

La constitution d'un groupe international de travail sur les maladies du bois et les premiers résultats des expérimentations menées par l'ITV en laboratoire et en pépinières

Philippe LARIGNON, ITV France, Unité de Nîmes-Rodilhan

Les maladies du bois de la vigne ont toujours préoccupé les viticulteurs car elles provoquent la destruction de la souche et mettent en péril leur outil de production. Trois principaux dépérissements sont observés dans le vignoble : l'Eutypiose, l'Esca et le Black Dead Arm. Les deux derniers étaient contrôlés jusqu'en novembre 2001 par l'utilisation de l'arsénite de sodium. Sa suppression inquiète d'autant plus les viticulteurs qu'aucune méthode de lutte de remplacement ne leur a été proposée.

- L'Eutypiose, identifiée en France à la fin des années 70, est la maladie la mieux connue mais reste encore difficile à combattre en dépit des travaux réalisés par de nombreuses équipes portant sur différents thèmes : épidémiologie, relation hôte-parasite, méthodes de lutte.

- Le Black Dead Arm, dépérissement malheureusement encore peu connu en raison de sa récente identification en France en 1999, existe pourtant depuis très longtemps dans notre pays, car il a été confondu avec l'Esca du fait de la similitude des symptômes foliaires. Actuellement, peu d'équipes travaillent sur ce dépérissement.

- L'Esca, maladie cryptogamique sévissant dans la majorité des vignobles du monde, tout d'abord décrite sous sa forme apoplectique, fut attribuée à un champignon à la fin du XIXe siècle et de ce fait se distinguait du folletage, maladie physiologique. La découverte de l'arsénite de sodium à l'égard de ce dépérissement de façon tout à fait fortuite a entraîné dans les années 20 l'arrêt des travaux sur cette maladie pendant un demi-siècle en Europe. Durant les années 80, les recherches ont été réinitiées en France en raison d'un éventuel retrait de l'arsénite de sodium, du fait de sa toxicité non seulement pour l'homme mais aussi pour l'environnement. Les

études ont porté sur l'identification et le mode d'action des microorganismes qui y sont associés. Depuis les années 90, différentes études portant sur cette identification étaient entreprises dans différents pays où l'Esca était devenu un problème majeur. Les travaux se sont de plus en plus développés et ont porté sur différents thèmes de recherches : diagnostic, épidémiologie, taxonomie, relation hôte-parasite, méthodes de lutte.

Des groupes de travail mis en place

La sensibilisation de plusieurs chercheurs (Etats-Unis, Australie, Italie, France) à ce problème a permis de créer lors d'une visite du vignoble californien un groupe international sur les maladies du bois de la vigne appelé ICGTD (International Council Grapevine Trunk Disease) qui s'est réuni pour la première fois en 1999 à Sienna et se réunit actuellement tous les deux ans (Lisbonne en 2001, Christchurch en 2003, Stellenbosch en 2005). Il regroupe maintenant une centaine de chercheurs venant de tous les pays viticoles. Les congrès ont pour but de partager les connaissances acquises lors des différentes recherches menées et de réfléchir sur les futures études à conduire, bien sûr dans l'objectif de trouver une méthode de lutte efficace à l'égard des maladies du bois. Ne traitant tout d'abord que le problème de l'Esca, il s'est élargi sur les autres maladies du bois de la vigne (Eutypiose, Black Dead Arm, Hoja de Malvon, Pied noir, Maladie de Petri....).

Un autre groupe, FAVOR, mis en place par les Liens de la Vigne et réunissant des chercheurs européens, américains et australiens, se réunit deux fois par an dans le but de construire des programmes de recherches européens. Deux programmes ont vu le jour : programme CAMAR n° 8001-

CT-91.205 portant sur l'Eutypiose (1989-1993) et le programme FAIR n° ICT-95.654 « Maîtrise de l'Esca et Respect de l'Environnement » (1996-1999).

En France, suite à l'interdiction de l'arsénite de sodium (nov. 2001), un groupe national de travail, sous l'égide de l'ONIVINS, a été créé et regroupe les différents organismes de recherche et interprofessionnels, qui travaillent en collaboration avec les chercheurs internationaux.

Un programme de recherches, axé plus particulièrement sur l'Esca et le Black Dead Arm a été élaboré dont l'objectif est d'apporter aux viticulteurs une méthode aussi efficace et de moindre toxicité que l'arsénite de sodium. Une action en communication par le biais d'une plaquette destinée aux professionnels a été également réalisée.

Les objectifs du programme national

Dans l'objectif d'aider la viticulture à sortir de cette impasse technique, il est important d'apporter des moyens de lutte aux viticulteurs pour contrôler ces maladies, qui doivent être efficaces, respectueuses de l'environnement et économiquement acceptables pour les exploitations. L'aboutissement de ces recherches doivent impérativement permettre de :

- préconiser des méthodes prophylactiques et préventives (protection des voies de pénétration des champignons dans la plante au moyen de substances chimiques ou biologiques, éradication des sources d'inoculum),

- proposer des méthodes de lutte curatives (fongicides, produits biologiques, stimulateurs des

mécanismes de défense de la plante).

Pour atteindre ces objectifs, il est nécessaire d'améliorer les connaissances sur la propagation de ces dépérissements dans le vignoble, d'identifier le cycle biologique des champignons associés aux maladies et de mieux comprendre leur rôle dans l'expression des symptômes sur la partie herbacée.

Le programme mené à l'ITV

Les recherches sur l'amélioration des connaissances portent sur l'identification du cycle biologique des différents champignons associés aux maladies du bois. Il est nécessaire de savoir comment vit le champignon dans le vignoble et en pépinières pour savoir comment empêcher son développement. Connaître la voie de pénétration dans la plante, identifier les sources d'inoculum, connaître leur période de dissémination sont autant de questions auxquelles il faudra répondre pour protéger la cible, détruire les sources d'inoculum et identifier la période la plus propice à l'intervention.

Nos recherches portent également sur l'identification des facteurs qui sont favorables à l'expression des symptômes foliaires esca/BDA. La connaissance des raisons des fluctuations des symptômes pourra aboutir à de nouvelles stratégies de lutte.

La recherche sur les méthodes de lutte est menée non seulement dans l'objectif d'obtenir des plants indemnes de champignons inféodés aux maladies du bois à la sortie des pépinières, mais aussi dans le but de protéger les nouvelles plantations (mesures préventives), d'enrayer leur propagation dans les vignes déjà existantes (mesures préventives) et de soigner les plantes malades (mesures curatives).

Des criblages de molécules et de produits microbiens sont tout d'abord réalisés au laboratoire afin de sélectionner les meilleurs candidats pour les expérimentations au champ ou en pépinières. Ces produits sont ensuite testés soit en préventif, soit en curatif. Dans le vignoble, différents modes d'application sont testés : par

pulvérisation sur toute la souche ou sur les plaies de taille, par injection dans les troncs ou encore par application au sol pour les produits microbiens.

Les premiers résultats concernant le cycle biologique des champignons associés aux maladies du bois

Importance de la propagation des champignons par les bois de greffage

Les études menées depuis 1996/97 jusqu'en 2003 par un groupe de travail impliquant l'ITV, l'INRA, la Chambre d'Agriculture du Vaucluse et le SPBPVV ont permis d'évaluer l'importance de la propagation de certains champignons associés aux maladies du bois par les bois de greffons et de porte-greffe. Les champignons pionniers de l'esca, *Phaeoconiella chlamydospora* (Pch) et *Phaeoacremonium aleophilum* (Pal), l'agent de l'excoriose, *Phomopsis viticola*, et les champignons *Botryosphaeria* sont présents à l'intérieur des sarments, issus de vigne mère de greffons ou de porte-greffe, et par conséquent peuvent se propager par les bois destinés à la pépinière.

Les champignons *Fomitiporia mediterranea*, responsable de l'amadou, et *Eutypa lata*, agent de l'eutypiose, ne semblent pas se propager par les bois en pépinières. Les analyses microbiologiques réalisées à différents niveaux dans le bois de porte-greffe montrent que Pal et Pch sont isolés uniquement à proximité de la tête de souche alors que les *Botryosphaeria* et *Phomopsis viticola* sont isolés à tous les niveaux.

Par extrapolation pour une plantation au vignoble de 5000 pieds hectare, on peut considérer que la propagation des champignons pionniers de l'esca par les bois de porte-greffe est très faible. Un ou deux plants sont infectés par Pch au moment de la plantation, aucun ou un plant infecté par Pal.

Ce résultat tient compte de l'hypothèse que ces champignons ne sont isolés qu'en tête de saule. Leur faible présence dans les bois de porte-greffe

et leur importance dans le vignoble soulèvent plusieurs interrogations sur leur origine. Plusieurs hypothèses peuvent être faites pour expliquer une telle observation : ces champignons ne sont pas toujours isolés dans le bois de porte-greffe par la méthode utilisée, des contaminations peuvent avoir lieu lors de l'élaboration des greffés-soudés en pépinières ou les contaminations ne s'effectuent que sur la jeune plantation par le milieu environnant (vignes, diverses plantes, autres).

Pour les autres champignons, la propagation par les bois de porte-greffe semble être importante. On peut considérer que 1,1 % et 2,7 % des plants sont respectivement infectés par *Botryosphaeria obtusa* et *B. parva*, 4,8 % des plants par *Phomopsis* sp. Il est important de noter que ces données ne tiennent pas compte de leur présence dans les greffons, de l'élimination de matériel végétal par le tri des bois, la mortalité des plants au cours de l'élevage, le tri des plants sur table.

Des études supplémentaires sont nécessaires pour évaluer vraiment leur importance dans les plants, à la sortie de la pépinière, et pour identifier également les étapes au cours desquelles peuvent avoir lieu d'éventuelles contaminations par les champignons lors de l'élaboration des plants en pépinières.

Les premiers résultats concernant les méthodes de lutte

Criblage de produits biologiques au laboratoire : les Trichoderma

Les *Trichoderma* sont connus comme étant des champignons qui présentent une activité antagoniste et d'hyperparasitisme à l'égard d'un grand nombre de microorganismes plus particulièrement ceux du sol et sont utilisés en lutte biologique à l'égard de diverses maladies sur différentes cultures.

Leur utilisation peut être une solution intéressante dans la lutte à l'égard des maladies du bois. Pour atteindre cet objectif, le pouvoir antagoniste de treize souches (3 *harzianum* et 10 *atroviride*) provenant de cinq sociétés

est testé à l'égard des champignons associés aux maladies du bois : les champignons pionniers de l'esca, *Phaeoconiella chlamydospora*, *Phaeoacremonium aleophilum*, *Fomitiporia mediterranea* responsable de la pourriture blanche, *Eutypa lata* (eutypiose) et trois espèces de *Botryosphaeria* associées au BDA (*B. obtusa*, *B. parva*, *B. stevensii*). Les tests sont réalisés sur un milieu de culture au laboratoire (tests de confrontation).

Des différences sont notées entre les souches de *Trichoderma* à l'égard d'un même antagoniste d'une part et d'autre part pour une même souche de *Trichoderma* des réponses différentes selon les protagonistes. Certaines souches (2 souches de *T. harzianum* et 1 de *T. atroviride*) ont un faible pouvoir antagoniste à l'égard des différents champignons du bois (Tableau I, souche 3).

Une autre souche de *T. harzianum*

(Tableau 1, souche 6) qui a une croissance très rapide exerce une forte inhibition à l'égard des différents champignons. Elle occupe très rapidement l'espace mais ne recouvre que très rarement son protagoniste. Le plus souvent, elle est ensuite lui-même recouverte par le protagoniste (cas de *E. lata*, *P. aleophilum*, *B. stevensii*, *B. obtusa*).

Elle montre une activité intéressante seulement envers *P. chlamydospora* et *F. mediterranea*.

Toutes les autres souches de *T. atroviride* montrent une activité antagoniste intéressante à l'égard des *Botryosphaeria* spp., *P. chlamydospora* et *F. mediterranea* (Tableau I, souche 2). Parmi ces souches, une seule inhibe totalement le développement d'*E. lata* et limite fortement le développement de *P. aleophilum* (Tableau I, souche 10).

En conclusion, ce travail a permis

dans les conditions expérimentales choisies de sélectionner une souche de *Trichoderma atroviride* qui a un pouvoir antagoniste intéressant à l'égard de tous les champignons du bois.

Toutes les autres souches de *T. atroviride* (à l'exception d'une souche) sont également de bons candidats pour pouvoir contrôler le développement de la majorité des champignons, plus particulièrement ceux associés au Black Dead arm et à l'esca.

Enfin, il est à noter que les souches de *T. harzianum* testées ne sont pas d'excellents antagonistes.

Les meilleures souches de *Trichoderma*, sélectionnées au laboratoire, sont actuellement évaluées en protection des plaies de taille à l'égard de *Phaeoconiella chlamydospora*.

	<i>P. chlamydospora</i> (21 jours)	<i>F. mediterranea</i> 33 jours	<i>P. aleophilum</i> 50 jours	<i>E.lata</i> 50 jours	<i>B. obtusa</i> 21 jours
<i>T. harzianum</i> (souche 3)					
<i>T. harzianum</i> (souche 6)					
<i>T. atroviride</i> (souche 2)					
<i>T. atroviride</i> (souche 10)					

Tableau 1 : Exemples de confrontations entre différentes souches de *Trichoderma* et les champignons du bois

Production de plantes saines en pépinières : les traitements à l'eau chaude (collaboration CA 84, SPBPVV)

L'objectif de ce travail est d'évaluer l'efficacité du traitement à l'eau chaude à l'égard des champignons associés aux maladies du bois. Les essais ont été réalisés pendant deux années consécutives sur des greffés-soudés à la sortie de l'élevage au champ.

En 2002, des greffés-soudés (Syrah clone 100/Ru 140 clone 101) inoculés par différents champignons au moment du greffage, stratifiés à

l'eau et élevés au champ sont traités à l'eau chaude dans les conditions utilisées pour la flavescence dorée (45 min à 50°C). Le traitement diminue fortement le nombre de plants infectés par *Phaeoconiella chlamydospora* (78 % d'efficacité), et totalement pour *Botryosphaeria obtusa* (100 %) et *Phomopsis viticola* (100 %).

Cependant, il montre peu d'efficacité à l'égard de *Botryosphaeria parva* (autre espèce de *Botryosphaeria* associée au BDA).

En 2003, des greffés-soudés ont subi le même traitement (contamination par Pch et Pal, stratification à l'eau, élevage au champ et traitement eau chaude). Les champignons pionniers

de l'esca sont souvent isolés des plants traités à l'eau chaude. Son efficacité à l'égard de Pch et de Pal est respectivement de 25 % et 0 %. L'origine de la variabilité des résultats sur l'efficacité du traitement à l'eau chaude à l'égard de *P. chlamydospora* ne trouve pas actuellement d'explications.

Le traitement à l'eau chaude peut être une méthode satisfaisante pour éradiquer certains champignons du bois, mais ne donne pas toujours les résultats escomptés. Des tests complémentaires sont indispensables pour trancher sur sa réelle efficacité à la sortie des pépinières.