

### III – Le déroulement du projet

Le projet comportait 5 actions qui se sont déroulées comme suit :

#### Action 1

**Objectif : *implantation des dispositifs expérimentaux***, sur les UE viticoles INRA de Bordeaux et de Pech Rouge.

**Réalisation :** Nous avons implantés en avril (Bordeaux) et juin (Pech Rouge) 2016 deux dispositifs expérimentaux mélangeant les deux variétés résistantes Prior et Artaban. En 2017, 18, et 19, les dispositifs ont été entretenus (plants côtés, attachés, ébourgeonnés, palissés, pose de caches contre les lapins ou ovins, de marquants pour le désherbage mécanique, labours superficiels et désherbage mécanique les deux premières années, pose de l'irrigation pour Pech Rouge). Si cette action a fini par aboutir à 100% elle a subi de nombreuses difficultés et retards : difficulté de reprise de la variété Prior (sensibilité au traitement eau chaude anti-flavescence dorée réalisé avant plantation) et sensibilité à la sécheresse de la variété Artaban, qui ont nécessité des complantations en 2017 et 2018 sur les deux sites, et un rééquilibrage par la taille de tous les ceps en 2018 à Bordeaux. A Pech Rouge, les sécheresses consécutives ont encore plus pénalisées le dispositif, malgré l'irrigation. **La modalité 'non taille' n'a été effective qu'en 2020 à Bordeaux** et les ceps sont encore en construction à Pech Rouge. A noter que **ces tailles hautes, très productives, demandent une structure de palissage puissante** dont le coût a été légèrement sous dimensionné. Le changement de direction et d'une partie du personnel de l'UE de Bordeaux a eu des conséquences sur la gestion du dispositif les deux premières années.



Fig. 1.1 : Evolution des parcelles ANTARES de Bordeaux (Bx) et Pech Rouge (PR) au cours des 4 années du projet depuis sa plantation en 2016



**Moyen humain** : Personnel permanent de l'UE expérimentale Couhins/ UE viticole Bx, (D. Forget, X. Lafond, E. Texier, B. Lafarge, E. Castant...), de SAVE (P. Cartolaro, L. Druelle, G. Taris, A. Calonnec), de l'UE de pech Rouge (JN. Lacapere, J. Cerruti), MOO de l'UE de Pech Rouge (B Minarro, J Buenavente)

## Action 2

**Objectif** : *caractérisation de la physiologie et de l'activation des composés de défense des variétés, et de leur sensibilité à l'oïdium et au mildiou.* (réalisation 80%)

**Méthodologie & résultats** : Nous avons comparé, le niveau et l'expression de défense des deux variétés résistantes par rapport au Cabernet Sauvignon sensible. Les échantillons de feuilles et de grappes ont été prélevés sur des plants en container et au vignoble. Nous avons utilisé la méthodologie Fluidigm (RT-qPCR à haut débit -puce NeoVigen) pour mesurer l'expression de gènes de défense. Il a été mis en évidence que **1. Des gènes de PR protéines étaient différemment surexprimés pour les deux cépages résistants**, surtout dans les feuilles âgées pour Prior, **2. Que ces mêmes gènes étaient surexprimés lorsqu'il y a induction par l'oïdium**, **3. Que la résistance ontogénique** (liée à l'âge des organes) **était associée à la surexpression de nombreux gènes de défense, notamment du métabolisme des flavonoïdes, y compris chez le cépage sensible.** La méthodologie d'expression de gènes a été adaptée avec succès pour la première fois sur grappes. Sur feuilles comme sur grappes, **les trois variétés présentent des typologies d'expression de gènes significativement différentes, similaires entre les ceps en containers et au vignoble, permettant de distinguer les 3 cépages et les organes d'âge différent.** Artaban présente une résistance totale à l'oïdium très certainement liée en partie à la forte expression constitutive d'une PR protéine (PR3 - endochitinase) et un métabolisme primaire particulier avec répression d'un gène du cycle de Krebs (Citratesynthase) ainsi qu'une plus faible expression de la nitrate réductase. Prior présente des expressions très différentes pour certains gènes pas forcément en lien avec le niveau de résistance mais en lien avec la défense et réaction à l'attaque pathogène (CAD, CHI, GST3, IDH41, Allii2). Les tests de pathogénie sont en accord avec les résultats attendus, bien que **les cépages résistants montrent un niveau de résistance supérieur au vignoble par rapport aux tests in vitro** (aucun traitement n'a été nécessaire). Sur grappe, les deux variétés résistantes qui présentent une résistance totale à très élevée à l'oïdium montrent une surexpression des mêmes PR protéines, une surexpression de la voie de l'acide salicylique (SAPB2a), de la plupart des gènes de renforcement des parois cellulaires (PER, CAD, APOX, FPPS), de détoxification (GST3 pour Prior, GST2 pour Artaban), ainsi qu'une augmentation de l'activité du cycle de Krebs (NADH, IDH, MDH). Sur Cabernet Sauvignon, malgré la signalisation du pathogène (surexpression de WRKY2), aucun gène de défense n'est surexprimé en accord avec une sensibilité totale de tous les stades phénologiques testés (10, 15, 20 jours après floraison) (Fig. 2.1). **La résistance aux contaminations oïdium sur grappe est totale pour Artaban, très élevée pour Prior.** Les tests sur grappe ne pouvant se faire qu'*in natura*, la comparaison de stades phénologiques identiques avec et sans contamination pour des variétés qui présentaient de grandes différences de phénologie a nécessité une logistique importante. Cependant les typologies bien distinctes dans l'expression de gènes des variétés et des stades phénologiques a été un gage de réussite de l'expérimentation. En ce qui concerne la résistance au mildiou, nous avons rencontré des difficultés pour les tests *in vitro*. Ces tests performants lorsqu'ils sont réalisés sur feuilles de boutures produites en serre, le sont beaucoup moins sur des plants cultivés *in natura* avec des différences de sensibilité davantage liées à la pilosité des variétés et difficulté de pénétration des zoospores qu'à leur résistance intrinsèque (difficulté de contaminer le Cabernet Sauvignon). On observe toutefois une sensibilité plus forte pour Prior que pour Artaban avec une différence de sensibilité en fonction de l'âge des feuilles chez Prior et non chez Artaban (pas de résistance ontogénique) (Fig. 2.2). **La sensibilité in vitro de Prior au mildiou n'est pas en accord avec le haut niveau de résistance observé au vignoble** (symptômes de type mosaïque peu sporulants). Il n'est pas encore possible de dire si le test *in vitro* est peu adapté (niveau d'inoculum trop élevé, isolats virulents), si les mécanismes de résistance sont plus fortement induits au vignoble (par les UV ou les blessures par exemple), où encore si la résistance de Prior au vignoble est de type évitement comme pour l'oïdium (décalage entre la phénologie de la plante et l'initiation des épidémies). **A noter que, le développement d'Artaban très fortement tourné vers la production de métabolismes secondaires, avec des rougissements très précoces (Fig. 2.3) et un fonctionnement particulier du cycle de Krebs en fait une variété atypique pas forcément intéressante d'un point de vue agronomique.**

La dernière partie de cette action 2 qui consistait à évaluer la défense et la résistance sur les ceps conduits en non taille, du fait du retard de développement des deux parcelles de Bordeaux et de Pech Rouge n'a pu être réalisée. Des mesures de physiologie non destructives (pince Dualex et SPAD) ont cependant été réalisées sur d'autres génotypes résistants et une variété sensible (Syrah) sur un dispositif planté en 2011 à l'INRA de Pech Rouge avec des ceps conduits en guyot (espalier) ou en taille minimale. Elles ont montré des **différences significatives : un débourrement plus précoce pour la conduite en non taille** (ou taille minimale) avec en moyenne plus de chlorophylle par rameau tôt en saison (début mai) très probablement lié au plus grand nombre de feuilles sources, mais plus tard en saison (mi-juin) le phénomène s'inverse avec significativement **moins de chlorophylle pour les feuilles de la conduite en taille minimale du même âge** (effet dilution des assimilés, ombrage) (Fig. 2.4). La syrah a un comportement atypique en taille minimale. **Des différences de phénologie et de physiologie ont donc été mesurées entre les deux modes de taille, mais on ne peut pas encore dire si elles pourraient être associées à des différences de sensibilité.**

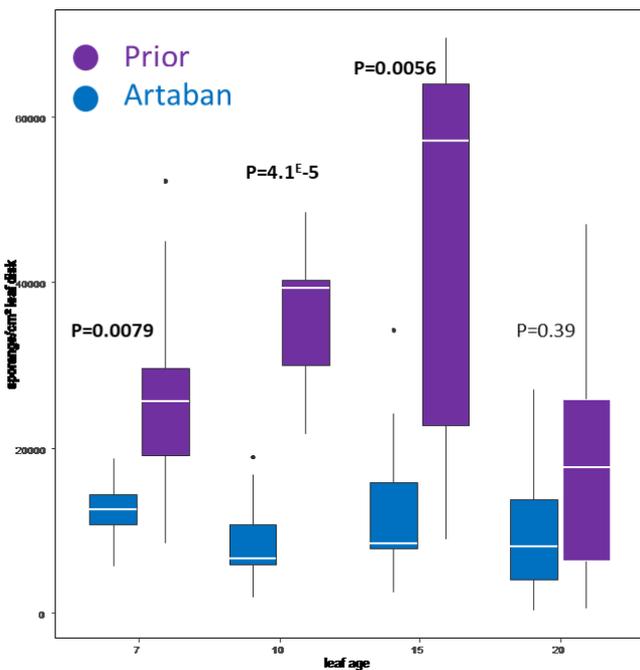


Fig. 2.3 : Rougissements observés sur la variété Artaban dès le mois de mai.

Fig. 2.2 : Sporulation du mildiou en fonction de l'âge de la feuille pour les deux variétés Prior et Artaban.

### Comparaisons Taille minimale vs espalier

INRA Pech Rouge

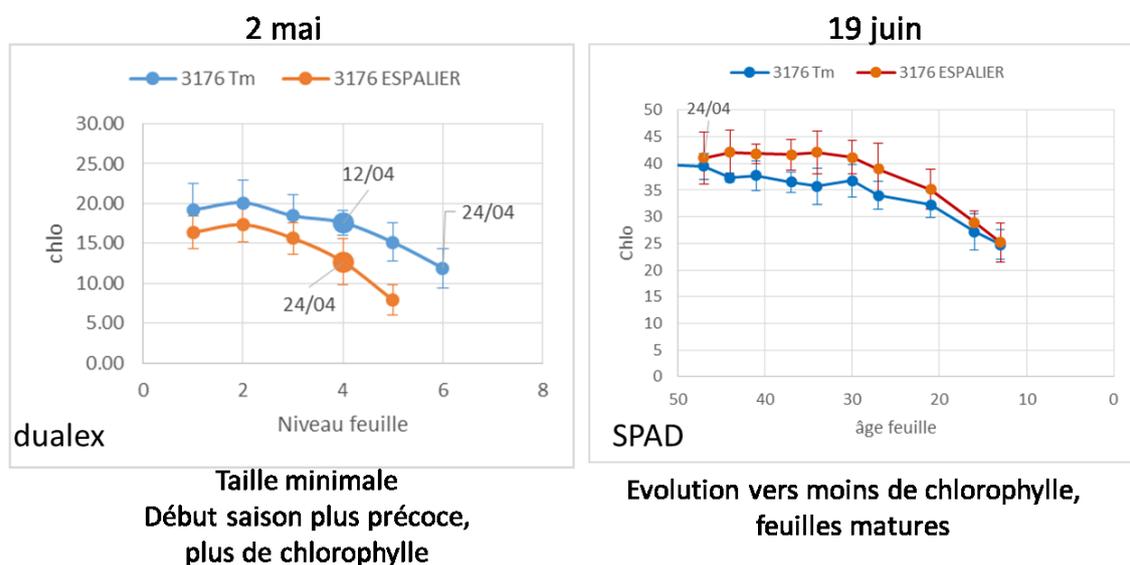


Fig. 2.4 Comparaison des niveaux de chlorophylle en fonction du niveau de feuille et de la date pour le génotype 3176 conduit en taille minimale ou en espalier (mesures effectuées à la pince Dualex ou SPAD)

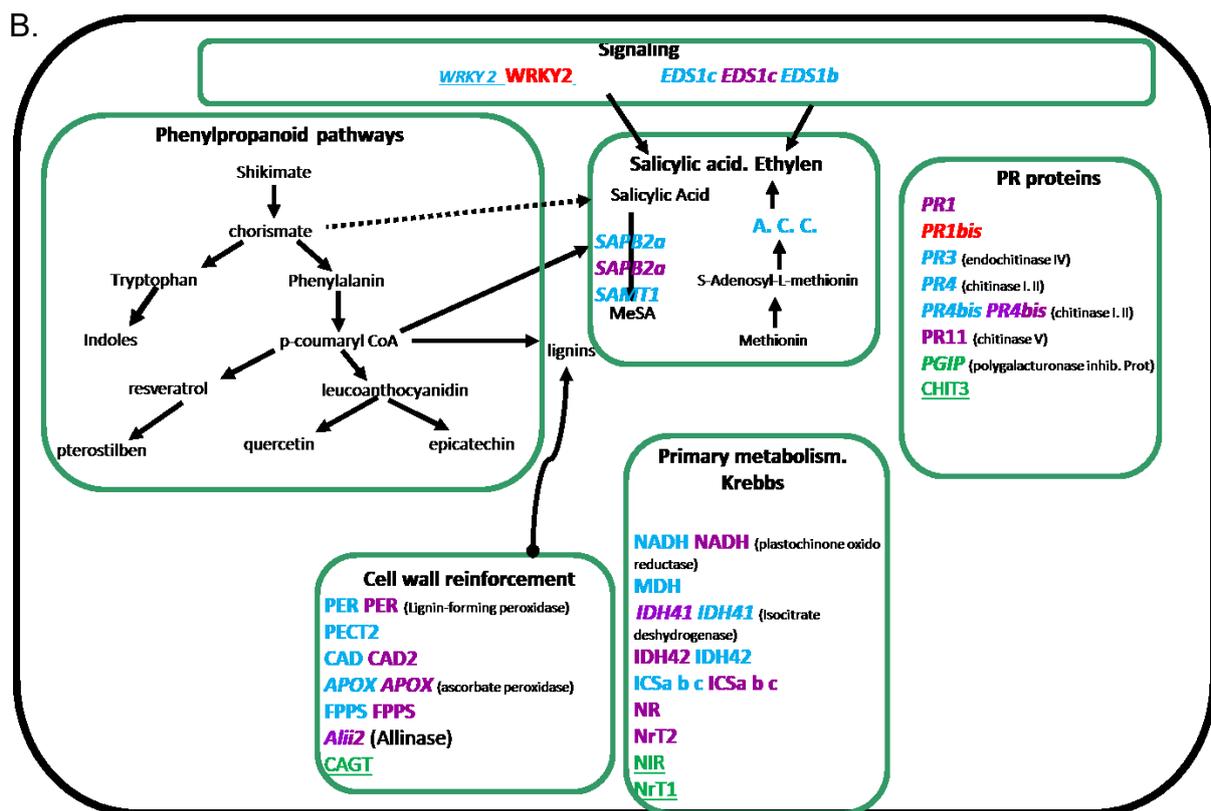
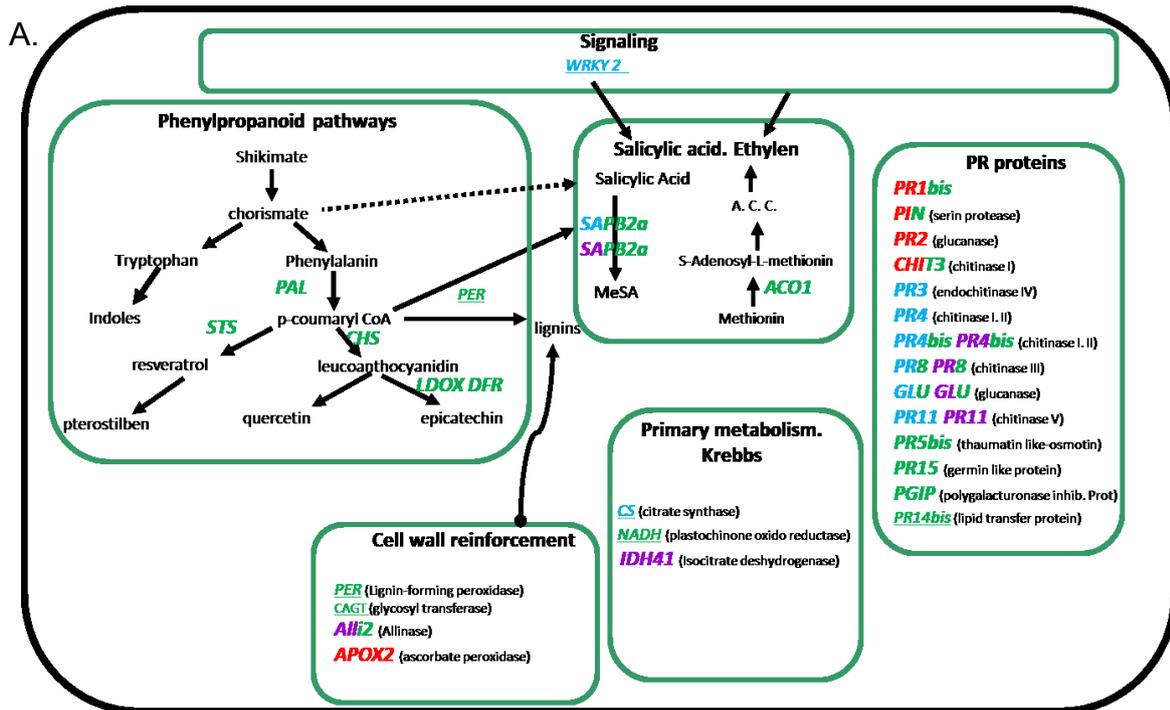


Fig. 2.1 Diagrammes de synthèse représentant les gènes des différentes voies métaboliques surexprimés (en gras) ou réprimés (soulignés) pour chacune des trois variétés, Cabernet Sauvignon (rouge), Artaban (bleu) et Prior (violet), ou les gènes surexprimés vs réprimés selon l'âge des feuilles (vert) pour les feuilles (A) et les grappes (B)

**Indicateurs de résultats** : une publication sera soumise en septembre pour les comparaisons des variétés sur feuille (pathologie, physiologie et expression de gènes cf. annexe), une autre est en cours pour les résultats sur grappes.

**L'action a été réalisée à 80%** car nous n'avons pas encore pu caractériser la défense sur des variétés en non taille, mais les protocoles et dispositifs sont maintenant éprouvés. L'induction de défense vis-à-vis du mildiou et du black rot sera également à investiguer sous réserve de financements futurs.

**Moyen humain** : Personnel permanent de SAVE (A. Calonnec, MF Corio-Costet, MC. Dufour, J. Jolivet, I. Demeaux), de l'UE de Pech Rouge (H. Odeja, N. Saurin, E. Garcia-Adrados), stagiaires de SAVE (S. Delmond, AL Ramaroson, J. Bourg), stagiaires de l'UE de Pech Rouge (A Piel, P Perabo)

### Action 3

Objectif : **Evaluer la résistance et résilience du dispositif implanté**

En ce qui concerne le mildiou et l'oïdium il y a eu très peu de dégâts sur les 4 ans d'installation des dispositifs. L'oïdium n'a été présent que sur Prior sur feuilles, en fin de saison en 2017 et de rares symptômes ont été observés sur grappe en 2019. **Prior s'avère beaucoup plus résistant à l'oïdium au vignoble que dans les tests *in vitro*, résistance très certainement de type 'évitement' liée à sa très forte croissance avec un effet maximal de la résistance ontogénique à l'échelle globale.** Le mildiou, dont la pression était très forte en 2018-2019 et 2020 n'a également pas nécessité de traitement. Les **symptômes** peuvent être très importants **sur feuille, sur Prior, mais sont peu sporulants** (Fig. 3.1) et les dégâts sur grappe sont modérés compte-tenu de la charge importante des ceps, le développement rapide des grappes (Fig. 3.2) leur permet de limiter les dégâts par évitement. **Sur Artaban**, il n'y a que très peu de symptômes sur feuille mais les **dégâts sur grappes peuvent être plus importants et très localisés pour les ceps en retard de phénologie** (Fig. 3.3). La combinaison tests *in vitro*, mesures d'expression de gènes et observations de phénologie et de maladie au vignoble se complètent et permettent de mieux comprendre le comportement des variétés. **Le dispositif de bordeaux a été évalué vis-à-vis du black rot en 2019** (Fig. 3.4). En début d'épidémie, lorsque la pression est plus faible, **Prior était significativement plus atteint qu'Artaban sur feuille**, et l'on observait un effet du mélange variétal avec moins de maladie, mais lorsque la pression a été plus forte, il n'y avait plus de différences significatives entre zone (mélange vs pure), et **Prior restait significativement plus sensible particulièrement en zone de forte vigueur** (plus d'organes jeunes).

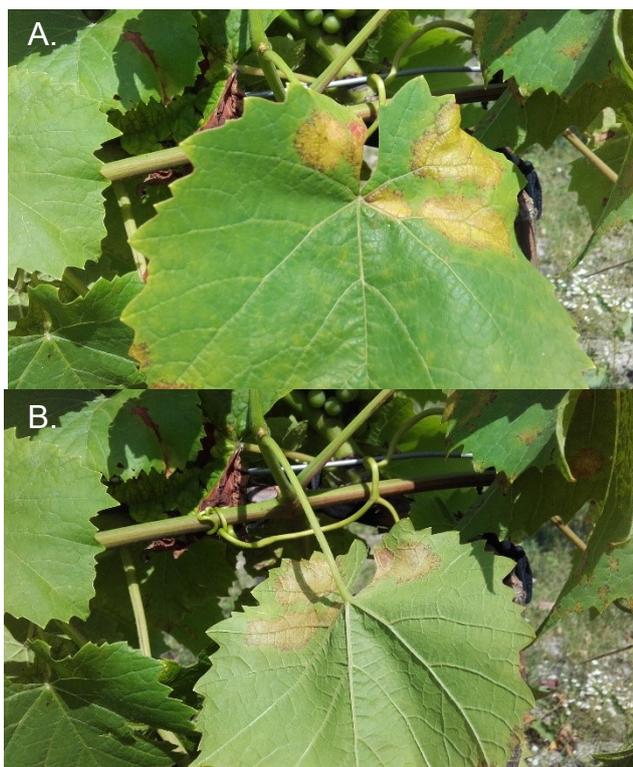


Fig. 3.1. Symptômes de mildiou observés sur feuille type tache d'huile en face supérieure (A.) et peu sporulant en face inférieure (B).

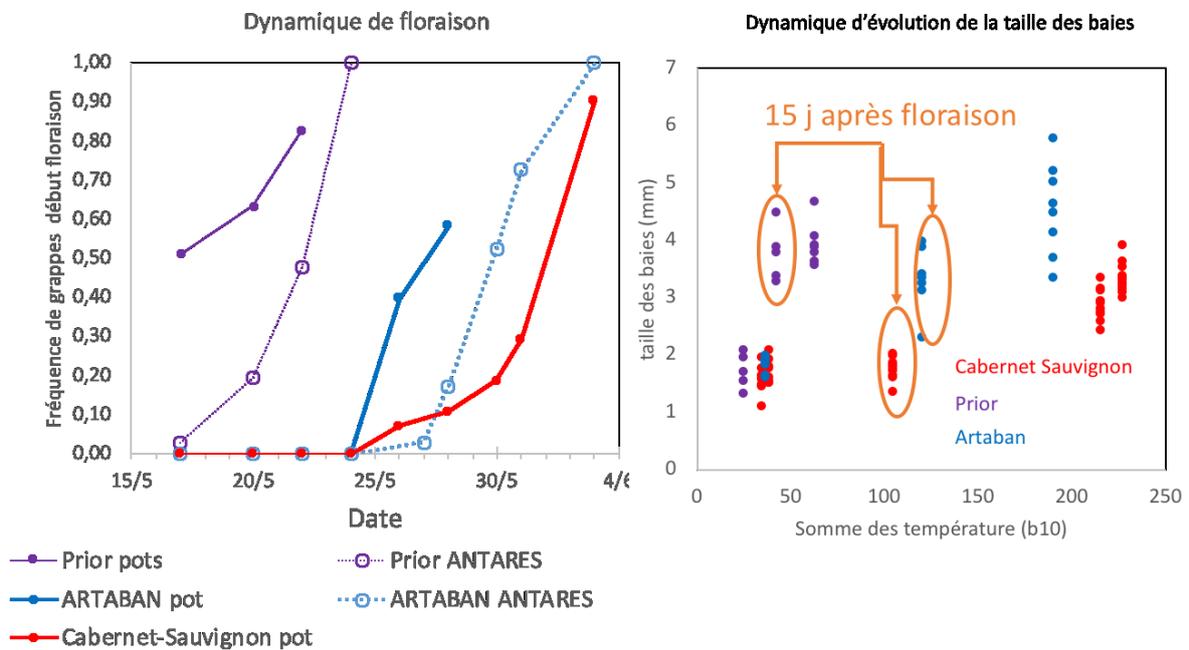


Fig. 3.2. Dynamique d'évolution de la floraison et de la croissance des baies pour les 3 variétés Prior, Artaban et Cabernet Sauvignon.

**La sensibilité au black rot des deux variétés résistantes est préoccupante** compte-tenu d'une recrudescence de printemps fortement pluvieux en région océanique. **L'expression de défense vis-à-vis du black rot et la recherche de stimulateurs de défense efficaces sera à prospecter.** A noter que sans traitement fongicide de rares foyers d'excoriose et d'antracnose sont assez rapidement apparus (dès 2018).

Un index de croissance végétative (enhanced vegetative index) a été mesuré par drone et révèle des zones d'hétérogénéités sans gradient significatif, essentiellement liées à la structure du sol (Fig. 3.5). A noté que nous n'avons fait aucun traitement ni contamination sur la parcelle. **Un traitement systématique vis-à-vis du black rot pourrait être envisagé après la première forte pluie de printemps (>10 mm)** au vu de la très grande dispersion des pycnides et la potentialité de dégâts en très peu de cycles. D'après la littérature, nous avons estimé la sortie du premier cycle infectieux au 26/05 soit 2 jours avant la première notation (contaminations du 15/04) et la deuxième au 2/06 soit 7 jours avant la deuxième notation (contaminations du 23/04). Il n'y a pas eu de pluie entre ces deux dates. **Un seul un cycle de dispersion supplémentaire entre les deux dates a potentiellement anéanti l'efficacité du mélange variétal. L'action a été réalisée à 80%.** Compte-tenu du retard de développement des dispositifs nous n'avons pas pu réaliser des analyses globales prenant en compte l'effet des différents facteurs ni de mesures quantitatives d'objectif atteint de rendement puisqu'une partie de la vendange était détruite pour privilégier l'implantation des ceps. **Qualitativement le dispositif s'est avéré cependant très satisfaisant et avec une excellente résilience.**



Fig. 3.3 Cep d'Artaban, ponctuellement très atteint par le mildiou sur grappes (fin mai 2020)

**Moyen humain :** Personnel permanent de SAVE (A. Calonnec, P. Cartolaro), stagiaire (J. Bourg), Personnel permanent de l'IFV (C. Debords, M. Raynal).

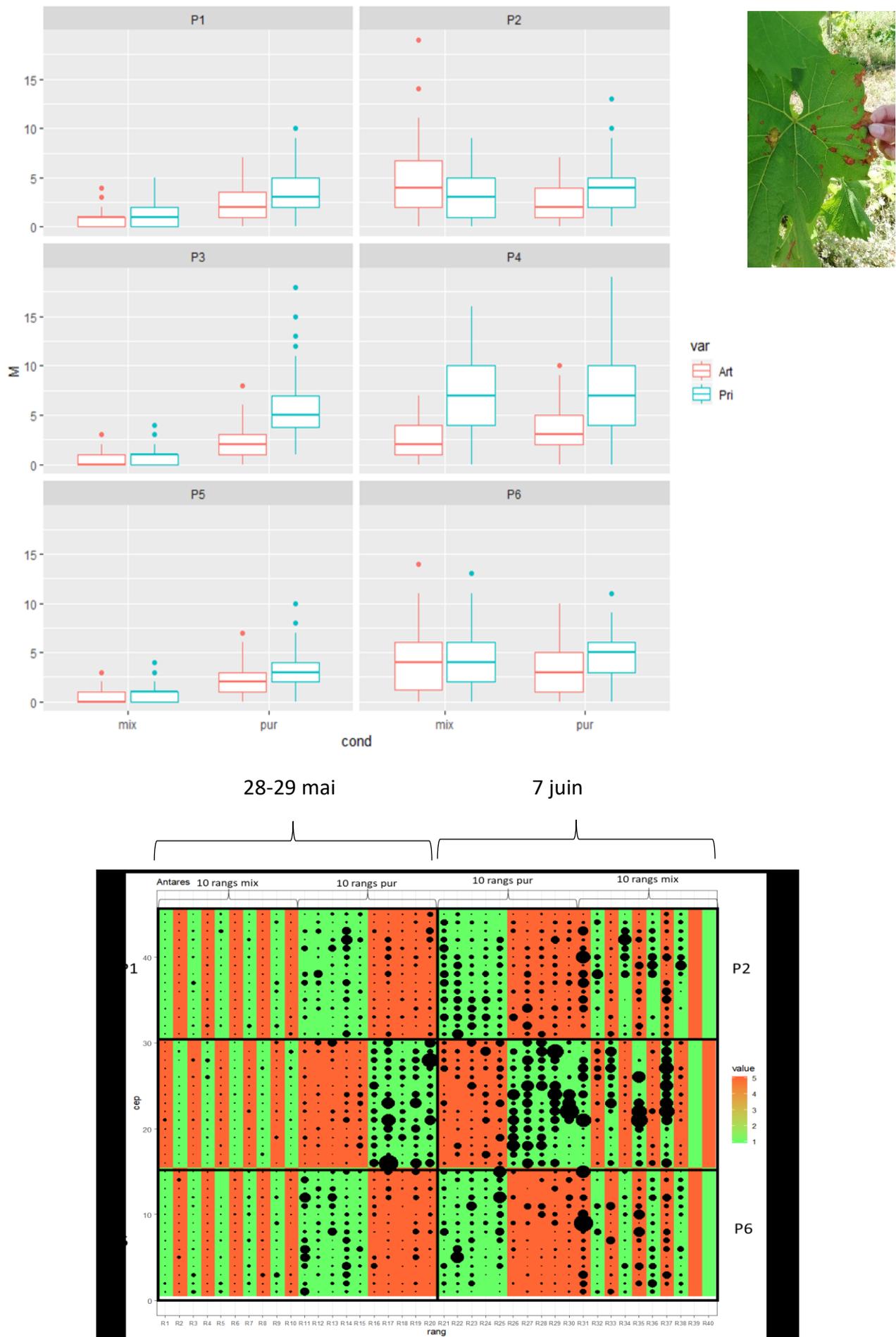
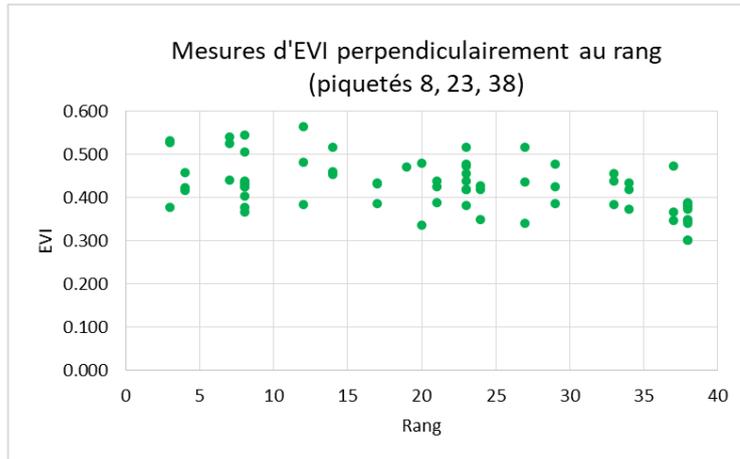
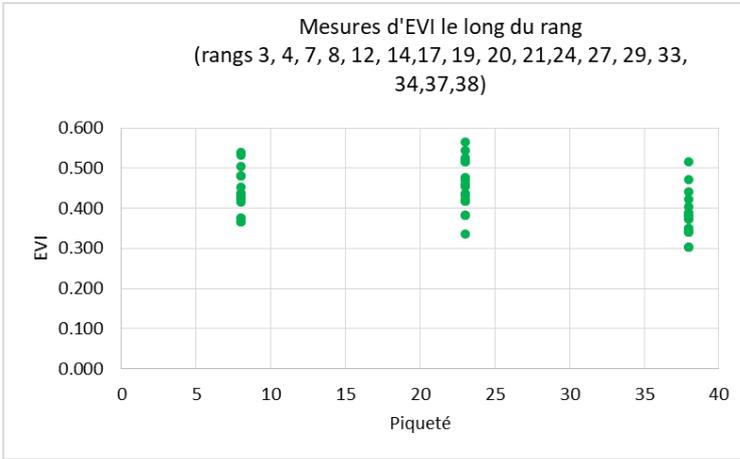


Fig. 3.4. Evaluations du niveau et de la répartition du black rot sur la parcelle ANTARES de Bordeaux (nombre moyen de feuilles infectées par cep) : 28-29 mai 2019 évaluation des rangs 1 à 20 (sous blocs P1, P3, P5), et 7 juin évaluation des rangs 21 à 38 (sous blocs P2, P4, P6)

B.



A.

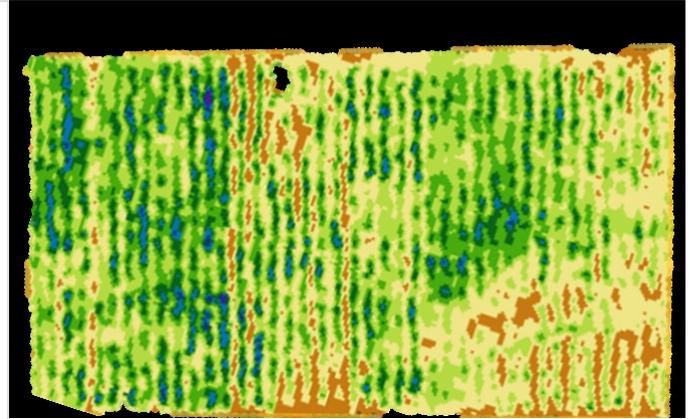


Fig. 3.5. Mesures d'EVI (enhanced vegetation index) réalisées par drone de l'ensemble de parcelle ANTARES (A), ou moyennées pour trois ceps (B) où sont réalisées les prélèvements de baies pour des mesures biochimiques des raisins et des mesures de biodiversité.

## Action 4

Objectif : **caractérisation Œnologiques des variétés.**

Les dispositifs expérimentaux n'étaient pas suffisamment avancés pour pouvoir comparer les deux modes de tailles, mais des comparaisons des deux variétés ont pu être initiées. Trois sous-actions ont été réalisées sur Bordeaux : 1. **Des prélèvements de baies sur l'ensemble de la parcelle** (48 points en 17 rangs, 3 points/rang, 20 baies/point) **afin de caractériser d'éventuelles hétérogénéités qualitatives et quantitatives**, éventuellement en lien avec la vigueur (poids de baies, glucose & fructose, acidité totale, anthocyanes, polyphénols, azote aminé et assimilable), 2. **Une dégustation de baies**, pour déterminer des potentiels œnologiques 3. **Des micro vinifications en rosé**. La variété Prior s'avère présenter significativement des taux de sucres (x 1.2), d'acidité totale (x 1.5), d'anthocyanes (x 2.2), de polyphénol (x 1.5) et d'azote (x 3) significativement plus élevés qu'Artaban, pour des poids de baies similaires (Fig. 4.1).

**L'azote dans les baies est corrélé à la vigueur** (estimée par drone) **pour Prior mais pas pour Artaban qui présente un niveau d'azote assimilable très faible** (< 55 mg/l). **Ce faible taux d'azote assimilable est en lien avec une expression plus faible de la nitrate réductase mesurée sur feuille**. En comparaison à Artaban, Prior surexprime la Nitrate réductase sur feuille comme sur baie ainsi qu'un gène de transport de l'azote (Nrt2). Il sera bon de confirmer si ces comportements sont retrouvés avec d'autres porte-greffe. Malgré l'hétérogénéité de certaines zones liées au sol, il n'y a pas d'effet bloc significatif. Il n'y a pas de relation entre le développement végétatif estimé par imagerie drone et les autres caractères œnologiques. **La dégustation de baies révèle chez Artaban, une plus grande intensité tannique et amertume des pépins par rapport à Prior**. Les baies apparaissent avant maturité plus sucrées, avec une pulpe plus adhérente à la pellicule et sont plus difficiles à égrainer du pédicelle (caractère important pour une vendange mécanique) (Fig. 4.2). Ces derniers caractères ne sont plus discriminants à maturité, où les baies d'Artaban deviennent plus aromatiques mais sont plus fragiles que celles de Prior. Au niveau des dosages, pour les deux dates, **Prior est plus sucré, avec une acidité totale et malique supérieures à celle d'Artaban. Artaban présente un gros déficit d'azote assimilable dans les mouts**. Les vinifications 2019, n'ont pas encore pu être évaluées à cause du Covid19.

**Moyen humain** : personnel de l'UE expérimentale de Bordeaux (W. Goupil, JP Goutouly), plateau technique Œnologique de Bx (S. Lacampagne, S. Vanbrabant), une stagiaire sur fond propre (L-M Daumont)



## Action 5

### Objectif : Evaluation de la biodiversité et services de régulation

L'action 5 initialement prévue 'analyse multiperformance du système' n'a pu être réalisée par le responsable de l'UE viticole de Bordeaux qui a rejoint le Château Couhins en 2017. Le désir de pousser le système à l'extrême sans aucun pesticide et de préserver le sol de labours délétères pour la jeune plantation, nous a amené à conduire la parcelle de Bordeaux en enherbement total. **L'enherbement** outre son effet bénéfique sur l'activité biologique des sols a également un rôle structurant, augmentant sa portance et sa porosité, et limitant évaporation et ruissellement. Il doit cependant être géré, notamment sur le rang pour limiter la compétition avec la plante cultivée. Nous avons donc réalisé en 2019 un essai de gestion de l'enherbement par des ovins, ainsi qu'une première évaluation de la biodiversité (floristique et faunistique) de notre dispositif, première étape **d'évaluation des services de régulations** (Fig 5.1-5.2-5.3). Le système de conduite haute et sans pesticide rendait possible l'utilisation du pâturage à l'année même en période de végétation. L'essai est apparu concluant, avec **un épamprage efficace des ovins en début de végétation, un maintient rase de l'herbe y compris sur le rang et également une gestion partielle du couvert** retombant en rideau au sol. Une évaluation de la biodiversité floristique et faunistique (insectes – arachnides volants et rampants) a été effectuée dans les zones pâturées et les rangs non pâturés. Il a été mis en évidence une **grande richesse spécifique** (12 ordres sur les 4900 individus échantillonnés, indice de Shannon global de 2.6), avec les 3 ordres les plus représentés les **hyménoptères** (30%), les **arachnides** (24.6%) et **hémiptères** (22%) (Fig. 5.3). La forte représentation des **arachnides, excellents prédateurs** est assez atypique. Parmi les **coléoptères** (7.4%), un grand nombre d'espèces de carabes (24) a été identifié. Les carabes sont de bons indicateurs de sensibilité du milieu, la plupart du temps omnivores, ils consomment énormément de graines d'adventices et peuvent réguler leur prolifération. Les analyses multivariées ont mis en évidence des liens de relations trophiques : coléoptères – hémiptères, araignées – larves, dermoptères – lépidoptères (Fig. 5.2). Ces évaluations prometteuses nous laissent présager **un bon équilibre du milieu favorisé par l'absence de pesticide et de travail du sol.**

**Moyen humain :** En plus du personnel permanent (P. Cartolaro, A. Calonsec) deux stagiaires ont participé à l'action 5 (A. Ventribout, L. Buxerolles)



PCA - Biplot

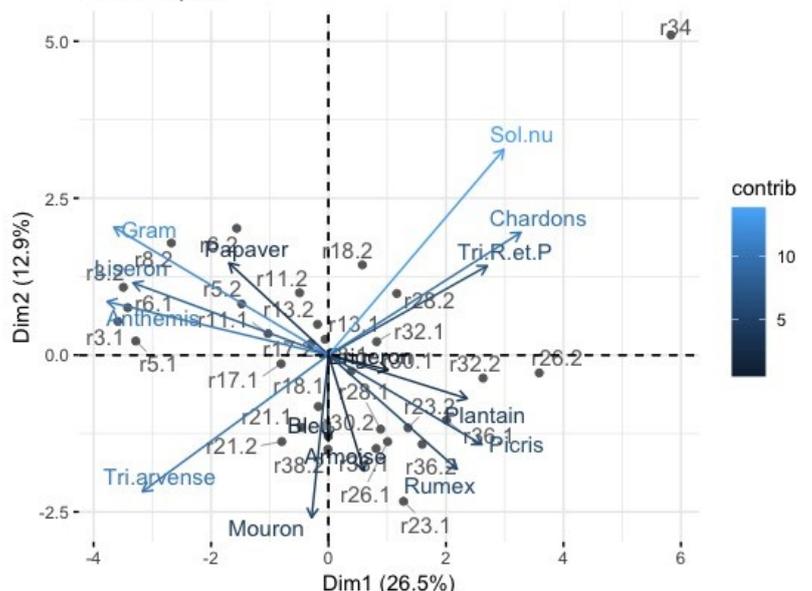


Fig. 5.1 Analyse en composante principale sur les données de floristique réparties sur la parcelle ANTARES

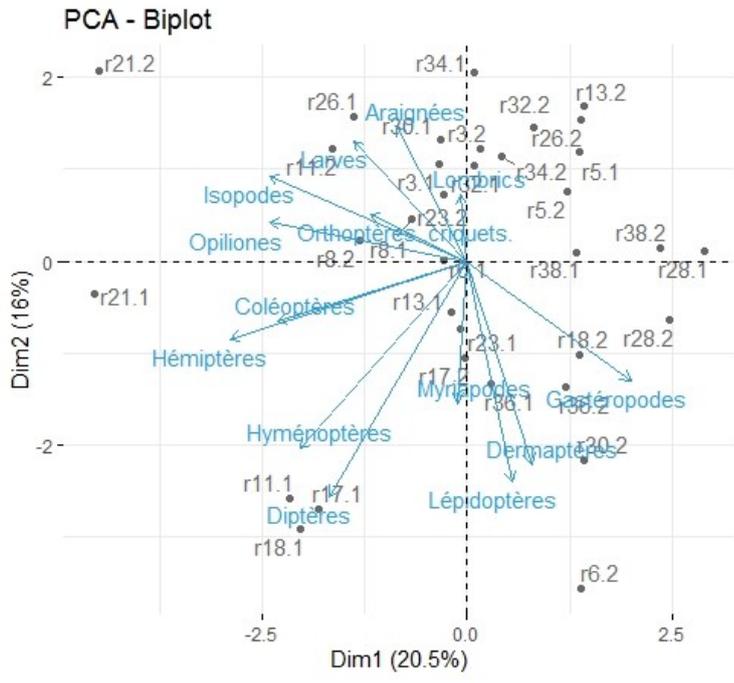


Fig. 5.2 Analyse en composante principale sur les données de piégeage au sol (pièges pitfall) réparties sur la parcelle ANTARES

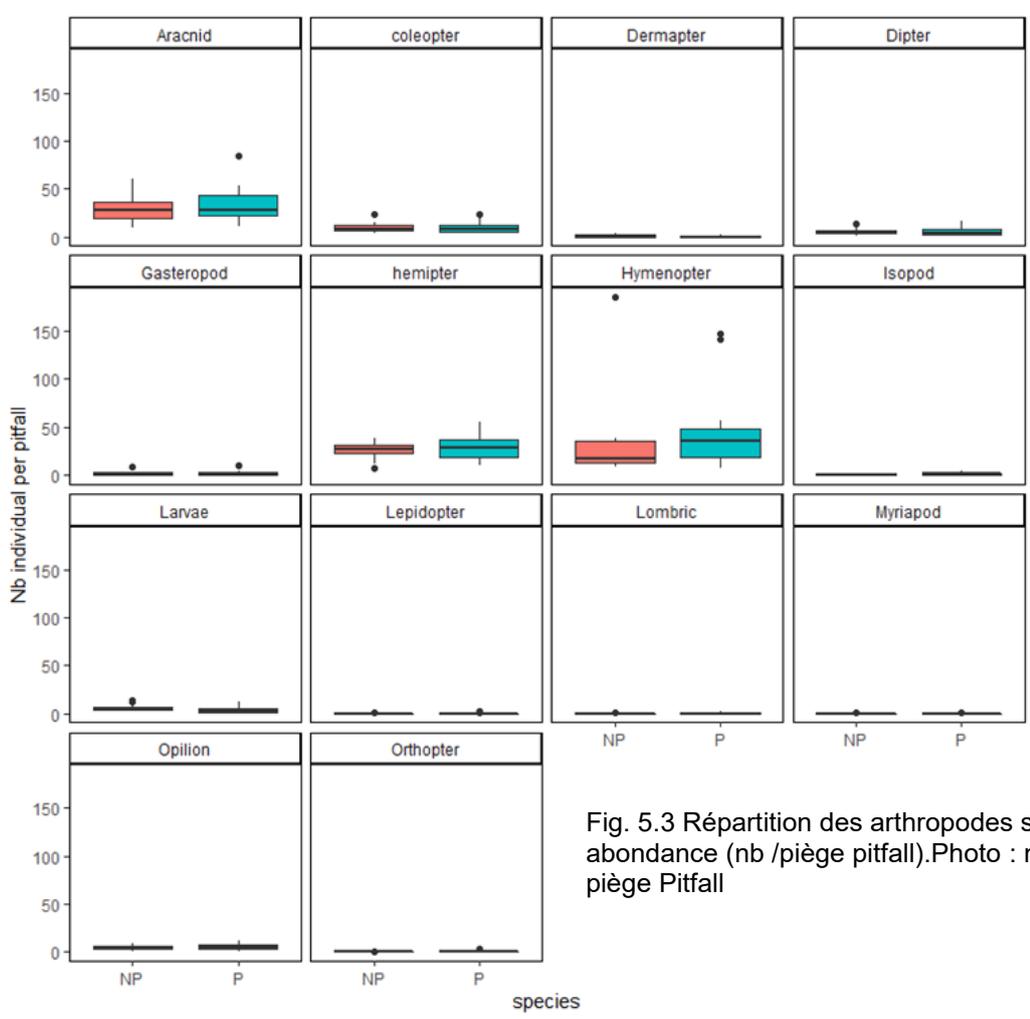


Fig. 5.3 Répartition des arthropodes selon leur ordre en abondance (nb /piège pitfall).Photo : mise en place d'un piège Pitfall