

## Démarches innovantes pour une protection durable du vignoble

D. Thiéry<sup>(2)</sup>, P. Rey<sup>(2)</sup>, L. Delière<sup>(2)</sup>, A. Calonnec<sup>(2)</sup>, P. Lecomte<sup>(2)</sup>, P. Cartolaro<sup>(2)</sup>, M. Fermaud<sup>(2)</sup>, L. Guerin<sup>(2)</sup>, D. Blancard<sup>(2)</sup>, M. van Helden<sup>(2)</sup>, G. Louvet<sup>(2)</sup>, F. Delmotte<sup>(2)</sup>, M.-F. Corio-Costet<sup>(2)</sup>, D. Papura<sup>(2)</sup>, C. Schneider<sup>(1)</sup>, S. Merdinoglu-Wiedemann<sup>(1)</sup>, P. Mestre<sup>(1)</sup>, E. Prado<sup>(1)</sup>, D. Merdinoglu<sup>(1)</sup>.

<sup>(1)</sup> INRA, UMR 1131 Santé de la Vigne et Qualité du Vin Colmar INRA-UJP, 28 rue de Herrlisheim, BP 20507, 68021 Colmar cedex, France. <http://www.colmar.inra.fr/pages/SVQV.html>

<sup>(2)</sup> INRA, UMR 1065 Santé Végétale INRA-ENITAB, 71 Av E. Bourlaux, BP 81, 33883 Villenave d'Ornon cedex, France. <http://www.bordeaux.inra.fr/umrsv/>

### I) La protection intégrée du vignoble : enjeux agronomiques et stratégies

#### 1.1) Contexte de la protection de la vigne contre ses bioagresseurs

La protection contre les agents pathogènes, ravageurs de grappes et vecteurs de maladies de la vigne est actuellement essentiellement réalisée par des moyens de lutte chimique, la viticulture se situant au second rang sur le marché des produits phytosanitaires après les céréales. Malgré son efficacité pour limiter les pertes de récolte quantitatives et qualitatives, ce moyen de protection des plantes peut générer des effets directs ou indirects indésirables sur (i) la qualité des vins (anomalies de goût, diminution de richesse en sucre et destruction des arômes variétaux,...), (ii) l'environnement (accumulation des résidus de pesticides dans le sol, perturbation des équilibres microbiens et de la flore auxiliaire), (iii) la santé humaine (présence de résidus de matières actives dans le vin, l'eau, l'atmosphère), (iv) le bénéfice du viticulteur, les traitements représentant jusqu'à 50 % des charges d'approvisionnement des exploitations.

Les produits phytosanitaires sont parfois responsables de pollutions de l'environnement, et ont une image négative dans l'opinion publique. Ainsi après la prise de conscience dans les années 1960-70 des effets nocifs d'une utilisation massive et exclusive des pesticides chimiques, la notion de « développement durable » a connu un succès croissant depuis la fin des années 1980. L'objectif de ce type de développement étant de « répondre aux besoins du présent sans compromettre la capacité des générations futures à satisfaire les leurs », une agriculture dite durable, en adéquation avec cette définition, a progressivement vu le jour. Une profonde mutation dans les pratiques est actuellement en cours. Un exemple est donné par les nouvelles autorisations 2005 et 2006 de produits de protection de la vigne, dont 3 formulations d'origine biologique. Un autre exemple récent est l'utilisation en viticulture de médiateurs chimiques régulant la reproduction des insectes ravageurs (confusion sexuelle). Enfin, l'obtention de variétés résistantes ouvre des perspectives nouvelles en terme de protection. En effet, la stratégie française actuelle du "tout pesticide" n'est pas forcément celle adoptée par d'autres pays viticoles tels que l'Allemagne qui a mis en oeuvre des programmes de sélection depuis plusieurs dizaines d'années ayant, à ce jour, abouti à des nouvelles variétés réunissant des résistances à l'oïdium et au mildiou (variétés Regent, Solaris, Bronner, Johanniter...) et qui sont expérimentées dans d'autres pays européens.

La viticulture est une composante majeure de l'agriculture française, en termes économiques et culturels, la qualité et la typicité des vins français participant en effet à l'image du pays dans le monde. L'un des enjeux majeurs pour la viticulture française est clairement la maîtrise des applications de produits phytosanitaires, tout en maintenant une haute exigence sur la qualité du produit.

L'objectif de ce document est de présenter, parmi les recherches effectuées à l'INRA de Bordeaux et à l'INRA de Colmar, celles dont la finalité à court, moyen ou long terme est le contrôle des maladies par le

développement de méthodes minimisant l'utilisation d'intrants. Ces recherches menées par l'INRA répondent d'un enjeu sociétal considérable qui est le développement de pratiques culturales innovantes, respectant l'environnement, dans le cadre d'une agriculture durable tout en maintenant le haut niveau d'exigence qualitative de la filière viticole française.

### 1.2) Bioagresseurs étudiés et problématiques associées au niveau de la protection de la vigne

Pour assurer une protection durable du vignoble, il est nécessaire de connaître le fonctionnement des bioagresseurs, la génétique et la dynamique de leurs populations ainsi que les processus épidémiologiques qui en découlent. Pour rechercher des pratiques innovantes, des expérimentations au niveau fondamental ou des essais à valorisation rapide au champ sont ainsi nécessaires pour :

- Comprendre la diversité et l'évolution des populations de bioagresseurs dans l'environnement viticole.
- Comprendre et exploiter les relations entre les bioagresseurs et la plante.
- Elaborer des processus opérationnels de décision pour l'application de traitements.

L'INRA de Bordeaux étudie plusieurs bioagresseurs des parties aériennes de la vigne (feuilles ou grappes) : *Plasmopara viticola*, l'agent du mildiou, *Erysiphe necator*, l'agent de l'oïdium, *Botrytis cinerea* qui est responsable de la pourriture grise, ainsi que plusieurs insectes ravageurs de grappes (Eudémis et Cochylys) ou de feuilles (Cicadelle verte) ou un vecteur de phytoplasmoses (la cicadelle de la flavescence dorée). Pour le dépérissement du cep, le complexe fongique pionnier impliqué dans le déclenchement de ces pathologies est constitué de *Phaemoniella chlamydospora* et *Phaeoacremonium aleophilum* (esca), *Eutypa lata* (eutypiose) et *Botryosphaeria* spp. (Black Dead Arm).

Actuellement, la lutte contre ces bioagresseurs ne satisfait pas aux critères d'une protection dont l'objectif est, entre autres, une réduction des traitements. Par exemple, contre le mildiou ou l'oïdium, de très nombreux traitements pesticides sont nécessaires car tous les cépages en France sont issus de l'espèce *Vitis vinifera* qui est sensible à ces deux maladies. Ils représentent jusqu'à 60% des produits phytosanitaires utilisés, soit une dépense annuelle globale de 225 millions d'euros. À l'inverse, contre les maladies du bois, les viticulteurs ne disposent d'aucun moyen de lutte chimique efficace depuis l'interdiction en 2001 de l'arsénite de sodium d'une toxicité trop élevée pour l'Homme et l'environnement. La lutte chimique contre *Botrytis cinerea* est possible mais les traitements sont obligatoirement limités en raison de l'apparition de résistances.

Sur le plan du matériel végétal innovant, l'INRA de Colmar s'est engagé dans un programme de sélection visant à créer, à terme de 10 à 12 ans, une gamme de 6 à 12 variétés rouges et blanches, sans défaut de flaveur, adaptées aux trois ensembles viticoles français et cumulant plusieurs sources de résistance au mildiou et à l'oïdium. La connaissance des bases génétiques, moléculaires et physiologiques des résistances naturelles chez la vigne est un pré-requis pour la création variétale. C'est pourquoi, en soutien au programme d'innovation variétale, l'INRA a également mis en place un programme de recherche dont les objectifs majeurs sont l'identification et la localisation sur le génome des gènes ou des régions chromosomiques impliqués dans les résistances aux bioagresseurs, la caractérisation des mécanismes moléculaires et cellulaires mis en place lors de l'interaction plante / pathogène dans les diverses sources de résistances disponibles. Ces éléments sont primordiaux pour accélérer la sélection et pour choisir les combinaisons de gènes les plus complémentaires en terme d'efficacité et de durabilité de résistance. A travers la stratégie dite de pyramidage consistant à associer plusieurs facteurs génétiques dans une même variété, l'INRA cherche donc à créer des variétés possédant une résistance de haut niveau et limitant les risques de contournement par les populations de pathogènes.

## 2) Apport de l'innovation variétale : exemple de la résistance au mildiou et à l'oïdium

### 2.1) Motivations, principe et objectifs de l'innovation variétale

La sélection créatrice est un processus long et complexe qui vise à créer de nouvelles variétés à partir de ressources génétiques possédant des caractéristiques originales. En général, ce processus nécessite la mise en oeuvre de deux étapes qui se succèdent, parfois plusieurs fois de suite en alternance : une étape de croisement ou d'hybridation, dont l'objectif est le brassage des gènes qui détermineront les caractéristiques des descendants ; une étape de sélection dont l'objectif est le choix des descendants qui présentent les caractéristiques les plus intéressantes. Avant d'engager un programme de sélection créatrice pour améliorer un caractère dans une espèce donnée, plusieurs critères doivent être remplis : la nécessité technique et/ou socio-économique d'améliorer le caractère ; la disponibilité de ressources génétiques possédant des formes favorables du caractère à améliorer ; la possibilité d'hybrider les ressources génétiques entre elles ; la maîtrise d'une méthode de caractérisation fiable pour évaluer le caractère à améliorer. Concernant le mildiou et l'oïdium, l'existence de ressources génétiques et la maîtrise de tests de résistance performants rendent l'amélioration génétique de la vigne possible pour la résistance à ces deux maladies. La question des maladies du bois est plus difficile à aborder car la mise au point de tests permettant d'évaluer les ressources génétiques est très récente et réalisée uniquement pour un nombre restreint de pathogènes. Pour les viroses graves, aucune résistance aux virus n'a été, à ce jour, identifiée dans les ressources génétiques disponibles. Dans ce dernier cas, la seule voie actuellement envisageable est la création de plantes génétiquement modifiées par l'utilisation de la stratégie de résistance dérivée du pathogène. En revanche, des résistances au nématode *Xiphinema index* vecteur du court-noué sont en cours d'étude.

Pour l'ensemble des raisons précédemment présentées, l'INRA a pris la décision en 2000 de relancer des programmes d'innovation variétale. L'objectif général de ce projet est de favoriser le développement d'une viticulture durable, économe et plus respectueuse de l'environnement. Il vise à réduire l'emploi des fongicides nécessaires au contrôle des deux maladies majeures de la vigne que sont le mildiou et l'oïdium par la création de variétés de vigne possédant une résistance efficace et durable et ayant une bonne qualité organoleptique. Afin d'éviter la déconvenue des hybrides producteurs directs créés dans la première moitié du XX<sup>ème</sup> siècle et d'augmenter les chances d'un succès rapide, ces programmes de sélection doivent s'appuyer sur des fondements scientifiques solides, notamment en ce qui concerne les bases génétiques des sources de résistance utilisées.

Ces recherches visent notamment à évaluer, a) les ressources génétiques de la vigne et à caractériser les facteurs génétiques impliqués dans les résistances aux bioagresseurs, b) la diversité génétique des pathogènes et leur potentiel évolutif et à identifier les facteurs impliqués dans l'interaction avec la plante-hôte. Elles nous permettront de mieux appréhender l'efficacité des résistances et leur durabilité.

Le déterminisme génétique de la qualité du raisin et des autres caractéristiques agronomiques importantes est également étudié. De ces connaissances découleront des méthodes qui permettront, d'une part, d'accélérer le processus de sélection en le réduisant de plusieurs années et d'autre part, de mieux orienter le choix des variétés durablement les plus résistantes et possédant également le meilleur potentiel qualitatif.

### 2.2) Les bases génétiques et moléculaires de la résistance au mildiou

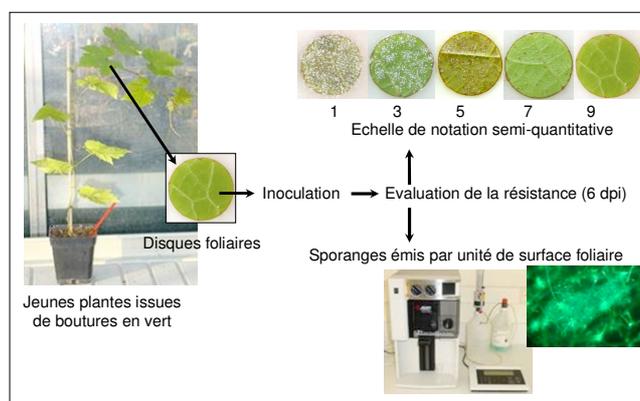
L'étude des bases génétiques et moléculaires de la résistance de la vigne à *Plasmopara viticola*, oomycète responsable du mildiou, constitue, à ce jour, notre principal objectif scientifique. Ce programme tente de prendre en compte le pathosystème « vigne-mildiou » comme un ensemble étudié *via* ses deux composantes. Les connaissances acquises sur d'autres pathosystèmes nous ont amenés

à faire l'hypothèse que l'association de facteurs génétiques différents ou complémentaires est susceptible de conférer une résistance plus efficace et plus durable. Le choix le plus pertinent des facteurs génétiques à combiner dans un même génotype nécessite alors la connaissance de leur fonction moléculaire et cellulaire, de leur spécificité, des mécanismes de réponse à l'infection et de leur effet biologique en prenant en compte les dimensions spatiales, temporelles et/ou phénologiques.

### Analyse génétique et moléculaire des sources de résistance

Plusieurs sources naturelles de résistance au mildiou et à l'oïdium, sur lesquelles peut s'appuyer l'innovation variétale, ont été décrites dans les espèces de *Vitis* d'origines américaine et asiatique apparentées à la vigne cultivée européenne (*Vitis vinifera*). Afin d'aborder la caractérisation génétique de ces sources, une première phase du projet a consisté à développer un test biologique en conditions contrôlées permettant d'évaluer de façon reproductible et quantitative la résistance à *Plasmopara viticola*.

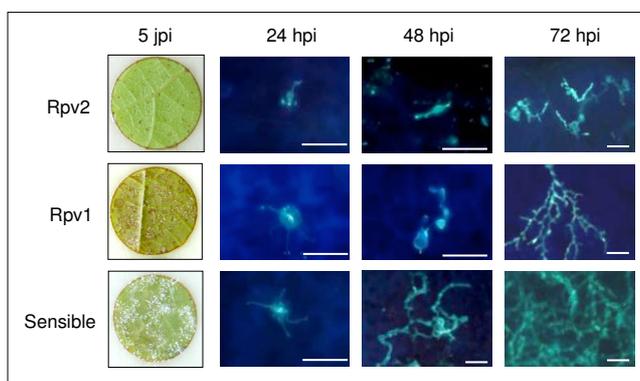
A l'aide de ce test, une collection de ressources génétiques comprenant des espèces de *Vitis* d'origines asiatique et américaine a été évaluée pour la résistance au mildiou. Une grande diversité de comportement a été observée tant au niveau interspécifique qu'au niveau intraspécifique, montrant que différentes espèces tant américaines qu'asiatiques possèdent des mécanismes de résistance au mildiou allant jusqu'à la résistance totale.



**Figure 1.** Principales étapes de l'évaluation quantitative de la résistance au mildiou

Des espèces résistantes au mildiou ayant été identifiées, nous avons entrepris l'étude de leur déterminisme génétique pour connaître le nombre de facteurs génétiques qui gouvernent la résistance, leur position sur le génome de la vigne, la manière dont ils agissent, seuls ou en interaction. Cette question est abordée par l'étude de descendances issues de croisements entre deux plantes aux caractéristiques opposées pour le trait étudié, en examinant à la fois leur phénotype, c'est à dire leurs caractéristiques pour le caractère étudié –ici, la résistance au mildiou- et leur génotype à l'aide de marqueurs moléculaires répartis sur le génome. L'analyse conjointe de ces deux éléments, phénotype et génotype, permet de localiser sur le génome, les gènes ou les régions chromosomiques impliquées dans le caractère étudié. Ces régions quand elles agissent sur des caractères quantitatifs sont appelées en anglais Quantitative Trait Loci (QTL), soit en français loci ayant un effet sur un caractère

quantitatif. Dans un premier temps, l'espèce *Muscadinia rotundifolia*, apparentée aux vrais *Vitis*, a été étudiée du fait de son haut niveau de résistance et des populations disponibles à l'INRA de Montpellier. Après évaluation du niveau de résistance d'une population issue d'un croisement entre un descendant résistant de *Muscadinia rotundifolia* et la variété Syrah, un QTL expliquant 75% de la variation totale du niveau de résistance observé a été identifié et cartographié sur le chromosome 12 du génome de la vigne. Cette région, du fait de son effet important sur la résistance, a été considérée comme un gène majeur et appelé *Rpv1*. *Rpv1* est situé au même locus que le gène *Run1* de résistance à l'oïdium précédemment décrit. Afin d'isoler et de comprendre la fonction de ces deux gènes, l'INRA a initié l'isolement par clonage positionnel des gènes *Run1* et *Rpv1*, en collaboration avec une équipe australienne du CSIRO d'Adélaïde. A ce jour, le travail est dans sa phase finale. A l'aide d'une seconde population de cartographie également dérivée de *Muscadinia rotundifolia*, un deuxième QTL majeur de résistance au mildiou, appelé *Rpv2*, a été identifié et localisé sur le groupe de liaison 18. Par ailleurs, une nouvelle population issue d'une autre source de résistance au mildiou, *Vitis riparia*, a permis la mise en évidence de quatre QTL à effet faible répartis sur différents chromosomes. Enfin, il a été récemment mis en évidence un QTL majeur situé sur le chromosome 14 gouvernant la résistance issue de l'espèce d'origine asiatique *Vitis amurensis*.



**Figure 2** : Après inoculation par *P. viticola*, *Rpv2* provoque une inhibition de la sporulation du pathogène associée à de très petites réactions nécrotiques alors que *Rpv1* ralentit sa progression mais autorise une sporulation limitée 5 jours post-inoculation (5 jpi). L'analyse cytotologique de la progression de *P. viticola* dans les étapes précoces de l'infection permet de montrer que ces deux loci gouvernent des modes de résistances distincts : *Rpv2* provoque un arrêt rapide du développement de *P. viticola*, souvent 24 hpi (heures post-inoculation), ce qui inhibe toute possibilité de sporulation, alors que *Rpv1* ralentit sa progression sans la stopper. (barre = 50  $\mu$ m)

Après avoir mis en évidence l'existence de ces facteurs génétiques de résistances, nous avons entrepris l'étude de leur spécificité, des mécanismes de réponse à l'infection et de leur effet biologique en prenant en compte les dimensions spatiale et temporelle. Les premières observations sur les effets respectifs de *Rpv1* et *Rpv2* nous ont amenés à penser que ces QTL ont un mode d'action différent sur *Plasmopara viticola* ou qu'ils agissent à des stades distincts de son développement. Pour comprendre les mécanismes de défense associés à ces QTL, nous avons entrepris d'effectuer l'analyse globale du transcriptome, c'est à dire de l'ensemble des gènes exprimés dans une situation déterminée, visant à comparer différents génotypes sensibles et résistants au cours des stades successifs de l'infection par le pathogène. Ces données sont en cours d'analyse mais elles permettent dès à présent de montrer qu'un grand nombre de gènes voient leur expression induite ou réprimée en réponse à l'attaque par *Plasmopara viticola* spécifiquement en présence de *Rpv1*, de *Rpv2* ou des deux QTL, alors que très peu de gènes voient leur expression modifiée spécifiquement dans les individus sensibles.

### Analyse fonctionnelle des gènes de *Plasmopara viticola* impliqués dans la virulence et le pouvoir pathogène

Un autre volet du programme sur la résistance de la vigne au mildiou porte sur l'étude des gènes de *Plasmopara viticola* impliqués dans la virulence. En effet, les produits de ces gènes d'avirulence sont fondamentaux dans l'interaction entre une plante et un pathogène car ils déterminent en partie la manière dont la plante va répondre à l'agression, c'est à dire, si elle va être malade ou non. Ce projet de recherche vise donc à l'identification des gènes d'avirulence du mildiou correspondant aux gènes de résistance de différentes espèces des Vitacées et à leur analyse fonctionnelle. La stratégie est d'obtenir une banque des gènes de *P. viticola* enrichie en séquences spécifiquement exprimées (ARN) au cours de l'infection, puis à sélectionner des séquences présentant des caractéristiques propres des gènes d'avirulence et finalement à exprimer ces protéines dans les feuilles de vigne afin de tester leur fonction.

Cette activité a démarré mi-2005. Une part importante du temps a été consacrée à la prise en main du système biologique et l'établissement des conditions expérimentales les plus adéquates au projet. Un des principaux résultats de ce travail préliminaire a été la mise au point d'une méthode de germination de spores de mildiou *in vitro* afin de permettre l'extraction d'ARN des premiers stades de développement du mildiou. Par ailleurs, nous avons créé et analysé les premières banques de gènes de *P. viticola* spécifiquement exprimés au cours de l'infection.

### Potentiel évolutif et diversité de *Plasmopara viticola*

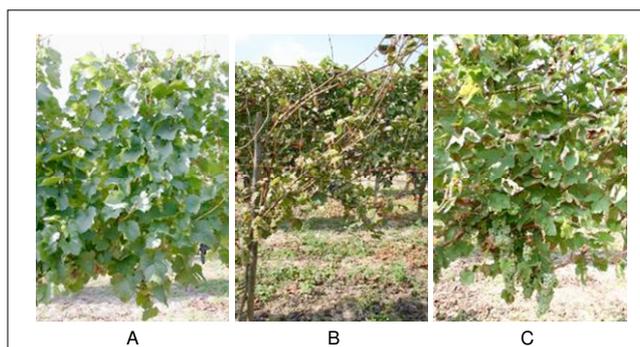
L'objectif est d'évaluer le potentiel évolutif des populations de *P. viticola* naturelles quand elles sont confrontées à des plantes portant des résistances. Des infections successives d'espèces de *Vitis* (à résistance partielle de moyen à haut niveau) en conditions contrôlées ont pu conduire à un gain d'agressivité de certains isolats et révéler des faiblesses chez des génotypes résistants. Nous avons cherché à caractériser ces changements d'agressivité en fonction des sources de résistance en alliant analyses cytologiques et mesures de la biomasse du pathogène (PCR cinétique) à divers stades du cycle infectieux afin de définir des composantes plus précises de la pathogénicité. Certains points-clés du cycle infectieux ont été identifiés qui révèlent des distinctions entre isolats plus ou moins agressifs au fur et à mesure des cycles d'infection et qui serviront de cibles d'investigation pour étudier les particularités biologiques et génétiques de pathotypes intéressants de *P. viticola*. En parallèle, nous avons mis au point des marqueurs moléculaires (microsatellites, SCAR) pour l'analyse de la diversité génétique des populations naturelles de *P. viticola*.

Le mildiou de la vigne est une espèce endémique d'Amérique du Nord. Nous avons montré que l'introduction du mildiou en l'Europe au XIX<sup>ème</sup> siècle (1878) avait conduit à un très fort goulot d'étranglement des populations, la diversité génétique du pathogène en Europe étant très faible au regard de celle de l'Amérique du Nord. De plus, nous avons mis en évidence l'existence de « sous-espèces cryptiques » de mildiou de la vigne aux Etats-Unis, probablement associées à une spécialisation des populations sur les espèces de Vitacées sauvages et cultivées. Ces récents résultats obtenus sur la diversité du mildiou de la vigne ont une importance capitale au regard des recherches menées sur les gènes de résistance de la plante. En effet, pour évaluer les risques de contournements des résistances de la plante par le mildiou, les améliorateurs doivent maintenant confronter leurs variétés résistantes à des isolats du pathogène représentant la plus large variabilité génétique possible, en particulier à des souches d'origine américaine. L'étude de l'interaction entre *V. vinifera* et *P. viticola* en Amérique du Nord fournit un 'laboratoire grandeur nature' pour évaluer l'impact de nouvelles introductions de mildiou de la vigne en Europe.

### 2.3) Création de variétés de vigne à résistance durable au mildiou et à l'oïdium pour la production de vins de qualité

Ce programme d'innovation variétale s'inscrit dans le prolongement des recherches poursuivies par l'INRA sur les pathosystèmes vigne-bioagresseurs et des collaborations engagées avec des équipes étrangères dans ce domaine. Il s'agit tout d'abord de valider les résultats relatifs aux bases génétiques et moléculaires de la résistance au mildiou et à l'oïdium, ainsi qu'à la diversité et au potentiel évolutif de ces agents pathogènes. L'objectif est aussi de valoriser ces recherches, en proposant à la filière viticole française des variétés adaptées à la réduction des intrants phytosanitaires.

La stratégie adoptée est focalisée sur l'efficacité et la durabilité des résistances et la qualité des produits. Elle repose en conséquence sur : (i) l'association par hybridation de plusieurs sources de résistance issues de *Vitis* sauvages, afin d'obtenir des résistances de type polygénique peu susceptibles d'être contournées ; (ii) l'utilisation de géniteurs possédant majoritairement un fond génétique cultivé, afin de limiter les caractères agronomiques et technologiques défavorables pouvant provenir des espèces sauvages ; (iii) la mise en œuvre d'un schéma de sélection mêlant génotypage, phénotypage et évaluation multilocale des génotypes créés.



**Figure 3** : Développement comparé au vignoble de la variété sensible chardonnay avec une protection phytosanitaire (A), de la variété sensible chardonnay sans protection phytosanitaire (B) et d'une sélection résistante sans protection phytosanitaire (C).

Trois sources de résistance ont été retenues au démarrage du programme : *Muscadinia rotundifolia*, des *Vitis* américaines, *Vitis amurensis* (espèce asiatique). La première source est représentée par des génotypes de 4<sup>ème</sup> ou 5<sup>ème</sup> croisement par des variétés cultivées (BC4 ou BC5), obtenus par l'INRA à Montpellier. Les deux autres correspondent à des variétés inscrites récemment au catalogue allemand ou à des géniteurs conservés par des instituts de recherche allemands. Le déterminisme génétique des résistances portées par ces espèces peut être monogénique (*R<sub>un1</sub>*), oligogénique (par exemple *R<sub>pv1</sub>* et *R<sub>pv2</sub>*) ou polygénique. Il n'est pour l'instant pas possible de connaître avec précision quelles espèces de *Vitis* américaines interviennent réellement, car l'ascendance des géniteurs retenus fait intervenir jusqu'à 7 espèces et le déterminisme génétique des caractères de résistance mobilisés n'est pas connu dans sa totalité.

Le schéma de sélection a été largement revisité afin (i) de tirer parti des possibilités offertes par la sélection assistée par marqueurs (sam), (ii) de confronter les génotypes à des populations diversifiées de mildiou, d'oïdium et de pathogènes secondaires dans des conditions variées d'infection naturelle, (iii) d'évaluer les aptitudes agronomiques et technologiques en deux stades seulement, de manière à

raccourcir le processus. Il est désormais organisé en 3 étapes, qui requièrent 16 années, soit une économie de 8 années par rapport à la procédure classiquement utilisée en amélioration de la vigne :

(a) En serre (2 ans), la sélection s'opère principalement sur la résistance au mildiou et à l'oïdium et s'appuie sur un génotypage avec les marqueurs disponibles (sam), ainsi qu'un phénotypage complémentaire basé sur des tests de résistance.

(b) Une première évaluation au vignoble (6 - 8 ans), sur la base d'un dispositif en réseau avec 4 lieux (UE INRA Angers, Bordeaux, Colmar, Montpellier). Outre l'appréciation du niveau de résistance et de sa stabilité, il est possible dès ce stade d'évaluer les aptitudes culturales, le groupe de précocité, les caractéristiques gustatives du vin sur la base de microvinifications.

(c) L'étude de la valeur agronomique et technologique (6 ans), conformément au règlement technique d'inscription au catalogue des variétés.

La première population de sélection a été créée en 2000, en collaboration avec un institut de recherche allemand. Elle combine deux sources de résistance, représentées par un géniteur BC4 de *M. rotundifolia* et la variété REGENT N. inscrite au catalogue allemand en 1995. Les génotypes ayant satisfait au tri précoce en serre ont été installés dans le réseau d'évaluation au vignoble (étape b) en 2004 et 2005. Grâce aux géniteurs regroupés à l'INRA Colmar, des populations d'effectifs beaucoup plus élevés ont été obtenues en 2005 et 2006, dont l'installation dans le réseau (b) interviendra en 2008 et 2009. Ces dernières combinent trois sources de résistance.

Année du croisement	Type	Plantules obtenues	Plantules après sam et phénotypage en serre	Position QTL résistance (chromosome)	
				Mildiou	Oïdium
2000	<i>M. rotundifolia</i> x <i>Vitis</i> américains	164	37 (11)*	12, 18	12, 15
2002	<i>M. rotundifolia</i> x <i>Vitis</i> asiatique	225	60	12, ?	12, ?
2005	<i>M. rotundifolia</i> x <i>Vitis</i> américains et asiatique	650	200	12, ?	12, ?
2006	<i>M. rotundifolia</i> x <i>Vitis</i> américains et asiatique	1300	250	12, ?	12, ?

(\*) : Un génotypage réalisé *a posteriori* montre que parmi les 37 génotypes phénotypés résistants au mildiou et à l'oïdium, seulement 11 portent les QTL de résistance des 2 parents.

(?) : Indique que des caractères de résistance du géniteur ne sont pas encore positionnés sur une carte génétique.

Les premiers résultats enregistrés dans le dispositif en réseau montrent que les tests de résistance utilisés dans l'étape (a) pour quantifier la résistance au mildiou et à l'oïdium sont relativement fiables, avec un taux de correspondance d'environ 75 %. La fiabilité des marqueurs de QTL de résistance est au moins aussi bonne pour le mildiou. Pour l'oïdium en revanche, le marqueur du QTL issu de la variété REGENT est associé à des niveaux de résistance plus variables. Il apparaît également que les individus porteurs des marqueurs de résistance des deux parents ne se distinguent pas phénotypiquement des individus porteurs de l'un ou l'autre seulement. Cela est cohérent avec l'effet majeur conféré par les seuls gènes *Run1* et *Rpv1*, et met en évidence l'apport du marquage pour le pyramidage de

résistances. Nous notons en outre que pour quelques génotypes, le niveau de résistance au mildiou observé à Bordeaux et à Colmar est sensiblement différent, ce qui témoigne d'une interaction particulière entre souches de mildiou présentes et facteurs de résistance. Enfin, les suivis de maturation réalisés en 2006 et 2007 indiquent que la gamme de précocité observée dans les descendances est très large (1<sup>e</sup> à 3<sup>e</sup> époque). Cela est conforme à la grande différence de précocité des géniteurs utilisés et permet d'envisager la sélection de variétés adaptées aux possibilités thermiques actuelles et à venir des grands ensembles viticoles français (Septentrion, Façade atlantique, Rhône-Méditerranée). L'évaluation technologique a démarré en 2007, avec les premières vinifications en petits volumes (10 l) pour les génotypes les plus résistants.

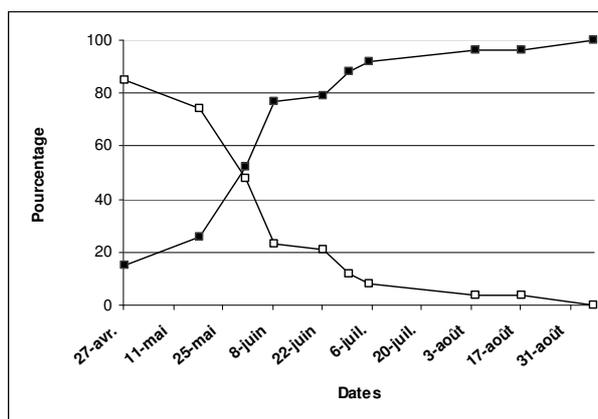
### 3) Intérêts et apports des études génétiques des bioagresseurs

La compréhension du fonctionnement et des interactions des différents organismes qui composent un agrosystème est un pré-requis indispensable pour assurer une protection durable du vignoble. Les études sur la diversité phénotypique et génétique des bioagresseurs et de leur adaptation permettent aujourd'hui :

- de détecter et d'identifier des espèces et sous espèces,
- de décrypter des phases du cycle biologique de ces agents pathogènes (mode de reproduction, dispersion, flux de gènes),
- d'aborder l'histoire des importations d'agents pathogènes et de mieux gérer les risques d'invasions futures,
- de comprendre et d'évaluer les phénomènes d'adaptation des populations de bioagresseurs aux pressions biotiques et abiotiques (résistance aux fongicides, risque de contournement de résistances variétales, plante-hôte..).

#### *3.1) Déterminer la diversité et la structure génétique des populations de bioagresseurs : dans quel but ?*

Généralement, une maladie est identifiée par un symptôme et les épidémies sont perçues comme la résultante de l'ensemble de la dispersion de ces symptômes. Les études de diversité des pathogènes réalisées à l'aide d'outils moléculaires permettent aujourd'hui d'identifier si les épidémies résultent du développement d'une ou plusieurs espèces ou d'un ou plusieurs groupes génétiques distincts d'une même espèce. À titre d'exemple, nous avons mis en évidence l'existence dans les vignobles du pourtour Méditerranéen de deux groupes d'oïdium génétiquement distincts, A et B, dont la fréquence varie au cours du temps et selon les vignobles (0 à 100%) (Fig. 4). Ils présentent aussi des sensibilités différentes aux fongicides (le groupe B est moins sensible que le groupe A) et aux stimulateurs de défenses de la vigne (le groupe A est moins sensible que le groupe B).



**Figure 4** : Evolution temporelle de deux groupes génétique d'oïdium de la vigne en cours de saison dans un vignoble de l'Aude. (□) Groupe A, (■) groupe B.

Les études de génétique des populations apportent également de précieux renseignements sur les événements biologiques qui ponctuent leur histoire. Ainsi, nous pouvons identifier l'origine d'inoculum issu ou non de la reproduction sexuée et/ou clonale dans les épidémies observées au vignoble, e.g. *P. viticola*. Nous avons montré qu'il existe un grand nombre d'individus différents qui peuvent soit apparaître, disparaître ou se maintenir et se multiplier tout au long de la saison. Il est possible d'identifier l'origine d'une source d'inoculum et ces approches combinées à des études de dynamique des populations permettront de modifier la compréhension que nous avons du développement des pathogènes. Dans le futur, il sera ainsi possible d'intervenir lors d'une phase clé du cycle biologique, par exemple en limitant la formation d'oospores ou leur survie (reproduction sexuée). Ainsi l'inoculum primaire sera limité et par conséquent ceci permettra de réduire les intrants l'année suivante

La génétique des populations apporte des informations sur la dispersion des organismes. Chez *S. titanus*, le vecteur du phytoplasme de la Flavescence dorée, la faible structuration génétique des populations à l'échelle de la France indique l'existence d'importants flux de gènes entre les populations probablement dus à des migrations sur de grandes distances. Nos résultats montrent également que l'impact des interventions humaines (échanges de matériel végétal entre les régions viticoles, pression de sélection insecticide), jouent un rôle majeur sur la structure et le fonctionnement des populations de cet insecte en France. Ces approches présentent une importance capitale en regard du rôle de l'insecte en tant que vecteur de la maladie et pour des recherches sur les populations potentiellement plus aptes à la transmission.

### 3.2) Comment s'adaptent les populations de bioagresseurs face aux pressions de sélection des fongicides ?

Il est également possible d'appréhender le rôle des pressions de sélection sur les modifications de caractères des agents pathogènes (traits d'histoire de vie, résistance aux toxiques, virulence, fitness). À titre d'exemple, l'adaptation à la pression fongicide de l'agent du mildiou de la vigne a été récemment étudiée. Chez *P. viticola*, les analyses phylogénétiques du polymorphisme du gène qui code pour la protéine cible (cytochrome b) des fongicides inhibiteurs de la respiration ont révélé l'existence d'au moins deux origines indépendantes de la résistance aux strobilurines. Ce fait souligne l'importance de la mutation dans l'apparition de la résistance. De plus, les approches génétiques permettent de

développer des outils d'évaluation et de suivi (marqueurs neutres : microsattellites ou sélectionnés : marqueur de résistance à un fongicide) des populations à risque et de prévoir leur évolution, quels que soient les toxiques exerçant une pression de sélection (fongicides, résistances variétales, ou stimulateurs de défenses). Ainsi, il serait possible d'adapter les méthodes de lutte aux populations présentes.

#### 4) Comprendre et exploiter les relations entre les bioagresseurs et la plante

Les facteurs de développement et de conduite de la plante hôte qui induisent des risques potentiels d'aggravation des épidémies sont étudiés à l'UMR Santé Végétale. L'objectif est d'utiliser nos connaissances des interactions vigne/pathogène pour identifier des indicateurs de risques et des conditions de développement de la vigne qui soient moins propices à l'extension des épidémies.

Les trois maladies fongiques qui se prêtent à cette démarche sont les maladies de dépérissement du cep (esca, eutypiose), l'oïdium (*E. necator*) et la pourriture grise (*B. cinerea*). D'autres facteurs de risque majeur sont identifiés tels que la quantité d'inoculum pour *E. necator* et les conditions climatiques pour *B. cinerea*. Néanmoins, le développement de la plante et les Itinéraires Techniques (ITK) peuvent considérablement influencer sur le risque d'extension des épidémies.

L'UMR Santé Végétale travaille aussi sur les médiateurs chimiques produits par la plante qui guident les comportements de choix de la plante ou les comportements de nutrition chez les insectes. Cette approche est conduite sur l'Eudémis de la vigne et depuis peu de temps sur la cicadelle vectrice du phytoplasme de la flavescence dorée.

##### 4.1) Comment la plante influence-t-elle le développement d'une épidémie ?

Les caractéristiques de la plante et du couvert végétal sont susceptibles d'influencer le développement épidémique des maladies à dispersion aérienne par des effets :

- *directs* : modification de distance entre les organes, du nombre et de la surface d'organes sensibles ou de leur composition biochimique qui modifie la réussite de l'infection avec la mise en place de résistance de type ontogénique.

- *indirects* : modification du micro-climat ou désynchronisation entre le développement de l'hôte et celui de l'agent pathogène.

Pour la vigne, le couvert dépend des caractéristiques génétiques (sensibilité, précocité, vigueur intrinsèque des cépages) et phénotypiques (variations de vigueur) fortement influencées par les facteurs de l'environnement et les ITK. La vigueur est alors définie comme le taux d'accroissement végétatifs des rameaux (ramifications, surface foliaire, longueur des entre-nœuds...) ou comme la puissance (biomasse totale accumulée au cours de la saison). La structure de la plante et du couvert constitue un levier sur lequel il est possible d'agir soit, pour modifier le cours de développement d'une épidémie pour des agents pathogènes aériens soit, pour réduire la sensibilité intrinsèque d'une parcelle. D'autre part, le régime hydrique et nutritionnel de la vigne influant sur son état de vigueur peut également être mis en relation avec la sensibilité aux maladies et ravageurs.

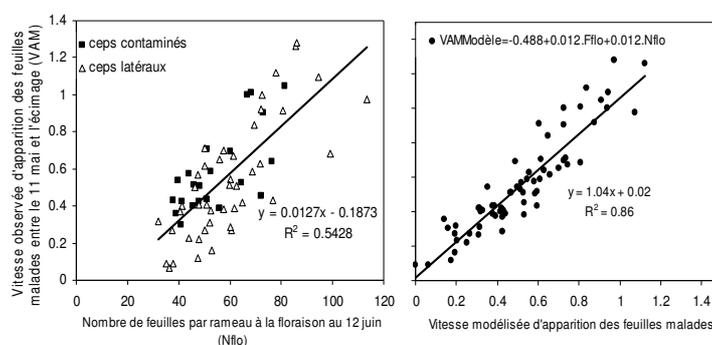
##### 4.2) Oïdium : relation vigne et développement des épidémies

L'oïdium reste encore à l'heure actuelle difficile à gérer pour deux raisons :

- l'absence de modèle de prévision des risques efficaces pour les épidémies initiées par ascospores,
- la détection au vignoble dans sa phase initiale est extrêmement difficile.

Si la phase primaire d'installation des épidémies reste difficile à prédire, il apparaît judicieux de gérer au mieux les facteurs aggravant la multiplication de l'inoculum secondaire essentiellement liés à son interaction avec la plante. L'oïdium est alors un excellent candidat non seulement pour étudier les interactions hôte/pathogène mais aussi les exploiter en terme de lutte. Biotrophe obligatoire, il est à la fois *i)* très sensible à la qualité des tissus de son hôte et à leur résistance naturelle physiologique sur feuilles comme sur grappes et *ii)* son inoculum primaire sexué est localisé sur l'écorce des cep, rendant l'initiation des épidémies très sensible à la vitesse de développement des rameaux et à leur variabilité initiale de stades de développement.

Notre démarche consiste à comprendre, quantifier et modéliser les mécanismes liés au développement de la vigne, qui sont susceptibles de modifier les dynamiques épidémiques de l'oïdium. Nous mettons en place des expérimentations qui permettent de démontrer les effets du développement de la plante hôte sur le déroulement des épidémies<sup>1</sup>. C'est le cas par exemple de la vigueur, agissant au travers de la multiplication de feuilles susceptibles de produire de l'inoculum.

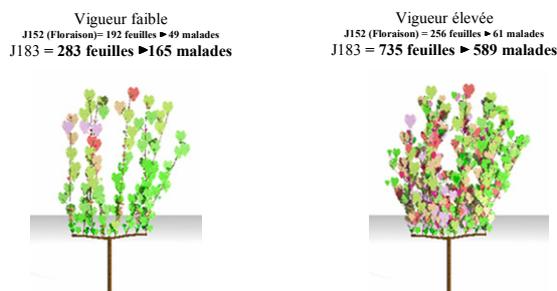


**Figure 5** : Relation entre la vitesse d'apparition des feuilles malades et le nombre total de feuilles à la floraison (graphique de gauche), ou la combinaison du nombre de feuilles (Nflo) et de la proportion de feuilles malades à la floraison (Fflo) (graphique de droite) au vignoble, sur cépage Aranel dans des micro-parcelles constituées de trois cep dont le cep central est contaminé, données 2005-2006.

D'autres mécanismes sont également à l'étude comme la modification de sensibilité des organes en fonction des conditions de croissance. Nous recherchons également les variables et périodes clefs qui peuvent être utilisées comme indicateurs de risque à la parcelle voire à l'année (stade phénologique à une période donnée, vitesse d'apparition des feuilles, fréquence de feuilles malades à la floraison...). Nous développons des modèles<sup>2</sup> que nous utilisons pour étudier l'impact, sur les épidémies, de scénarii climatiques variables agissant à la fois sur le développement de la vigne et sur celui de l'agent pathogène. L'ensemble de ces études devraient nous permettre de proposer à court et moyen termes des conduites pour lesquelles le risque épidémique est moindre et qui permettraient de limiter des traitements.

<sup>1</sup> collaboration UMR SYSTEM- INRA Montpellier (C. Gary, thèse H. Valdes)

<sup>2</sup> collaboration Lab. Mathématiques Appliquées de Bordeaux (UMR CNRS 5466) (M. Langlais, JB Burie), et équipe SATANAS du LABRI (UMR CNRS 5800) (J. Roman, G. Latu)



**Figure 6** : Simulation de l'état d'infection au jour 183 de deux ceps présentant deux niveaux de vigueur différents après contamination au jour 105 (scénario climatique année 2003).

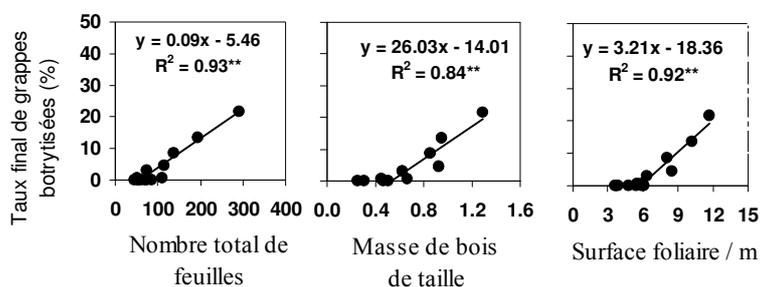
#### 4.3) Pourriture grise : la gravité est corrélée à la vigueur de la vigne

La vigne est une des principales plantes hôtes de *B. cinerea* sur laquelle il génère la pourriture grise qui occasionne de graves altérations sur les raisins de table comme de cuve dans le monde entier. Les dommages sont quantitatifs et surtout qualitatifs, d'ordre technologique et œnologique : difficultés de vinification, graves altérations organoleptiques due à l'association *Botrytis-Penicillium*, moindre aptitude au vieillissement des vins....

En fin de saison, les épidémies se propagent souvent très rapidement dans les grappes et un modèle épidémique basé sur les données climatiques est en cours d'élaboration. Le taux d'accroissement épidémique est quantifié sur la base de paramètres ou fonctions climatiques qui sont potentiellement explicatives. La prévision à court terme (7 à 15 jours) du développement de la maladie, rendue possible par cette modélisation, est utilisée pour réduire les intrants fongicides spécifiques. Une protection fongicide réduite contre la pourriture grise ainsi que le développement de méthodes prophylactiques doit être préventive, donnant toute son importance à l'analyse et à la prévision du risque épidémique au niveau parcellaire.

Dans ce contexte, nos résultats récents, obtenus entre 2004 et 2007<sup>3</sup>, montrent très clairement qu'il existe une incidence positive de la vigueur et de la croissance végétative de la vigne sur la pression épidémique du *B. cinerea* en fin de saison. Pour un même vignoble expérimental, différents modes d'entretien du sol (enherbement, irrigation fertilisante) ont permis d'induire des variations significatives de croissance végétative de l'hôte, de microclimat, d'architecture des grappes et de leur composition. Plusieurs paramètres, liés directement ou indirectement à la vigueur, sont en corrélation positive avec l'expression finale de la maladie. Des variables clés s'avèrent déterminantes, telles la surface foliaire et le nombre total de feuilles en saison, ou la masse des bois de taille mesurée en période de repos végétatif.

<sup>3</sup> collaboration UMR SYSTEM-INRA Montpellier (C. Gary, thèse H. Valdes)



**Figure 7 :** Corrélations positives entre différentes variables de vigueur de la vigne et le taux de Pourriture grise (*B. cinerea*) à la vendange.

Cependant, le développement de *B. cinerea* est très dépendant du micro-climat, comme le montre aussi nos essais en conditions contrôlées et/ou semi-field. Ces derniers résultats au vignoble sont interprétés en privilégiant le fait que les vignes vigoureuses présentent de fortes densités foliaires et génèrent ainsi un microclimat dans la zone fructifère plus humide et favorable à *B. cinerea*. Des variables microclimatiques clés sont également identifiées comme à fort potentiel pour mieux appréhender le risque épidémique, notamment, la durée moyenne pendant laquelle l'humidité relative dépasse 90% au sein du couvert végétal.

#### 4.4) Les maladies de dépérissement de la vigne : des pathologies complexes

Les deux principales maladies du bois de vigne, l'eutypiose et l'esca, sont associées à des parasites endophytes. Les recherches pluridisciplinaires effectuées à l'UMR depuis 2004 qui associent l'étiologie, l'écophysiologie et l'épidémiologie indiquent que ces maladies sont considérablement influencées par les conditions de culture. Des progrès importants ont aussi été accomplis pour étudier la relation entre l'esca et le Black dead arm (BDA). Ainsi, les ceps montrant des symptômes caractéristiques d'esca présentent systématiquement des lésions longitudinales brunes dans le néoxylème (symptôme auparavant attribué au BDA) et une convergence des symptômes foliaires dits « BDA » vers ceux de l'esca a été avérée en cours de saison.

*A l'échelle nationale :* l'analyse de données issues de 256 parcelles suivies en 2005 et 2006 par l'Observatoire National des Maladies du Bois de la Vigne<sup>4</sup> indique *i)* qu'il existe une forte variabilité d'expression des symptômes d'une parcelle à l'autre, et *ii)* que les incidences d'esca (2,2%) et d'eutypiose (3,3%) ne sont pas indépendantes des pratiques culturales.

*A l'échelle régionale :* les niveaux d'expression de symptômes s'avèrent également très variables selon les parcelles. Les analyses multifactorielles indiquent *i)* une relation positive entre l'incidence de BDA/esca et la nature argilo-limoneuse du sol (importance de la réserve utile) ; *ii)* un effet aggravant d'une alimentation azotée forte associée à un rendement élevé. Les pratiques prophylactiques et la

<sup>4</sup> collaboration Université de Strasbourg et DRAF-SPV

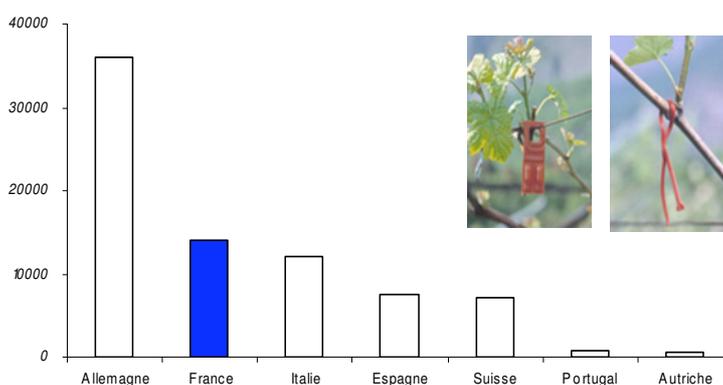
présence de l'eutypiose peuvent aussi expliquer l'incidence parcellaire de l'esca. Cette étude a été réalisée sur une base de 24 parcelles du vignoble bordelais caractérisées pour leur mode de conduite, leurs pratiques prophylactiques, caractéristiques pédologiques et d'autres indicateurs écophysologiques<sup>5</sup>.

#### 4.5) Contrôle des populations de vers de la grappe et vecteurs de maladies : des solutions existent

Les vers de la grappe, principalement Eudémis et Cochylis, ne génèrent qu'assez rarement des dégâts directs majeurs en vignoble. Leur contrôle est toutefois nécessaire pour limiter la nuisibilité de la pourriture grise (*B. cinerea*), mais aussi de pourritures noires (*Aspergillus carbonarius* et *A. niger*) qui sont ochratoxinogènes et dont la croissance est directement liée à la présence des chenilles d'Eudémis.

#### La gestion du comportement d'accouplement des papillons :

La confusion sexuelle est une méthode de lutte contre les vers de la grappe qui a été développée par l'INRA de Bordeaux. Le procédé consiste à accrocher dans le vignoble 500 diffuseurs de phéromone sexuelle de synthèse par hectare. Son principe repose sur différents mécanismes comportementaux et neurophysiologiques qui aboutissent à l'inhibition des accouplements et donc à la réduction du nombre d'œufs et de larves de papillons au vignoble. Homologuée en France depuis une dizaine d'années, ce procédé de lutte n'est toutefois utilisé que dans une faible proportion du vignoble Français (15 000 ha). Il prend cependant toute son efficacité lorsque de grandes surfaces sont traitées, par exemple lorsqu'il est appliqué à des appellations ou des régions viticoles entières. Il présente donc des perspectives intéressantes lorsqu'une lutte collective est envisagée à l'échelle de grands vignobles, et cette approche peut être très largement améliorée dans notre pays. Actuellement, des recherches sont en cours sur différents modes de diffusion de la phéromone, dans le but d'améliorer l'efficacité de ce procédé et d'abaisser son coût.



**Figure 8** : Surfaces viticoles utilisant la confusion sexuelle dans différents pays Européens (en ha) (Source Andermatt & BASF 2005), et les deux grands types de diffuseurs utilisés en Europe

<sup>5</sup> collaboration ISVV-Bordeaux, Ecologie et génomique fonctionnelle de la vigne (JP. Gaudillère, JP Goutouly)

### Les insectes auxiliaires, un moyen efficace de contrôle des populations d'œufs et de chenilles :

Un nombre assez élevé d'espèces d'insectes entomophages (auxiliaires) contrôlent naturellement les vers de la grappe. Les parasitoïdes sont de loin les plus efficaces, leurs cibles étant les œufs et les chenilles. Les parasitoïdes d'œufs sont principalement les trichogrammes, une dizaine d'espèces plus ou moins efficaces ayant été observées selon les régions viticoles. Des essais de lutte biologique par lâchers de trichogrammes ont été entrepris, mais les efficacités étaient parfois négligeables.

D'autres parasitoïdes de chenilles ont un potentiel de contrôle prometteur et méritent une attention particulière. Le plus fréquemment rencontré dans les vignobles Européens est un hyménoptère : *Campoplex capitator*. Lorsqu'il est présent, il peut détruire plus de la moitié des chenilles dans certains vignobles. Il semble aussi avoir un rayon d'action important ce qui explique probablement son efficacité. Il est très efficace sur la génération de printemps de son hôte ce qui le rendrait très intéressant pour abaisser le niveau de population des générations d'été et d'automne. L'INRA de Bordeaux a travaillé pendant 4 années pour décrypter la biologie et le comportement de cet insecte, et a essayé de développer un procédé d'élevage. Un autre parasitoïde présent dans les vignobles chauds semble très efficace, il s'agit d'un diptère (*Phytomyptera nigrina*). Le développement d'une lutte biologique à l'aide de ces différents auxiliaires présente de réelles perspectives en vignobles et mérite des études conséquentes à large échelle dans un futur proche.

### Gestion du paysage et dynamique de populations

L'impact de l'environnement des parcelles sur la pression en insectes ravageurs a été appréhendé en utilisant un piège 'universel' (Tri-Δnglué) des ravageurs. La distribution spatiale de ces ravageurs a été constante pendant plusieurs années, même si des différences interannuelles aux niveaux des populations et des périodes de vols ont été observées. L'analyse du paysage montre des corrélations significatives entre les paramètres paysagers et l'abondance des insectes. L'Eudémis et la Cicadelle verte ont des réponses opposées vis-à-vis du paysage, le premier semble plus abondant dans des grands îlots de monoculture alors que l'autre est plus présent dans les paysages diversifiés. Ces corrélations sont maximales quand nous considérons le paysage jusqu'à des distances de 500 à 750 mètres autour des parcelles observées. La « sensibilité » de la parcelle aux ravageurs dépend donc aussi bien des caractéristiques de la parcelle (charge, densité de plantation, âge) que de la composition du paysage plusieurs centaines de mètres autour.

Des aménagements susceptibles de réduire les ravageurs comme la fragmentation des îlots viticoles par des haies et l'enherbement seront testés dans les années à venir.

### Outils pour modifier la lutte obligatoire contre la cicadelle de la flavescence dorée

Le piège Tri-Δnglué, développé dans le cadre du projet 'paysage' est largement utilisé par de nombreux organismes de surveillance et de conseil viticole (caves coopératives, GDON, syndicats de producteurs, distribution) pour le suivi des ravageurs. Son intérêt réside dans sa capacité à la surveillance simultanée des principaux insectes ravageurs viticoles : Eudémis (*Lobesia botrana*), Cochylys (*Eupoecilia ambiguella*), Cicadelle verte (*Empoasca vitis*) et Cicadelle de la flavescence dorée (*Scaphoideus titanus*). Il est reconnu par le SRPV Aquitaine et est utilisé au niveau national pour la surveillance de la cicadelle de la flavescence dorée en périmètre de lutte obligatoire. En absence de captures importantes, le SRPV accepte la réduction ou l'absence d'applications de produits phytosanitaires sur les adultes. Un récent projet expérimental a montré qu'une réduction d'environ 40 % des traitements pouvait être associée à la maîtrise du vecteur.

## 5.) Elaboration d'un processus opérationnel de décision pour l'application de traitements

Un processus d'enchaînement des décisions de traitement, permettant de diminuer de manière importante le nombre d'applications nécessaire à la maîtrise du mildiou (*P. viticola*) et de l'oïdium (*E. necator*), a été élaboré dans le cadre de l'intersectorielle INRA « Protection Intégrée des Cultures », puis poursuivi dans le cadre de l'action ADD « vin et environnement ».

*Dans son objectif*, il vise à éviter toute perte de récolte et non l'absence de tout symptôme des maladies.

*Dans son principe*, il recherche à maîtriser les épidémies « faibles » par un nombre restreint de traitements obligatoires et à identifier les épidémies « sévères » afin d'appliquer des traitements supplémentaires.

*Dans sa conception*, il allie la gestion des deux maladies dans le même processus et limite le nombre d'observations nécessaires aux prises de décisions. Les observations réalisées sont moins nombreuses mais nécessitent une précision supérieure.

### 5.1) Description du Processus Opérationnel de Décision (POD)

Le principal indicateur utilisé dans ce POD est le niveau de maladie à la parcelle, recueilli grâce à des observations du feuillage ou des grappes. Deux autres types d'indicateurs viennent compléter ces informations :

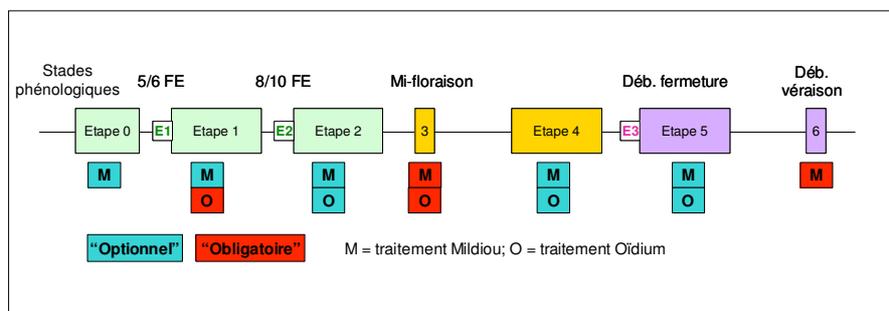
- le niveau de risque local (fourni par les Avertissements Agricoles® du Service Régional de la Protection des Végétaux) permettant d'appréhender sur une échelle géographique plus large le risque de développement de la maladie.

- les événements pluvieux annoncés par le service prévisionnel Météofrance.

Lorsqu'un traitement est nécessaire vis-à-vis d'une maladie, le traitement est également réalisé vis-à-vis de l'autre maladie sauf si le risque parcellaire (et/ou risque local) est jugé nul à faible. Cette règle permet d'associer au maximum les traitements mildiou et oïdium et répond ainsi à une contrainte opérationnelle forte.

Compte tenu des caractéristiques du pathosystème vigne/mildiou/oïdium, la majorité des observations à la parcelle sont situées avant la floraison. Elles ont pour objectif de détecter les épidémies sévères en quantifiant les manifestations précoces de la maladie sur le feuillage avant la période de forte sensibilité des grappes et de permettre la réalisation de traitements limitant la constitution d'un stock d'inoculum sur le feuillage. La période de forte réceptivité des grappes est couverte par un traitement systématique (mildiou et oïdium) au stade floraison puis par un traitement optionnel dépendant des observations précoces ainsi que du risque de pluie. Le nombre de traitements positionnés en fin de réceptivité des grappes est limité car l'impact, à ce stade, du développement des maladies sur la quantité de récolte est beaucoup plus faible. Une observation permet alors de faire un bilan sanitaire de la parcelle et de juger de l'opportunité de réalisation d'un traitement supplémentaire. Afin de limiter l'éventuelle progression des maladies sur feuilles en fin de saison et d'assurer ainsi le maintien d'une quantité de feuillage suffisante à la maturation des raisins quelles que soient les conditions climatiques, un traitement systématique est ensuite réalisé avec un produit cuprique au début de la véraison.

Le POD est composé 7 étapes, dont 3 comportent des observations (E1, E2, E3). Il est conçu pour appliquer un minimum de 4 traitements (2 pour le mildiou et 2 pour l'oïdium) et un maximum de 12 traitements (7 pour le mildiou et 5 pour l'oïdium)



**Figure 9** : Représentation schématique temporelle des différentes étapes du POD et des traitements associés

### 5.2) Comment est évalué le POD ?

Le POD a été appliqué durant trois années (2005 – 2007) sur quatre parcelles des domaines expérimentaux de l'INRA et, en 2007, sur trois parcelles supplémentaires chez des viticulteurs. La performance a été évaluée grâce à des estimations des sévérités d'attaque des différents agents pathogènes sur feuilles et grappes, ainsi que par une évaluation des paramètres quantitatifs et de certains paramètres qualitatifs de la récolte.

Malgré la présence, certaines années, de symptômes de maladies sur feuilles ou sur grappes, les rendements agronomiques obtenus sur les parcelles expérimentales ont toujours été supérieurs à ceux autorisés dans les décrets des AOC concernées. Les paramètres qualitatifs, degrés potentiels et acidité totale, ont également toujours été supérieurs aux taux minimaux exigés dans les appellations concernées. Enfin, les viticulteurs ont toujours jugé la récolte obtenue sur ces parcelles expérimentales comme conforme à leurs exigences quantitatives et qualitatives par rapport au millésime concerné.

Les économies réalisées, en nombre de traitements, ont été de 30 à 60% selon les maladies et les années.

### 5.3) Formalisation mathématique et simulations du POD<sup>6</sup>

Ce modèle a été élaboré par recueil de connaissance des concepteurs du POD, directement selon le langage graphique des Statecharts. Ainsi, le modèle formel n'est plus une « boîte noire » mais une boîte « transparente ».

L'objectif de ce travail est en effet de passer à la maquette d'un Outil d'Aide à la Décision informatisé, introduisant un dialogue avec l'utilisateur. Cet outil permettra donc de tester les performances de ce POD dans des situations très variées (i) à l'aide d'expérimentations démultipliées grâce aux acteurs de développement et (ii) par simulations selon des scénarios non rencontrés en expérimentation.

<sup>6</sup> collaboration UMR ITAP ,Cemagref (Thèse B. Léger)

L'objectif est également d'inclure la conception du POD mis au point à l'échelle de la parcelle dans la conception plus large de la production à l'échelle de l'exploitation agricole. La simulation numérique des effets de telle ou telle variante du POD est rendue possible par la modélisation mathématique.

## 6.) Perspectives à court et moyen terme :

**Les études génétiques en cours à l'INRA** en collaboration avec les instituts étrangers vont permettre d'identifier de nouveaux gènes ou QTL de résistance, avec les marqueurs associés. Une part grandissante pourra ainsi être donnée à la sélection assistée par marqueurs pour le tri précoce (pyramidage de gènes ou QTL de résistance) et les effectifs en sélection pourront augmenter. La description génétique et moléculaire de la variabilité des souches de mildiou et d'oïdium présentes en France et en Europe va également progresser, tout comme la connaissance des interactions moléculaires avec la vigne durant l'infection. La construction de géniteurs de résistance assistée par marqueurs, combinant des mécanismes de défense complémentaires, pourra alors être entreprise.

Les variétés en cours de sélection, et dont l'inscription pourrait intervenir à partir de 2016, supposent une révision du niveau de protection phytosanitaire et l'adaptation des itinéraires techniques. Bien que ces obtentions associent au moins deux sources de résistance, qui reposent sur des gènes ou QTL différents, il faut étudier les itinéraires techniques de protection phytosanitaire les mieux adaptés à leur utilisation. Ceux-ci peuvent aller de l'absence totale de protection à la réalisation d'un ou deux traitements positionnés à des moments clés du cycle des pathogènes, en fonction de la pression parasitaire. Il faut par ailleurs définir des protections spécifiques vis-à-vis des bioagresseurs dits secondaires et qui n'auraient pas pu être pris en compte par l'amélioration génétique, comme l'excoriose, l'antracnose ou le brenner.

**Pour les maladies de dépérissement**, la méthode d'inoculation mise au point à l'INRA est disponible pour tester la sensibilité du matériel végétal existant ou futur. Elle permet déjà de contribuer à l'identification chez la vigne de gènes qui pourraient être impliqués dans la résistance à l'eutypiose<sup>7</sup>.

L'expression des symptômes foliaires nous incite à focaliser les futurs travaux sur l'esca, le BDA n'étant probablement qu'un faciès symptomatique du premier. Leur relation avec les facteurs écophysologiques a identifié quelques hypothèses fortes, la vigueur de la vigne par exemple, qui seront testées en priorité.

L'étude de la répartition spatio-temporelle des maladies sera aussi une priorité de recherche pour comprendre comment la maladie progresse au vignoble et pour optimiser les moyens de lutte.

Une étude de la dynamique des écosystèmes microbiens du bois de vigne associé à ces maladies sera entreprise pour caractériser les micro-organismes endophytes potentiellement antagonistes des agents pathogènes impliqués.

**Pour les maladies de feuilles et des grappes**, la réduction de la quantité d'intrants sera obtenue par l'optimisation des prises de décision reposant sur :

- a) la mise au point d'indicateurs de risques parcellaires simples et robustes qui prennent en compte la plante (vigueur, conduite, précocité, variété) et son environnement.
- b) l'identification de périodes clés d'observations des maladies, et les seuils associés,
- c) l'utilisation de modèles épidémiques basés sur le développement de la vigne et le climat pour évaluer les risques actuels et futurs d'évolution des épidémies de pathogènes.

L'élaboration de processus opérationnels de décision modélisés, capables d'intégrer et de hiérarchiser ces indicateurs, permettra une diffusion rapide des innovations vers les utilisateurs. Dans le futur, ces

---

<sup>7</sup> collaboration ISVV-Bordeaux, (S. Delrot, thèse Céline Camp)

méthodes de décision devront intégrer l'utilisation de variétés résistantes dans les itinéraires techniques.

**Pour le contrôle des populations d'insectes ravageurs et vecteurs**, les populations d'insectes, de ravageurs de grappes, seront gérables par perturbation de l'accouplement (confusion sexuelle). En outre, des modalités d'application existent en terme de contrôle des populations d'œufs ou de larves par l'usage d'insectes auxiliaires. Les vecteurs de maladies, en particulier de phytoplasmes, posent plus de problèmes puisque les stratégies actuelles sont basées sur la lutte obligatoire. Les modifications de la qualité de la sève ou de la dureté des feuilles représenteront à plus long terme une perspective intéressante, par exemple en limitant l'appétibilité de la plante et ainsi la fréquence des piqûres réduisant ainsi les capacités de transmission.