



## Maladies du bois

Les dernières avancées

## Viticulture

Les outils de demain

## Œnologie

Vers plus de précision



INSTITUT FRANÇAIS DE  
LA VIGNE ET DU VIN

ACTES DE COLLOQUE



V'innopôle  
(Sud-Ouest)



# V'innopôle DAY

2018

11 JANVIER 2018 - TOULOUSE



**D**epuis plusieurs années, l'IFV Sud-Ouest organise des journées de restitution technique - Assises des Vins du Sud-Ouest, matinée technique... - pour les professionnels de la filière vitivinicole. Pour cette édition 2018, il lance le V'innnoDAY. Cette journée technique présente les résultats concrets de la recherche autour de deux thématiques d'actualité : Maladies du bois et innovation en viticulture et œnologie.

## Maladies du bois

### En 2018, que sait-on des maladies du bois?

Les maladies du bois de la vigne sont aujourd'hui la principale préoccupation des viticulteurs. Et pour cause! Selon la dernière publication de l'Organisation Internationale de la Vigne et du Vin (2016), le coût économique mondial lié au remplacement des pieds de vigne atteints par ces pathologies s'élève à plus d'un million et demi de dollars par an. La France n'est pas épargnée puisqu'on estime que 12% des superficies viticoles françaises sont improductives en raison de ces maladies.



Face à ces fléaux, les organismes de recherche nationaux et internationaux se mobilisent. A l'occasion du V'innnoDAY, trois spécialistes français de ces sujets présentent leurs derniers résultats de recherche.

## Innovation en viticulture et œnologie

### Comment la technologie permet-elle d'orienter les choix au vignoble et au chai?

Technologie, robotique, modélisation, viticulture de précision (...) sont autant de termes qui rythment depuis une dizaine d'années le quotidien de la filière vitivinicole. L'évolution des pratiques culturales et œnologiques montre que les viticulteurs recherchent des outils de plus en plus fins pour gérer la conduite des vignes et piloter l'élaboration des vins. Les ingénieurs de l'IFV Sud-Ouest participent au développement de ces outils. Lors du V'innnoDAY, ils présentent les résultats de leurs études récentes sur ces sujets et montrent ce que ces outils peuvent concrètement apporter à la viticulture.

# Sommaire

## PREMIÈRE PARTIE

### Maladies du bois, les dernières avancées

- p 5 ▶ Tour d'horizon des recherches récentes sur les maladies du bois de la vigne**  
*Florence Fontaine - Université de Reims Champagne-Ardenne*
- p 9 ▶ Comprendre le mode d'action de l'arsenite de sodium afin de proposer de nouveaux moyens de lutte**  
*Philippe Larignon - Institut Français de la Vigne et du Vin, Pôle Rhône-Méditerranée*
- p 21 ▶ Etude de la cinétique de contamination de jeunes plants par les champignons responsables des maladies du bois**  
*Olivier Yobregat - Institut Français de la Vigne et du Vin, Pôle Sud-Ouest*
- p 27 ▶ Le plan national Dépérissement du Vignoble en actions**  
*Christophe Riou - Institut Français de la Vigne et du Vin / CNIV*

## DEUXIÈME PARTIE

### Viticulture : les outils de demain

- p 29 ▶ Robots viticoles et transition agro écologique : gestion de la tonte et des adventices**  
*Christophe Gaviglio - Institut Français de la Vigne et du Vin, Pôle Sud-Ouest*
- p 33 ▶ Mieux réfléchir sa fertilisation en vignoble IGP. Quelles nouvelles technologies pour nous y aider ?**  
*Thierry Dufourcq - Institut Français de la Vigne et du Vin, Pôle Sud-Ouest*

## TROISIÈME PARTIE

### Œnologie : vers plus de précision

- ▶ Modéliser pour anticiper le profil sensoriel des vins. Utilisation concrète de l'IRTF pour la production des vins rosés** **p 39**  
*Sylvie Roussel - Ondalys*  
*Jean Hemmi - Vinovallie*
- ▶ Quelles applications concrètes pour les champs électriques pulsés ?** **p 41**  
*François Davaux - Institut Français de la Vigne et du Vin, Pôle Sud-Ouest*
- ▶ Marqueurs aromatiques : permettent-ils d'orienter les itinéraires d'élaboration des vins ?** **p 47**  
*Grégory Pasquier et Carole Feilhes - Institut Français de la Vigne et du Vin, Pôle Sud-Ouest*

## DÉGUSTATIONS

- ▶ Cépages résistants**  
*Les premiers vins et assemblages du Sud-Ouest*
- ▶ Cépages blancs étrangers**  
*Pour de nouveaux produits dans le Sud-Ouest*
- ▶ Cépages oubliés**  
*Redécouvrir d'anciens cépages du Sud-Ouest*
- ▶ Dégustation enquête**  
*Quels arômes préférez-vous dans le vin ?*

# PREMIÈRE PARTIE

## Maladies du bois, les dernières avancées



# Tour d'horizon des recherches récentes sur les maladies du bois de la vigne

FLORENCE FONTAINE

SFR Condorcet, Université de Reims Champagne-Ardenne, URVC EA 4707, Laboratoire Stress, Défenses et Reproduction des Plantes, BP 1039, Reims, Cedex 2 51687, France

Email : [florence.fontaine@univ-reims.fr](mailto:florence.fontaine@univ-reims.fr)

Les maladies du bois (MDB) sont une des plus grandes menaces pour la pérennité du patrimoine viticole. Une brusque recrudescence des MDB a été notée en 2003, deux ans après l'interdiction du seul traitement alors disponible, l'arsénite de sodium, en raison de sa toxicité. Les MDB provoquent à plus ou moins long terme la mort du cep et conduisent à un renouvellement annuel des plants pouvant atteindre plus de 10 % d'un vignoble en France. L'impact économique est maintenant tel que la survie de certaines exploitations est menacée.

Pour combattre les MDB, hormis d'indispensables mesures prophylactiques qui restent insuffisantes, les moyens de lutte en remplacement de l'arsénite de sodium et au même niveau d'efficacité sont inexistantes. La recherche d'un traitement alternatif efficace contre les MDB, mais non toxique pour l'homme et son environnement est donc un challenge complexe et prioritaire. Mais la proposition d'un tel traitement passe d'abord par une meilleure identification et caractérisation des pathogènes impliqués dans ces MDB, une compréhension des réponses de la vigne face à ces agressions et l'importance de la microflore du cep dans l'équilibre microorganismes bénéfiques et néfastes.

## De nouvelles espèces de pathogènes impliquées dans ces maladies

Actuellement, 133 espèces de champignons appartenant à 34 genres sont recensées comme impliquées dans les MDB. Parmi les espèces les plus fréquentes, nous pouvons citer *Phaeoacremonium* spp, *Phaeomoniella chlamydospora*, *Fomitiporia mediterranea* et *Stereum hirsutum* en lien avec l'expression de l'esca, *Botryosphaeria* spp en lien avec la Botryosphaeriose ou Black Dead Arm et *Eutypa* spp pour l'eutypiose (Tableau 1). L'ensemble de ces espèces sont présentes dans les vignobles du monde entier avec des fréquences plus importantes de certaines espèces selon les pays, les régions. Cette multitude de champignons impliqués dans les MDB fait que ce sont des maladies complexes.

## Des champignons de plus en plus nombreux mais de mieux en mieux caractérisés

Parmi eux, certains ont été récemment séquencés. Grâce à la connaissance de leur génome, des amorces moléculaires spécifiques des champignons ont pu être identifiées ; elles pourront être utilisées en pépinières ou au vignoble afin de déterminer les espèces de champignons présents dans un but d'optimiser les traitements face à ces pathogènes. De plus, des outils moléculaires sont actuellement disponibles pour estimer la quantité du champignon présent, notamment pour *Eutypa lata*. Nous allons pouvoir ainsi aborder la question suivante qui est de déterminer le poids de l'inoculum des champignons dans l'expression des symptômes foliaires. Par ailleurs, les données du génome vont permettre d'approfondir les travaux sur leurs déterminants du pouvoir agressif. Ces champignons ont en effet les gènes nécessaires pour produire des enzymes dégradant le bois



Symptômes d'esca sur Chardonnay B.

**Tableau 1 : Espèces de champignons recensées comme impliquées dans les principales maladies du bois**

<b>Botryosphaeria</b>	<b>Eutypiose</b>	<b>Esca</b>
<i>Botryosphaeria dothidea</i>	<i>Eutypa lata</i>	<i>Phaeoconiella chlamydospora</i>
<i>Diplodia corticola</i>	<i>Eutypa laevata</i>	<i>Phaeoacremonium minimum</i>
<i>Diplodia mutila</i>	<i>Eutypa leptoplaca</i>	<i>Phaeoacremonium angustius</i>
<i>Diplodia seriata</i>	<i>Eutypella citricola</i>	<i>Phaeoacremonium alvesii</i>
<i>Dothiorella iberica</i>	<i>Eutypella cryptovalsoidea</i>	<i>Phaeoacremonium argentinense</i>
<i>Dothiorella americana</i>	<i>Eutypella microtheca</i>	<i>Phaeoacremonium ameniacum</i>
<i>Dothiorella vidmadera</i>	<i>Eutypella vitis</i>	<i>Phaeoacremonium australiense</i>
<i>Lasiodiplodia crassispota</i>	<i>Cryptosphaeria lygniota</i>	<i>Phaeoacremonium austroafricanum</i>
<i>Lasiodiplodia exigua</i>	<i>Cryptosphaeria pullmanensis</i>	<i>Phaeoacremonium canadense</i>
<i>Lasiodiplodia mediterranea</i>	<i>Cryptovalsa amplelina</i>	<i>Phaeoacremonium cinereum</i>
<i>Lasiodiplodia missouriana</i>	<i>Cryptovalsa rabenhorstii</i>	<i>Phaeoacremonium croatiense</i>
<i>Lasiodiplodia theobromae</i>	<i>Diatrype brunneospota</i>	<i>Phaeoacremonium giobosum</i>
<i>Lasiodiplodia viticola</i>	<i>Diatrype oregonensis</i>	<i>Phaeoacremonium hispanicum</i>
<i>Neofusicoccum australe</i>	<i>Diatrype stigma</i>	<i>Phaeoacremonium hungaricum</i>
<i>Neofusicoccum luteum</i>	<i>Diatrype whitmanensis</i>	<i>Phaeoacremonium inflatipes</i>
<i>Neofusicoccum macroclavatum</i>	<i>Diatrypella verruciformis</i>	<i>Phaeoacremonium kraidenii</i>
<i>Neofusicoccum mediterraneum</i>	<i>Diatrypella vulgaris</i>	<i>Phaeoacremonium mortoniae</i>
<i>Neofusicoccum parvum</i>		<i>Phaeoacremonium occidentale</i>
<i>Neofusicoccum ribis</i>		<i>Phaeoacremonium roseum</i>
<i>Neofusicoccum viticlavatum</i>		<i>Phaeoacremonium scolyti</i>
<i>Neofusicoccum vitifusiforme</i>		<i>Phaeoacremonium sicilianum</i>
<i>Phaeobotryosphaeria porosa</i>		<i>Phaeoacremonium tuscanum</i>
<i>Spencermartinsia viticola</i>		<i>Phaeoacremonium viticola</i>
		<i>Cadophora luteo-olivacea</i>
		<i>Cadophora mellinii</i>
		<i>Fomitiporia australiensis</i>
		<i>Fomitiporia capensis</i>
		<i>Fomitiporia mediterranea</i>
		<i>Fomitiporia polymorpha</i>
		<i>Fomitiporia punctata</i>
		<i>Phellinus igniarius</i>
		<i>Stereum hirsutum</i>

(cellulase, xylanase, ...) mais également des molécules ayant un pouvoir toxique pour la vigne. Ces molécules peuvent être de différentes natures, i.e. des métabolites, des protéines ou des exopolysaccharides. L'étape suivante est de déterminer dans quelles conditions ces gènes sont induits pour aboutir à la production de ces molécules et en quelle quantité sont-elles produites. Ces molécules sont-elles ou peuvent-elles être reconnues par la vigne? Peuvent-elles ensuite être maîtrisées? Ou est-elle incapable de les détoxifier? Selon les interactions entre ces molécules fongiques et la vigne, il peut y avoir ou non expression de la maladie. Concernant ces molécules potentiellement toxiques pour la vigne, certaines sont communes à plusieurs champignons et d'autres sont spécifiques. Récemment, des molécules ont été isolées, identifiées et des tests réalisés sur différents modèles biologiques de la vigne (suspension cellulaire, des amas de cellules ou cals, des disques foliaires, des vitro-plants ou encore des rameaux isolés) ont mis en évidence le pouvoir toxique de certaines molécules. Des corrélations positives avec la taille des chancres et/ou des nécroses ont été observées. Ces molécules ont même été détectées *in planta* dans des ceps au vignoble exprimant des symptômes foliaires et ceci dans différents organes (tronc, cordon). Ces travaux vont se poursuivre car il est fort probable que ce soit l'action de plusieurs molécules qui interviennent dans l'expression des symptômes foliaires. Pour attester et mieux caractériser l'implication de ces molécules dans l'expression des MDB, l'une des pistes explorée est l'obtention de mutants des pathogènes, mutants ne produisant pas ces molécules.

### **Le rôle de la microflore du cep dans les maladies du bois**

Au sein du cep, il y a un ensemble de microorganismes vivants incluant des champignons, des bactéries et des virus. Certains ont une relation bénéfique avec la plante et d'autres sont pathogènes et peuvent aboutir à l'expression de maladies. Cette communauté microbienne interagit entre elle mais également avec la plante. L'équilibre de ces interactions pourrait expliquer en partie que certains ceps infectés soient asymptomatiques et qu'une perturbation de cet équilibre soit liée à l'expression de symptômes foliaires. La composition de cette microflore peut fluctuer selon le cépage, le terroir, les itinéraires techniques... Pour exemple, des sols riches en cuivre modifient cet équilibre en favorisant le développement de certains champignons associés aux MDB. Dans le cas du traitement à l'arsénite de sodium, des études récentes consacrées à une meilleure caractérisation de ses effets dans un contexte MDB ont montré que la microflore était également modifiée suite à ce traitement. Il réduisait la diversité des champignons associés aux MDB au profit notamment de micro-organismes considérés comme bénéfiques pour la vigne. Ainsi, parmi les pistes de recherche actuellement en cours pour contrôler les MDB, l'une concerne l'identification puis la caractérisation de micro-organismes bénéfiques

issus de la microflore interne du cep. Ces micro-organismes pourront être appliqués en pépinière ou au vignoble et être utilisés pour leur capacité anti-fongique et/ou stimulateur de défense de la vigne. Ils seront appliqués en tant que tel ou seulement les molécules qu'ils produisent après les avoir identifiées et caractérisées (molécules anti-fongiques, élicitrices des défenses de la plante). Les micro-organismes bénéfiques à l'étude ou commercialisés actuellement proviennent soit du sol, soit de la microflore présente à la surface ou à l'intérieur du cep.

### La plante peut réagir face à ces attaques fongiques mais comment ?

Dans un premier temps, la vigne va produire des barrières physiques notamment par la formation de gommages ou de tyloses ce qui va limiter la progression du champignon au sein du cep. Ensuite, elle peut produire des molécules anti-fongiques tels que le resvératrol et la viniférine ; ces dernières vont également pouvoir limiter la croissance et la colonisation de la plante par le pathogène. Ces réponses locales, en lien avec la présence physique du champignon, ne sont qu'une partie des réponses de la plante. En effet, des études réalisées à l'échelle de la plante, allant du modèle simple bouture en serre à la plante au vignoble en conditions naturelles, montrent que des réponses sont déclenchées dans tous les organes de la plante. Ainsi, des altérations des métabolismes primaire et secondaire sont notables dans le tronc, au niveau du bois sain, de la brande brune, de ponctuations noires, dans le cordon, la tige herbacée et les feuilles. Ces réponses semblent être dépendantes du cépage et en lien aussi avec les conditions environnementales. Côté cépage, il a été observé que la taille des vaisseaux conducteurs et leur richesse en pectine module la colonisation de la plante par les pathogènes. Des travaux sont également menés sur la recherche de tolérance aux MDB chez d'autres *Vitis*. Pour les conditions environnementales, un déficit hydrique et/ou de fortes chaleurs interfèrent sur la physiologie de la vigne mais également sur la virulence des pathogènes ce qui peut aboutir au passage d'un état asymptomatique à un état symptomatique. De plus, des expérimentations menées en serre et impliquant une infection artificielle avec un pathogène, et non un cortège de champignons comme au vignoble, montrent que les réponses de la plante sont également dépendantes du pathogène et de la souche de ce dernier, en lien avec sa virulence. Toutefois, des tendances de réponses peuvent être dégagées permettant ainsi une meilleure compréhension de la réponse de la vigne face à cette agression et surtout à l'aboutissement de l'expression des symptômes foliaires. Les réponses de la vigne sont également différentes selon son stade phénologique ; pour exemple, elle sera moins apte à se défendre lors d'une infection par des *Botryosphaeriaceae* à la floraison par

D'anciennes substances sont de nouveaux testées mais généralement en combinaison avec d'autres composés

comparaison à une infection à la fermeture de la grappe ou à la véraison.

### La lutte en pépinière et au vignoble, toujours des travaux basés sur l'utilisation de *Trichoderma* mais de nouvelles espèces et de nouvelles stratégies sont à l'étude.

En pépinière, des travaux sont menés vis-à-vis de lutte contre les contaminations au niveau des pieds mère pour les porte-greffes et les greffons. Cette étude regroupe des chercheurs de plusieurs pays, France, Espagne, Australie, l'Italie et la Nouvelle-Zélande. Les principales recommandations proposées sont de limiter l'irrigation, de conduire les pieds mère afin de limiter le contact des pousses sur le sol, de rajeunir régulièrement le tronc... Pour les étapes suivantes, du stockage à froid en passant par les bains d'hydratation et avant la plantation, les moyens de lutte concernent les traitements à l'eau chaude (51-53°C pendant 30 à 60 min) qui sont toujours à l'étude et dont leur effet positif sur la réduction des inoculum est confirmé ; des fongicides (carbendazim, cyprodinil, fludioxinil, chinisol, ...) qui diffèrent selon les pays en lien avec leur autorisation ou pas d'utilisation et des micro-organismes bénéfiques. Parmi eux, nous pouvons citer les plus étudiés qui sont des souches de *Trichoderma* spp. et de *Bacillus* spp. ; d'autres microorganismes sont aussi à l'étude. Des travaux sont également menés sur l'eau électrolysée et les premiers résultats sont encourageants. Malgré toutes ces pratiques à disposition ou en cours de développement, une étude a montré qu'au bout de 2 ans, des plants libres de tout pathogène associés aux MDB étaient déjà recontaminés. Va donc débiter la recherche de moyens de lutte au vignoble. Les méthodes de lutte sont très diversifiées et vont concerner les pratiques culturales, la recherche de molécules ou de micro-organismes bénéfiques permettant de limiter l'infection et la colonisation de la plante par les pathogènes et/ou de stimuler les défenses de la plante. Pour les pratiques culturales, le curetage tend à être de plus en plus pratiqué, la taille minimale est aussi à l'étude. L'application de produits tels que le tebuconazole et le carbendazim sur les plaies de taille est toujours d'actualité, surtout en Australie et Nouvelle-Zélande, ou d'agents de lutte biologique. Il est important de connaître leur durée d'efficacité souvent estimée à 3 semaines, et de déterminer la période d'application la plus efficace, juste après la taille ou au moment des pleurs par exemple. D'anciennes substances sont de nouveaux testées comme le chitosan, mais généralement en combinaison avec d'autres composés. Enfin, de nouveaux produits à base de cuivre, de zinc, d'huiles essentielles ou d'extraits d'ail sont à l'étude pour une application foliaire avec des effets fertilisants ou biostimulants recherchés. Plus récemment, la technique d'endothérapie qui consiste par le

biais de la technique du « curetage chimique » de combattre la pourriture blanche de l'esca, l'amadou.

En résumé, les recherches sur les MDB ont considérablement progressé au cours de ces 15 dernières années à tous les niveaux, que ce soit sur les champignons impliqués et les déterminants de leur pouvoir agressif, la caractérisation de la microflore et de l'état physiologique d'un cep asymptomatique par comparaison à un cep symptomatique... Une des étapes suivantes est d'aborder ces facteurs ensemble et non séparément comme cela peut être le cas (Figure 1). Grâce à ces connaissances en partie, les travaux sur les moyens de lutte dans les différentes équipes de recherche sont nettement plus conséquents ces dernières années dans le monde et ceci aussi bien au niveau de la pépinière qu'au vignoble. Des solutions à efficacités partielles sont présentes sur le marché et de nouvelles solutions devraient prochainement voir le jour. Face à cette complexité des MDB, ce sera probablement une combinaison de solutions qui sera efficace. Il reste encore du travail à réaliser et que ce soit en France ou dans les autres pays, les recherches continuent et je vous donne rendez-vous à l'été 2019 pour un nouveau point sur les avancées des MDB au niveau mondial (11th Congrès International sur les MDB au Canada, organisé par le Dr J.R. Urbey-Tores).

## Remerciements

Je tiens à remercier l'ensemble de la communauté scientifique qui a présenté des travaux de recherche lors du 10th International Workshop on Grapevine Trunk Diseases à Reims en Juillet 2017 et les partenaires du projet Winetwork.

## A lire

Fontaine F, Tritel-Aziz P, Mondello V, Bruez E, Lecomte P, Rey P (2017) Maladies du bois de la vigne : les avancées présentées à Reims. *Phytoma*, 708, 24-26.

Mondello V, Armengol J, Kaliterna J, Kortekamp A, Larignon L, Mugnai L, Rego C, Vaczy C, Fontaine F (2017) The scientific basis for a more efficient control of GTDs from nursery to vineyard. Disponible sur le site du projet Winetwork.

Abstracts of oral and poster presentations given at the 10th International Workshop on Grapevine Trunk Diseases, Reims, France, 4-7 July 2017. *Phytopathologia Mediterranea* (2017), 56, 3-78. Open access

De la Fuente M, Fontaine F, Gramaje D, Armengol J, Smart R, Nagy ZA, Borgo M, Rego C, Corio-Costet M-F. 2016. Grapevine Trunk Diseases. A review. ©OIV publications, 1st Edition (Vol. may). Paris.

## Les sites internet à consulter,

<https://www.managtd.eu> (des posters présentés lors du congrès 10th International Workshop on Grapevine Trunk Diseases sont téléchargeables)

<https://www.winetwork.eu>

<https://www.maladie-du-bois-vigne.fr/>

<https://www.plan-deperissement-vigne.fr>

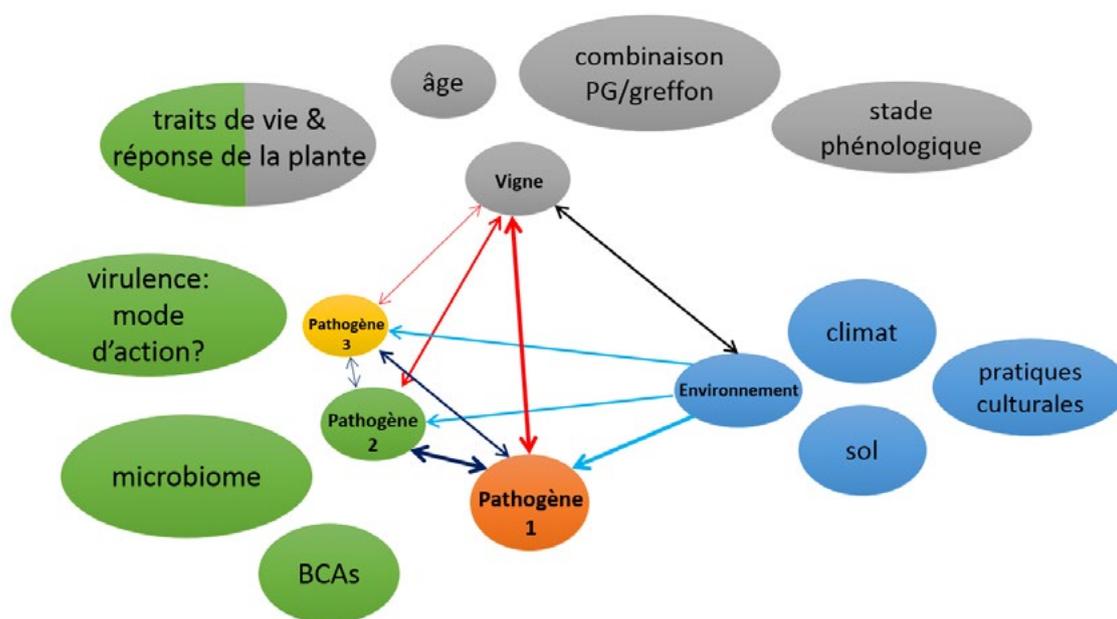


Figure 1 : Synthèse de facteurs intervenant dans les Maladies du bois de la vigne

# Comprendre le mode d'action de l'arsénite de sodium afin de proposer de nouveaux moyens de lutte

PHILIPPE LARIGNON<sup>1</sup>, FLORENCE FONTAINE<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Institut Français de la Vigne et du Vin, Pôle Rhône-Méditerranée, 7 avenue Cazeaux, 30230 Rodilhan

<sup>2</sup> SFR Condorcet, Université de Reims Champagne-Ardenne, URVVC EA 4707, Laboratoire Stress, Défenses et Reproduction des Plantes, BP 1039, Reims, Cedex 2 51687, France

Email : [philippe.larignon@vignevin.com](mailto:philippe.larignon@vignevin.com)

## Introduction

Au début du XX<sup>ème</sup>, les maladies du bois de la vigne désignées sous différents noms - apoplexie, court-noué, folletage, mortalité de la souche, esca -, étaient importantes dans certaines régions viticoles selon les témoignages rapportés dans différentes revues de l'époque. De nombreux travaux ont été réalisés notamment par les pathologistes - Ravaz, Viala, Rives et d'autres - pour déterminer les causes, définir la biologie des agents impliqués, identifier les facteurs environnementaux favorables à leur expression et trouver des solutions (méthodes de restauration des souches comme le curetage, systèmes de taille limitant la surface des plaies et leur nombre, protection des plaies de taille par différents produits).

Durant cette même période, l'arsénite de sodium était utilisé par les vigneron pendant la période hivernale pour lutter contre la pyrale de la vigne. Ces traitements ont aussi eu pour avantage de limiter l'expression de l'esca et ont ainsi conduit à l'arrêt des études sur cette affection. Seuls des travaux portant sur la recherche d'autres méthodes de lutte chimique étaient effectués par la suite pour tenter de remplacer ce produit en raison de sa dangerosité.

Ce papier retrace tout d'abord l'historique de ce produit dans les domaines de l'agriculture, la foresterie et la viticulture, fait le point des connaissances acquises sur son mode d'action à l'égard des maladies du bois avant son interdiction et enfin présente les résultats des dernières recherches engagées dans le cadre d'un appel à projets lancé par le Ministère de l'agriculture, de l'agroalimentaire et de la forêt pour comprendre son mode d'action.

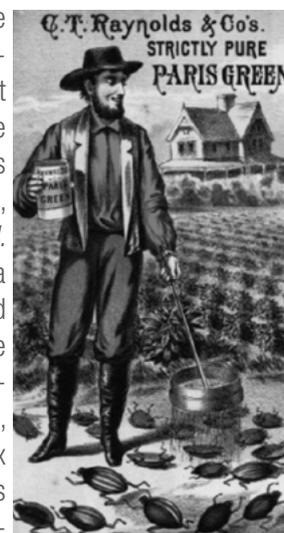
## 1. Historique

### 1.1. L'application des composés arsénicaux en agriculture et en foresterie

Outre leur application dans de nombreux domaines à travers les siècles (métallurgie, art, médecines humaine et vétérinaire, cosmétiques, esthétique, manufacture du verre et du textile, agro-alimentaire, armes chimiques, électronique, taxidermie, thanatopraxie, tannerie, pyrotechnie, etc.) ou leur

utilisation dans certaines coutumes traditionnelles (festival des bateaux-dragons, drogue), les composés arsénicaux ont trouvé de nombreux usages en agriculture. Ils étaient ainsi utilisés pour la lutte contre les insectes, les champignons, les bactéries, les mauvaises herbes et les rongeurs, pour l'éclaircissage des forêts et la conservation du bois, et comme défanants dans les cultures de coton ou de pomme de terre.

L'utilisation de tels composés en agriculture est apparue au cours du XVIII<sup>ème</sup> siècle. Ils étaient employés dans la destruction des insectes nuisibles aux cultures sur pieds par émanation de la combustion de l'orpiment (Dupuy-Demportes 1763). Ils étaient aussi utilisés dans le traitement des semences pour préserver le blé de la carie et la semence de l'attaque d'animaux nuisibles (Prévost 1807, Legrip 1847, Boussingault 1856). Leurs usages étaient devenus généralisés comme insecticides à la fin du XIX<sup>ème</sup> siècle et au début du XX<sup>ème</sup> siècle. Sous sa forme d'acéto-arsénite de cuivre (Vert de Paris), d'arséniate de plomb, de calcium, de magnésium ou de zinc, ils ont permis de lutter contre divers fléaux touchant les fruits, les légumes, le coton, le tabac et les arbres fruitiers : le doryphore de la pomme de terre (Riley 1876), le chrysomèle de la patate (Taché 1877), le silphe de la betterave (Grosjean 1896), le piéride du chou (Chittenden 1916), le charançon du pommier (Quaintance et Scott 1912) et du cotonnier (Robinson 1926), le sphinx du tabac (Morgan 1923), la mouche de l'olive (Poutiers 1925), la coccinelle mexicaine du haricot (Friend et Turner 1931, Beattie *et al.* 1935), le carpocapse des pommes (Marlatt et Orton 1906, Steiner *et al.* 1935, Nevski *et al.* 1937, Schooley *et al.* 2008), la larve du hanneton (Hammond 1940), le bombyx disparate (Schooley *et al.* 2008), le scarabée japonais (Fleming 1942), etc. Les composés arsénicaux étaient aussi employés dans les appâts qui ont permis de com-



battre les criquets (Corkins 1923, Criddle 1931, Shotwell 1942) et les termites (Noirot et Alliot 1947). Ces dernières pouvaient aussi être maîtrisées en envoyant dans les galeries un mélange de vapeurs de soufre et d'arsenic (Noirot et Alliot 1947).

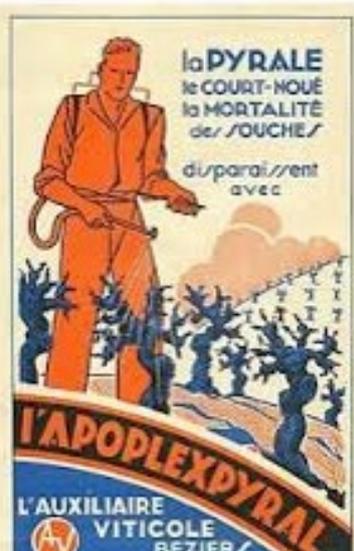
A partir de la fin du XIX<sup>ème</sup> siècle, ces composés étaient également employés comme herbicides sous leur forme inorganique (arsénite de sodium) (Schulz et Thompson 1925) ou organique (méthanearséniate disodique, méthanearséniate monosodique et acide cacodylique) (Anonyme 1975, Hood 1985) et comme défanants à partir des années 60 dans les cultures de coton pour faciliter la cueillette mécanisée (Culver 1964, Mastrodome et Woolson 1983) ou de pomme de terre avant la récolte des tubercules (Steevens *et al.* 1972). A la même période, par leur injection dans le cambium, l'acide cacodylique et le méthanearséniate monosodique ont aussi servi pour l'éclaircissage des forêts en empoisonnant les arbres non voulus (Smith 1966). Permettant ainsi de maintenir les arbres morts debout, cette technique a eu comme avantage de limiter les incendies, de préserver les accès au fourrage pour le bétail et de garder une apparence esthétique (Tarrant et Allard 1972). Ils ont aussi favorisé la lutte contre les scolytes (Chansler et Pierce 1966, Newton et Holt 1971, Buffam et Yasisnski 1971, Hinds et Buffam 1971) et les bostryches (Newton et Holt 1971).

Les composés arsénicaux étaient également employés comme fongicides sous leur forme organique (méthylsulfure d'arsine, methanearsonate ferrique) en riziculture pour contrôler le flétrissement de la gaine (Kozaka 1970) ou en arboriculture pour lutter contre le chancre du pommier lié à *Valsa ceratosperma* (Uhm et Sohn 1991).

En foresterie, ils étaient utilisés à partir des années 1930 sous la forme d'arséniate de cuivre chromé (CCA), d'arséniate de cuivre ammoniacal (ACA) et d'arséniate de cuivre et de zinc ammoniacal (ACZA) pour protéger le bois utilisé pour les poteaux, les clôtures, les ponts, les pilotis, les constructions marines, les tables de pique-nique, les traverses de chemin de fer, etc., des altérations provoquées par les champignons et les insectes (Kamesam 1938, Camus 1965, Tamashiro *et al.* 1988, Winandy 1989, Baileys 2010). Selon le livre d'Unger *et al.* (2001) sur la « conservation of wood artifacts », la préservation du bois par l'arsenic n'était pas nouvelle. Cet auteur a cité, par exemple, qu'au XVI<sup>ème</sup> siècle, Léonard de Vinci avait recouvert les panneaux de bois pour ses peintures avec du chlorure de mercure et de l'anhydride arsénieux, les moines franciscains l'avaient employé pour lutter contre les termites et au XVIII<sup>ème</sup> siècle, Baster en avait imprégné les bois de charpentes.

## 1.2. L'application des composés arsénicaux en viticulture

Dans le domaine de la viticulture, les composés arsénicaux étaient appliqués tout d'abord comme insecticides sous forme d'arséniate (principalement de plomb) pour lutter contre les cigariers (Maisonneuve *et al.* 1909), les cochyliis (Capus et Feytaud 1909), les eudémis (Capus et Feytaud 1909), les pyrales (Marchal 1918, 1919) et les altises (Vidal 1947). Ces traitements étaient réalisés pendant la période végétative. Pour les pyrales, ils étaient aussi effectués en hiver sous forme d'arsénite de façon à éliminer les larves situées sous l'écorce des ceps. Ils étaient également préconisés en Grèce pour lutter contre les termites appartenant à l'espèce *Reticulitermes lucifugus* Rossi, présentes dans le bois pourri provoqué par les champignons de la pourriture blanche (Sarejanni 1956). Ils avaient par ailleurs une action contre les cochenilles selon l'index phytosanitaire (ACTA 1996).



Au début du XX<sup>ème</sup> siècle, un usage fongicide sous sa forme arsénite (principalement de sodium) était préconisé pour lutter contre l'esca (Ravaz 1919, Bonnet 1926, Viala 1926, Sall et Wrynski 1959, Rui et Battel 1963, Svampa et Tosatti 1977, Del Rivero et García-Marí 1984), l'antracnose (Vergnes 1957, Lafon 1966) et l'excoriose (Hewitt 1947, 1951, Roussel *et al.* 1953, Cucuzza et Sall 1982). L'arsénite de sodium avait aussi une action bactéricide pour contrôler le broussin (Winkler 1965) ou était recommandé pour détruire les escargots lors de fortes attaques (Vidal 1947). Enfin, certains viticulteurs, notamment de la région de Brignoles (Var), l'avaient utilisé pour retarder le débourrement de plusieurs jours par son application au stade B (bourgeon gonflé mais toujours dans le coton) pour lutter contre le gel de printemps (Castaing 1987).

A côté de ces composés inorganiques, des composés arsénicaux sous forme organique étaient employés à partir de la moitié du XX<sup>ème</sup> siècle au Japon pour lutter contre *Glomerella cingulata*, agent responsable de la pourriture de maturité des baies (Ota 2013).

## 1.3. Réglementation sur l'usage des composés arsénicaux

L'usage des traitements arsénicaux pendant la période hivernale a été officiellement autorisé suite à la publication du décret du 7 juillet 1922 (JORF du 11/07/1922, p. 7220). Ce décret préconisa leurs périodes d'application allant de la fin des vendanges jusqu'à la fin de la floraison. Le Ministre de l'agriculture a précisé les périodes d'application le 25 février 1928 (JORF du 1/03/1928, p. 2329), pour les repousser jusqu'au début de la véraison. Ces différents textes

faisaient état de l'arrêté du 14 septembre 1916 (JORF du 19/09/1916, pp. 8255-8261) fixant les conditions d'emploi de composés arsénicaux insolubles en agriculture, les conditions de stockage et de sécurité. La réglementation du commerce, la détention et l'usage des substances vénéneuses comme l'arsenic et ses composés était promulguée par Louis-Philippe 1er le 19 juillet 1845 (Galisset). Cette loi a été suivie par l'ordonnance du 29 octobre 1846 (Bulletin du Ministère de l'agriculture et du commerce, n°10, p. 357-359), qui a ensuite été modifiée et complétée par la loi du 12 juillet 1916 (JORF du 14/07/1916, p. 6254). Le premier texte officiel concernant la vente de ces substances, que sont l'arsenic, l'orpiment et le réalgar, fut l'Edit de juillet 1682 promulgué par Louis XIV pour prévenir les empoisonnements à l'arsenic (Edit du Roy. Pour la punition de différents crimes [magie, sortilèges, empoisonnement]. Registré en parlement le 31 août 1682, p. 6-7).

Plus tardivement, afin de limiter les risques pour l'environnement, les spécialités à base d'arsénite de sodium destinées au traitement d'hiver de la vigne ont été additionnées d'une substance répulsive pour la faune sauvage (arrêté ministériel du 29 octobre 1981) (JORF du 17/11/1981, p. 10037). Il a été rapporté que l'emploi d'un tel produit dans les vignes entraînait la mortalité des oiseaux granivores (Hughes 1940). A l'exception de quelques usages encore autorisés, notamment dans le traitement des bois pour leur conservation, par exemple en France\* ou aux USA (Baileys 2010), leur utilisation en agriculture était devenue interdite au début du XXI<sup>ème</sup> siècle en raison de leur toxicité (Saha *et al.* 1999, Spinosi *et al.* 2009, WHO 2011, IARC 1980, 2012). L'arsenic et ses composés inorganiques ont été classés cancérigènes avérés pour l'homme par le Centre International de Recherche sur le Cancer depuis 1987 (IARC 1987). En France, l'utilisation des arsénates (plomb, chaux) en arboriculture et en maraîchage et de l'arsénite de sodium en viticulture étaient respectivement interdits en 1973 (Arrêté du 24 mai 1973, JORF du 26/05/1973, p. 5730) et en 2001 (avis du 8 novembre, JORF du 23/11/2001). Au niveau de l'Union européenne, les autorisations de mise sur le marché des produits contenant de l'arsénite de soude ont été retirées à échéance du 25 juillet 2003 et leur utilisation interdite au plus tard le 31 décembre 2003 (règlement 2076/2002/CE du 20 novembre 2002).

Quant à la limite acceptable de l'arsenic résiduel dans le vin, elle est aujourd'hui de 0,2 mg/L selon le code international des pratiques œnologiques (OIV 2016). Une enquête réalisée en 1991 sur la recherche d'éléments minéraux sur 70 vins différents (38 vins blancs et 32 vins rouges et rosés) provenant de la région du Sud-Ouest et du Val de Loire a montré que la teneur d'arsenic dans ces vins était comprise entre

<0,5 et 70 µg/L et nettement inférieure aux limites acceptables fixées par l'OIV (Sudraud *et al.* 1994).

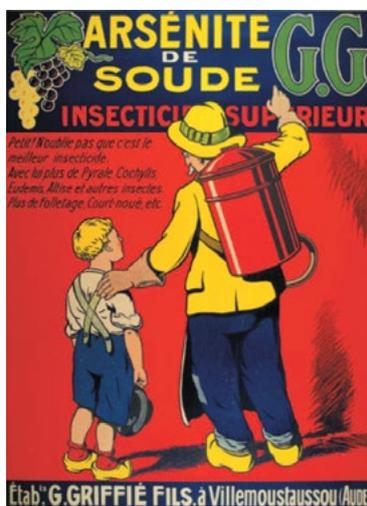
#### 1.4. Les recherches sur le mode d'application de l'arsénite de sodium dans le vignoble pour la lutte contre l'esca et l'excoriose

Une fois l'efficacité des traitements arsénicaux à l'égard de l'esca montrée, les études, qui suivirent, ont porté principalement sur l'amélioration de la formulation de ce pesticide et de son utilisation au vignoble : application en terme de date, dose et mode, cadence des traitements, seuil d'intervention, etc. (Moreau et Vinet 1923, Hewitt 1952, Desaché *et al.* 1995, Novoa et Pujol 1988, Ravaz 1919, 1924, Rives 1926, Viala 1926).

L'augmentation du coût du traitement suite à l'adjonction d'un répulsif pour protéger la faune sauvage avait incité les constructeurs à réaliser des dispositifs économiseurs de bouillies. De nouveaux travaux ont ainsi porté sur l'évaluation de l'efficacité des formulations d'arsénite de sodium contenant un répulsif et de celle des traitements effectués avec des panneaux récupérateurs (Desaché *et al.* 1995). Selon les tests réalisés par l'ITV (ex IFV) pour évaluer les performances de tels appareils, jusqu'à 70 % des bouillies pouvaient être récupérées (Heinzlé *et al.* 1987).

D'une manière générale, il était préconisé de réaliser les traitements en période sèche, les deux côtés de la plante jusqu'à ruissellement au plus tard deux à trois semaines avant le débourrement pour éviter la phytotoxicité et 10 jours au moins après la taille. Le produit était employé à la concentration de 1250 g d'arsenic de l'arsénite de sodium / hL à raison de 500 L/ha. Etant réalisés pendant deux ou trois années consécutives, les traitements étaient ensuite interrompus et de nouveau appliqués quand les symptômes apparaissaient. Le seuil d'intervention était variable selon les régions. En Champagne, il était de 0,5 %, dans le Bordelais, de 2 % (Dubos 1999) et dans les Charentes, de dix souches à l'hectare sur les jeunes plantations (Station Viticole du BNIC). Desaché *et al.* (1995) proposa la cadence de deux années consécutives de traitement suivies d'une année sans application. Les incidents

que pouvaient provoquer les traitements à l'arsénite de sodium sont le non débourrement de bourgeons. Leur destruction serait due à l'arsénite pénétrant dans ceux-ci à travers les cicatrices foliaires non refermées (Nelson *et al.* 1949). Réalisé au pinceau ou avec un tampon de chiffon, le badigeonnage des plaies par ce produit a aussi été pratiqué pour lutter contre cette maladie (Bachala 1926, Rives 1926). Mais, pour économiser de la main d'œuvre, ce mode d'application a été abandonné (Arnaud et Arnaud 1931). Une étude a montré que son efficacité, certes moins importante que



\* Décret n°2007-1496 du 18 octobre 2007, relatif aux conditions de mise sur le marché et d'emploi des composés de l'arsenic, des sulfonates de perfluorooctane et modifiant le code de l'environnement. NOR: DEVP0759633D. Version consolidée au 30 octobre 2017.

celle obtenue pour la pulvérisation, était de 50 % (Larignon *et al.* 2008).

Concernant l'excoriose, son efficacité était variable selon la date d'application. Il était recommandé de l'appliquer le plus proche du débourrement sur des bois bien ressuyés (Roussel et Mansencal 1974). Mansencal (1981) proposa aussi une autre période de traitement, plutôt située autour du 15 décembre - 15 janvier, qui permettait d'améliorer son efficacité. Dans les deux cas, le produit était utilisé à demi-dose par rapport à la concentration employée pour l'esca (Roussel et Mansencal 1974).

## 1.5. Les connaissances sur le mode d'action de l'arsénite de sodium avant son interdiction

### 1.5.1. Son effet fongicide

L'arsénite de sodium a un effet sur le cycle de vie des champignons. Son action fongicide a tout d'abord été montrée par Viala (1926) sur des cultures de *Stereum hirsutum*, champignon basidiomycète responsable de la pourriture blanche caractéristique de l'esca (maladie de dépérissement de la vigne), puis par Larignon *et al.* (2008) sur celles d'autres champignons associés à cette maladie. Ce produit avait aussi la capacité de détruire les pycnides, notamment celles de l'agent responsable de l'excoriose de la vigne (Cucuzza et Sall 1982) et de *Phoma flaccida* (synonyme de *Fusicoccum aesculi*) (Boubals *et al.* 1956), espèce appartenant au complexe *Botryosphaeria dothidea* (Phillips et Lucas 1997, Phillips 2002), impliqué dans la botryosphaeriose de la vigne. Wilson (1942) a auparavant montré que l'emploi de tels composés conduisait à l'éradication des sporodochies de *Moniliana laxa*, agent responsable de la moniliose des arbres fruitiers à noyau. Matthwes *et al.* (1976) ont signalé son efficacité dans l'éradication des galles de la rouille fusiforme (*Cronartium fusiforme*) chez *Pinus taeda*. L'arsénite de sodium avait aussi un effet sur la germination des spores des champignons ; il empêchait celle des champignons associés à l'esca de la vigne (Larignon *et al.* 2008). Petri (1930) l'a considéré comme sporicide chez *Colletotrichum olivarum*, agent de l'antracnose de l'olivier.

Appliqué sur la plante, il modifiait la microflore présente dans le tronc en diminuant les populations de certains champignons associés à l'esca comme le *Phaeoconiella chlamydospora* ou le *Fomitiporia mediterranea*, responsable de la pourriture blanche (Larignon *et al.* 2008). Cette modification de la microflore était déjà pressentie par Napper selon Garrett (1940). L'empoisonnement de souches d'arbres par un tel produit immédiatement après leur abattage permettait de rendre impropre leurs systèmes racinaires à la colonisation par *Fomes lignosus* (agent de la pourriture blanche des racines chez l'hévéa) en raison du développement de champignons saprophytes. Enfin, il avait la capacité d'empêcher les contaminations de plaies de taille par *P. chlamydospora* chez la vigne (Larignon *et al.* 2008).

La toxicité d'un tel produit sur les champignons serait attribuée à la réaction des arsénosides avec les groupes sulfhydryles des enzymes ou d'autres constituants cellulaires (Cochrane 1958). Da Costa (1971) a considéré plutôt qu'elle serait due à son interférence avec le phosphore lors de la phosphorylation oxydative.

### 1.5.2. Son effet sur la physiologie de la plante

L'effet de l'arsénite de sodium sur le métabolisme de la vigne n'est pas connu. Les seules études réalisées n'avaient pas montré d'influence sur un type de molécules impliquées dans des mécanismes de défense de la plante, les composés phénoliques (composés phénoliques totaux, tannins proanthocyanidiques) (Larignon *et al.* 2008). Chez d'autres pathosystèmes (plante-agents pathogènes), l'effet d'un tel produit en tant que stimulateur des mécanismes de défense de la plante n'a pas été abordé.

Enfin, peu d'information est disponible dans la bibliographie sur les mécanismes mis en jeu pour l'assimilation de l'arsenic chez la vigne, voire les autres plantes pérennes, lorsque le produit est appliqué sur la partie aérienne. Dans le cadre de quelques travaux menés chez la vigne (Carbonell-Baracchina *et al.* 1997, Larignon *et al.* 2008), l'arsenic a été retrouvé dans la sève xylémienne et dans les feuilles à des concentrations beaucoup plus importantes chez des plantes traitées que chez des plantes non traitées. Il a aussi

été constaté que la teneur en arsenic diminuait au cours du cycle végétatif. Carbonell-Barrachina *et al.* (1997) ont émis l'hypothèse que cette diminution était liée au transport de l'arsenic des feuilles vers les racines pour ensuite être relargué vers le milieu extérieur. Enfin, ces études ont montré de fortes teneurs d'arsenic dans les nécroses.

Aucune explication ne peut être donnée pour l'instant pour savoir comment l'arsenic était retrouvé à ces niveaux après une seule application. Cependant, certains auteurs (Gard 1926, Moreau 1935) suggéraient qu'il pouvait pénétrer dans la plante par succion à travers les fissures elles-mêmes et les nécroses et était aussi absorbé par les plaies de taille. Cette dernière voie ne semble pas indispensable, car un traitement effectué avant la taille (plaie de taille protégée par le sarment lui-même) conduisait à une efficacité équivalente à celle d'un traitement réalisé après celle-ci (Larignon *et al.* 2008).

## 2. De nouvelles recherches sur le mode d'action de l'arsénite de sodium à l'égard des maladies du bois

Eu égard des travaux réalisés sur la compréhension du mode d'action de l'arsénite de sodium sur l'esca (Carbonell-Barrachina *et al.* 1997, Santos *et al.* 2006), notamment dans le cadre du programme européen FAIR n°ICT-95.654 « Maîtrise de l'Esca et respect de l'Environnement 1996 – 1999 » (Larignon *et al.* 2008), force est de constater que son

L'effet de l'arsénite de sodium sur le métabolisme de la vigne n'est pas connu

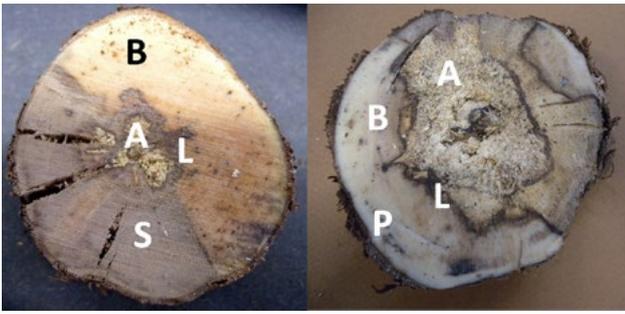


Figure 1 : Exemple de nécroses observées chez les ceps analysés. A = pourriture blanche (amadou), L = zone d'interaction (liseré) située entre la pourriture blanche et le bois sain, P = ponctuations noires, S = nécrose sectorielle, B = bois sain.

mode d'action reste encore peu connu. Suite à l'évolution des techniques (génomique, métagénomique, métabolomique, ...) et des connaissances sur les maladies du bois de la vigne (implication de nouveaux agents pathogènes, cycles biologiques des champignons mieux connus, ...) (Larignon *et al.* 2009, Urbez-Torres 2011, Fontaine *et al.* 2016) depuis ces quinze dernières années, il a été important d'étudier de nouveau son mode d'action. Comprendre comment il pénètre et se distribuait dans la plante, comprendre comment il empêchait l'extériorisation des symptômes herbacés sont des questions auxquelles il faudrait répondre pour trouver un produit de substitution ou un ensemble de moyens qui permettrait de simuler son action. Ce travail a été réalisé entre 2014 et 2016 dans le cadre de l'appel à projets Casdar (V1301, *Etudier l'agressivité des champignons impliqués dans les maladies du bois de la vigne. Comprendre le mode d'action de l'arsénite de sodium afin de proposer de nouveaux moyens de lutte efficace*) et a réuni différentes équipes (UHA, URCA, UMR Agroécologie Dijon, BIOGER, UMR INRA SAVE, IFV) ayant des compétences dans chacune des disciplines demandées (chimie, physiologie, pathologie, microbiologie).

L'expérimentation a été menée pendant deux années consécutives (2014, 2015) sur trois parcelles de cépages différents (Merlot, Chardonnay, Gewurztraminer) situées dans trois régions viticoles (Languedoc-Roussillon, Champagne, Alsace). Le traitement à l'arsénite de sodium effectué uniquement sur des ceps exprimant des symptômes en 2013 ou 2014 a été réalisé à l'aide d'un pulvérisateur à dos. Le produit a été appliqué à la concentration de 1250 g d'arsenic de l'arsénite de sodium /hL après la taille jusqu'à ruissellement sur toute la souche. Les ceps ont été collectés autour de la floraison (cinq ceps traités et cinq ceps non traités) et juste avant la vendange (cinq ceps traités et cinq ceps non traités et exprimant des symptômes). Pour chacun d'eux, des prélèvements ont été réalisés au niveau des feuilles, des rameaux, du porte-greffe, des racines et du tronc. Plus particulièrement pour ce dernier, ils ont été effectués au niveau des différentes zones observées dans les tissus ligneux (bois sain, nécroses brunes en position centrale ou sectorielle, pourriture blanche, liseré, ponctuations noires, bandes brunes, ...) (figure 1). Le matériel ainsi

obtenu a été distribué à chacun des acteurs pour les différentes analyses à réaliser. En Champagne, des ceps n'exprimant pas de symptômes durant deux années consécutives (2013, 2014) ont aussi été prélevés en 2014 pour pouvoir comparer leur profil d'expression de gènes avec celui des deux autres catégories de ceps.

## 2.1. Distribution de l'arsenic dans la plante

Chez les ceps non traités, l'arsenic a été présent dans tous les organes, mais à des teneurs faibles. La valeur moyenne a été de 159  $\mu\text{g As/kg}$  de matière sèche (MS) allant de 38  $\mu\text{g As/kg MS}$  dans les tiges herbacées à 279  $\mu\text{g As/kg MS}$  dans les zones nécrosées. Après un traitement à l'arsénite de sodium, l'arsenic s'est surtout concentré dans les tissus dégradés : en moyenne, il s'est retrouvé à des concentrations de 51 mg As/kg MS dans les nécroses sectorielles et de 258 mg As/kg MS au niveau de la pourriture blanche. Il a aussi été majoritaire dans les feuilles, de l'ordre de 1,7 mg As/kg MS. Dans les autres tissus analysés, les teneurs ont été faibles, de l'ordre de 600  $\mu\text{g As/kg MS}$ . L'arsenic s'est trouvé majoritaire sous sa forme initiale (As III) dans les parties aériennes (feuilles, tiges) alors qu'il a été prépondérant sous sa forme oxydée (As V) dans les zones nécrosées, la pourriture blanche et les tissus sains du tronc.

La plus forte teneur observée dans les feuilles serait expliquée par sa diffusion dans les parties aériennes via la sève et son stockage sous forme d'un complexe résultant de la complexation des ions arsénite avec des phytochélatines, entraînant leur séquestration dans les vacuoles (mécanisme de détoxication de l'arsenic par les plantes, Liu *et al.* 2010). Quant aux plus fortes teneurs observées dans les tissus altérés, elles seraient liées à l'imprégnation de ces tissus lors du traitement, et comme ce sont des tissus morts, il n'y a plus de circulation et ainsi, l'arsenic resterait stocké dans ces tissus.

Ce travail a aussi montré que les teneurs en arsenic ont diminué chez les ceps traités au cours du cycle végétatif.

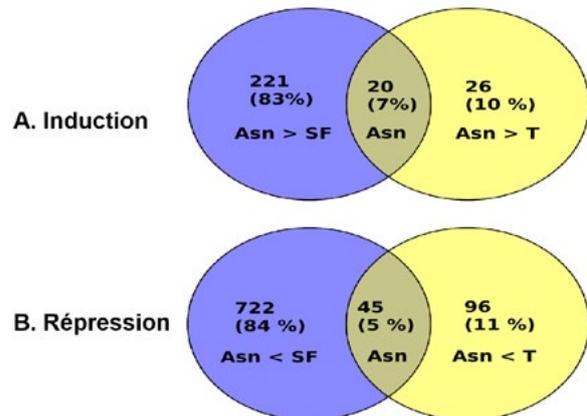


Figure 2 : Etude transcriptomique au niveau de la tige herbacée de ceps de Chardonnay non traités exprimant (SF) ou n'exprimant pas (T) de symptômes foliaires et de ceps traités à l'arsénite de sodium (Asn). Auteurs : G. Robert-Siegwald et M.H. Lebrun

Enfin, le prélèvement de pleurs effectué sur une des parcelles (Alsace) au début du cycle végétatif a indiqué qu'une part non négligeable d'arsenic s'est éliminée lors de cette période par les pleurs.

## 2.2. Impact de l'arsénite de sodium sur la physiologie de la plante

L'analyse de l'expression de gènes impliqués dans la détoxification et les réponses de défenses de la plante a indiqué une réponse différentielle entre les cépages, les organes, le stade phénologique (floraison, vendanges) et l'année. Au vu de cette grande variabilité, il a été difficile de déterminer les changements physiologiques que la plante a subi suite à un traitement à l'arsénite de sodium. Pour mieux les caractériser, des analyses globales d'expression de gènes ont été effectuées. Seul le cépage Chardonnay a été concerné par cette étude qui a été réalisée au niveau des tiges herbacées et des tissus ligneux apparemment sains prélevés dans le tronc.

Les ceps apparemment sains (sans symptômes sur la partie herbacée pendant la durée de l'expérimentation), les ceps malades exprimant des symptômes foliaires et les ceps malades ayant subi le traitement à l'arsénite de sodium et n'exprimant plus de symptômes foliaires ont montré des profils d'expression différentielle de gènes (figure 2). Parmi les gènes concernés, un groupe ayant une réponse de type « infection » a pu être identifié. Ces gènes se sont surexprimés chez une plante apparemment saine, mais se sont réprimés chez les plantes malades traitées ou non à l'arsénite de sodium. Un autre groupe de gènes a présenté une réponse de type « guérison ». Ils se sont exprimés différemment chez les deux mêmes catégories de plantes et sont revenus au même niveau d'expression de la plante saine après le traitement. Des gènes de défense contre les pathogènes ont fait partie de ce groupe. Enfin, la plante a perçu le traitement comme un stress puisque quelques gènes ont eu leur expression modifiée uniquement chez les plantes traitées ; ces gènes sont tous liés à la résistance aux stress environnementaux.

Les analyses du métabolome de la plante (ensemble de petites molécules) ont également été réalisées sur les mêmes organes décrits pour l'analyse transcriptomique. Elles ont mis en évidence des signatures spécifiques du traitement à l'arsénite de sodium et plus spécifiquement au sein des tiges herbacées et des zones d'interaction situées entre le bois sain et les tissus nécrosés. Ainsi ont été fortement activées les voies métaboliques primaires (lipides, acides aminés) et secondaires (biosynthèse de métabolites secondaires et de terpénoïdes) dans les zones d'interaction suite à ce traitement.

## 2.3. Effet de l'arsénite de sodium sur le microbiote de la vigne

D'une manière générale, l'arsénite de sodium a eu une action sur le développement de certains champignons pathogènes et sur celui de la microflore fongique accompagnatrice. Cet effet a surtout été observé sur le prélèvement effectué avant la vendange, et ce, quels que soient le site et l'année d'expérimentation (2014, 2015). La technique de la métagénomique a montré qu'en bordure des tissus nécrotiques et dans la pourriture blanche, le nombre de genres de champignons identifiés a été plus élevé chez les vignes traitées.

Les analyses microbiologiques classiques ont aussi indiqué que ce produit a diminué les populations de certains champignons de l'esca (*P. chlamyospora*, *F. mediterranea*) (figure 3) et augmenté les populations de champignons saprophytes comme les *Penicillium*, les *Trichoderma* et les *Fusarium* (figure 4). Pour les autres agents pathogènes (*Eutypa lata*, *Neofusicoccum parvum*, *Diplodia seriata*, *Diaporthe* spp., *Phaeoacremonium minimum*), il a été difficile de dire quoi que ce soit vu leur faible présence dans les tissus ligneux du tronc.

La diminution des populations de *F. mediterranea* au niveau de l'amadou serait liée à leur sensibilité à l'arsenic (Larignon *et al.* 2008) présent en fortes quantités dans la pourriture

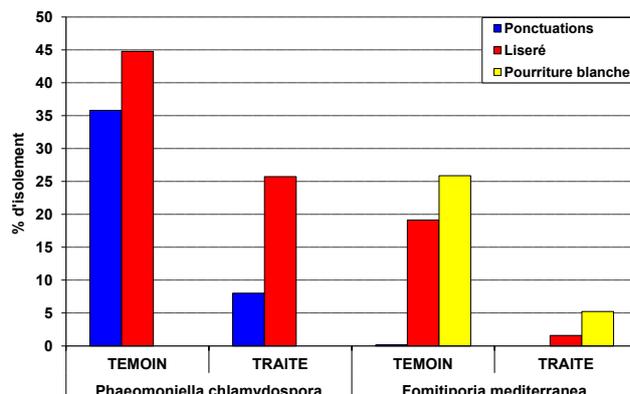


Figure 3 : Effet de l'arsénite de sodium sur deux champignons associés à l'esca au niveau des tissus ligneux nécrosés. Les résultats présentés concernent le prélèvement de septembre des deux années (2014 et 2015) effectué sur les trois sites (Alsace, Champagne, Languedoc).

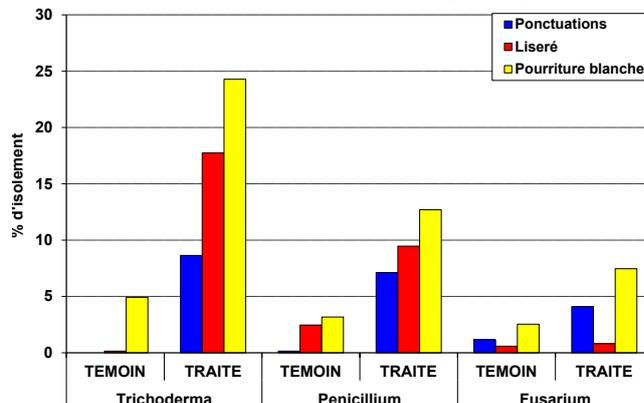


Figure 4 : Effet de l'arsénite de sodium sur quelques champignons saprophytes au niveau des tissus ligneux nécrosés. Les résultats présentés concernent le prélèvement de septembre des deux années (2014 et 2015) effectué sur les trois sites (Alsace, Champagne, Languedoc).

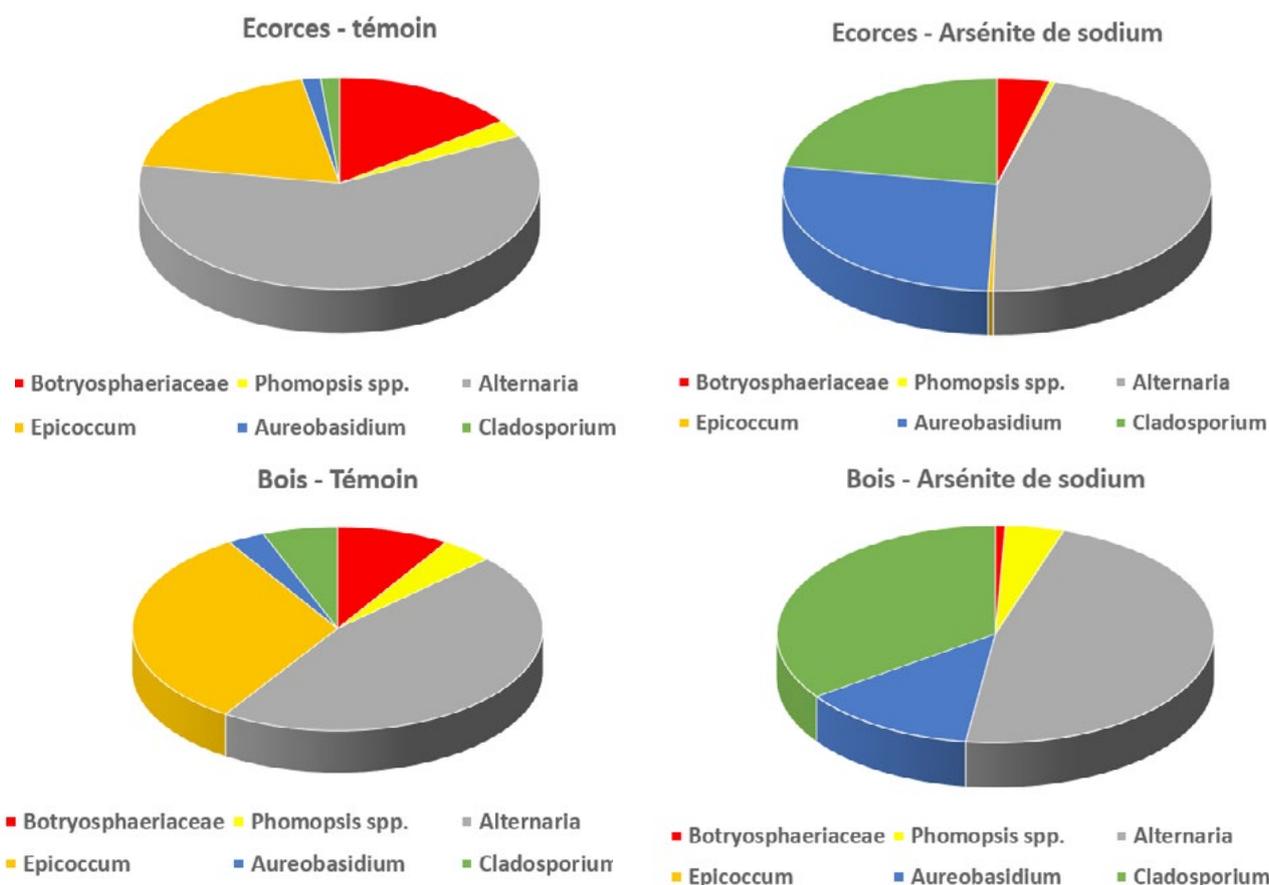


Figure 5 : Répartition des principaux champignons colonisant les écorces et les tissus ligneux de coursions une semaine après le traitement à l'arsénite de sodium

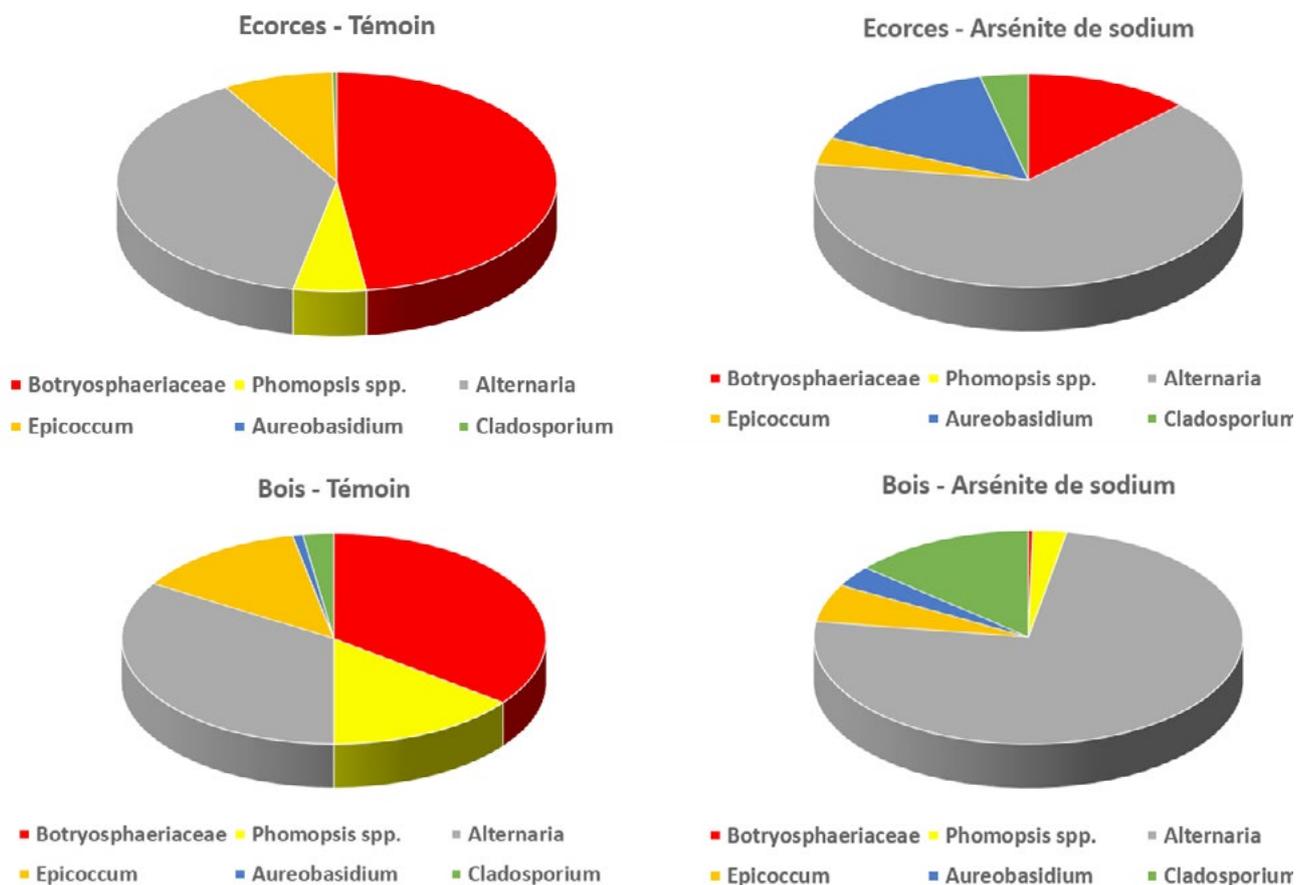


Figure 6 : Répartition des principaux champignons colonisant les écorces et les tissus ligneux de coursions au moment de la floraison, après le traitement à l'arsénite de sodium

blanche selon les analyses chimiques. Les autres champignons précités ont la capacité à se développer à de telles concentrations comme l'ont montré des tests effectués sur des cultures in vitro. *Fusarium* sp. et plusieurs espèces de *Penicillium* ont l'aptitude de se développer à des concentrations de 500 mg/L alors que les cultures de *F. mediterranea* voient leur croissance complètement inhibée à des concentrations de 50 ou 100 mg/L (Larignon *et al.* 2008).

#### 2.4. Effet de l'arsénite de sodium sur le cycle biologique des champignons

L'expérimentation a été menée sur une des parcelles du réseau d'expérimentation. Située dans les Costières de Nîmes, de cépage Merlot greffé sur du SO<sub>4</sub> et conduite en cordon, elle a été plantée en 1974 et a présenté 9 % de ceps montrant des symptômes caractéristiques de l'esca/BDA en 2015. Le traitement à l'arsénite de sodium à la concentration de 1250 g/hL (11 février 2016) a été effectué après la taille sur toute la partie haute du cep (bras, coursons) jusqu'à ruissellement. Chaque semaine, trente coursons ont été prélevés au hasard jusqu'à début mai 2016. D'autres échantillons (coursons et rameaux) ont aussi été collectés à différents stades phénologiques (inflorescences clairement visibles, floraison, véraison, avant vendange) pour suivre la colonisation des agents pathogènes dans les rameaux. Ces derniers ont été analysés sur les quatre premiers entre-nœuds au niveau des écorces et des tissus ligneux. L'application de l'arsénite de sodium a conduit à une modification de la microflore des écorces et des tissus ligneux de coursons ou de rameaux (figures 5 et 6). Les champignons pathogènes, notamment les *Botryosphaeriaceae* (agents de la botryosphaérose), les *Diaporthe* (agents de l'excoriose) et certains champignons saprophytes comme *Epicoccum nigrum*, sont rarement trouvés dans ces tissus entre la période de traitement et la véraison (figure 7). A l'inverse, deux autres champignons saprophytes, *Cladosporium* sp. et

*Aureobasidium pullulans*, y sont fréquemment rencontrés. *Phaeoconiella chlamydospora*, peu souvent présente dans les tissus étudiés, est pour autant moins trouvée dans les tissus ligneux de coursons de ceps traités. La raréfaction des sources d'inoculum produite par un tel traitement, entraînant ainsi une moindre contamination de la plante serait à l'origine de la disparition des symptômes foliaires. Leur manifestation serait ainsi liée à des contaminations annuelles.

### 3. Conclusions

Les observations réalisées dans ce programme ont conduit à émettre plusieurs hypothèses, qui peuvent être liées ou non entre elles, pour expliquer en partie ou totalement le mode d'action de cette préparation phytopharmaceutique à l'égard de l'esca/BDA. La non expression des symptômes sur la partie herbacée serait ainsi expliquée par :

- la modification de la physiologie de la plante,
- la modification de l'équilibre microbien en réduisant les populations de certains agents associés aux maladies du bois, notamment le *F. mediterranea*, et favorisant le développement de champignons saprophytes,
- la forte réduction de l'inoculum des agents pathogènes ayant pour conséquence une moindre contamination de la plante.

Chacune de ces hypothèses devra désormais être démontrée pour savoir si elles peuvent expliquer la non expression des symptômes dans le vignoble ou n'être qu'un effet secondaire du traitement.

### Remerciements

Ce travail a été réalisé grâce à la participation financière du CASDAR et du CNIV.

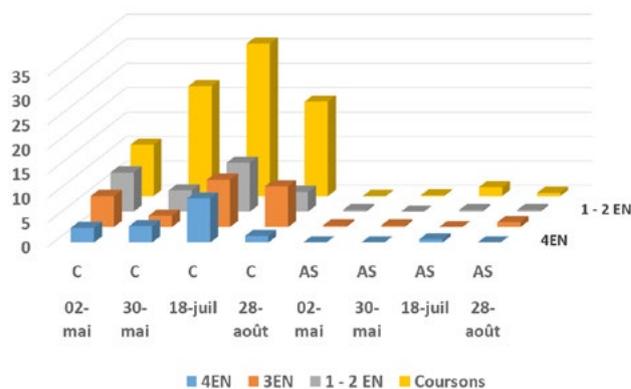
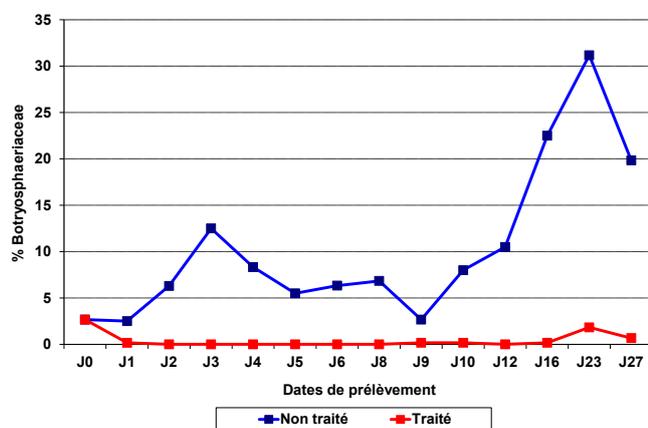


Figure 7 : Evolution des Botryosphaeriaceae au niveau des tissus ligneux de coursons (à gauche) ou des quatre premiers entre-nœuds (EN) de rameaux (à droite) suite au traitement à l'arsénite de sodium. Jo (27 janvier) : analyses réalisées avant le traitement, J1 (11 février) : date du traitement, J8 (4 avril) : débourrement, J12 (2 mai) : inflorescences visibles, J16 (30 mai) : floraison, J23 (18 juillet) : véraison, J27 (28 août) : avant vendange.

## Bibliographie

ACTA. 1996. Index phytosanitaire. 675 pages.

Anonyme. 1975. Substitute chemical program: Initial scientific review of MSMA/DSMA. U.S. Environmental Protection Agency. Office of Pesticides programs criteria and evaluation division, Washington D.C. E P/A-540/1-75-020. 115 pages.

Arnaud G. & Arnaud M. 1931. Traité de Pathologie Végétale. Tome I. Paul Lechevalier & Fils eds, Paris VI. 993 pages.

Bachala A. 1926. Le folletage et l'apoplexie de la vigne. Prog. Agric. Vitic. 85, 225-227.

Baileys R.T. 2010. Chemonite® / ACZA preservative Update. American Wood-preservers' Association. 63-69.

Beattie W.R., Roberts J.W. & Harter L.L. 1935. Subsistence farm gardens. Farmer's Bulletin. 1746, 54 pages.

Bonnet L.O. 1926. A promising remedy for black measles of the vine. College of Agriculture Agricultural Experiment Station, Berkeley, California. Circular 303, 10 pages.

Boubals D., Agulhon R. & Vergnes A. 1956. Essais de lutte contre l'exco-riose. Prog. Agric. Vitic. 145, 152-157 et 169-173.

Boussingault J.B. 1856. Sur le chaulage des grains par l'arsenic. Journal d'agriculture pratique. 4ème série, tome V, 140- 145.

Buffam P.E. & Yasinski F.M. 1971. Spruce beetle hazard reduction with cacodylic acid. J. Econ. Entomol. 64, 751-752.

Camus C. 1965. L'utilisation de traverses en bois de chemin de fer en pays tropicaux. Académie Royale des sciences d'Outre Mer, Classe des Sciences techniques, N.S., XVI-2, Bruxelles, 63 pages.

Capus J. & Feytaud J. 1909. L'eudémis et la cochylis en 1909. In : La Vigne Américaine et la Viticulture en Europe. 32ème année, n°9, septembre 1909, 276-278.

Carbonell-Barrachina A., Burlo-Carbonell F. & Mataix-Beneyto J. 1997. Effect of sodium arsenite on arsenic accumulation and distribution in leaves and fruits of *Vitis vinifera*. Journal of Plant Nutrition. 20, 379-387.

Castaing L.R.M. 1987. Lutte contre l'esca et la pollution par l'arsenic dans la région de Brignoles (Var). Prog. Agric. Vitic. 104, 97-102.

Chansler J. F. & Pierce D.A. 1966. Bark beetle mortality in trees injected with cacodylic acid (herbicide). J. Econ. Entomol. 59, 1357-1359.

Chittenden F.H. 1916. The common cabbage worm. Farmers's Bulletin. 766, 16 pages.

Cucuzza J. D. & Sall M. A. 1982. Phomopsis cane and leaf spot disease of grape vine: Effect of chemical treatments on inoculum level, disease severity, and yield. Plant Dis. 66,794-797.

Culver W.H. 1964. Method for defoliating and desiccating cotton. United States Patent Office. US3130035, 21 April 1964.

Cochrane V.W. 1958. Physiology of fungi. John Wiley and Sons, Inc., New-York. 524 pages.

Corkins C.L. 1923. Sodium arsenite as a killing agent in grasshopper baits. Agricultural Experiment Station of the Colorado Agricultural College. Bulletin 280, 15 pages.

Criddle N. 1931. Comment combattre les criquets (Sauterelles) au Canada à l'est des Montagnes Rocheuses. Ministère Fédéral de l'Agriculture, Canada. Bulletin 143, 21 pages.

Da Costa E.W.B. 1971. Variation in the toxicity of arsenic compounds to microorganisms and the suppression of the inhibitory effects by phosphate. Applied Microbiology. 23, 46-53.

Del Rivero J.M. & García-Marí F. 1984. Ensayo de productos contra la yesca de la vid y la piral de la vid en tratamientos de invierno. Bol. Serv. Plagas. 10, 17-30.

Desaché F., Courlit Y. & Ménard E. 1995. Optimiser la lutte chimique contre l'esca. Phytoma. 470, 29-31.

Dubos B. 1999. Maladies cryptogamiques de la vigne. Editions Féret, Bordeaux, 176 pages.

Dupuy-Demportes J.B. 1763. Le gentilhomme cultivateur ou cours complet d'agriculture. Tome 5. Chez P. G. Simon, Durand et Bauche, Paris, Chapuis, Bordeaux. 300 pages.

Fleming W.E. 1942. Relative effectiveness of acid lead arsenate and other materials as stomach poisons for the larvae of the Japanese beetle. Technical Bulletin. N°788. 32 pages.

Fontaine F., Pinto C., Vallet J., Clément C., Gomes A.C. & Spagnolo A. 2016. The effects of grapevine trunk diseases (GTDs) on vine physiology. Eur. J. Plant Pathol. 144, 707-721.

Friend R.B. & Turner N. 1931. The Mexican bean beetle in Connecticut. Connecticut Agriculture Experiment Station, New Haven. Bulletin 332, 108 pages.

Galisset C.M. Corps du droit français, ou Recueil complet des lois, décrets, ordonnances, sénatus-consultes, règlements, avis du Conseil d'Etat, rapports au roi, instructions ministérielles, etc., publiés depuis 1789 jusqu'à nos jours, mis en ordre et annoté. Paris, Dépôt, chez Blanchet, 1843-45. Volume 9, 756-757.

Gard M. 1926. Le traitement de l'apoplexie de la vigne. Revue de Viticulture. Tome 44, 84-85.

Garrett S.D. 1940. Root disease fungi. Ed. Chronica Botanica Company, Waltham, Mass, USA. 177 pages.

Grosjean H. 1896. Rapport sur la destruction du silphe opaque par le vert de Scheele (arsénite de cuivre) en 1896. Bulletin du ministère de l'Agriculture 1896. 346-351.

Hammond G.H. 1940. Les vers blancs. Comment les combattre. Série de la production en temps de guerre. Office du ravitaillement en produits agricoles, Ottawa, Canada. N°39, 4 pages.

Heinzl T., Boussagol J.P., Leppert B., Valentin G., Vauthier P. & Vernet C. 1987. Le matériel d'application des produits phytosanitaires. In : Euroviti, colloque de Grammont, Montpellier, France, 25 novembre 1987. Imprimerie Le Paysan du Midi. Page 89-106.

Hewitt W.B. 1947. Sodium arsenite, a promising control of Dead-arm disease of grapes. Phytopathology. 37, 362.

Hewitt W.B. 1951. Grape Dead-arm control. Plant Dis. Rep. 35, 142-143.

Hewitt W.B. 1952. Some responses of grapevines to sodium arsenite spray for black measles control. Phytopathology. 42, 158-161.

Hinds T.E. & Buffam P.E. 1971. Blue stain in Engelmann spruce trap trees treated with cacodylic acid. USDA Forest Service Research Note. RM - 201, 4 pages.

Hood R.D. 1985. Cacodylic Acid: Agricultural Uses, Biologic Effects, and Environmental Fate. Veterans Administration Central Office Department of Medicine and Surgery Agent Orange Projects Office Washington, D.C. 171 pages.

Hughes A. 1940. Les oiseaux et les produits arsenicaux employés par l'agriculture. Alauda. 12, 122-123.

IARC 1980. Some metals and metallic compounds. Lyon, International Agency for Research on Cancer, pp. 39-141 (IARC Monographs on the Evaluation of the Carcinogenic Risk of Chemicals to Humans), Vol. 23, 438 pages.

IARC 1987. Overall evaluations of carcinogenicity: an updating of IARC monographs Volumes 1 to 42, pp. 100-106 (IARC Monographs on the Evaluation of the Carcinogenic Risk to Humans), Supplement 7, 440 pages.

IARC 2012. A review of human carcinogens. Metals, arsenic, dusts, and fibres. Lyon, International Agency for Research on Cancer (IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans), Vol. 100C, 501 pages.

Kamesan S. 1938. Wood preservative composition. United States Patent Office. 2,106,978, 1 February 1938.

Kozaka T. 1970. Pellicularia sheath blight of rice plants and its control. JARQ. 5, 1, 12-16.

Lafon J., Couillaud P. & Hude R. 1966. Anthracnose (*Gleosporium ampelophagum*). In : Maladies et parasites de la vigne. Baillière Ed., Paris, 3ème édition. Tome 1, 229-234.

- Larignon P., Darné G., Ménard E., Desaché F. & Dubos B. 2008. Comment agissait l'arsénite de sodium sur l'esca de la vigne ? Prog. Agric. Vitic. 125, 642-651.
- Larignon P., Fontaine F., Farine S., Clément C. & Bertsch C. 2009. Esca et Black Dead Arm : deux acteurs majeurs des maladies du bois chez la vigne. C.R. Biologies. 332, 765-783.
- Legrip V. 1847. Du chaulage à l'acide arsénieux, et du danger de récolter des plantes alimentaires sur une terre rendue arsénifère par la pratique du chaulage à l'arsenic. In : Mémoires de la Société des Sciences naturelles et archéologiques de la Creuse. Tome 1, Imprimerie de Dugement, Guéret, 88-96, le 24 mars 1845.
- Liu W.J., Wood B.A., Raab A., Mc Grath S.P., Zhao F.J. & Feldmann J. 2010. Complexation of arsenite with phytochelatins reduces arsenite efflux and translocation from roots to shoots in *Arabidopsis*. Plant Physiol. 152, 2211-2221.
- Maisonneuve P., Moreau L. & Vinet E. 1909. La lutte contre les cigariers (*Rhynchites betuleti*, Fab.) au moyen des insecticides. Revue de Viticulture. 813, 60-65 et 814, 88-90.
- Mansencal 1981. Aménagement de la technique de traitement hivernal de l'excariose de la vigne. Prog. Agric. Vitic. 4, 94-95.
- Marchal P. 1918. La lutte hivernale contre la pyrale de la vigne (*Oenophthira pilleriana*) par l'emploi des arsénicaux. Epiphyties. 5, 74-82.
- Marchal P. 1919. La lutte hivernale contre la pyrale de la vigne par l'emploi des arsénicaux. Prog. Agric. Vitic. 72, 296-302.
- Marlatt C.L. & Orton W.A. 1906. The control of the codling moth and the apple scab. Farmer's Bulletin. N°247, 21 pages.
- Mastradone P.J. & Woolson E.A. 1983. Levels of arsenical species in cotton after field application of a cacodylic acid defoliant. Bull. Environ. Contam. Toxicol. 31, 216-221.
- Matthwes F.R., Powers H.R. & Arnold B.G. 1976. Eradication of fusiform rust of loblolly pine rootstock – comparison of sodium arsenite and bark excision. Tree Planters' Notes. Winter 1976, 9-10.
- Moreau L. 1935. Traitements à l'arsénite de soude. Prog. Agric. Vitic. 103, 469-471.
- Moreau L. & Vinet E. 1923. Contribution à l'étude de l'apoplexie de la vigne et de son traitement. Prog. Agric. Vitic. 79, 87-89.
- Morgan A.C. 1923. Tobacco hornworm insecticide: recommendations for use of powdered arsenate of lead in dark-tobacco district. Farmer's Bulletin. 1356, 8 pages.
- Nevski V.P., Uspenskaya N.V. & Shaposhnikova E. 1937. Elaboration of a control program for the codling moth, *Cydia pomonella* L. Summary of the Scientific Research Work of the Institute of Plant Protection for the year 1936. Part II. Pests and Diseases of industrial and Fruit Crops. 393-399.
- Newton M. & Holt H.A. 1971. Scolytid and buprestid mortality in ponderosa pines injected with organic arsenicals. Journal of Economic Entomology. 64, 4, 952-958.
- Noirot C. & Alliot H. 1947. La lutte contre les termites. Eds Masson & Cie, Paris. 96 pages.
- Novoa D. et Pujol B. 1988. Bilan d'une expérimentation longue durée sur l'esca. Annales ANPP, Deuxième conférence internationale sur les maladies des plantes, Bordeaux, 8-10 novembre 1988. 1447-1453.
- OIV. 2016. Code international des pratiques œnologiques. Organisation internationale de la Vigne et du Vin, Paris, France.
- Ota H. 2013. Historical development of pesticides in Japan. Survey Reports on the Systemization of Technologies, National Museum of Nature and Science, Japan. No18. March 2013. 108 pages.
- Petri L. 1930. Azione tossica dell' arsenito sodico sopra le spore del *Gloeosporium olivarum* Aim. Bollettino della R. Stazione di patologia Vegetale. 10, 359-361.
- Phillips A.J.L. 2002. *Botryosphaeria* species associated with diseases of grapevines in Portugal. Phytopathologia Mediterranea. 41, 3-18.
- Phillips A.J.L. & Lucas M.T. 1997. The taxonomic status of *Macrophoma flaccida* and *Macrophoma reniformis* and their relationship to *Botryosphaeria dothidea*. Sydowia. 49, 150-159.
- Poutiers R. 1925. Les insectes de l'olivier. Revue de botanique appliquée et d'agriculture coloniale. Vol. 5, 45, 358-366.
- Prévost I.B. 1807. Mémoire sur la cause immédiate de la carie ou charbon des blés, et de plusieurs autres maladies des plantes, et sur les préservatifs de la carie, Paris 1807, p. 67.
- Quaintance A.L. & Scott W.M. 1912. The most important insect and fungous enemies of the fruit and foliage of the apple. Farmer's Bulletin. N°492. 48 pages.
- Ravaz L. 1919. Encore l'apoplexie de la vigne. Prog. Agric. Vitic. 52, 601-603.
- Ravaz L. 1924. L'apoplexie de la vigne. Prog. Agric. Vitic. 81, 109-110.
- Riley C.V. 1876. Potato pests. Ed. New York Orange Judd Company. 108 pages.
- Rives L. 1926. Recherches sur quelques formes de dépérissements de la vigne. Thèse Faculté des Sciences de Toulouse. 102 pages.
- Robinson J.M. 1926. Dusting cotton with calcium arsenate for boll weevil control. Agricultural Experiment Station of the Alabama Polytechnic Institute, Auburn. Circular 51, May 1926. 12 pages.
- Roussel C. & Mansencal A. 1974. L'excariose de la vigne. Phytoma. Avril, 13-17.
- Roussel C., Semein J. & Mansencal A. 1953. L'excariose de la vigne dans le Sud-Ouest. Essais de traitements. Phytoma. 45, 11-13.
- Rui D. & Battel C. 1963. Mise au point d'un nouveau moyen de lutte contre l'esca de la vigne. Notizario sulle malattie delle piante. 62-63, 9-18.
- Saha C., Dikshit A.K., Bandyopadhyay M. & Saha K.C. 1999. A Review of Arsenic Poisoning and its Effects on Human Health. Critical Reviews in Environmental Science and Technology. 29, 3, 281-313.
- Sall M.A. & Wrynski J. 1983. Black Measles: still a mystery. California Grape Grower. April, 53-56.
- Sarejanni J.A. 1956. L'esca. Rapport grec. 8ème congrès international de la Vigne et du Vin. Santiago du Chili, 21 mars – 2 avril 1956. 49-52.
- Schooley T., Weaver M.J., Mullins D. & Eick M. 2008. The history of lead arsenate use in apple production: comparison of its impact in Virginia with other states. Journal of Pesticides Safety Education. Vol. 10, 22-53.
- Schultz E.R. & Thompson 1925 N.F. Some effects of sodium arsenite when used to kill the common barberry. United States Department of Agriculture. In: Cooperation with the University of Wisconsin and the Wisconsin Department of Agriculture. Department Bulletin N°1316, 19 pages.
- Shotwell R.L. 1942. Evaluation of baits and bait ingredients used in grasshopper control. USD of Agriculture, Washington, DC. Technical Bulletin n°793. 52 pages.
- Smith R.W. 1966. Progress report on cacodylic acid as a silvicide. Twentieth Northeastern Weed Control Conference, 568-573.
- Spinosi J., Févotte J. & Vial G. 2009. Eléments techniques sur l'exposition professionnelle aux pesticides arsénicaux. Matrice cultures – expositions aux pesticides arsénicaux. Institut de veille sanitaire. Saint-Maurice, France, avril 2009, 19 pages.
- Station Viticole du BNIC. 2000. L'esca de la vigne. Fiche technique « Protection du Vignoble ».
- Steevens D.R., Walsh L.M. & Keeney D.R. 1972. Arsenic phytotoxicity on a plainfield sand as affected by ferric sulfate or aluminium sulfate. Journal of Environmental Quality. 1, 3, 301-303.
- Steiner L.F., Sazama R.F., Fahey J.E. & Rusk H.W. 1935. The relative efficiency of certain lead arsenate spray treatments. Trans. Ind. Hort. Soc. July, 38-42.
- Sudraud P., Médina B. & Grenon J.P. 1994. Teneurs en éléments minéraux des vins. Journal International des Sciences de la Vigne et du Vin. 28, 69-75.

Svampa G. & Tosatti E.M. 1977. Prove di lotta contro il "mal dell'esca" della vite. *Informatore Fitopatologico*. 12, 21-24.

Taché J.C. 1877. La mouche ou la chrysomèle des patates. Province du Québec, Montréal, La compagnie de lithographie Berland-Desbarats. 38 pages.

Tamashiro M., Yamamoto R. & Rebesu R. 1988. Resistance of ACZA treated Douglas-fir heartwood to the Formosan subterranean termite. *Am. Wood-Preserv. Assoc.* 84, 246-253.

Tarrant R.F. & Allard J. 1972. Arsenic levels in urine of forest workers applying silvicides. *Arch. Envir. Health*. 24, 277-280.

Uhm J.Y. & Sohn H.R. 1991. Neozin solution, a possible control agent of apple Valsa canker. *Ann. Phytopath. Soc. Japan*. 57, 577-581.

Unger A., Schniewind A. & Unger W. 2001. Conservation of wood artifacts. Springer, Berlin Heidelberg New York. 578 pages.

Úrbez-Torres J.R. 2011. The status of *Botryosphaeriaceae* species infecting grapevines. *Phytopathologia Mediterranea*. 50, S5-S45.

Vergnes 1957. Sur les traitements de l'antracnose maculée. *Prog. Agric. Vitic.* 147, 304-309.

Viala P. 1926. Esca. *Annales des Epiphyties*. 180 pages.

Vidal J.L. 1947. Escargots. In : Les maladies de la vigne. Guy Le Prat Ed., Paris. Page 114.

WHO. 2011. Safety evaluation of certain contaminants in food. WHO Food Additives Series, No. 63/FAO JECFA Monographs 8. Arsenic (addendum), 153-316.

Wilson E.E. 1942. Experiments with arsenite sprays to eradicate *Sclerotinia laxa* in stone-fruit trees as a means of controlling the brown rot disease in blossoms. *Journal of Agriculture Research*. 64, 561-594.

Winkler A.J. 1965. Black not, crown gall. In: General Viticulture. 2ème édition. Page 402.

Winandy J.E. 1989. Effects of waterborne preservative treatment on mechanical properties: a review. *Proceedings of the American Wood-preservation Association*. 91, 17-33.

## Personnes impliquées dans le programme Casdar V1301

Jean-Marc Olivier : parcelle d'expérimentation (E.P.L.E.F.P.A. Nîmes - Rodilhan)

Christine Klein : parcelle d'expérimentation (E.P.L.E.F.P.A. Rouffach Wintzenheim)

Nicolas Robert et Benoît Joly : parcelle d'expérimentation (E.P.L.E.F.P.A. Avize)

Mary-Lorène Goddard, Céline Tarnus et Christophe Bertsch (Université Haute-Alsace) : distribution de l'arsenic dans la plante.

Maryline Magnin-Robert, Julie Vallet, Alessandro Spagnolo et Florence Fontaine (Université de Reims) : impact de l'arsénite de sodium sur la physiologie de la plante (analyse d'expression des gènes).

Lucile Jacquens, Christelle Guillier, Sophie Trouvelot et Marielle Adrian (UMR Agroécologie Dijon) : impact de l'arsénite de sodium sur la physiologie de la plante (analyse métabolomique).

Guillaume Robert-Siegwald et Marc-Henri Lebrun (BIOGER Versailles) : impact de l'arsénite de sodium sur la physiologie de la plante (analyse d'expression globale des gènes).

Emilie Bruez et Patrice Rey (UMR SAVE Bordeaux) : effet de l'arsénite de sodium sur le microbiote (métagénomique)

Philippe Larignon (IFV) : traitement des parcelles, effet de l'arsénite de sodium sur le microbiote (analyse classique) et le cycle biologique des champignons.

# Esquive® WP

Biofongicide contre les maladies  
du bois de la vigne : ESCA, BDA et Eutypiose

- ✓ Efficacité confirmée  
au vignoble depuis 2012 au  
travers d'un réseau national
- ✓ Application préventive  
hivernale après la taille
- ✓ Croissance rapide du  
*Trichoderma atroviride*  
I-1237, même à basse  
température (5°C)
- ✓ Plus de rendement  
avec Esquive® WP  
Un capital protégé,  
un gain économique  
assuré



Utilisable en  
AGRICULTURE  
BIOLOGIQUE\*

A LESAFFRE  BUSINESS UNIT

Mentions légales :

Esquive® WP • AMM n° 2080004 • Composition : 100 millions (10<sup>8</sup>) UFC de *Trichoderma atroviride* souche I-1237 par gramme de produit. • Classification du produit : sans classement - P280 - P261 - P308+P313 - SP1 - Spe3 - Contient du *Trichoderma atroviride*. Peut entraîner une réaction de sensibilisation. • Détenteur d'homologation : Agrauxine S.A. • \* Marque déposée Agrauxine S.A. • Pour les usages autorisés, doses, conditions et restrictions d'emploi : se référer à l'étiquette du produit. • \*Produit utilisable en agriculture biologique conformément au règlement (CE) n°834/2007 et produit conforme au NOP. • Distribué par Agrauxine S.A. - Siège social : 137, rue Gabriel Péri - 59700 Marcq-en-Barœul - France - Bureaux : 4, rue Henri Becquerel - 49070 Beaucozézé - France. • www.agrauxine.com

**PRODUITS POUR LES PROFESSIONNELS : UTILISEZ LES PRODUITS PHYTOPHARMACEUTIQUES AVEC PRÉCAUTION.  
AVANT TOUTE UTILISATION, LISEZ L'ÉTIQUETTE ET LES INFORMATIONS CONCERNANT LE PRODUIT.**

# Etude de la cinétique de contamination de jeunes plants par les champignons responsables des maladies du bois

OLIVIER YOBRÉGAT<sup>1</sup>, PHILIPPE LARIGNON<sup>2</sup>, BRIGITTE MILLE<sup>1</sup>, PASCAL BLOY<sup>3</sup>, DORIAN CARCENAC<sup>1</sup>, PHILIPPE SACCHARIN<sup>1</sup>, FLORA DIAS<sup>1</sup>, STEVE CHARLOT<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Institut Français de la Vigne et du Vin, Pôle Sud-Ouest, 81310 Lisle sur Tarn, France.

<sup>2</sup>IFV Pôle Rhône-Méditerranée, 30230 Rodilhan.

<sup>3</sup>IFV Pôle National Matériel Végétal, 30240 Le Grau du Roi. <sup>4</sup>Domaine Expérimental Viticole Tarnais, 81 600 Gaillac.

Email : [olivier.yobregat@vignevin.com](mailto:olivier.yobregat@vignevin.com)

## Introduction et généralités

Le rôle des nombreuses espèces fongiques impliquées dans les maladies du bois de la vigne a fait l'objet de multiples études ces 20 dernières années. Depuis 1999, l'ICGTD (*International Council on Grapevine Trunk Disease*) réunit tous les deux ans des chercheurs du monde entier venant d'horizons scientifiques variés et complémentaires (pathologistes, physiologistes, biologistes moléculaires, praticiens de terrain, ...). A cette occasion, les travaux présentés permettent de mesurer l'avancée des connaissances dans les différents domaines, et nombre d'entre eux s'intéressent à la biologie des espèces fongiques impliquées dans les différents syndromes, à leur dissémination et à leur action dans le bois.

Même si les dégâts sont généralement considérés comme le fruit d'une interaction entre sensibilité variétale, facteurs aggravants de stress, conditions climatiques et action des champignons eux-mêmes, l'observation de symptômes dans des parcelles parfois âgées de moins de 10 ans a soulevé des interrogations, voire des accusations parmi les vignerons et les scientifiques quant à une implication du matériel végétal dans le problème.

Des travaux menés en France et à l'étranger ont étudié la contamination des plants en pépinière, et plus largement, le rôle du matériel végétal dans la dissémination des pathogènes. Il a ainsi été montré à de multiples reprises que de nombreux champignons se propagent tout au long du processus d'élaboration des plants. Présents dès l'entrée de la pépinière sur les boutures greffons et porte-greffes, en quantités très variables mais principalement sur les écorces, on les retrouve également à l'intérieur des tissus ligneux, les porte-greffes semblant à ce niveau plus contaminés que les greffons. Leur mode principal de culture, en tête de saule taillée annuellement au ras du vieux bois, et laissant les sarments directement reposer sur le sol, a pu être incriminé dans ce caractère porteur. En effet, les plaies de tailles sont considérées comme des portes d'entrée pour les pathogènes, et la végétation abondante au ras du sol génère un microclimat humide susceptible de favoriser la propagation de nombreuses espèces fongiques.

A l'instar de beaucoup d'autres équipes, et avec la participation active des syndicats de pépiniéristes, plusieurs pôles de l'Institut Français de la Vigne et du Vin ont mené des investigations à partir de 2003, portant à la fois sur les sources d'inoculum en pépinière, les niveaux de contamination et les champignons impliqués, les étapes clés et les voies de pénétration dans les greffes-boutures, ainsi que sur l'étude de diverses solutions de désinfection des bois et plants et de biocontrôle. Les principaux constats, qui ne seront pas détaillés ici (voir bibliographie), ont confirmé la plupart des travaux effectués par ailleurs : la propagation de nombreux champignons, le rôle majeur des phases de réhydratation et de stratification, l'efficacité limitée des moyens de lutte chimiques ou physiques en termes de désinfection et, *in fine*, la contamination effective des jeunes plants à des niveaux divers et imprévisibles.

Cependant, à ce jour aucune étude n'a permis de mettre en relation la présence avérée de ce primo-inoculum et les symptômes ultérieurs observés au champ ; de la même façon, les questionnements sur la cinétique de contamination post-plantation par le milieu extérieur n'ont pas ou très peu été abordés. Or, plusieurs résultats préliminaires issus de comparaisons entre mêmes lots greffes-boutures élevés en serre et implantés en pépinière de plein champ laissent à penser qu'elle pouvait être rapide et importante (*IFV Sud-Ouest, non publié*).

Au cours des études visant à comparer l'impact éventuel de diverses techniques de pépinière sur les niveaux de contamination, les analyses effectuées sur des plants issus de greffages herbacés ont systématiquement démontré l'absence totale de champignons impliqués dans les maladies du bois, que ce soit à l'intérieur des tissus, ou sur les écorces (Larignon *et al*, 2013). Cette technique, qui ne fait intervenir que des fragments herbacés (greffons et porte-greffes) durant la période végétative, est employée à l'IFV pour multiplier rapidement du matériel végétal rare, et a fait l'objet d'une mise en pratique à plus grande échelle dans certaines pépinières, qui la réalisent encore sur demande. Elle n'a cependant jamais été généralisée, en raison des difficultés logistiques de sa mise en œuvre et du faible diamètre des plants obtenus, malgré la bonne qualité des

soudures. Une rapide enquête sur le comportement de tels plants présents au vignoble n'a pas permis de mettre en évidence une quelconque différence de comportement par rapport à des plants produits plus classiquement, même si la faiblesse des effectifs recensés et l'absence fréquente de témoins comparables ne pouvaient pas donner lieu à des études approfondies.

Cependant, aucune technique de désinfection n'ayant permis de garantir l'absence totale de champignons dans un lot de plants, cette possibilité offerte par les greffes-boutures herbacées les désignaient comme matériel d'étude idéal pour étudier la contamination au champ de plants initialement exempts de ces pathogènes.

### Dispositif et conditions initiales

En 2012-2013, à partir du même matériel végétal de départ (Sauvignon blanc B clone 297 sur 110 Richter clone 237, catégorie initial), deux lots de plants ont été produits, l'un en greffage herbacé et l'autre en greffage ligneux. Le Sauvignon blanc B a été choisi en raison de sa forte sensibilité connue aux maladies du bois, et de sa tendance à exprimer rapidement des symptômes sur vignes jeunes. Le porte-greffe 110 R, conférant une forte vigueur au greffon, était parfaitement adapté aux objectifs de l'essai, la vigueur en excès étant considérée comme un facteur pouvant favoriser la survenue des symptômes. Une parcelle, au sol vierge de vigne depuis plus de 20 ans, a été implantée sur le site du Domaine Expérimental Viticole Tarnais (vignoble de Gaillac). Elle met en comparaison les deux modalités dans un dispositif en bandes alternées.

Le statut sanitaire des deux lots de plants a été préalablement déterminé par analyses microbiologiques selon la méthode de Larignon et Dubos (1997). Un échantillon de 30 plants issus de chaque lot a été débité à 6 niveaux et des prélèvements de tissus internes ont été mis en culture. En même temps, des prélèvements d'écorces ont été pratiqués sur 5 niveaux, et analysés de la même façon (figures 1 et 2).

Abrégé	Nom	Implication
<i>Pch</i>	<i>Phæmoniella chlamydospora</i>	Esca, maladie de Petri
<i>Pal</i>	<i>Phæocremonium minimum</i>	Esca, maladie de Petri
<i>Ds</i>	<i>Diplodia seriata</i>	Botryosphaerioses ( <i>Black dead arm</i> , ..)
<i>Np</i>	<i>Neofusicoccum parvum</i>	Botryosphaerioses ( <i>Black dead arm</i> , ..)
<i>Bd</i>	<i>Botryosphaeria dothidea</i>	Botryosphaerioses ( <i>Black dead arm</i> , ..)
<i>Bsp</i>	autres <i>Botryosphaeriaceæ</i>	Botryosphaerioses ( <i>Black dead arm</i> , ..)
<i>Pv</i>	<i>Diaporthe (= Phomopsis) sp.</i>	Excoriose
<i>Il</i>	<i>Ilyonectria liriodendri</i>	Pied noir

Figure 1 : Champignons recherchés et syndromes associés

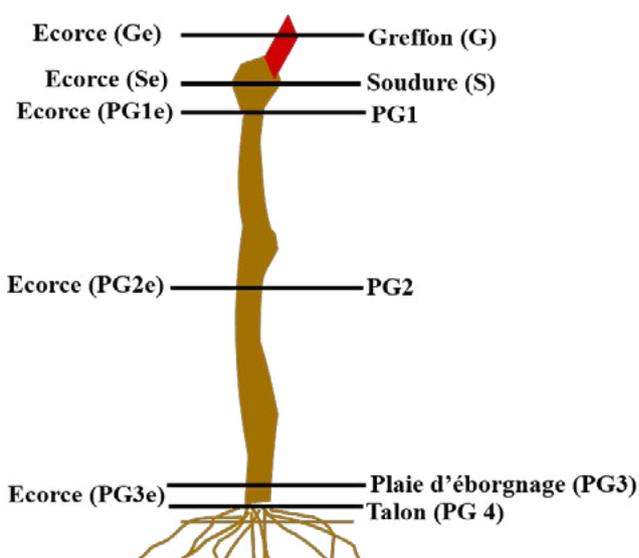


Figure 2 : Niveaux internes et externes de prélèvements

Les résultats ont permis de constater les fortes différences entre les deux lots (figure 3):

- Sur les plants issus de greffes-boutures herbacées (GBH) : seul un plant a été trouvé porteur de l'agent du pied noir (*Ilyonectria liriodendri*) au niveau d'un talon. Ce champignon, largement répandu dans les sols, a probablement été apporté dans ce cas par le substrat de culture. Il a été observé mais ne constitue pas un champignon cible de l'étude, la maladie ne se développant que dans des conditions très

Nom	% de plants - tissus internes	% de plants - écorces	Cumul
<i>Ds = Diplodia seriata</i>	23.3	26.7	36.7
<i>Np = Neofusicoccum parvum</i>	33.3	33.3	36.7
<i>Bsp = autres Botryosphaeriaceæ</i>	3.3	6.7	10.0
Total <i>Botryosphaeriaceæ</i>	60.0	63.3	76.7
<i>Pv = Diaporthe (Phomopsis) sp.</i>	6.7	6.7	13.3

Figure 3 : Champignons retrouvés sur les plants du lot témoin

particulières (asphyxie, stagnation d'eau, hydromorphie), et ne concernant en France que très peu de cas.

Aucun autre champignon n'a été trouvé, ni sur écorces ni à l'intérieur des tissus, ce qui confirmait les résultats précédemment obtenus.

- Par contre, le lot témoin s'est révélé largement contaminé par plusieurs espèces fongiques : plus de 76 % des plants étaient porteurs de *Botryosphaeriaceæ* à au moins un des niveaux de prélèvements, dont 60% (18 plants sur 30) hébergeaient au moins une des espèces à l'intérieur des tissus. Sur 43 % des plants, les prélèvements ont permis de trouver les mêmes espèces de *Botryosphaeriaceæ* à la fois sur écorces et à l'intérieur du bois. La présence de ces champignons en pépinière est habituelle et ne constitue pas une surprise, même si le niveau de contamination est élevé



Figure 4 : Plantation fin 2014, et taille des pieds (tronc d'un an)

dans ce cas. L'agent de l'excoriose (*Diaporthe*) est également bien connu pour se disséminer en pépinière, voire même être responsable de certains dégâts directs sur les greffes-boutures (Dubos, 1999). Il ne constitue cependant pas une cible prioritaire de l'étude, cette dernière ayant pour objectifs principaux les champignons impliqués dans les syndromes de l'esca et des botryosphærioses.

### Méthodologie d'échantillonnage

Dès la campagne suivant la plantation (2014-2015), des prélèvements de troncs ont été effectués sur les deux types de matériel, et un programme d'échantillonnage a été déterminé, mettant en œuvre des recépages et des analyses microbiologiques annuelles.

- En fin d'année de plantation, une taille à deux yeux a été pratiquée, aucune analyse n'a été faite (figure 4).
- En année n+1 (2014), la bonne vigueur de la plantation, sur laquelle aucun manquant n'a été à déplorer, a permis de monter convenablement deux troncs sur toutes les souches. Lors de la taille suivante, l'un des deux a été conservé et plié directement sur le fil porteur, et le deuxième a été prélevé pour analyse. Toutes les souches ont été taillées le même jour, afin qu'aucun biais ne compromette l'homogénéité de la parcelle. Sur ces bois, âgés d'un an et dont la croissance a été rapide, les isollements ont été effectués à trois niveaux internes (et à deux niveaux sur les écorces).

Les deux années suivantes (2015 et 2016), des recépages ont été planifiés sur un échantillonnage de 100 souches définies à l'avance. Durant la période végétative, un pampre a été conservé, tuteuré et protégé sur chaque pied. Lors de la taille, le tronc a été prélevé, le recépage permettant de pratiquer les analyses (destructives) sans altérer l'effectif de



Figure 5: Recépage d'une souche fin 2015, et prélèvement du tronc de 2 ans

la parcelle, ce qui aurait pu provoquer des hétérogénéités non souhaitables.

Chaque souche prélevée est ensuite sortie du champ de l'étude une fois analysée, la plaie de recépage (protégée par un mastic) et le rajeunissement du tronc induisant un biais important par rapport aux autres pieds suivant une évolution normale.

Chaque tronc a été emballé individuellement dès son prélèvement, afin d'éviter les contaminations post-taille ou par contact entre les échantillons. La taille pratiquée sur la parcelle, une fois la formation des souches achevée, est un guyot simple avec une baguette à 8 yeux et un courson de rappel à 2 yeux (figure 5).

Un plan précis des souches prélevées, et de leur statut sanitaire révélé par les analyses a été dressé et incrémenté chaque année de l'étude, afin d'observer un éventuel zône ou une progression préférentielle des contaminations.

### Résultats

Dès l'année qui suit la plantation, les premières mesures montrent une colonisation des plants par les pathogènes, notamment des espèces de *Botryosphaeriaceae*, résultant finalement en une convergence rapide des statuts sanitaires des deux lots étudiés. La présence des champignons est constatée en surface (écorces) et à l'intérieur des tissus ligneux. Ce sont ces derniers résultats, révélateurs de la pénétration des champignons dans des souches qui en étaient exemptes et indicateurs principaux pour cette étude, qui seront majoritairement exposés ici (figure 6).

- Au premier échantillonnage (n+1), alors que les ceps n'ont subi qu'une taille à deux yeux, 10.1 % d'entre eux ont été trouvés porteurs de *Botryosphaeriaceae* à l'intérieur du bois. Ces mêmes champignons sont aussi mis en évidence à

	Ds				Np				Bd				Bsp				Total Botryo			
	2013	2014	2015	2016	2013	2014	2015	2016	2013	2014	2015	2016	2013	2014	2015	2016	2013	2014	2015	2016
Témoin	23,3	22,5	30,0	72,5	33,3	22,5	15,0	25,0	0,0	0,0	2,5	0,0	3,3	0,0	0,0	5,0	60,0	45,0	42,5	80,0
GBH	0,0	10,1	26,7	75,0	0,0	0,0	5,0	10,0	0,0	0,0	1,7	1,7	0,0	0,0	1,7	6,7	0,0	10,1	33,3	80,0

Figure 6 : Analyses microbiologiques (en % de plants hébergeant les champignons)

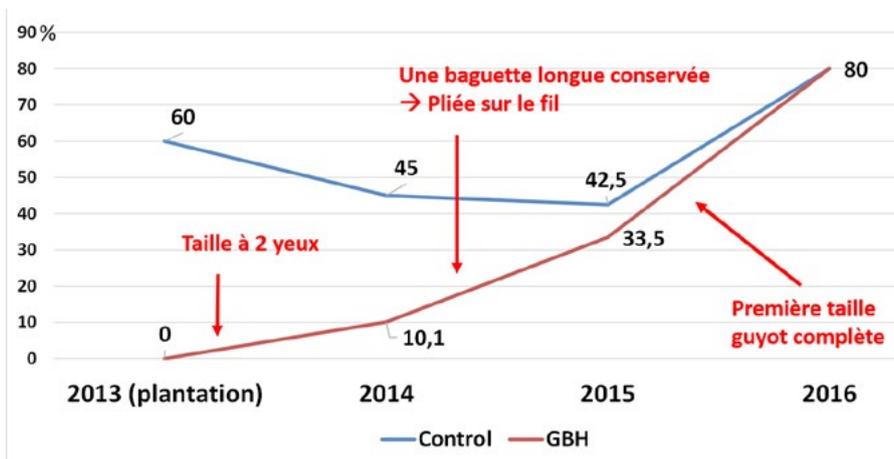


Figure 7 : Evolution des contaminations (en % de plants hébergeant les champignons)

l'intérieur de 45 % des plants témoins réalisés en greffe ligneuse, alors que la proportion mesurée avant plantation était plus élevée (60%). Cette différence, révélatrice d'une sous-estimation globale de la présence des pathogènes, peut s'expliquer par la méthode d'échantillonnage (nombre de prélèvements proportionnellement plus important sur des greffés-soudés, associé à une « dilution » probable de l'inoculum de départ durant la forte croissance de première année).

- l'année n+2, les troncs conservés n'ont connu que de faibles plaies de taille (baguette directement pliée sur le fil porteur), mais le pourcentage de plants où sont retrouvés des champignons (toujours différentes espèces de *Botryosphaeriaceae*) à au moins un niveau monte à 33,5 %, alors qu'il reste stable dans les témoins (42,5 %).

- l'année n+3, après une première grosse plaie liée à la taille guyot, le taux monte brusquement à 80 % pour les deux modalités comparées (respectivement 34 plants sur 40 analysés pour les témoins, et 46 sur 60 plants pour les GBH) (figure 7).

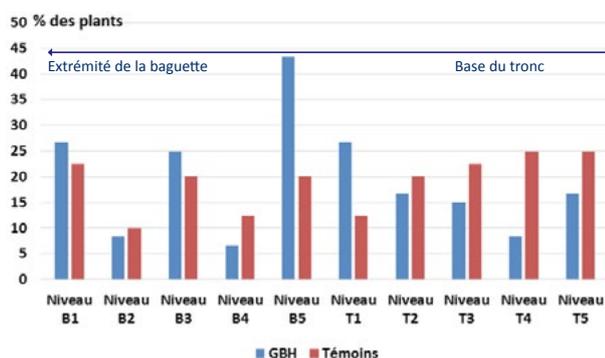


Figure 8 : Localisation des champignons sur les 10 points de prélèvement

## Discussions

Dans cet essai, l'espèce majoritairement retrouvée au champ est *Diplodia seriata*, qui contamine très rapidement les plants issus de greffage herbacé après la plantation, *Neofusicoccum parvum* apparaissant plus tardivement et moins massivement. Dans les deux modalités, on observe une forte augmentation du nombre de plants infectés durant l'année de croissance qui suit la première véritable taille en

Guyot simple (2016). Les prélèvements ayant porté fin 2016 sur 10 points répartis sur la souche (5 sur le tronc de 3 ans, et 5 sur la baguette de l'année), l'examen de la répartition des champignons s'avère difficilement interprétable : si on observe bien un pic relatif entre le haut du tronc et la base de la baguette (B5 et T1) pour la modalité GBH, on constate que les champignons sont isolés par ailleurs à tous les niveaux d'analyse, et que concernant les témoins la répartition ne fait pas apparaître de gradients évidents (figure 8).

On remarque aussi que les champignons sont largement présents dans les baguettes de l'année. Cette observation, associée aux contaminations constatées très rapidement et en l'absence de plaies de taille significatives, laisse supposer que les voies de pénétration dans les souches sont multiples pour les *Botryosphaeriaceae*, et ne sont visiblement pas limitées aux plaies hivernales. Cette observation corrobore des résultats antérieurs, qui avaient désigné l'époque de la floraison comme la plus favorable aux contaminations par les *Botryosphaeriaceae* (Spagnolo *et al.*, 2014).

Les résultats présentés ici ne concernent que la vision globale des contaminations au champ ; d'autres mesures restent à exploiter et à interpréter (quantification relative de l'envahissement des tissus, estimée par le nombre de buchettes contaminées dans les boîtes de Pétri, étude du zonage des souches, de l'inoculum sur les écorces...).

## En guise de conclusion temporaire...

L'un des objectifs assignés à cette implantation pilote passe également par l'observation et le suivi des premiers symptômes de maladies du bois. Or, durant l'été 2017, une première souche de la parcelle a nettement manifesté de tels symptômes (figure 9). En l'occurrence, il s'agit d'un pied issu de greffage herbacé et ayant fait l'objet d'une recépage pour analyse en fin d'année 2015, cette dernière n'ayant pas permis de détecter de champignons dans le tronc prélevé. La survenue de ce premier symptôme est très précoce, la vigne n'étant âgée que de 4 ans et le pied présumé exempt de champignons à la plantation. Des investigations sont prévues sur cette souche, afin de tenter de déterminer les



Figure 9 : Premiers symptômes en 2017, sur une souche issue de GBH

facteurs de déclenchement des expressions foliaires observées. A première vue, ces dernières rappellent bien la symptomatologie des botryosphérioses décrites entre autres par Philippe Larignon (2016 pour une revue).

De nombreuses questions restent posées suite à ces résultats, concernant l'origine de l'inoculum (même si les éléments exposés plaident pour un rôle déterminant du milieu extérieur), les voies privilégiées de pénétration, l'action effective des champignons dans les tissus et leur lien avec d'éventuels symptômes ultérieurs, etc.

D'autres études, probablement basées sur une approche similaire, doivent être conduites en faisant appel à des outils complémentaires, tels que des analyses moléculaires visant à caractériser génétiquement les populations de pathogènes, et tenter d'en déterminer l'origine. Concernant la parcelle étudiée, cette phase d'observation étant arrivée à son terme au vu de la contamination massive constatée, elle continuera à être observée, un certain nombre de souches n'ayant pas été recépées à ce jour. Elles évoluent donc normalement, aux côtés de pieds présentant des troncs d'âges différents en fonction de l'année de leur prélèvement, et constituent un matériel d'étude potentiellement utilisable dans le cadre de plusieurs projets labellisés par le Plan National Dépérissement du Vignoble (ORIGINE, VITIMAGE, LONGVI, PHYSIO-PATH).

Enfin, ces résultats posent la question de l'efficacité en termes de prophylaxie d'une désinfection poussée en pépinière, considérant le caractère massif et rapide des contaminations à la parcelle par différentes espèces de *Botryosphaeriaceae*. Le lien entre ces champignons et les symptômes observés n'étant cependant pas établi, et *P. minimum* et *P. chlamydospora*, deux espèces pionnières de l'esca, n'ayant pas été retrouvés dans ce travail, beaucoup reste à faire avant de pouvoir tirer des conclusions définitives sur le sujet. De futurs travaux sur cette parcelle et sur d'autres permettront peut-être de mieux préciser l'ensemble des processus à l'œuvre.

## Bibliographie

Billones-Baaijens R., Allard A., Hong Y., Jones E.E., Ridgway H., Jaspers M.V., 2014. Management of *Botryosphaeria* species infection in grapevine propagation materials. *Phytopathologia Mediterranea* 53, 589.

Dubos B., 1999. *Maladies cryptogamiques de la vigne*. Editions Féret, 174 p.

Fourie P.H., Halleen F., 2006. Chemical and biological protection of grapevine propagation material from trunk disease pathogens. *European Journal of Plant Pathology* 116, 255–265.

Gramaje D., Armengol J., 2011. Fungal trunk pathogens in the grapevine propagation process: potential inoculum sources, detection, identification, and management strategies. *Plant Disease* 95, 1040–1055.

Gramaje D., Di Marco S., 2015. Identifying practices likely to have impacts on grapevine trunk disease infections: a European nursery survey. *Phytopathologia Mediterranea*, 54, n. 2, p. 313-324.

Halleen F., Crous P.W., Petrini O., 2003. Fungi associated with healthy grapevine cuttings in nurseries, with special reference to pathogens involved in the decline of young vines. *Australasian Plant Pathology* 32, 47–52.

Hunter J.J., Volschenk C.G., Le Roux D.J., Fouché G.W., Adams L., 2004. *Plant Material Quality*, a compilation of research. Research Reports, ARC Infruitec-Nietvoorbij, Stellenbosch, South Africa.

Larignon, P. (2012). *Maladies cryptogamiques du bois de la vigne: symptomatologie et agents pathogènes*. <http://www.vignevin.com>

Larignon P., Dubos B., 1997. Fungi associated with esca disease in grapevine. *European Journal of Plant Pathology*, 103: 147-157.

Larignon P., Baptiste C., Mallet J.F., Granier J.P., Bloy P., 2013. Greffage en vert, premier test contre les maladies du bois: Essai préliminaire sur l'intérêt de cette technique pour produire des plants de vigne indemnes des champignons associés à ces maladies. *Phytoma* 661, pp. 33-35.

Larignon P., Bérud F., Girardon K., Dubos B., 2006. Maladies du bois de la vigne. Et les pépinières ? Quelques éléments sur la présence des champignons associés, leur localisation dans le bois et les moments de contamination. *Phytoma*. 592, 14-17.

Larignon P., Dubos B., 2001. Le Black Dead Arm. Maladie nouvelle à ne pas confondre avec l'esca. *Phytoma*, 538, 26-29.

Larignon P., Coarer M., Girardon K., Bérud F., Jacquet O., 2009. Propagation of pioneer fungi associated with esca disease by vegetative material in French grapevine nurseries. *Phytopathologia Mediterranea* 48, 177.

Mercier pépinières, 2017. Greffe herbacée. <http://www.mercier-groupe.com/fr/produits/greffe-herbacee>

Plan National Dépérissement du Vignoble, 2017. Programmes de recherches. <https://www.plan-deperissement-vigne.fr/travaux-de-recherche/programmes-de-recherche>

Retief E., Damm U., Mc Leoda, Fourie P.H., 2005. Petri disease : potential inoculum sources in South African grapevine nurseries. 4th International Workshop on grapevine Trunk Diseases, Stellenbosch.

Spagnolo A., Larignon P., Magnin-Robert M., Hovasse A., Cilindre C., Van Dorsselaer A., Clément C., Schaeffer-Reiss C., Fontaine F., 2014. Flowering as the most highly sensitive period of grapevine (*Vitis vinifera* L. cv. Mourvèdre) to the *Botryosphaeria* dieback agents *Neofusicoccum parvum* and *Diplodia seriata* infection. *International Journal of Molecular Sciences*, 15, 9644–9669.

Stamp J. A., 2001: The contribution of imperfections in nursery stock to the decline of young vines in California. *Phytopathologia Mediterranea*, 40 (supplement), 369-375

Viguès V., Dias F., Barthélémy B., Yobrégat O., Coarer M., Larignon P., 2008. Maladies du bois de la vigne, des étapes à risque identifiées en pépinière. *Phytoma*, 621, 30-32.

Viguès V., Yobrégat O., Barthélémy B., Dias F., Coarer M., Larignon P., 2009. Fungi associated with wood decay diseases : identification of the steps involving risk in a French nursery. *Phytopathologia Mediterranea*, 48, 177.

Viguès V., Yobrégat O., Barthélémy B., Dias F., Coarer M., Girardon K., Bérud F., Muller M., Larignon P., 2010. Wood decay diseases: tests of disinfection methods in French nursery. *Phytopathologia Mediterranea*, 49, 130.

Waite H., Morton L., 2007. Hot water treatment, trunk diseases and other critical factors in the production of high-quality grapevine planting material. *Phytopathologia Mediterranea* 46 (1): 5-17.

Waite H., Whitelaw-Weckert M., Torley P., 2015. Grapevine propagation: principles and methods for the production of high-quality grapevine planting material. *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science*, 43:2, 144-161.

Whiteman S.A., Stewart A., Ridgway H.J., Jaspers M.V., 2007. Infection of rootstock mother-vines by *Phaeoconiella chlamydospora* results in infected young grapevines. *Australasian Plant Pathology* 36, 198–203.

Yobrégat O., Larignon P., 2014. Maladies du bois : les greffes-boutures herbacées, matériel d'étude précieux pour évaluer les contaminations au vignoble. La Grappe d'Autan, n°100, [http://www.vignevin-sudouest.com/publications/grappe-autan/documents/LaGrappe\\_100.pdf](http://www.vignevin-sudouest.com/publications/grappe-autan/documents/LaGrappe_100.pdf)

# BRAUD N°1 MONDIAL.



Braud, la marque référence  
dans tous les vignobles !

15 000 machines à vendanger Braud  
produites depuis 1975

L'excellence à la Française :  
Machines conçues et fabriquées en France

Label Origin France Garantie\*

\*Label Origin France Garantie pour l'instant sur les gammes compactes 7000-8000 et 9000.



[www.newholland.com/fr](http://www.newholland.com/fr)



# Le Plan national Dépérissement du Vignoble en actions

## CHRISTOPHE RIOU

Délégué à la mission Dépérissement et directeur général adjoint de l'IFV, IFV Pôle National, 30240 Le Grau du Roi.

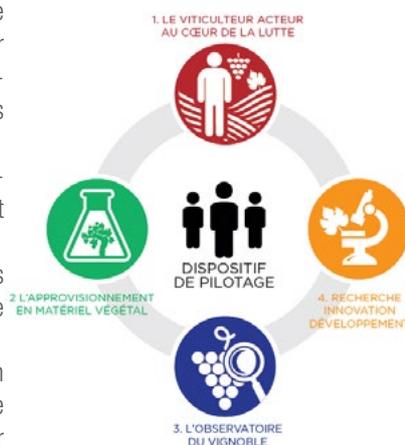
Email : [cr@cniv.asso.fr](mailto:cr@cniv.asso.fr)

Depuis novembre 2014, les interprofessions vitivinicoles, avec le soutien de FranceAgriMer et du Ministère de l'Agriculture, ont uni leurs forces pour engager un plan de lutte contre les dépérissements du vignoble. Phénomène en augmentation depuis plusieurs années, il était devenu nécessaire de lancer un plan d'actions ambitieux, afin de redonner de la compétitivité à la filière. Le Plan national Dépérissement du Vignoble a été construit en concertation avec tous les organismes et métiers concernés, de la production du plant de vigne à la commercialisation. Ce Plan est issu d'une démarche innovante, de prospective et d'analyse stratégique de filière, qui a conduit à définir quatre priorités d'action. Tous les acteurs du Plan sont maintenant engagés dans la mise en œuvre des actions.

### Les 4 ambitions du Plan

Le Plan National Dépérissement du Vignoble traduit la volonté d'agir à tous les niveaux, de manière concertée, avec des moyens à la hauteur des enjeux. Les quatre ambitions sont complémentaires et interagissent entre elles dans une démarche globale.

- Ambition n°1 : Vers un réseau d'acteurs pour promouvoir la formation et le transfert des bonnes pratiques.
- Ambition n°2 : Pour la production des plants en partenariat avec la pépinière viticole.
- Ambition n°3 : Vers une coordination de réseaux d'observation du vignoble pour anticiper les crises et identifier des actions correctrices.
- Ambition n°4 : Pour une recherche répondant aux attentes de la filière, dans un partenariat renouvelé avec le monde scientifique.



### Ambition 1 – Le viticulteur acteur

Plus d'une centaine de contenus sont maintenant en ligne sur la plateforme web collaborative du Plan Dépérissement. Une cinquantaine de formations est aussi référencée. Le groupe de travail Formation, a entamé la phase de réflexion sur la création de nouveaux outils et modules de formation.

Associés à la recherche, des réseaux de « viticulteurs acteurs » sont actuellement mis en place dans trois régions pilotes (Val de Loire, Rhône-Provence et Charentes) en partenariat avec les Chambres d'Agriculture. Ces 29 réseaux ont une expérience pilote ayant vocation à se démultiplier.

### Ambition 2 – Matériel végétal

Cette ambition se construit en partenariat avec la pépinière, et fait l'objet d'un axe du plan de Recherche Innovation Développement.

Une première feuille de route a été rédigée et porte sur les points suivants :

- Renouvellement du parc de vignes-mères de greffons et modèles de gestion régionaux pérennes
- Professionnalisation des métiers en partenariat avec les acteurs de la sélection
- Développement d'une filière de production de plants autour d'une marque collective de certification

Un travail d'analyse des données des surfaces de vignes mères de greffons et de demande en plants a été mené afin d'orienter le développement des modèles régionaux de vignes mères de greffons. Plusieurs rencontres entre le CNIV et la FFPV ont été organisées courant 2017. L'objectif du projet de marque collective, porté par la FFPV, est la mise en place d'un cahier des charges et d'un système de contrôle répondant aux attentes des viticulteurs : transparence sur la provenance des plants, qualité sanitaire, sécurité de l'approvisionnement.

### Ambition 3 – Un réseau de réseaux d'observation du vignoble

L'avancement du Réseau de réseaux d'observation comporte 3 étapes. L'étude d'état des lieux des dispositifs d'observation a permis d'identifier 70 dispositifs d'observation du vignoble. Elle a débouché sur des préconisations pour la mise en place du dispositif et son expérimentation préalable en région.

L'étude de faisabilité constitue la deuxième phase du projet. Elle sera menée sur plusieurs régions pilotes. Un groupe de travail national a été créé autour d'experts (scientifiques, techniques), afin que les différents bassins pilotes partagent leurs expériences. Leviers et freins identifiés permettront d'affiner le projet de réseau de réseaux national.

### Ambition 4 – Recherche

26 dossiers ont été reçus en réponse à l'appel à projets de recherche 2017. Neuf d'entre eux ont été sélectionnés par le Conseil scientifique et le Conseil de surveillance du Plan. Au total, 3,1 millions d'euros d'aide sont engagés sur 3 ans pour financer les projets sélectionnés. Une partie du travail des équipes de recherche sera d'apporter et de transmettre progressivement aux professionnels les résultats de leurs travaux.

Le cahier des charges du nouvel appel à projets a été publié début décembre. Les volets sol et écosystème racinaire (axe 2) et leviers socio-économiques (Axe 5), seront tout particulièrement encouragés dans la nouvelle sélection de projets, qui se veut complémentaire des 9 premiers projets. Les porteurs de projets ont jusqu'au 31 mars pour déposer leurs dossiers.

Pour en savoir plus rendez-vous sur la plateforme collaborative du Plan : [www.plan-deperissement-vigne.fr](http://www.plan-deperissement-vigne.fr) et sur les réseaux sociaux avec le nom @PlanDepVignoble.

# DEUXIÈME PARTIE

## Viticulture : les outils de demain



# Robots viticoles et transition agro écologique : gestion de la tonte et des adventices

CHRISTOPHE GAVIGLIO, FLORA DIAS

Institut Français de la Vigne et du Vin, Pôle Sud-Ouest, 81310 Lisle sur Tarn, France.

Email : christophe.gaviglio@vignevin.com

## Introduction

L'entretien du sol sans herbicides est un sujet d'actualité important pour lequel les solutions classiques sont connues et étudiées depuis longtemps. Le principal frein au développement de la tonte ou du travail sous le rang est le temps de travail qu'ils représentent. La robotique, en plein développement actuellement, nous permet d'envisager la refonte de nos systèmes de conduite et d'entretien du sol, d'une part en déléguant le temps de travail à des unités totalement autonomes, d'autre part en modifiant la fréquence et l'intensité du travail réalisé. Ainsi, la hauteur et la fréquence des tontes d'un enherbement couvrant à la fois le rang et l'inter-rang peuvent-elles être totalement revues en étant réalisées par des robots. La question posée par ce changement de pratique est la suivante : est-ce que des tontes plus rases et plus fréquentes ont une incidence sur la concurrence hydro-azotée exercée par l'enherbement sur la vigne ? Cette question n'a jamais été posée à l'échelle des possibilités offertes par la robotique, car des tontes hebdomadaires sont bien sûr inenvisageables avec un tracteur et un matériel de tonte intercepts. Dans ce cas de figure, la conduite la plus rationnelle consiste à laisser se développer le couvert jusqu'à la fin de son cycle avant de le faucher, pour éviter de stimuler sa croissance en permanence. Nous avons donc mis en place un essai pour mesurer l'impact de fréquences et hauteurs de tontes sensiblement différentes sur une parcelle enherbée en totalité depuis 2009, avec le soutien du conseil régional dans le cadre du programme interbio 2017.

## Dispositif expérimental

L'essai comporte 4 modalités et 3 répétitions réparties de la manière suivante (figure 2):

- Tontes systématiques hebdomadaires (**sys hebd**) et rases (2cm)
  - Tontes systématiques mensuelles (**sys mens**) et rases
  - Tontes raisonnées : fauchage en fin de cycle des végétaux ou selon hauteur (**RAIS**), peu rases (5 à 10 cm)
  - Témoin (**TEM**) : tontes calquées sur la pratique du vignoble, fonction des autres opérations (relevage, etc.), peu rases
- Les fauches ont été réalisées avec une débroussailluse thermique équipée de fil nylon pour une tonte très proche des souches. La tonte concerne toute la largeur du rang, c'est-à-dire sous le rang plus un demi inter-rang de chaque

côté, tel qu'elle serait faite à l'échelle d'une parcelle complète avec un robot. La différence d'expression du couvert n'est donc pas focalisée uniquement sous le rang.



Figure 1 : Illustration de la hauteur de tonte

## Notations / observations

- Les dates des différentes tontes sur les modalités doivent être enregistrées.
- La hauteur des couverts avant intervention.
- Suivi du statut azoté des feuilles : NBI (pince dualex) 4 fois par an.
- Evaluation du statut hydrique à l'aide de sondes de température et d'humidité sinafis
- Récolte (poids par souche)
- Contrôle maturité : Azote assimilable en particulier à surveiller
- Vigueur par pesée des sarments lors de la taille
- Fertilité (point 0 + en année n+1)

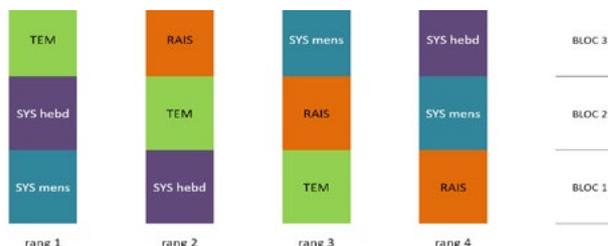


Figure 2 : Dispositif expérimental

## Résultats

### Fertilité, point « 0 »

Une mesure de la fertilité des rameaux a été réalisée en début de campagne, le 16 mai. Compte tenu des épisodes de gel très importants du mois d'avril, une notation complémentaire du taux de dégâts par le gel a été effectuée en même temps.

Les modalités sont affectées de manière assez homogène par les dégâts dus au gel, entre 34 et 38% en moyenne. Le nombre de grappes par rameau est très faible car les rameaux ayant gelé étaient ceux les plus fertiles (en moyenne 0,39 grappes par rameau).

### Suivi du nombre d'interventions et du développement des couverts

Sur la période de culture et de suivi de l'essai, les tontes hebdomadaires représentent 13 interventions, ce qui n'est envisageable qu'avec un robot car cela représenterait un temps de travail considérable. Les plateaux sur la courbe de la modalité systématique hebdomadaire (bleue) signifient qu'il n'y a eu aucune intervention à deux dates, car elles n'étaient pas nécessaires. On arrive à un total de 6 tontes avec la modalité systématique mensuelle (rouge), contre 4 pour les modalités raisonnée (verte) et témoin (violette). La différence entre ces deux dernières modalités tient au décalage du moment de l'intervention, qui est liée pour l'une à des aspects agronomiques, et pour l'autre à des aspects

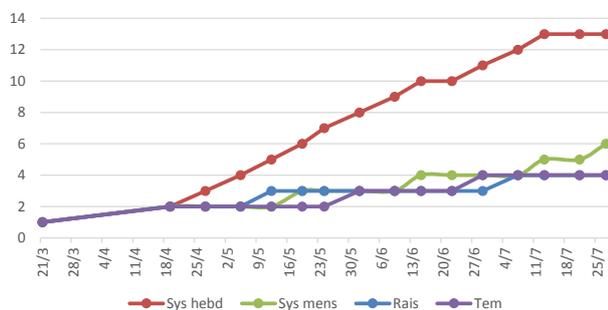


Figure 3 : Nombre d'interventions cumulées par modalité

pratiques (figure 3).

Le suivi de la hauteur des couverts montre une importante variabilité pour les modalités sys mens et tem, alors que la modalité rais reste à un niveau élevé pendant une période importante avant d'être maîtrisée (figure 4). Sans surprises, les tontes systématiques chaque semaine permettent de



Parcelle expérimentale début mai

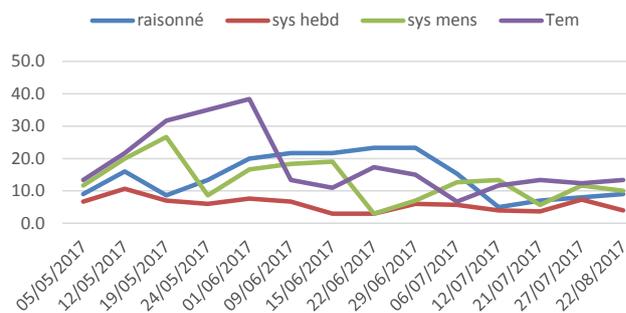


Figure 4 : Suivi de la hauteur des couverts

conserver un couvert très ras. L'enjeu de cette expérimentation est de mesurer à quel point ces différences de comportements dans les couverts ont un impact sur les variables agronomiques mesurées.

### Suivi du statut azoté à l'aide de la pince Dualex

La pince dualex donne un résultat, le NBI (Nutrition Balance Index), qui est un rapport entre la teneur en chlorophylle et la teneur en flavonoïdes. Plus cet indicateur est haut, meilleure est la nutrition azotée qui favorise la synthèse de chlorophylle. Les écarts entre modalités sont faibles mais vont pratiquement toujours dans le même sens à mesure que la saison avance (figure 5).

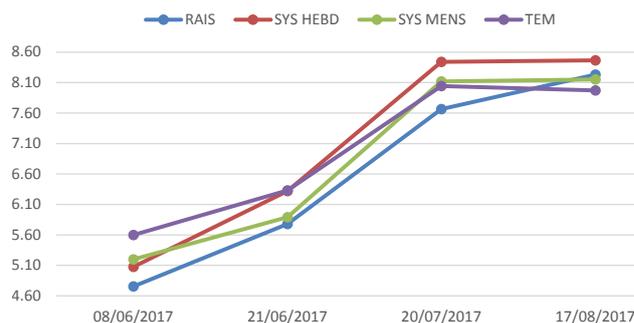


Figure 5 : Suivi du statut azoté

### Traitement statistique des résultats

Une ANOVA est appliquée sur le jeu de données, date par date, avec un test de Tukey.

Au 8 juin, les modalités TEM et RAIS sont significativement différentes avec un intervalle de confiance à 95 %. On observe un effet bloc à cette date, le bloc 1 étant plus faible.

Au 21 juin, la modalité RAIS est significativement différente (plus basse) de TEM et SYS HEBD, sans effet bloc.

Au 20 juillet, seules SYS HEBD et RAIS sont significativement différentes.



Parcelle expérimentale fin juin

Au 17 août, les écarts sont resserrés sur les moyennes et les écarts-types plus forts, ce qui ne permet plus de départager les modalités avec les statistiques.

Il ressort de ces mesures un impact réel mais a priori limité des fréquences de tonte sur cet indicateur représentatif de la nutrition azotée. L'analyse de l'azote assimilable dans les baies au moment de la récolte nous permettra d'avoir un élément complémentaire de quantification de ce phénomène.

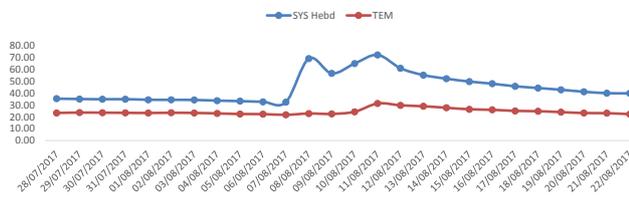


Figure 6 : Statut hydrique dans le sol

### Statut hydrique dans le sol et température

La présence d'un couvert herbacé en surface peut jouer à la fois sur l'humidité du sol et sur sa température dans les 20 premiers centimètres. Ces deux paramètres jouent à la fois sur la minéralisation de la matière organique et sur la dynamique d'assimilation de l'eau et des éléments minéraux.

Nous avons utilisé des sondes SINAFIS qui mesurent ces deux paramètres à la profondeur d'enfouissement, pour deux des modalités : TEM et SYS HEBD. Ayant été livrées tardivement, les données ne sont disponibles que pour la fin de la saison, mais elles révèlent des éléments intéressants (figure 6).

Ainsi, il apparaît nettement que lors d'un épisode orageux (8 – 9 août), l'humectation est beaucoup plus rapide et importante sur la modalité SYS HEBD que sur la modalité TEM.

En observant les températures moyennes dans le sol pour ces deux modalités, ainsi que les amplitudes thermiques journalières (figures 7 et 8), on remarque que :

- La présence d'un couvert plus développé (TEM) induit un écart négatif de température moyenne supérieur à

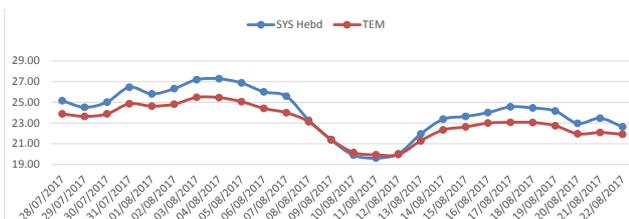


Figure 7 : Température moyenne dans le sol

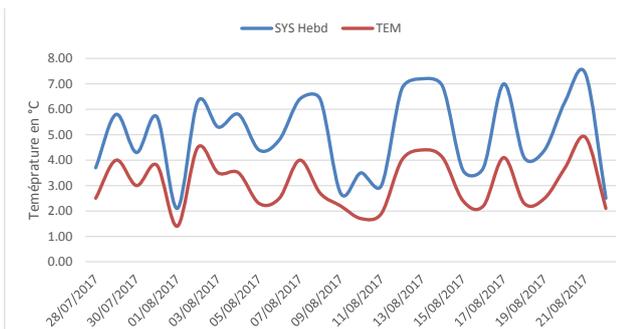


Figure 8 : Amplitude thermique dans le sol

1,5°C, sauf en cas d'abaissement prononcé de la température.

- Un couvert plus ras fait subir au sol une amplitude thermique journalière plus forte de 60 % en moyenne pour la période considérée.

C'est une bonne illustration de la modulation de l'effet « tampon » des couverts plus ou moins développés.

### Récolte et composition des baies

Le gel de printemps a engendré une irrégularité de la production qui ne permet pas de comparer les modalités sur le critère du rendement. En revanche, lors de la récolte, nous avons pu réaliser des prélèvements qui montrent quelques différences dans la composition des baies attribuables à l'intensité de tonte. En particulier, le poids des baies et l'azote assimilable sont nettement supérieurs sur les modalités HEBD et MENS (figure 9). En revanche, il semble ne pas y avoir d'impact sur le degré et l'acidité.

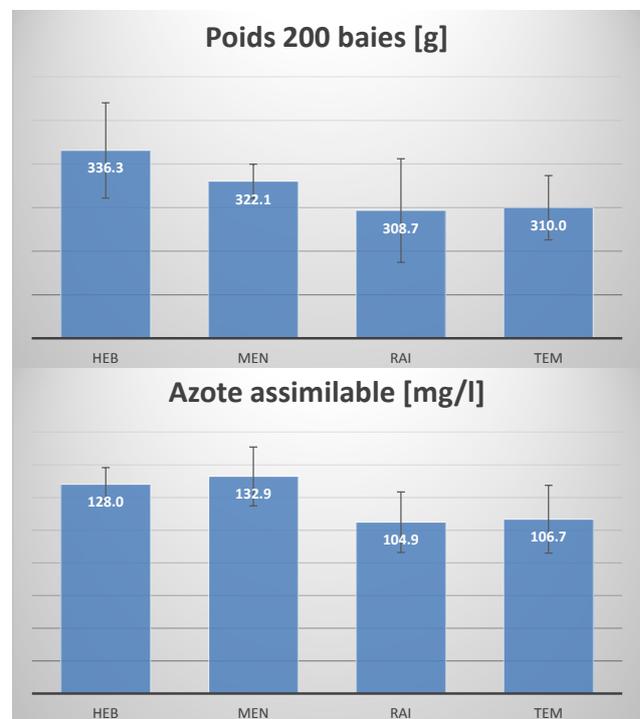


Figure 9 : Composition des baies

### Conclusions et perspectives

Nos résultats suggèrent un impact réel de la hauteur et de la fréquence de tonte sur des paramètres importants comme l'alimentation hydrique et azotés, qui peuvent avoir un impact en année n+1 sur la fertilité des souches et donc peuvent jouer concrètement sur le niveau de production à long terme de systèmes enherbés en totalité. La fréquence de tonte permise par la robotisation de l'opération permettrait en outre de modifier la flore présente. Deux saisons de test supplémentaires permettraient de valider ces hypothèses. La mise en œuvre à grande échelle de cette technique, si elle s'avère performante pour certains vignobles, reste conditionnée par la disponibilité réelle et la performance de robots de tonte, que ceux-ci soient de petite taille comme vitrover, ou plus gros, comme celui proposé par Naïo technologies.

# egretier

UNE TRADITION DE QUALITE



## Le porte inter- cep Mini-Sillon

Le porte inter-cep "**Mini-Sillon**" a la particularité unique en son genre (brevetée), de faire pivoter son outil sur lui-même au moment d'éviter les plants.

L'effort qu'il demande au pare-cep est si faible, qu'il n'a pas besoin de l'assistance hydraulique, laquelle n'est utilisée que pour le dispositif de sécurité, et le repli en bout de rangée.

**La qualité du travail qu'il réalise, est incomparable.** Il ne laisse qu'un mini-sillon rectiligne, qui est apprécié pour les plantations semi enherbées et rend plus facile la conduite du tracteur pour les traitements phytosanitaires.

Avec les nouveaux dispositifs : Le **recentrage** automatique et le **déclenchement de sécurité** à ré-enclenchement automatique, le tractoriste peut utiliser une vitesse de travail trois fois plus élevée et se consacrer uniquement à la conduite de son tracteur, car il n'a plus à surveiller la position et le travail des outils.

Nouveau !



**egretier** C'est aussi une gamme de matériel de vinification tout aussi perfectionnée et innovante : le **Pressoir** à double plateaux concentriques, auto filtrant et sans rebêchage, l'**Egre noir** à peignes trieurs, qui détache les grains en apesanteur sans en écraser un seul, de même que le **Pig eur Intégral** et la **Pompe volumétrique**.

# Mieux réfléchir sa fertilisation en vignoble IGP. Quelles nouvelles technologies pour nous y aider ?

THIERRY DUFOURCQ<sup>1</sup>, FRÉDÉRIC LOPEZ<sup>1</sup>, BRIGITTE MILLE<sup>2</sup>, LAURE GONTIER<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Institut Français de la Vigne et du Vin, Pôle Sud-ouest, Château de Mons, 32100 Caussens

<sup>2</sup> Institut Français de la Vigne et du Vin, Pôle Sud-Ouest, 81310 Lisle sur Tarn, France.

Email : [thierry.dufourcq@vignevin.com](mailto:thierry.dufourcq@vignevin.com)

## Introduction

Le producteur en vignoble IGP a la nécessité de répondre à un triple objectif : produire un niveau qualitatif de vin qui correspond au style qu'il a défini et auquel le consommateur est habitué ; assurer un volume de production de raisins à l'hectare suffisant, entre 10 et 15 tonnes, pour permettre sa rémunération et la durabilité de l'exploitation ; maîtriser ses pratiques pour réduire l'impact environnemental de la viti-viniculture au niveau de l'utilisation des intrants ou des émissions de polluants.

La vigne est une culture dont les besoins sont faibles. Pour optimiser sa nutrition, il est impératif de connaître les propriétés de son sol, l'état organique et calcique, le pH. Ce sont les principaux facteurs qui interviennent pour l'assimilation par la plante des éléments disponibles dans le sol. Les éléments minéraux fertilisants de la vigne ont fait l'objet de nombreuses études et des points clés sont aujourd'hui reconnus. Bien que jouant un rôle important dans le développement de la vigne, les carences en phosphore observées sont très rares. Des essais conduits en Champagne, sur sol carencé en phosphore, comparant des doses d'apport n'ont pas mis en évidence de différences d'effets sur le végétal et les raisins (Garcia, Duron *et al.* 2014). L'apport de cet élément ne se justifie aujourd'hui qu'en situation de déficit avéré après analyses (sol et pétiole). Le pilotage du potassium et du magnésium doit se faire de manière associée en prenant en compte le couple cépage/porte-greffe et les exportations (Crespy 2010). Pour l'azote, les besoins se situent entre 20 et 70 unités par hectare et par an (Delas 2010). Une combinaison d'indicateurs, mesurés sur différents organes de la vigne (bois, pétiole, raisin) renseigne de l'état azoté du système et permet de raisonner les apports (Van Leeuwen et Friant 2011). Les oligo-éléments sont des éléments minéraux nécessaires à la vie de la plante, mais en quantité très faible. Le manque ou l'excès d'un élément peut être à l'origine d'accidents physiologiques, respectivement carence ou toxicité. Toutefois ces problèmes sont rares. Les carences en Bore, Manganèse et Fer peuvent avoir des conséquences sur la coulure ou le millerandage. Tous ces résultats sont synthétisés dans un ensemble de fiches techniques disponibles sur le site de l'IFV.

Le sol n'est pas qu'un support de culture et doit être entretenu pour l'entraîner dans un cercle vertueux de durabilité. C'est un complexe biologique-organique-minéral structuré. Pour le viticulteur, le sol est un outil de production avec des caractéristiques particulières le liant à la notion de terroir. C'est aussi un système vivant, lié à la présence de micro et macroorganismes, qu'il faut maintenir en bon état (Gaviglio et IFV 2013). En ce sens, les pratiques de fertilisation et d'entretien de la couverture du sol ont un impact non négligeable.

Dans ce contexte, nous nous sommes intéressés à la pratique de la fertilisation annuelle d'entretien de la vigne, qui, au niveau du vignoble IGP est un élément clé pour l'atteinte de ses objectifs de production. Pendant 3 années, nous avons cherché à comparer les effets d'une fertilisation minérale basique à base d'azote et de potassium, avec une stratégie d'apport à dose plus faible uniquement en pulvérisation foliaire et un témoin non fertilisé. Nous y avons ajouté une contrainte d'entretien du sol sans herbicides, à base d'enherbement du cavillon et d'une partie de l'inter-rang. Nous avons introduit pour la troisième campagne, une couverture hivernale à base de féveroles dans un inter-rang sur deux.

## Matériels et méthodes

La parcelle d'essai est située sur le domaine de Mons (Chambre d'Agriculture de Gers) à Caussens (32). Le sol est argilo-calcaire et possède un niveau de matière organique voisin de 3%. Elle est entretenue sans herbicides depuis 2010, avec un enherbement permanent sous le rang à base de féтуque ovine, un inter-rang travaillé en surface et l'autre enherbé et tondu. Elle produit un vin blanc de cépage Colombard en IGP Côtes de Gascogne avec un objectif de production de 15 tonnes par hectare.

L'essai est construit en bande de deux rangs adjacents de 100 souches par modalité d'étude divisés en 4 répétitions de 50 souches. Il a été suivi pendant trois millésimes, de 2015 à 2017. Trois stratégies de nutrition sont comparées (tableau 1) : le témoin sans apport (**TEM**), une stratégie traditionnelle d'apports de fertilisants minéraux au sol en une fois au printemps (**SOL**) et une stratégie alternative d'apports de fertilisants minéraux en foliaire au cours du cycle (**FOL**). A l'automne 2016, des féveroles ont été semées dans

Tableau 1 : Quantité, positionnement et nature des fertilisants utilisés sur le dispositif expérimental ; 3 millésimes 2015-2017 ; cépage Colombar

Stratégie apport au sol	Stratégie foliaire
N 50kg/ha K 50kg/ha Application en 1 fois Stade : BBCH13-15	N 25kg/ha- P 2kg/ha- K 10kg/ha + oligo-éléments Application en 6 passages Stades : BBCH 57-69-75-77-79-83
N : Ammonitrate (33%), 150 kg/ha/an K : chlorure de potassium (61%) 80 kg/ha/an	N : Yara – SAFE N 300 (80L/ha/an) P et oligo : Yara - VITITREL (9L/ha/an) K : Yara – KALIBRIX (25L/ha/an)
Coût produit /ha : environ 125€/ha	Coût produit /ha : environ 500€/ha

l'ensemble des inter-rangs travaillés, elles ont été broyées au printemps 2017.

Cet engrais vert a pour objectif d'entretenir le sol, de capter l'azote disponible au cours de l'hiver pour le restituer pour le prochain cycle. Il a servi d'engrais de soutien pour la modalité témoin.

Différentes mesures sur la plante ont permis de suivre son état physiologique. L'état nutritionnel général est suivi par analyses pétiolaires à nouaison et véraison. L'état hydrique a été contrôlé par discrimination isotopique de carbone ( $\delta^{13}C$ ). L'état azoté de la feuille est observé à l'aide du capteur optique Dualex® ForceA à nouaison et véraison. Le rendement a été calculé par pesée de la récolte et détermination du nombre de grappes par souche. Au préalable, 200 baies par répétitions ont été prélevées et analysées au V'Innopol Sud-ouest pour déterminer la composition des raisins (sucres, acidités, azotes, potassium et polyphénols). Le poids des bois de taille a été estimé après comptage du nombre de rameaux par souche et pesée d'un échantillon de rameaux.

Les vins ont été réalisés sur les 3 millésimes pour en apprécier la composition et les qualités organoleptiques (arômes et structures).

## Résultats

Le sol de la parcelle est riche en matière organique (3%) pour un sol viticole. Le pourcentage d'argile est de 37% avec un pH alcalin. La réserve en eau de ce sol est importante. Aucune déficience en éléments nutritifs (N, P, K, Mg) n'est observée à l'analyse de sol réalisée en 2014. La vie biologique est intense (>2 tonnes de lombrics/ha). La parcelle est conduite en production raisonnée sans herbicides. Au cours des 3 années de suivi de l'analyse des pétioles à nouaison et à véraison, des écarts sont visibles sur le contenu en magnésium mais pas en potassium (figure 1). Les apports en foliaire d'oligo-éléments entraînent une augmentation significative en bore des pétioles au cours des 3 années du cycle et aux 2 stades phénologiques. L'indice d'état azoté du feuillage mesuré par le capteur Dualex®

montre des différences significatives en fonction des stratégies de fertilisation. L'indice d'état azoté (NBI) est un indicateur qui prend en compte à la fois la présence de la chlorophylle des feuilles (indicateur de métabolisme primaire ou de croissance) mais également de flavonols (indicateur de métabolisme secondaire ou de stress). L'apport au sol (SOL) se différencie des 2 autres stratégies avec un NBI significativement plus élevé. Le témoin non fertilisé (TEM) est plus

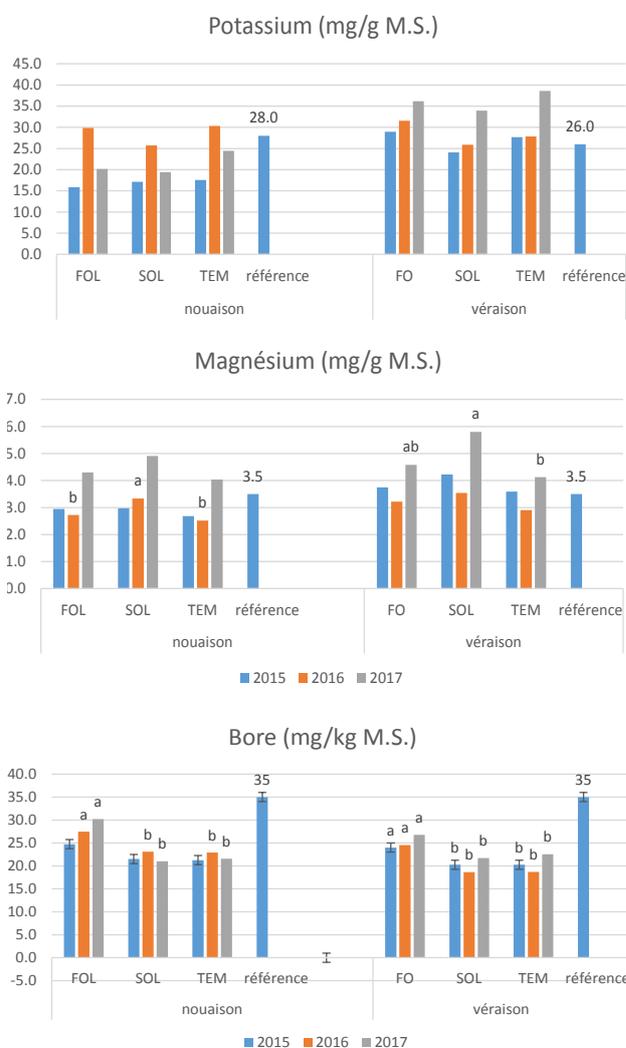


Figure 1 : analyses des pétioles en mg/g de matière sèche à nouaison et véraison ; FOL : fertilisation foliaire, SOL : fertilisation au sol, TEM : témoin non fertilisé ; millésimes 2015 à 2017 ; cépage Colombar ; lettre (a, b, c) indique des groupes homogènes à 5%.

faible alors que le feuillage de la stratégie foliaire présente un NBI intermédiaire (figure 2). La fertilité des rameaux n'a pas été significativement impactée par les différentes stratégies (figure 3).

On peut préciser qu'en deuxième année (2016) le témoin était en tendance (p value = 6%) moins fertile que les deux autres. En 2017, un effet cumulatif potentiel a été lissé par les 2 épisodes de froid des 20-21 avril et 27-28 avril. Bien que non gélif sur la station de Caussens, ils ont eu un impact négatif sur l'ensemble de la parcelle qui s'est traduit par une diminution notable du nombre de grappes par rameau alors que le nombre de rameaux par pied est resté constant. Ce facteur a dominé certainement l'effet potentiel des va-

## NBI : indice d'état azoté

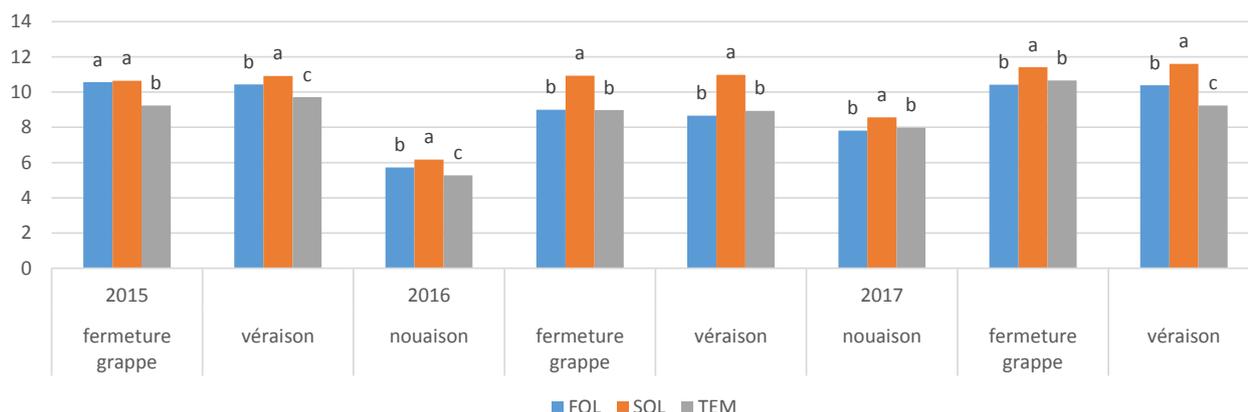
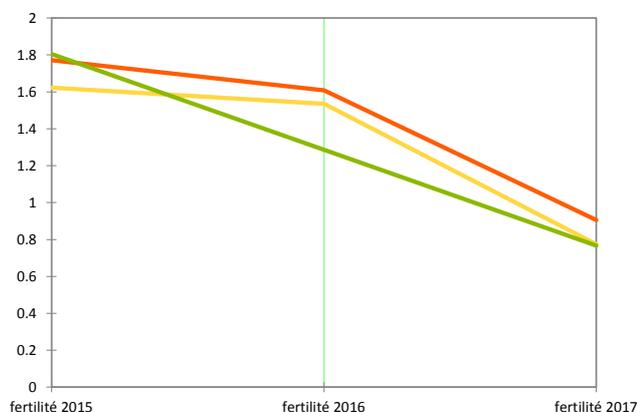


Figure 2 : NBI (Nitrogen Balance Index = indice d'état azoté) sur feuilles mesuré avec le capteur Dualex®; FOL : fertilisation foliaire, SOL : fertilisation au sol, TEM : témoin non fertilisé ; millésimes 2015 à 2017 ; cépage Colombard ; lettre (a, b, c) indique des groupes homogènes à 5%.

riations de fertilisation. L'indicateur de biomasse qui prend en compte la matière sèche produite par la vigne n'est pas différent sur trois ans en fonction des stratégies (figure 3). On observe une compensation en 2017 avec plus de bois produits alors qu'il y a moins de grappes. L'absence de fertilisation du témoin (TEM) entraîne une diminution significative de l'azote du moût dès la deuxième année (figure 4), qui se poursuit en troisième année malgré l'enfouissement du couvert hivernal à base de féveroles. La stratégie foliaire (FOL) entraîne un niveau d'azote du moût équivalent à l'apport au

sol (SOL) bien que la quantité d'azote utilisée soit deux fois moins importantes. Le fractionnement et les apports tardifs (environ 45% de la dose) permettent de redistribuer l'azote vers les raisins de manière optimisée. Enfin, en bout de chaîne de production, on observe dans les vins une nette augmentation de la concentration en thiols variétaux (3MH et A3MH) avec la stratégie foliaire par rapport à la fois à la fertilisation au sol (2 années sur 3) et surtout par rapport au témoin (3/3) qui présente des niveaux faibles pour le standard Gascogne (figure 4).

### Synthèse (Moyennes estimées) - modalité



### Variables dépendantes

#### Biomasse : bois + raisins

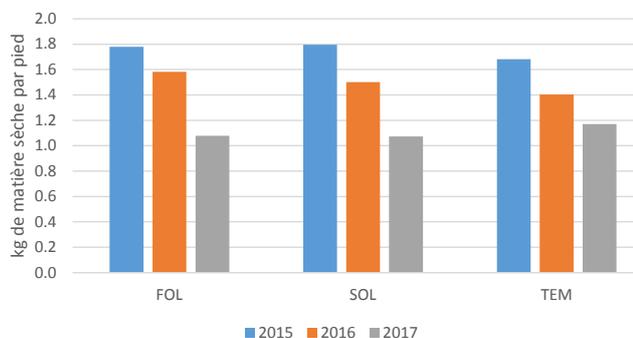


Figure 3 : évolution de la fertilité du rameau et de la biomasse produite par la vigne en fonction de la stratégie de fertilisation ; FOL : fertilisation foliaire, SOL : fertilisation au sol, TEM : témoin non fertilisé ; millésimes 2015 à 2017 ; cépage Colombard ; Différences non significatives entre les stratégies.

### Bilan après 3 années

Les essais mis en place pour étudier la fertilisation nécessitent généralement plusieurs années pour pouvoir montrer des effets. Dans notre cas, sur une parcelle avec un sol riche et profond au bout de 3 ans de suivis nous avons pu observer que :

- L'état nutritionnel de la vigne n'est pas fondamentalement modifié par les différentes stratégies d'apport. L'analyse des pétioles à nouaison et véraison montrent peu d'écarts significatifs sur les différents éléments dosés. Le sol riche fournit les éléments, la vigne est vigoureuse et productive sans différence de production de biomasse. Les indicateurs d'état nutritionnel du témoin sont cependant inférieurs aux deux autres et on a observé une tendance à la baisse de fertilité du témoin en deuxième année.
- Le statut azoté est plus faible pour le témoin que ce soit le feuillage ou l'azote du moût. La stratégie foliaire qui utilise deux fois moins d'azote que l'apport au sol présente un état azoté du feuillage plus faible mais un niveau d'azote du moût équivalent.
- Le potentiel en thiols variétaux du vin est impacté par les stratégies fertilisantes. Le témoin a un niveau nettement plus faible pour les 3 années. La stratégie foliaire et ses apports tardifs ont entraîné le maintien sur les 2 premières années de la concentration en thiols des vins au-dessus de la valeur seuil de 12nmol/l alors que les deux autres ont décroché.

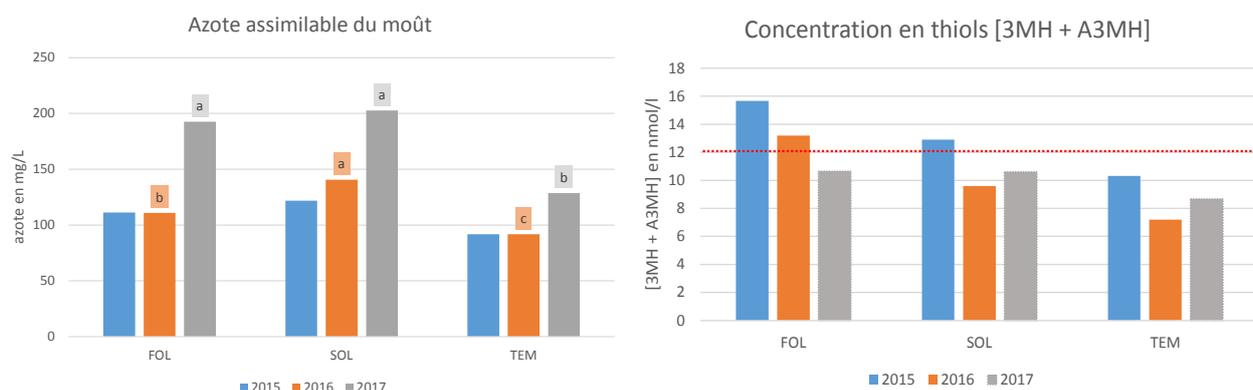


Figure 4 : Compositions en azote assimilable des moûts à la récolte et des thiols dans les vins finis en fonction de la stratégie de fertilisation ; FOL : fertilisation foliaire, SOL : fertilisation au sol, TEM : témoin non fertilisé ; millésimes 2015 à 2017 ; cépage Colombard ; lettres (a, b, c) indiquent des groupes homogènes à 5%. Pas de test statistique sur les vins.

Ces résultats s'appliquent à un système viticole conduit sur un sol fertile et entretenu, avec une réserve en eau importante. Ainsi, parmi les trois stratégies de fertilisation sur cette parcelle, les apports foliaires, avec une réduction importante d'intrants, ont présenté le plus d'efficacité pour contribuer à la fois à la nutrition de la vigne et au potentiel du vin. Le coût des matières est plus élevé que celui des engrais basiques et il paraît possible d'optimiser encore les doses, notamment par l'utilisation d'engrais vert en période hivernale.

Cependant, on se retrouve dans une configuration où les pratiques les plus efficaces, qui permettent la diminution d'intrants, sont aussi celles qui coûtent le plus cher au vigneron. Une réalité économique qui peut être gommée par le niveau optimal de rendement de la parcelle et la valorisation commerciale du vin s'il présente un potentiel supérieur.

## Remerciements

Ce travail est financé en partie par le programme régional d'expérimentation de France Agrimer. Il a bénéficié du soutien de la société YARA France et du partenariat avec les équipes du domaine de Mons de la Chambre d'Agriculture du Gers.

## Quelles nouvelles technologies pour nous aider à raisonner la fertilisation ?

Derrière le terme de nouvelles technologies se proposent aujourd'hui différentes possibilités : des capteurs permettent d'enregistrer de nombreux signaux émis par la plante ou le sol, ces signaux sont ensuite transformés par post-traitement en indicateurs de fonctionnement. Des modèles permettent de simuler des comportements en temps réel ou a posteriori (Matese et Di Gennaro 2015).

L'enregistrement des données peut se faire à distance ou à proximité de la source, elles peuvent être acquises en continu ou en séquence, produisent une information directe ou indirecte. On attend de ces technologies un gain de temps ou de déplacement, une augmentation du nombre de mesures pour gagner en précision par rapport à un échantillonnage classique ou une augmentation des surfaces à explorer. On

## Bibliographie

- Crespy, A. (2010). «Fertilisation de la vigne: Conséquences sur la qualité des vins.» *Revue des oenologues* 136: 43-49.
- Delas, J., Ed. (2010). *Fertilisation de la vigne - 2e édition*. Bordeaux, Féret.
- Garcia, O., B. Duron and R. Nouaïm (2014). «Fertilisation phosphatée de la vigne en Champagne: Une économie substantielle au profit de l'environnement (Partie 1).» *Le Vigneron champenois* 135(12): 21-29.
- Gaviglio, C. and IFV, Eds. (2013). *Gestion des sols viticoles*, Ed. France agricole.
- Matese, A. and S. Di Gennaro (2015). «Technology in precision viticulture: A state of the art review.» *Int. J. Wine Res* 7: 69-81.
- Van Leeuwen, C. and P. Friant (2011). Les méthodes d'estimation de l'alimentation azotée de la vigne et des raisins au vignoble : état de l'art. *Journée Technique Régionale IFV sud-ouest, L'azote : un élément clé en viticulture et en oenologie*. Toulouse: 18-23.

peut envisager aussi la possibilité d'avoir une spatialisation de la variabilité à l'échelle intra-parcellaire aussi bien qu'un suivi d'un ensemble de parcelles à l'échelle de l'exploitation ou de la cave coopérative.

Les principaux outils de nouvelles technologies en lien avec la fertilisation ne concernent aujourd'hui que l'état azoté de la vigne. Le lien entre l'efficacité de la nutrition et l'état hydrique de la vigne nécessite d'intégrer les outils en capacité de renseigner sur le statut hydrique de la parcelle.

Les modèles liés à la fertilisation sont aujourd'hui en cours de développement pour les plantes pérennes, avec comme cible principale l'azote.

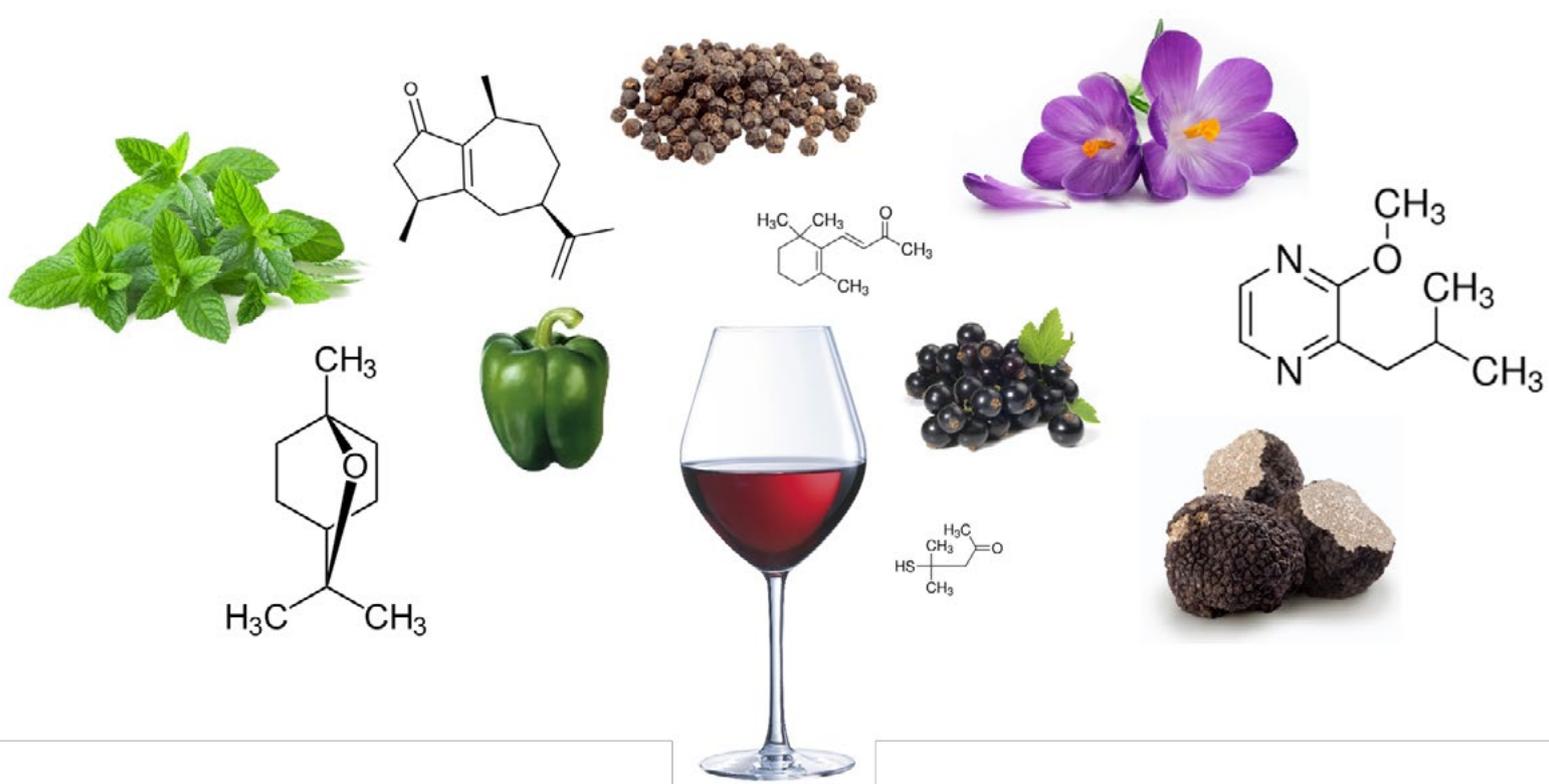
L'observation et l'analyse demeurent encore des outils d'actualité.

Pour faire le lien avec la fertilisation, le tableau ci-contre présente quelques outils disponibles ou en cours de développement.

Capteur vigne	Indicateur	Utilisation	Forces	Faiblesses
<b>NDVI</b>	Indice de végétation : vigueur, densité de feuillage	Distant	Surface couverte importante Echelle exploitation	Dépendant du cépage Prise du dessus de la végétation Post-traitement Calibration/météo
		Proximité	Précision Echelle parcelle	Durée d'acquisition Post-traitement
<b>Physiocap</b>	Biomasse végétative (bois de taille)	Proximité	Précision Echelle parcelle Indicateur direct	Durée d'acquisition Dépendant du syst. De conduite
<b>Dualex / NTester</b>	Etat azoté du feuillage	Proximité/piéton	Indicateur direct	Echantillonnage Durée d'acquisition
<b>Caméra thermique</b>	CWSI (indice de stress hydrique)	Distant	Surface couverte importante Echelle exploitation	Référence en viticulture Calibration/météo
<b>Flux de sève</b>	Etat hydrique	Poste fixe	Indicateur direct Echelle plante/parcelle	Post-traitement Equipement
Modèle	Indicateur	Utilisation	Forces	Faiblesses
<b>Azofert (en cours de développement)</b>	Préconisation des besoins en azote de la vigne	Simulation	Générique	Non disponible Non prise en compte de l'enherbement
<b>Walis</b>	Bilan hydrique sol/vigne	Simulation	Générique Prise en compte enherbement	Non prise en compte de la pente Calibration
Capteur sol	Indicateur	Utilisation	Forces	Faiblesses
<b>Résistivité/conductivité</b>	Etat hydrique hétérogénéité	Proximité	Précision Echelle parcelle	Mesure indirecte
<b>Spectroscopie NIR MIR</b>	Composition du sol (pH, MO, argile)	Distant/proximité	Rapidité de réponse	Mesure indirecte Calibration Peu de références
<b>Sondes (tensiométriques, capacitives)</b>	Eau du sol	Poste fixe	Précision Echelle parcelle	Lien eau du sol et besoin plante

# TROISIÈME PARTIE

## Œnologie : vers plus de précision



# Modéliser pour anticiper le profil sensoriel des vins. Utilisation concrète de l'IRTF pour la production des vins rosés

SYLVIE ROUSSEL<sup>1</sup>, JORDANE LALLEMAND<sup>1</sup>, ERIC SERRANO<sup>2</sup>, THIERRY DUFOURCQ<sup>2</sup>, CAROLE FEILHÈS<sup>2</sup>, FRANÇOIS DAVAUX<sup>2</sup>, JULIE PÉRÉA<sup>3</sup>, MAGDA MULLER<sup>3</sup>, JEAN HEMMI<sup>3</sup>, PASCAL NACENTA<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Ondalys, 4 rue Besse, 34830 Clapiers, sroussel@ondalys.fr

<sup>2</sup> Institut Français de la Vigne et du Vin - V'Innopôle Sud-Ouest, Brames Aigues - BP 22, 81 310 Lisle Sur Tarn, eric.serrano@vignevin.com

<sup>3</sup> Vivalie, Cave de Fronton, Fronton, jean@jhemmi.eu

Email : [eric.serrano@vignevin.com](mailto:eric.serrano@vignevin.com)

Les capteurs optiques sont très largement utilisés pour le contrôle de produits et de procédés dans l'industrie. Notamment, les capteurs spectroscopiques, tels que la spectroscopie proche infrarouge (SPIR) et la spectroscopie moyen infrarouge (IRTF - InfraRouge à Transformée de Fourier), sont très développés pour caractériser la qualité des produits. En effet, ces technologies réalisent des mesures très rapides (quelques secondes), non destructives, voire sans contact. De plus, grâce à une seule mesure, la spectroscopie permet de prédire de nombreux paramètres de la composition chimique d'un produit organique, à condition d'établir des modèles corrélant la mesure (spectre) au paramètre à prédire.

Ainsi, les applications industrielles sont très diverses, comme par exemple la prédiction de la concentration en principe actif d'un comprimé pharmaceutique, l'indice d'octane de l'essence, le degré de polymérisation d'un plastique, le taux de protéines de céréales, le taux de lipides du lait, la teneur en tanins de fûts de chêne, la teneur en sucres d'un moût de raisin ou la teneur en alcool d'un vin.

En effet, la spectroscopie IRTF a été appliquée depuis des années à l'œnologie, en fournissant la composition chimique du moût de raisin (sucre, acide tartrique, etc) et du vin (alcool, sucres résiduels, acide tartrique, etc), ainsi que des paramètres plus complexes tels que les indices sanitaires du moût par exemple.

Ainsi, ce type d'outil rapide a les capacités d'orienter les raisins à la vendange vers un procédé de vinification spécifique, non seulement grâce à leur composition chimique, mais aussi en fonction de leur potentiel aromatique.

Plusieurs études ont été menées sur ce thème, coordonnées par l'IFV, sur divers cépages du Sud-ouest de la France.

- La prédiction du potentiel aromatique du Colombard a été étudié durant quelques années, afin de corrélérer les mesures des moûts de raisin et la qualité sensorielle des vins, afin de prédire le potentiel aromatique des moûts.

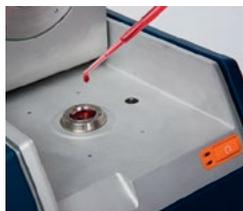
- L'estimation du potentiel aromatique du vin de différents cépages rouges du Sud-ouest à partir de spectres IRTF mesurés sur des raisins lors de contrôles maturité avant vendange. L'objectif était de discriminer les moûts en deux classes sensorielles déterminées par dégustation des vins finis sur plusieurs millésimes : les vins de plus haute qualité aromatique (A) et les vins de plus faible qualité aromatique (B) et ainsi adapter le processus de vinification. Ce projet collaboratif de recherche FUI appelé VINNEO, a été financé par l'état, la région Occitanie, BPI France et le FEDER, et coordonné par les équipes de Vivalie, caves coopératives viticoles du Sud-Ouest.

- Le tri des raisins lors des contrôles maturité avant vendange en fonction de mesures sensorielles effectuées sur ces moûts de raisin, afin de les orienter vers l'itinéraire de vinification le plus adapté, notamment pour produire des vins rosés de Négrette très aromatiques et de qualité constante. L'IRTF a aussi permis de comprendre les leviers de la qualité d'un raisin en vue de la production de vins de haute qualité. Ce projet collaboratif ROSEO a été coordonné par Vivalie – Cave de Fronton, et financé par la Région Occitanie et BPI France.

**FOSS** vous accompagne dans toutes les étapes de vinification

Plus de 40 paramètres disponibles...

OenoFoss



Acides  
organiques

pH

Sucres

Azote

SO<sub>2</sub>

WineScan SO<sub>2</sub>



ANALYTICS BEYOND MEASURE

FOSS France - 35, rue des peupliers - 92000 Nanterre - Tél : 01 46 49 19 19 - Fax : 01 47 60 00 67 - Web : www.foss.fr

L'expertise de l'Institut Français  
de la Vigne et du Vin au service  
de l'innovation des entreprises



SERVICES

Nous accompagnons  
les entreprises  
de la filière viti-vinicole  
dans leurs projets innovants

Identification génétique

Analyses Virus

Santé  
de la vigne

Profil des vins  
et composés d'arômes

# Quelles applications concrètes pour les champs électriques pulsés?

FRANÇOIS DAVAUX<sup>1</sup>, LOÏC ROYANT<sup>2</sup>, JEAN-BAPTISTE LEROY<sup>2</sup>

<sup>1</sup>IFV Sud-Ouest - V'innopôle, BP22, 81310 Lisle sur Tarn

<sup>2</sup>Leroy Biotech - 35 Boulevard du Libre Echange, 31650 Saint-Orens-de-Gameville

Email : francois.davaux@vignevin.com

## Introduction

Depuis quelques années, l'utilisation de Champs Electriques Pulsés (CEP) est expérimentée dans la filière œnologique (Puertolas, 2010 ; Delsart, 2012) avec pour objectif d'améliorer l'extraction des polyphénols lors de la vinification en rouge (Puertolas, 2009 ; Rajha, 2015), et d'assurer la stabilité microbiologique des moûts (Garde-Cerdán, 2008 ; Marsellés-Fontanet, 2009) et des vins (Mattar, 2014).

Jusqu'ici toutes ces expérimentations étaient réalisées en condition de laboratoire (Lopez 2008, Darra, 2012) sur quelques kilogrammes de raisins ou quelques litres de vin tout au plus. Depuis 2015, l'IFV, en collaboration avec la société Toulousaine Leroy-Biotech développe un pilote semi-industriel, permettant le traitement de la vendange par des CEP, avec un débit de 1 à 2 T/h et par la suite permettant la stabilité microbiologique des vins à un débit de 10 hl/h.

La technique des CEP est basée sur l'application d'un champ électrique haute tension (0,3-80 KV/cm) sous forme de courtes impulsions (Raso-Pueyo 2006 ; Putri, 2010) de

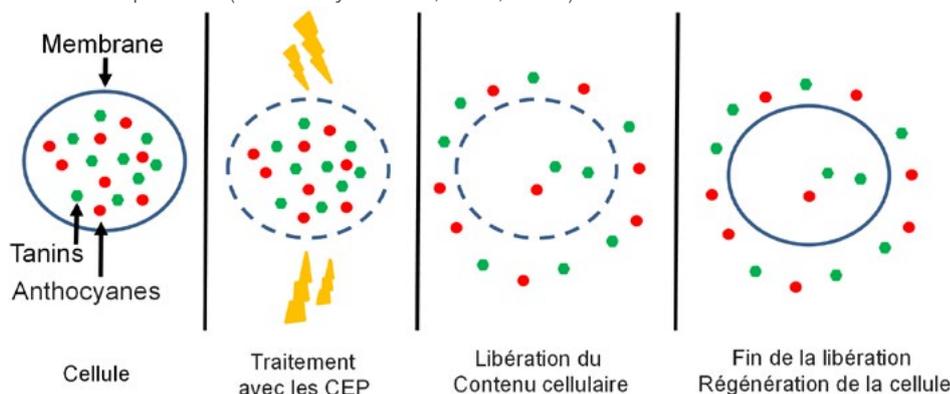


Figure 1 : Principe de l'électroporation

quelques microsecondes ( $\mu$ s), à plusieurs millisecondes (ms) à des fréquences variables (Zhang, 1995), conduisant à la perméabilisation des cellules (Zheng-Ying, 1993 ; Sarathy, 2016) (électroporation) avec un chauffage minimum du produit. La valeur du champ électrique peut s'exprimer comme étant le rapport de la tension appliquée sur la distance inter-électrode, et s'exprime en kilovolts par centimètre (KV/cm). Lorsque les cellules biologiques sont soumises à un champ électrique (figure 1), leur potentiel transmembranaire augmente jusqu'à un seuil critique où les phénomènes de

répulsion entre les molécules chargées de la membrane cellulaire, entraînent la formation de pores (Zimmermann, 1974 ; Zimmermann, 1986), ce qui accroît la perméabilité de la membrane (perméabilisation). En fonction des caractéristiques du champ électrique (tension et durées des impulsions principalement et nombre d'impulsions reçues), la formation des pores peut être réversible, permettant ainsi l'extraction des composés intra cellulaires d'intérêt ou irréversibles conduisant au vidage total du contenu cellulaire, et conduisant ainsi à la mort de la cellule microbienne (stabilité microbiologique).

En fonction de l'objectif d'extraction des polyphénols ou stabilité microbiologique, l'efficacité du traitement dépendra des paramètres de traitement tel que l'intensité du champ électrique, le nombre d'impulsions reçues, la durée des impulsions, le type de polarité des impulsions et la température. Les travaux menés depuis 3 ans par l'IFV Sud-Ouest et Leroy-Biotech se sont focalisés sur la mise au point d'un générateur de Champs Electriques Pulsés pilote (figure 2),

et de chambres de traitement permettant l'extraction des polyphénols de la vendange à un débit compris de 2 à 5 T/h. Début 2018, de nouveaux essais de stabilité microbiologique seront mis en place avec la dernière version du générateur de CEP, et de nouvelles chambres de traitement dédiées spécifiquement aux liquides.

## Extraction des polyphénols

L'ensemble des résultats présenté ci-dessous est réalisé lors de la campagne de vendange 2017 avec la 3<sup>ème</sup> génération du générateur de CEP, et la 2<sup>ème</sup> version des chambres d'électroporation. L'ensemble des essais est réalisé à un débit de 2-2,5 T/h avec des impulsions d'une durée de 2ms sous 400 V/cm. Lors de son passage dans les 3 chambres de traitement, la vendange reçoit 30 impulsions de type bipolaire. Lors du traitement, la vendange subit une petite élévation de température de 15 à 20°C maximum. En 2017,



Figure 2 : Pilote de traitement de la vendange par les CEP à 2-5 T/h

les essais ont été réalisés sur Merlot, Syrah, Fer-Servadou, Côt et Cabernet-Sauvignon.

La majorité des essais de vinification est réalisée en phase liquide, avec une phase de macération de 17 à 22h à température de sortie des chambres de traitement CEP. Les modalités traitées aux CEP sont comparées à une vinification dont la vendange a été thermotraitée. Quelques essais de vinification sur Côt et Cabernet Sauvignon sont réalisés en vinifications traditionnelles avec des durées de macération de 4 jours et 14 jours.

Pour obtenir une bonne efficacité, le traitement de la vendange par des CEP nécessite 80 kJ/Kg de raisins, à comparer aux 200 à 300 kJ/Kg de raisin pour la thermovinification. Les besoins énergétiques des CEP pour l'extraction polyphénolique sont comparés à la thermovinification classique dans le tableau ci-dessous.

	CEP	Thermo Traitement
Chauffage	22 KWh/T	70 KWh/T
Refroidissement	5 KWh/T	20 KWh/T

Figure 3 : Comparaison des niveaux d'énergie mis en œuvre pour le traitement d'une tonne de vendange par des CEP et par la Thermo-vinification

En vinification phase liquide, le traitement de la vendange par des CEP conduit à une augmentation de l'intensité colorante des vins de 20 à 30% (figure 4). Cette plus ou moins grande efficacité du traitement CEP dépend du cépage, du niveau de maturité et de la durée de macération post traitement. Vinifiés en phase liquide, les CEP ont un effet plus limité (7 à 17%) sur l'extraction des tanins (IPT), du fait que la phase de macération se déroule en milieu « non alcoolique ». En phase liquide, le traitement de la vendange avec des CEP ne permet pas encore d'obtenir un niveau d'extraction aussi élevé qu'un vin issu de Thermo-vinification. Sur les différents paramètres mesurés permettant de quantifier la composition polyphénolique et colorimétrique du vin, les CEP conduisent

à un niveau d'extraction d'environ 30% inférieure aux résultats obtenus par thermovinification.

Les raisins traités par des CEP et vinifiés en phase liquide ont un profil aromatique différent des thermo-vinifications.

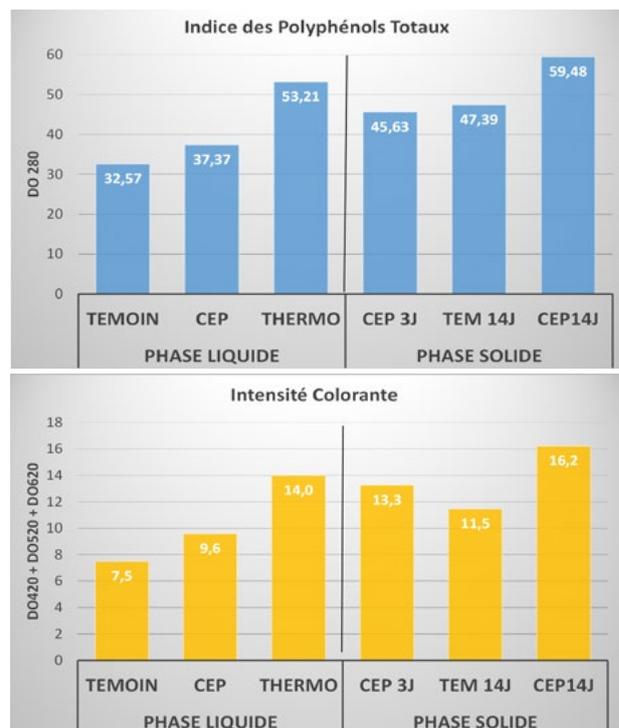


Figure 4 : Influence du traitement de la vendange de Cabernet-Sauvignon par des CEP et de la technique de vinification sur l'Indice des polyphénols Totaux et la couleur des vins

L'absence de chauffage élevé (20°C maximum) lors du traitement de la vendange aux CEP semble plutôt renforcer la typicité aromatique des cépages et ne développe pas les arômes typiques caractéristiques de la thermo-vinification. Ces premiers résultats de vinification traditionnelle montrent qu'une fermentation de 3 jours en phase solide, avec une fin de fermentation en phase liquide permet d'obtenir un vin avec une intensité colorante comparable à la thermovinification. L'intensité colorante obtenue après 3 jours de macération sur une vendange traitée aux CEP est supérieure

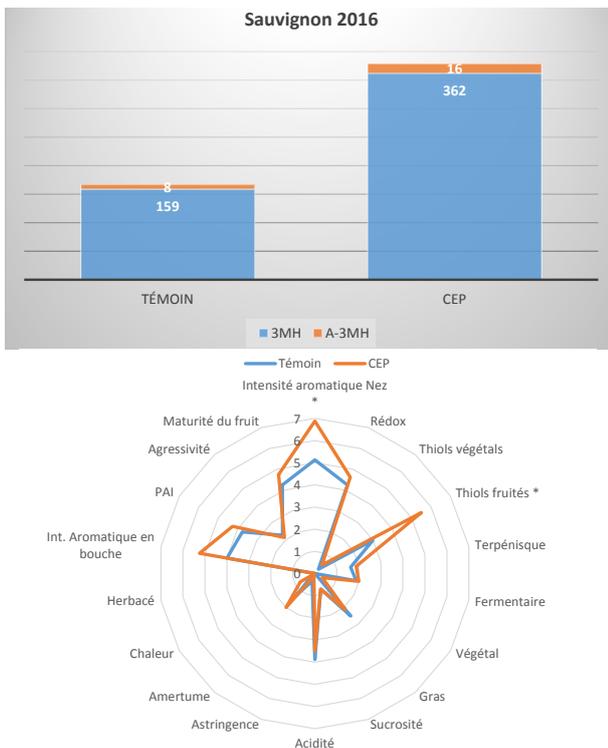


Figure 5 : Influence du traitement de la vendange de Sauvignon par des CEP sur la composante aromatique de type « thiol » des vins

de 16% au Témoin avec une durée de cuvaison de 14 jours. L'extraction des tanins mesurés par l'IPT est inférieure de seulement 3,7% pour la modalité CEP avec 3 jours de macération par rapport au Témoin avec 14 jours de cuvaison. Le gain en IPT est supérieur de 30% entre le CEP 3 jours et 14 jours de macération (figure 4).

La mise en œuvre des CEP sur de la vendange de raisins blancs a également été testée. Cet essai est mis en œuvre sur du Sauvignon Blanc. Après une phase de macération de 2h les raisins ont été pressés et vinifiés de façon classique. Sur vin fini, l'analyse des thiols montre une augmentation de +126% pour le lot traité aux CEP, résultat confirmé par l'analyse organoleptique, avec une « intensité aromatique » et une note de « thiols fruités » significativement plus élevée sur la modalité traitée aux CEP (figure 5). Ce gain aromatique s'accompagne cependant d'une forte augmentation de l'extraction des polyphénols de 30%, qui entraîne une plus grande amertume. Des études complémentaires sont en cours pour limiter l'effet de l'augmentation des polyphénols.

### Stabilité microbienne

Des essais préliminaires de stabilisation microbienne des vins par des Champs Electriques Pulsés ont été réalisés durant la campagne 2015/2016. Ces essais portaient sur *Saccharomyces Cerevisiae* pour un traitement permettant un arrêt de fermentation alcoolique sur un vin doux sans utiliser de sulfite, sur vin contaminé par des *Brettanomyces*, ainsi que sur des bactéries lactiques et acétiques. Ces essais ont été conduits avec la première version du générateur de CEP et des chambres de traitement pour liquide.

une énergie beaucoup plus importante que pour l'extraction des polyphénols du raisin. Les essais sont réalisés avec des impulsions bipolaires de 100µS et 900µS à une fréquence de 20 Hz avec une tension de 5,5 KV/cm. L'ensemble de ces essais préliminaires est réalisé à un débit de 60 l/h. L'objectif était uniquement une étude de faisabilité et non de traitement des vins à une échelle semi industrielle.

L'objectif de cet essai, est de vérifier la capacité des CEP à détruire les levures sur un moût en pleine activité, afin de réaliser un arrêt de fermentation alcoolique sans ajout de sulfites, dans le cadre de l'élaboration de vins doux. Après traitement, les moûts sont maintenus à 20°C afin de montrer la vitesse de recolonisation des levures dans le milieu. Ces premiers résultats montrent qu'il est nécessaire d'appliquer une énergie minimum de 94 kJ/l pour obtenir une baisse de la population levurienne de -1,5 Log, et un arrêt de la fermentation alcoolique durant 48h (figure 6). Pour obtenir une destruction de la population levurienne plus importante (-3,3 Log), qui permette un réel arrêt de la fermentation alcoolique, il faut appliquer une énergie de 184 kJ/l. L'application d'une énergie supérieure (262 kJ/l) ne semble pas entraîner un gain d'efficacité du traitement. Il semble que l'effet des CEP ne soit pas qu'instantané, mais qu'un certain nombre de levures meurent dans les 48h suivant le traitement (-0,5 à -0,7 Log).

Le traitement du vin par des CEP pour éliminer les *Brettanomyces* donne des résultats comparables à ceux obtenu pour détruire les *Saccharomyces* (figure 7). A efficacité équivalente, les énergies mises en œuvre sont comparables. Il faut 94 kJ/l pour faire baisser la population de 1,43 Log et 262 kJ/l pour obtenir un abaissement de 3,38 Log. L'efficacité de destruction est bonne mais pas encore suffisante, car

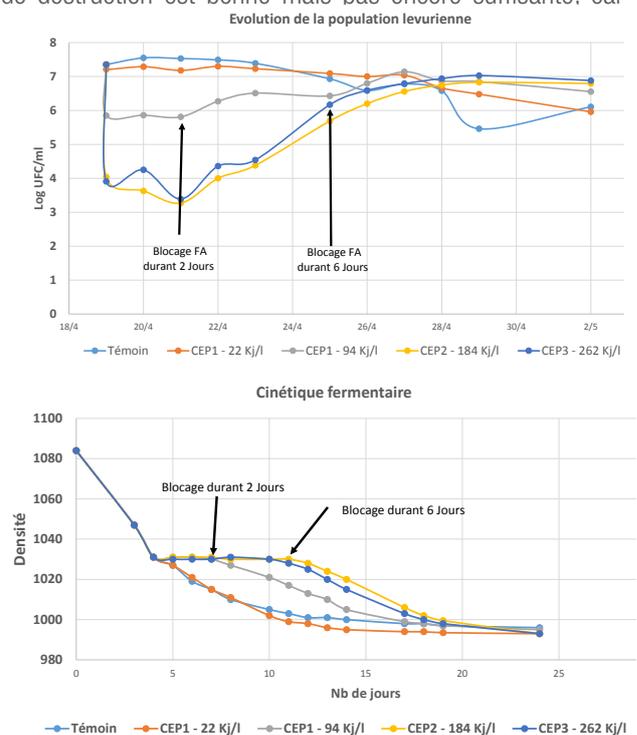


Figure 6 : Influence du traitement d'un moût de Sauvignon Blanc par des CEP sur la cinétique fermentaire

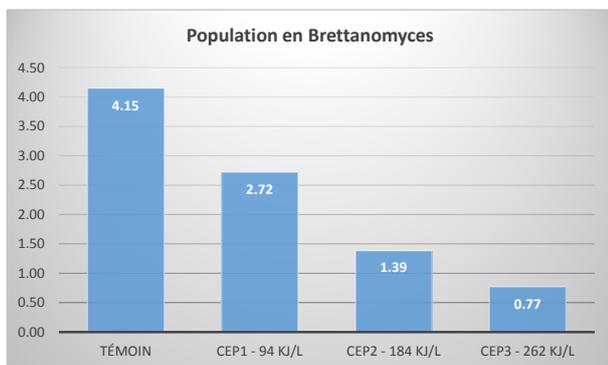


Figure 7 : Influence du traitement d'un vin de Syrah par des CEP sur la destruction des Brettanomyces

l'objectif est une destruction totale des Brettanomyces afin d'éviter toute remultiplication ultérieure des quelques Brettanomyces qui n'auraient pas été atteints par le traitement. Des solutions techniques sont en cours d'élaboration afin d'améliorer l'efficacité du traitement.

Dans nos conditions expérimentales, la destruction des bactéries lactiques et acétiques semble plus difficile que pour les levures (figure 8). Pour les bactéries lactiques, une énergie de 262 kJ/l ne permet d'obtenir qu'une diminution de la population en bactéries lactiques de -0,72 Log, et de -2,52 Log pour les bactéries acétiques.

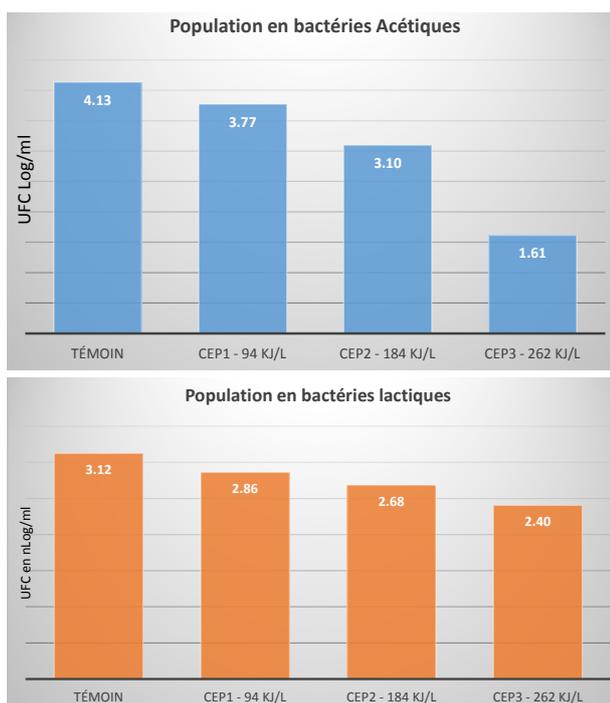


Figure 8 : Influence du traitement d'un vin de Syrah par des CEP sur la destruction des bactéries lactiques et acétiques

## Conclusions

Ces premiers résultats d'extraction des polyphénols des raisins par des CEP en conditions semi industrielles (2 T/h) sont prometteurs. En vinification phase liquide, les niveaux d'intensité colorante obtenus sont 20 à 30% plus élevés que les Témoins, mais restent inférieurs à la thermovinification. Le gain d'extraction en tanins (IPT) est plus limité (7 à 17%) à cause de la phase de macération en milieu « non alcoolique

». L'absence de chauffage de la vendange semble renforcer la typicité aromatique variétale du cépage et ne développe pas les arômes caractéristiques de la thermovinification.

Vinifié en phase solide, le traitement de la vendange par des CEP permet d'obtenir après 3 jours de macération une intensité colorante comparable à la thermovinification, avec une extraction de tanins fortement améliorée par rapport à une vinification phase liquide.

Des essais préliminaires de traitement d'une vendange blanche de Sauvignon par les CEP montrent un gain significatif de la teneur en thiols des vins obtenus, qui est corrélé avec les résultats de l'analyse organoleptique. Cependant, ce gain en thiols conduit également à une plus forte extraction de polyphénols qui renforce l'amertume et la dureté du vin. Des études sont actuellement en cours afin de limiter ces extractions de polyphénols.

Les premiers résultats de stabilisation microbienne des vins par des CEP, montrent une bonne efficacité du traitement sur les levures (Saccharomyces et Brettanomyces). Le traitement des bactéries Lactique et Acétique par les CEP semble plus difficile à obtenir. Les bactéries étant beaucoup plus petites que les levures, l'énergie nécessaire pour les détruire est par conséquent beaucoup plus élevée. Des essais sont prévus prochainement avec un générateur beaucoup plus puissant et des chambres de traitement optimisées. L'objectif de ces essais est alors d'obtenir la stabilité microbienne des vins à un débit de 5 à 10 hl/h.

## Remerciements

Ce travail a été réalisé grâce au soutien financier de la région Midi-Pyrénées dans le cadre du programme Easynov 2015-2017.

## Bibliographie

- Darra N.E., Ducasse M-A., Turk M. F., Grimi N., Maroun R. G., Louka N., Guérin-Schneider R., Vorobiev E. 2012. Pulsed electric field, enzymatic and thermovinified pretreatments for enhancing the phenolic extraction during red fermentation, Macrowine, Bordeaux.
- Delsart C. 2012. Champs électriques pulsés et décharges électriques de haute tension pour l'extraction et la stabilisation en oenologie. Thèse de doctorat de l'université de Bordeaux.
- Garde-Cerdán T., Marsellés-Fontanet A.R., Arias-Gil M., Ancín-Azpilicueta C., Martín-Belloso O. 2008. Effect of storage conditions on the volatile composition of wines obtained from must stabilized by PEF during ageing without SO<sub>2</sub>. Innovative Food Science & Emerging Technologies, 9:469-476.
- López N., Puértolas E., Condón S., Álvarez I., Raso J. 2008. Effects of pulsed electric fields on the extraction of phenolic compounds during the fermentation of must of Tempranillo grapes. Innovative Food Science & Emerging Technologies, 9:477-482.
- Mattar J. R., Turk M.F., Nonus M., Lebovka N.I., El Zakhemb H., Vorobiev E. 2015. S. cerevisiae fermentation activity after moderate pulsed electric field pre-treatments. Bioelectrochemistry, 103:92-97.
- Marsellés-Fontanet À.R., Puig A., Olmos P., Mínguez-Sanz S., Martín-Belloso O. 2009. Optimising the inactivation of grape juice spoilage orga-

nisms by pulse electric fields. International Journal of Food Microbiology, 130:159-165.

Puertolas E., López N., Saldaña G., Álvarez I., Raso J. 2010. Evaluation of phenolic extraction during fermentation of red grapes treated by a continuous pulsed electric fields process at pilot-plant scale. Journal of Food Engineering, 98:120-125.

Puertolas E., Saldana G., Condon S., Alvarez I., Raso J. 2009. A comparison of the effect of macerating enzymes and pulsed electric fields technology on phenolic content and color of red wine. Journal of Food Science, 74:C647-52.

Putrit R.I., Syamsiana I.N., Hawa L.C. 2010. Design of High Voltage Pulse Generator for Pasteurization by Pulse Electric Field (PEF). International Journal of Computer and Electrical Engineering, 2:916-923.

Rajha H.N. 2015. Optimisation des méthodes d'extraction des composés phénoliques des raisins libanais et de leurs coproduits, Université Technologique de Compiègne (UTC), Université Sainte Joseph de Beyrouth. pp. 284.

Raso-Pueyo J., Heinz V. 2006. Pulsed Electric Fields Technology for the Food Industry. Fundamentals and Applications Springer.

Sarathy S.R., Sheculski C., Robinson J., Walton J., Soleymani A., Kempkes M.A., Gaudreau M.P.J., Santoro D. 2016. Design, Optimization and Scale-Up of Pulsed Electric Field Technologies for Large Flow Applications in Heterogeneous Matrices, 1st World Congress on Electroporation and Pulsed Electric Fields in Biology, Medicine and Food & Environmental Technologies, IFMBE Proceedings.

Zhang Q., Barbosa-Cánovas G. V., Swanson B. G. 1995. Engineering aspects of pulsed electric field pasteurization Journal of Food Engineering, 25: 261-281.

Zheng-Ying L., Yan W. 1993. Effects of high voltage pulse discharges on micro-organisms dispersed in liquid Eighth International Symposium of High Voltage Eng. Yokohoma, Japan, Aug: 23-27.

Zimmermann U., Pilwat G., Riemann F. 1974. Dielectric breakdown of cell membranes. Biophysical Journal 14: 881-899.

Zimmermann U., Pilwat G., Beckers F., Riemann F. 1976. Effects of external electrical fields on cell membranes. Bioelectrochemistry and Bioenergetics, 3:58-83.

Zimmermann U. 1986. Electrical breakdown, electropermeabilization and electrofusion Review of Physical and Biochemistry Pharmacology. 105: 176-256.

**EN VRAI, QUAND ON  
VIENT DE LA TERRE,  
ON EN COMPREND  
MIEUX LES RÉALITÉS.**

**Groupama, 1<sup>er</sup> réseau\*  
de professionnels  
sur le terrain avec  
plus de 2 000 conseillers  
et experts.**

[groupama-agri.fr](http://groupama-agri.fr)

**L'expertise et la proximité de 10 conseillers agricoles dans le Tarn.**

**N°Cristal 0 969 320 319**  
APPEL NON SURTAXE

 **Groupama**  
la vraie vie s'assure ici

\*Source : Groupama 2015

Groupama d'0c - Caisse Régionale d'Assurances Mutuelles Agricoles d'0c - Siège social : 14 rue de Vidailhan, CS 9305, 31131 BALMA Cedex - 391 851 557 R.C.S. TOULOUSE - Entreprise régie par le code des assurances et soumise à l'Autorité de Contrôle Prudentiel et de Résolution (ACPR), 61 Rue Talbott, 75436 Paris cedex 09. Document et visuels non contractuels - Crédit photo : Aurelien Chauvaud - Création : Agence Marcel



*du mythe à la réalité*

## UNE RÉVOLUTION ŒNOLOGIQUE POUR LA STABILISATION TARTRIQUE DES VINS ROUGES

Qualités organoleptiques  
préservées

Stabilité tartrique  
longue durée

Impact environnemental  
réduit

Réduction  
des coûts

Produit liquide pour une  
utilisation simplifiée

Stabilisation  
en ligne



écrit un nouveau chapitre de l'histoire  
de la stabilisation des vins rouges.

[www.antartika-martinvialatte.com](http://www.antartika-martinvialatte.com)

# Marqueurs aromatiques : permettent-ils d'orienter les itinéraires d'élaboration des vins?

GRÉGORY PASQUIER, CAROLE FEILHES, SÉGOLÈNE RAIMBAULT, ALICE MAURIÈS, PHILIPPE SACCHARIN, BRIGITTE MILLE, FLORA DIAS, DORIAN CARCENAC

Institut Français de la Vigne et du Vin, Pôle Sud-Ouest, 81310 Lisle sur Tarn, France

Email : [gregory.pasquier@vignevin.com](mailto:gregory.pasquier@vignevin.com)

## Introduction

Les arômes sont le reflet des trois qualités d'un vin réussi : le plaisir qu'il procure spontanément à la dégustation, son goût inimitable qui définit sa typicité et enfin son aptitude au vieillissement lui permettant de développer sa personnalité au cours du temps.

Cette composante aromatique est au cœur d'une des questions majeure de l'œnologie. Elle concerne l'influence de l'homme, du sol et du climat sur le goût du vin. Si ces deux dernières composantes participent à « l'effet terroir » et sont indissociables du lieu où est cultivée la vigne, l'homme, pour sa part, donne sa vision du terroir, son interprétation comme un musicien interprète une œuvre musicale. Il cherche par son savoir-faire viticole et œnologique à élaborer un vin au goût inimitable du lieu dans lequel il est produit.

La recherche l'y aide depuis plus de 50 ans. Elle a donné et donne encore des interprétations moléculaires à des pratiques empiriques, à des odeurs, des saveurs qui participent à la typicité des vins ou au contraire à des phénomènes négatifs qui l'affectent.

L'analyse aromatique a pris une part importante dans ces recherches. Depuis une trentaine d'années, l'analyse des molécules marqueurs de l'arôme des vins s'est considérablement affinée. Quand des concentrations de l'ordre du micro-gramme par litre étaient difficilement quantifiables, il est aujourd'hui possible d'identifier des composés à l'état de trace. Pour le praticien, il peut paraître dénué d'intérêt d'aller toujours plus loin dans la recherche de l'infiniment petit. Et pourtant ! C'est rarement ce qui est visible de tous qui est à l'origine des grandes évolutions.

Un exemple concret qui a vu l'analyse aromatique contribuer à l'amélioration des méthodes d'élaboration des vins concerne les thiols variétaux. La découverte de ces molécules dans les vins de Sauvignon blanc dans les années 90 a démontré leur rôle fondamental dans la typicité de ce cépage. En caractérisant leur structure, en comprenant leurs propriétés physiques, chimiques et en découvrant leurs mécanismes de biosynthèse, les pratiques culturelles et œnologiques ont pu considérablement évoluer et permettent aujourd'hui de valoriser pleinement le potentiel aromatique de ce cépage.

Un exemple parmi tant d'autres où la découverte de marqueurs aromatiques a orienté les itinéraires de production des vins. Depuis une vingtaine d'années, l'IFV Sud-Ouest s'attache également à comprendre ce qui se cache derrière l'arôme typique des vins du Sud-Ouest. Des notes de violette dans la Negrette, au cassis dans le Fer Servadou en passant par le poivre dans le Duras, l'IFV Sud-Ouest a participé à la mise en évidence d'un certain nombre de molécules impliquées dans ces notes caractéristiques. Leur découverte permet aujourd'hui d'optimiser les itinéraires techniques pour valoriser au mieux le profil aromatique de ces cépages.

## Le concerto des arômes du vin

De manière simple, il est possible de comparer l'arôme du vin au concerto d'un orchestre symphonique (Schneider). Cet orchestre se compose à peu de chose près, toujours de la même manière. Chacun des musiciens y a une place précise et ensemble, ils jouent l'œuvre à l'unisson. Il est alors difficile, sans une oreille aguerrie, d'identifier le jeu de l'un d'entre eux. C'est ce que l'on appelle le tampon aromatique dans le cas du vin. Un ensemble de molécules aromatiques qui forme son odeur de base. Prise séparément, chacune des molécules possède une nuance aromatique qui lui est propre mais ensemble, il est impossible d'en identifier une distinctement.

Il y a ensuite le ou les solistes. Ils sont reconnaissables car interprètent seuls une partie unique qui les différencie du reste de l'orchestre. Même lorsque l'orchestre assure le fond sonore de l'œuvre, le soliste à lui seul est identifiable par l'auditeur. Dans le cas du vin, les solistes sont les composés d'impact. Ce sont des molécules aromatiques dont la structure et les propriétés physiques et chimiques les rendent capables, même seules et à très faible concentration, d'impacter bien plus l'odeur du vin que l'ensemble des molécules qui composent le tampon aromatique. Par exemple, la rotundone, molécule à l'odeur de

poivre, étudiée depuis de nombreuses années dans les vins de Duras par l'IFV Sud-Ouest, est considérée comme l'une des molécules les plus impactantes de l'arôme des vins de ce cépage.

Enfin, une œuvre musicale jouée par un orchestre ne serait rien sans la part d'interprétation qu'en fait le chef d'or-

L'IFV Sud-Ouest s'attache à comprendre ce qui se cache derrière l'arôme typique des vins du Sud-Ouest

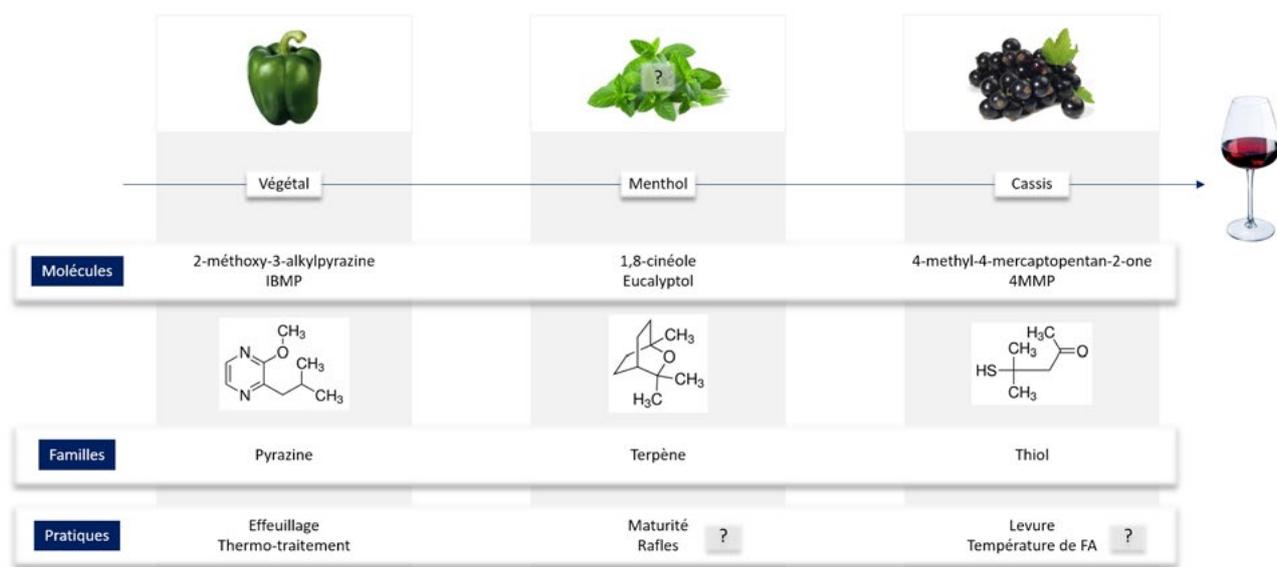


Figure 1 : Nuances aromatiques impliquées dans les vins de Fer Servadou, molécules et familles associées, pratiques culturelles et œnologiques pouvant influencer leur concentration dans les vins.

chestre. Et cela passe notamment par des variations du niveau de l'intensité sonore tout au long du morceau. C'est ce que l'on appelle les nuances qui vont faire passer un phrasé musical *pianissimo*, soit très faible, à *fortissimo*, soit très fort. Certaines molécules présentes dans le vin sont capables de moduler l'intensité des arômes perçus. C'est ce que l'on appelle les exhausteurs d'arômes. L'une de ces molécules peut provoquer à elle seule, l'augmentation de l'intensité aromatique d'une nuance aromatique.

### Fer Servadou : exemple concret où l'arôme conduit la pratique

Le Fer Servadou, appelé également Braucol ou Mançois est l'un des principaux cépages du Sud-Ouest. Il en est même le trait d'union des différents vignobles qui le composent. Il a la particularité de produire des vins dont la palette aromatique s'étend du poivron vert au cassis (Figure 1). Pour apporter des clés techniques aux viticulteurs du Sud-Ouest, l'IFV étudie depuis plusieurs années les arômes de ce cépage. Tour d'horizon des études sur ce sujet.

#### Poivron vert : la 2-méthoxy-3-alkylpyrazine s'estompe avec l'effeuillage et le chauffage

La présence récurrente d'arôme de poivron vert dans les vins de Fer Servadou a conduit l'IFV Sud-Ouest à s'intéresser dans les années 90 à la 2-méthoxy-3-alkylpyrazine (IBMP). Cette molécule, identifiée pour la première fois en 1975 dans des raisins de Cabernet-Sauvignon est le contributeur majeur des arômes végétaux de ce cépage (Bayonove et al, 1975 ; Roujou de Boubée 2000). Son seuil de perception se situe entre 2 et 15 ng/l selon la matrice et elle fait partie des composés d'impact. Cette molécule s'accumule dans les raisins avant la véraison puis diminue continuellement jusqu'à la maturité. Les raisins récoltés trop tôt sont donc plus riches en IBMP que ceux atteignant leur pleine maturité. Sa présence et son impact sur l'arôme des vins de Fer Servadou ont été confirmés dès la fin des années 90. Les essais

qui ont suivi prouvent que cette molécule est absente ou en faible quantité dans les raisins lorsque les millésimes sont chauds et secs (exemple : 2003, 2004 et 2009 – Figure 2). En revanche, les années plus fraîches (2010) et humides, les teneurs en IBMP dans les vins peuvent dépasser 3 à 10 fois son seuil de perception.

Il a bien été démontré que les concentrations en IBMP dans les raisins sont plus importantes quand la vigne favorise sa croissance au détriment de la maturation des raisins. Ce qui est généralement le cas lorsque les millésimes sont frais et humides et que l'alimentation en eau n'est pas limitante. Au contraire, un déficit hydrique tôt dans la saison a l'effet inverse (Mendez-Costabel et al 2014 a et b).

Aux vues du caractère négatif de cette molécule dans les vins de Fer Servadou et connaissant ses propriétés thermo-labiles et photosensibles, l'IFV Sud-Ouest a expérimenté plusieurs techniques pour réduire sa concentration dans les raisins.

L'une des plus spectaculaires concerne la gestion du feuillage de la vigne (Figure 3). En effet, l'IBMP étant sensible

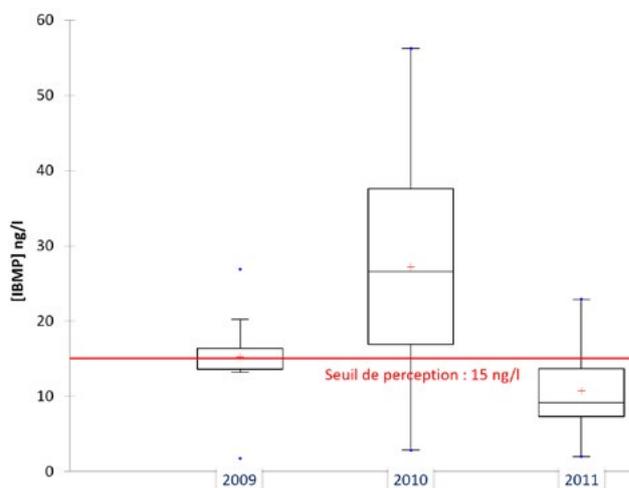


Figure 2 : Teneurs en IBMP, mesurées dans des vins issus de 55 parcelles du gaillacois en 2009, 45 en 2010 et 25 en 2011.

à la température et à la lumière, une meilleure exposition des grappes au soleil devait réduire sa concentration dans les raisins. Et ce fût le cas. L'effeuillage favorisant le rayonnement lumineux au niveau de la zone fructifère, en le pratiquant avant la véraison, la diminution d'IBMP dans les raisins peut atteindre 50 à 77 % à la récolte par rapport à des raisins récoltés sur une vigne non effeuillée. Cette forte baisse se traduit systématiquement par une diminution de la note végétale et une augmentation du caractère fruité des vins rouges de Fer Servadou.

Il arrive parfois que les millésimes ne soient pas propices à un bon éclaircissement des raisins ou à leurs maturations optimales. Dans ce cas-là, les raisins renferment des concentrations élevées en IBMP. Le point d'ébullition de cette molé-

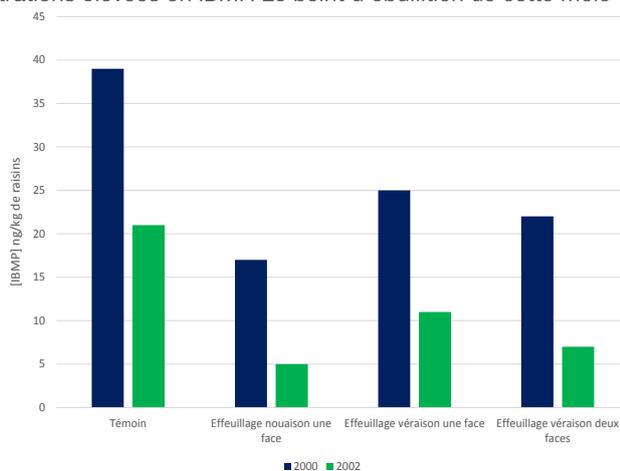


Figure 3 : Teneurs en IBMP mesurées dans des raisins en fonction du type d'effeuillage réalisé

cule autour de 50°C et sa forte sensibilité à la chaleur a conduit l'IFV Sud-ouest à démontrer que le chauffage de la vendange (essais menés à 70°C pendant 1 heure) diminue la concentration en IBMP de 30 à 75 % dans les vins par rapport à un témoin non chauffé (Figure 4). A la dégustation, cette diminution s'accompagne également d'une augmentation du caractère fruité des vins de Fer Servadou

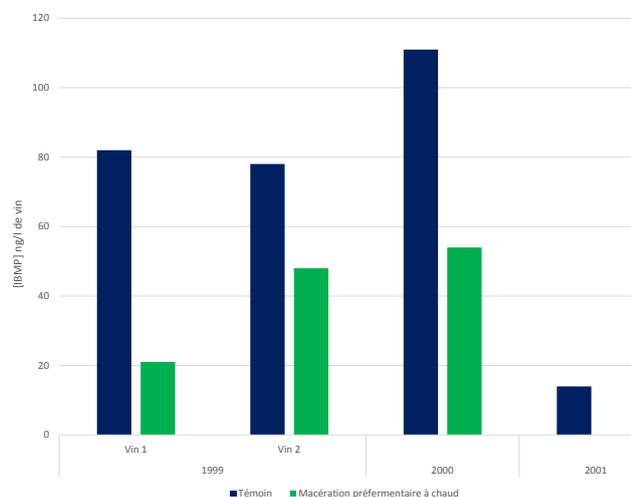


Figure 4 : Teneurs en IBMP mesurées dans des vins issus de thermo-traitement.

### Cassis : la 4-mercapto-4-méthylpentan-2-one sensible à la levure et aux températures ?

L'arôme de cassis est un des marqueurs qualitatifs des vins de Fer Servadou. Cependant, c'est une nuance aromatique difficile à révéler. L'IFV Sud-Ouest s'attache à découvrir la ou les molécules impliquées dans cet arôme et à comprendre comment il se forme dans les vins. Plusieurs stratégies ont été envisagées.

La première consiste à tester des itinéraires cultureux et œnologiques basés sur l'empirisme qui aurait pu, à un moment donné, permettre d'obtenir cette nuance dans des vins de Fer Servadou. Une trentaine de mini-vinifications ont été réalisées en 2015 et 2016 sur ce principe. Effeuillage à la véraison, pulvérisation d'azote foliaire, thermo-traitement de la vendange(...) ont été testés sans résultats probants.

La seconde approche consiste à rechercher les marqueurs aromatiques responsables de cette nuance, de comprendre leurs propriétés physiques et chimiques pour ensuite tester des itinéraires permettant de les valoriser. Pour ce faire, un vin rouge de Fer Servadou fortement marqué par un arôme de cassis a été sélectionné et comparé à plusieurs vins du même cépage mais n'exprimant pas cette odeur. En analysant sur ces vins, une cinquantaine de molécules aromatiques, cinq d'entre elles sont apparues en concentrations supérieures dans le vin de référence par rapport aux autres (Figure 5). L'une d'entre, la 4-mercapto-4-méthylpentan-2-one (4MMP), attire tout particulièrement l'attention puisqu'elle a déjà été citée dans la littérature comme responsable des notes de bourgeon de cassis.

La 4MMP a été la première molécule de la famille des thiols variétaux découverte dans les vins de Sauvignon blanc (Darriet, 1993). Elle est même considérée avec deux autres molécules de cette famille aromatique, le 3-mercaptohexan-1-ol (3MH) et son acétate, l'acétate de 3-mercaptohexyle (A3MH) comme marqueurs de la typicité de ce cépage. Son seuil de perception très bas de 0,8ng/L en fait une molécule très odorante.

Dans les vins de Sauvignon blanc, l'un des descripteurs attribués à cette molécule est le bourgeon de cassis. L'intensité aromatique de cette nuance y est directement corrélée avec la concentration en 4MMP (Rigou *et al.*, 2014). Cette molécule a également été suspectée d'être responsable de cet arôme dans les vins rouges mais sans aucune affirmation. Plusieurs auteurs ont émis l'hypothèse qu'en mélange, 4MMP, 3MH et A3MH seraient responsables de l'arôme de cassis des vins rouges (Pineau *et al.*, 2009; Chatelet *et al.*, 2014). La 4MMP y serait l'arôme de base, le 3MH et l'A3MH, des exhausteurs de cet arôme. Le ratio entre les concentrations des différents thiols jouerait à la fois sur l'intensité mais également sur la qualité de l'arôme perçu (végétal, fruité) (Roland *et al.*, 2011).

Contrairement à l'IBMP, ces thiols volatils à l'état libre sont absents des raisins et des moûts. Ils y sont présents sous forme de précurseurs non volatils et inodores. Les levures libèrent les arômes à partir de ces précurseurs, lors de la

fermentation alcoolique. Les teneurs en précurseurs dans les baies de raisin et en molécules à l'état libre dans les vins semblent augmenter avec la température et/ou le rayonnement lumineux au niveau des grappes. Une alimentation hydrique et azotée peu limitante aurait le même effet (Kobayashi, 2011)

La vinification reste l'étape fondamentale dans la révélation des thiols variétaux. Les étapes préfermentaires doivent permettre d'extraire les précurseurs des parties solides des raisins tout en limitant au maximum l'oxydation. Les polyphénols oxydés présents dans le moût étant des « pièges à thiol ». Le niveau d'azote des moûts doit être suffisant pour avoir une fermentation franche et rapide et un métabolisme levurien optimal. Le couple levure/température semble être l'élément clé de la révélation de ces molécules et du ratio 4MMP/3MH/A3MH retrouvé dans le vin (Masneuf-Pomarède, 2006). Enfin, ces molécules sous formes libres peuvent facilement s'oxyder avec de faibles quantités d'oxygène. Il est donc essentiel de veiller à limiter le contact du vin avec l'air et

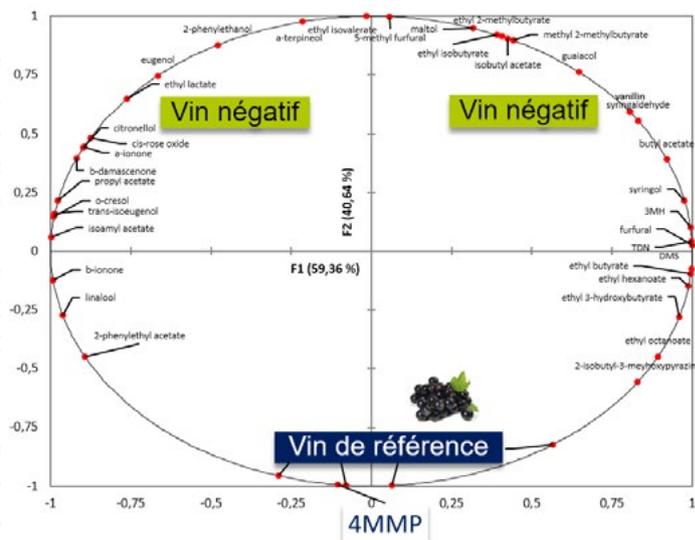


Figure 5 : Analyse en composantes principales ayant mis en évidence que la 4MMP et quatre autres molécules pouvaient jouer un rôle sur l'arôme de cassis des vins de Fer Servadou

d'ajuster le  $SO_2$  libre à des niveaux suffisants pour conserver tout le potentiel aromatique.

La découverte de concentrations élevées en 4MMP dans le vin de référence tend à penser que cette molécule joue un rôle important sur l'arôme de cassis des vins de Fer Servadou. Cette molécule a donc été dosée dans 8 vins des essais menés en 2015 et 2016. Elle a également été quantifiée dans 9 vins de Fer Servadou élaborés en 2017 (Figure 6). Sur ces 17 vins, seulement 3 renferment de la 4MMP

et cela au-dessus de son seuil de perception. Ces vins ont fermenté avec la levure levuline ALS entre 19 et 21°C. Les autres ont fermenté, de façon plus classique pour des rouges, à une température oscillant entre 26 et 28°C. Cette température de fermentation mais également la souche de levure employée semblent jouer un rôle essentiel dans la présence de 4MMP dans les vins de Fer Servadou. L'impact de la température et de la souche de levure sur la révélation de cette molécule avait déjà été bien démontré dans le cas de vinification en blanc (masneuf) mais à notre connaissance, pas en rouge.

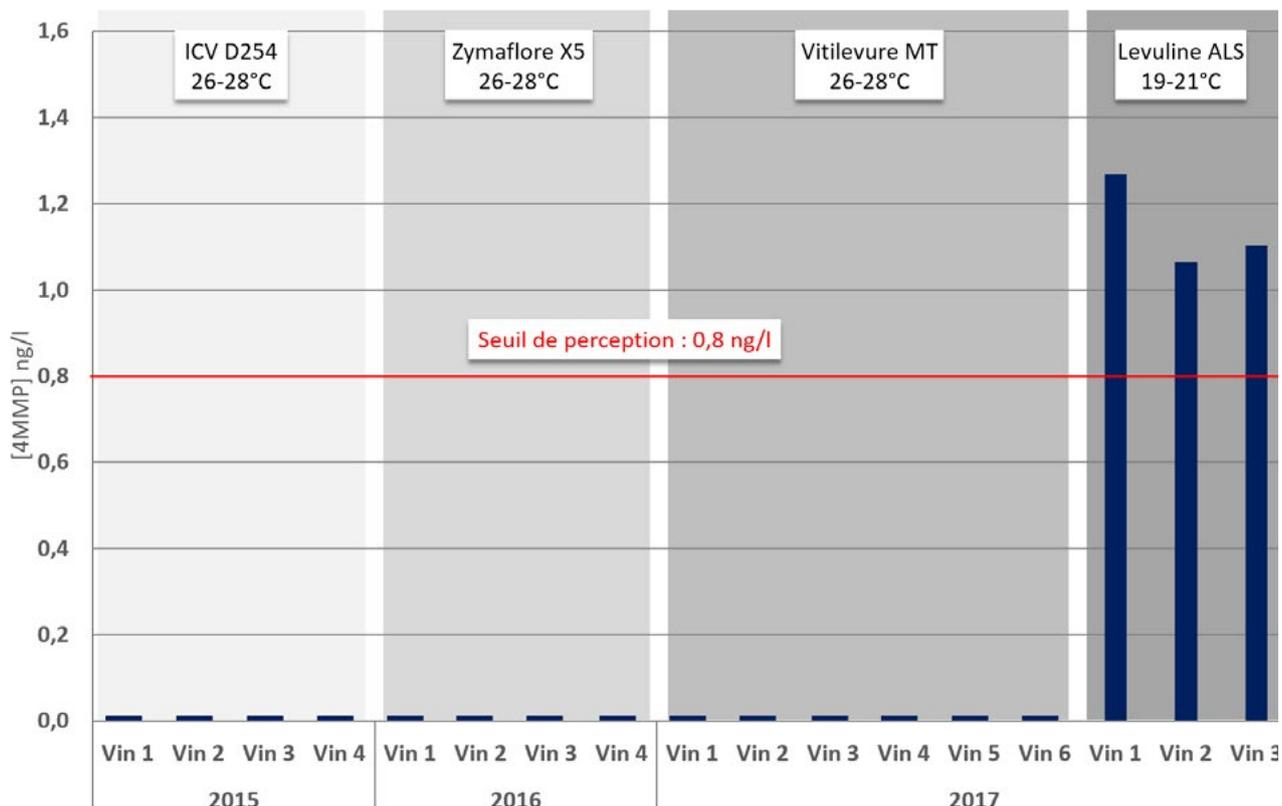


Figure 6 : Teneur en 4MMP dans des vins de Fer Servadou vinifiés avec différentes levures et à différentes températures de fermentation lors des millésimes 2015, 2016 et 2017

## Menthol : le 1,8-cinéole, une découverte fortuite

La famille aromatique « végétal » a déjà été bien étudiée dans les vins rouges. La présence de 2-methoxy-3-alkylpyrazines dans les vins de Fer Servadou l'illustre parfaitement. Cependant, cette famille aromatique recouvre une large diversité de nuances qui ont récemment été étudiées (Poitou X, 2016).

Dans ce cadre, il a été démontré que plusieurs vins de Fer Servadou renfermaient des concentrations élevées en 1,8-cinéole. Ce monoterpène, appelé également eucalyptol, a une odeur d'eucalyptus et de menthol. Il pourrait jouer un rôle important dans l'arôme des vins de ce cépage. Sa concentration y a parfois été retrouvée deux fois supérieure à son seuil de perception (1.1 µg/L). Les recherches menées sur cette molécule ont montré qu'au-delà de 0.7 µg/l, le 1,8-cineole augmente les notes mentholées des vins, mais tend également à renforcer leur côté végétal en présence d'IBMP. De précédentes études ont également démontré que le 1,8-cinéole pourrait jouer un rôle dans les nuances de cassis des vins rouges (Antalick, G. 2015).

Cette molécule est synthétisée dans le raisin avant la nouaison et sa concentration diminue au cours de la maturation (Figure 7). Elle se retrouve donc en plus grande quantité dans les raisins manquant de maturité. Mais, cette molécule peut avoir une origine exogène. En effet, il a été démontré que sa concentration dans des vins australiens était directement liée à la présence d'eucalyptus à proximité des vignes. Dans certains vins de Pauillac, la présence d'une espèce d'Armoise (*Artemisia verlotiorum*) dans le vignoble jouerait également un rôle sur sa concentration dans les vins.

Enfin, cette molécule serait localisée principalement dans la pulpe du raisin, mais les rafles en renfermeraient une proportion très importante. Ceci revêt une importance particulière dans la conduite des vinifications et dans la valorisation possible qui pourrait être faite des rafles.

Au vu des fortes concentrations en 1,8-cinéole retrouvées dans les vins de Fer Servadou, l'IFV Sud-Ouest a engagé en 2017 plusieurs expérimentations pour comprendre le rôle que joue cette molécule dans l'arôme des vins de ce cépage. Des reconstitutions aromatiques en présence de cette molécule sont prévues. Des essais ont été menés pour tester l'impact de l'effeuillage, du niveau de maturité des raisins et de l'ajout de rafles lors des vinifications sur les concentrations de cette molécule dans les vins de Fer Servadou. L'analyse des différents échantillons est en cours.

## Conclusion

L'exemple du Fer Servadou reflète l'idée que la découverte de marqueurs aromatiques permet d'orienter les itinéraires d'élaboration des vins. L'identification de l'IBMP a permis de démontrer le rôle fondamental de l'effeuillage et du chauffage de la vendange pour limiter les notes végétales des vins de ce cépage. La découverte récente du rôle que joue la 4MMP dans l'arôme de cassis semble orienter la vinification vers des températures de fermentation basses. Enfin, la mise en avant de concentrations élevées en 1,8-cinéole dans les vins de Fer Servadou pourrait permettre d'affiner certaines pratiques culturelles et œnologiques sur ce cépage.

## Remerciements

Merci à Nyséos pour la réalisation des analyses aromatiques

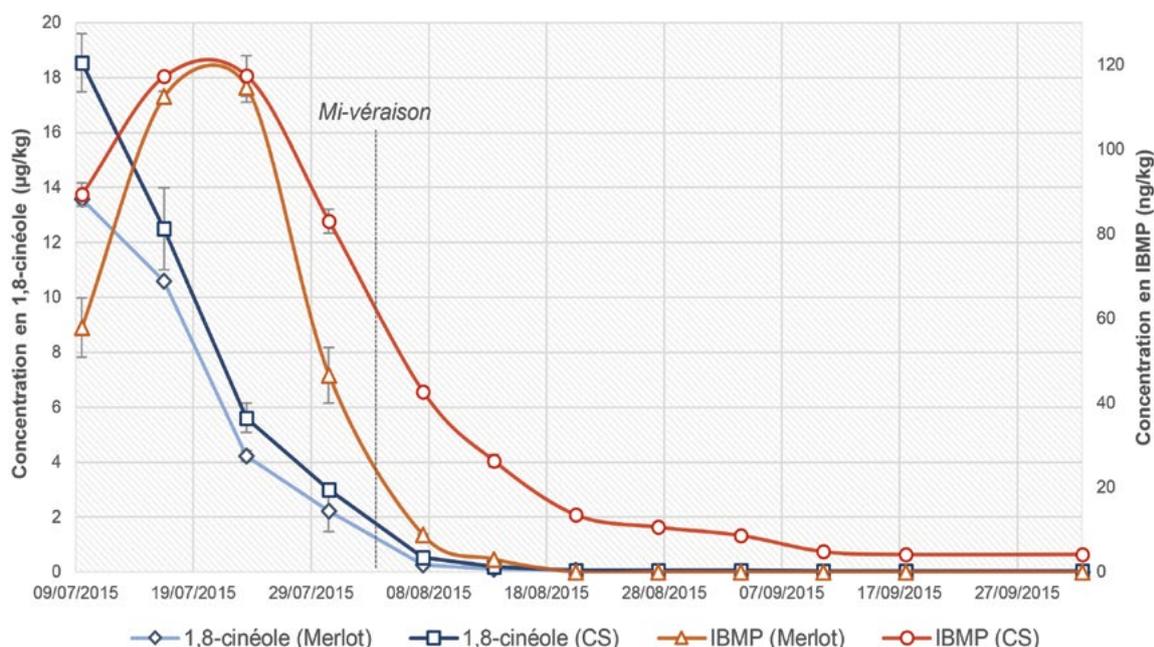


Figure 7: Evolution des teneurs en 1,8-cinéole et IBMP dans des raisins de Cabernet-Sauvignon et Merlot au cours de leur maturation (Poitou, X. 2016)

## Bibliographie

- Antalick G., Tempère S., Šuklje K., Blackman J-W., Deloire A., de Revel G., Schmidtko L-M. 2015. Investigation and Sensory Characterization of 1,4-Cineole: A Potential Aromatic Marker of Australian Cabernet Sauvignon Wine. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 63(41):9103-11.
- Bayonove C., Cordonnier R. A., Dubois P. 1975. Etude d'une fraction caractéristique de l'arôme du raisin de la variété Cabernet-sauvignon ; mise en évidence de la 2-méthoxy-3-isobutylpyrazine. *Comptes rendus de l'Académie des Sciences, Série D*, 281, 75-78.
- Chatelet B., Lempereur V., Ballester J. 2014. Sensory impact of two volatile thiols on the fruity character of Gamay wines. *Proceed. of Wine Active Compounds (WAC)*, Beaune, France, 205-207.
- Darriet P., Tominaga T., Demole E., Dubourdieu D. 1993. Mise en évidence dans le raisin de *Vitis Vinifera* J. (var.Sauvignon) d'un précurseur de la 4-méthyl-4-mercaptopentan-2-one. *Comptes rendus de l'Académie des Sciences, Série 3*, 316, 1332-1335.
- Kobayashi H., Takase H., Suzuki Y., Tanzawa F., Takata R., Fujita K., Kohno M., Mochizuki M., Suzuki S., Konno T. 2011. Environmental stress enhances biosynthesis of flavor precursors, S-3-(hexan-1-ol)-glutathione and S-3-(hexan-1-ol)-L-cysteine, in grapevine through glutathione S-transferase activation. *Journal of Experimental Botany*, 62, 1325-1336.
- Masneuf-Pomarède I., Mansour C., Murat M-L., Tominaga T., Dubourdieu D. 2006. Influence of fermentation temperature on volatile thiols concentrations in Sauvignon blanc wines. *International Journal of Food Microbiology*, 108, 3(1), 385-390
- Mendez-Costabel M. P., Wilkinson K. L., Bastian S. E. P., Jordans C., McCarthy M., Ford C. M., Dokoozlian N. 2014a. Effect of winter rainfall on yield components and fruit green aromas of *Vitis vinifera* L. cv. Merlot in California. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 20(1), 100-110.
- Mendez-Costabel M. P., Wilkinson K. L., Bastian S. E. P., Jordans C., McCarthy M., Ford C. M., Dokoozlian N. K. 2014b. Effect of increased irrigation and additional nitrogen fertilisation on the concentration of green aroma compounds in *Vitis vinifera* L. Merlot fruit and wine. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 20(1), 80-90.
- Pineau B., Barbe J.-C., Van Leeuwen C., Dubourdieu D. 2009. Examples of perceptive interactions involved in specific "red-" and "black-berry" aromas in red wines. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 57, 3702-3708.
- Poitou X. 2016. Contribution à la connaissance aromatique des vins rouges : Approche sensorielle et moléculaire des nuances « végétales, vertes » en lien avec leur origine, Thèse de doctorat de l'Université de Bordeaux
- Rigou P., Triay A., Razungles A. 2014. Influence of volatile thiols in the development of blackcurrant aroma in red wine. *Food Chemistry*, 142, 242-8
- Roland A., Schneider R., Razungles A., Cavelier F. 2011. Varietal Thiols in Wine: Discovery, Analysis and Applications. *Chemical Reviews*, 111 (11), 7355-7376
- Roujou de Boubée D. 2000. Recherches sur la 2-méthoxy-3-isobutylpyrazine dans les raisins et les vins. Approches analytiques, biologique et agronomique. Thèse de doctorat de l'Université de Bordeaux.
- Schneider R., L'Arôme des vins blancs. Communication personnelle.







OPTI-MUM™  
**RED**



SENSATIONNEL !

Création : YAPAK - Graphic obsession ©

Un monde de solutions naturelles pour valoriser vos vins / [www.lallemandwine.com](http://www.lallemandwine.com)

