

Etude de la biodiversité fongique secondaire des ceps et des raisins en Val de Loire

Morvan Coarer

IFV Pôle Val de Loire - Centre

Château de la Frémoire - 44120 VERTOU
Morvan.coarer@vignevin.com

Objectifs de l'étude

Les études passées menées dans le cadre de l'OTA et des GMT ont montré qu'il existait peu de données microbiologiques pouvant servir de référence en ce domaine, et ces mêmes études, trop partialement orientées vers la résolution de problèmes techniques et économiques précis, n'ont pas permis d'aller plus avant sur cette voie. Les inventaires réalisés ne sont, en ce sens, que difficilement exploitables car élaborés avec des visions non-dynamiques des communautés microbiennes.

En d'autres termes, nous possédons des clichés ponctuels de populations microbiennes restreintes observées selon un crible convenu et non généraliste, mais en aucun cas nous n'avons de réel « état des lieux à point zéro » permettant par la suite, si besoin est, de comparer avec un existant postérieur,

qu'il soit influencé par l'environnement climatique ou par des pratiques culturales ou industrielles.

Par ailleurs, déterminer le contexte d'apparition de certaines moisissures (Botrytis, Penicillium, Aspergillus...) pourrait permettre de maîtriser, ou tout au moins de mieux gérer, les contaminations type OTA ou GMT. Connaissant le contexte favorable au développement de ces moisissures, il est possible de mettre en place des méthodes de lutte appropriées en fonction du risque encouru.

Les maladies du bois, ESCA et Black Dead Arm (BDA), préoccupent les viticulteurs car elles provoquent la destruction de la souche. Elles mettent ainsi en péril leur outil de production et sa longévité et par conséquent la viabilité des exploitations. La difficulté à proposer des méthodes de lutte à court

terme est liée à une mauvaise connaissance de ces maladies complexes mettant en jeu plusieurs champignons et à la durée des expérimentations trop longues pour révéler leur efficacité. De nombreuses études portent sur l'analyse de ceps montrant la présence de plusieurs champignons impliqués dans le syndrome de l'ESCA ou du BDA.

L'objectif de ce travail est d'étudier la biodiversité de la microflore fongique du sol, du raisin, de l'écorce et du bois sur plusieurs parcelles en Val de Loire et de préciser les éventuelles corrélations entre les variations des populations fongiques, les caractéristiques des parcelles, les millésimes, les conditions environnementales et culturelles et l'expression des maladies de type ESCA et BDA ou d'altération de type GMT, ACF, OTA.

Résultats

En 2011, sur 986 souches isolées, seulement 818 se sont révélées exploitables au niveau génétique, l'amplification et la restriction de la région ITS a mis en évidence la présence de 145 espèces différentes (contre 187 en 2010 et 91 en 2009). Observé en fonction de la parcelle sur laquelle elles ont été isolées, le nombre de ces espèces varie de 43 à 59 (contre 37 à 64 en 2010, 25 à 38 en 2009). Comme les autres années, la majorité, 57 %, (50 % en 2009, 72 % en 2010) de ces espèces ne se retrouve que sur 1 seule parcelle, et seulement 6 % sur l'ensemble des parcelles étu-

diées. De la même manière, 63 % des espèces ne sont présentes que sur 1 seul cépage (60 % en 2009, 75 % en 2010) contre 16 % sur l'ensemble des cépages. Parmi les 145 espèces différentes caractérisées, seulement 9 ont pu être rattachées directement à un taxon présent dans la banque de données de l'IFV. Afin d'augmenter le pourcentage d'identification taxonomique, l'ADN des 136 espèces non-déterminées a été confié à la plateforme de séquençage de l'IFV de Montpellier, permettant l'identification précise de 47 autres taxons. Pour 87 autres souches, l'identification n'a pu être réalisée ou bien s'est ar-

rêtée à la détermination du genre. 2 espèces restent à séquencer.

En 2011, la répartition, tous compartiments confondus, des principaux genres rencontrés sur l'ensemble des parcelles laisse entrevoir un groupe majoritaire constitué par *Phoma* (15 %) puis *Cladosporium* (12 %), ce dernier en baisse par rapport à 2010 (20 %). Avec seulement 2 %, contre 11 % en 2010 et 24 % en 2009, le genre *Alternaria* subit une baisse sévère, vient ensuite le genre *Botryosphaeria* avec 8 % (10% en 2010). A noter que les espèces sporadiques (= <2%) représentent 27 % des espèces isolées contre 40 % en 2010.

Contrairement à l'année passée, en 2011, tous ces genres sont présents sur l'ensemble des parcelles. En se basant sur les effectifs des espèces communes aux différentes parcelles on obtient des Classifications Ascendantes Hiérarchiques (CAH) va-

riant en fonction des années. Sans surprise, deux années sur 3, ce sont les deux parcelles de Muscadet qui montrent la plus grande similarité. Deux même, les deux parcelles de Chinon (Chenin et Cabernet) sont elles aussi relativement similaires chaque

année. Il semble donc que la similarité soit plus liée à la position géographique qu'au cépage. On constate que la codominance varie en fonction des millésimes (Figure 1).

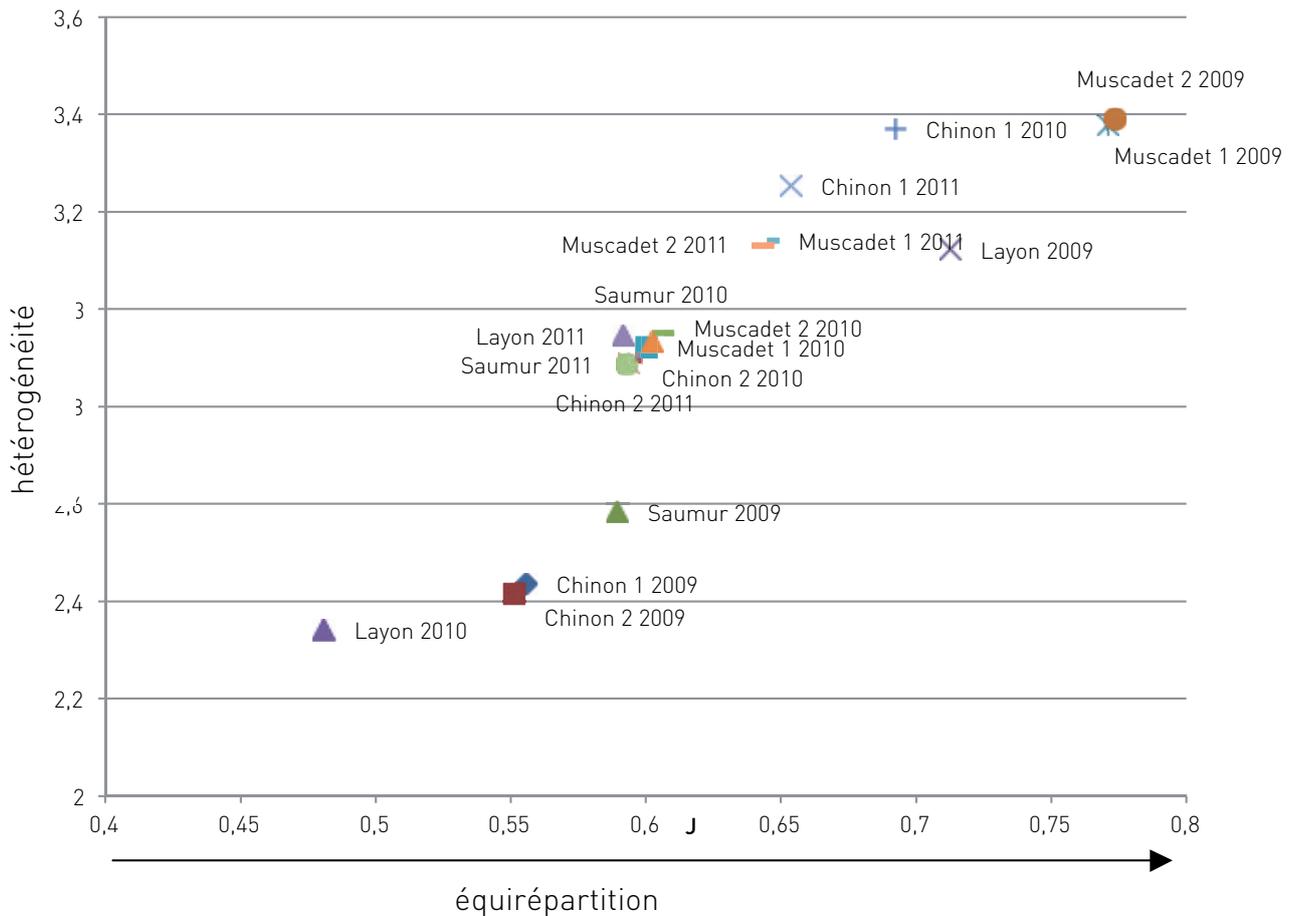


Figure 1 : Position relative des différentes parcelles en fonction des années et de leur codominance.

On note que le nombre d'espèces différentes est assez important d'un compartiment à l'autre, sauf en ce qui concerne les baies qui offre une diversité particulièrement basse pour la troisième année consécutive, ceci pouvant s'expliquer par un éventuel lessivage naturel. Le sol reste le compartiment possédant le plus grand nombre d'espèces différentes. A ce titre, le cep et l'écorce, d'une part, et le moût et la baie, d'autre part, sont assez comparables.

L'énorme majorité des espèces (68 %) ne se retrouve que dans 1 seul compartiment. Pour ce qui est des 3 % présents dans tous les compartiments

il s'agit des genres *Cladosporium*, *Botrytis*, et *Aureobasidium*.

L'analyse des différents indices rendant compte de la diversité confirme la proximité entre baie et moût, d'une part et cep et écorce d'autre part. Ces deux premiers sont caractérisés par un nombre peu important d'espèces dont seulement 3 présentent des effectifs importants (*Aureobasidium*, *Cladosporium* et *Botrytis*). Les autres compartiments sont caractérisés par un grand nombre d'espèces à l'abondance comparable.

En ce qui concerne l'aspect ESCA BDA, le premier constat effectué est l'ab-

sence quasi-totale, cette année encore, d'isolement des champignons associés aux maladies du bois n'appartenant pas au genre *Botryosphaeria*. Si l'année dernière *Phaeoconiella chlamydospora* (1 cep à Muscadet 2) et *Eutypa lata* (1 cep à Chinon 2) avaient été isolées en une unique occasion, en 2011, aucun de ces champignons n'a pu être isolé.

La distribution des différents genres rencontrés en fonction des symptômes observés, tous compartiments confondus, ne laisse pas entrevoir de variation significative. En 2011, parmi les *Botryosphaeria* isolées, on retrouve 3 espèces sur les 18 communément décrites dans la littérature : *B. obtusa*

(*Diplodia serratia*), *parva* (*Neofusicoccum parvum*), *stevensii* (*Diplodia mutila*). Contrairement à 2009 ou 2010, les espèces *sarmentorum* (*Dothiorella sarmentorum*), *dothidea* (*Fusicoccum aesculi*) et *rhodina* (*Lasioidiplodia theobromae*) n'ont pas été retrouvées. *B. stevensii*, présent en 2009 mais absent en 2010 est de nouveau observable. *B. obtusa* et *B. parva* sont les deux espèces majoritaires avec respectivement 50 % (56 % en 2010) et 35 % (42 % en 2010) des *Botryosphaeriae* isolées. Seule *Botryosphaeria obtusa* est rencontrée sur l'ensemble des parcelles alors que *B. parva* semble ne caractériser que le Pays Nantais. La parcelle Chinon 1 qui livrait la plus grande diversité avec 4 espèces différentes, n'abrite en 2011 qu'une seule espèce, tout comme celle de Layon. On constate aussi certaines variations en fonction

du compartiment étudié avec 3 espèces différentes sur écorce et à l'intérieur des ceps, 1 dans le sol (*B. stevensii*) et aucune sur baie. Alors qu'en 2010 *B. parva* se retrouvait de manière accrue dans le cep par rapport à l'écorce, en 2011 les proportions respectives sur cep et sur écorce sont équivalentes.

La comparaison de la distribution des différentes espèces en fonction des symptômes constatés tous compartiments confondus, montre une faible surreprésentation de *B. parva* sur ceps malades, contrairement à 2009 qui ne laissait entrevoir que très peu de différences significatives et 2010 qui montrait une surreprésentation de *B. parva* chez les ceps malades au détriment de *B. obtusa*, présent plus volontiers sur ceps asymptomatiques.

Si l'on se focalise uniquement sur les espèces colonisant l'intérieur du cep, on ne retrouve pas la quasi exclusivité (90%) de *B. parva* rencontrée en 2010 dans les ceps malades, cette espèce faisant jeu égal avec *B. obtusa*. Contrairement à 2009, *B. stevensii* n'est présent que de manière anecdotique sur ceps malades. Cette remarque doit cependant être pondérée par l'observation parcelle par parcelle où l'on constate que la fréquence de *B. obtusa* peut atteindre les 80 % sur cep malade alors que *B. parva* peut représenter 100 % des isolats sur ceps asymptomatiques comme sur ceps malades.

Enfin, l'analyse des indices de diversité montre qu'il y a, à ce titre, peu de différence entre plants asymptomatiques et malades, et peu de variations entre les millésimes.

Conclusion

Certains genres et espèces semblent pouvoir être considérés comme majeurs (*Alternaria*, *Cladosporium*, *Botryosphaeria*, *Phoma*, ...), du moins en fonction des différents compartiments.

Ces résultats correspondants à trois années d'expérimentation, il ne saurait être question de tirer des conclusions ou trop partielles ou trop hâtives. Tout au plus peut-on remarquer que, pour ces millésimes et dans les conditions de notre étude, les symptômes de maladies du bois observés en Val de Loire semblent être liés principalement à des *Botryosphaeria*, *B. obtusa* et *B. stevensii* en 2009, *B. parva* en 2010, *B. parva* et *obtusa* en 2011. D'autres pathogènes notoires (*Phomopsis viticola*, *Bionectria* sp, *Fusarium proliferatum*, *Stereum hirsutum*, *Phoma* sp, ...) ont été isolés sans qu'il soit possible de les associer à un quelconque aspect des maladies du bois, toutefois leur impact devra être surveillé dans les années à venir. Malgré seulement 20% d'espèces communes, l'écorce et l'intérieur du cep présentent des profils relativement proches, 52 % des espèces endophytes (83 % des effectifs) se retrouvant sur écorce dans des proportions similaires. L'écorce pourrait donc

être le réservoir de nombreux pathogènes endophytes, tels les *Botryosphaeria*.

D'une manière générale, on constate peu de variations significatives entre ceps malades et ceps asymptomatiques. Cela peut signifier deux choses : soit les ceps asymptomatiques sont malades mais n'extériorisent pas la maladie, soit l'inoculum en *Botryosphaeria* n'est pas un facteur limitant, et c'est moins la présence de ces champignons que les relations plante/pathogène qui revêt de l'importance.

Les genres *Trichoderma* et *Epicoccum*, souvent décrits comme susceptibles d'exercer une certaine forme de biocontrôle sur les champignons associés aux maladies du bois, ne se retrouvent que rarement sur les ceps asymptomatiques et jamais à l'intérieur du bois, leur intérêt en tant qu'antagoniste in vivo semble donc limité.

La présence récurrente d'espèces appartenant à des genres réputés pour leurs capacités à produire des mycotoxines (*Penicillium*, *Fusarium*, *Alternaria*, *Phoma*, ...) doit inciter à une réelle vigilance.

Le genre *Aspergillus* n'avait été isolé qu'une fois sur baie en 2009 et dans le sol en 2010, ce champignon ne sem-

blait pas être la cause de problèmes majeurs. Cette absence montrait que les effets des changements climatiques en termes de transitions microbiologiques Nord/Sud n'étaient peut-être pas d'actualité. Il a cependant été retrouvé en 2011 sur une parcelle du Pays Nantais qui n'avait pourtant pas connu un été chaud et sec. Si l'abondance d'*Aspergillus* peut être un indicateur de changement climatique, sa simple présence sporadique ne semble pas être un indicateur fiable.

Contrairement à 2009 et 2010, certains vins obtenus en 2011 à partir des baies récoltées sur ces parcelles ont des taux de Géosmine assez élevés. Il n'a pas été possible de mettre en relation ces taux avec la présence de *Penicillium*, notamment *expansum* ou *thomii*. *Botrytis cinerea* semble donc le seul candidat sérieux à la production de cette molécule indésirable.

Les indicateurs de diversité utilisés et le suivi de leur évolution, semblent indiquer que la grande diversité enregistrée, outre une variation annuelle sans doute due aux conditions climatiques différentes d'une année à l'autre, répond plus à une structuration géographique (Est/Ouest) qu'à une caractérisation en fonction des cépages ou des "terroirs".

Perspectives

Le nombre d'espèces différentes isolées correspond à ce qui était attendu, il reste néanmoins à parfaire l'identification taxonomique finale des souches, éventuellement par le séquençage d'autres régions du génome (Béta tubuline, elongation factor).

Aucune variation notable de diversité n'a été mise en évidence entre la parcelle en mode de production "bio" (Les Hayes Martel) et les autres. D'autres études plus poussées seraient néces-

saires pour confirmer cette hypothèse. Cet aspect de la biodiversité et de l'éventuel impact des modes de production constitue une perspective intéressante d'application de la méthodologie utilisée pour cette étude. Une comparaison entre parcelles "bio" et parcelles conventionnelles géographiquement proches réparties sur le Val de Loire pourrait donc s'avérer utile. D'autres questions se posent aussi, notamment en ce qui concerne l'évolution des flores au long de l'année.

Les études menées par le passé sur *Botrytis cinerea* avaient montré des variations importantes entre la floraison et la récolte, l'étude de telles variations sur les populations présentes sur écorce et sur baie devrait permettre de mieux cerner les dynamiques de population.

Parallèlement, la majorité des espèces rencontrées sont potentiellement phytopathogènes ou productrices de mycotoxines. Leur éventuel impact sanitaire reste encore en question.