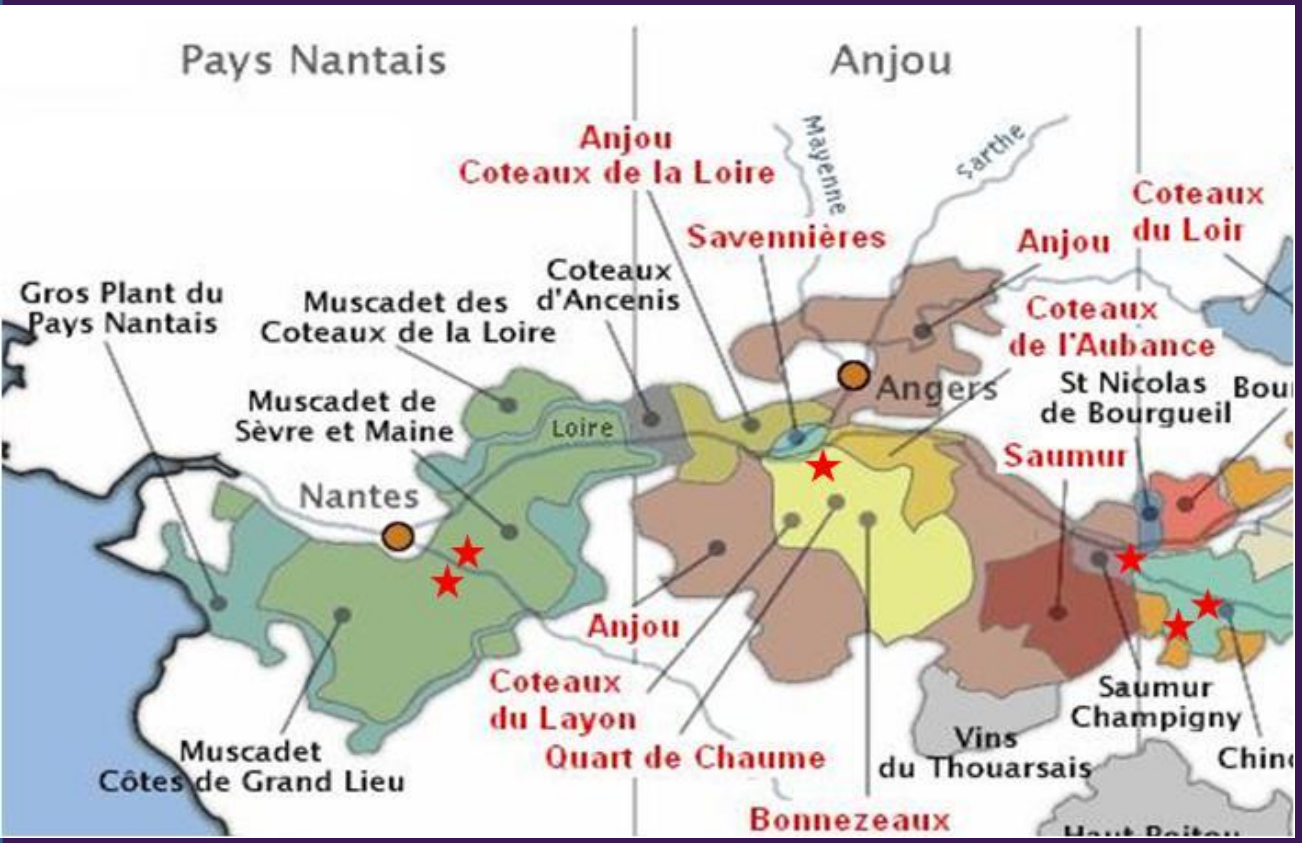
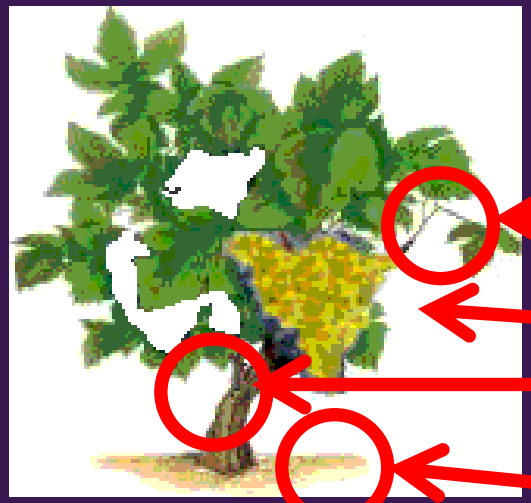
Diversité fongique secondaire du complexe sol/vigne/vin en Val de Loire.

Morvan COARER



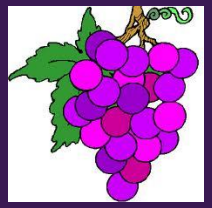
- 4 appellations:
  - Muscadet
  - Coteaux du layon
  - Saumur
  - Chinon
- 3 cépages :
  - Melon B
  - Chenin
  - Cabernet
- 6 parcelles
- 200 km de long

Méthodologie

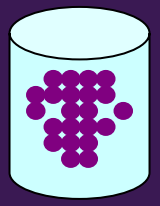


Prélèvements :
9 ceps par parcelle
Cep atteint + 2 ceps « sains » contigus

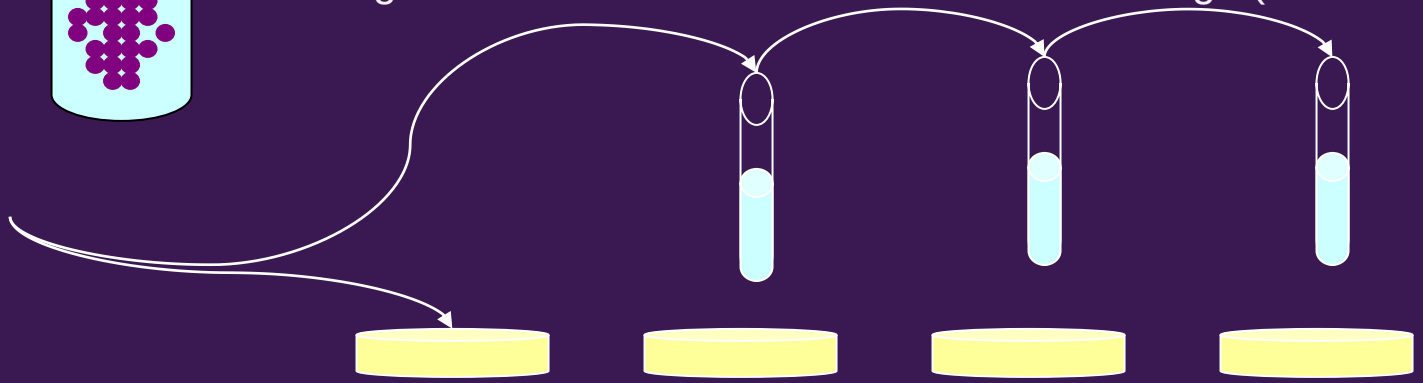
Mode opératoire baies



Échantillonnage à la parcelle : 200 baies prélevées de façon semi-stérile et aléatoire par grappillon de 5 baies



Lessivage des 200 baies dans une solution de lavage (1 ml / baie)



Analyse de la solution de lavage après dilution appropriée sur un milieu de culture spécifique.

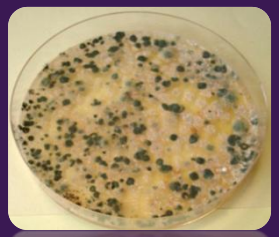
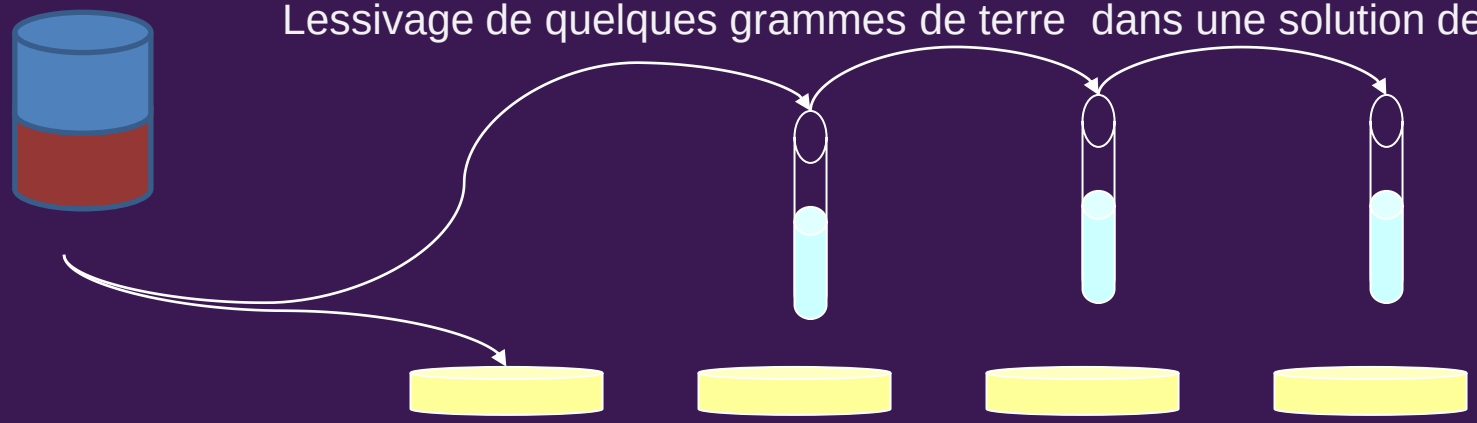


Photo : B. VINCENT 2006 © ITV France

Mode opératoire sol

Lessivage de quelques grammes de terre dans une solution de lavage



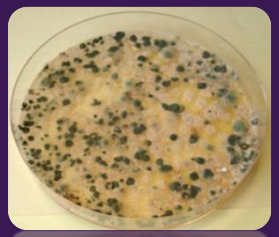
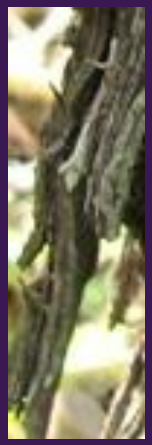
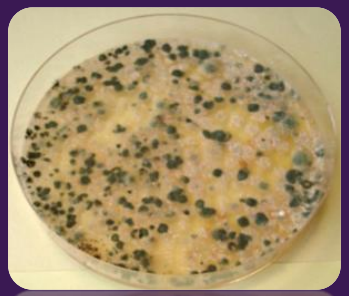


Photo : B. VINCENT 2006 © ITV France

Mode opératoire écorces



Dépôt sur boîte de pétri



isolement

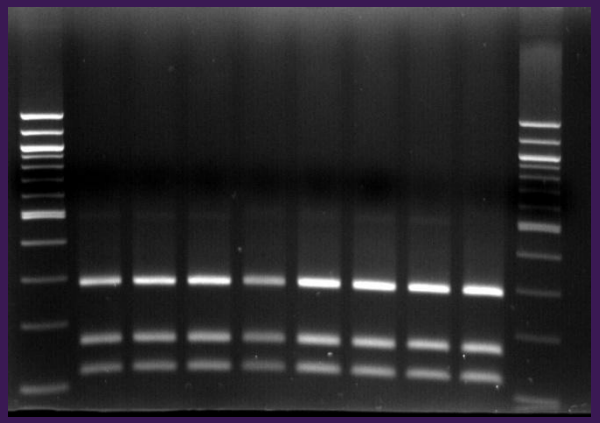
Mode opératoire ceps

- ⇨ Prélèvement d'un fragment de bois de 3 cm
- ⇨ Fractionnement du fragment en 5 sections désinfectées
- ⇨ Recherche des microorganismes
  - ➲ Dépôt de 5 sections par boite de Pétri (milieu de culture MEA)
  - ➲ Incubation 12 jours à 26 C

Aspect morphologique

Aspect microscopique (facultatif)

Identification génétique (PCR RFLP ITS et/ou séquençage)



Résultats

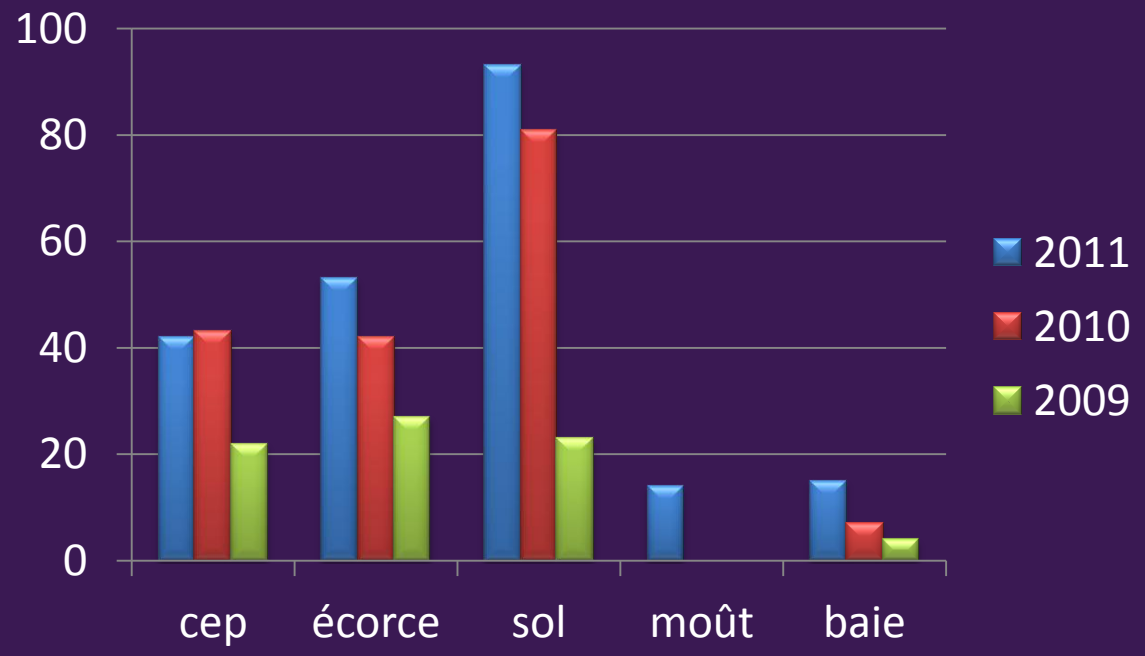
PARCELLE	NOMBRE DE SOUCHES 2009	NOMBRE DE SOUCHES 2010	NOMBRE DE SOUCHES 2011	NOMBRE DE SOUCHES 2012
1, haut planty	112	127	174	157
2, grande haie	133	159	182	134
3, cave courant	92	155	179	163
4, les essarts	107	125	137	119
5, hayes martel	94	127	171	102
6, saut au loup	99	153	143	118
total	637	846	986	793

COMPARTIMENT	NOMBRE DE SOUCHES 2009	NOMBRE DE SOUCHES 2010	NOMBRE DE SOUCHES 2011	NOMBRE DE SOUCHES 2012
baies	21	40	53	36
moût			52	0
écorce	258	264	282	279
bois	192	227	241	243
sol	166	315	358	235
total	637	846	986	793

Résultats

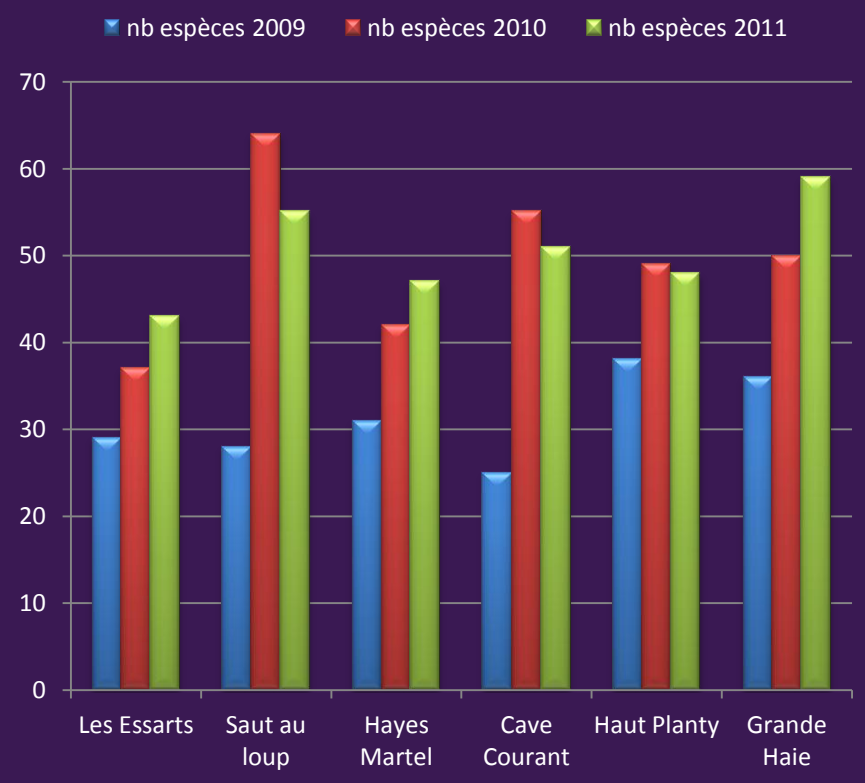
GENRE	COMPARTIMENT(S) 2009	COMPARTIMENT(S) 2010	COMPARTIMENT(S) 2011
Alternaria	écorce + bois +sol	partout	écorce + bois +sol
Aspergillus	baie	écorce	Sol + écorce
Aureobasidium	partout	partout	partout
Botryosphaeria	bois + écorce	bois + écorce	Bois + écorce + sol
Botrytis	partout	partout	partout
Epicoccum	bois + écorce	partout	bois + sol
Fusarium	écorce + sol	écorce + sol	Bois + écorce + sol
Mucor	écorce + sol	écorce + sol	partout
Trichoderma	sol	bois + écorce +sol	bois + écorce +sol
Cladosporium	bois + écorce	partout	partout

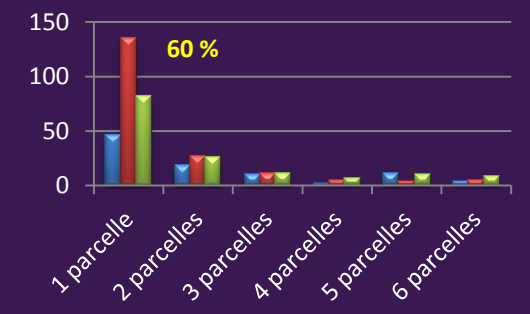
Résultats

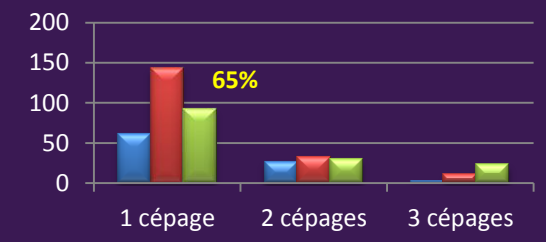


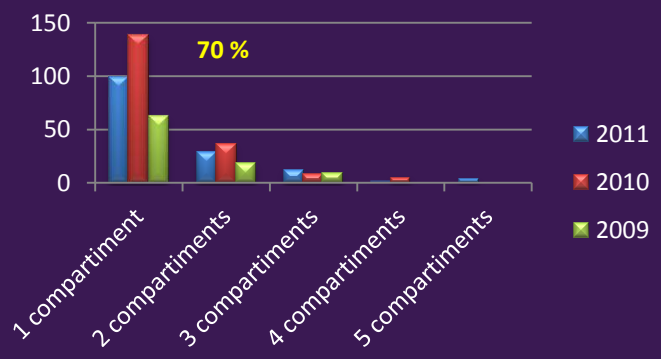
- La flore de la baie de raisin est réduite par rapport aux autres compartiments

Résultats

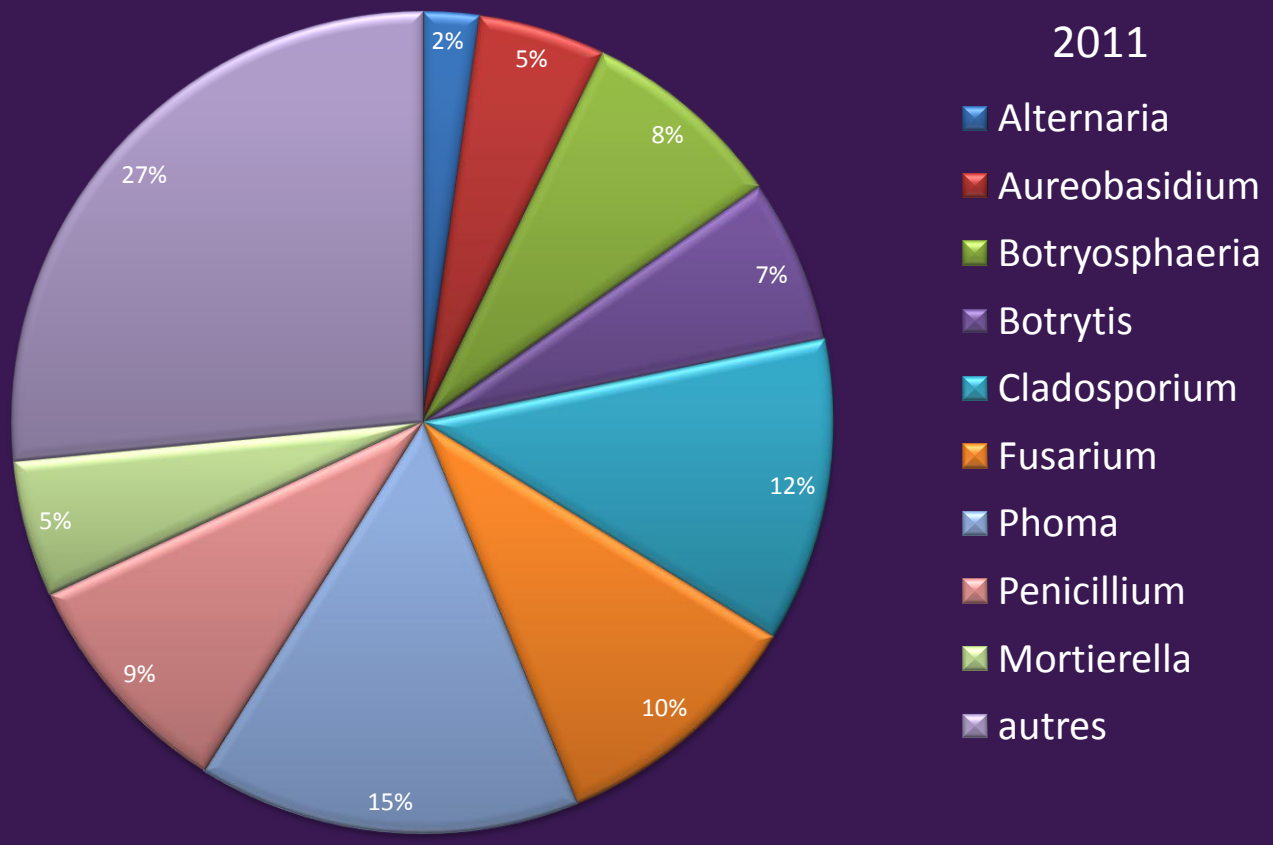

nb espèces 2009
nb espèces 2010
nb espèces 2011
70
60
50
40
30
20
10
0
Les Essarts
Saut au loup
Hayes Martel
Cave Courant
Haut Planty
Grande Haie


150
100
50
0
60 %
1 parcelle
2 parcelles
3 parcelles
4 parcelles
5 parcelles
6 parcelles


200
150
100
50
0
65%
1 cépage
2 cépages
3 cépages

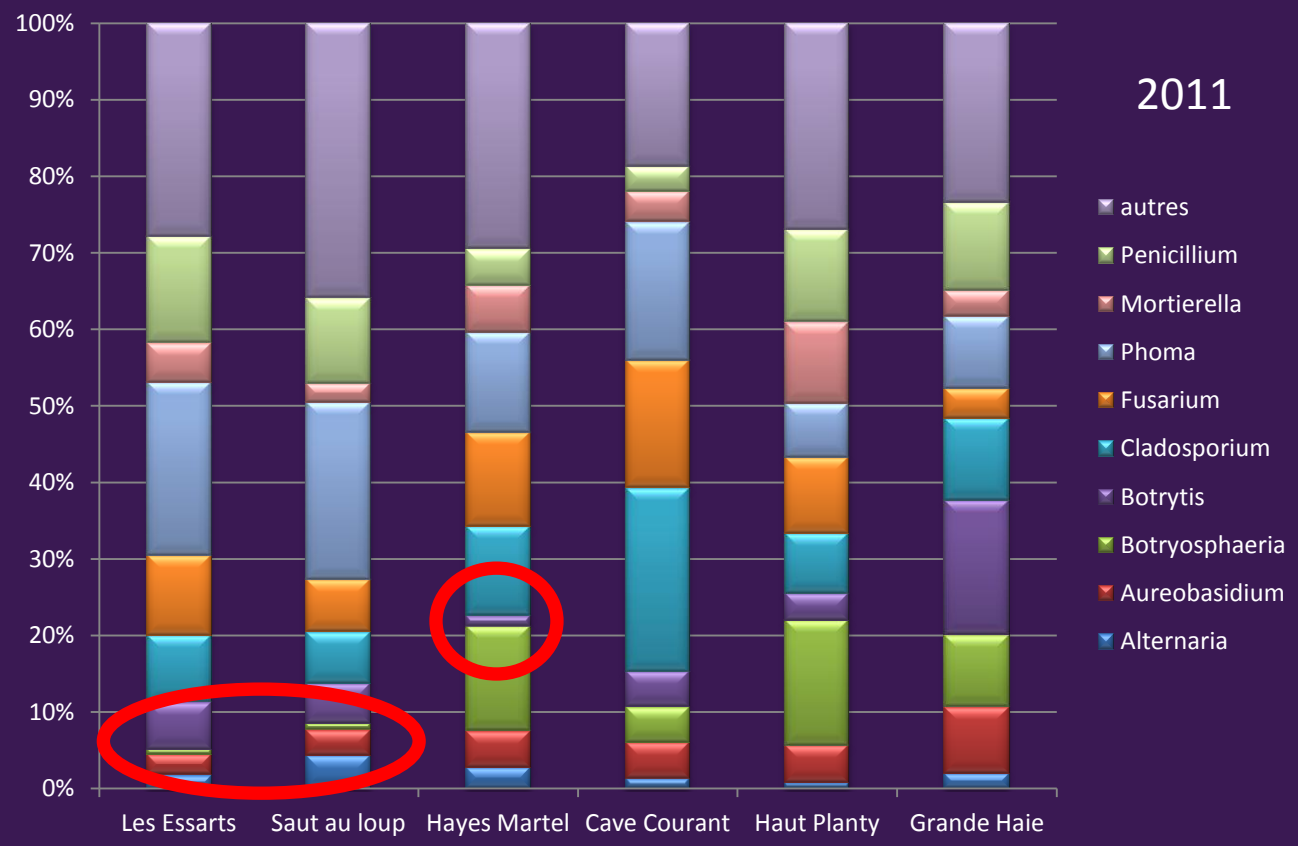

150
100
50
0
70 %
1 compartiment
2 compartiments
3 compartiments
4 compartiments
5 compartiments
2011
2010
2009

Résultats


2%
5%
8%
7%
12%
10%
15%
9%
5%
27%
2011
Alternaria
Aureobasidium
Botryosphaeria
Botrytis
Cladosporium
Fusarium
Phoma
Penicillium
Mortierella
autres

Résultats

Des variations notoires en fonction des parcelles



Résultats

Estimation de la diversité

Indice de Shanon
$H' = - \Sigma (Ni / N) \times Ln (Ni / N)$

Ni : nombre d'individus de l'espèce donnée.
N : nombre total d'individus.

Hétérogénéité

Indice de Piélou
$J' = H'/Hmax$

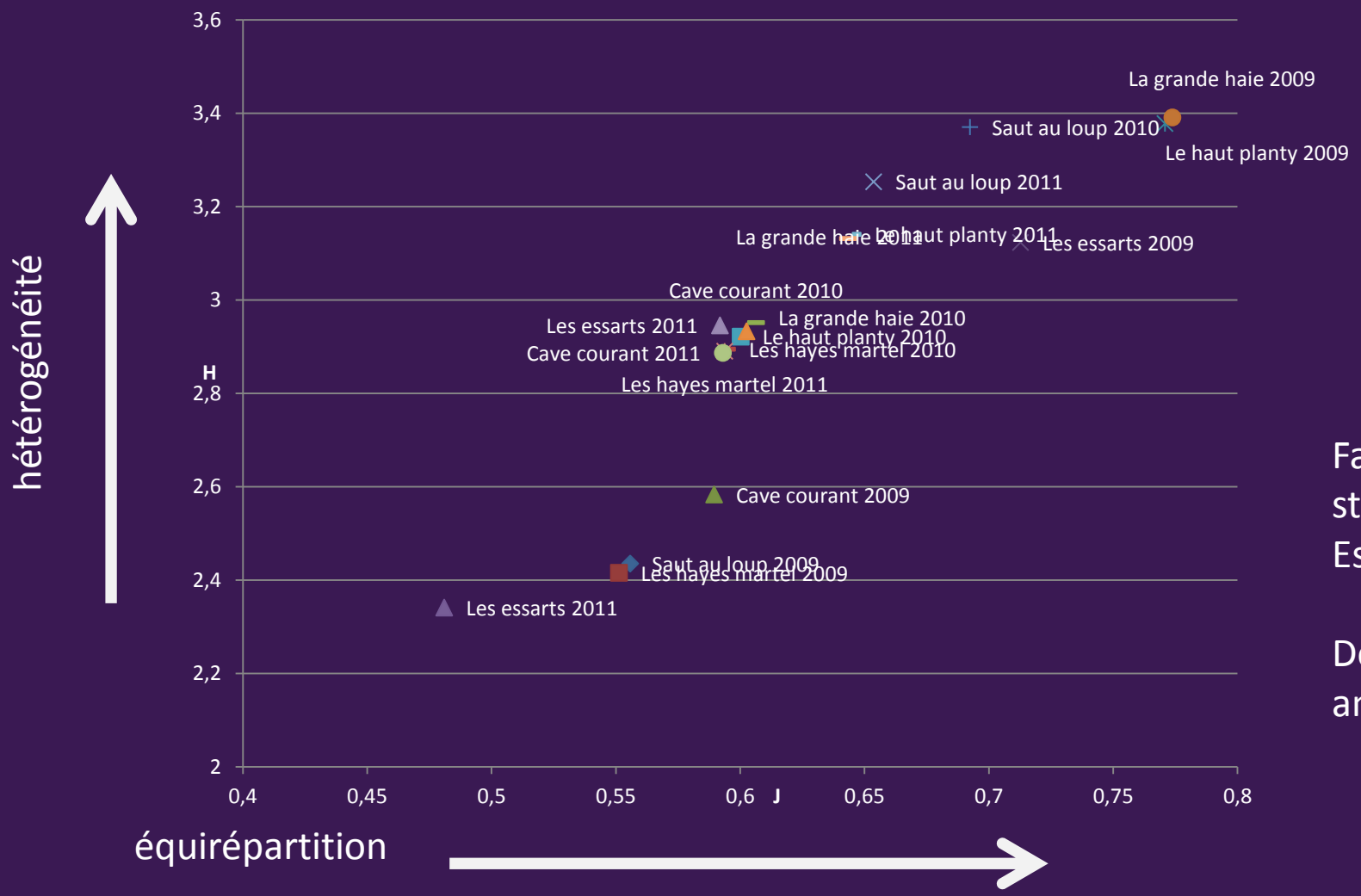
Equirépartition

Indice de Simpson
$D = \Sigma Ni(Ni-1)/N(N-1)$

Ni : nombre d'individus de l'espèce donnée.
N : nombre total d'individus.

Diversité intra population

Résultats



Faible structuration Est/Ouest

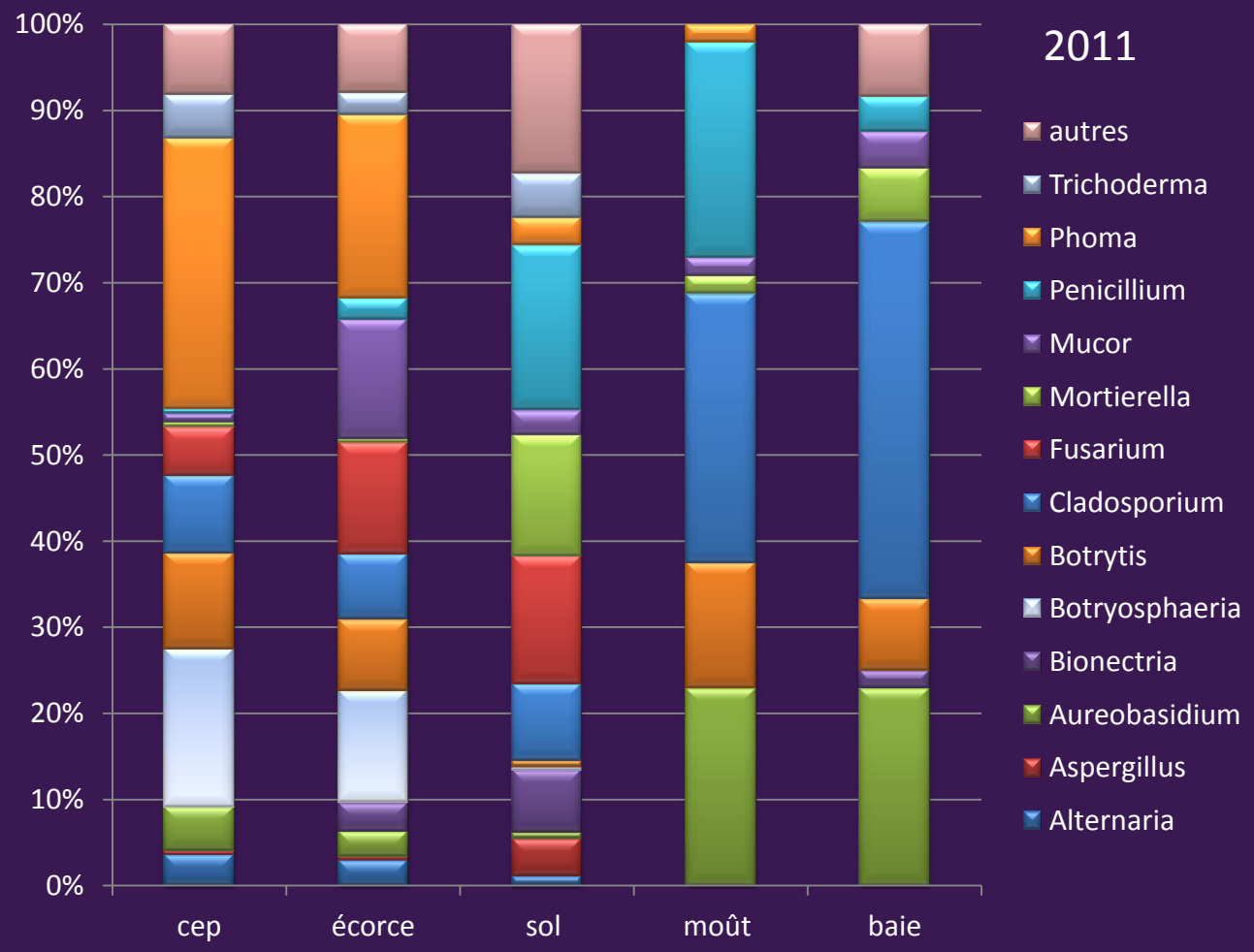
Des tendances annuelles

Résultats

Grandes variations d'un compartiment à l'autre

Absence de *Botryosphaeria* sur sol et baie,

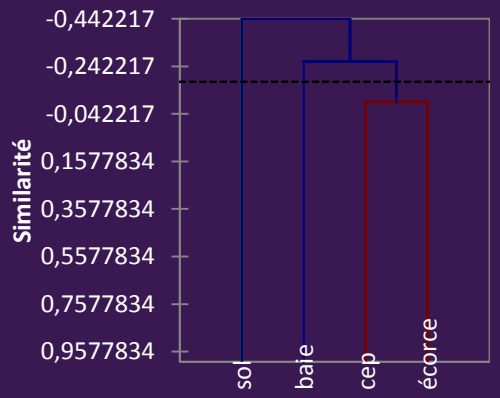
Peu de différences écorce / cep et baies / moût

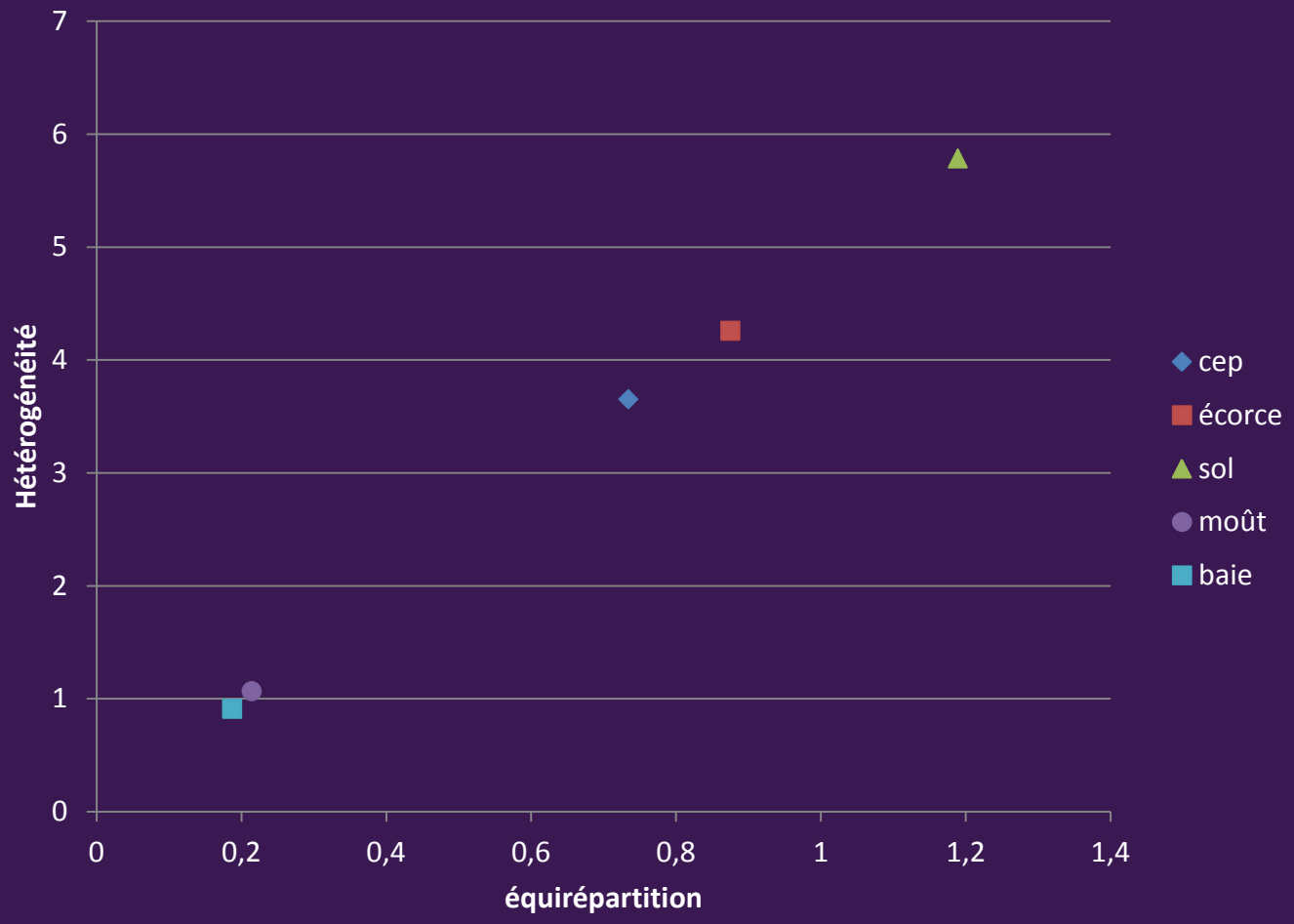


Résultats

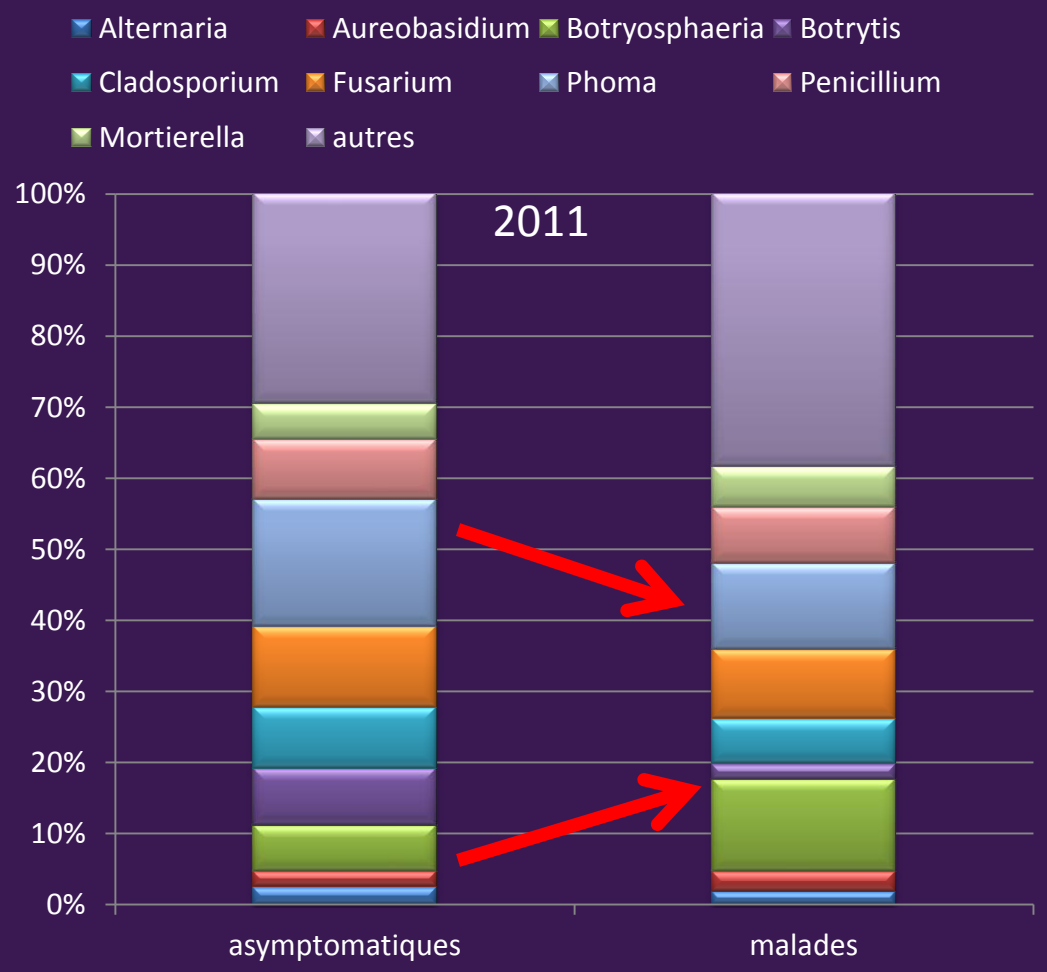
Plus grande diversité sur sol

Très faible diversité sur baie





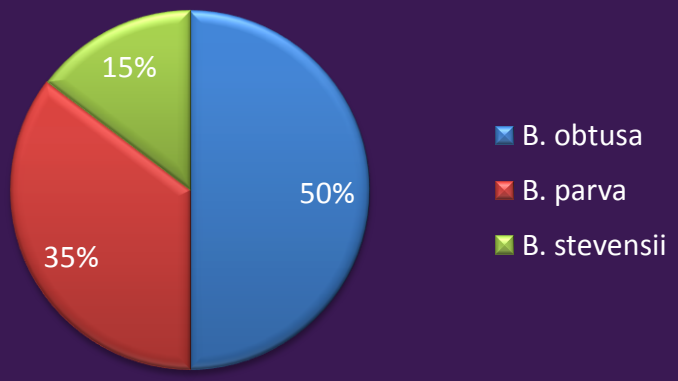
Résultats

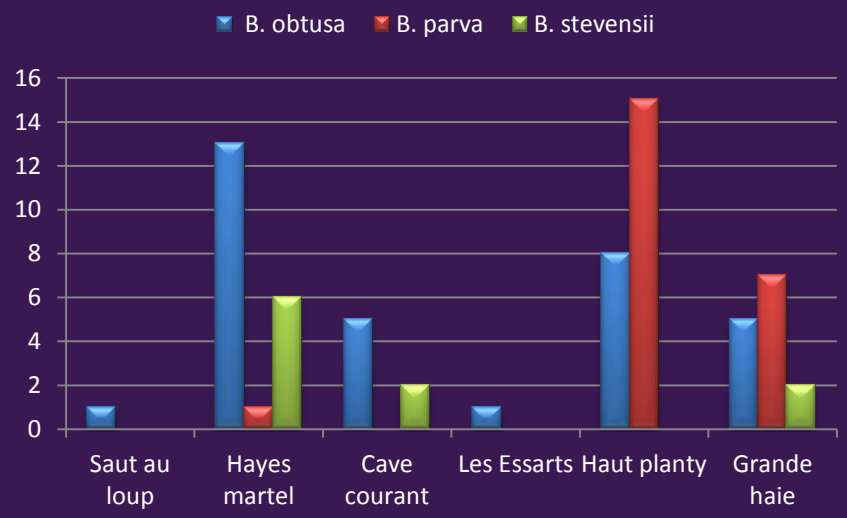


Peu de différences entre ceps malades et asymptomatiques : plus de *Botryosphaeria* et moins de *Botrytis* et de *Phoma*

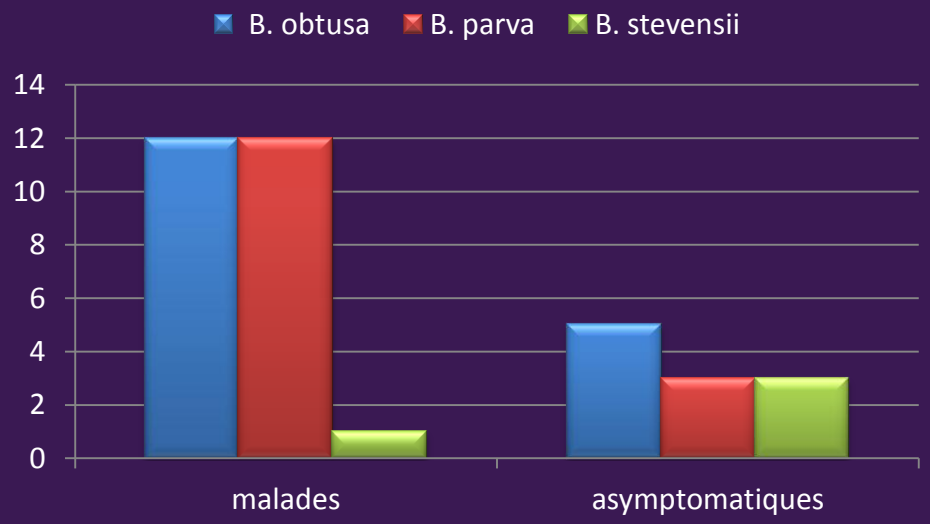
Résultats

2011

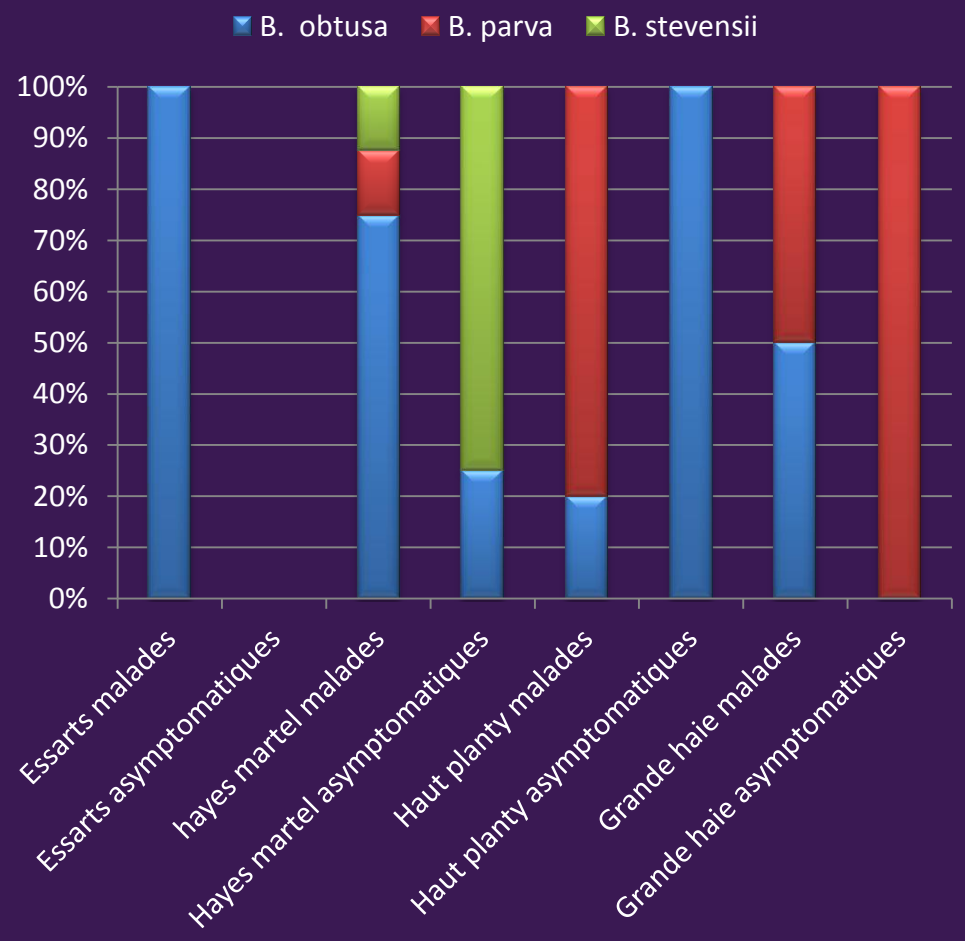




B. obtusa sur l'ensemble des parcelles, uniquement sur cep et écorce, *B. obtusa* et *parva* sur et dans ceps malades et « sains »



Résultats



2011

B. obtusa est toujours présent dans ceps malades contrairement à *B. parva,* (Différent pour les autres années : *B. obtusa* et *stevensii* en 2009, *parva* seul en 2010)

B. obtusa peut être exclusif dans les ceps malades comme dans les asymptomatiques.

Résultats

Parcelle	Géosmine 2009	Géosmine 2010	Géosmine 2011
Le Haut Planty	ND	9,6 ng/L	27 ng/L
Les Essarts	ND	9,5 ng/L	1 ng/L
Le Saut au Loup	ND	10,6 ng/L	ND
La grande Haie	ND	9,3 ng/L	46,4 ng/L
Cave Courant	ND	11,8 ng/L	ND
Les Hayes Martel	ND	9,0 ng/L	1,4 ng/L

Géosmine en présence de *Botrytis*, mais *Penicillium* absent sur baie

Conclusions

-Diversité :

-Grande diversité semblant plus liée à la géographie (et donc indirectement au climat) et au compartiment, mais pas au cépage

-Peu d'espèces ubiquistes

-Quelques genres toujours rencontrés *(Alternaria, Fusarium, Phoma, Botryosphaeria, Cladodporium, Botrytis, Penicillium*,…)

-Mycotoxines

-Peu de *Penicillium* sur baie (GMT plutôt lié à *Botrytis*), peu *d'Aspergillus* (OTA)

-Nombreuses espèces potentiellement mycotoxinogènes (Alternariol, Aflatoxine, DON , T2/HT2, Fumonisine, Patuline, …)

-Maladies du bois

-Pas de différence notoire entre populations des ceps malades et des asymptomatiques

-Trois espèces principales de *Botryosphaeria* : *obtusa*, *parva* et *stevensii,* pas ou peu d'autres champignons liés aux maladies du bois *(Pch, Pal, Eutypa)*

-Peu d'espèces potentiellement « bénéfiques » (*Epicoccum*, *Trichoderma*), surtout dans le cep

Livrables

-Suivi des grands indices de diversité par parcelle sur 4 années

-Inventaire des espèces présentes par parcelle sur 4 années

-Conservation des souches isolées dans CRB microorganismes Vigne et Vin

CRB
MICRO ORGANISMES – VIGNE ET VIN
INSTITUT FRANÇAIS DE LA VIGNE ET DU VIN

Perspectives

-Comparaison de différents modes de production (diversité et inventaire)

-Suivi de l'évolution des populations écorce et baie au cours du cycle végétatif (floraison, nouaison, fermeture, véraison, maturité)

-Phénotypage de certaines souches « à risque »

MERCI POUR VOTRE ATTENTION