

ESCA, BDA et Procédé génodique

(Michel Duhamel et Pedro Ferrandiz, Genodics SAS)

Maladies du bois de la vigne

Les maladies du bois sont coûteuses pour les vignerons et très dommageables pour la pérennité du patrimoine viticole. Les parasites responsables de ces maladies provoquent à plus ou moins long terme la mort du cep et peuvent nécessiter un renouvellement des plants pouvant atteindre, certaines années, jusqu'à 10 % d'une parcelle. Depuis environ une dizaine d'années on constate une progression inquiétante de ces maladies.

L'interdiction de l'arsénite de soude en 2001, du fait de sa toxicité non seulement pour l'environnement mais aussi pour l'homme, inquiète d'autant plus les viticulteurs qu'aucune autre méthode de lutte satisfaisante ne leur a été proposée par les techniciens qui les conseillent.

Ceci met en péril le maintien des cultures et leur longévité. Les effets de ces maladies du bois peuvent entraîner soit une baisse de la qualité des vins, suite à un rajeunissement hétérogène des parcelles, soit une perte de la typicité d'un vin d'une région viticole, suite à la non replantation des cépages les plus sensibles.

Le vignoble français regroupe trois principales maladies du bois : l'eutypiose, l'esca et le BDA. Ces maladies de dépérissement sont associées à la présence de différents champignons capables de dégrader les tissus ligneux. *Phaeomoniella chlamydospora*, *Phaeocremonium aleophilum*, *Eutypa lata*, *Fomitiporia mediterranea*, *Botryosphaeria obtusa*, *Neofusicoccum parvum* et *Botryosphaeria stevensii* sont les principales espèces isolées en France.

L'esca implique un complexe fongique comprenant une douzaine d'espèces et plus de cent champignons différents. Au niveau du bois, des coupes transversales des ceps montrent une zone centrale claire et molle (amadou) entouré d'une zone brune dure et sombre.

On considère habituellement que cette maladie a deux formes : lente et apoplectique. La forme lente se manifeste par l'apparition de symptômes foliaires sur une partie ou sur l'ensemble du pied. Il s'agit de taches jaunâtres pour les cépages blancs ou rougeâtres pour les cépages rouges, qui vont former des digitations entre les nervures. La présence d'un liseré jaune le long des nervures permet de distinguer ces symptômes de ceux du Black Dead Arm. La forme apoplectique ou foudroyante se manifeste en quelques jours, voire en quelques heures, et aboutit à un dessèchement rapide et complet des sarments et des grappes du pied malade.

La maladie du Black Dead Arm (BDA) est associée à des champignons du genre *Botryosphaeria*. Les symptômes de la maladie se traduisent au niveau du cep par la présence d'une bande brune située sous l'écorce. Cette bande peut aussi se former de part et d'autre d'une nécrose sectorielle (Larignon et al., 2002). Au niveau foliaire, des digitations rouges qui apparaissent entre les nervures se transforment en zones de nécrose à un stade plus avancé de la maladie. Pascal Lecomte, chercheur à l'Inra de Bordeaux, et ses collègues de Neiker-Tecnalia ont conclu que les symptômes de la pathologie connue sous le nom « Black Dead Arm » sur les feuilles de la vigne correspondent à des symptômes de l'esca en phase initiale (résultats publiés en juillet 2012 dans la revue scientifique américaine « Plant Disease »).

Les symptômes de l'esca évoluent en cours de saison, incluant des symptômes attribués au BDA. Par exemple, les cépages noirs, qui présentent des décolorations rouge sombre en début d'expression, montrent ensuite les colorations caractéristiques de l'esca : zones ou liserés de couleur rouge clair ou jaune, formant ce que l'on appelle les digitations internervaires, évoluant parfois en leur centre en zones nécrosées. En observant attentivement la mise en place des premiers symptômes, on peut constater le développement simultané de zones desséchées et de plages décolorées, en quelques heures ou quelques jours. Dans le cas des symptômes les plus sévères, les feuilles flétrissent et chutent. Puis les colorations évoluent. En tout état de cause, il existe un gradient de sévérité de la maladie qui touche plus ou moins lourdement la plante, et non deux formes distinctes, l'une dite lente et l'autre apoplectique, comme on le pensait.

Développement de la maladie

Plusieurs études moléculaires, coordonnées par Patrice Rey à l'UMR Save, ont mis en évidence un cortège très vaste de microorganismes, aussi bien dans le bois nécrosé que dans le bois sain (en apparence). Des pathogènes identifiés comme étant associés à l'esca ont été isolés mais également des champignons potentiellement protecteurs des plantes, comme les *Trichoderma spp.* La diversité des espèces bactériennes est aussi très importante. Leur rôle comme facteur favorisant ou limitant la maladie est en cours d'étude. Une des hypothèses consiste à dire que certaines bactéries pourraient jouer un rôle dans la préparation du « terrain » pour les champignons dégradateurs du bois, comme cela a déjà été observé chez certains arbres. Néanmoins tout serait une question d'équilibre entre les microorganismes potentiellement pathogènes et d'autres potentiellement protecteurs du végétal. Tout facteur qui romprait cet équilibre conduirait à terme à l'expression de nécroses typiques de l'esca.

Et si, comme Valérie Hofstetter, chercheuse à l'Agroscope de Changins en Suisse, on part du principe que l'Esca n'est pas une maladie d'origine fongique, d'autres pistes restent à creuser : « il est possible que le génotype de la vigne soit impliqué dans la mesure où les cépages ou les individus d'un même cépage montrent des sensibilités différentes à l'Esca ». L'explication pourrait aussi être d'ordre physiologique, avec « une trop faible mycorhization de certaines plantes, qui seraient moins bien alimentées en eau et en nutriments, dans des sols abîmés ». Le rôle des bactéries doit aussi être approfondi.

Ces recherches ont aussi montré que, au niveau microscopique, les champignons associés à l'esca sont actuellement présents dans tous les ceps, même très jeunes, mais qu'ils ne se développent pas partout avec la même vitesse. En fait, lorsqu'elles sont en bonne santé, les cellules de la vigne ont la capacité de limiter la croissance de ces champignons et des microorganismes associés par la production de polyphénols, et notamment du resvératrol qui a des propriétés bactéricides. Les champignons restent alors sous la forme de micronodules circonscrits par les cellules environnantes.

Il est ainsi possible qu'en faible proportion, ces champignons contribuent indirectement à la richesse aromatique des raisins et donc des vins. C'est lorsque la résistance que la vigne leur oppose devient insuffisante qu'ils posent un problème : ils croissent alors au détriment des cellules environnantes, en absorbant ou en coupant une partie des flux de sève. Ceci entraîne d'abord l'apparition des symptômes caractéristiques sur les feuilles, puis, dans certains cas, l'apoplexie du pied de vigne.

D'autres recherches ont aussi montré que les cépages les plus sensibles à cette maladie, c'est-à-dire dans lesquels elle se développe le plus vite, sont aussi les plus lents à réagir à la présence de ces champignons. Leurs processus de défense naturelle apparaissent insuffisants.

Une problématique multifactorielle

La progression de ces maladies du bois qui, depuis une douzaine d'années, affecte des vignes de plus en plus jeunes, a tour à tour été imputée à de nombreux facteurs :

- les instruments utilisés pour la taille de la vigne : mal nettoyés, ils ont été soupçonnés de contaminer la vigne au niveau des plaies de taille ;
- les bois de taille laissés sur le terrain : s'ils sont contaminés, ils peuvent faciliter la dissémination des pathogènes ;
- la qualité des plants et de la plantation : ils déterminent la santé de la future vigne ;
- certains porte-greffes : déjà contaminés au niveau de la pépinière, ils transmettent la maladie à la partie greffée ;
- les techniques de greffe et de taille de la vigne : si elles ne favorisent pas la mise en place de flux de sève vigoureux, elles limitent la capacité de résistance de la vigne à ces microorganismes.

On peut aussi se demander si ces maladies de dépérissement de la vigne n'ont pas des causes environnementales plus globales. Comme tout organisme vivant, la vigne a de nombreuses capacités d'adaptation, mais celles-ci ont tout de même des limites. Il pourrait donc être utile d'analyser l'influence des autres facteurs qui peuvent l'affaiblir, tels que :

- les traitements chimiques (herbicides, insecticides et fongicides) : parfois indispensables à court terme, ils détruisent en partie la microbiologie du sol et du sous-sol et réduisent la diversité des composants nutritifs de la vigne (quand ils ne polluent pas ses raisins) ;
- les pollutions de l'air et des eaux de pluie, qui intoxiquent la vigne par ses feuilles et par ses racines, quand elles ne modifient pas l'équilibre microbiologique du sous-sol ;
- les ondes électromagnétiques, dont la diversité et la pression ont considérablement augmenté depuis une quinzaine d'années et qui peuvent, par leurs combinaisons, se concentrer sous forme d'ondes stationnaires dans certaines zones, de manière apparemment aléatoire et en tout cas difficilement détectable. Les fils métalliques qui enserrant les vignes constituent d'excellents récepteurs de ces ondes.

Comme on le voit, les facteurs pouvant influencer sur le développement des microorganismes « responsables » de ces maladies, ou sur la capacité de la vigne à les maîtriser, sont très nombreux. Les connaissances dans ce domaine sont très incomplètes, notamment du fait de l'interaction de ces différents facteurs entre eux. Les variations des conditions climatiques, suivant les régions et les années, compliquent aussi l'analyse.

La difficulté du traitement de ces maladies

Comme la littérature de la Grèce antique en témoigne, la vigne connaît les champignons de l'esca depuis des millénaires (le nom de cette maladie viendrait du grec eski, traduit escha en italien). Dans ce pays au climat sec, il suffit souvent de fendre les ceps présentant des symptômes et de les empêcher de se refermer en insérant un petit caillou, pour que les champignons se dessèchent et que les symptômes disparaissent. Dans nos régions humides, cette technique ne suffit pas à enrayer la maladie. En période sèche, il est possible de la compléter par

un curetage des parties détériorées pour faciliter l'action de l'air sur l'intérieur du pied de vigne. La durée des périodes de rémission ainsi obtenues dépend alors du nombre et de l'importance de l'impact des autres paramètres listés ci dessus.

La technique de l'inoculation d'un complexe d'huiles essentielles dans les pieds de vigne présentant des symptômes semble aider la vigne à circonscrire les parties nécrosées, mais sa mise en œuvre est assez lourde (perçage des pieds, installation et remplissage des diffuseurs).

L'efficacité du badigeonnage de trichoderma sur les ceps, validée par l'INRA, est contestée par des spécialistes de l'IFV qui font remarquer que ces champignons du sol protègent mal les plaies de taille et sont inopérants sur deux des champignons précurseurs de l'esca.

Une approche plus fondamentale consiste à réduire l'impact de chacun des facteurs potentiels d'affaiblissement de la vigne, en revenant à de bonnes pratiques de culture, mais il est difficile de savoir par lequel commencer. Pour bien faire, il faudrait pouvoir agir sur tous les facteurs qui affectent chaque parcelle de vigne, ce qui suppose d'abord de les avoir identifiés, puis de mettre en place toutes les bonnes pratiques correspondantes. Il est généralement plus simple de remplacer les pieds morts, malgré le coût et les inconvénients de cette pratique. L'arrachage de tous les pieds présentant des symptômes, recommandée par certains conseillers pour réduire l'inoculum, est très coûteuse et n'a pas fait la preuve de son efficacité.

L'approche génodique de cette problématique

La génodique permet des approches globales d'organismes vivants, par l'intermédiaire des « ondes d'échelle » qui relient les différents niveaux de structuration du vivant. Des mélodies de protéines, que nous dénommons « protéodies », peuvent ainsi être diffusées dans les vignes pour réguler le taux de synthèse de protéines spécifiques, au niveau cellulaire.

Pour une vigne affectée par l'esca ou le BDA, c'est-à-dire qui ne parvient pas à limiter la croissance des parasites associés à ces maladies, il est possible :

- de **ralentir la croissance des champignons**, par la réduction du taux de synthèse d'une de leurs protéines : nous avons choisi une protéine de leur enveloppe ;
- de **renforcer le processus de défense naturelle de la vigne**, à savoir la production de polyphénols et notamment du resvératrol, par l'augmentation du taux de synthèse d'une protéine clé de cette chaîne métabolique.

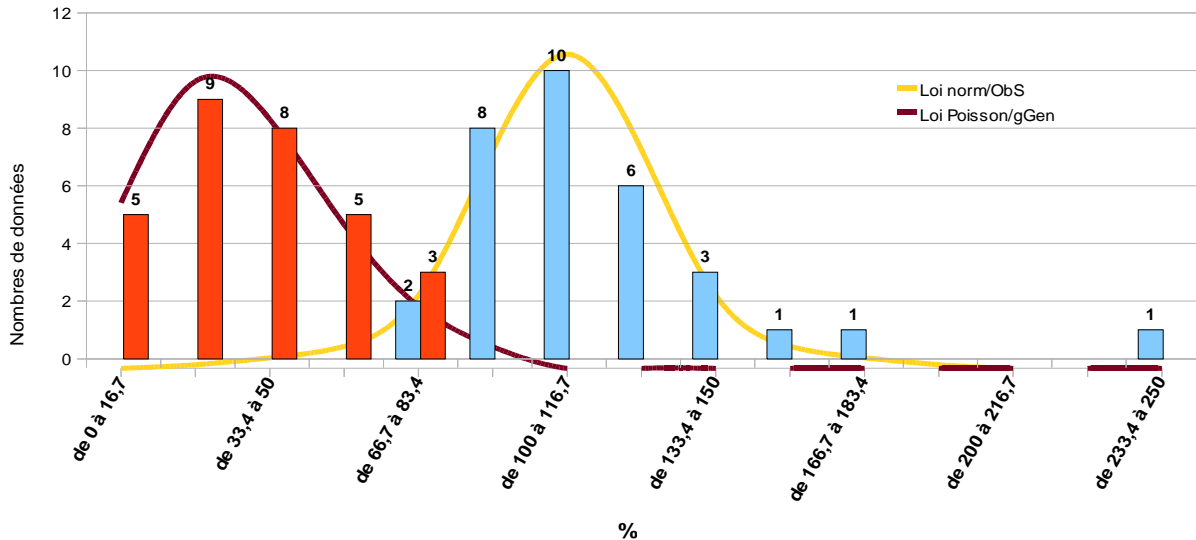
Cette stratégie nous a été conseillée par le professeur Raffaele Tabacchi, spécialiste des maladies du bois à l'Université de Neuchâtel. Elle a d'abord été expérimentée en 2003 et 2004 chez des vigneronns en Alsace, Champagne, Val-de-Loire et Périgord. Appliquée par la société Genodics depuis 2008, elle a maintenant prouvé qu'elle permet d'obtenir des résultats très significatifs et statistiquement reproductibles (voir pages 5 et 6, en insert).

Ce procédé de stimulation est particulièrement puissant : en année normale, deux diffusions de 7 minutes par jour suffisent, depuis le débouillage de la vigne jusqu'à la vendange. Mise en œuvre avec un appareil qui peut facilement couvrir 2 ou 3 ha, voire davantage si la topologie des lieux le permet, cette technique est aussi très simple à utiliser. Il suffit de vérifier une fois par semaine que l'appareil a bien effectué ses diffusions (en regardant le compteur), et d'observer le comportement de la vigne. En cas de problème, des ajustements sont possibles (augmentation du nombre des diffusions ou ajout de protéodies complémentaires).

Comparaison des parcelles traitées par le « procédé génodique » avec les données de l'Observatoire des maladies du bois (à la fin 2011)

Répartition des taux d'évolution de l'esca d'une année à la suivante, de 2003 à 2011, dans les régions Val-de-Loire, Bordelais, Alsace et Bourgogne (en bleu) et sur les 30 parcelles avec génodique dans ces régions (en rouge)

Tf/Ti : Données "Observatoire" et "Genodique"



Abcisses : classes des taux d'évolution de l'ESCA d'une année par rapport à la précédente, Ordonnées : nombre de données qui répondent à chaque classe.

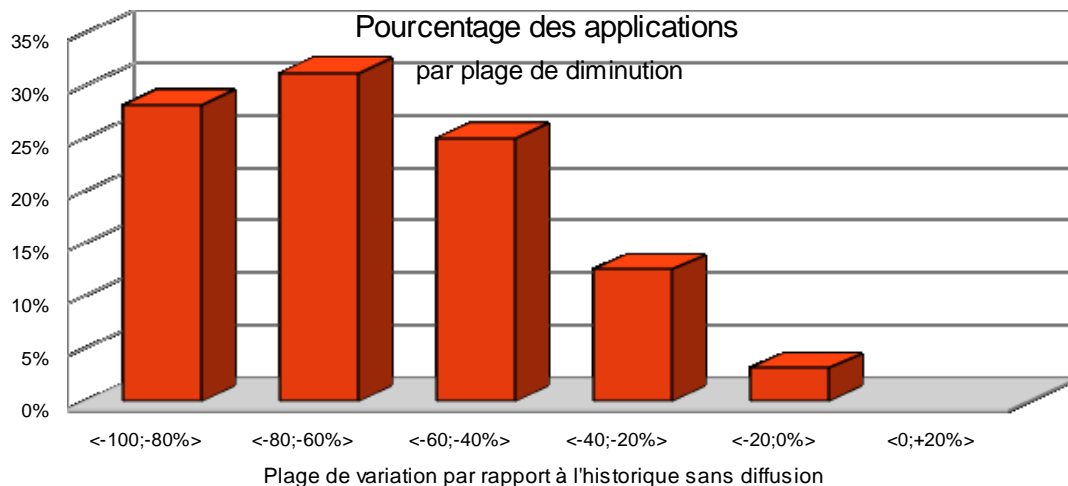
Les taux en dessous de 100 correspondent à une diminution du taux d'ESCA, et celles au dessus de 100 à une augmentation. Les données en bleu montrent que, suivant les années et les régions, l'esca a progressé ou régressé, avec une tendance moyenne à l'augmentation comprise entre +10 % et +15 % par an).

L'écart entre les maxima des deux courbes est de 5 classes de 16,66 %, correspondant à une baisse moyenne de 67 %.

Sur 70 % des parcelles traitées, la mortalité a baissé de plus de 50 %.

Taux de baisse 2013, par rapport à la moyenne historique de chaque parcelle

(analyse de 32 parcelles ; baisse moyenne de la mortalité : - 64%)



La différence entre les deux courbes établies à la fin 2011 présente une haute significativité. Celle des parcelles avec génodique se distingue très nettement de celle de l'observatoire, et montre qu'il se passe sur ces parcelles un événement différent : la mise en résonance des vignes et des champignons par les diffusions de protéodides. Contrairement à celle d'une problématique endémique, cette courbe se rapproche du 0 %, c'est-à-dire de la résolution du problème.

Comme on peut le voir sur ces graphiques, la répartition des taux de baisse obtenus en 2013 (barres rouges, figure du bas) apparaît similaire à celle obtenue à la fin 2011 (figure du haut), c'est-à-dire que **la courbe de probabilité** qui ajuste cette répartition, pour la diffusion de cette combinaison de « protéodides », **est reproductible**. Sa légère variation apparaît en fait indiquer un "effet mémoire" au fil des ans.

La dispersion des **résultats obtenus avec le procédé génodique (baisses comprises entre -10 % et -95 % suivant les parcelles et les années)** a une amplitude comparable à la dispersion des **variations annuelles constatées dans les différentes régions (de -15 % à +90 %)**. Elle correspond bien sûr à l'influence des différents facteurs mentionnés précédemment et qui ont continué à affecter les parcelles de vigne que nous avons traitées, comme les autres. Pour obtenir de meilleurs résultats, notamment sur les 30 % de parcelles où la baisse de la mortalité est inférieure à -50 %, les vignerons ne pourront faire l'économie du travail de fond que représente l'identification et la correction des causes principales de la mortalité sur leurs parcelles de vigne.

Genodics continue à travailler à l'amélioration de ces résultats. De nouvelles protéines de champignons de l'esca, et notamment certaines produisant des toxines de la vigne, ont été identifiées.

En 2014, nous avons testé les protéodides pouvant permettre d'inhiber la biosynthèse de deux de ces protéines, sur des parcelles de vigne où nous travaillons déjà et où les résultats de l'application de notre procédé devaient être améliorés. Il semble que l'apport de ces nouvelles protéodides soit positif. L'essai sera renouvelé en 2015.