une vigne

Perspectives

Poursuivre les observations de ces parcelles tout en augmentant l'échantillonnage.

Plus largement, il serait intéressant de remettre en place un observatoire national de l'évolution des maladies du bois sous forme de base de données nationale spécifique qui pourrait servir à une étude scientifique de grande ampleur.

Conclusion générale

Les résultats obtenus ont permis de valider ou d'éliminer certaines pistes de travail. La durée du projet est très courte pour pouvoir confirmer certains résultats et il semble nécessaire de poursuivre d'autant que les professionnels sont désarmés face à la problématique des maladies du bois.

Au-delà du côté technique, ce projet a permis de mettre en commun des moyens et de faire travailler ensemble des agents de structures différentes sur l'ensemble du territoire national en jouant sur la complémentarité. Ce réseau qui s'est construit peut être un facteur facilitant pour la diffusion d'informations et le travail en commun face aux maladies du bois.