



**HAL**  
open science

# Etude de la contribution de l'eugénol aux mécanismes de défense naturelle du cépage Baco Blanc (Armagnac)

Earine Royer Dumont

► **To cite this version:**

Earine Royer Dumont. Etude de la contribution de l'eugénol aux mécanismes de défense naturelle du cépage Baco Blanc (Armagnac). Life Sciences [q-bio]. 2021. hal-04145291

**HAL Id: hal-04145291**

**<https://hal.inrae.fr/hal-04145291v1>**

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.



# Etude de la contribution de l'eugéno! aux mécanismes de défense naturelle du cépage Baco Blanc (Armagnac)

**Tests de l'action de l'eugéno! et ses  
dérivés sur *Botrytis cinerea*.**

**Earine ROYER DUMONT**  
Licence OBA promotion 2020/2021

Tuteurs professionnels : Marc FEMAUD et Jean ROUDET  
Enseignant tueur : Patricia BALLESTRA

### Remerciements :

Tout d'abord, je tiens à remercier Marc FERMAUD pour m'avoir permis d'effectuer mon projet tutoré dans l'Unité Mixte de Recherche de Santé et Agroécologie du Vignoble de l'INRAE Nouvelle-Aquitaine Bordeaux. Merci pour la confiance qu'il m'a accordée pour la réalisation de ce projet. Merci aussi pour sa patience et le temps qu'il m'a consacré afin de me conseiller au mieux durant cette période et pour la rédaction de mon rapport.

Je remercie énormément Jean ROUDET pour m'avoir accompagné, aidé et conseillé tout au long de ce projet, sur le plan professionnel mais aussi personnel. Merci pour tout le temps qu'il m'a consacré et pour tout ce qu'il m'a apporté.

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

Enfin, je remercie Patricia BALLESTRA pour ses conseils ainsi que l'équipe pédagogique de la licence pour son soutien.

## Résumé

L'interprofession de l'Armagnac a pour souhait de renforcer l'excellence de l'Armagnac. Le cépage Baco Blanc est un hybride tolérant aux pathogènes de la vigne, utilisé pour l'élaboration de l'Armagnac. Le Baco est le seul cépage produisant de l'eugénoL. Dans ce contexte, depuis janvier 2021, l'Institut National de la Recherche pour l'Agriculture l'Alimentation et l'Environnement (INRAE) Nouvelle-Aquitaine-Bordeaux (UMR « Santé et Agroécologie du Vignoble » (SAVE)) à Villenave d'Ornon, mène une étude sur la contribution de l'eugénoL aux mécanismes de défense naturelle du cépage Baco Blanc (Armagnac).

Ma participation à ce projet, dans le cadre du projet tutoré, avait pour objectif la réalisation de tests précisant l'action de l'eugénoL et ses dérivés sur *Botrytis cinerea*, agent de la pourriture des raisins. Le Biotest réalisé a montré une meilleure efficacité pour l'eugénoL parmi les trois produits testés (eugénoL, isoeugénoL, acétate d'eugénoL) sur les trois souches de *Botrytis* (souches 213, populationnelle d'Armagnac, populationnelle de Vitadapt). Plus précisément, il a été constaté que l'eugénoL a une meilleure efficacité et présente plus de régularité avec la souche populationnelle de Vitadapt.

Mots clés : EugénoL, *Botrytis cinerea*, défense naturelle, vigne.

## SOMMAIRE

<b>Introduction :</b> .....	1
<b>I/ Présentation du thème :</b> .....	2
2) Le champignon <i>Botrytis cinerea</i> :.....	2
3) L'eugénol :.....	2
<b>II/ Biotest :</b> .....	3
1) But et principe : .....	3
2) Matériel et méthode :.....	3
<b>b. Préparation des baies :</b> .....	3
<b>c. Imprégnation des baies :</b> .....	4
<b>d. Inoculation des baies :</b> .....	6
3) Résultats et interprétations :.....	6
<b>a. Analyse de l'indice de fréquence :</b> .....	7
<b>b. Analyse de la sévérité globale :</b> .....	9
<b>c. Synthèse des résultats :</b> .....	12
<b>Conclusion :</b> .....	14
<b>Bibliographie :</b> .....	15

## Introduction :

J'ai réalisé mon projet tutoré à l'INRAE au sein de l'UMR SAVE de Villenave d'Ornon. Durant cette période, j'ai contribué à l'étude de la contribution de l'eugénol aux mécanismes de défense naturelle du cépage Baco Blanc (Armagnac).

L'INRAE, Institut National de la Recherche pour l'Agriculture l'Alimentation et l'Environnement, (irstea) 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, rattachée 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.

Le cépage Baco Blanc est un hybride tolérant aux pathogènes de la vigne, utilisé pour l'élaboration de l'Armagnac. Le Baco est le seul cépage produisant de l'eugénol. L'interprofession de l'Armagnac a pour souhait de renforcer l'excellence de l'Armagnac. Dans ce contexte l'une des actions prioritaires est d'étudier la contribution de l'eugénol aux mécanismes de défense naturelle du cépage Baco Blanc et aux qualités organoleptiques de l'Armagnac.

Ma participation dans ce projet a essentiellement pour objectif la réalisation de tests précisant l'action de l'eugénol et ses dérivés sur *Botrytis cinerea*, agent de la pourriture des raisins.

Dans un premier temps, nous verrons une présentation du thème. Puis, nous étudierons l'action de l'eugénol et ses dérivés sur le champignon *Botrytis cinerea*. Pour finir, nous traiterons les résultats et en déduirons une conclusion.

## I/ Présentation du thème :

### 1) Anatomie et composition des baies de vigne :

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.

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

La pourriture grise est une maladie qui touche de nombreuses espèces de fruits dans le monde. 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. *Botrytis cinerea* est un champignon à la fois saprophyte<sup>1</sup> et parasite<sup>2</sup>, ce qui fait sa spécificité. Il commence à se développer en saprophyte sur des débris végétaux avant de devenir parasite.

*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 avoisinant 90 à 100%. En culture in vitro, le mycélium de *B. cinerea* se développe très rapidement et passe du blanc au brun olivâtre.

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, et produit de mauvais goûts et arômes. 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 (fin de floraison), B (fermeture de la grappe), C (Début de véraison) et D (environ trois semaines 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 matières actives dans la saison et d'une année sur l'autre.

### 3) L'eugénol :

L'eugénol est un phénylpropène méthylé. Cette famille chimique assure diverses fonctions chez les plantes comme des fonctions d'attraction de pollinisateurs et/ou de défense. L'eugénol a été identifiée en particulier dans le clou de girofle mais est aussi présent dans de

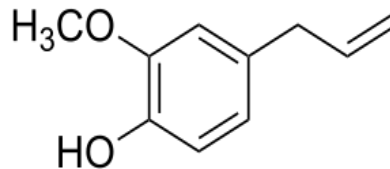
---

<sup>1</sup> Organisme végétal, fongique ou bactérien capable de se nourrir de matière organique non vivante.

<sup>2</sup> Organisme vivant qui tire profit d'un organisme hôte pour se nourrir, s'abriter ou se reproduire.

nombreux végétaux tels que la rose et le basilic. L'eugénol possède des propriétés antiseptiques et antimicrobiennes reconnues ainsi que des propriétés antifongiques. C'est pourquoi il est ciblé comme étant une molécule à très fort potentiel dans le biocontrôle et est déjà étudié pour de possibles applications. Son potentiel par fumigation contre *Rhizopus stolonifer*, pathogène fongique majeur des pêches en conservation, a été montré par de récentes études.

Figure 1 : Molécule d'eugénol



## **II/ Biotest :**

### 1) But et principe :

Ce biotest a pour but de tester la sensibilité à *Botrytis*, avec trois souches différentes, d'un cépage du commerce en présence de phénylpropènes.

Les grappes de raisin sont achetées au supermarché (ici cépage Easy Sweet Seedless) et séparées pour être soumises à deux conditions différentes :

- Condition n°1 : les baies sont passées dans des bains de phénylpropènes à des concentrations différentes, puis positionnées dans des boîtes de pathogénie fermées.
- Condition n°2 : les baies sont positionnées dans des boîtes de pathogénie fermées sous fumigation de phénylpropènes à différentes concentrations.

Sur chaque baie est déposé un implant de *Botrytis cinerea*. Les boîtes de pathogénie sont ensuite mises en incubation dans le noir respectivement à 21°C, température optimale pour *Botrytis*, et à 25°C. Le développement du champignon est observé visuellement pour en déduire le taux de baies contaminées et caractériser la contamination de chaque baie.

### 2) Matériel et méthode :

Début janvier, 25 grappes de raisins, d'un cépage de table blanc, sont achetées de sorte à avoir un nombre théorique de 1 170 baies utilisées. Ces baies sont réparties en 78 boîtes de 15 baies.

#### **a. Lavage des baies :**

Les grappes sont lavées entières deux fois 10 minutes, au laboratoire, sous l'eau courante en continu additionnée de tween 80 (quelques gouttes par litre). Elles sont, ensuite, immergées pour être désinfectées pendant 10 minutes dans une solution d'hypochlorite de calcium à 50 g/L, ajustée à pH 7. Les grappes sont ensuite rincées deux fois dans de l'eau stérile et laissées séchées à température ambiante.

#### **b. Préparation des baies :**



A l'aide d'un ciseau stérile, les baies sont détachées de la rafle en gardant les pédicelles attachés aux baies. Les baies sont choisies non blessées, homogènes en tailles, en couleur et non tachées. Elles sont, ensuite, divisées en lots en fonction des futurs traitements, soit :

- Bain de 3 phénylpropènes (eugénoL, iso-eugénoL, acétate d'eugénoL) dilués dans l'éthanol à concentrations d0, d1, d2 ou d3.
- Fumigation de 3 phénylpropènes (eugénoL, iso-eugénoL, acétate d'eugénoL) aux concentrations d0, d1, d2 ou d3.
- Inoculation de Botrytis avec les souches 213, populationnelle d'Armagnac (Cons32F), populationnelle de Vitadapt ou témoin sans Botrytis (non inoculé).

Les lots respectent les notations suivantes :

Tableau 1 : Notations des lots

molécules	Codes	imprégnations	Codes	souches	Cod es	doses	Cod es
EugénoL	EUG	Bain	B	Témoin non inoculé	T	Témoin ; 0 ppm	d0
IsoeugénoL	ISO	Fumigation	F	Souche 213	i	1g/L ; 1 000 ppm	d1
Acétate d'eugényl	ACT			Souche populationnelle CONS-32-F	K	5g/L ; 5 000 ppm	d2
				Souche populationnelle Vitadapt	V	15g/L ; 15 000 ppm	d3

Les boîtes ont chacune un code en suivant l'ordre "molécule-imprégnation-souche-dose".

### c. Imprégnation des baies :

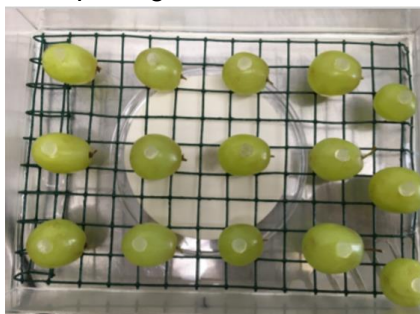
Pour les bains, les dilutions de phénylpropènes sont obtenues grâce à une solution hydro-alcoolique à 70% d'éthanol. Les baies y sont trempées avec une légère agitation pendant 5 minutes, selon le lot auquel elles appartiennent, dans d0 (0 ‰ = 0 ppm = témoin), d1 (1 000 ppm), d2 (5 000 ppm) ou d3 (15 000 ppm). Les baies sont ensuite déposées sur les grilles des boîtes de pathogénie à raison de 15 baies par boîte. Ces boîtes contiennent 80 mL d'eau stériles.

Figure 2 : Boîte de pathogénie sous la condition "bain"



Pour les fumigations, des papiers Prat-Dumas (Ref. 216), d'un diamètre permettant de combler le fond d'une boîte de Petri, sont imprégnés de phénylpropènes à deux doses différentes. Les boîtes de Petri sont placées au fond de la boîte de pathogénie, sur un fond de 80 mL d'eau. Les phénylpropènes sont appliquées par micro-pipette afin de respecter les deux concentrations de 1g/L et 15g/L. 15 baies par boîtes sont, ensuite, placées sur les grilles des boîtes de pathogénie.

Figure 3 : Boîte de pathogénie sous la condition "fumigation"



Cette étape est mise en place en suivant le plan d'expérience ci-dessous. Il est composé de deux parties, d'une part les boîtes concernées par les baies imprégnées d'un phénylpropène (eugénol, iso-eugénol, acétate d'eugénol) pour la condition "bains", et d'autre part, les boîtes concernées par les baies exposées à une fumigation de phénylpropène.

Tableau 2 : Plan d'expérience pour les baies imprégnées de produit par bains

Botrytis	Concentration (‰)	Eugénol	Isoeugénol	Acétate d'eugényl
<b>T</b>	0	T1	T2	T3
<b>B1-213</b>	0	EUG-B-i-d0	ISO-B-i-d0	ACT-B-i-d0
<b>B1-213</b>	1	EUG-B-i-d1	ISO-B-i-d1	ACT-B-i-d1
<b>B1-213</b>	5	EUG-B-i-d2	ISO-B-i-d2	ACT-B-i-d2
<b>B1-213</b>	15	EUG-B-i-d3	ISO-B-i-d3	ACT-B-i-d3
<b>B2</b>	0	EUG-B-K-d0	ISO-B-K-d0	ACT-B-K-d0
<b>B2</b>	1	EUG-B-K-d1	ISO-B-K-d1	ACT-B-K-d1
<b>B2</b>	5	EUG-B-K-d2	ISO-B-K-d2	ACT-B-K-d2
<b>B2</b>	15	EUG-B-K-d3	ISO-B-K-d3	ACT-B-K-d3
<b>B3</b>	0	EUG-B-V-d0	ISO-B-V-d0	ACT-B-V-d0
<b>B3</b>	1	EUG-B-V-d1	ISO-B-V-d1	ACT-B-V-d1
<b>B3</b>	5	EUG-B-V-d2	ISO-B-V-d2	ACT-B-V-d2
<b>B3</b>	15	EUG-B-V-d3	ISO-B-V-d3	ACT-B-V-d3

Tableau 3 : Plan d'expérience pour les baies exposées à une fumigation

Botrytis	[X] (%)	Eugénol		Isoeugénol		Acétate d'eugényl	
T(°C)		21	25	21	25	21	25
T	0	T4	T5	T6	T7	T8	T9
B1-213	1	EUG-22-F-i-d1	EUG-25-F-i-d1	ISO-22-F-i-d1	ISO-25-F-i-d1	ACT-22-F-i-d1	ACT-25-F-i-d1
B1-213	15	EUG-22-F-i-d2	EUG-25-F-i-d2	ISO-22-F-i-d2	ISO-25-F-i-d2	ACT-22-F-i-d2	ACT-25-F-i-d2
B2	1	EUG-22-F-K-d1	EUG-25-F-K-d1	ISO-22-F-K-d1	ISO-25-F-K-d1	ACT-22-F-K-d1	ACT-25-F-K-d1
B2	15	EUG-22-F-K-d2	EUG-25-F-K-d2	ISO-22-F-K-d2	ISO-25-F-K-d2	ACT-22-F-K-d2	ACT-25-F-K-d2
B3	1	EUG-22-F-V-d1	EUG-25-F-V-d1	ISO-22-F-V-d1	ISO-25-F-V-d1	ACT-22-F-V-d1	ACT-25-F-V-d1
B3	15	EUG-22-F-V-d2	EUG-25-F-V-d2	ISO-22-F-V-d2	ISO-25-F-V-d2	ACT-22-F-V-d2	ACT-25-F-V-d2

#### d. Inoculation des baies :

Les baies sont déposées sur les grilles des boîtes de pathogénie L'inoculation des souches de *Botrytis* est effectuées par le dépôt d'un implant mycélien à l'équateur de chaque baie. Le mycélium de l'implant est placé de façon à ne pas toucher la baie dans la condition d'une baie en fumigation et, inversement, le mycélium de l'implant est placé contre la baie lorsque la baie est en condition d'imprégnation par bain.

Les souches de *Botrytis* utilisées pour les implants ont eu 6 jours de croissance à 21°C, sur du milieu malt-agar (milieu idéal pour la culture des champignons), avant leur dépôt sur les baies (inoculation).

Enfin, les boîtes sont mises à incuber dans le noir à 21°C pour celles comportant les baies imprégnées par des bains et à 25°C pour celles soumises à la fumigation.

#### e. Notations :

La première notation des symptômes de *Botrytis* sur les baies est effectuée 7 jours après l'inoculation. Elle est renouvelée une deuxième fois 7 jours après, soit à 14 jours après l'inoculation. Les notations portent sur :

- La croissance mycélienne (%)
- La sporulation (%). Un échantillonnage des baies en fin de test permet de compter les spores.
- Le suintement des baies (échelle de 0 à 5)
- Les craquelures/fissures des baies (échelle de 0 à 5)

#### 3) Résultats et interprétations :

Préalable sur les explications et les artefacts à prendre en compte lors de l'analyse des résultats :

Lorsque la sporulation ou le mycélium recouvre une baie à 100%, on considère que le brunissement de la baie est à 100%, même si on ne voit pas ce brunissement, qui est le plus souvent caché par les spores ou le brunissement. Lorsque le mycélium recouvre une baie au bout de 7 jours, elle peut être recouverte de spores ultérieurement. Les spores, venant cacher le mycélium, la baie est alors notée ayant un niveau inférieur en mycélium que précédemment.

L'inverse est également vrai. Le mycélium peut recouvrir et ainsi dissimuler les spores présentes sur les baies. Il est donc primordial, de faire la part des choses dans le recouvrement du mycélium sur les spores (ou l'inverse), en analysant l'évolution des données aux différentes dates. Nous prenons en règle générale, la prise en compte, du niveau le plus élevé des symptômes observés par type de gravité, dès la première date d'observation.

L'analyse des résultats porte uniquement sur la partie du test qui concerne la fumigation des trois phénylpropènes (à différentes concentrations). Les résultats concernant les bains (baies imprégnées des trois phénylpropènes) ne sont pas présentés ici parce que moins concluants/pertinents.

Le choix a été fait de ne présenter dans ce rapport que la dose la plus élevée de phénylpropène (dose d2 pour la fumigation), en comparaison aux baies témoins (sans produit).

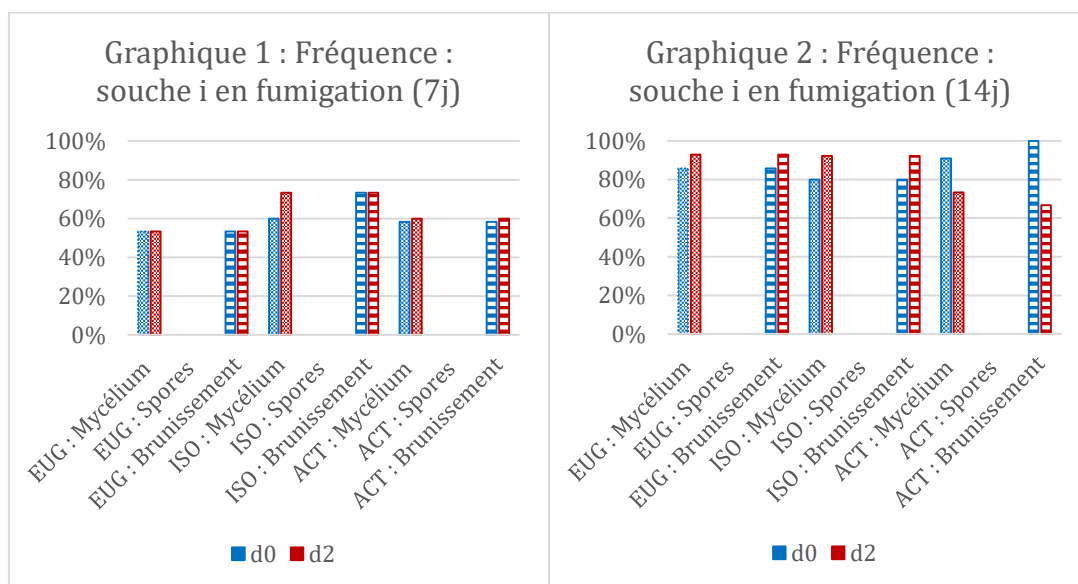
### a. Analyse de l'indice de fréquence :

Cette analyse porte sur la fréquence de baies de chaque boîte de pathogénie caractérisée par : la présence de mycélium, de spores ou de brunissement dû à *Botrytis cinerea*. Elle a été réalisée souche par souche.

Les écarts-types étant particulièrement élevés dans ce test, les résultats préliminaires globaux présentés ici, (efficacité d'un produit par rapport à un témoin sans produit) seront analysés statistiquement ultérieurement. Ces analyses permettront de définir, selon les règles de la statistique, les niveaux de différences significatives entre les traitements, et si l'efficacité est effective ou non.

- Souche 213 de *Botrytis* (i) :

Les doses maximales d'eugénol et d'isoeugénol apportées par fumigation n'inhibent pas la fréquence des dégâts de la souche 213 de *Botrytis* (i) quels que soient les critères d'évaluation (croissance du mycélium de *Botrytis*, développement de la sporulation des baies et dégâts de brunissement des baies). En revanche, l'acétate d'eugénol (dose d2), observé 14 jours après inoculation, diminue la fréquence des baies porteuses de mycélium de *Botrytis* (-18%, efficacité de 19%), et de dégâts de brunissement des baies (-33%).

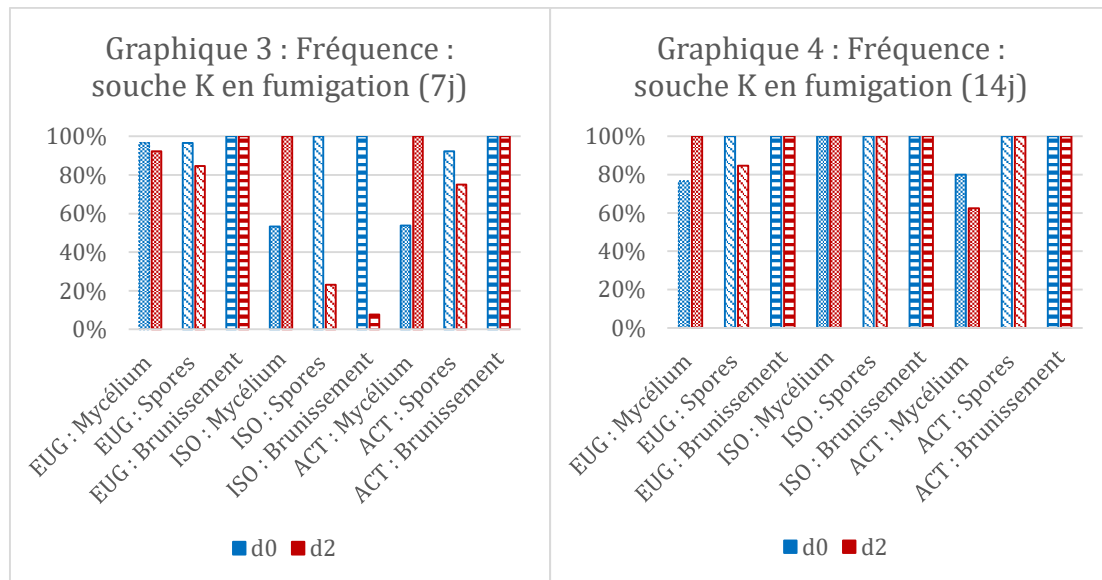


- Souche Cons32 de Botrytis (K) :

Sur la souche Cons32 de Botrytis (K), l'eugénol en fumigation (à la dose d2) diminue le pourcentage de baies sporulées à 7 jours après inoculation (-12,5%) et à 14 jours après inoculation (-15%). L'eugénol diminue le taux de baies brunies de la souche V à 7 jours (23%) et à 14 jours (54%).

L'isoeugénol diminue le taux de brunissement de la souche K à 7 jours (92%).

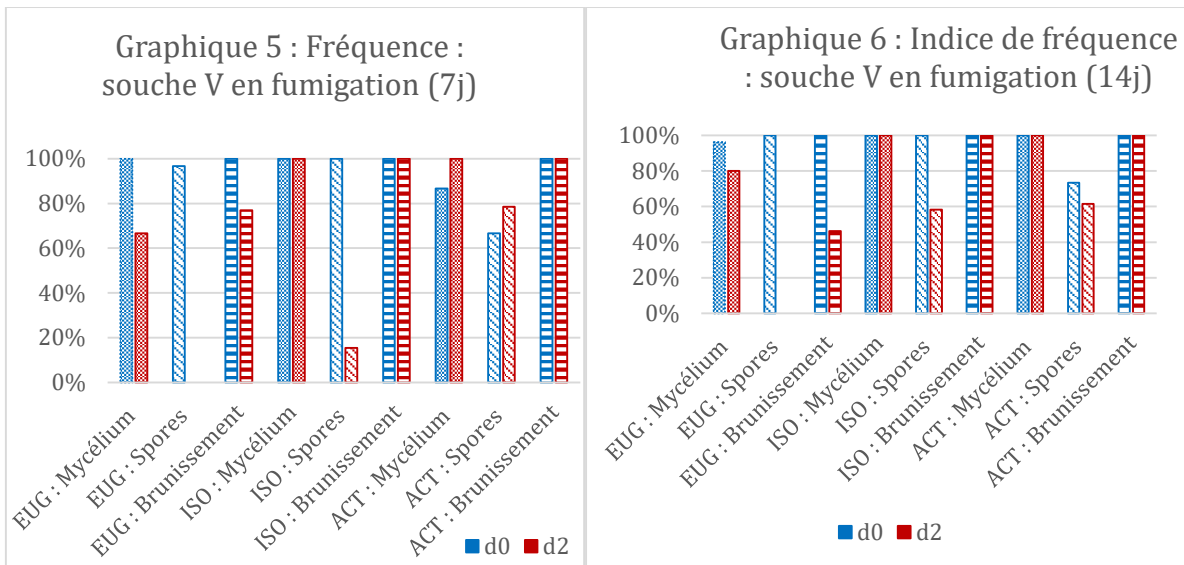
L'acétate d'eugénol (fumigation à la dose d2) diminue le pourcentage de baies ayant sporulées à 14 jours après inoculation (-18%, efficacité de 22%).



- Souche Vitadapt de Botrytis (V) :

Sur la souche Vitadapt (V), l'eugénol agit à la fois sur la croissance mycélienne et la sporulation de Botrytis. L'eugénol diminue la croissance mycélienne de la souche V, après 7 jours d'inoculation (-33%) et après 14 jours d'inoculation (-16,3%). L'eugénol diminue également le pourcentage de baies sporulées de 97% à 7 jours et de 100% à 14 jours après inoculation. L'eugénol diminue le taux de baies brunies de la souche V à 7 jours (23%) et à 14 jours (54%).

La diminution en une semaine, de la sporulation des baies ayant reçu de l'acétate d'eugénol est un artefact.

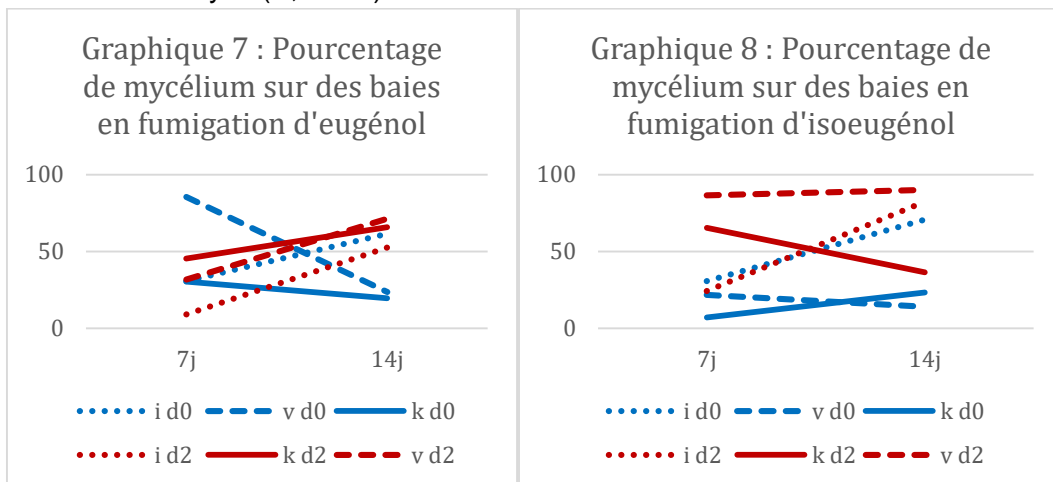


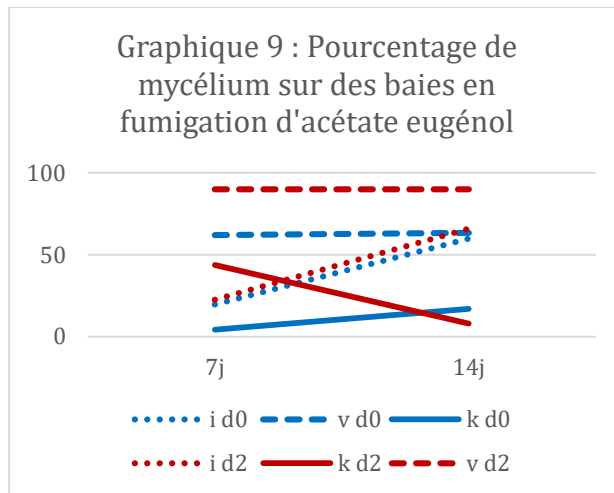
**b. Analyse de la sévérité globale :**

Cette analyse porte sur le pourcentage de recouvrement moyen en surface de toutes les baies de chaque boîte de pathogénie pour les variables suivantes : le pourcentage de la baie recouverte par du mycélium, de spores ou du brunissement du à *Botrytis cinerea*. Elle a été réalisée par produit.

- Sévérité globale du mycélium :

L'eugénol (dose 2 d2) diminue la croissance mycélienne de la souche 213 de *Botrytis* (i). Le pourcentage de recouvrement des baies par le mycélium est diminué de 22% à 7 jours après inoculation (30,7% versus 9%), et de 9% à 14 jours. L'eugénol n'a pas d'efficacité sur la croissance du mycélium des autres souches de *Botrytis* (Cons32 (K) et Vitadapt (V)). L'isoeugénol et l'acétate d'eugénol n'ont pas d'efficacité sur la croissance du mycélium des trois souches de *Botrytis* (K, i et V).



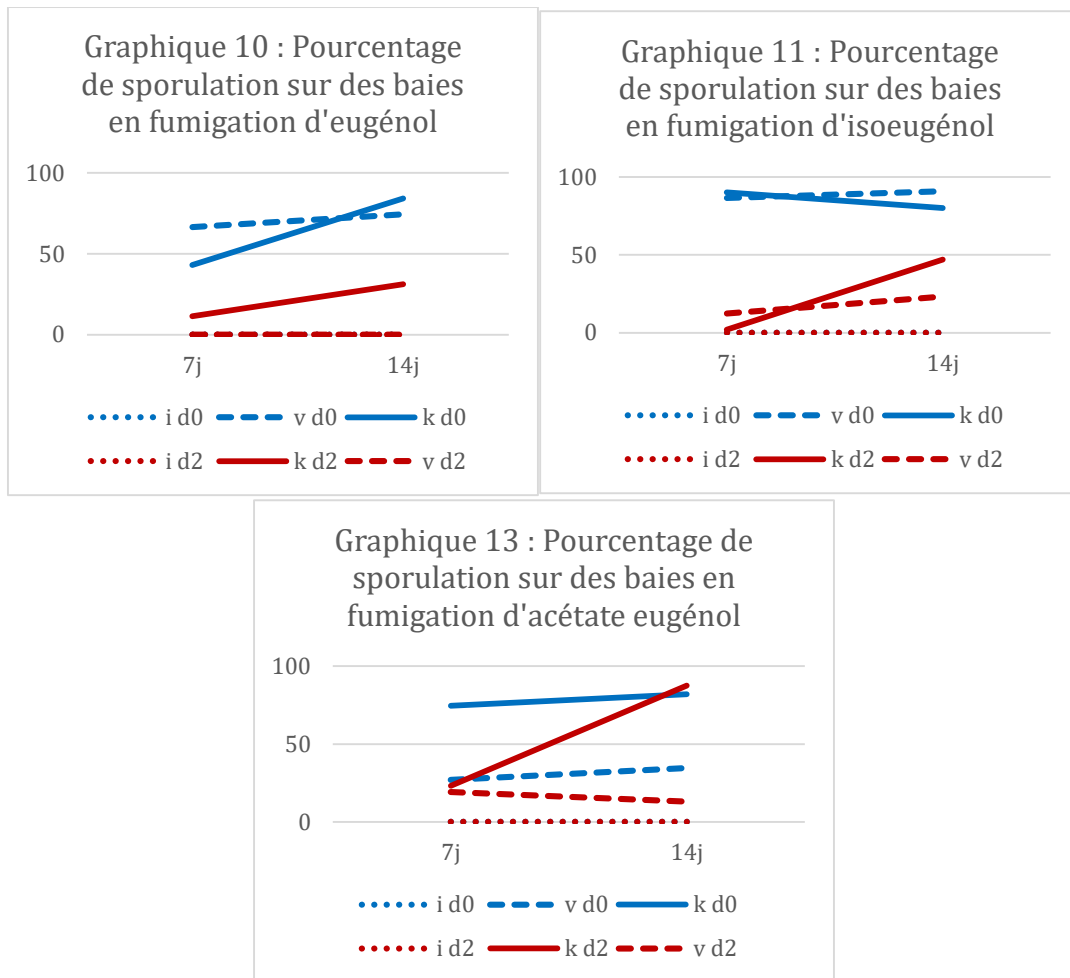


- Sévérité globale de sporulation :

La souche 213 de Botrytis (i) n'ayant pas sporulé, l'efficacité sur la sporulation de cette souche de Botrytis n'a pas pu être mesurée. L'eugénol diminue la formation de spores de la souche Cons32 de Botrytis (K) de 32% à 7 jours (efficacité de 73%), et de 53% à 14 jours après inoculation, (efficacité 63%). L'eugénol élimine totalement la sporulation de la souche Vitadapt de Botrytis (V) (efficacité de 100%), à 7 jours comme à 14 jours après inoculation.

L'isoeugénol diminue la formation de spores de la souche V de 74% à 7 jours (efficacité de 86%), et de 67% à 14 jours après inoculation, (efficacité 74%). L'isoeugénol diminue la formation de spores de la souche K de 88% à 7 jours (efficacité de 98%), et de 33% à 14 jours après inoculation, (efficacité 41%).

L'acétate d'eugénol diminue la formation de spores de la souche K à 7 jours avec une diminution de 51% (efficacité de 69%). A 14 jours, l'acétate d'eugénol est considéré inefficace sur la sporulation car les spores de la souche K ont été recouvertes par le mycélium. L'acétate d'eugénol diminue la formation de spores de la souche V à 7 jours (diminution de 8%, efficacité de 29%). A 14 jours, l'acétate d'eugénol diminue la formation de spores de la souche V (diminution de 22%, efficacité de 62%).

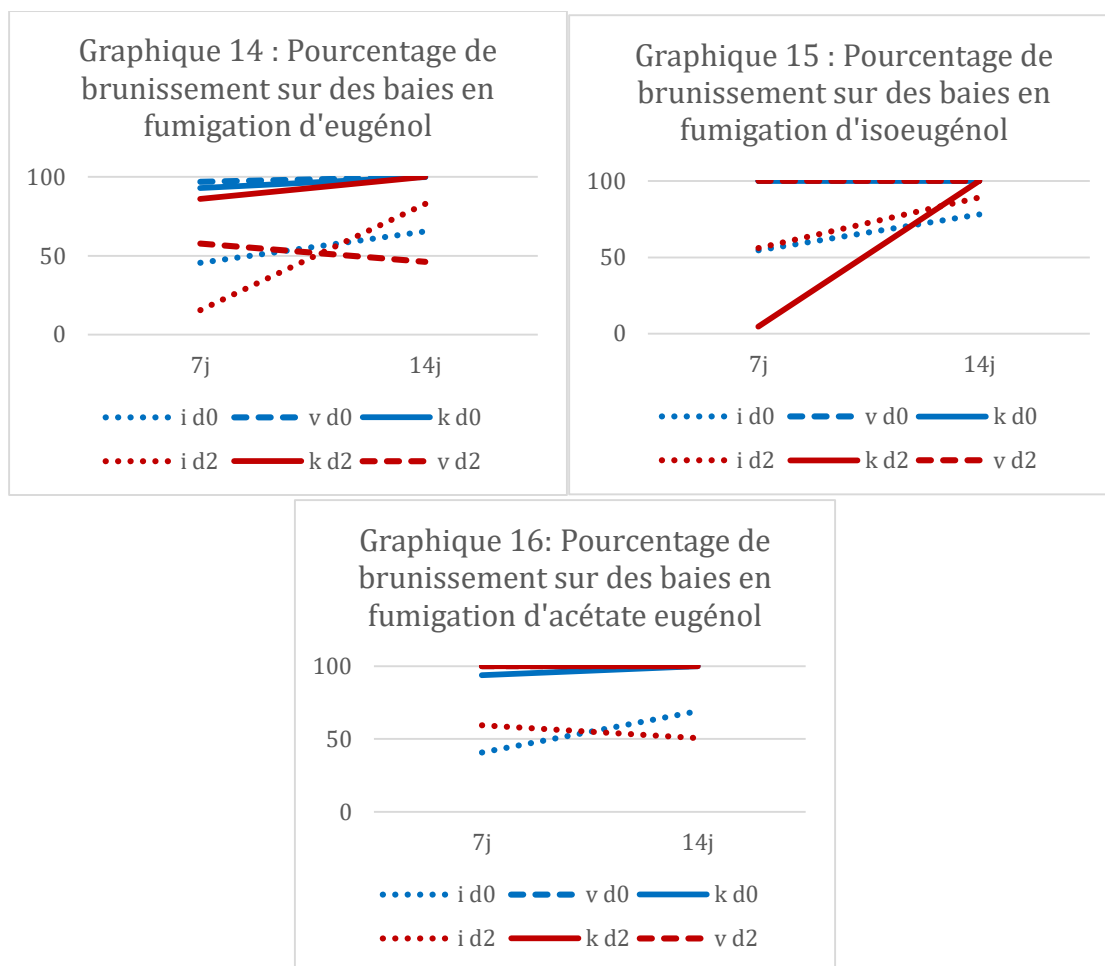


- Sévérité globale de sporulation :

L'eugénol diminue la phase de brunissement des baies pour la souche 213 de Botrytis (i). A 7 jours, l'eugénol a une efficacité de 66% sur le pourcentage de brunissement des baies. L'eugénol diminue la phase de brunissement des baies pour la souche Cons32 de Botrytis (K) et pour la souche Vitadapt de Botrytis (V). Pour la souche K, à 7 jours, l'eugénol a une efficacité de 7% sur la phase de brunissement des baies. A 14 jours, la phase de brunissement des baies atteint 100% avec et sans eugénol (aucune efficacité). Pour la souche V, à 7 jours, l'eugénol a une efficacité de 40.5% sur le pourcentage de brunissement des baies. A 14 jours, le taux de brunissement est moins visible à cause des spores ce qui explique la diminution du brunissement des baies avec eugénol sur la courbe.

L'isoeugénol n'a aucune action sur le taux de brunissement des baies avec les souches i et V. L'isoeugénol diminue la phase de brunissement des baies pour la souche K. A 7 jours, l'isoeugénol a une efficacité de 95% sur le pourcentage de brunissement des baies. A 14 jours, la phase de brunissement des baies pour la souche V a atteint 100% avec isoeugénol. L'acétate d'eugénol n'a aucune action sur le taux de brunissement des baies, avec les trois souches de botrytis.





**c. Synthèse des résultats :**

Tableau 4 : Effet de la fumigation sur la fréquence des symptômes

	Produit	Souche Botrytis	symptôme	Efficacité (%) à 7 jours	Efficacité (%) à 14 jours
Fréquence	Eugénol	K	sporulation	12	15
Fréquence	Eugénol	V	mycelium	33	17
Fréquence	Eugénol	V	sporulation	97	100
Fréquence	Eugénol	V	brunissement	23	54
Fréquence	Isoeugénol	K	sporulation	77	-
Fréquence	Isoeugénol	K	brunissement	92	-
Fréquence	Acétate d'eugénol	K	sporulation	-	22
Fréquence	Acétate d'eugénol	i	mycelium	-	19
Fréquence	Acétate d'eugénol	i	brunissement	-	33

Tableau 5 : Effet de la fumigation sur la sévérité du Botrytis

	<b>Produit</b>	<b>Souche Botrytis</b>	<b>symptôme</b>	<b>Efficacité (%) à 7 jours</b>	<b>Efficacité (%) à 14 jours</b>
Sévérité	Eugéno	i	mycelium	71	15
Sévérité	Eugéno	V	sporulation	100	100
Sévérité	Eugéno	K	sporulation	73	63
Sévérité	Isoeugéno	K	sporulation	98	41
Sévérité	Isoeugéno	V	sporulation	86	74
Sévérité	Acétate d'eugéno	K	sporulation	69	-
Sévérité	Acétate d'eugéno	V	sporulation	29	62

L'eugéno, des trois produits testés est le produit le plus efficace sur les trois critères d'observation (mycélio, sporulation et brunissement), sur les trois souches de Botrytis (i, V et K).

En regardant globalement les résultats des différents critères, (produit, souche de Botrytis, fréquence et sévérité des symptômes à 7 et 14 jours après l'inoculation), l'association de l'eugéno, appliqué sur la souche de Botrytis Vitadapt (V) présente les meilleures efficacités, avec le plus de régularité.

## Conclusion :

Mon projet tutoré s'est déroulé dans l'Unité Santé et AgroEcologie du Vignoble (SAVE) d'INRAE.

Sous la direction de Marc Fermaud, et dans le cadre d'une thèse effectuée à l'ISVV, j'ai contribué à l'étude de l'eugenol, et de son implication dans les mécanismes de défense naturelle du cépage Baco blanc (Armagnac).

Ma participation dans cette étude a eu essentiellement pour objectif, la réalisation de tests précisant l'action de l'eugenol et ses dérivés sur *Botrytis cinerea*, agent de la pourriture des raisins. Ces tests ont été réalisés sur trois souches différentes de Botrytis.

Une première analyse globale des fréquences et des sévérités des trois critères de caractérisation du Botrytis (mycélium, sporulation, brunissement des baies), montre que l'eugénol est le produit le plus efficace pour diminuer les symptômes sur les trois souches de Botrytis. L'eugénol présente la meilleure efficacité, avec la plus grande régularité lorsqu'il est appliqué sur la souche populationnelle de Botrytis Vitadapt.

En parallèle à ce biotest sur raisin, j'ai participé à la mise en place et aux observations d'un test in vitro sur *B. cinerea*, sur milieu de culture, en boîte de Petri (travail non présenté sur ce rapport).

Ce dernier test, avec les mêmes produits et les mêmes souches de Botrytis, (mais sans baie de raisin), a le même objectif que le biotest. Il a pour but de préciser et affiner la concentration d'eugenol et ses dérivés, efficace sur Botrytis.

Les résultats de ces tests in vitro sont en cours d'analyse.

Une question se pose alors : cette concentration efficace sur Botrytis est-elle comparable à la concentration d'eugénol présente naturellement dans les pellicules de raisin du cépage Baco, susceptible de le protéger grâce à ses éventuelles capacités défense ?

## Bibliographie :

### Introduction:

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

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

### Partie I :

Dubos Bernadette, « Les maladies cryptogamiques de la vigne »

Annexe 1 - Trame de Contenu de la présentation du projet (présentation du projet Baco)

### Partie II :

Calvo-Garrido, Haidar, Roudet, Gautier, Fermaud, 2018, "Pre-selection in laboratory tests of survival and competition before field screening of antagonistic bacterial strains against Botrytis bunch rot of grapes", Biological control, 124, p.100-111 (notamment : partie "Survival ability of bacterial strains on grape berry surface under stimulated climatic conditions")