2010-ASCL- 5

Pourriture grise au vignoble

DES INDICATEURS DE RISQUE EN DÉVELOPPEMENT

La pourriture grise de la vigne est causée par le champignon pathogène Botrytis cinerea. C'est une maladie extrêmement redoutée parce qu'elle peut induire de graves dégâts quantitatifs et qualitatifs, notamment sur raisins de cuve. Des indicateurs de risque caractérisant la pellicule du raisin en lien avec la sensibilité de la baie à la pourriture grise sont actuellement en développement au sein de l'Isvv, car les enjeux sont très importants pour le viticulteur

crédit photo : M. Fermaud, Inra

Symptôme de pourriture grise due à *Botrytis cinerea* sur grappe en lien avec la présence d'une chenille d'Eudémis

En France, à l'échelle de régions viticoles entières, la pourriture grise peut se généraliser sur la « quasi-totalité des parcelles » *(Herlemont, 2002)*. Ainsi, en 2002 dans les Côtes du Rhône, la baisse de rendement induite a alors été estimée entre 10% et 30% *(Union régionale des Oenologues de France, 2003)*. En termes qualitatifs et œnologiques, les conséquences des attaques de pourriture grise sont irréversibles et particulièrement dommageables, et ce dès un faible niveau final d'attaque d'environ 5 à 10%. On peut alors constater une altération de la maturité technologique et la présence de certains métabolites fongiques (glucanes, laccases) qui induisent des difficultés de clarification, une diminution de la typicité aromatique, de l'intensité colorante et du potentiel de vieillissement des vins *(Ribéreau-Gayon et al., 1998)*.

L'évaluation et la prévision du risque de pourriture grise sont donc des enjeux actuels très importants. L'Isvv de Bordeaux aborde cette thématique dans le cadre d'une collaboration étroite entre les deux UMR «œnologie» et «Santé Végétale Inra-Enitab» tout en bénéficiant du soutien financier du Civb. Pour évaluer l'état de maturité de la pellicule et sa sensibilité vis-à-vis des pathogènes, peu de tests pratiques sont mis à la disposition du viticulteur. La pellicule est pourtant un tissu clé de la baie car elle constitue, d'une part, le lieu de synthèse d'une majorité des composés d'intérêt œnologique (composés phénoliques, arômes) et, d'autre part, l'interface entre le milieu extérieur et l'intérieur de la baie. Elle forme ainsi une barrière vis-à-vis des agents pathogènes, notamment Botrytis. Grâce aux travaux initiés au sein de l'UMR 1219 œnologie, d'importantes avancées ont été réalisées depuis plusieurs années pour une meilleure compréhension des mécanismes de dégradation pelliculaire au cours de la maturation. Les récents résultats concernent l'évolution de différents composés et propriétés caractérisant la pellicule de la baie de raisin durant son développement ; ces variations étant mises en relation avec la sensibilité au Botrytis *(Deytieux-Belleau et al., 2009)*. Ainsi, la Faculté d'œnologie a pu développer un nouveau test, appelé **IPP ou « Indice de Perméabilité Pelliculaire »**, sur raisins en cours de maturation et qui fait ici l'objet d'une première présentation. Ces travaux sont tout à fait complémentaires de ceux initiés depuis plus de 10 ans à l'UMR Santé Végétale *(Chenet, 1997)* où a été élaboré l'indicateur dénommé **PRB** ou « **Potentiel de Réceptivité des Baies** ». Cet indicateur permet d'évaluer précocement la sensibilité des baies de raisin au Botrytis, dès le stade fermeture de la grappe. Différents articles ont déjà fait état de résultats acquis sur cet indicateur PRB *(Dubos et Roudet, 2002 ; 2003)*.

Après un bref aperçu des objectifs et méthodes relatifs à ces deux principaux indicateurs, PRB et IPP, des résultats récemment obtenus sur chacun d'eux sont présentés dans cet article.

PRB : un indicateur précoce du risque de pourriture grise

L'objectif est ici de compléter et d'actualiser les connaissances sur cet indicateur PRB en se focalisant sur les résultats acquis ces 6 dernières années. Cet article vise notamment à confirmer la corrélation positive qui existe entre la valeur du PRB à la fermeture de la grappe et le taux final de maladie observé à la vendange.

Principe et méthodologie

Deux cépages, merlot et sauvignon blanc, sont suivis sur une même parcelle expérimentale du domaine Inra de la Grande Ferrade (Villenave d'Ornon). Cette parcelle de référence est non traitée par des fongicides anti-Botrytis.

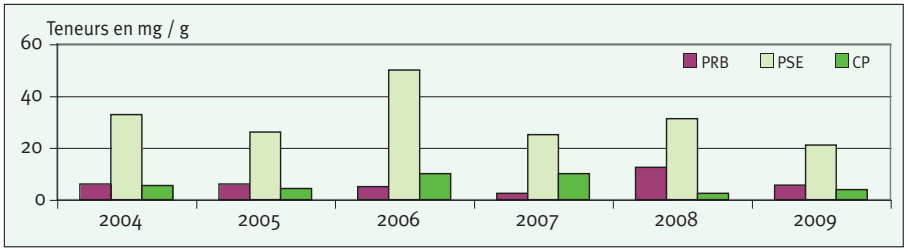
La mesure du PRB est effectuée sur des grappes de Sauvignon blanc prélevées selon un protocole rigoureux dans la parcelle à la fin juin ou peu avant la fermeture de la grappe. A partir des pellicules pelées manuellement, est extrait le « matériel insoluble à l'alcool » (MIA) qui correspond majoritairement aux parois des cellules de la pellicule. Deux éléments du MIA sont ensuite dosés : les composés phénoliques alcalino-solubles (CP), et les pectines hydrosolubles (PSE) (Chénet, 1997). Enfin, le PRB correspond au rapport entre la teneur en PSE divisée par la teneur en CP (teneurs exprimées, toutes deux, en mg / gramme de MIA).

Pour comparer rigoureusement la pression parasitaire d'une année sur l'autre entre 2004 et 2009, la parcelle de référence a fait l'objet de notations hebdomadaires dès la véraison. L'expression de la pourriture grise est quantifiée sur 400 grappes observées et notées individuellement à chaque date. La dernière mesure, à maturité du Merlot, est réalisée chaque année aux alentours du 20 septembre (entre le 17 et le 23 septembre). Deux paramètres clefs sont systématiquement calculés : **la fréquence de grappes atteintes (%) et l'intensité globale d'attaque des baies (%)** ou pourcentage moyen de grains botrytisés.

Résultats sur les variations du Potentiel de Réceptivité des baies au Botrytis

Sur les six dernières années (2004-2009), la figure 1 représente l'évolution du PRB et des deux dosages biochimiques sous-jacents (PSE et CP). Dans les parois des cellules de la pellicule des raisins immatures, les pectines (PSE) représentent un substrat facilement dégradable par *Botrytis* ; elles sont donc favorables au développement du pathogène. Cependant, les composés phénoliques (CP) constituent des molécules de défense préformées vis-à-vis du champignon. C'est pourquoi, un PRB élevé indique une plus grande sensibilité potentielle au Botrytis. Inversement, une valeur du PRB faible indique un potentiel limité de développement de la maladie. Le PRB montre son maximum en 2008 avec une valeur supérieure à 10. Cette valeur provient surtout d'une teneur en CP particulièrement faible. Pour ce qui est des teneurs en PSE, il est intéressant de constater des valeurs faibles en 2005, 2007 et 2009 (entre 21 et 26 mg / g MIA).

Figure 1 : Evolution au cours des millésimes du Potentiel de Réceptivité des baies (PRB) et des deux dosages biochimiques permettant de calculer le PRB : teneurs en Pectines Solubles à l'Eau (PSE) et en Composés Phénoliques (CP) au sein de la pellicule.

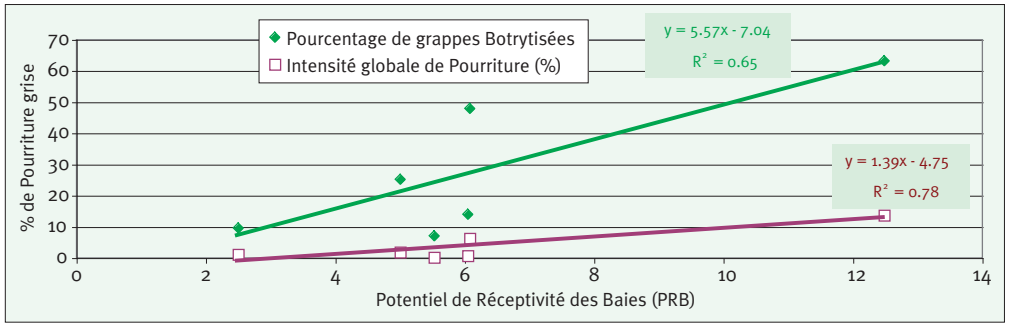


Relation entre PRB et taux final de pourriture grise

Pour ces six années, la figure 2 montre la relation entre la valeur du PRB et le taux final de pourriture grise mesuré sur la parcelle de référence aux alentours du 20 septembre. Les coefficients de corrélation sont statistiquement significatifs et prouvent que **plus le PRB est élevé, plus l'intensité de pourriture grise sera importante à l'approche des vendanges.** Cette intensité peut être mesurée par le pourcentage de grappes atteintes, mais la relation s'avère encore meilleure en considérant l'intensité globale de maladie en pourcentage total de grains botrytisés. En 2008, on remarque une intensité finale de maladie maximale avec environ 14% de baies touchées. Le PRB atteint alors aussi son maximum en lien avec une teneur en CP très faible avoisinant 2,5 mg / g MIA. Ainsi, une résistance limitée des baies au Botrytis, conférée par une faible teneur en CP, a pu être un des facteurs à l'origine du fort développement épidémique cette année là.

Cependant, cette corrélation entre la composition biochimique des baies immatures et le taux final de maladie ne doit pas faire oublier que le **PRB est un indicateur de tendance**. Son interprétation nécessite en effet d'être toujours relativisée par les conditions climatiques, notamment celles prévalant 3 semaines à un mois avant vendanges. Ces dernières constituent un des facteurs essen-

Figure 2 : Corrélation entre la valeur du PRB à la fermeture de la grappe et le taux final de Pourriture grise observé à la vendange.



tiels expliquant le taux final de maladie. De plus, les variations constatées ici reflètent des fluctuations entre années, mais sur un même vignoble expérimental. Il est clair que de nombreux paramètres agronomiques, édaphiques (relatif aux rapports entre les êtres vivants et les sols) et culturaux sont aussi à l'origine de fortes variations dans l'intensité de maladie entre différentes parcelles. Citons, en particulier, les effets notables du cépage, de la vigueur végétative des ceps (entassement du feuillage, compacité des grappes ...) ; mais aussi des blessures, quelle que soit leur origine, incluant celles dues aux chenilles des générations estivales des vers de la grappe (Eudémis ou Cochylis). Cependant, nombre de ces facteurs deviennent effectifs relativement tard en saison. On ne peut donc pas les intégrer dans le raisonnement et la prévision du risque fondés sur le PRB à la fermeture de la grappe. D'où l'intérêt de pouvoir disposer d'un autre indicateur affinant le diagnostic de risque en fin de maturation des baies.

IPP : un indicateur de sensibilité au Botrytis et de capacité pelliculaire à libérer des composés d'intérêt œnologique

Lorsque le viticulteur réalise un suivi de maturation, son intérêt se porte le plus souvent, sur la baie de raisin dans sa totalité. Cette dernière est pourtant constituée de deux tissus bien distincts : la pulpe et la pellicule, qui présentent des caractéristiques très différentes. Si les mesures de caractérisation de la pulpe sont bien connues, les tests sur la pellicule sont beaucoup moins nombreux. Nos récents travaux sur la pellicule ont donc permis de mettre au point un indice capable de traduire l'évolution de sa structure au cours de la maturation en donnant des indications à la fois sur la sensibilité au Botrytis et sur la capacité de cette pellicule à libérer des composés d'intérêt œnologique.

Principe et méthodologie

Parmi les facteurs physico-chimiques impliqués dans le développement des microorganismes, l'eau est un facteur indispensable. En effet, un environnement aqueux est nécessaire pour la croissance des micro-organismes ainsi que pour les réactions chimiques dans la cellule. Mais l'eau, pour être utilisable par les micro-organismes, doit obligatoirement être présente sous forme libre. L'eau sous cette forme libre est quantifiable par une valeur appelée « activité de l'eau » et représentée par l'abréviation Aw de son nom anglais « water activity » *(Scott, 1953)*. A la surface de la baie de raisin, cette eau libre peut être mesurée grâce à un Aw-mètre sur une échelle entre 0 et 1 (1 correspond au maximum d'eau libre).

Awmètre Novasima

Awmètre Novasima : cet appareil permet de mesurer l'eau libre à la surface de la baie

Au cours de la maturation pelliculaire, de profonds changements dans la cohésion des parois de la pellicule se produisent et peuvent induire un certain transfert de composés entre l'intérieur du raisin et l'extérieur. Ainsi, le rapport sucre/acides des exsudats présents à la surface de la pellicule évolue de façon similaire à la constitution interne du raisin. A maturité, l'augmentation importante des sucres exsudés apparaît être directement liée à l'altération des parois cellulaires de la pellicule *(Donèche, 1986)*. Ainsi, en raison de la diffusion des sucres à travers la pellicule, la quantité d'eau libre à la surface de la baie est modifiée et les valeurs d'Aw diminuent. Ces transferts de molécules, mesurés grâce à la modification de la quantité d'eau libre, traduisent donc une certaine perméabilité du tissu. Ces exsudats sont également connus pour stimuler la germination des conidies et la croissance mycélienne de *Botrytis*. Ainsi, la mesu-

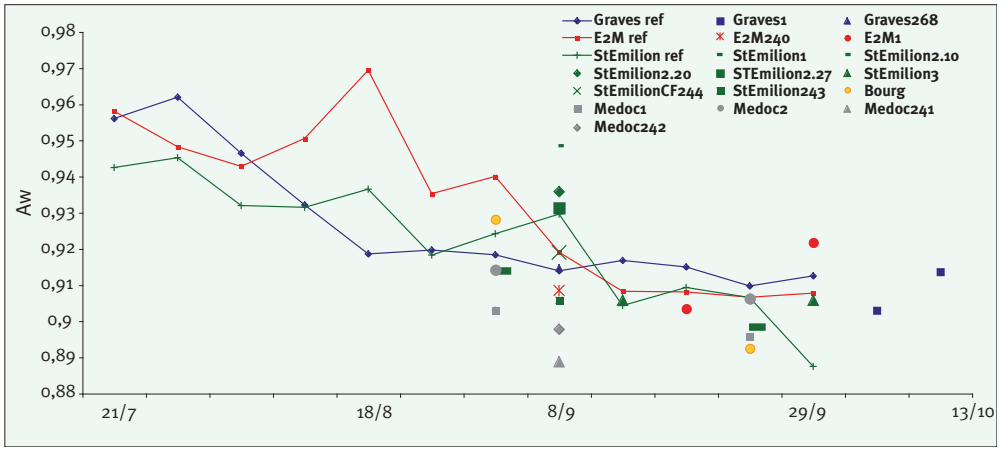
re de l'Aw peut être utilisée pour juger de la perméabilité de la pellicule, en considérant cette dernière comme une membrane. Cette mesure est ensuite utilisée comme marqueur d'état de maturité pelliculaire traduisant le degré de dégradation pariétale et permet de mieux cerner l'augmentation de la sensibilité aux pathogènes au cours de la maturation.

La mesure est réalisée sur un lot de baies entières munies de leur pédicelle (lot identique à celui prélevé au cours du suivi de la maturité). La valeur Aw moyenne ainsi mesurée est comparée à celles mesurées sur les parcelles de référence suivies depuis plusieurs années (une parcelle de référence par cépage et par appellation). Cette valeur sera ensuite traduite en « Indice de Perméabilité Pelliculaire » puis interprétée comme un niveau de dégradation pelliculaire.

Résultats sur l'évolution de l'IPP et validation comme indicateur de sensibilité au Botrytis

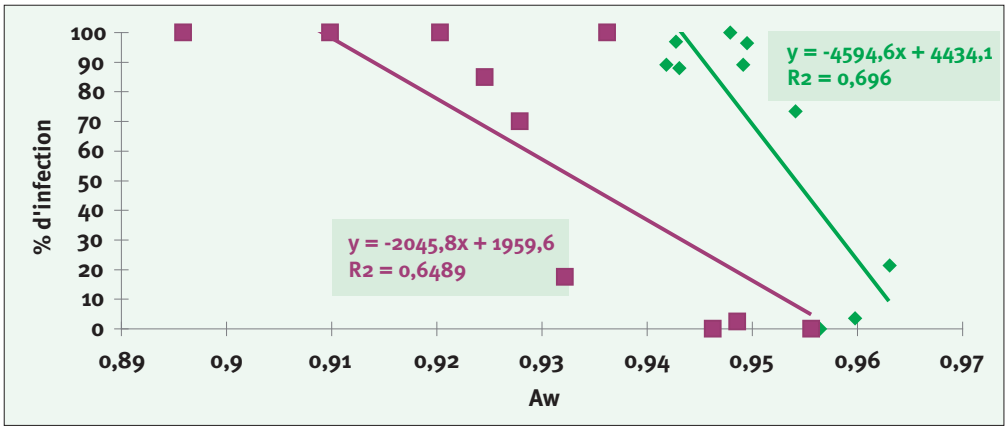
Les travaux préliminaires pour développer ce test, ont été réalisés par la faculté d'œnologie sur les parcelles du réseau maturité depuis 2005. Ils montrent que la maturation et les mécanismes de dégradation pariétale s'accompagnent d'une diminution nette de l'Aw (Fig. 3) en raison d'une augmentation des exsudats à la surface de la pellicule.

Figure 3 : Evolution de l'Aw au cours du millésime 2008 pour 3 parcelles de référence (Graves, Entre deux mers « E2M » et Saint-Emilion) en comparaison de valeurs Aw mesurées au cours de la maturation sur différentes parcelles réparties dans le vignoble bordelais.



Ce phénomène, qui est très accentué au début de ce processus, est un facteur essentiel car il conditionne en partie la prolifération des microorganismes épiphytiques dont *Botrytis*. En effet, les tests d'infection réalisés au cours de l'été montrent que, quelles que soient les parcelles, le risque d'infection augmente alors que l'Aw diminue. Une forte corrélation entre ces deux mesures a pu ainsi être mise en évidence (Fig. 4). C'est pourquoi, la valeur Aw peut être considérée comme un **indicateur d'un risque potentiel de sensibilité de la baie vis-à-vis du Botrytis**. Ainsi au cours de la maturation, l'augmentation de la perméabilité de la pellicule affecte l'Aw à la surface de la baie qui devient alors plus favorable pour le développement du pathogène.

Figure 4 : Corrélation entre la valeur de l'Aw à la surface de la baie et le risque d'infection des baies par Botrytis. Risque mesuré par la fréquence (%) de baies infectées suite à inoculation artificielle par le pathogène en conditions contrôlées.



Ce qu'il faut en retenir

Deux indicateurs de risque de pourriture grise, qui sont complémentaires, sont développés grâce à un travail en collaboration au sein de l'Isvv et au soutien financier du Civb. Ces indicateurs sont tous deux spécifiques de la pellicule : l'un le Potentiel de Réceptivité des Baies (PRB) a été élaboré initialement à l'UMR Santé Végétale, l'autre l'Indice de Perméabilité Pelliculaire (IPP) a été développé à la faculté d'oenologie depuis 2005. L'indicateur PRB vise à évaluer précocement la sensibilité des baies de raisin au *Botrytis* dès le stade fermeture de la grappe. Au cours des 6 dernières années, le PRB issu de dosages biochimiques sur baies immatures s'avère fortement corrélé avec l'intensité finale de pourriture grise observée à la vendange sur une parcelle de référence. Ceci fait donc du PRB un indicateur très précoce du risque parasitaire pour le millésime en cours. La valeur du PRB obtenue sur sauvignon blanc est diffusée chaque année, courant juillet, sur le site Internet du Civb. Actuellement, un projet de recherche soutenu par le Civb vise à améliorer et affiner la méthodologie de certains des dosages, afin de les adapter à un cépage noir sensible, le merlot. Ce programme se focalise sur l'évolution des teneurs en composés phénoliques et en tanins de la pellicule et leur mise en relation avec la sensibilité au *Botrytis* qui augmente avec le stade de maturation de la baie de raisin. D'autre part, l'IPP est un outil capable de mesurer l'évolution du niveau de dégradation pelliculaire au cours de la maturation. Cet indice a été mis au point et suivi, depuis plusieurs années, sur le réseau parcellaire de la faculté d'œnologie. Depuis 2008, les valeurs des parcelles de référence sont diffusées sur le site internet du Civb et de Bordeauxraisins.fr. Au cours du millésime 2009, l'IPP a été testé par plusieurs sites pilotes bordelais (laboratoires d'œnologie, viticulteurs) et sera disponible à

tous les professionnels dès 2010. En s'équipant d'un AW-mètre Labmaster Novasima et en s'abonnant au serveur Bordeauxraisins.fr/IPP, chacun (viticulteur et laboratoires œnologiques) pourra faire ses mesures directement sur les baies entières munies de leur pédicelle et comparer les valeurs obtenues entre années, parcelles et/ou cépages, et ce afin de mieux estimer la maturité pelliculaire.

Marc Fermaud (1), Christelle Deytieux-Belleau (2), Jean Roudet (1), Annie L'hyvernay (2), Guillaume Darrieutort (1), Florine Daguisé (1) Bernard Donèche (2) et Laurence Geny (2)
(1) UMR 1065 Santé Végétale Inra-Enitab, ISVV Bordeaux-Aquitaine, 71 Avenue E. Bourlaux, F-33883
(2) Université de Bordeaux, ISVV Bordeaux-Aquitaine, UMR1219 œnologie, Faculté d'œnologie-Inra, 210 Chemin de Leysotte, CS50008, F-33882 Villenave d'Ornon

En savoir plus sur ces indicateurs :

PRB : Dr. Marc Fermaud, UMR 1065 Santé Végétale Inra-Enitab, ISVV Bordeaux-Aquitaine - 71 Avenue E. Bourlaux, 33883 Villenave d'Ornon - Tel : 05 57 12 26 22 - Fax : 05 57 12 26 21
Email : fermaud@bordeaux.inra.fr

IPP : Dr. Laurence Gény, UMR1219 Faculté d'œnologie Isvv Bordeaux-Aquitaine - 210 Chemin de Leysotte, CS 50008, 33882 Villenave d'Ornon - Tel : 05 57 57 58 54 - Fax : 05 57 57 58 13
Email : laurence.geny@u-bordeaux2.fr - Site : www.Bordeauxraisins.fr/IPP

Remerciements
Les auteurs remercient le Conseil interprofessionnel des vins de Bordeaux (Civb) pour son soutien financier.

Références bibliographiques

• I. Chénet, 1997. La résistance de la baie de raisin à Botrytis cinerea, agent de la pourriture grise : étude de la pellicule et de ses parois. Doctorat de l'Université de Bordeaux II, 160pp.
• C. Deytieux-Belleau, L. Gény, J. Roudet, V. Mayet, B. Donèche. & M. Fermaud, 2009. Grape berry skin features related to ontogenic resistance to Botrytis cinerea. Eur. J. Plant Pathol. 125, 551-563.
• B. Donèche, 1986. La nature des exsudats de raisins et leur rôle dans la germination des conidies de Botrytis cinerea. Agronomie 6, 67-72.
• B. Dubos. & J. Roudet, 2002. Evaluation précoce de la sensibilité de la baie de raisin à Botrytis cinerea et incidence de la protection fongicide. Actes du Colloque IFV « Mondiaviti », 4-5 déc 2002, Bordeaux, p. 99-104.
• B. Dubos & J. Roudet, 2003. Évaluation précoce du potentiel réceptif de la baie de raisin à Botrytis cinerea. L'Union Girondine, 959, 38-40.
• B. Herlemont, 2002. Bilan phytosanitaire de la campagne viticole 2002. Phytoma – La défense des végétaux 554, 12-17.
• P. Ribéreau-Gayon, D. Dubourdieu, B. Donèche. & A. Lonvaud., 1998. Traité d'œnologie. Dunod Ed., Paris.
• W.J. Scott, 1953. Water relations of Staphylococcus aureus at 30°C. Aust. J. Biol. 6, 549-564.
• Union Régionale des Œnologues de France, 2003. Un millésime laborieux : 2002. Guide n°7 de la vinification rhodanienne. 56 pp. (www.institut-rhodanien.com)