

MicroBioPhyto

Rapport de la saison 2 - 2021

Février 2022

Rédacteurs : Baptiste ALGAYER et Laura LECOMTE

Cadre de l'étude

L'association Chemin Cueillant œuvre afin de favoriser le développement d'une agroécologie paysanne sur le territoire du Minervois. Reconnue groupement d'intérêt économique et environnemental, elle regroupe une cinquantaine de paysans dont la moitié sont vignerons. Depuis 2020, l'association porte le projet MicroBioPhyto. Notre objectif est de tester des traitements contre les maladies cryptogamiques de la vigne (oïdium, mildiou, black rot) par une méthode biophile (qui favorise la vie). À l'opposé des méthodes biocides (qui détruisent des organismes vivants), les traitements testés visent à stimuler la microbiologie de la plante et du sol, afin de concurrencer les pathogènes au sein de leur niche écologique et donc de limiter leur action. Le projet s'est essentiellement concentré sur l'utilisation du thé de compost oxygéné.

Pour la préparation du thé de compost oxygéné, se référer à la fiche technique « *MicroBioPhyto – Fabrication du thé de compost oxygéné* ».

Les résultats de la première année : [ICI](#)

1) Sélection des sites expérimentaux

Dans la lignée de la campagne 2020, une expérimentation d'envergure a été déployée. Elle a mobilisé 10 sites répartis dans 8 domaines viticoles dans un rayon de 20 km autour d'Olonzac (Figure 1). Les exploitations concernées sont toutes certifiées « agriculture biologique ».

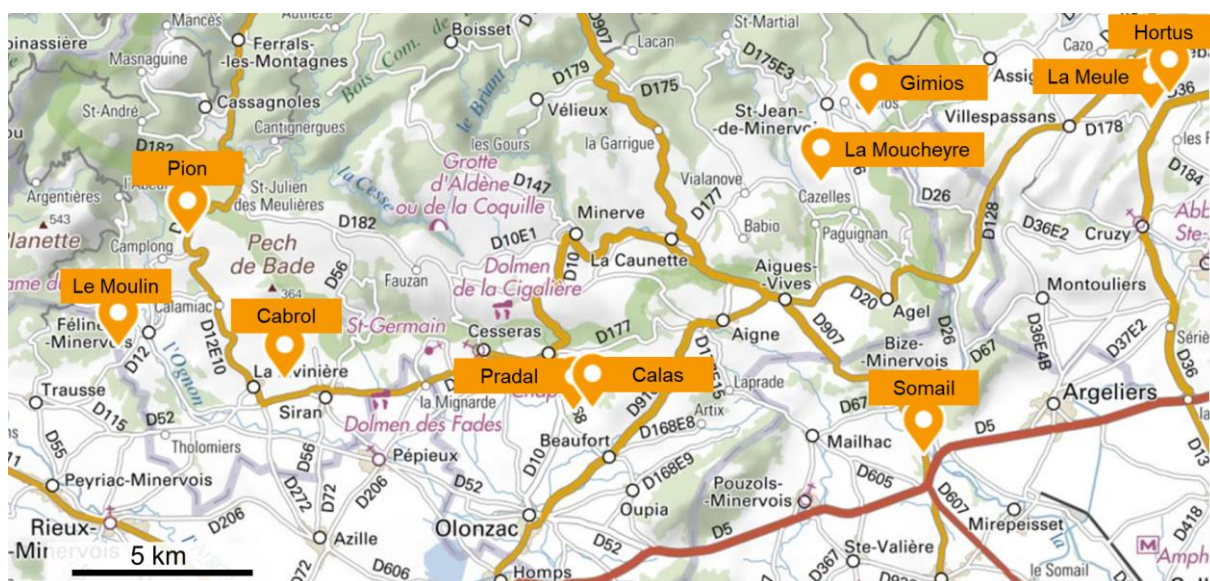


Figure 1 : Situation géographique des 10 parcelles expérimentales

7 cépages étaient représentés : trois sites de carignan, deux sites de grenache noir, un site de syrah, cinsaut, mourvèdre, muscat petit grain et gewurztraminer. Les sites sélectionnés présentaient également des conditions topographiques et pédologiques représentatives du territoire. Parmi ces sites, 2 avaient bénéficié des traitements expérimentaux lors de l'année 2020.

Chaque site expérimental correspond à une parcelle viticole rassemblant un cépage sur un terroir.

Les sites sont divisés en 3 placettes (Figure 2) :

- Une placette expérimentale de 800m² sur laquelle le **traitement expérimental** TCO est appliqué ;
- Une placette **témoin** de 2 blocs de 40m² incluse dans la placette précédente, où aucun traitement n'est appliqué ;
- Une placette de 800m² équivalente à la première sur laquelle le traitement habituel du viticulteur (**traitement biocide**) est appliqué.

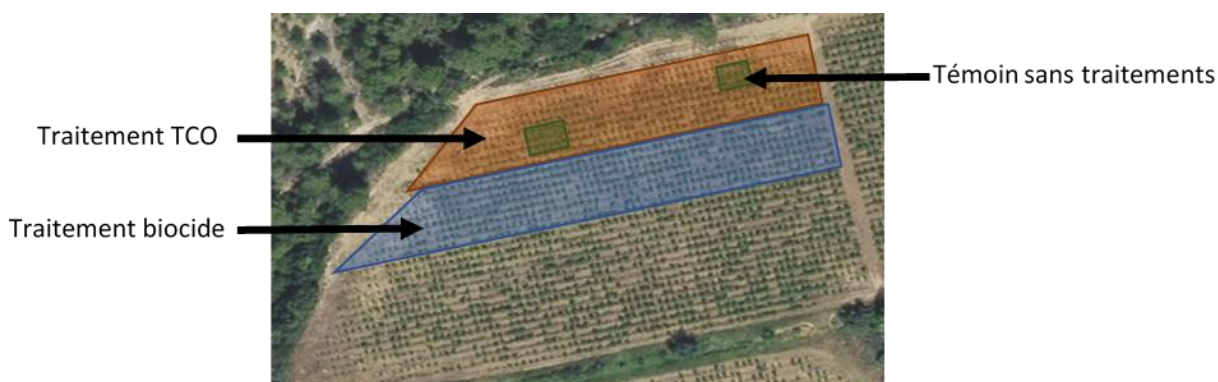


Figure 2 : Exemple de parcelle expérimentale (Calas)

2) Application du TCO

Le traitement est appliqué sur les organes aériens des vignes de chaque site dans les 24 heures suivant la phase d'oxygénation. Cette application est réalisée par un atomiseur thermique à dos (réservoir de 13L) (Figure 3). Les traitements TCO ont été appliqués sur les placettes dédiées à raison d'une application tous les 7 à 14 jours selon les conditions d'évolution des pathogènes observés, de début avril à fin juillet. L'application des traitements TCO a été réalisée par un atomiseur à dos en foliaire. Un total de 2000L de TCO a ainsi été produit et appliqué. Les traitements biocides ont été appliqués par les vignerons selon leur calendrier de traitement habituel.



Figure 3 : Pulvérisation du thé de compost oxygéné sur la vigne

3) Démarche expérimentale

- **Évaluation de la croissance des vignes**

Afin de mesurer l'effet potentiellement biostimulant du traitement TCO, nous avons mesuré les indicateurs de croissance et physiologie de la vigne suivants, à intervalles réguliers sur l'ensemble des sites étudiés :

- **Stade phénologique** suivi selon l'échelle de Baggiolini (Denizot, 2009) s'étalant de B (bourgeon dans le coton) à M (véraison) dans notre étude. Ces observations sont réalisées sur 20 ceps pour les traitements biocides et TCO et sur 8 ceps pour le témoin.
- **IAC : méthode des apex.** Cet indicateur permet d'estimer la croissance végétative et la contrainte hydrique de la vigne. Elle consiste à classer les différents apex observés dans 3 catégories : pleine croissance, croissance ralentie et croissance arrêtée. Un indice d'arrêt de croissance (IAC) est alors calculé à partir des proportions de chaque classe (IFV Occitanie).
- **Longueur et nombre de feuilles par rameau.** Trois rameaux sont mesurés de leur base à l'apex principal à l'aide d'un mètre à ruban sur 10 ceps par traitement. Les feuilles sont comptées sur ces rameaux. Quatre mesures sont effectuées sur chaque sites, toutes les deux semaines, du 18/05/2021 au 17/06/2021. Les mesures sont arrêtées après cette date à cause du rognage de la vigne effectué sur la plupart des sites.

- **Évaluation de l'état sanitaire des vignes**

Le mode opératoire de mesure de l'état sanitaire des vignes a été défini en partenariat avec le Biocivam de l'Aude, partenaire du projet. Il concerne trois pathogènes : l'oïdium (*Erysiphe necator*), le mildiou (*Plasmopara viticola*) et le black rot (*Guignardia bidwellii*).

Pour estimer la pression de maladie sur les placettes, nous mesurons la fréquence et l'intensité des contaminations. Pour les traitements TCO et biocide, les mesures sont faites sur 20 ceps choisis au hasard, 5 feuilles par ceps, 5 grappes/inflorescences par cep. Pour le témoin, le même protocole est répété mais sur 8 ceps, dû à la plus petite taille de ces placettes. Les indicateurs considérés sont :

- **Fréquence** : taux de présence du pathogène sur ceps, feuilles, grappes/inflorescences.
Si la fréquence vaut 1, 100% des ceps/feuilles/grappes observés présentent des symptômes d'oïdium. Si la fréquence vaut 0, tous ces organes sont sains.
- **Intensité** : surface de l'organe recouverte par le mycélium par rapport à la surface totale de l'organe, estimée sur feuilles et grappes/inflorescences. Des diagrammes de surface standard sont disponibles pour aider à estimer la surface des feuilles contaminées (Buffara et al., 2014 ; Camargo et al., 2019).
Si l'intensité vaut 1, toute la surface des organes observés est recouverte de mycélium. Si la fréquence vaut 0.1, seulement 10% de la surface des organes considérés est recouverte d'oïdium.

- **Caractérisation des populations microbiologiques**

Afin d'estimer la qualité des TCO produits, ainsi que leur impact sur la microbiologie des feuilles de vigne et sur les pathogènes responsables des maladies, un dispositif expérimental spécifique a été mis en place. Deux échantillons de TCO et 28 échantillons de feuilles ont été collectés via 2 protocoles définis avec des membres du comité scientifique. 10 feuilles de chaque traitement (TCO, témoin, biocide) ont été prélevées sur 2 sites (Calas et Cabrol), les 21 mai et 18 juin, 3 jours après application du TCO. Parallèlement, des échantillons de feuilles ont été prélevés à pas de temps court afin de suivre la persistance du traitement sur les feuilles. Des mesures par séquençage haut débit ont été réalisées pour les populations bactériennes et fongiques. Ces échantillons ont été analysés par le laboratoire GeT (INRAE Transfert).

Conduite et pilotage de la campagne de terrain 2021

1) Contexte climatique de 2021

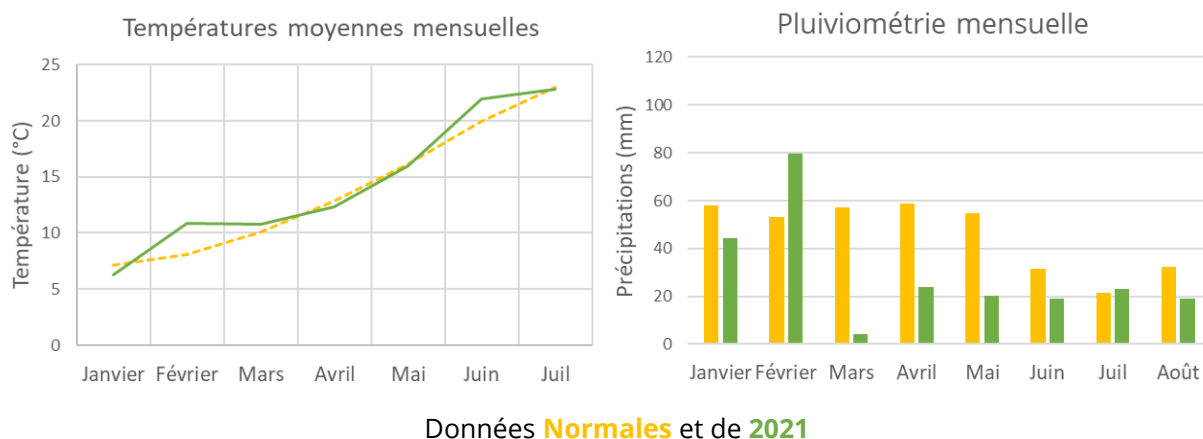


Figure 4 : Température et pluviométrie mensuelle à Féline-Minervois (Fourcade and Fourcade, 2021)

Si les températures moyennes mensuelles sont très proches des normales pour les mois de mars à mai, le mois de juin est nettement plus chaud avec des températures moyennes supérieures de 2°C aux normales. Les mois de mars à juin ont été anormalement secs (Figure 4), avec des cumuls mensuels de pluie fortement inférieurs aux normales. Sur la période d'étude, la hauteur de pluie effective de 2021 représente moins de 40% de la hauteur de pluie normale. Cependant, les pluies dans le Minervois sont majoritairement orageuses. Il y a donc de fortes disparités sur les hauteurs de pluie à échelle géographique courte.

Ce climat a été favorable au développement de l'oïdium sur la vigne.

2) Suivi de l'état sanitaire des vignes

Les indicateurs d'état sanitaire ont été mesurés à un rythme hebdomadaire à partir de l'identification des premiers symptômes et jusqu'à mi-juillet, soit une moyenne de 10 relevés par site. Les conditions météorologiques du millésime 2021 ont favorisé le développement de l'oïdium. Aucun des autres pathogènes suivis n'a été observé de façon significative. L'oïdium est une pathologie très répandue dans le contexte pédoclimatique du Minervois. Les traitements biocides utilisés habituellement sont à base de soufre. L'effet du TCO a pu être suivi dans des conditions expérimentales très favorables. Tous les sites n'ont pas été impactés par l'oïdium de la même manière au cours de la saison. Nous distinguons plusieurs groupes :

- **Les carignans**

Les sites présentant le cépage carignan (Cabrol, Moulin, Moucheyre) ont été les premiers à présenter des symptômes d'oïdium dès le mois de mai. Ils ont été les plus atteints en fin de saison. Le TCO a montré ponctuellement une bonne efficacité mais surtout sur feuille et en début de saison.

Au dernier état sanitaire sur les sites de Moucheyre et Cabrol, toutes les grappes présentaient de l'oïdium dont la majorité touchée fortement, quel que soit le traitement. (Figure 5)

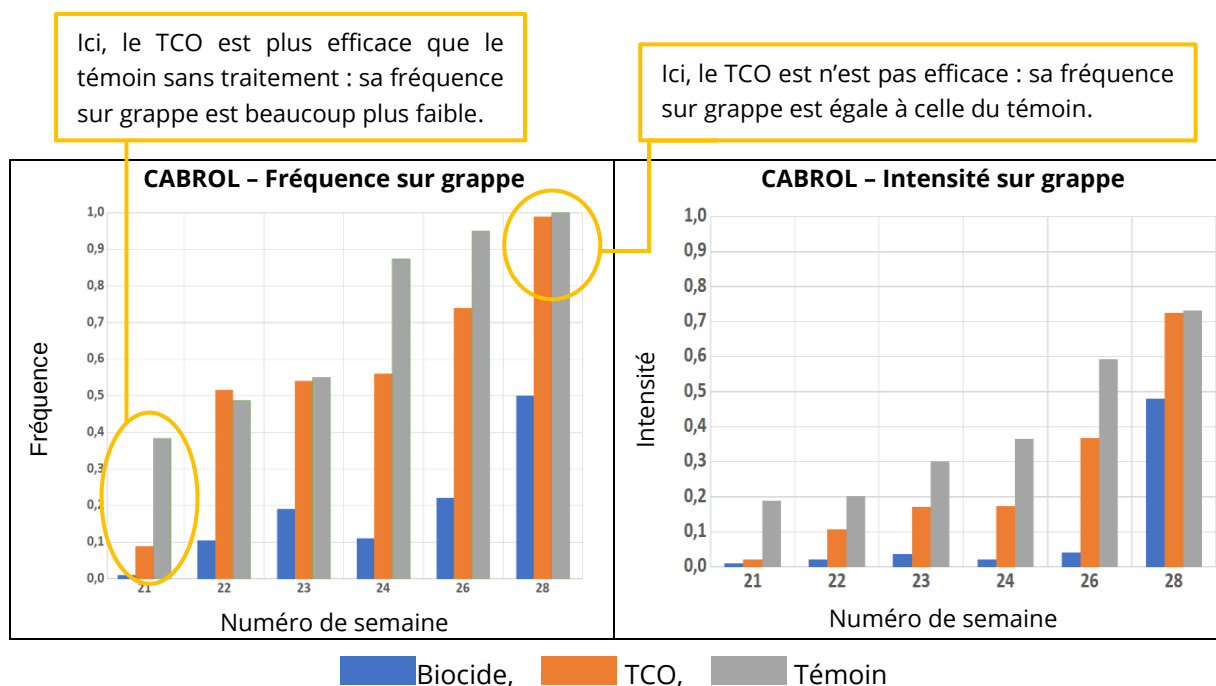


Figure 5 : Fréquence moyenne d'oïdium sur feuilles et grappe pour la parcelle Cabrol.

• Les sites touchés tardivement

Sur les sites Pion (syrah), Hortus (grenache) et Gimios (muscat), la pression d'oïdium a été tardive et très forte. Les premiers symptômes ont été repérés directement sur grappes début juillet. Deux semaines plus tard, toutes les placettes présentaient plus de 50% de grappes atteintes (Figure 6). Sur ces sites, le TCO n'a pas montré d'efficacité contre l'oïdium.

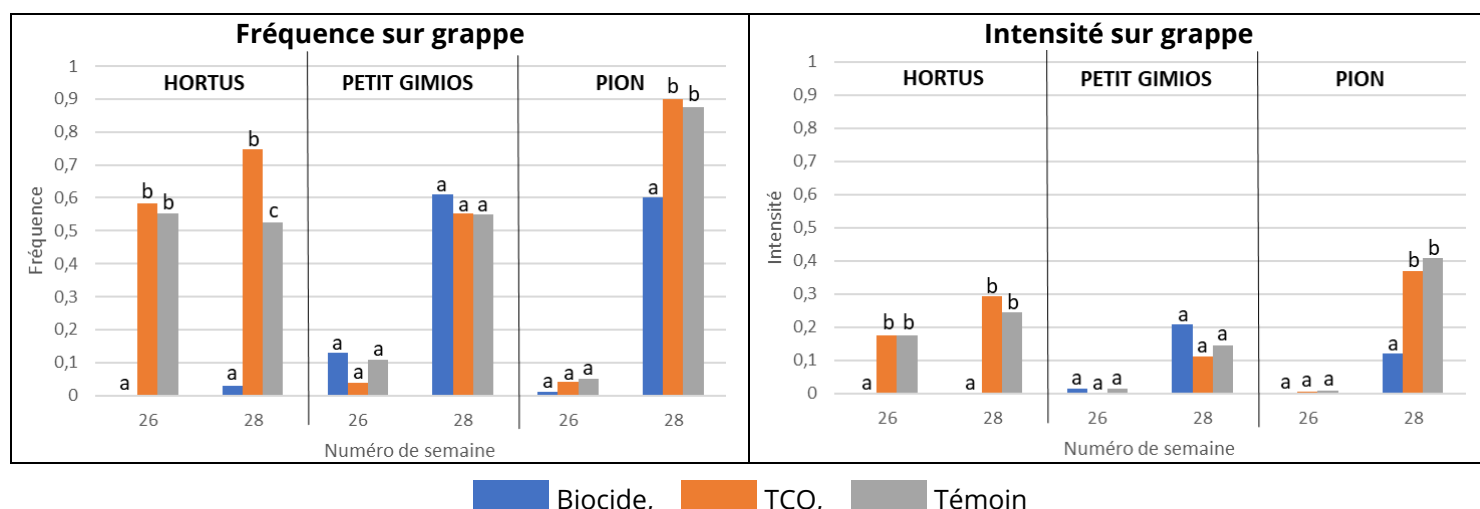


Figure 6 : Fréquence et intensité moyenne d'oïdium sur grappe pour les parcelles Hortus, Petit Gimios et Pion. Pour une même semaine, les modalités ne portant pas la même lettre sont significativement différentes

• Les sites peu touchés

Sur les sites de Somail (gewurztraminer) et La Meule (mourvèdre), la pression d'oïdium est restée minime, quel que soit le traitement (fréquences et intensités inférieure à 20%). Aucune différence significative n'a été observée entre les traitements.

• Les cas particuliers des sites Pradal et Calas

Sur les sites de Pradal (cinsaut) et Calas (grenache), des symptômes sur feuilles sont apparus à la mi-juin, puis sur grappes à la mi-juillet. Sur feuilles, un effet significatif du TCO par rapport au témoin a été observé (Figure 7). Les pressions sur feuilles restent cependant très faibles.

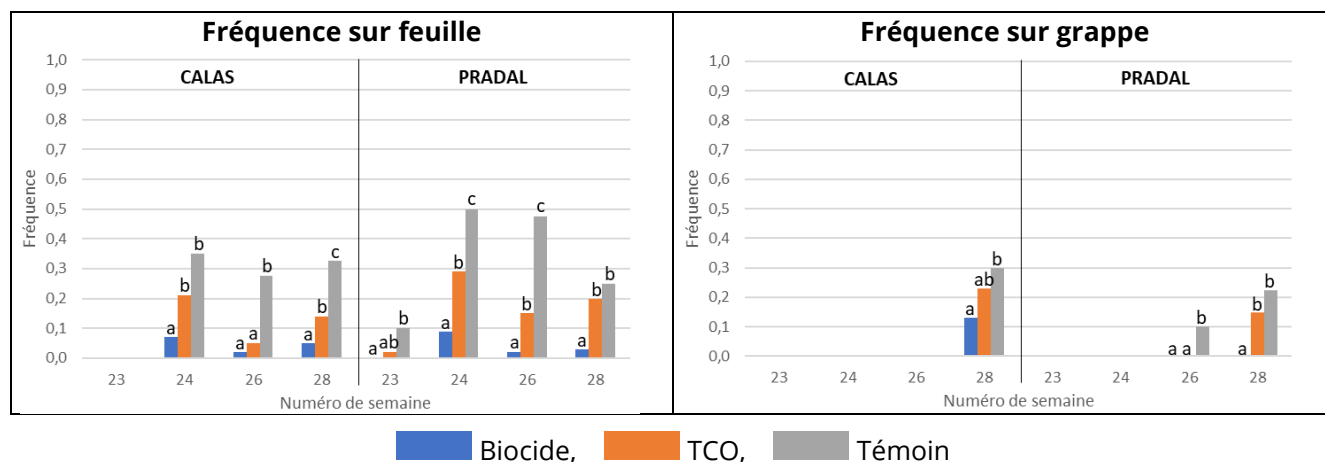


Figure 7 : Fréquence et intensité moyenne d'oïdium sur feuille et grappe pour les parcelles Calas et Pradal. Pour une même semaine, les modalités ne portant pas la même lettre sont significativement différentes.

3) Traitement et analyse des données

La campagne de terrain 2021 a généré un nombre très important de données. L'étape de traitement a permis de produire des résultats très informatifs sur l'usage et les effets du TCO contre l'oïdium.

a) Pas d'effet biostimulant du TCO

Les traitements au TCO n'ont **pas impacté les indicateurs de croissance** de la vigne. Pour les 10 sites d'étude, aucun effet du TCO n'a été observé sur la croissance des rameaux, le nombre de feuilles, le stade phénologique, ou la résistance au stress hydrique.

b) Effet positif du TCO contre l'oïdium selon certains critères

Les traitements TCO ont montré ponctuellement une certaine efficacité contre l'oïdium de la vigne. Cette efficacité a été observée dans les cas suivants :

- **Sur les feuilles** et non pas sur les grappes. Cela peut expliquer la mauvaise efficacité du TCO en fin de saison sur les sites contaminés tardivement et directement sur grappe.
- **Sur l'intensité** de maladie plus que sur la fréquence. Ce signifierait que le TCO limite la propagation de la maladie sur un organe donné, mais ne limite pas les contaminations inter-organes, et inter-ceps, liées à la dispersion des spores.
- Sur les sites présentant une **densité de ceps plus faible**. Ces sites sont généralement moins sensibles à l'oïdium.
- **En début de saison**, lorsque la pression de maladie est moyenne à faible, et lorsque les températures sont plus basses.

c) Inefficacité du TCO contre l'oïdium en traitement exclusif sur une saison complète

À la fin de la saison, les placettes traitées au TCO des sites les plus touchés ont accusé de lourdes pertes. Cela est lié notamment à une moindre efficacité du TCO contre l'oïdium à partir du mois de

juin, et notamment sur les grappes. La vague de contamination de fin juin n'a pas pu être contenue sur les sites traités au TCO. Cette conclusion plaide en faveur d'une utilisation plus cadrée du TCO limitée au **début de saison**, et **intégrée à un itinéraire plus complexe** faisant appel à des traitements différents à partir de juin.

Caractérisation de la microbiologie de la phyllosphère de la vigne et du thé de compost

1) Composition microbiologique du TCO

Le protocole de fabrication du TCO a été élaboré sur base bibliographique, et avec l'expertise d'un membre du comité scientifique. Nos choix se sont orientés vers la production de TCO présentant une grande diversité de microorganismes, et adaptés aux conditions pédoclimatiques de notre territoire. Les résultats issus de l'analyse des compositions microbiologiques de 2 préparations de TCO ont montré que notre méthode de fabrication permet d'obtenir des TCO présentant de **grandes diversités bactériennes et fongiques, répétables et vierges de pathogènes humains ou viticoles** (Figure 8). Les microorganismes identifiés sont naturellement présents dans l'environnement des parcelles viticoles étudiées, comme en attestent les résultats d'analyses microbiologiques des TCO et des feuilles de vigne.

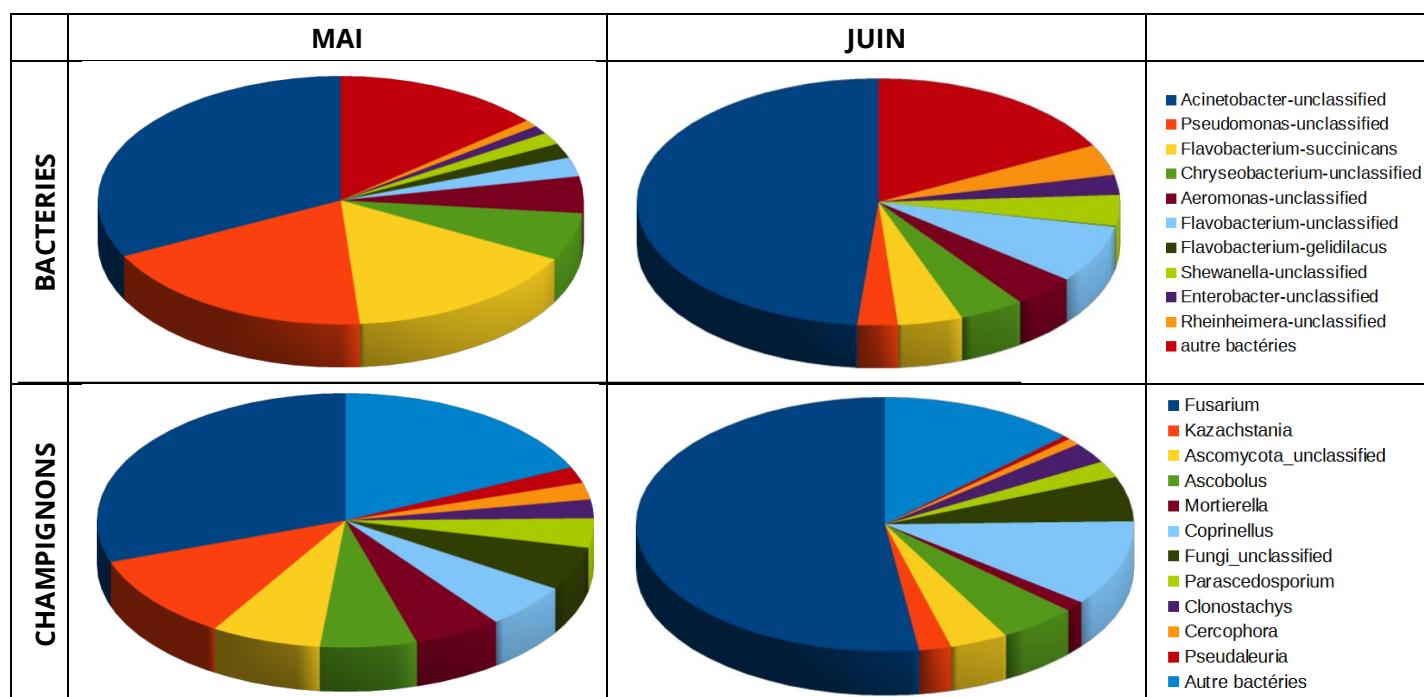


Figure 8 : Abondances relatives des différents genres de bactéries et champignon des deux échantillons de TCO

2) Impact du TCO sur la microbiologie des feuilles de vigne

L'effet du TCO sur la composition des populations microbiennes a été également observé. Si l'application du TCO ne produit pas un bouleversement de la diversité des populations bactériennes et fongiques, des variations fines dans la composition des microbiotes ont été observées. Les TCO change l'organisation des microorganismes mais n'amène pas de nouvelles espèces. (Figure 9)

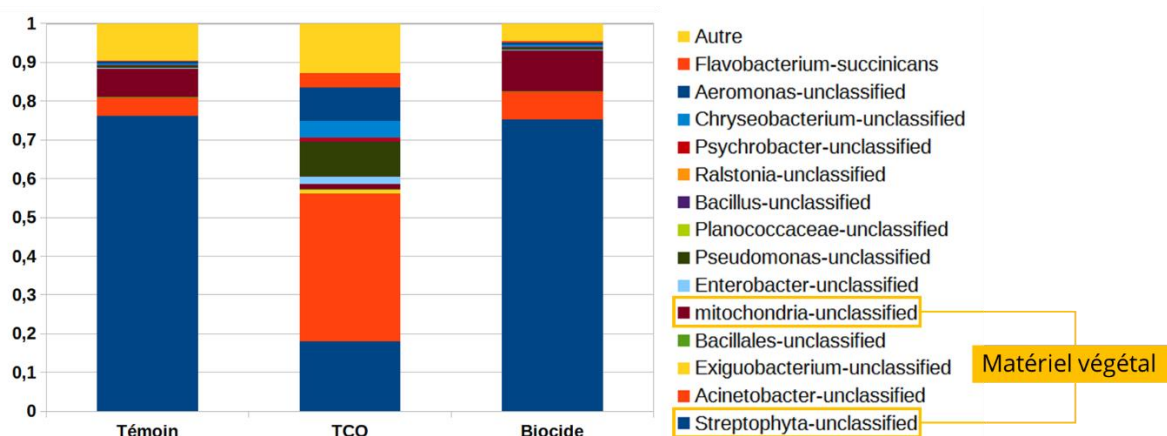


Figure 9 : Abondance relative des bactéries pour le site Calas (grenache) pour les 3 traitements 3 jours après pulvérisation sur la placette TCO

Streptophyta et *Mitochondria* correspondent à du matériel végétal, apparu dans les analyses à cause de la similarité génétique des chloroplastes avec les bactéries. Leurs abondances relatives sont beaucoup plus faibles pour le traitement TCO. L'hypothèse est que la quantité absolue de bactéries pour cet échantillon est suffisamment importante par rapport au matériel végétal, comparé aux échantillons Témoin et TCO. On pourrait alors parler de **boom bactérien** à la surface des feuilles traitées au TCO.

Dans le contexte de cette hypothèse, l'analyse des résultats de microbiologie a montré une **augmentation forte de la teneur en bactéries des feuilles de vigne traitées au TCO** par rapport aux autres traitements (Figure 9). Les teneurs observées sont maximales au lendemain de l'application de TCO et peuvent persister durant 10 jours sans pluie. En revanche, une averse de 10mm peut lessiver les microorganismes présents et limiter l'effet du TCO. (Figure 10)

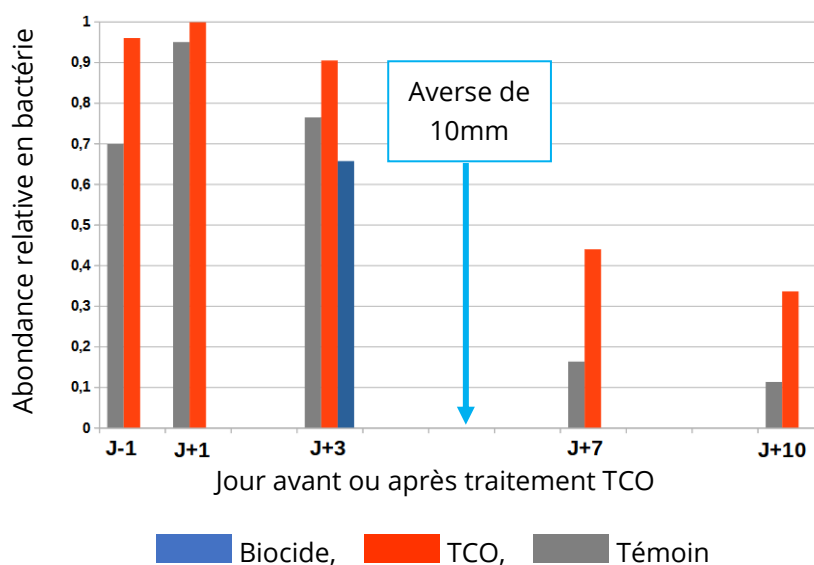


Figure 10 : Suivi de l'abondance relative moyenne en bactéries des deux sites par rapport au matériel végétal avant et après pulvérisation sur la placette TCO

3) Variation saisonnière de la microbiologie à la surface des feuilles

Les feuilles des différents traitements présentent des différences dans la composition de leurs microbiotes bactériens entre les échantillons de mai et ceux de juin. Il semble y avoir une **variabilité saisonnière du microbiote**. (Figure 11)

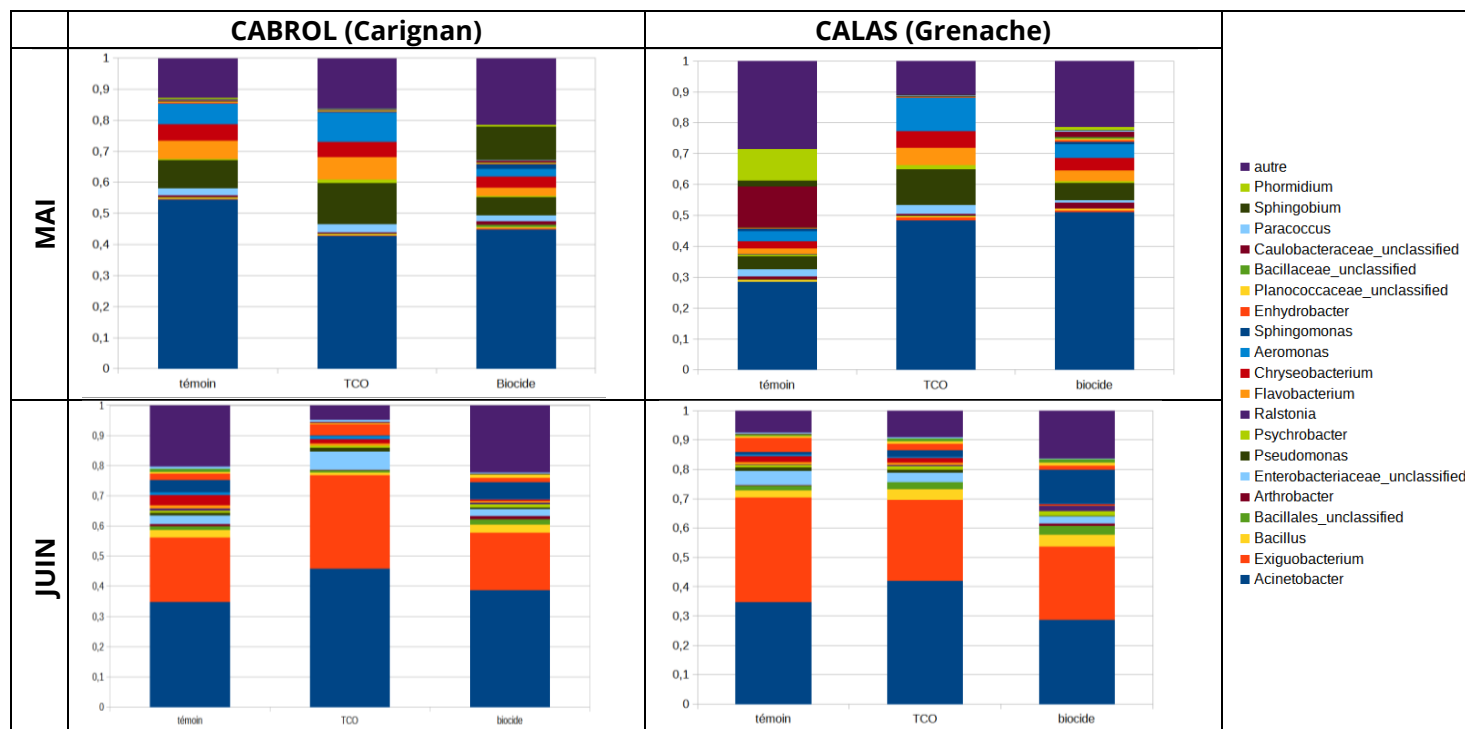


Figure 11 : Abondances relatives des différents genres de bactéries (une fois le matériel végétal soustrait) pour les 2 sites pour les 3 traitements pour les échantillons 3 jours après pulvérisation sur la placette TCO en mai et juin

4) Impact de l'oïdium sur la microbiologie des feuilles de vigne, et antagonismes entre *Erysiphe necator* (le champignon responsable de l'oïdium) et d'autres microorganismes présents

Les feuilles issues des placettes malades (Carignan : Témoin et TCO) présentent un microbiote fongique fortement **dominé par *Erysiphe necator*** (Figure 12). En revanche, la présence d'oïdium n'a pas montré d'impact sur la quantité de bactéries présentes, ni sur la composition des populations bactériennes.

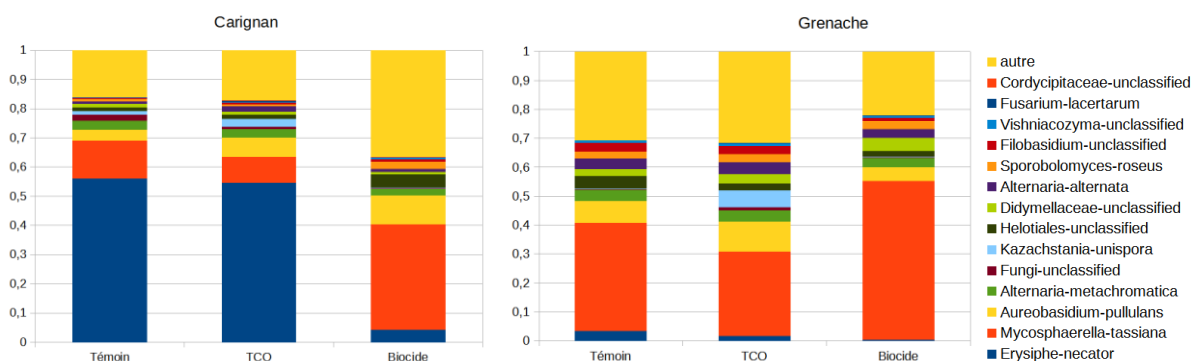


Figure 12 : Abondance relative des différentes espèces de champignons sur les 2 sites (Carignan - forte pression oïdium, Grenache - faible pression oïdium) pour les 3 traitements, 3 jours après traitement sur la placette TCO pour le prélèvement de mai

Le traitement des données a montré une corrélation entre l'abondance d'*Erysiphe necator* au sein des microbiotes fongiques et l'intensité et la fréquence d'oïdium à l'échelle de la placette. Cette corrélation est plus forte si l'on considère l'intensité et la fréquence d'oïdium de la semaine suivante. Cela témoigne de l'inertie de l'apparition des symptômes sur les feuilles.

Des corrélations négatives entre l'abondance d'*Erysiphe necator* et celles des espèces fongiques *Aureobasidium*, *Sporobolomyces*, et *Filobasidium* ont été observées (Figure 13). Ces observations n'ont été identifiées que sur un site (Cabrol), pour une période de forte contamination où l'effet du TCO n'a pas été important. Il est donc difficile en l'état de relier cet antagonisme à un effet du TCO.

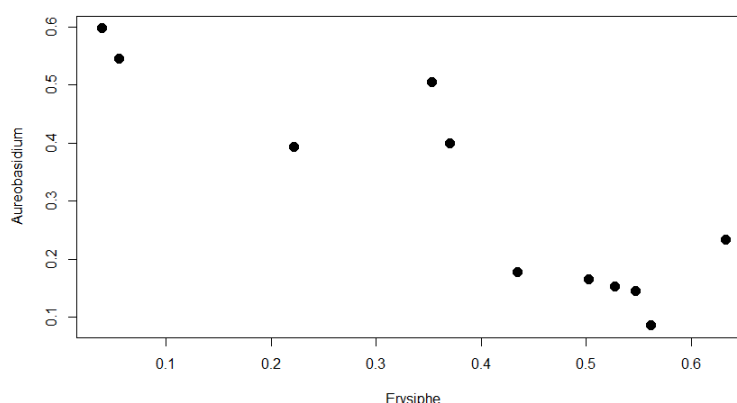


Figure 13 : Abondance relative d'*Erysiphe necator* en fonction de l'abondance relative en *Aureobasidium* pour le site de Cabrol (Carignan)

Conclusion de l'expérimentation de l'année 2

À l'issue de cette deuxième année d'expérimentation, les conclusions suivantes sont établies :

- Nous avons mis en place une méthode reproductible qui permet de produire un TCO présentant une diversité forte en microorganismes. Cette méthode est basée sur la valorisation de matériaux locaux.
- L'application du TCO a montré un effet positif contre l'oïdium de la vigne sur feuille et sur les sites présentant une densité de ceps plus faible, et en début de saison.
- L'application du TCO n'a pas montré d'effet contre l'oïdium de la vigne sur les grappes et en fin de saison (juin-juillet).
- La microbiologie des feuilles de vigne est impactée par l'application de TCO. La quantification de cet impact n'a pu être réalisée que pour les bactéries.
- Des antagonismes entre *Erysiphe necator* et certains microorganismes présents dans le TCO ont été observés, mais le jeu de données n'a pas permis de relier cet antagonisme aux traitements TCO effectués.

L'objectif suivant de nos travaux est de capitaliser les résultats de cette expérimentation en mettant en place un itinéraire technique opérationnel pour les paysans. Pour cela, le comité de pilotage du projet MicroBioPhyto et le conseil d'administration de Chemin Cueillant envisagent de réaliser une 3^{ème} année d'expérimentation pour ce projet.

Bibliographie

Fourcade C, Fourcade D (2021) Historique météo. Météofélines. [En ligne]. Disponible sur : <https://meteofelines.claudette-didier.fr/Historique.html> (Consulté le 1 septembre 2021)

Buffara CRS, Angelotti F, Vieira RA, Bogo A, Tessmann DJ, Bem BP de (2014) Elaboration and validation of a diagrammatic scale to assess downy mildew severity in grapevine. In : *Ciência Rural*. Vol. **44**, p. 1384–1391

Camargo MP, Momesso BV, Hahn MH, Duarte HSS (2019) Development and validation of a standard area diagram set to estimate severity of grapevine downy mildew on *Vitis labrusca*. In: *Eur J Plant Pathol*. Vol. **155**, p. 1033–1038

IFV Occitanie Méthode des apex. IFV Occitanie. [En ligne]. Disponible sur : <https://www.vignevin-occitanie.com/fiches-pratiques/methode-des-apex/> (Consulté le 20 avril 2021)

Denizot A-M (2009) Les stades phénologiques de la vigne. Institut Français de la Vigne et du Vin (IFV). [En ligne]. Disponible sur : <https://www.vignevin-occitanie.com/wp-content/uploads/2018/11/PosterStadPhen091.pdf> (Consulté le 31 août 2021)

Pour plus de renseignements :

Laura Lecomte : Chemin Cueillant, www.chemincueillant.org
Mail : laura@chemincueillant.org



Cette œuvre de Chemin Cueillant est mise à disposition sous [licence Attribution - Pas d'Utilisation Commerciale - Partage dans les Mêmes Conditions 4.0 International](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/).

Pour voir une copie de cette licence, visitez <http://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/deed.fr> ou écrivez à Creative Commons, PO Box 1866, Mountain View, CA 94042, USA.