

**AFPP – 6^e CONFÉRENCE SUR LES MOYENS ALTERNATIFS DE PROTECTION
POUR UNE PRODUCTION INTÉGRÉE
LILLE – 21, 22 ET 23 MARS 2017**

**BIOCONTRÔLE DE *NEOFUSICOCCUM PARVUM*, UN AGENT PATHOGÈNE IMPLIQUÉ
DANS LES MALADIES DU BOIS DE LA VIGNE, PAR DEUX BACTÉRIES ISOLÉES
DE CÉPAGES FRANÇAIS ET TUNISIEN**

A. REZGUI ^{1,2}, J. VALLANCE ^{2,3}, A. BEN GHNAYA-CHAKROUN ¹, E. BRUEZ ^{2,3},
N. SADFI-ZOUAOU ¹ and P. REY ^{2,3}

¹ Laboratoire Microorganismes et Biomolécules Actives, Faculté des Sciences de Tunis, Université de Tunis El Manar, 2092, Tunisie

² INRA, UMR1065 Santé et Agro-écologie du Vignoble (SAVE), ISVV, 33140 Villenave d'Ornon, France

³ Université de Bordeaux, Bordeaux Sciences Agro, UMR1065 SAVE, 33140 Villenave d'Ornon, France
E-mail : foufarezgui07@gmail.com

RÉSUMÉ

Deux souches bactériennes, *i.e.* *Bacillus subtilis* (souche B6) et *Pantoea agglomerans* (souche S5), isolées respectivement de ceps de *Vitis vinifera* provenant du vignoble tunisien, cv. Muscat d'Italie, et français, cv. Cabernet Sauvignon, ont été sélectionnées pour évaluer leur capacité à protéger de jeunes plants de vigne contre l'infection par *Neofusicoccum parvum*, un agent pathogène fongique impliqué dans les Maladies Du Bois de la vigne (MDBs). Une expérimentation comprenant les deux souches bactériennes et les deux cépages a été réalisée. Les résultats ont montré que les deux souches en combinaison exerçaient un rôle positif sur les plants des deux cépages en réduisant significativement la taille des nécroses provoquées dans le bois par *N. parvum*.

Mots-clés : Antagonistes bactériens, effet variétal, Maladies du bois de la vigne, *Neofusicoccum parvum*, protection de la vigne.

ABSTRACT

Two bacterial strains, *i.e.* *Bacillus subtilis* (strain B6) and *Pantoea agglomerans* (strain S5), respectively isolated from grapevines cv. Muscat d'Italie originated from Tunisia and cv. Cabernet Sauvignon originated from France, were selected to assess their ability to protect young grapevines from *Neofusicoccum parvum* attacks, a pathogenic fungus commonly associated with Grapevine Trunk Diseases (GTDs). An experiment with the two bacterial strains and the two grape cultivars was carried out. Results showed that for both cultivars, the combination of both bacterial strains significantly reduced the wood necrosis caused by *N. parvum*.

Keywords: Bacterial antagonists, Grapevine Trunk Diseases, *Neofusicoccum parvum*, plant protection, varietal susceptibility.

INTRODUCTION

L'esca est une maladie à l'étiologie complexe qui est associée à un cortège de champignons pathogènes. Dans cette étude, *Neofusicoccum parvum*, un de ces pathogènes a été utilisé car c'est l'une des espèces fongiques les plus virulentes associée au MDBs (Laveau *et al*, 2009). Elle est associée à la fois aux nécroses internes du bois mais également aux chancres externes (Phillips, 2002; Laveau *et al*, 2009; Amponsah *et al*, 2011).

Malgré l'importance et la gravité des MDBs, aucun moyen de lutte chimique n'existe actuellement depuis l'interdiction de l'arsénite de sodium en 2001 en Europe et dans le monde. C'était le seul pesticide homologué pour contrôler les MDBs (Decoin, 2001; Larignon *et al*, 2008). Aujourd'hui, il est donc important d'axer la recherche pour trouver de nouvelles méthodes alternatives, comme l'utilisation d'agents de biocontrôle. Plusieurs micro-organismes ont déjà été testés contre les MDBs : le champignon *Trichoderma atroviride* (Kotze *et al*, 2001), des levures et des bactéries (Bertsch *et al*, 2013; Compant *et al*, 2013 ; Haidar *et al*, 2016), et l'oomycète *Pythium oligandrum* (Yacoub *et al*, 2016).

Lors de cette étude, l'efficacité de deux souches bactériennes pour réduire les nécroses causées dans le bois par l'agent pathogène *N. parvum* a été évaluée. L'une des souches était d'origine tunisienne, *i.e. Bacillus subtilis* B6 isolée de ceps cv. Muscat d'Italie, et l'autre d'origine française, *i.e. Pantoea agglomerans* S5, isolée de cv. Cabernet Sauvignon (Bruez *et al*, 2015 ; Haidar *et al*, 2016). Les essais de protection *in planta* ont été réalisés avec deux cépages : le Cabernet-Sauvignon, qui est un cépage destiné à la production de vin et très implanté en France, et le Muscat d'Italie, qui est le premier cépage cultivé en Tunisie pour la production de raisin de table.

MATERIEL ET METHODES

Essai de protection *in planta* sous serre

L'agent pathogène fongique

Le pathogène fongique *N. parvum* a été utilisé pour l'ensemble des expérimentations réalisées dans le cadre de cette étude.

La souche *N. parvum* utilisée a été isolée à partir de ceps de vigne tunisiens cv. Muscat d'Italie de la région de Mornag. Le mycélium du pathogène a été repiqué sur milieu malt agar et incubé pendant 7 jours à 22°C (12 heures de lumière / 12 heures d'obscurité) avant l'inoculation sous serre des boutures des deux cultivars de vigne.

Les bactéries antagonistes

Deux souches bactériennes, l'une d'origine française, *i.e. Pantoea agglomerans* S5, isolée de tissus nécrotiques de bois de vigne français (cv. Cabernet Sauvignon) (Bruez *et al*, 2015 ; Haidar *et al*, 2016), et l'autre d'origine tunisienne, *i.e. Bacillus subtilis* B6, isolée de tissus nécrotiques de bois de vigne tunisien (cv. Muscat d'Italie) (Rezgui *et al*, 2016) ont été utilisées dans cette étude.

Les bactéries ont été cultivées à l'obscurité dans des flacons de culture stériles contenant 40 ml de milieu TSB pendant 48 h à 30°C avant leur inoculation en serre. La croissance bactérienne a été déterminée en comparant la turbidité bactérienne avec une solution standard de McFarland (bioMérieux® SA) et la concentration a été estimée entre 10⁸ et 10⁹ UFC / ml (échelle 4, McFarland).

Inoculation des boutures de vigne sous serre

Deux essais de protection indépendants ont été réalisés sur des plants de vigne des deux cépages cités ci-avant, le Cabernet Sauvignon (essai lors de l'été 2014) et le Muscat d'Italie (lors de l'été 2015).

Chaque essai comportait au total 270 boutures réparties en 9 modalités différentes avec 30 plants pour chacune d'entre-elles. Ces modalités étaient réparties comme suit : (i) C : témoin négatif non inoculé par les bactéries ou par le champignon pathogène; (ii) CP : témoin percé inoculé avec le milieu bactérien stérile TSB (Tryptic Soy Broth) et un disque fongique stérile de MA (Malt Agar); (iii) NP : témoin positif inoculé par le pathogène fongique *N. parvum* ; (iv) B6 : plants inoculés uniquement avec les souches antagonistes B6 ou (v) S5 : S5 ou (vi) B6+S5 : la combinaison des 2 bactéries ; (vii) NP+B6 : plants co-inoculés avec *N. parvum* et B6 ou (viii) NP+S5 : *N. parvum* et S5 ou (ix) NP+B6+S5 : *N. parvum* et la combinaison des 2 bactéries, B6+S5 (Tableau 1)

Tableau 1. Les différents traitements biologiques appliqués aux deux cultivars Cabernet Sauvignon et Muscat d'Italie.

Table 1. Different biological treatments applied at cv. Cabernet Sauvignon and Muscat d'Italie.

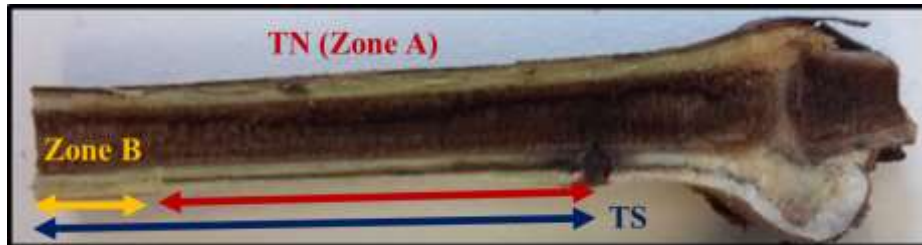
Abréviations	Modalités appliquées
C	Témoin négatif non inoculé et non percé
CP	Témoin négatif percé et inoculé avec le MA et le TSB
NP	Plant inoculé avec le pathogène fongique <i>N. parvum</i>
B6	Plant inoculé avec la souche bactérienne B6
S5	Plant inoculé avec la souche bactérienne S5
B6+S5	Plant inoculé avec la combinaison des deux bactéries B6 et S5
NP+B6	Plant inoculé avec le pathogène fongique <i>N. parvum</i> et la bactérie B6
NP+S5	Plant inoculé avec le pathogène fongique <i>N. parvum</i> et la bactérie S5
NP+B6+S5	Plant inoculé avec le pathogène fongique <i>N. parvum</i> et la combinaison de B6 et S5

Un trou a été percé artificiellement dans la tige en dessous du premier « œil » à l'aide d'une perceuse mécanique. Quarante µl de suspension bactérienne ajustée à 10^8 CFU /ml ont été injectés dans le trou. Dix à 20 minutes après, un disque fongique prélevé à partir d'une culture récente et sporulante de *N. parvum* a été placé sur le site de la blessure à l'aide d'un scalpel stérile. La zone percée et inoculée a été ensuite enveloppée avec du parafilm pour la protéger de la dessiccation et des contaminations ultérieures.

Quatre mois après l'inoculation (octobre 2015, pour cv. Cabernet Sauvignon et octobre 2016, pour cv. Muscat d'Italie), les boutures ont été coupées longitudinalement pour observer et mesurer la taille des nécroses. Un pourcentage de nécrose a été calculé comme suit : [taille de nécrose (TN) /taille de sarment (TS)]*100 (Figure 1).

Figure 1. Calcul du pourcentage de nécroses internes = [taille de nécrose « TN »/taille de sarment « TS »]*100 avec TN =longueur de nécrose à partir du point d'inoculation et TS =la longueur de sarment.

Figure 1. Percentage of necrosis measurement: [(TN/TS) * 100] with TN, the size of necrosis downwards from the wound-inoculation hole and TS, the size of the shoot.



Les analyses statistiques

Les résultats de lecture des nécroses ont été traités statistiquement à l'aide du logiciel R version 3.2.2. Dans un premier temps, la normalité des données a été vérifiée avec le test de Levene. Comme elles ne suivaient pas la loi normale, le test non paramétrique de Kruskal-Wallis ou le test t-student ont été utilisés.

RESULTATS

Mise en évidence des lésions internes induites chez la vigne suite à l'attaque par *N. parvum*

Quatre mois après l'infection artificielle des boutures, les symptômes induits par le champignon pathogène ont été observés et mesurés. *N. parvum* a induit des lésions facilement identifiables par rapport au tissu sain dans la tige des boutures des deux cultivars testés, *i.e.* Cabernet Sauvignon et Muscat d'Italie.

Effet des bactéries antagonistes sélectionnées sur la réduction des nécroses causées par *N. parvum*

Pour les deux cépages utilisés, la réduction du pourcentage de nécroses internes variait significativement ($P < 0.05$) en fonction des inoculum bactériens utilisés. Lors de ces essais, les témoins non inoculés (C) n'ont présenté aucune lésion, tandis que les témoins « percés » (CP) ainsi que les plants inoculés par les souches bactériennes seules ou en association (B6, S5 et B6+B5) ont présenté des petites nécroses internes dues au perçage réalisés lors des inoculations (Figure 2).

Pour les boutures du cépage Cabernet Sauvignon, l'efficacité des bactéries pour réduire significativement les nécroses internes a été démontrée lors des traitements avec S5 seule (souche issue du cépage français) et la combinaison B6+S5 ($P < 0.05$), les pourcentages de réduction étaient respectivement de 20 et 36% (Tableau 2). Les taux de nécroses obtenus avec *N. parvum* seul ayant été de 89%, la combinaison des deux souches B6 et S5 serait donc la meilleure pour protéger les plants de vigne des attaques par ce champignon (Figure 2, Tableau 2).

Concernant les plants cv. Muscat d'Italie, un effet protecteur a été observé pour les trois conditions antagonistes testées, *i.e.* B6, S5 et B6+S5, puisque les taux de réduction des nécroses internes obtenus étaient respectivement de 35%, 40% et 53% (Tableau 2). Aucune différence significative entre les 3 combinaisons de bactéries n'a été mise en évidence. Les taux de nécroses causés par *N. parvum* sur ce cépage étaient, comme sur Cabernet Sauvignon, de l'ordre de 80% (Figure 2).

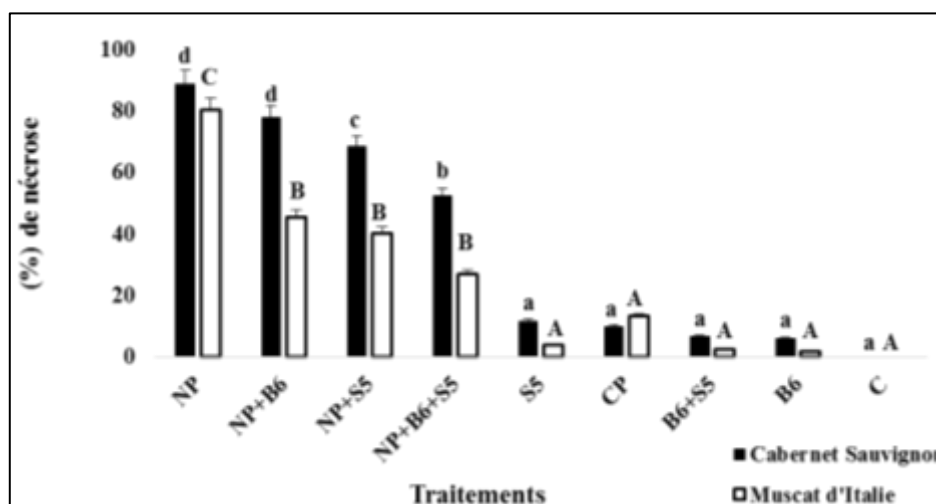
Tableau 2. Mise en évidence de l'efficacité des trois traitements biologiques appliqués : B6, S5 et B6+ S5 à protéger les cépages, Cabernet Sauvignon et Muscat d'Italie des attaques artificielles dues à *N. parvum*. CS : cépage Cabernet Sauvignon, MI : cépage Muscat d'Italie, NP : plant inoculés par le pathogène fongique *N. parvum*.

Table 2. Effect of the biological treatments B6, S5 and the combination of « B6+S5 » to protect young grapevines of cv. Cabernet Sauvignon and cv. Muscat d'Italie from *N. parvum* attacks. CS : Cabernet Sauvignon cultivar, MI : Muscat d'Italie cultivar, NP : cuttings inoculated by the fungus *N. parvum*.

Modalités	NP		NP+B6		NP+S5		NP+B6+S5	
Pourcentage de protection (%)	CS	MI	CS	MI	CS	MI	CS	MI
	0	0	11	35	20	40	36	53

Figure 2. Mise en évidence de l'efficacité des trois traitements biologiques B6, S5 et B6+ S5 pour réduire la taille des nécroses dues à *N. parvum* chez les cépages, Cabernet Sauvignon et Muscat d'Italie. C : plants témoins n'ayant subi aucun traitement biologique, CP : témoins percés, NP : plants inoculés par le pathogène fongique *N. parvum*. Les barres de données présentant la même lettre minuscule ou majuscule ne diffèrent pas significativement entre elles, $P > 0.05$ avec le test de Kruskal-Wallis.

Figure 2. Effect of the biological treatments B6, S5 and the combination of « B6+S5 » on the reduction of necrosis length caused by *N. parvum* on young grapevines of cv. Cabernet Sauvignon and cv. Muscat d'Italie (B) under greenhouse conditions. C: control cuttings not inoculated with the fungus nor bacteria, CP: control cuttings inoculated with sterile TSB and MA plugs, NP: cuttings inoculated with the fungus *N. parvum*. Mean values sharing the same uppercase or lowercase letter are not significantly different according to Kruskal-Wallis' non-parametric relative contrast effects post hoc test at $P < 0.05$



DISCUSSION

L'objectif de cette étude a été d'évaluer l'efficacité de deux souches bactériennes possédant des propriétés antagonistes pour réduire la formation de nécroses dans le bois de la vigne causées par un agent pathogène impliqué dans les MDBs, *i.e.* *N. parvum*. Concernant les 2 bactéries, l'une a été

isolée d'un cep planté en Tunisie, *i.e.* *B. subtilis* B6 (Rezgui *et al*, 2016), et l'autre, d'un cep provenant de France, *i.e.* *P. agglomerans* S5 (Bruez *et al*, 2015 ; Haidar *et al*, 2016). Deux cépages ont été utilisés lors de cette essai croisé : le Cabernet-Sauvignon qui est un cultivar international destiné à la production de vin et qui très implanté en France, et le Muscat d'Italie, qui est le premier cépage cultivé en Tunisie pour la production de raisin de table.

Lors de cet essai, 4 mois après l'inoculation des plants des deux cultivars par le champignon pathogène *N. parvum*, des nécroses dans le bois ont été observées. Ce résultat est en accord avec ceux rapportés dans la littérature (Sparapano *et al*, 2001b ; Haidar *et al*, 2016 ; Rezgui *et al*, 2016 ; Yacoub *et al*, 2016). Par rapport à ces études, nos analyses ont démontré que les dommages dus à *N. parvum* et le niveau de protection apporté par les souches bactériennes étaient dépendants du cultivar étudié.

Les bactéries *B. subtilis* et *P. agglomerans* ont déjà été décrites comme des agents de lutte biologique potentiels contre plusieurs maladies de la vigne (Ferreira *et al*, 1991; Schmidt *et al*, 2001; Magnin-Robert *et al*, 2007; Romero *et al*, 2007; Trotel-Aziz *et al*, 2008; Alfonzo *et al*, 2008, 2009; Leelasuphakul *et al*, 2008; Kotze *et al*, 2011; Compant *et al*, 2011, 2013; Haidar *et al*, 2016). Nos résultats confirment l'intérêt de ces 2 espèces bactériennes. En effet, les deux souches sélectionnées ont été capables de réduire l'incidence du phytopathogène *N. parvum*. Cependant, un effet variétal a encore été mis en évidence en comparant les différents essais *in planta*. La souche B6 était inefficace pour réduire les attaques dues à *N. parvum* sur Cabernet Sauvignon, mais elle était efficace sur Muscat d'Italie. Par contre, la combinaison des deux souches bactériennes « B6 et S5 » a été efficace pour réduire l'incidence de la maladie sur les deux cultivars étudiés. Ce type de réponse peut être lié à la capacité des antagonistes biologiques à coloniser les deux cultivars. Ceux-ci peuvent en effet avoir des facteurs intrinsèques différents tels que la disponibilité en nutriments et/ou le pH, ce qui peut affecter la croissance de l'agent de biocontrôle (Lewisohn *et al*, 1992; Mutawila *et al*, 2011). Ce résultat confirme que les effets antagonistes des souches bactériennes peuvent fortement dépendre de la variété considérée. Cette constatation est en accord avec une étude réalisée par Mutawila *et al*. (2011), qui a montré que l'effet protecteur de certaines espèces de *Trichoderma* variait en fonction du cépage traité.

Ce résultat est, à notre connaissance, le premier à avoir montré que *P. agglomerans* et *B. subtilis* avaient des propriétés d'agents de biocontrôle potentiels contre *N. parvum*. Un tel résultat est d'une importance primordiale, car *N. parvum* est un agent pathogène des MDBs pour lequel aucun traitement efficace n'existe aujourd'hui (Haidar *et al*, 2016).

Lors de cette étude, la combinaison bactérienne « B6 et S5 » était la plus adéquate pour protéger les plants de vigne des deux cépages, Muscat d'Italie et Cabernet Sauvignon. Ce résultat sur la combinaison de souches d'agents de biocontrôle est en accord avec les travaux de Mutawila *et al*. (2011), qui ont montré que l'utilisation de deux espèces du champignon *Trichoderma* était plus efficace pour protéger les plants de vigne. Cette observation est donc ici vérifiée avec des bactéries.

CONCLUSION

Par rapport au traitement biologique des plants de vigne avec les souches B6 ou S5 seules, la combinaison de ces deux bactéries exerce un fort effet antagoniste qui permet de limiter les attaques dues à *N. parvum* sur la vigne. De nouvelles études avec des combinaisons semblables devraient être effectuées, par exemple en combinant un micro-organisme qui colonise les racines, *e.g.* *P. oligandrum* (Yacoub *et al*, 2016) et d'autres les tissus ligneux du tronc (Haidar *et al*, 2016). Par ailleurs, étant donné que le criblage multi-cépage et multi-pathogène semble être le plus pertinent pour sélectionner des agents de biocontrôle potentiels contre les MDBs, cette démarche pourrait être recommandée lors de futurs essais.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Alfonzo A., Conigliaro G., Torta L., Burruano S., Moschetti G., 2009. Antagonism of *Bacillus subtilis* strain AG1 against vine wood fungal pathogens. *Phytopathologia Mediterranea*, 48, 155-158.
- Alfonzo A., Ventorino V., Torta L., Burruano S., Moschetti G., 2008. *In vitro* antagonism of a grapevine endophytic *Bacillus subtilis* strain towards "esca" fungi. *Integrated Protection in Viticulture IOBC/wprs Bulletin*, 36, 19-24.
- Amponsah N.T., Jones E.E., Ridgway H.J., Jaspers M.V., 2011. Identification, potential inoculum sources and pathogenicity of botryosphaeriaceous species associated with grapevine dieback disease in New Zealand. *European Journal of Plant Pathology*, 131, 467-482.
- Bertsch C., Ramirez-Suero M., Magnin-Robert M., Larignon P., Chong J., Abou-Mansour E., Spagnolo A., Clément C., Fontaine F., 2013. Grapevine trunk diseases: complex and still poorly understood. *Plant Pathology*, 62, 243-265.
- Bruetz E., Haidar R., T. Alou M., Vallance J., Bertsch C., Mazet F., Fermaud M., Deschamps A., Guerin-Dubrana L., Compant S., Rey P., 2015. Bacteria in a wood fungal disease: Characterization of bacterial communities in wood tissues of esca-foliar symptomatic and asymptomatic grapevines. *Frontiers in Microbiology*, 6, 1137.
- Compant S., Brader G., Muzammil S., Sessitsch A., Lebrhi A., Mathieu F., 2013. Use of beneficial bacteria and their secondary metabolites to control grapevine pathogen diseases. *Biological Control*, 58, 435-455.
- Compant S., Mitter B., Colli-Mull J.G., Gangl H., Sessitsch A., 2011. Endophytes of grapevine flowers, berries, and seeds: identification of cultivable bacteria, comparison with other plant parts, and visualization of niches of colonization. *Microbial Ecology*, 62, 188-197.
- Decoin M., 2001. Grapevine products: news on withdrawals and restrictions. *Phytoma*, 543, 28-33.
- Ferreira J.H.S., Matthee F.N., Thomas A.C., 1991. Biological control of *Eutypa lata* on grapevine by an antagonist strain of *Bacillus subtilis*. *Phytopathology*, 81, 283-287.
- Haidar R., Deschamps A., Roudet J., Calvo-Garrido C., Bruetz E., Rey P., Fermaud M., 2016. Multi-organ screening of efficient bacterial control agents against two major pathogens of grapevine. *Biological Control*, 92, 55-65.
- Kotze C., van Niekerk J.M., Mostert L., Halleen F., Fourie P.H., 2011. Evaluation of biocontrol agents for grapevine pruning wound protection against trunk pathogen infection. *Phytopathologia Mediterranea*, 50, 247-263.
- Larignon P., Giansetto K., Salancon E., Berud F., Girardon K., Viguier D., Jacquet O., 2008. Effet de divers traitements à l'égard des champignons associés aux maladies du bois en pépinières. *Le pépiniériste*, 179, 10-17.
- Laveau C., Letouze A., Louvet G., Bastien S., Guerin-Dubrana L., 2009. Differential aggressiveness of fungi implicated in esca and associated diseases of grapevine in France. *Phytopathologia Mediterranea*, 48, 32-46.
- Leelasuphakul W., Hemmanee P., Chuenchitt S., 2008. Growth inhibitory properties of *Bacillus subtilis* strains and their metabolites against the green mold pathogen (*Penicillium digitatum* Sacc.) of citrus fruit. *Postharvest Biology and Technology*, 48, 1, 113-121.
- Lewisohn E., Gijzenand M., Croteau R.B., 1992. Regulation of monoterpene biosynthesis in conifer defense. *American Chemistry Society Symposium Series*, 497, 8-17.
- Magnin-Robert M., Trotel-Aziz P., Quantinet D., Biagiante S., Aziz A., 2007. Biological control of *Botrytis cinerea* by selected grapevine-associated bacteria and stimulation of chitinase and b-1, 3 glucanase activities under field conditions. *European Journal of Plant Pathology*, 118, 43-57.
- Mutawila C., Fourie P.H., Halleen F., Mostert L., 2011. Grapevine cultivar variation to pruning wound protection by *Trichoderma* species against trunk pathogens. *Phytopathologia Mediterranea*, 50, S264-S276.
- Phillips A. J. L., 2002. Botryosphaeria species associated with diseases of grapevines in Portugal. *Phytopathologia Mediterranea*, 41, 3-18.

Rezgui A., Ben Ghnaya-Chakroun A., Vallance J., Bruez E., Hajlaoui M.R., Sadfi-Zouaoui N., Rey P., 2016. Endophytic bacteria with antagonistic traits inhabit the wood tissues of grapevines from Tunisian vineyards. *Biological Control*, 99, 28-37.

Romero D., De Vincente A., Rakotoaly R.H., Dufour S.E., Veening J.W., Arrebola E., Cazorla F.M., Kuipers O.P., Paquot M., Pérez-García A., 2007. The iturin and fengycin families of lipopeptides are key factors in antagonism of *Bacillus subtilis* towards *Podosphaera fusca*. *Molecular Plant-Microbe Interaction*, 20, 4, 430-440.

Schmidt C.S., Lorenz D., Wolf G.A., 2001. Biological control of the grapevine dieback fungus *Eutypa lata* I: Screening of bacterial antagonists. *Journal of Phytopathology*, 149, 427-435.

Sparapano L., Bruno G., Graniti A., 2001b. Three-year observation of grapevines cross-inoculated with esca-associated fungi. *Phytopathologia Mediterranea*, 40, S376-S386.

Trotel-Aziz P., Couderchet M., Biagianti S., Aziz A., 2008. Characterization of new bacterial biocontrol agents *Acinetobacter*, *Bacillus*, *Pantoea* and *Pseudomonas* spp. Mediating grapevine resistance against *Botrytis cinerea*. *Environmental and Experimental Botany*, 64, 21-32.

Yacoub A., Gerbore J., Magnin N., Chambon P., Dufour M.C., Corio-Costet M.F., Guyoneaud R., Rey P., 2016. Ability of *Pythium oligandrum* strains to protect *Vitis vinifera* L., by inducing plant resistance against *Phaeoconiella chlamydospora*, a pathogen involved in Esca, a grapevine trunk disease. *Biological control*, 92, 7-16.