



**HAL**  
open science

# Indicateurs de risque épidémique de *Botrytis cinerea* sur la vigne et effet du pH sur une bactérie antagoniste du *Botrytis*

Earine Royer Dumont

## ► To cite this version:

Earine Royer Dumont. Indicateurs de risque épidémique de *Botrytis cinerea* sur la vigne et effet du pH sur une bactérie antagoniste du *Botrytis*. Sciences du Vivant [q-bio]. 2020. hal-04145281

**HAL Id: hal-04145281**

**<https://hal.inrae.fr/hal-04145281v1>**

Submitted on 29 Jun 2023

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

Indicateurs de risque épidémique de *Botrytis cinerea* sur la vigne et effet du pH sur une bactérie antagoniste du *Botrytis*



Soutenu par Earine ROYER DUMONT

BTSA Anabiotec 1ère année

Promotion 2018-2020

## Remerciement

Tout d'abord, je tiens à remercier M. Marc FERMAUD pour m'avoir permis d'effectuer mon stage dans l'Unité Mixte de Recherche de Santé et Agroécologie du Vignoble de l'INRA Nouvelle-Aquitaine Bordeaux. Merci pour sa patience et le temps qu'il m'a accordé afin de me conseiller au mieux durant mon stage et pour la rédaction de mon rapport. Merci aussi pour la confiance qu'il m'a donné durant ces trois mois.

Je remercie énormément M. Jean ROUDET pour m'avoir accompagné, aidé et surtout fait évoluer en tout point durant mon stage. Merci aussi de m'avoir conseillé pour mon rapport de stage.

Enfin, je remercie tout le personnel de l'Unité SAVE pour sa bonne humeur et son accueil.

## Résumé

Durant mon stage à l'Institut National de la Recherche Agronomique (INRA) Nouvelle-Aquitaine-Bordeaux (UMR « Santé et Agroécologie du Vignoble » (SAVE)) à Villenave d'Ornon, j'ai déterminé le risque épidémique précoce de *Botrytis cinerea* en 2019 grâce à deux indicateurs. D'abord, le taux de contamination des capuchons floraux par *B. cinerea*, a été mesuré à 8,3% en 2019. Puis le PRB (Potentiel de Réceptivité des Baies) a été dosé et calculé reposant sur le taux de tanins des baies en comparant des cépages et des parcelles différentes. Ce dernier a montré que le cépage Sauvignon, ayant un taux de tanin moins élevé, est plus sensible à *B. cinerea* que le Merlot. Ces indicateurs de risque ont permis de prévoir le développement de la pourriture grise et ainsi renseigner les viticulteurs sur le besoin ou non de traiter le vignoble de façon précoce (mi-juillet). J'ai également fait l'étude du pH sur une bactérie antagoniste à *Botrytis cinerea*, *Bacillus ginsengihumi* (S38), en l'ensemencement dans quatre milieux à pH différents. Cela a permis de constater que la bactérie a son optimum de développement à pH neutre. De plus, nous pouvons supposer qu'à un pH légèrement acide la bactérie pourrait modifier le pH de son milieu pour le rendre plus favorable à sa croissance et son développement.

## Table des matières

Introduction .....	1
<b>I / Le thème : .....</b>	<b>2</b>
1. La vigne :.....	2
a. La phénologie de la vigne : .....	2
b. L'anatomie et la composition des baies :.....	2
2. Le champignon <i>Botrytis cinerea</i> : .....	2
3. Vers une protection plus économe contre <i>Botrytis cinerea</i> :.....	4
4. La bactérie <i>Bacillus ginsengihumi</i> (S38) :.....	5
<b>II / Contamination des capuchons floraux par <i>Botrytis cinerea</i> : .....</b>	<b>5</b>
1. But et principe : .....	5
2. Matériel et méthode :.....	6
a. Prélèvements : .....	6
b. Ensemencement :.....	6
c. Observation à 5, 9 et 19 jours après incubation :.....	7
3. Resultats et interprétations : .....	7
<b>III / Le PRB : un indicateur du risque de contamination des vignes par Botrytis :.....</b>	<b>8</b>
1. But et Principe :.....	8
2. Matériel et méthode :.....	9
a. Prélèvement :.....	9
b. Paramètres anatomiques de la baie :.....	9
c. Dosage des tanins condensés :.....	9
3. Résultats et interprétation :.....	10
<b>IV / Etude de l'effet du pH sur la croissance d'une bactérie antagoniste de <i>B. cinerea</i>.....</b>	<b>12</b>
1. But et principe : .....	12
2. Matériel et méthode :.....	13
a. Première étape : préparation des milieux et ensemencement :.....	13
b. Deuxième étape : dilutions et étalements : .....	13
c. Troisième étape : dénombrement : .....	14
3. Résultat et interprétation : .....	15
<b>Conclusion</b> .....	17
Bibliographie.....	18
Index.....	19
Annexes.....	20

## Abréviations

PRB: Potentiel de Réceptivité des Baies

*B. cinerea*: *Botrytis cinerea*

S38: *Bacillus ginsengihumi*

PSE: Pectines hydrosolubles

CP: Composés Phénoliques

MAC: Malt-Agar-Chloramphenicol

MF: Masse Fraiche

TSA: Trypto-caseine Soy Agar



## Introduction

J'ai réalisé mon stage à l'INRA au sein de l'UMR SAVE de Villenave d'Ornon. Durant cette période, j'ai contribué à l'étude de deux indicateurs de risque épidémique de Pourriture grise (due au champignon pathogène *Botrytis cinerea*) : le PRB (Potentiel de Réceptivité des baies) et le taux de contamination de capuchons floraux. De plus, a été étudié l'effet du pH sur une bactérie **antagoniste\*** du *Botrytis*.

L'INRA, Institut National de la Recherche Agronomique, mène des recherches scientifiques, orientés par les défis planétaires que doivent relever l'agriculture et l'agronomie posés par l'alimentation, l'environnement et la valorisation des territoires. Ainsi, il construit, grâce aux connaissances fondamentales produites, des innovations et des savoir-faire pour la société. L'UMR SAVE, Santé et Agroécologie du Vignoble, rattaché au département scientifique INRA SPE (Santé des Plantes et Environnement) étudie la réponse de l'écosystème viticole aux changements globaux en se plaçant à la limite entre écologie, pathologie végétale et **entomologie\***. Le but est de promouvoir les pratiques agro-écologiques en s'appuyant sur les résistances de la vigne, la gestion de la plante, les régulations biologiques et l'utilisation de produits de **biocontrôle\***.

Il existe de nombreuses maladies sur vigne entraînant des infestations graves et des pertes de rendement et/ou de qualité. La plupart d'entre elles sont dues à des champignons pathogènes, c'est notamment le cas de la pourriture grise. Ces maladies attaquent soit les organes verts de la vigne, comme le fait la pourriture grise, soit le tronc ou les racines. Cependant, la présence d'une telle maladie ou d'un agent pathogène ne nécessite pas forcément un traitement, leur sévérité varie selon les années. Cela dépend des conditions climatiques, de la présence de l'inoculum et de la sensibilité des cépages. Ainsi plusieurs précautions doivent être prises afin de connaître les risques épidémiques de l'année en cours et ainsi pouvoir limiter l'utilisation de **fongicides\***. Les fongicides chimiques utilisés contre ces **maladies cryptogamiques\*** présentent des risques pour la santé de l'Homme, mais surtout pour celle du consommateur, et pour l'environnement. Il est donc nécessaire de trouver des substituants naturels pour lutter contre les champignons pathogènes.

L'objectif de mon étude est, tout d'abord, de déterminer le risque épidémique de *Botrytis cinerea* grâce à deux indicateurs : le taux de contaminations des capuchons floraux et le PRB, sur une parcelle INRA de référence de la Grande Ferrade à Villenave d'Ornon. Ainsi les viticulteurs peuvent juger du bien-fondé de traiter ou non contre la maladie. Enfin, j'ai étudié la croissance, sur des milieux à différents pH, d'une souche bactérienne antagoniste de ce champignon. Il s'agit de *Bacillus ginsengihumi* (souche S38).

Dans un premier temps, nous verrons une présentation des différents thèmes. Puis, nous traiterons des indicateurs de risques épidémiques de la maladie, Tout d'abord, la contamination des capuchons floraux par *B. cinerea*, puis le PRB. Pour finir, nous étudierons l'effet du pH sur *Bacillus ginsengihumi*, bactérie antagoniste du Botrytis.

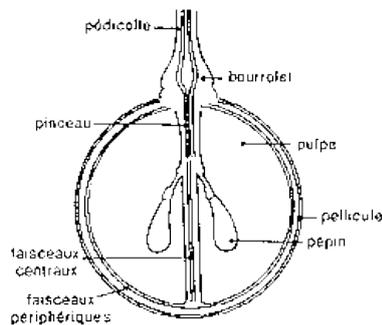
## I / Le thème :

### 1. La vigne :

#### a. La phénologie de la vigne :

La **phénologie\*** est déterminée par les variations saisonnières du climat. Pour la vigne, les grandes étapes la constituant sont le débourrement (sortie des tous premiers organes aériens verts), entre mars et avril, le développement foliaire, la floraison et la fructification, de juin à août, et la maturation des fruits, entre septembre et octobre. La figure en annexe 1 montre ces différents stades illustrés ainsi que leur numéro et la lettre qui les définit.

#### b. L'anatomie et la composition des baies :



Une baie de raisin comprend la pellicule, les graines et la pulpe.

La pellicule assure l'imperméabilité et retient en surface des levures apportés par le vent et les insectes. Elle est constituée de plusieurs strates cellulaires : la cuticule, l'épiderme et l'hypoderme qui contient des colorants et des odorants ainsi que des tanins. Les tanins sont une protection contre les champignons. Par leur caractère **antifongique\***, ils font partis des métabolites utilisés par les plantes comme moyen de défense. Ils sont produits à des concentrations variables et sont capables d'inhiber de nombreuses enzymes fongiques notamment celles qui dégradent la paroi cellulaire des cellules de la pellicule de la baie. Les tanins sont utilisés comme indicateur de risque potentiel de contamination du vignoble par *B. cinerea* lors du calcul du PRB (Potentiel de Réceptivité des baies) (cf. partie 3). En effet, plus le taux de tanins est élevé, plus la pellicule est capable de se défendre diminuant ainsi le risque de contamination par le champignon pathogène plus tard en véraison.

### 2. Le champignon *Botrytis cinerea* :

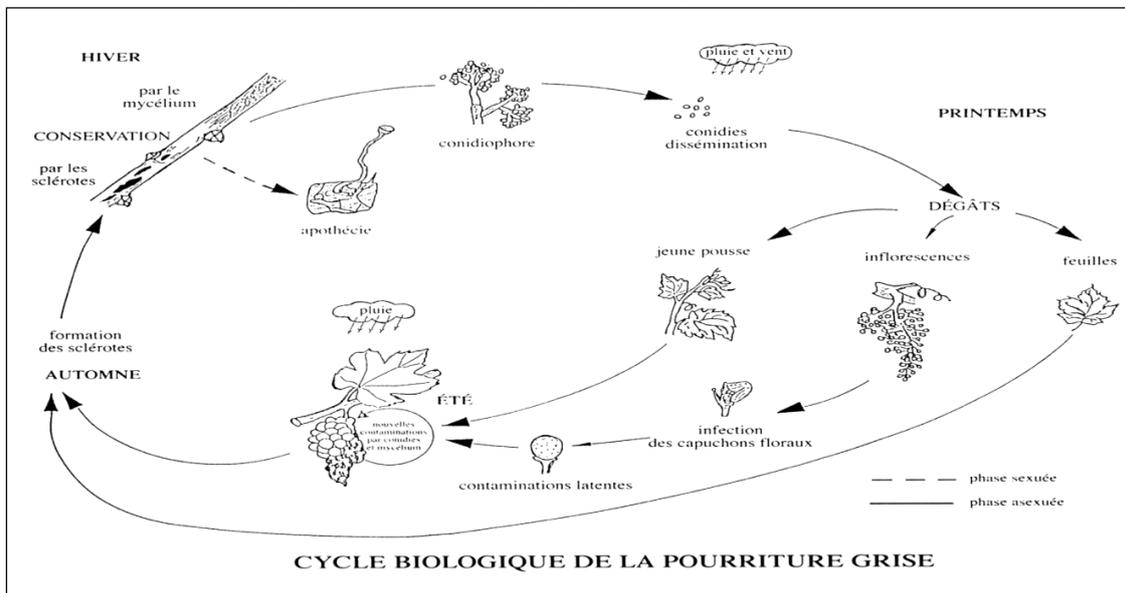
La pourriture grise, est une maladie très ancienne puisqu'elle est connue depuis l'antiquité. Elle existe dans tous les vignobles du Monde, et touche de nombreuses espèces de fruits. C'est actuellement une des maladies les plus redoutées par les viticulteurs car les dégâts qu'elle occasionne ont une grave incidence sur la qualité des vins. Aussi appelée pourriture noble, lorsque son développement est souhaité, elle est alors à l'origine de vins blancs liquoreux prestigieux tels que ceux de Sauternes en France.

*Botrytis cinerea* est un champignon à la fois **saprophyte\*** et **parasite\***, ce qui fait sa spécificité. Il commence à se développer en saprophyte sur des débris végétaux avant de devenir parasite. Durant l'hiver, il se conserve sous forme de **sclérotés\*** sur les rameaux ou sous l'épiderme de l'écorce sous forme mycélienne. Au printemps, les sclérotés et le mycélium produisent des **conidies\***. La pluie et le vent sont à l'origine de leur propagation. Durant la journée, la propagation a lieu en fonction du taux d'humidité relative (HR). Elle est, en général, optimale entre 14 et 15 heures, période durant laquelle ce taux d'humidité (HR) est le plus faible. Au contraire, la nuit, par beau temps, il n'y a presque pas de conidies dans l'air. Durant l'année, cette propagation a lieu en avril-mai et augmente progressivement pour

atteindre un taux élevé au moment de la véraison et un maximum avant et lors des vendanges. Elle prend généralement fin en novembre. Quand les hivers sont doux et pluvieux, le champignon n'entre pas en phase de conservation et des conidies sont présentes, en faible nombre, dans l'air, toute l'année.

*B. cinerea* est un pathogène à germination rapide qui pénètre dans l'hôte quand ses tissus sont abîmés ou très sensibles. Il apprécie la chaleur modérée (environ 20°C) et sa température optimale se situe entre 19 et 23°C avec une humidité avoisinante de 90 à 100%. Son mycélium est de forme cloisonnée et de couleur brun olivâtre. Les organes portant les conidies, les conidiophores, sont trapus et fongés. Lorsque les conditions climatiques sont défavorables, à l'automne ou en début d'hiver, le champignon peut produire des sclérotés noirs. En culture *in vitro* le mycélium de *B. cinerea* se développe très rapidement et passe du blanc au brun olivâtre.

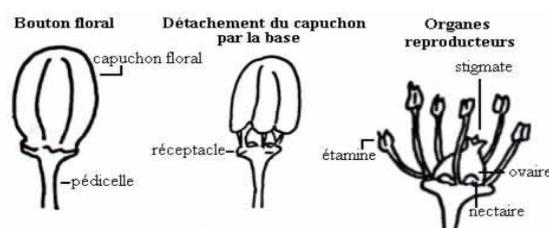
Figure 1: Cycle biologique de la pourriture grise



D'après Bernadette Dubos, « Les maladies cryptogamiques de la vigne ».

Le champignon peut entrer dans les baies à la base des pièces florales : **capuchons floraux\***, style et stigmates, étamines. Ainsi la contamination des capuchons floraux est un bon indicateur de risque de *Botrytis cinerea* dans le but de connaître son niveau de population. La fleur de vigne a la particularité d'éclorre par le bas, ainsi le capuchon floral (ensemble des pétales) se détache par la base (fig. 3). C'est au stade de floraison de la vigne que les fleurs situées sur l'inflorescence, la future grappe, s'ouvrent et se développent. Les capuchons floraux se détachent de leur base puis sont repoussés vers le haut (par les étamines arrivées à maturité) et tombent. Cependant, par temps pluvieux ils peuvent rester accrochés à la fleur puis à la baie ce qui permet à *B. cinerea* de s'installer et d'infecter. Lors de sa formation, la baie, peut ainsi être contaminée par le champignon et celui-ci peut rester en état de latence (quiescence) jusqu'à la maturation de la baie qui sera ensuite éventuellement colonisée.

Figure 2: Schéma de l'évolution de la fleur de vigne



Les attaques de pourriture grise dans un vignoble engendrent des pertes de rendements ainsi qu'une modification de la qualité du vin. En effet, *Botrytis cinerea* produit la laccase qui est une enzyme polyphénol-oxydase responsable de la modification de la couleur du vin (brunissement). Le champignon diminue le degré alcoolique, avec la production de mauvais goûts et arômes. De plus, en année humide, la pourriture grise contraint le viticulteur à un choix difficile entre l'attente de la maturité optimale des baies et le risque de dégâts catastrophiques rapides. Cela obligeant parfois à récolter avant la maturité optimale.

La protection des raisins contre la pourriture grise est effectuée en pulvérisant des fongicides chimiques de synthèse. Elle est établie autour de 4 périodes clés appelées A, B, C (cf : figure stades phénologiques de la baie) et D (environ trois semaine avant la récolte). Il s'agit, le plus souvent, de n'appliquer les traitements qu'au stade A et C (A et B en Champagne), toujours directement sur la zone des grappes. De plus, il est indispensable, pour limiter les phénomènes de résistance aux fongicides que peut développer le champignon, d'alterner les familles de matière active dans la saison et d'une année sur l'autre.

### 3. Vers une protection plus économe contre *Botrytis cinerea* :

Les pesticides utilisés contre *Botrytis cinerea* entraînent de graves problèmes tels que le développement de souches résistantes du champignon à ces pesticides qui sont la cause de sérieuses pertes économiques occasionnant des coûts élevés. D'autre part, les résidus sur les grappes et dans le vin entraînent divers effets divers sur la santé de l'Homme et sur l'environnement.

Pour la gestion de *Botrytis cinerea*, une règle de décision a été établie. Parmi les indicateurs de risque aidant à savoir s'il faut traiter, il y a le PRB (Potentiel de Réceptivité des baies) qui est un indicateur de risque au vignoble de *B. cinerea*. Il correspond au rapport entre la teneur en PSE (Pectines hydrosolubles) et la teneur en CP (Composés Phénoliques alcalino-solubles). Les PSE sont facilement dégradables par *B. cinerea* ce qui favorise son développement. Alors que les tanins sont des molécules de défense contre le champignon. Le PRB étant le rapport PSE/CP, un PRB élevé traduit une grande sensibilité potentielle à *B. cinerea*, tandis qu'un PRB faible traduit un potentiel limité de développement de la maladie. Ces indicateurs de risques ont tendance à faire traiter au stade B bien avant la récolte, uniquement lorsque la situation laisse présager un risque de contamination par le champignon. Les essais biologiques montrent qu'une baisse importante d'intrants, de l'ordre de -50%, peut être obtenue en suivant les préconisations de ce projet.

Par ailleurs, des études ont montré les activités antagonistes de différentes espèces de bactéries, champignons et levures envers l'agent fongique *Botrytis cinerea* sur la vigne. Cependant, peu de traitements bactériens sont commercialisés pour le contrôle de cette maladie.

Dans l'unité SAVE de l'INRA, l'activité antagoniste de 46 souches bactériennes a été testée sur des disques de feuilles de vigne contre deux types de souches pathogènes de *Botrytis cinerea* (transposa et vacuma) à forte importance épidémiologique dans les vignobles (Haidar, et al, 2016). De plus, des tests ont pu être réalisés sur l'efficacité des souches bactériennes sur des baies blessées et non blessées. La bactérie *Bacillus ginsengihumi* (S38) a été la plus efficace parmi les sept souches bactériennes ayant montré plus de 80% d'inhibition de *B. cinerea*. En effet, S38 a le meilleur taux d'inhibition du développement de la maladie sur feuille avec 94% sur vacuma et 91% sur transposa. Cette souche bactérienne montre aussi une réduction importante du développement de la pourriture grise sur les baies, notamment sur les baies blessées, à l'inverse des autres souches étudiées. Il s'agit donc d'une souche possédant un bon potentiel comme agent de contrôle biologique contre *Botrytis cinerea* sur la vigne.

#### 4. La bactérie *Bacillus ginsengihumi* (S38) :

La bactérie S38, antagoniste de *B. cinerea*, utilisée dans le biocontrôle, a pour mode d'action l'antibiose. L'antibiose est une compétition par des molécules chimiques fongitoxiques. Il s'agit d'une interaction entre deux espèces dans laquelle une des deux inhibe le développement de l'autre et gagne ainsi un accès plus grand aux ressources trophiques du **biotop**e\*.

La bactérie S38 fait partie de la famille des Bacillaceae. Cette famille regroupe toutes les bactéries **sporogènes**\* et comprend deux genres différents :

- le genre *Bacillus* formé de bacilles **Gram**\* +, aérobies stricts ou facultatifs
- le genre *Clostridium* constitué de bacilles Gram +, anaérobies stricts

Les bactéries appartenant au genre *Clostridium* sont des germes saprophytes telluriques (du sol), S38 en fait partie. Les saprophytes sont des hôtes du sol que l'on rencontre partout et sont généralement dépourvus de pouvoir pathogène. Cependant, ils sont fréquents comme contaminant dans les produits pathologiques et les milieux de culture et peuvent éventuellement intervenir comme pathogènes opportunistes. Ils peuvent devenir pathogènes dans certaines conditions, lorsque le système immunitaire et la résistance d'un individu sont affaiblis. Ils peuvent d'ailleurs être amenés à jouer ce rôle lors d'une perfusion effectuée avec un liquide contaminé introduisant ainsi directement les germes au sein de l'organisme où ils se développent. Toutefois, ils sont d'intérêt dans l'industrie médicale car beaucoup élaborent des antibiotiques. Leur température optimale de croissance varie selon les espèces, pouvant aller de 28°C à 50°C mais la plupart se développent mieux à 30°C.

## II / Contamination des capuchons floraux par *Botrytis cinerea* :

### 1. But et principe :

Le but est de déterminer le taux de contamination des Capuchons floraux (CF) par *Botrytis cinerea* sur le Merlot de la parcelle INRA de référence de La Grande Ferrade à Villenave d'ornon à deux dates différentes afin d'étudier l'évolution du taux de contamination des CF en 2019 sur cette parcelle. Ce taux de contamination est l'un des indicateurs du risque potentiel de dégâts de pourriture grise à la récolte.

Le principe est de déposer des capuchons floraux en conditions stériles dans des boîtes de Petri contenant du malt-agar-chloramphenicol (également appelé MAC : 15g malt, 20g agar, 100mg de l'antibiotique chloramphenicol / litre d'eau distillée). Dans 30mL d'alcool 3g de l'antibiotique sont dissous (solution conservée à -20°C). 1mL de cette solution est ajouté au milieu malt-agar après sa stérilisation (20 min à 120°C). Le milieu MAC est idéal pour la culture des champignons et défavorable au développement des bactéries en raison de l'antibiotique ajouté. Les boîtes sont ensuite, mises en incubation à 21°C (21,7°C mesurés), température optimale pour le développement de *B. cinerea*. Les colonies du champignon sont observées visuellement directement ou à la loupe binoculaire et dénombrées pour en déduire le taux de capuchons floraux contaminés par le pathogène.

## 2. Matériel et méthode :

### a. Prélèvements :

Le lundi 3 juin 2019, nous avons réalisé le premier prélèvement, il faisait beau et chaud depuis environ 4 jours, ce qui a permis aux baies de raisin de grossir. Nous avons procédé à un deuxième prélèvement, le 12 juin 2019, suite à un temps pluvieux et des températures fraîches depuis quelques jours.

Pour prélever les capuchons floraux au vignoble les inflorescences sont agitées doucement au-dessus de boîtes de Petri neuves, stériles et vides, dans lesquelles tombent les CF. Une boîte bien remplie contient au moins une cinquantaine de CF. En prélevant de façon aléatoire sur la parcelle nous avons utilisé 17 boîtes. Nous avons refermé chaque boîte avec du film alimentaire transparent pour éviter des contaminations ultérieures. Les boîtes ont été stockées dans un frigo (5°C) pour conserver les échantillons et ne pas fausser les résultats suite à une possible évolution microbienne, si on les avait laissées à température ambiante.

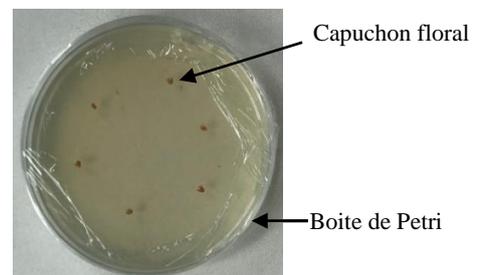
### b. Ensemencement :

Sous une hotte à flux laminaire stérile, préalablement désinfectée à l'éthanol, nous utilisons des boîtes de Petri contenant du milieu de culture MAC, des pinces fines, de l'éthanol et les capuchons floraux prélevés. Nous avons utilisé 18 boîtes de MAC contenant 6 capuchons floraux chacune, pour chaque date de prélèvement. Sous la hotte à flux laminaire les pinces sont stérilisées en les trempant dans l'éthanol, puis en les passant à la flamme. Il faut ensuite piquer les pinces dans le milieu d'une boîte de MAC pour les refroidir. Par la suite, 6 capuchons floraux sont déposés par boîte de MAC à l'aide des pinces stérilisées.

Les capuchons floraux doivent être disposés en un cercle assez grand (sans en placer un au centre de la boîte) pour faciliter le dénombrement ultérieur de capuchons contaminés par *B. cinerea*.

Les boîtes préparées sont datées et entourées de film alimentaire transparent pour éviter toute contamination.

Enfin, elles sont mises à incuber dans la chambre climatique à 21°C pendant 5, 9 et 19 jours (21,7°C mesurés).



### c. Observation à 5, 9 et 19 jours après incubation :

La première notation, à 5 jours, évalue le développement mycélien des colonies de *B. cinerea*. Un tracé au feutre délimite, au dos de la boîte de Petri, les contours des **mycélium\*** blanc-gris, qui à ce stade n'ont pas encore sporulé, pouvant être *B. cinerea*. Une deuxième notation, est effectuée à 9 jours pour déterminer le nombre de colonies de *B. cinerea* en s'assurant visuellement des caractéristiques de la sporulation, principalement la morphologie et la couleur. Cette observation est déterminante pour valider le nombre exact de CF contaminées. Elle peut confirmer ou infirmer les résultats de la première notation. A la loupe binoculaire, chaque mycélium repéré à la première notation est examiné. Une troisième notation, plus précise, est effectuée après 19 jours pour que les colonies aient le temps de bien sporuler à la lumière du jour. Cette notation confirmant les résultats précédents est celle qui est retenue comme résultat définitif

### 3. Résultats et interprétations :

Tableau 1: Taux de contamination des capuchons floraux par *B. cinerea* des trois notations :

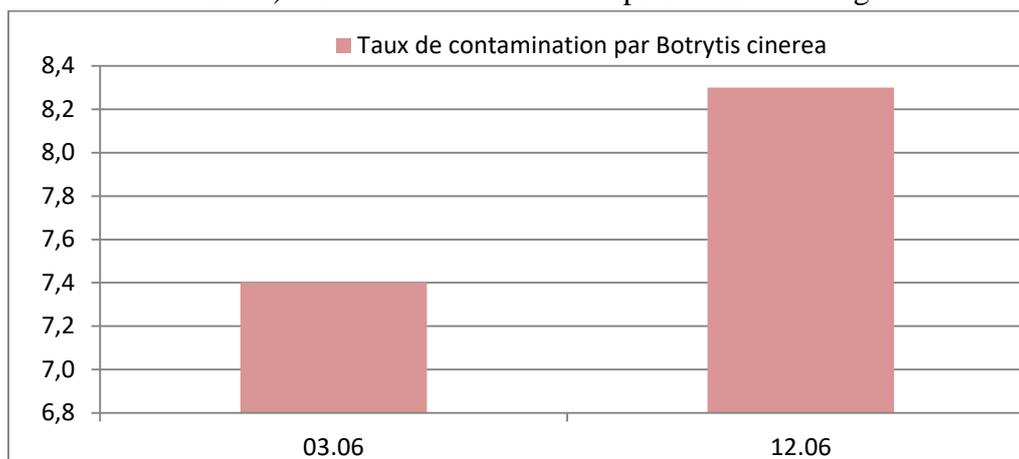
Date de notation	Date de prélèvement	Fréquence en %
<b>17-juin</b>	03 juin	6,5
	12 juin	16,7
<b>21-juin</b>	03 juin	3,7
	12 juin	4,6
<b>01-juil</b>	03 juin	7,4
	12 juin	8,3

Le taux de contamination des capuchons floraux provenant du deuxième prélèvement est toujours plus élevé. Cela peut être dû aux conditions climatiques, en particulier l'hygrométrie, précédant le second prélèvement plus favorables à *B. cinerea*.

**Le taux final de contamination retenu est celui du 1<sup>er</sup> Juillet de 7.4% pour le premier prélèvement, et de 8.3% pour le deuxième prélèvement.**

La deuxième notation (21 juin) montre un taux de contamination moins élevé que les autres. Lors de la 1<sup>ère</sup> notation, tous les mycéliums blancs/clairs ont été retenus comme étant potentiellement *B. cinerea*. La 2<sup>ème</sup> notation n'a retenu que les colonies ayant sporulées. Lors de la 3<sup>ème</sup> notation, de nouvelles sporulations sont apparues et ont été comptées.

Figure 3: Taux de contamination des capuchons floraux par *Botrytis cinerea* (notation finale du 1/07/2019) en fonction de la date de prélèvement au vignoble



Les résultats montrent qu'avec des conditions climatiques instables humides avec des intempéries, entre le 3 et le 12 juin, *B. cinerea* se développe davantage sur les capuchons floraux prélevés lors du 2<sup>ème</sup> prélèvement du 12 juin.

Nous pouvons ainsi retenir que le taux de contaminations de capuchons floraux est de 8.3%, sur la parcelle de la Grande Ferrade. Cela paraît peu. Cependant, le prélèvement est effectué seulement au stade de la fin floraison début nouaison (12 juin). De plus, *B. cinerea* se développe surtout à partir du stade de la véraison, puis lors de la maturation des baies aux mois d'août et de septembre. Ainsi, à ce stade, ce taux peut déjà représenter un inoculum potentiel initial important.

Rappelons que le but de l'étude du taux de capuchons floraux contaminés est d'estimer un des indicateurs du risque potentiel de dégâts à la vendange.

Pour relativiser le taux obtenu en 2019, on peut indiquer qu'en 2012 ce taux était de 10% et a atteint un maximum durant l'année suivante à 39,3% de capuchons floraux contaminés. En 2014 et 2015, ce taux est presque nul, respectivement 0% et 0,7%. Cela montre donc que le taux de contamination des capuchons floraux varie selon les années et les conditions climatiques (et environnementales) de chacune des saisons considérées.

Si l'on compare le taux de 2019 à ceux des années précédentes on peut dire que celui-ci est plutôt médian et proche de celui de 2012. On pourrait alors s'attendre à un taux réel de maladie similaire.

### **III / Le PRB : un indicateur du risque de contamination des vignes par Botrytis :**

#### **1. But et Principe :**

Le but est de déterminer la teneur en tanins des baies pour obtenir le PRB (Potentiel de Réceptivité des Baies) afin de savoir si le risque de contamination des raisins par Botrytis pourrait être élevé en fin de saison. Les viticulteurs pourront ainsi juger le besoin ou non de traiter leur vignoble contre ce champignon.

Le principe est de prélever sur différents cépages (Merlot et Sauvignon) des baies, les peler et broyer leur pellicule afin de doser leur teneur en tanins.

## 2. Matériel et méthode :

### a. Prélèvement :

Vingt grappes sont prélevées au hasard sur chaque parcelle : 3 lots de Merlot, 4 lots de Sauvignon (2 lots sur la parcelle « 52 cépages » et 2 lots de la parcelle météo). Il faut, cependant, choisir des grappes orientées vers l'Est dont les baies sont de grosse taille (protégées du soleil par le feuillage l'après-midi). Il faut aussi écarter les pieds de bordure (début et fin de parcelle), de vigueur inhabituelle, d'âge inférieur à la moyenne et ceux présentant des symptômes divers. Les 20 grappes sont rassemblées par cépage et par lot dans un sac de congélation étiqueté avec la référence du cépage, le numéro du lot, le site et la date. Les grappes sont ensuite congelées à  $-20^{\circ}\text{C}$ .

### b. Paramètres anatomiques de la baie :

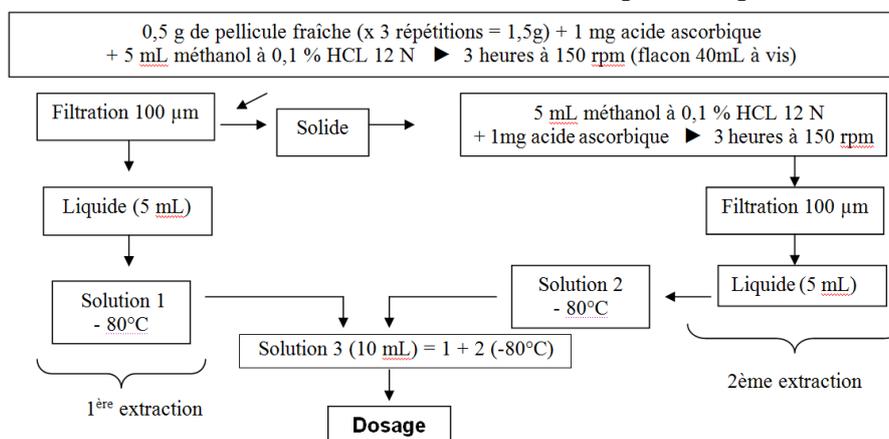
Après sortie du congélateur à  $-20^{\circ}\text{C}$ , les baies gardées toujours congelées grâce à l'azote liquide, sont séparées de la rafle et mélangées afin d'obtenir une population homogène de baies. Trois lots pour Merlot, deux lots pour « Sauvignon météo » et deux lots pour Sauvignon « 52 cépages » de 30 baies sont pesés. Le diamètre de dix baies parmi les 30 est mesuré au pied à coulisse. Ces lots de 30 baies toujours congelées, sont pelés à l'aide d'un scalpel. Afin de ralentir l'oxydation des pellicules, le pelage des baies s'effectue dans un mortier placé dans un bain de glace. Les baies ne doivent jamais être décongelées et les pellicules doivent être maintenues constamment à  $0^{\circ}\text{C}$  maximum. Une fois épluchées, les pellicules sont replacées le plus rapidement possible au congélateur à  $-20^{\circ}\text{C}$ .

Ensuite, les pellicules sont broyées avec un mortier et un pilon dans l'azote liquide puis pesées (masse de poudre fraîche) et conservées congelées. A ce stade, la couleur verte des échantillons est un témoin d'une bonne procédure dans le suivi de la chaîne du froid, sans oxydation.

Afin de connaître la teneur en eau des pellicules, 3 lots supplémentaires (correspondant à chaque cépage) de 30 baies chacun, sont pesés, pelés, puis les pellicules sont pesées (masse fraîche), puis séchées à l'étuve à  $30^{\circ}\text{C}$  (pendant 3 jours) et pesées à nouveau (masse sèche) et conservées au froid et à l'obscurité.

### c. Dosage des tanins condensés :

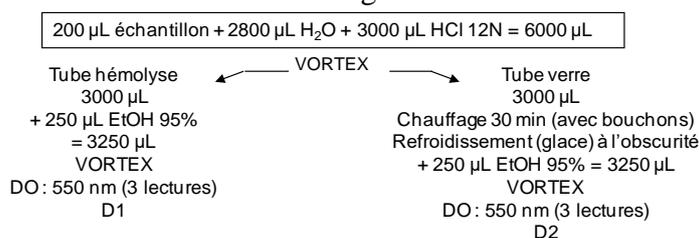
Schéma 1 : Extraction des tanins condensés à partir de pellicules :



3 répétitions à partir de 0,5g de pellicules fraîches sont réalisées pour chacun des 7 lots (3 Merlot + 4 Sauvignon), soit 21 analyses au total. La macération se fait à température ambiante et sous agitation modérée à 150rpm (tour par minute). Une fois filtrés, les broyats de pellicules sont extraits une deuxième fois dans les mêmes conditions. Les dosages sont effectués ultérieurement sur la solution 3 finale conservée à -80°C (schéma 1).

Cette méthode de **Ribéreau-Gayon et Stonestreet\*** utilise la propriété des tanins à se transformer en anthocyanes par chauffage en milieu acide. Les résultats présentent la moyenne de 3 répétitions par extraction et sont exprimés en mg de tanins par g de matière fraîche (mg.g<sup>-1</sup> MF).

Schéma 2 : Dosage des tanins :



La solution de base de 6mL est réalisée dans des tubes en verre pour toutes les modalités. L'HCL et l'eau sont ajoutés, respectivement dans cet ordre, à l'échantillon à l'aide de distributeurs. 3mL en sont prélevés et transférés dans des tubes à hémolyse à l'aide d'une pipette graduée et d'une poire. L'éthanol est ajouté grâce à une micropipette. Les solutions obtenues (D1) sont directement passées au spectrophotomètre dans des cuves en plastique (3 répétitions par solution D1). Les tubes en verres (contenant les 3mL restant), sont mis à chauffer au bain marie pendant 30min puis à refroidir dans de la glace et à l'obscurité pendant 20 minutes. Enfin, nous ajoutons de l'éthanol afin d'obtenir D2 et nous les passons au spectrophotomètre de la même manière que précédemment.

La différence  $D = D2 - D1$  de la DO à 550 nm permet d'obtenir la concentration en tanins :

$$\frac{\Delta DO \times 76,35}{2 \times \text{masse de pellicule pesée (environ 0,5g de PE)}}$$

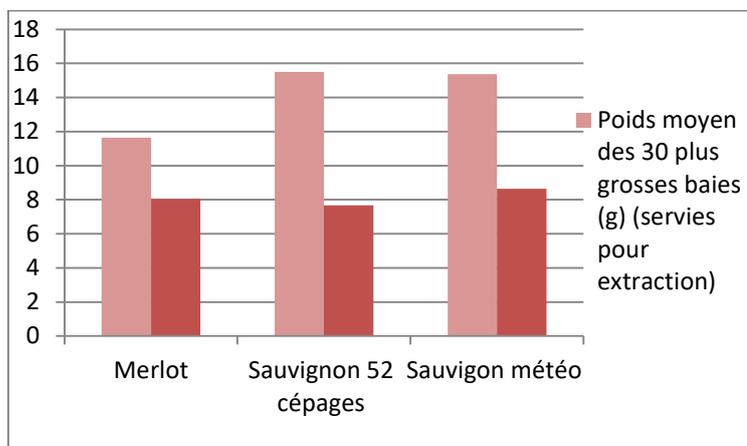
### 3. Résultats et interprétation :

Les paramètres anatomiques des baies ont été réalisés pour chaque lot de chaque cépage puis, dans chaque cas, la moyenne a été déduite (tableau 2 et figure 4).

Tableau 2: paramètres anatomiques moyens des baies par cépage prélevées le 25 juin (1<sup>er</sup> juillet Sauvignon « météo »)

	Poids moyen des 30 plus grosses baies (g) (utilisées pour extraction)	Diamètre moyen de 10 baies parmi les 30 baies (mm)
Merlot	11,6395	8,05
Sauvignon 52 cépages	15,5015	7,675
Sauvignon météo	15,37	8,6485

Figure 4: paramètres anatomiques moyens des baies par cépage / parcelle prélevées le 25 juin (1<sup>er</sup> juillet Sauvignon « météo »)

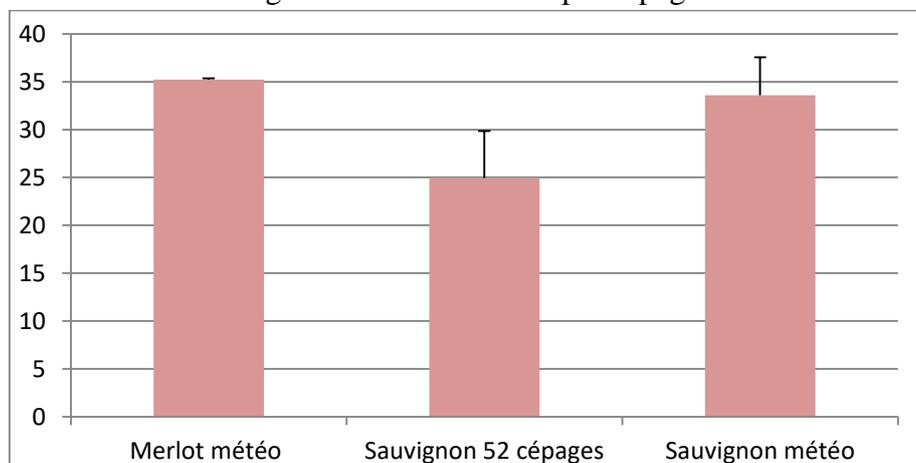


Ces mesures mettent en évidence le fait que Sauvignon « météo » a des baies plus grosses que les deux autres cépages étudiés. Cependant, il faut prendre en compte le fait que les baies de cette parcelle (Sauvignon météo) ont été prélevées le 1<sup>er</sup> juillet alors que ceux du Merlot météo et du Sauvignon « 52 cépages » ont été prélevés le 25 juin parce qu’elles avaient un retard de croissance. Celui-ci peut s’expliquer par le fait que ce Sauvignon de la parcelle « météo » est plus âgé et malade, il n’a donc pas la même vigueur que les autres parcelles. En écartant ce cépage, on considère Merlot météo comme ayant les baies de diamètre le plus grand et Sauvignon « 52 cépages » comme ayant les baies les plus lourdes.

Tableau 3: Taux de tanins par cépage

	Merlot météo	Sauvignon 52 cépages	Sauvignon météo
Taux de tanins (g/MF de pellicules)	35,24	24,96	33,58
Ecartype	0,13	4,90	3,96

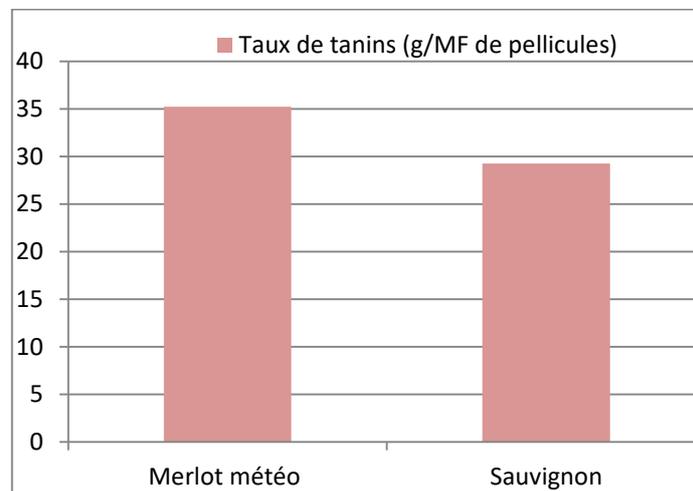
Figure 5: Taux de tanins par cépage



La figure 5 présente le taux de tanins des baies par cépage. Ce taux est plus élevé pour Merlot météo, (35,24g/MF de pellicules), comme c'était le cas les deux années précédentes (annexe 2). Ainsi en 2019, le cépage Merlot sera, à priori, moins exposé au risque de dégâts de pourriture grise que le cépage Sauvignon.

Alors que le Merlot a le taux de tanins le plus élevé, la valeur de Sauvignon « météo » est plus élevée que celle de Sauvignon « 52 cépages ». Toutefois, rappelons que la parcelle Sauvignon « météo » est une vieille parcelle. Ainsi nous pouvons supposer que son taux de tanins est plus élevé que celui de Sauvignon « 52 cépages » de par son âge et son état. L'état sanitaire de la parcelle Sauvignon « météo » est très dégradé par les maladies du bois et les tanins font partie des métabolites secondaires produits par les plantes comme moyen de défense. Sauvignon « météo » pourrait alors en produire en plus grande quantité, grâce à son âge et afin aussi de lutter contre les multiples attaques fongiques pré-existantes.

Figure 6: Taux de tanins



Les valeurs officielles du PRB de 2019 présentées aux viticulteurs bordelais (via le CIVB) reposent donc sur les concentrations moyennes en tanins respectivement de 35,2 mg tanins/ g de pellicule pour le Merlot et de 29,3 mg de tanins/g de pellicule pour le Sauvignon (moyenne des deux parcelles de Sauvignon). Le Sauvignon est connu pour être plus sensible à la pourriture grise que le Merlot. Cependant le PRB reste un indicateur de tendance dont l'interprétation doit être relativisée par les conditions climatiques en fin de saison qui restent essentielles pour expliquer le taux de maladie final.

#### **IV / Etude de l'effet du pH sur la croissance d'une bactérie antagoniste de *B. cinerea***

##### **1. But et principe :**

Le but est d'étudier la bactérie *Bacillus ginsengihumi* (S38) en tant qu'agent de lutte biologique contre Botrytis. Le pH de son milieu de culture agit-il sur sa croissance et sa multiplication ?

Le principe est d'ensemencer la bactérie dans un milieu à 4 pH différents. Trois répétitions par pH sont réalisées. Deux répétitions d'étalements de ces bactéries sont effectuées avec des lectures échelonnées à 3 temps d'incubation différents (10h, 24h, 48h).

## 2. Matériel et méthode :

### a. Première étape : préparation des milieux et ensemencement :

Tout d'abord, nous avons préparé un milieu 863 ajusté à pH 3, 4, 5 et 7 pour la croissance de la bactérie S38 ainsi que le milieu TSA (Trypto-caseine Soy Agar) nécessaire aux étalements des dilutions de S38.

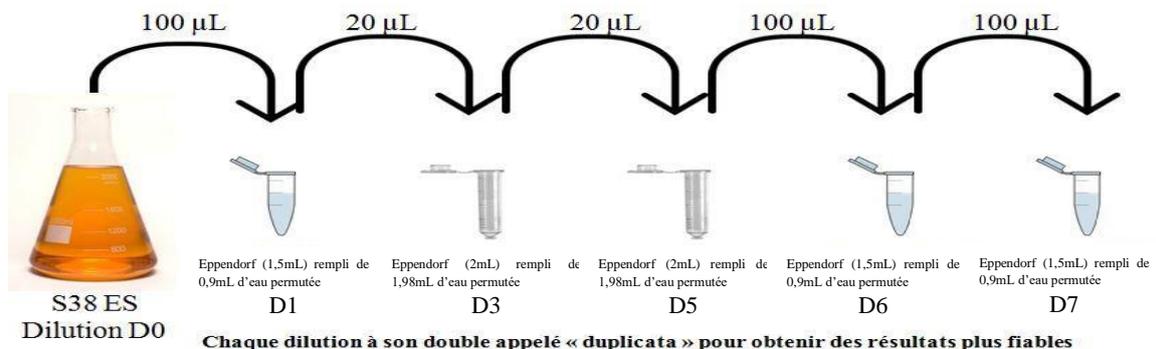
Nous avons préparé 500 mL de milieu 863 pour chaque pH. Pour cela, 10g de glucose, 5g de peptone et 5g de yeast extract sont versés dans un flacon de 1L puis 500 mL d'eau permutée sont ajoutés peu à peu. Le milieu est agité de temps en temps pour bien dissoudre les ingrédients. Cette étape est effectuée quatre fois afin d'avoir quatre flacons du même milieu dont chacun est ajusté à un pH différent (3, 4, 5 et 7). Nous avons utilisé un pH-mètre afin de contrôler le pH en ajoutant de l'acide citrique pour l'ajustement des pH acides (3, 4, 5) et du NaOH pour le pH 7. Le pH du milieu avant ajustement était de 6,64. Les milieux sont ensuite répartis dans des piluliers sur lesquels sont notés le pH et le numéro de la répétition correspondant.

En suivant le mode d'emploi précisé sur le flacon, 40g de TSA (Trypto-caseine Soy Agar) en poudre pour 1L de milieu, 200g de TSA (en poudre) sont mélangés à 5L d'eau permutée. Les flacons contenant les différents milieux sont ensuite bouchés et mis à l'autoclave humide à 120°C pendant 20 minutes afin d'être stérilisés. Après refroidissement, le milieu TSA est coulé à l'aide d'un distributeur dans des boîtes de Petri sous hotte stérile et la bactérie S38 est ensemencée dans chaque pilulier. L'ensemencement se fait sous hotte à flux laminaire, après traitement des mains à l'éthanol.

Pour le calibrage et la reproductivité des ensemencements des flacons contenant les milieux de culture aux pH différenciés, 2 longueurs de boîte de Petri (contenant la bactérie S38) sont prélevés à l'aide d'un ensemenceur et déposés dans chaque flacon.

### b. Deuxième étape : dilutions et étalements :

La dilution/étalement est une technique de dénombrement classique des colonies de bactéries. Une expérimentation comparable effectuée précédemment avec une autre bactérie (BUZ14) nous incite à faire une gamme d'étalement aux dilutions  $10^5$  (D5),  $10^6$  (D6),  $10^7$  (D7). Le dénombrement des colonies bactériennes est effectué après environ 30 heures d'incubation à 30°C.



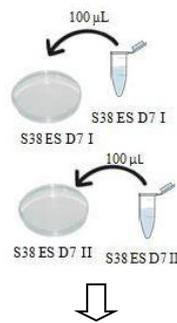
A la deuxième étape du schéma ci-dessus, nous obtenons une dilution au  $1/10^0$  (Eppendorf D1). Par dilution successives, nous obtenons les dilutions D5, D6, D7 pour les étalements.

Cette opération de dilution est renouvelée à partir de D0 pour effectuer les étalements double.

Pour un pH et un temps d'incubation, six boîtes de Petri (3 dilutions x 2 répétitions) contenant du milieu TSA (Trypto-caseine Soy Agar) sont séchées (boîtes ouvertes sans couvercle) sous une hotte à flux laminaire pendant 20 minutes. Cela évite la présence d'une fine pellicule d'humidité à la surface du milieu dans laquelle les bactéries se développent, comme un film homogène, sans pouvoir les compter.

Le pH, le temps d'incubation, la dilution et la répétition sont référencés sur chaque boîte de Petri.

Voici un exemple avec la dilution D7 :



**Ensemencement :** 100µL de l'échantillon correspondant en commençant par D7 et sans changer l'embout de la micropipette faire de même avec les dilutions D6 et D5 (idem pour la répétition) puisqu'on passe d'une concentration moins élevée à une concentration plus élevée. Bien agiter les eppendorfs (10s) avec un vortex avant chaque ensemencement

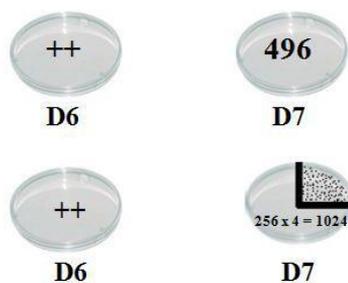
**Étalement :** avec deux râtaux stérilisés à l'éthanol et à la flamme (un pour chaque trio de boîte : D5 I / D6 I / D7 I et D5 II / D6 II / D7 II) en commençant par la dilution la plus élevée pour les mêmes raisons que précédemment.

Incubation à 28°C pendant environ 30h

### c. Troisième étape : dénombrement :

Pour le dénombrement l'exemple suivant, avec les dilutions  $10^6$  et  $10^7$ , montre comment procéder :

#### Comptage



Si une des boîtes ayant la dilution la + élevée possède + de 300 bactéries, on ne compte pas la boîte la - diluée on écrit simplement « ++ » sur la boîte la - diluée car cette boîte étant + concentrée elle aura forcément + de bactéries. Si la boîte de TSA possède beaucoup de colonies de manière homogènes, compter la moitié de la boîte, le quart, le huitième ou encore le seizième, il suffit juste de multiplier par le nombre correspondant pour avoir le nombre de bactéries total dans une boîte entière.

**Si la boîte possède une colonie jaunâtre très présente il faut noter « cont » qui est l'abréviation de « contaminé ».**

Noter ensuite les résultats dans un tableau et faire la moyenne, en tenant compte des dilutions et du passage de µL à mL. Voici un exemple :

	I	II
D5	290	185
D6	82	57
D7	12	9

Comptage = somme des bactéries / nombre de boîte comptée

Moyenne du comptage =  $(290+185)/2 = 237,5$  (pour 100µL) soit une concentration de  $2,375.10^8$  car on est à la dilution D5 on a donc  $2,375.10^7$  bactéries et le passage µL à mL nous impose de multiplier le nombre de bactérie par  $10^1$ . La solution bactérienne de S38 à donc une concentration en bactérie de  $2,375.10^8$  UFC/mL.

### 3. Résultat et interprétation :

Les moyennes renforcées du nombre de colonies de S38, proviennent de calculs avec les moyennes des dilutions 5 et 6 sauf quand les dilutions 6 et 7 ont été utilisées, c'est le cas pour le pH 7 à 48h, cela pour chaque pH et à chaque heure étudiée entre 0h et 48h.

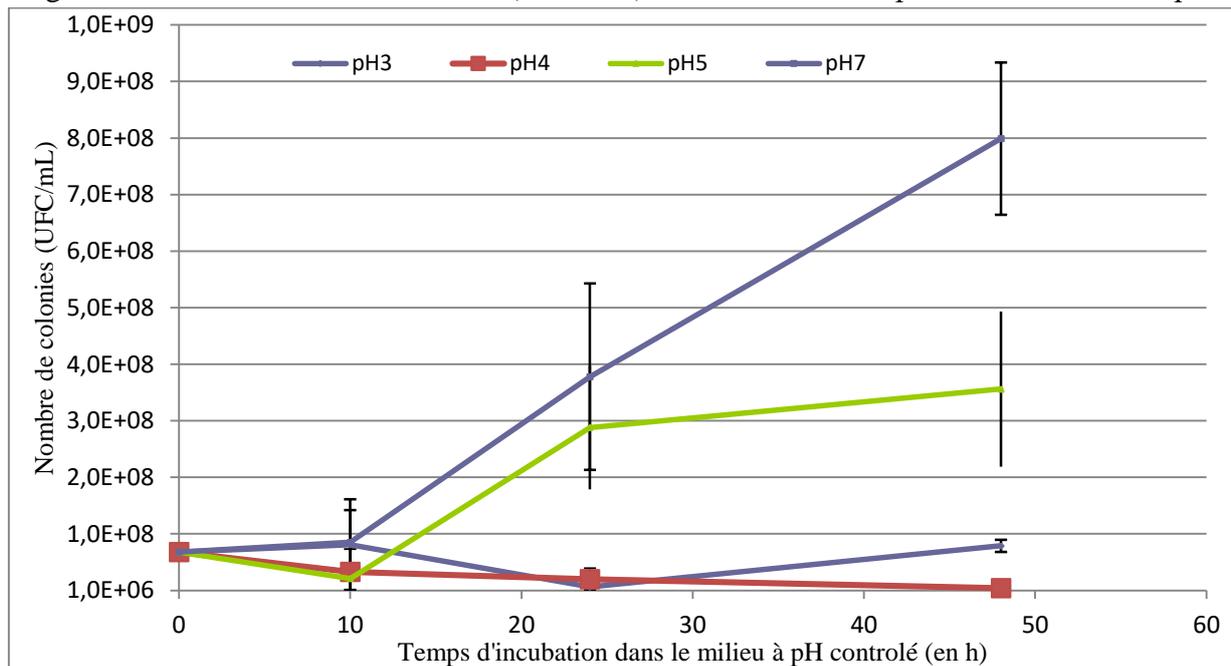
En effet, à pH 7, au temps d'incubation de 48h, les dilutions 6 et 7 sont choisies pour améliorer la précision du nombre de colonies. A ces dilutions, il est plus facile de les compter car le nombre de colonies est moins important.

Tableau 4: Moyenne renforcée du nombre de colonies de S38

	pH3	pH4	pH5	pH7
0	6,9E+07	6,90E+07	6,90E+07	6,90E+07
10	8,20E+07	3,40E+07	2,20E+07	8,60E+07
24	7,00E+06	2,10E+07	2,89E+08	3,79E+08
48	8,00E+07	5,00E+06	3,57E+08	8,00E+08

Les moyennes renforcées ont servi à réaliser le graphique suivant :

Figure 7: Nombre de colonies de S38 (UFC/mL) en fonction du temps d'incubation et du pH



Nous pouvons clairement constater que la bactérie se développe plus facilement dans un milieu à pH neutre. Cependant, elle semble aussi bien se développer dans le milieu un peu plus acide, initialement ajusté à pH 5. En effet, on n'observe pas d'évolution notable des bactéries de 0h à 10h d'incubation avec un nombre de colonies qui passe de  $6,90 \cdot 10^7$  à  $2,20 \cdot 10^7$ . Cependant, après 10h d'incubation, un pic de croissance de la bactérie est observé qui tend à se stabiliser après 24h d'incubation (de  $2,20 \cdot 10^7$  à  $2,89 \cdot 10^8$ ). Ce phénomène pourrait s'expliquer par le fait que lorsqu'un micro-organisme se développe il pourrait faire varier un peu le pH de son milieu afin de lui être plus favorable. Le pH 3, cependant, semble

être trop acide pour favoriser le développement de la bactérie S38. En effet, on sait que le pH affecte considérablement la croissance des bactéries. Une forte variation du pH endommage les bactéries en : 1 : détruisant leur membrane plasmique et les protéines membranaires de transport et 2 : en inhibant l'activité enzymatique.

Dans le milieu ajusté à pH 4, on observe une baisse de la croissance tout au long de l'essai passant ainsi de  $6,90 \cdot 10^7$ , à 0h, à  $5 \cdot 10^6$ , au bout de 48h. Cependant le nombre de bactéries reste stable aux alentours de  $3 \cdot 10^7$  entre 10h et 24h. Cette évolution est sûrement non significativement différente de celle à pH 3. Comme à pH 3 le pH est trop acide pour que la bactérie se développe et se multiplie.

Nous pouvons aussi constater, grâce aux écarts-types, une certaine variabilité du nombre de colonie pour un pH à un temps d'incubation qui diffère à chaque répétition.

Il semble donc que pour un milieu ajusté au début d'essai, à un pH légèrement acide (pH=5) la bactérie pourrait modifier le pH de son milieu pour le rendre plus neutre afin d'adapter son environnement et favoriser sa croissance. Toutefois, la bactérie trouve son optimum de développement dans un milieu à pH initialement neutre. Enfin, les pH trop acides (pH=3 et pH=4) s'avèrent également défavorables à la croissance et au développement de la bactérie.

La même étude a été faite sur une autre bactérie antagoniste de *B. cinerea*, nommée BUZ 14. Cette étude a révélé des résultats similaires aux résultats que nous avons obtenus ici. En effet, BUZ 14 a aussi un optimum de développement avec un pH neutre (pH=7). Cependant elle se développe aussi bien avec un pH légèrement acide (pH=5). De même, les pH trop acides (pH=3 et pH=4) sont défavorables à son développement et à sa croissance.

Figure 8 : Nombre de colonies de BUZ 14 (UFC/mL) en fonction du temps d'incubation et du pH

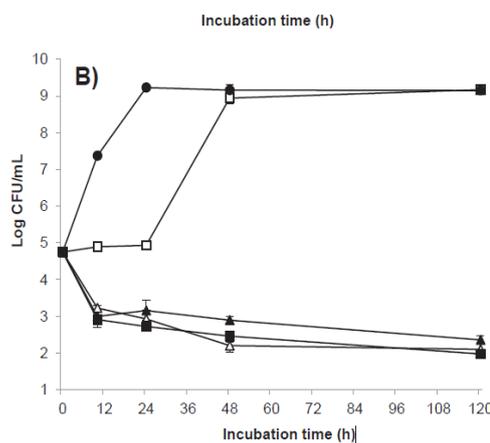


Fig. 1. Growth of *B. amyloliquefaciens* BUZ-14 in 863 medium. Effect of the temperature: 4 (▲), 10 (△), 20 (■), 30 (□) and 37 (●) °C and endospore production at 30 °C (×) (A). Effect of the pH: 3.0 (▲), 4.0 (△), 4.5 (■), 5.0 (□) and 7.0 (●) (B). Each value is the mean of three separate replicates of three Erlenmeyer flasks each and vertical bars represent the standard error of the mean.

(Calvo, 2017)

Ces deux bactéries faisant partie des bactéries antagonistes de *Botrytis cinerea* les plus efficaces (selon les tests de l'INRA) et sachant que la maladie se développe sur un milieu (baies de raisin) à un pH à 4, cela pourrait alors montrer que malgré l'efficacité avérée de ces bactéries sur ce champignon, elles ne pourraient pas être à 100% efficaces sur le terrain.

## Conclusion

Durant mon stage, mes objectifs étaient d'étudier deux indicateurs de risque épidémique de *Botrytis cinerea* : le taux de contamination des capuchons floraux et le PRB sur des parcelles INRA de la Grande Ferrade. Le but est de prévoir le développement de la pourriture grise et ainsi renseigner les viticulteurs sur le besoin ou non de traiter le vignoble à la mi-saison (environ mi-juillet).

Le taux de contamination des capuchons floraux par *B. cinerea* au stade de la floraison-nouaison est de 8,3 %. En comparaison aux années précédentes, cela représente un inoculum assez important. De plus, le PRB de 2019 indique des concentrations moyennes en tanins de 35,2 mg tanins / g de pellicule pour le Merlot et de 29,3 mg de tanins / g de pellicule pour le Sauvignon. C'est cohérent avec une plus grande sensibilité connue à la pourriture grise du Sauvignon. Cependant les conditions climatiques étant importantes pour le développement du champignon, si l'été est sec et chaud il sera inhibé, voire détruit car ces conditions ne lui sont favorables.

Enfin, j'ai étudié l'effet du pH sur la bactérie *Bacillus ginsengihumi* (S38), antagoniste de *B. cinerea*, afin de voir si le pH du milieu de culture est un facteur important sur sa croissance et son efficacité. Les résultats de l'expérimentation présentée ici montrent que la bactérie S38 a son optimum de croissance dans un milieu à pH initialement neutre et serait donc plus efficace à un pH proche de 7. De plus, il semble comme hypothèse qu'à pH 5, elle serait capable de modifier son milieu de culture en augmentant le pH, en adaptant ainsi son environnement et favorisant sa croissance. La mesure du pH du milieu après expérimentation pourrait préciser ce point.

La détermination du taux de capuchons floraux contaminés par *Botrytis cinerea* ainsi que le calcul du PRB devront être fait à nouveau l'année prochaine, comme chaque année afin de prévenir au mieux les viticulteurs des risques épidémiques et de la réelle nécessité ou non de traiter contre le pathogène. Il faudrait, aussi, attendre de voir comment la maladie a poussée par rapport aux prévisions faites.

De plus, il faudrait continuer l'étude des bactéries *Bacillus ginsengihumi* (S38) et *Bacillus amyloliquefaciens* (BUZ 14) dans l'espoir qu'elle puisse un jour se substituer aux pesticides.

## Bibliographie

### **Introduction:**

<http://institut.inra.fr/>

<https://www6.bordeaux-aquitaine.inra.fr/sante-agroecologie-vignoble>

### **Partie I:**

[http://www.agrometeo.ch/sites/default/files/documents/stades\\_pheno\\_vigne.pdf](http://www.agrometeo.ch/sites/default/files/documents/stades_pheno_vigne.pdf)

<https://www.revuevitiarbohorti.ch/produkt/poster-stades-phenologiques-de-la-vigne/>

<https://dico-du-vin.com/pellicule-raisin/>

Dubos Bernadette, « Les maladies cryptogamiques de la vigne »

Davy, Raynal, Vergnes, Debord, Codis, Naud, Deliere, Fermaud, Roudet, Metral, Bouisson, Davidou, Guilbault, Dupin, Genevet, Mahieux, Baron, Perot, 2018, « DECITRAIT : un OAD pour la protection de la vigne », article scientifique tiré de la 12<sup>ème</sup> conférence internationale sur les maladies des plantes

Fermaud, Deytieux-Belleau, Roudet, L'hyvernay, Dorrieuort, Daguisé, Donèche et Genv, « Des indicateurs de risque en développement », article scientifique de Union Gironde

Calvo-Garrido, Haidar, Roudet, Gautier, Fermaud, 2016, « Pre-selection in laboratory tests of survival and competition before field screening of antagonistic bacterial strains against Botrytis bunch rot of grapes », Biological control, 92, p.55-65

Hélène Brossard et Odette Terry « Bactériologie systématique I », livre du centre de documentation pédagogique

### **Partie III :**

Pascal Ribéreau-Gayon et Erick Stonestreet, 1966, « Dosage des tanins du vin rouge et détermination de leur teneur »

### **Partie IV:**

Bertrand, Caumette, Lebaron, Matheron, Normand, « Ecologie microbienne : microbiologie des milieux naturels et anthropisés »

Calvo, Marco, Blanco, Oria, Venturini, 2017, “Potentiel of a new strain of *Bacillus amyloliquefaciens* BUZ-14 as a biocontrol agent of postharvest fruit diseases”, Food microbiology, 63, p. 101-110

## Index

**Phénologie** : étude de l'apparition d'évènements annuels périodiques dans le monde vivant.

**Capuchon floral** : sert de protection aux organes reproducteurs, il s'agit de l'ensemble des pétales

**Antagoniste** : Se dit de toute substance, individu ou phénomène dont l'action est opposée à toute autre substance, individu ou phénomène.

**Entomologie** : partie de la zoologie qui traite des insectes.

**Biocontrôle** : Il s'agit de l'ensemble des méthodes de protection des végétaux qui utilisent des mécanismes naturels. Il vise à la protection des plantes en privilégiant l'utilisation de mécanismes et d'interactions qui régissent les relations entre espèces dans le milieu naturel.

**Fongicide** : Substance (pesticide) conçue pour éliminer ou limiter le développement des champignons parasites des végétaux.

**Maladies cryptogamiques** : Maladie causée par un champignon (ou un autre organisme filamenteux parasite) à une plante.

**Antifongique** : Se dit d'un médicament capable de traiter les mycoses, c'est-à-dire des infections causées par des champignons.

**Saprophyte** : Organisme végétal, fongique ou bactérien capable de se nourrir de matière organique non vivante.

**Parasite** : Se dit d'un organisme vivant qui tire profit d'un organisme hôte pour se nourrir, s'abriter ou se reproduire.

**Sclérote** : Forme de conservation hivernale de *Botrytis cinerea*. Le sclérote est formé de mycélium compact.

**Conidie** : Il s'agit d'une spore assurant la reproduction asexuée des champignons.

**Biotop** : Milieu biologique homogène propre au développement d'une ou de plusieurs espèces.

**Sporogène** : Qui produit des spores.

**Gram** : Il s'agit d'une coloration permettant de mettre en évidence les propriétés de la paroi bactérienne et ainsi pouvoir distinguer et classer les bactéries. On distingue alors les bactéries Gram +, ayant une paroi simple avec une grande quantité de peptidoglycane, et les bactéries Gram -, composées de moins de peptidoglycane mais dotés d'une membrane externe supplémentaire.

**Mycélium** : Il s'agit de l'appareil végétatif des champignons ou de certaines bactéries filamenteuses.

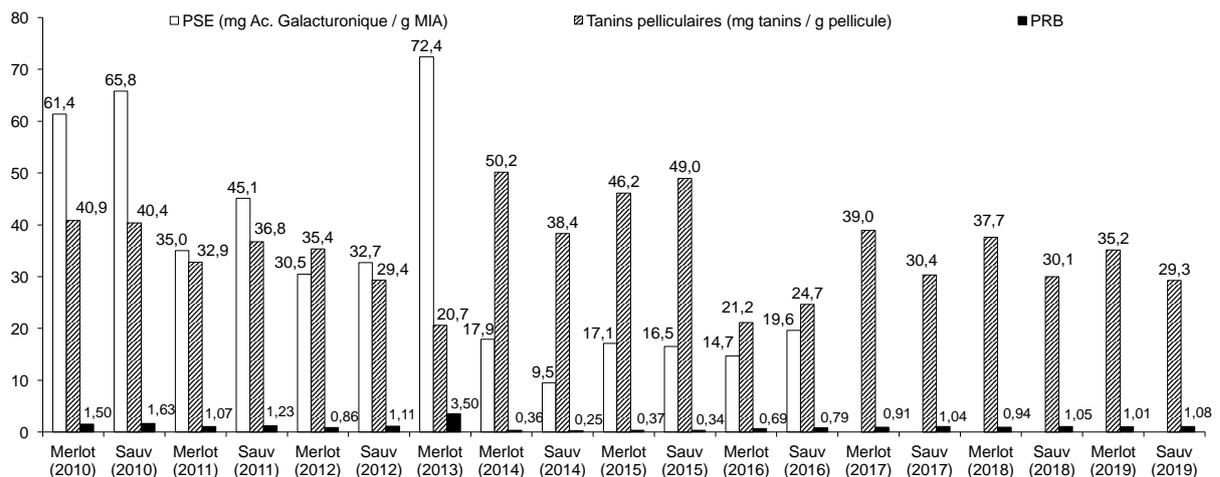
## Annexes

### Annexe 1 : Stades phénologiques de la vigne



D'après le département fédéral de l'économie, station de recherche ACW.

### Annexe 2 : Evolution de la mesure du PRB depuis 2010



## ANNEXES

### ANNEXE 1 (à remettre à l'enseignant référent et au stagiaire)

#### Appréciation du maître de stage

Cette appréciation sera transmise au jury et sera prise en compte dans l'évaluation.  
 Nous vous remercions de remplir cette appréciation avec objectivité, en présence du stagiaire et de la transmettre directement à l'établissement dès la fin du stage au regard de la capacité :

**PRENDRE DES RESPONSABILITÉS ET DES INITIATIVES DANS LE CADRE DE SES ACTIVITÉS PROFESSIONNELLES.**

**Dr. M. FERMAUD et J. ROUDET**

NOM DU MAÎTRE DE STAGE/QUALITÉ:

~~Éarine ROYER DUMONT~~

LIEU DE STAGE:

UMR SAVE - INRA - Villenave d'ORNON

NOM DE L'ÉTUDIANT :

Éarine ROYER-DUMONT

COMPÉTENCES	CRITÈRES					Appréciation
		--	-	+	++	
Compréhension	Appropriation du sujet			x	x	RAS
	Rigueur dans le raisonnement					
Mise en oeuvre	Réinvestissement des informations et des connaissances			x		
	Organisation / planification			x		
	Aptitudes pratiques				x	
	Traçabilité des résultats (Utilisation du cahier de laboratoire)				x	
	Respect des règles de sécurité			x		
Intégration dans le milieu professionnel	Respect des règles d'hygiène				x	
	Adaptabilité			x	x	
	Implication			x		
	Autonomie et esprit d'initiative			x		
	Interactions avec les membres de l'équipe			x		
	Communication / Transmission des informations (rendre compte)			x		

#### Activités réalisées pendant le stage

Différentes manipulations expérimentales microbiologiques et biochimiques. Mise en forme des résultats et interprétation dans le cadre de la rédaction du mémoire faite durant le stage.

Très bonne adéquation entre les attendus initiaux et les réalisations effectuées par Éarine.

#### Appréciation générale sur le stagiaire :

Étudiante très sérieuse, efficace et rigoureuse dans son travail.

Date

Signature du maître de stage

Tampon de l'entreprise

8/8/2019

*M. Fermaud*

Dr. M. FERMAUD

**MINISTÈRE DE L'AGRICULTURE  
I.N.R.A.**

Centre de Recherches de Bordeaux  
U.R. de Santé Végétale - BP 81  
33883 VILLENAVE D'ORNON Cedex (France)